

Univerzita Karlova

2. lékařská fakulta

Doktorský studijní program: Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie



MUDr. Adéla Mišove

Prognostický význam molekulárních alterací u dětských gliomů centrálního nervového systému

The prognostic significance of molecular alterations in pediatric gliomas of central nervous system

Disertační práce

Školitel: MUDr. Michal Zápotocký, Ph.D.

Konzultant: MUDr. David Sumerauer, Ph.D.

Praha, 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 06. března 2024

Adéla Mišove

.....

Podpis autora

Poděkování

Na tomto místě bych ráda vyjádřila poděkování školiteli doc. MUDr. Michalovi Zápotockému Ph.D., a konzultantovi MUDr. Davidu Sumerauerovi Ph.D. za jejich podporu, vědecké vedení a cenné rady, které mi byly poskytovány během celého průběhu studia. Jejich odborné znalosti, motivace a schopnost najít čas na konzultace měly zásadní vliv na úspěšné dokončení mé práce.

Dále bych chtěla poděkovat RNDr. Lence Krskové Ph.D., a MUDr. Aleši Víchovi Ph.D., za jejich vedení, pomoc při řešení výzkumných otázek a za poskytnutí přístupu k laboratornímu zařízení a materiálům. Jejich pomoc byla nezbytná pro realizaci laboratorní části mé práce.

Velké díky patří i všem spoluautorům a spolupracovníkům, kteří se podíleli na dílčích publikacích. Bez jejich práce, nasazení a ochoty sdílet znalosti by nebylo možné dosáhnout prezentovaných výsledků.

Prognostický význam molekulárních alterací u dětských gliomů centrálního nervového systému

Abstrakt

Tato disertační práce se zabývá komplexní analýzou kohorty dětských pacientů léčených pro gliomy nízkého stupně malignity (pLGG) v letech 1999 – 2021 na Klinice dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole. Cílem práce bylo popsat molekulárně genetické pozadí vybrané kohorty pacientů a korelovat je s klinickým obrazem a průběhem onemocnění. Práce zdůrazňuje význam diagnózy jako syntézy vzhledu jednotlivých oborů a podtrhuje důležitost integrace molekulárně genetického poznání do klinické praxe.

Byla provedena detailní analýza genetických alterací a jejich distribuce v závislosti na anatomických lokalizacích. Výsledky ukázaly, že většina nádorů nesla fúzi *KIAA1549::BRAF* nebo mutaci *BRAF V600E*, přičemž byly identifikovány i jiné genetické změny včetně alterací v genech *FGFR*, *NTRK*, *RAF*, *ROS* a dalších.

Výzkum přinesl důležité poznatky o molekulárně genetickém pozadí pLGG a jeho vlivu na klinický průběh a léčbu. Ukázal, že integrace molekulárně genetického vyšetření do diagnostického procesu je klíčová pro optimalizaci léčebných strategií. Díky této práci se otevírají nové možnosti pro cílenou terapii a individualizovaný přístup k léčbě pacientů s pLGG, což by mohlo vést ke zlepšení prognózy a kvality jejich života.

Klíčová slova: analýza přežití, dětské low grade gliomy, DNA metylační profil, RNA sekvenování

The prognostic significance of molecular alterations in pediatric gliomas of central nervous system

Abstract

The purpose of this dissertation is to delve into the molecular and genetic underpinnings of low-grade gliomas in children, focusing on a cohort treated over the past two decades. It aims to correlate these findings with the clinical course and outcomes of the disease. The study was conducted through a collaborative effort between the Clinic of Pediatric Hematology and Oncology and the Laboratory of Molecular Pathology at the Charles University, highlighting the significance of a multidisciplinary approach in diagnosing.

This work highlights the importance of diagnosis as a synthesis of insights from various disciplines, underscoring the significance of molecular-genetic factors in the prognosis and treatment of low-grade gliomas in children. Through a detailed study involving methods such as PCR, Sanger sequencing, RNA panel sequencing, MLPA, and DNA methylation profiling, key genetic alterations were identified, including frequent *BRAF* fusions and mutations, changes in *FGFR* genes, and alterations in *MYB/MYBL* genes, among others.

The study revealed the diverse molecular landscape of pediatric low-grade gliomas, emphasizing the need for integrated diagnostics in determining the appropriate management and therapeutic strategies for this patient group. The research underscores the critical role of comprehensive molecular-genetic analysis in enhancing the understanding and treatment of pediatric low-grade gliomas.

Key words: pediatric low grade gliomas, DNA methylation, RNA sequencing, survival analysis

Seznam použitých zkratek

AA	anaplastický astrocytom	mRNA	mesengerová ribonukleová kyselina
AG	angiocentrický gliom	NOS	bez další specifikace
CNS	centrální nervová soustava	OG	oligodendrogliom
CPS	syndromy predisponující k nádorům	OPG	gliomy zrakové dráhy
DGONC	difúzní glioneuronální tumor s oligodendrogliomovou složkou a nukleárními klustery	OS	celkové přežití
DIA	desmoplastický infantilní astrocytom	PA	pilocytární astrocytom
DIG	desmoplastický infantilní gangliogliom	PFS	přežití bez progresu
DLGNT	difúzní leptomeningeální glioneuronální tumor	PGNT	papilární glioneuronální tumor
DNA	deoxyribonukleová kyselina	PLGG	gliomy nízkého stupně malignity u dětí
DNET	dysembryoplastický neuroepiteliální tumor	PXA	pleomorfní xanthoastrocytom
GG	gangliogliom	RECIST	kritéria hodnocení odpovědi u solidních nádorů
HGG	gliom vysokého stupně malignity	RGNT	rosety-formující glioneuronální tumor
IDH	isocitrát dehydrogenáza	RNA	ribonukleová kyselina
LGG	gliom nízkého stupně malignity	SEGA	subependymální obrovskobuněčný astrocytom
KS	Karnofského skóre	sLGG	spinální gliom nízkého stupně malignity
LGG	gliom nízkého stupně malignity	SNV	jednonukleotidová variace
MAPK	mitogen aktivující proteinová kináza	TRK	receptorové tyrosin kinázy
MLPA	mnohočetná ligace závislá na amplifikaci prob	ZLJ	zadní jáma lební

Obsah

1. Úvod	9
1.1 Gliomy nízkého stupně malignity v dětském věku	9
1.2 Pohled na současnou klasifikaci pLGG	11
1.2.1 Vybrané histologické typy pLGG s důrazem na molekulárně genetickou perspektivu	12
1.3 Molekulárně-genetické alterace	12
1.3.1 MAPK/ERK dráha	18
1.3.2 Rodiny receptorových tyrosin kináz	24
1.3.3 Ostatní	28
1.4 Prognóza	32
2. Cíle práce	34
3. Sběr dat a metodika	36
3.1 Soubor pacientů a klinické sledování	36
3.2 RNA sekvenování	36
3.3 DNA metylační profilování	37
3.4 Statistická analýza	37
4. Výsledky	38
4.1 Genomická analýza spinálních pLGG	41
4.2 Přežití a zachování neurologických funkcí u talamických a talamopedunkulárních pLGG	42
4.3 Vzácné varianty mutací v IDH1 genu u pLGG mohou demaskovat Li-Fraumeniho syndrom	44
4.4 Vliv léčebné modalitty na studijní výsledky u pacientů s tumorem zadní jámy lební	45

5. Diskuze	47
6. Závěr	52
7. Souhrn	53
8. Summary	54
9. Seznam literatury	55
10. Přílohy	75
11. Další publikace autorky	76

1. Úvod

Tuto disertační práci tvoří výsledky, které vznikly komplexní analýzou kohorty dětských pacientů léčených v uplynulých 22 letech pro gliom nízkého stupně malignity. Výzkum probíhal dílem na Klinice dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a dílem v Laboratoři molekulární patologie Ústavu patologie a molekulární medicíny 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy. Jako hlavní řešitel bylo mým cílem popsat molekulárně genetické pozadí vytyčené kohorty pacientů a korelovat je s klinickým obrazem a průběhem onemocnění. Práce jako taková vznikla díky úzké spolupráci dvou pracovišť a sama o sobě podtrhává význam diagnózy jako syntézy vzhledu jednotlivých oborů.

1.1 Gliomy nízkého stupně malignity v dětském věku

Low grade gliomy u dětí (pLGG) představují nejpočetnější skupinu nádorů centrální nervové soustavy u dětí. (Ostrom et al., 2023) Jedná se o heterogenní skupinu co do lokalizace, histologických subtypů a biologického chování. Nejčastěji se s nimi setkáváme v první dekádě života, bez jasné predilekce pohlaví. (Arora et al., 2009) pLGG mohou být lokalizované kdekoli v CNS, přičemž 95 % pLGG je lokalizováno intracerebrálně a pouze 5 % spinálně, nejčastější lokalizací je zadní jáma lební (20 - 25 %). (Sievert & Fisher, 2009) Anatomická lokalizace se mění i v průběhu dětství a dospívání, kdy u dětí do předškolního věku včetně převažují zejména LGG v oblasti zrakové dráhy. Hemisferální tumory bývají nejčastěji diagnostikovány v druhé dekádě života. Bimodální incidence je patrná u tumorů zadní jámy lební s maximem v 7 resp. 13 letech. (Stokland et al., 2010) 5leté celkové přežití (OS) a přežití bez progresu (PFS) se uvádí 87 % - 95 %, resp. 55 % - 69 %. (Fisher et al., 2008) Riziko progresu pLGG ovlivňují faktory ze strany pacienta (věk v době diagnózy, přítomnost k nádorům predisponujících syndromů (CPS)), a faktory

charakterizující vlastní nádorové onemocnění (anatomická lokalizace tumoru, rozsah resekce a histopatologická povaha).

Doposud identifikované rizikové faktory pro nepříznivý klinický průběh onemocnění jsou nízký věk a rozvoj diencefalického syndromu v průběhu onemocnění. (Stokland et al., 2010) Z publikovaných klinických studií víme, že děti ve věku mladším než 1 rok diagnostikované s pLGG mají agresivnější průběh onemocnění a kratší PFS v porovnání se starší skupinou pacientů. (Mirow et al., 2014) Obecně lze říci, že čím jsou děti při diagnóze mladší, tím je biologické chování pLGG agresivnější a typické jsou častější progresy. 5leté PFS je pro věkové kategorie pod 1 rok 41 %, 1 - 3 roky 56 %, 3 - 5 let 58 %, 5 - 10let 79 % a nad 10let 77 %. (Stokland et al., 2010) V riziku progresy jsou také pacienti, u kterých již jednou k progresi onemocnění došlo. Naopak u pacientů staršího školního věku zvýšené riziko progresy nepozorujeme a pLGG klinicky imponují spíše jako indolentní léze. Mění se biologické chování LGG s věkem se v literatuře vysvětluje senescencí nádorů. (Buhl et al., 2019) Jedná se o biologický mechanismus, při kterém potenciálně onkogenní molekulární alterace spouští tumor supresorový mechanismus jako obranný mechanismus před nádorovým bujením. Ve dvou na sobě nezávislých studiích u pilocytárních atrocytomů byla prokázána na mRNA úrovni zvýšená exprese genů asociovaných s nádorem indukovanou senescencí [*CDKN2A (p16)*, *CDKN1A (p21)*, *CEBPB*, *GADD45A* a *IGFBP7*]. (Jacob et al., 2011) Níže zmíněné geneticky podmíněné syndromy jsou doposud jediné identifikované predisponující faktory ke vzniku pLGG. Podle dostupné literatury se více než 15 % pLGG vyskytuje v kombinaci s geneticky podmíněnými syndromy. (Helfferich et al., 2016) Pacienti s neurovývojovými onemocněními, jejichž podkladem je germinální mutace v genech *MAPK* dráhy jako jsou neurofibromatóza 1 (gen *NF1*), Noonanové syndrom (gen *PTPN11* nebo *RAF1*), encefalokraniokutánní lipomatóza (gen *FGFR1*) a familiární *FGFR1* germinální mutace mohou v rámci své komplexní klinické prezentace rozvinout i pLGG. (Schuettpelz et al., 2009; Elvis Terci Valera et al., 2018) Mezi další hereditární syndromy při kterých se může v dětském věku manifestovat pLGG patří Sturge–Weberův syndrom (Cohen & Walter, 2016), DiGeorgův syndrom (Xia et al., 2021), Downův syndrom (Satge et al., 2001), syndrom familiárního melanomu (A. K. Chan et al., 2017) a tuberózní skleróza (Chan et al., 2004). Prevalencí jednoznačně dominuje *NF1*. Nejčastějším nádorem centrálního nervového systému pozorovaným u *NF1* jsou gliomy optické dráhy (OPG), které

rozvine v prvních 8 letech života až 20 % pacientů s NF1. Nutno podotknout, že pLGG asociované s NF1 často zůstávají indolentní. (Gutmann et al., 2017)

Na druhé straně leží faktory charakterizující vlastní nádorové onemocnění. Mezi ně patří anatomická lokalizace, která je významným prediktorem prognózy. Lokalizace do značné míry podmiňuje rozsah resekce jako další klíčový prognostický faktor pLGG. V porovnání s kompletní resekci, která je nejčastěji dosažena v oblasti zadní jámy lební, mají pacienti, kteří podstoupili téměř úplnou resekci 8.3x, parciální resekci 12.3x, biopsii 11.4x a pacienti bez chirurgické intervence téměř 20x vyšší riziko progresu. (Stokland et al., 2010) Z pohledu histologie favorizuje univariální analýza přežití pilocytární astrocytomy, kde 5leté PFS dosahuje bez ohledu na léčebnou modalitu (resekce vs. chemoterapie) 72 %. Méně četné histologické podskupiny vykazují 5leté PFS podstatně nižší. (Stokland et al., 2010; Wisoff et al., 2011). Diseminace bývá iniciálně popisována přibližně u 4 % pLGG, v případě progresu tento podíl stoupá na 7 - 12 %. (Hukin et al., 2002; Prados & Mamelak, 1994) Zdá se, že přítomnost vzdálených ložisek u pLGG prognózu negativně neovlivňuje. (Perilongo et al., 2003) Biologické, genetické a klinické charakteristiky vysvětlující diseminaci u pLGG v současné literatuře nebyly uspokojivě vysvětleny.

Do jaké míry ovlivňují prognózu a reprezentují biologickou povahu pLGG charakteristické genetické změny, je do jisté míry předmětem tohoto sdělení. V následujícím textu úvodu rozeberu klíčové vlastnosti pLGG a stav současného poznání.

1.2 Pohled na současnou klasifikaci pLGG

Klasifikace tumorů CNS byla tradičně založena výhradně na histologických vlastnostech, a tak tomu bylo i u minulé klasifikace nádorových onemocnění CNS zaštitěné Světovou zdravotnickou organizací (WHO) z roku 2016, která rozděluje LGG do jednotlivých skupin dle histopatologických kritérií bez přihlídnutí k molekulárně genetické charakteristice těchto tumorů. (Louis et al., 2016) 30 % pLGG historicky pozbývalo typických rysů pro některou z WHO skupin a podle klasifikace WHO CNS 2016 byly zařazeny jako blíže nespecifikované (NOS). (Stokland et al., 2010)

WHO klasifikace CNS tumorů 2021 (CNS5) přinesla klíčové změny v diagnostice a klasifikaci CNS tumorů dětského i dospělého věku. (Louis et al., 2021) Do popředí staví integrovanou diagnostiku na základě histologie, imunohistochemie, zobrazovacích metod, klinického

průběhu onemocnění a molekulárně genetických charakteristik tumoru. Tato hybridní taxonomie představuje současný stav oboru, ale je pravděpodobně pouze přechodným stavem k ještě přesnější budoucí klasifikaci.

V poslední dekádě přináší důležitou informaci pro klasifikaci CNS tumorů epigenetická analýza tumoru. Ukazuje se, že většinu typů nádorů CNS lze spolehlivě identifikovat podle DNA metylačního profilu. (Capper et al., 2018) Na teoretické rovině koncept DNA metylačního profilu nádorů staví na tom, že je buněčná diferenciací řízena genovou expresí, která je kontrolována transkripcí jednotlivých genů. Tato kontrola se odehrává mimo jiné DNA metylací, tedy kovalentní vazbou methylové skupiny v místech genových promotorů a enhancerů (CpG ostrůvky). Celogenomový DNA metylační vzorec nádorových buněk pravděpodobně reprezentuje oboje, jak buňku původu, tak získané epigenetické změny, které se podílejí na vzniku nádorového bujení. (Fernandez et al., 2012)

1.2.1 Vybrané histologické typy pLGG s důrazem na molekulárně genetickou perspektivu

Podle klasifikace WHO CNS5 jsou gliální tumory rozděleny do 6 skupin: 1) Difuzní gliomy dospělého typu 2) **Difuzní gliomy nízkého stupně malignity u dětí** 3) Difuzní gliomy vysokého stupně malignity u dětí 4) **Non-infiltrativní (ohraničené) gliomy** 5) **Glioneuronální a neuronální nádory** a 6) Ependymomy. pLGG najdeme ve skupině difuzních gliomů nízkého stupně malignity dětského věku, ve skupině non-infiltrativních gliomů a ve skupině glioneuronálních a neuronálních tumorů. Celkem tyto tři skupiny sčítají 24 fascinujících jednotek. (Louis et al., 2021)

Ohraničené astrocytární gliomy

Pilocytární astrocytom (PA) tvoří přibližně 15 % všech primárních dětských mozkových nádorů, což z něj činí nejčastější gliom u dětí. Incidence je nejvyšší u malých dětí a s věkem postupně klesá. (Ostrom et al., 2019) Prakticky všechny PA studované pomocí molekulárně genetických metod nesly alteraci ovlivňující MAPK dráhu. (Zhang et al., 2013) Incidence jednotlivých genetických znaků se liší v závislosti na anatomické lokalizaci, typický PA je infratentoriální (80 % všech PA) *KIAA1549::BRAF* (60 % všech PA) alterovaný tumor. (Jones et al., 2008; Pfister et al., 2008) Zbývající část tvoří spektrum lokalizací a alterací přes *NF1* mutace (nejčastěji germinální), další alterace v genu *BRAF* (mutace, inserce, non-kanonické

BRAF fúze), *KRAS* mutace, *FGFR1* mutace či fúze nebo interní tandemové duplikace, fúze genů rodiny *NTRK*, fúze *RAF1* genu, až po velmi vzácné mutace *histonu 3 H3.3*. (Besnard et al., 2018; Chen & Gutmann, 2014; Gutmann et al., 2013; Jones et al., 2013) Neobvyklá pestrost se vysvětluje molekulárně specifickým otiskem buněk původu odrážející anatomickou lokalizaci a funkční diferenciaci daných buněk. (Sharma et al., 2007) Tuto hypotézu podporuje i odlišný metylační profil supra- a infratentoriálních PA. (Lambert et al., 2013)

Jeden z mála pLGG, který není dílem abnormální aktivity MAPK signální dráhy je **subependymální obrovskobuněčný astrocytom (SEGA)**. Genetickým podkladem je bialelická inaktivace *TSC1* nebo *TSC2* genu, která vede k abnormální aktivaci mTOR dráhy. (J. A. Chan et al., 2004) SEGA typicky vyrůstají ze subependymálního prostoru laterálních komor a obturují foramen Monroi, vzácněji se vyskytují ve třetí komoře. (Sharma et al., 2004)

Mezi další non-infiltrativní LGG, které se vzácně mohou vyskytnout i v dětském věku patří **choroidní gliom**. Typicky je lokalizovaný ve ventrální porci třetí komory a prezentuje se obstrukčním hydrocefalem. Onkogenní alterace typická pro tuto histopatologickou jednotku byla popsána v roce 2018 dvěma na sobě nezávislými skupinami jako *D463H* missense mutace v genu *PRKCA*. (Goode et al., 2018; Rosenberg et al., 2018)

Tumor pomyslně ležící na pomezí gliomů nízkého a vysokého stupně malignity je **astroblastom**. Klíčovou roli v jeho patogenezi hraje onkogenní fúze genu *MN1*. (Hirose et al., 2018) 95 % doposud pospaných astroblastomů bylo popsáno u ženského pohlaví. (Chen et al., 2020)

Glioneuronální a neuronální LGG

Z této skupiny pLGG lze vyčlenit jednotky, které jsou typicky lokalizované supratentoriálně kortikálně, a tím je dán jejich epileptogenní potenciál. Nejčastější epileptogenní tumor dětského věku je **gangliogliom (GG)** (Blumcke et al., 2017), který je asociovaný s hotspot mutací *V600E* v genu *BRAF*. Publikované incidence mutace *BRAF V600E* u GG ovšem oscilují mezi 10 % - 60 % v závislosti na anatomické lokalizaci, přičemž nejčastěji bývá zachycena u kortikálních tumorů a nejméně častá v oblasti míchy. (Pekmezci et al., 2018; Schindler et al., 2011) **Dysembryoplastický neuroepiteliální tumor (DNET)** tvoří další čtvrtinu tumorů dětského věku asociovaných s epilepsií. (Blumcke et al., 2014) 60 - 80 % DNET nese *FGFR1*

alteraci, druhá nejčastější změna je *BRAF V600E*. (Qaddoumi et al., 2016; Rivera et al., 2016) Význam abnormální aktivity *FGFR* u DNET podtrhává identifikovaná germinální mutace *FGFR1 R661P*, která je asociovaná s familiárním výskytem DNET. (Luzzi et al., 2019) Jako farmakorezistentní epilepsie se může demaskovat také **pleomorfní xanthoastrocytom (PXA)**, který tvoří méně než jedno procento astrocytárních tumorů a je pro něj typický přesah do leptomening. (Louis et al., 2007) Z molekulárně biologického hlediska nese nejčastěji mutaci *BRAF V600E* s přidruženou homozygotní delecí *CDKN2A* a/nebo *CDKN2B* delecí. (Ida et al., 2014)

Byť je **desmoplastický infantilní gangliogliom / desmoplastický infantilní astrocytom (DIG/DIA)** nejčastěji lokalizován superficiálně kortikálně, tak se jako epilepsie projevuje vzácně. (VandenBerg, 1993) Často prorůstá přes leptomeningy až do dura matter. Histologicky je stroma buď smíšené – astrocytární a neuronální – (DIG) anebo je přítomna pouze astrocytární komponenta (DIA). Drtivá většina DIG/DIA je diagnostikovaná před dosažením 24 měsíce věku života. Existují ojedinělé kazuistiky pozdější manifestace tohoto typu onemocnění, popřípadě jiné lokalizace než superficiální kortikální. Je nutné podotknout, že v těchto případech nebyla provedena molekulárně genetická analýza a je možné, že se jedná o nepřesně klasifikované tumory. (Per et al., 2009) Jako u většiny pLGG je za spouštěč tumorogeneze u DIG/DIA považovaná aktivace signální dráhy MAPK, nejčastěji prostřednictvím mutace nebo fúze onkogenu *BRAF* (*BRAF V600E*, *BRAF V600D*) nebo *RAF1*. (Greer et al., 2017; Wang et al., 2020) V literatuře se objevují zprávy o DIG/DIA kojeneckého věku jejímž spouštěčem jsou fúze *NTRK*, *ROS*, *ALK*. Je otázkou, zda se jedná skutečně o DIG/DIA či o infantilní hemisferální gliomy. Pomoci v odlišení těchto dvou entit může DNA metylační vzorec, který je pro obě skupiny odlišný. (Wang et al., 2020)

Jednou z nových jednotek v CNS5 klasifikaci je **difúzní glioneuronální tumor s oligodendrogliomovou složkou a nukleárními clustery (DGONC)**, který může být diagnostikovaný i v dětském věku. DGONC byl vyčleněn na základě metylačního profilu skupiny 31 tumorů, který vytváří v t-SNE mapě vlastní cluster. (Pickles et al., 2021) Další specifické molekulárně genetické markery zatím nebyly definovány. (Deng et al., 2020) Stejně jako DGONC je **papilární glioneuronální tumor (PGNT)** supratentoriální LGG. Typickou věkovou skupinu výskytu PGNT jsou adolescenti, s mediánem věku v době diagnózy 16let (rozmezí 6–54 let). (Hou et al., 2019) Molekulárním znakem PGNT je fúze onkogenu *PRKCA*, nejčastěji s fúzním partnerem *SLC44A1*. (Pages et al., 2015)

Rozety-formující glioneuronální tumor (RGNT) je vzácný pomalu rostoucí středočárový tumor mladých dospělých, adolescentů a dětí. Typicky zaujímá část IV. komory (Louis et al., 2007), ale byl již popsán i v dalších středočárových strukturách (pineální krajina, mícha, diencephalon, septum pellucidum a III. komora). (Krinawe et al., 2020; Anan et al., 2009; Wang et al., 2009) Zdá se, že na vzniku RGNT se podílí synergická aktivace MAKP dráhy a fosfatidylinositol-3-kináza (*PI3C*) signalizační dráhy. Na genetické úrovni je to prezentováno hotspot aktivační mutací v genu *FGFR1* spolu s *PIK3CA* mutací u 63 % pacientů. U 33 % pacientů i spolu s inaktivační mutací v *NF1* genu. (Sievers et al., 2019) Dalším převážně středočarovým pLGG je **myxoidní glioneuronální tumor**. Typicky se jedná o supratentoriální středočarové lokalizace (septum pellucidum, corpus callosum, periventrikulární, bílá hmota postranních komor, mediální olfaktorická oblast). Na molekulární úrovni nese nejčastěji mutaci v genu *PDGFRA*. Zajímavý poznatek k diskuzi je, že na základě metylačního profilu kladují spolu s DNET. (Solomon et al., 2018)

pLGG, který recentními poznatky přesáhl své pojmenování, je **difúzní leptomeningeální glioneuronální tumor (DLGNT)**. Dříve se za jedno z diagnostických kritérií považoval difúzní růst v leptomeningeálním prostoru mozku a míchy, recentně však byly publikovány solidní DLGNT bez leptomeningeální složky. (Appay et al., 2020; Chiang et al., 2017) Na genetické úrovni je charakterizován aktivací MAPK dráhy, nejčastěji *KIAA1549::BRAF* fúzí a buď samostatnou delecí 1p nebo 1q ziskem, nebo kodelecí 1p19q, vždy s absencí *IDH1* mutace. (Rodriguez et al., 2015) Kromě *KIAA1549::BRAF* fúze byly popsány u DLGNT také změny v genu *NTRK* či *RAF1*. (Deng et al., 2018) David T.W. Jones ve své publikaci navrhuje rozdělit na základě metylačního profilu DLGNT do dvou skupin. DLGNT methylation class (MC)-1 a DLGNT-MC-2. Skupinu DLGNT-MC-1 je prognosticky příznivější (5ti leté PFS 86 %, 5ti leté OS 100 %), spadají do ní převážně mladší pacient; medián věku v době diagnózy je 5 let. DLGNT-MC-2 mají o poznání horší prognózu (5ti leté PFS 14 %, 5ti leté OS 43 %), medián věku v době diagnózy je 14 let. Přestože na základě metylačního profilu vytváří DLGNT dvě jednotky, geneticky se tumory z těchto dvou tříd významně překrývají. (Deng et al., 2018) Součástí komplexní klinické prezentace autozomálně dominantního Cowdenova syndromu může být v dětském věku **dysplastický cerebelární gangliocytom**. Dvě třetiny pacientů s Cowdenovým syndromem mají zárodečnou mutaci v genu *PTEN*. (Marsh et al., 1998) Další jednotky – **multinodulární a vakuolizující neuronální tumor, centrální neurocytom, extraventrikulární neurocytom** – LGG jsou v dětském věku extrémně vzácné a jejich

spouštěcí mechanismy na molekulární úrovni jsou spíše nepoznané. Pediatrická data jsou omezená na jednotlivé kazuistiky nebo malé skupiny. (Capper et al., 2018; Turner et al., 2020) **Cerebelární liponeurocytom** jako jediný LGG ze skupiny glioneuronálních a neuronálních tumorů zatím nebyl popsán v dětském věku. (Gembruch et al., 2018)

Difúzní pLGG

Tento typ LGG se vyskytuje ve všech věkových skupinách a u dětí je v porovnání s non-infiltrativními pLGG vzácný. (Ostrom et al., 2023) Tvoří jej tumory astrocytární, oligodendroglální nebo smíšené. Klinickým průběhem se i přes infiltrativní růst do okolního CNS parenchymu jedná o tumory indolentní, u kterých je anaplastický zvrát vzácný. (Broniscer et al., 2007) Ve srovnání s ostatními pLGG mají nicméně prognózu horší a progresse jsou častější. Z pohledu molekulární genetiky se jedná dominantně o *IDH1-/H3-wildtype* tumory s buď *BRAF V600E* mutací, *FGFR1* alterací nebo změnou v genu pro *MYB* či *MYBL1*. Difúzní pLGG nenesou *CDKN2A/B* delecí. (Ellison et al., 2019; Stone et al., 2018) Mezi difúzní pLGG patří **angiocentrický gliom (AG)** typicky lokalizovaný v cerebrálním kortexu, ale stále častěji se objevují případové studie, kdy byl popsán v oblasti mozkového kmene. (Aronco et al., 2017) Virtuálně všechny AG vykazují přestavbu či změnu počtu kopií ve smyslu delecí či amplifikace lokusu pro gen *MYB* na 6q23.3. (Tatevossian et al., 2010) Nejčastěji se jedná o *MYB::QKI* fúzi a ve zbytku případů o jinou *MYB* alteraci. (Bandopadhyay et al., 2016) Novinkou CNS5 klasifikace mezi difúzními pLGG je **polymorfní low grade neuroepiteliální tumor mladých (PLNTY)**. PLNTY je charakterizovaný jako indolentní cerebrální novotvar manifestující se farmakorezistentní epilepsií u pediatrických pacientů či mladých dospělých. Mikroskopicky je patrná infiltrativně rostoucí oligodendroglální komponenta s kalcifikacemi a CD34 imunoreaktivitou. Jako u většiny pLGG i u PLNTY je patogenetickou podstatou abnormální aktivace MAPK dráhy. V souvislosti s PLNTY jsou popisované nejčastěji *BRAF V600E* mutace či *FGFR* fúze s různými fúzními partnery. (Huse et al., 2017) Metylačním profilem leží v blízkosti GG. (Capper et al., 2018) Zbylou část difúzních pLGG tvoří skupina **difúzních astrocytomů, MYB/MYBL-alterovaných a difúzních LGG MAPK-alterované**, které mohou být jak astrocytární, tak oligodendroglální. (Ryall et al., 2020; Zhang et al., 2013)

Poslední diagnostickou jednotkou, kterou je důležité zmínit je **oligodendrogliom, IDH mutovaný s 1p19q kodelecí (OG)**. Jedná se sice o typický difúzní gliom grade 2 a 3

dospělého věku, ale v literatuře byli popsáni adolescenti s OG nesoucím typické histologické i molekulární znaky. (Rodriguez et al., 2014)

1.3 Molekulárně-genetické alterace

Z pohledu molekulární genetiky představují pLGG unikátní skupinu nádorových onemocnění se stabilním genomem a nízkou mutační náloží. Spouštěcí alterace tzv. driver events se u pLGG vzájemně vylučují a téměř nikdy nekoexistují současně. (Zhang et al., 2013) V literatuře se pLGG označují také jako onemocnění jedné dráhy, přičemž aktivace RAS/MAPK dráhy je u pLGG téměř univerzální a probíhá na základě jednoho ze dvou popsaných mechanismů – genové přestavby či změny nukleotidu (SNV) genu *BRAF*. Fúze *KIAA1549::BRAF*, mutace *BRAF V600E* anebo mutace v genu *NF1* představují dvě třetiny alterací detekovaných u pLGG. (Ryall et al., 2020)

Zastoupení a rozmanitost molekulárních alterací studovaných u pLGG se liší nejen podle histologických subtypů, ale i podle anatomické lokalizace tumorů. S expanzí robustních molekulárně genetických metod v poslední dekádě se paleta známých alterací, které u pLGG fungují jako spouštěč onkogeneze, explozivně rozrostla.

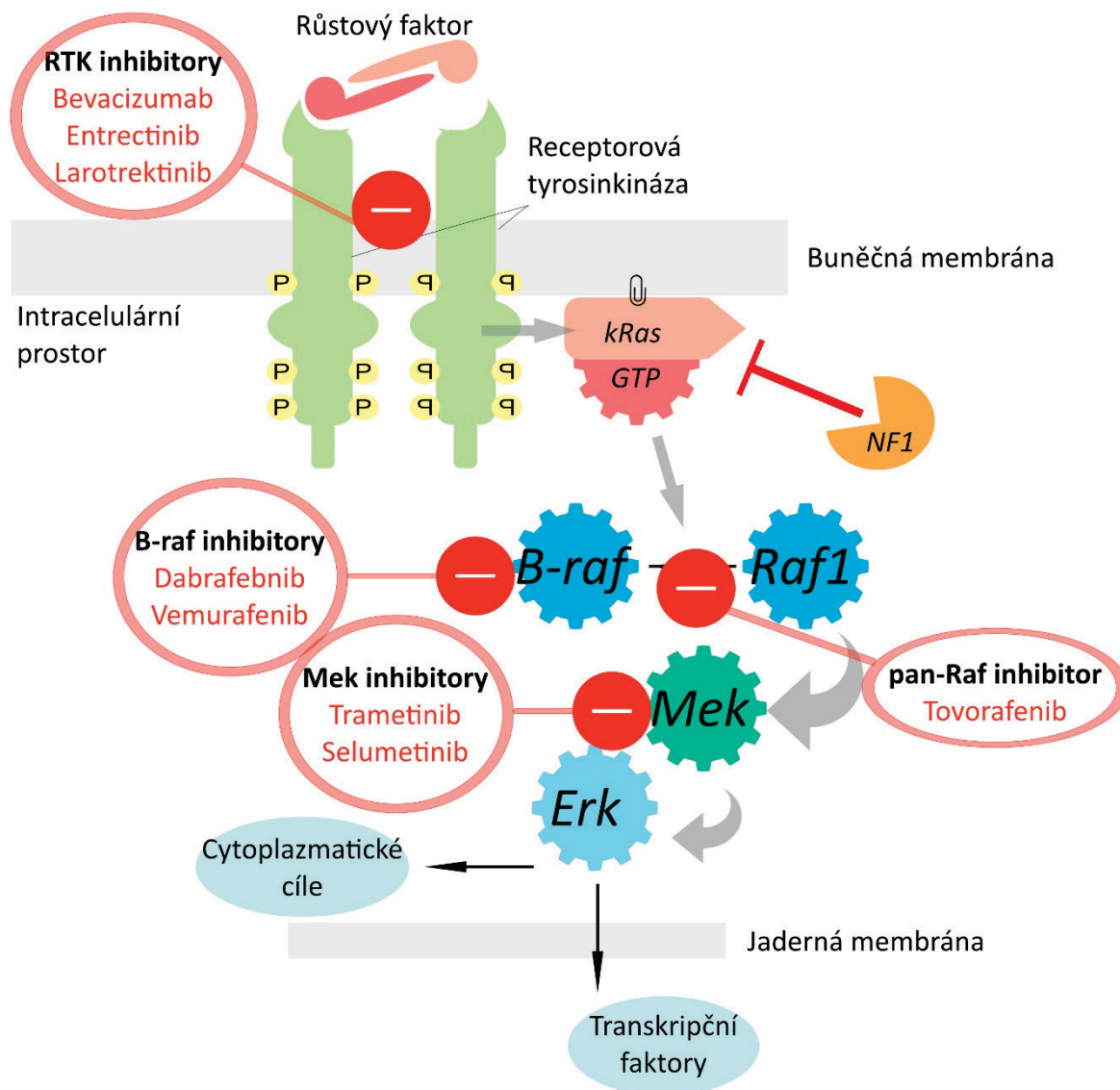
Onemocnění jedné dráhy

Predilekce pacientů s NF1 pro rozvoj pLGG spolu s identifikací onkodriverů *KIAA1549::BRAF* a *BRAF V600E* u sporadických pLGG vedla k hypotéze, že upregulace dráhy RAS/MAPK může být primární hnací silou vzniku pLGG. (Collins et al., 2015; Kool et al., 2012; Northcott et al., 2015) Následující studie potvrdily aktivaci MAPK kinázové dráhy pomocí měření hladiny fosforylovaného *ERK* proteinu i u sporadických pLGG s jinými genetickými než *BRAF* změnami. Aktivace MAPK signální dráhy se potvrdila i u pLGG se změnami v genech *FGFR* a dalších receptorových tyrosinkinázách (RTK), fúzí *RAF1*, mutací *KRAS* a změnách v genech *MYB* nebo *MYBL1*. (Ryall et al., 2020) **Tyto objevy činí z většiny pLGG onemocnění jedné dráhy a aktivaci MAPK dráhy u pLGG téměř universální.**

Mutační nálož, tedy počet mutací na Mb genomu, se u LGG uvádí extrémně nízká (<0.1 mutace na megabázi), s průměrně 1.6 nesynonymních SNV v jednom tumoru. Stabilita genomu pLGG potenciálně vyřazuje možnosti užití checkpoint inhibitorů PD-1, PDL-1 v terapii. (Johnson et al., 2017; Jones et al., 2013)

1.3.1 MAPK/ERK dráha

MAPK/ERK signalizační dráha je evolučně zakonzervovaná signalizační kaskáda proteinů, jejíž komplexní role v kancerogenezi byla popsána v četných studiích. (Burotto et al., 2014) Ovlivňuje široké spektrum biologických dějů klíčových pro buněčné dělení, přežití, diferenciaci, pohyb a rezistenci vůči lékům. (Luca et al., 2012) Fyziologicky fungující MAPK/ERK dráha hraje roli také v buněčné senescenci (Anerillas et al., 2020) a je regulována skrze ubiquitin-proteazomový systém. (Laine & Ronai, 2005) Výsledný efekt aktivace MAPK/ERK dráhy závisí nejen na načasování, délce a intenzitě signálu, ale také na prostorových vztazích odkud signál přichází. Proonkogenní či tumorsupresorový vliv aktivace MAPK/ERK dráhy je kontext-dependentní. (Burotto et al., 2014) MAPK/ERK dráha sehrává v buněčné signalizaci roli konvergentního uzlu, který přenáší signály jak z extracelulárního prostředí skrze transmembránové receptory, tak z vnitřního prostředí buňky. (Yang et al., 2013) Navíc skrze GTPázovou aktivitu proteinu *Ras* je MAPK/ERK dráha v obousměrné interakci s dalšími signalizačními drahami, jako je PI3K-AKT-mTOR dráha. (Burotto et al., 2014) Genetické abnormality deregulující kinázovou aktivitu MAPK/ERK dráhy vedoucí k její hyperaktivaci se podílí na vzniku a progresi nádorového bujení. Řada alterací podílejících se na vzniku malignity byla identifikována v různých úrovních MAPK/ERK dráhy a jsou předmětem dalších klinických studií jako cíle pro molekulární terapii. (Obrázek 1)



Obrázek 1. Schématické znázornění MAPK dráhy a klíčových míst, ve kterých působí molekulární inhibitory. Konkrétní inhibitory uvedené v obrázku se užívají k terapii pLGG a NF1 pacientů na našem pracovišti.

Níže následuje přehled genů jejichž změna u pLGG vede k abnormální aktivaci MAPK/ERK signalizační dráhy.

RAF

RAF je souhrnné pojmenování rodiny tří genů – *CRAF (RAF-1)*, *BRAF* a *ARAF*. Jedná se o kinázy, které přenášejí transmembránové signály do intracelulárního prostředí a ovlivňují zejména buněčnou proliferaci a diferenciaci skrze regulaci genové exprese.

BRAF

BRAF gen kóduje *B-raf* serin/treonin kinázu. Jedná se o vysoce regulovanou kinázu, jejíž role pro přenos signalizace v buňce skrze aktivaci MAP kinázové dráhy je naprosto klíčová. Změny v *BRAF* genu, které se objevují u pLGG lze rozdělit na mutace a fúze. Toto arbitrární dělení je důležité nejen pro diagnostiku, ale i prognózu a ev. klinickou odpověď na molekulární terapii. V roce 2020 byla publikovaná multi-institucionální integrovaná molekulárně-klinická analýza více než 1 000 pLGG, která potvrdila statisticky významný rozdíl v prognóze pacientů podle typu alterace, která postihuje gen *BRAF*. Nádory s fúzí *KIAA1549::BRAF* mají lepší prognózu než *BRAF V600E* (5leté PFS 69 % pro *KIAA1549::BRAF* vs 52 % pro *BRAF V600E*). (Ryall et al., 2020)

Fúze

***KIAA1549::BRAF* fúze** je nejčastější genetickou alterací u pLGG a byla popsána v roce 2008 dvěma na sobě nezávislými vědeckými skupinami. (Jones et al., 2008; Pfister et al., 2008) V literatuře se uvádí, že fúzi *KIAA1549::BRAF* nese 30 – 40 % pLGG. (Ryall et al., 2017) Molekulárně genetickým podkladem je tandemová duplikace onkogenu *BRAF* o velikosti 2 Mb na chromosomu 7q34, která vede k fúzi s genem *KIAA1549*. Tato přestavba vyúsťuje ve ztrátu N-terminální regulatorní domény genu *BRAF*, což způsobí downstream up-regulaci RAS/MAPK dráhy. (Jones et al., 2008) Vzhledem k vysoké četnosti se *KIAA1549::BRAF* fúze dělí na podtypy podle místa zlomu, tedy fúzujících exonů. Nejčastěji je popisovaná fúze exonů 16-9 (49 %), dále ex15-9 (35 %), ostatní fúze jako ex16-11 jsou méně časté, varianty ex13-11, ex15-11, ex18-10, ex19-9 se v literatuře označují až za vzácné. (Lassaletta et al., 2016; Ryall et al., 2020) Jestli i fúzní protein *KIAA1549* sehrává svoji biologickou roli v onkogenním efektu fúze, zůstává zatím nezodpovězeno. Obecně mají tumory s *KIAA1549::BRAF* fúzí excelentní prognózu, minimálně do jisté míry je to dáno dvěma již výše zmíněnými faktory – výskytem zejména u dobře ohraničených tumorů a výskytem v zadní jámě lební – oba tyto faktory usnadňují kompletní resekci tumoru. (Becker et al., 2015; Hawkins et al., 2011) Situace je o poznání jiná, pokud je fúze identifikovaná u difúzních LGG či v hlouběji uložených strukturách, kde není možné dosáhnout kompletní resekce. (Horbinski et al., 2010)

Z histologického pohledu nese *KIAA1549::BRAF* více než 80 % PA a z anatomického pohledu je popisována téměř u 60 % pLGG mozečku. Přes tuto predominanci lze *KIAA1549::BRAF* fúzi nalézt v téměř kompletním spektru lokalizací a histologií pLGG. (Ryall et al., 2020)

Non-KIAA1549::BRAF fúze

Onkogen *BRAF* je promiskuitní fúzní partner a díky implementaci sekvenování nové generace byla popsána řada dalších fúzních partnerů. Vždy se jedná o vzácné fúze, často popsané na jednotlivých případech. (Tabulka 1) Zatím zůstává nejasné, zda se dopad na průběh onemocnění u těchto fúzi liší. Oproti *KIAA1549::BRAF* se tyto nekanonické fúze, nacházejí zejména u hemisferálních pLGG a pLGG kmene. (Ryall et al., 2020)

Tabulka 1. Příklad publikovaných fúzních partnerů genu *BRAF* u pLGG

<i>non-KIAA1548 BRAF fúze</i>	Zdroj
<i>FAM131B::BRAF fúze</i>	(Cin et al., 2011)
<i>RNF130::BRAF, CLCN6::BRAF, MKRN1::BRAF, GNAI1::BRAF</i>	(Jones et al., 2013)
<i>GIT2::BRAF</i>	(Helgager et al., 2017)
<i>FXR1::BRAF</i>	(Zhang et al., 2013)
<i>SRGAP::BRAF</i>	(Jones et al., 2008)

Mutace

Bodová missense mutace ***BRAF V600E***, tedy záměna valinu za glutamát v aminokyselinovém řetězci, vede ke konstitutivní aktivaci kinázové domény bez předchozí aktivace G-proteinem Ras. Předpokládá se, že záměna aminokyselin, kterou mutace *BRAF V600E* způsobí, napodobí fosforylaci aktivačních aminokyselin T599 a S602. (Davies et al., 2002)

BRAF V600E představuje druhou nejčastější alterací popisovanou u pLGG (17 %). (Lassaletta et al., 2017) Ve více než polovině případů se vyskytuje v mozkových hemisférách, druhou nejčastější lokalizací je diencefalón. Na rozdíl od *KIAA1549::BRAF* fúze je mutace vzácná v mozečku. (Ryall et al., 2020) Incidence mutace *BRAF V600E* podle histologických subtypů osciluje v rámci jednotlivých studií. Nejvyšší incidence je uváděná u PXA (66 - 78 %), a GNT (GG 13 - 50 %, DNET 30 - 51 %). (Dougherty et al., 2010; Lassaletta et al., 2017) U PA

a v zadní jámě lební je obecně hotspot mutace *BRAF V600E* vzácná, na druhou stranu u extracerebelárních PA tuto mutaci některé studie popisují až v 33 %, nejčastější pak v diencephalonu. (Kurani et al., 2019)

Až v 10 % bývá spojena s dalšími změnami, nejčastěji s delecí *CDKN2A*, vzácně i s jinými SNV, přičemž byly popsány souběhy se SNV v *NF1*, *FGFR1*, *KRAS*. Doposud nebyl popsán souběh mutace *BRAF V600E* s jakoukoli fúzí. (Ryall et al., 2020) V literatuře je popisovaný možný souběh *BRAF V600E* a *H3K27M* mutace u gliomů histologicky působících jako pLGG. (Besnard et al., 2018)

Historicky je u *BRAF* mutovaných pLGG uváděna horší prognóza a odpověď na konvenční terapii (chemoterapie, radioterapie) ve srovnání s pLGG bez *BRAF* mutace. Podle jedno-institucionální analýzy 510 pLGG z roku 2017 je 10-leté přežití bez progresu 27 % (95% CI, 12 - 42 %) u *BRAF V600E* mutovaných versus 60 % (95% CI, 53 - 67%) pro *BRAF* wild-type pLGG, ($P < 0.001$). Na špatné prognóze se jako dva nezávislé faktory podílí také přítomnost *CDKN2A* delecce a inkompletní resekce. Kombinací těchto tří faktorů (přítomnost *BRAF V600E* mutace, rozsah resekce a ztráta *CDKN2A*) lze identifikovat skupinu vysoce rizikových pacientů s méně než 10% šancí na kontrolu pLGG pomocí konvenční terapie. Z takto definované kohorty pacientů se rekrutovali kandidáti k využití terapie molekulárními inhibitory. (Chen et al., 2017; Lassaletta et al., 2017)

Jiné bodové mutace v genu *BRAF* jsou u pLGG popisovány vzácně. Může se jednat o jinou záměnu nukleotidů v kodonu 600 nebo o SNV v jiném hotspotu (Jones et al., 2013; Lee et al., 2015) V návaznosti na léčbu molekulárními inhibitory a narůstajícím množstvím známých *BRAF* mutací je možné *BRAF* mutace rozdělit podle závislosti na *RAS* signalizaci a *RAF* dimerizaci do tří kategorií. Dělení je klinicky důležité, neboť jednotlivé třídy mají různou senzitivitu k molekulárním inhibitorům. (Yao et al., 2015) Třída I (*BRAF V600E* mutace) je na *RAS* signalizaci nezávislá, *BRAF V600E* je monomer s vysokou kinázovou aktivitou. *BRAF* monomery jsou citlivé k inhibici v dnešní době užívanými léky (vemurafenib, dabrafenib). Třída I je u pLGG majoritní. Naopak, mutace z tříd II a III jsou k inhibitorům užívaným v současnosti necitlivé. Třída II jsou na *RAS* nezávislé *RAF* konstitutivní dimery se střední až vysokou kinázovou aktivitou. U této třídy mutací jsou v současnosti užívané inhibitory neefektivní kvůli kompetitivní vazbě dimeru. Třída III jsou *RAS* dependentní *RAS-RAF* heterodimery s nízkou či dokonce žádnou kinázovou aktivitou, a tudíž nejsou mutace z této třídy aktivační. (Yao et al., 2017)

RAF1

RAF1 fúze jsou u pLGG velmi vzácné a jejich prognostický význam není jasný. Onkogenní potenciál **RAF1** fúzí spočívá podobně jako u **BRAF** fúzí ve fúzi C-terminální **RAF1** kinázové domény s N-terminální dimerizační jednotkou fúzního partnera, což vede k na **RAS** nezávislé dimerizaci, a tedy aktivaci **RAF1** kinázové domény. (Jain et al., 2017) Tabulka 2 nabízí přehled známých fúzních partnerů **RAF1** genu u pLGG.

Tabulka 2. Známé **RAF1** fúze u pLGG

RAF fúze	Zdroj
<i>QKI::RAF1</i>	(Daoud et al., 2019; Zhang et al., 2013)
<i>FYCO::RAF1</i>	(Zhang et al., 2013)
<i>NFIA::RAF1</i>	(Westmose et al., 2016)
<i>SRGAP3::RAF1</i>	(Jones et al., 2009)
<i>TRIM33::RAF1</i>	(Deng et al., 2018)

Je zajímavé, že *ATG7::RAF1* byla popsána pouze u HGG. (Johnson et al., 2017; Phillips et al., 2017)

NF1

Mutace v genu **NF1** vede ke ztrátě funkce cytoplazmatického proteinu neurofibrominu, který je za pojen do MAPK a mTOR dráhy skrze **RAS-RAF** regulaci. Za fyziologického stavu působí neurofibromin jako tumor supresorový protein aktivující GTPázu, která negativně reguluje aktivitu MAPK i mTOR dráhy urychlením hydrolýzy GTP vázaného na **RAS**. Normálně fungující neurofibromin tedy působí jako negativní regulátor buněčného růstu a dělení. Z pohledu diagnostiky představuje gen **NF1** výzvu pro svoji velikost (60 exonů), chybění hotspotů a diverzitě patogenních změn (posunové (frameshift) mutace, ztráta heterozygoty, či zvýšená methylace genu **NF1**). (Gutmann et al., 2013) **NF1** alterované sporadické PA jsou vzácné ve srovnání s pLGG asociovanými s neurofibromatózou 1. (Gutmann et al., 2017; Kluwe et al., 2001)

RAS

RAS (*rat sarcoma viral oncogene*) tvoří rodina tří genů - **KRAS**, **NRAS**, **HRAS**. Všechny tři geny kódují monomerní guanin trifosfatázy (GTPázy), které sehrávají důležitou roli při

přenosu extracelulárních signálů do intracelulárního prostředí. Missense mutace v proteinech *RAS* mění homeostatickou rovnováhu vazby GDP a GTP směrem k aktivnímu stavu. Jednotlivé *RAS* proteiny se liší tkáňovou specifitou, prevalencí mutací, strukturou, a tedy i downstream efektorovou funkcí.

KRAS je nejčastěji změněný onkogen u nádorů vůbec a bylo identifikováno několik preferenčních kodonů, ve kterých vznikají mutace. Každý má zdánlivě rozličný vliv na mechanismus a dynamiku abnormální *KRAS* aktivace. Může se jednat o vliv na hydrolýzu (*G12* a *Q61*) nebo výměnu nukleotidů (*A146*) nebo o mutace u nichž je vliv na hydrolýzu či výměnu nukleotidů méně dramatický (*G13* a *K117*). (Haigis, 2017)

U pLGG jsou mutace v genu *KRAS* velmi vzácné, na jednotlivých případech sporadických astrocytomů byly popsány v kodonech *G12*, *G13* a *Q61*. (Janzarik et al., 2007; Johnson et al., 2017; Sharma et al., 2005) Jejich vliv na průběh pLGG nebyl zatím popsán na dostatečně velké kohortě pacientů. U jiných nádorových onemocnění je ale patrné, že pacienti nesoucí *KRAS* mutované tumory hůře odpovídají na standardní terapii. I proto bylo v posledním desetiletí vyvinuto velké výzkumné úsilí ke vzniku *KRAS* inhibitorů. K současnosti Evropská léková agentura schválila *KRAS* inhibitor k užití u dospělých pacientů – sotorasib – cílící na subtyp *KRAS G12C*. (Huang et al., 2021) V literatuře není popsán *KRAS* mutovaný pLGG léčený pomocí cílené terapie.

PRKCA

PRKCA je gen kódující protein kinázu C alfa ($PKC\alpha$), která je členem rodiny kalcium a fosfolipid dependentních serin/treoninových kináz zavzatých do MAKP signální dráhy. U pLGG jsou popisovány buď fúze genu *PRKCA* (typicky u PGNT) nebo mutace (choroidní gliom). Kanonická fúze popisovaná u PGNT *SLC44A1::PRKCA* vzniká reciprokou translokací $t(9;17)(q31;q24)$. (Bridge et al., 2013)

1.3.2 Rodiny receptorových tyrosin kináz

Druhou nejčastější skupinou alterací (přibližně 10 % všech alterací) u pLGG představují změny v oblasti receptorových tyrosin kináz (RTK), nejčastěji v genu pro receptor pro fibroblasty růstový faktor 1 nebo 2 (*FGFR1* a *FGFR2*). Změny v ostatních RTK (3.4 %) popsané v literatuře zahrnují mutace v genu *MET* či *PDGFRA* či fúze v genech *ALK*, *ROS* a *NTRK2*. (Stucklin et al., 2019; Ryall et al., 2020)

FGFR

Fibroblast growth factor receptor (FGFR) je rodina transmembránových receptorů s tyrozinkinázovou aktivitou, jehož abnormální aktivace přispívá ke vzniku nádorového bujení. V literatuře jsou popsány 4 členové této rodiny (*FGFR1-4*). Do intracelulárního prostředí se signál z *FGFR* může přenášet přes MAKP, mTOR, PIK3/Akt dráhu a pravděpodobně i další. Ve kmenových buňkách FGFR signální dráhy mohou přenášet signál i přes Hedgehog, WNT, Notch a BMP (kostní morfogenetický protein). (Kato, 2007) *FGFR1* je druhý nejčastěji změněný gen u pLGG. Mezi somatické přestavby v genu *FGFR1* popisované u pLGG patří duplikace tyrosinkinázové domény, fúze, či bodové mutace. *FGFR1* mutace (hotspot *N546K* nebo *K656E*) jsou druhou nejčastější bodovou mutací po *BRAF V600E* u PLGG a je popisována u 5-10 % pLGG pacientů. (Ryall et al., 2020) Tyto aktivační mutace vedou k autofosforylaci *FGFR1*, která vede k upregulaci MAPK dráhy a mTOR dráhy, což ultimátně vede k buněčnému dělení.

Další alterace zahrnující *FGFR* popsané u pLGG jsou fúze.

FGFR1::TACC1: Jedná se o jednu z nejčastějších *FGFR* fúzí, zejména u PA. (Ryall et al., 2020) *FGFR1::TACC1* je in-frame fúze mezi částí genu *FGFR1*, která kóduje tyrosin kinázovou doménu receptoru a oblasti kódující gen *TACC1*. Mimo to, že je gen *TACC1* (Transforming Acidic Coiled-Coil) nejčastější fúzní partner pro gen *FGFR*, tak má mezi fúzními partnery výjimečné postavení i tím, že se jedná o protoonkogen. Ten se podílí na regulaci důležitých buněčných procesů jako je buněčné dělení, vznik a zánik mikrotubul a sestavení mitotického vřeténka. (Peset & Vernos, 2008) *FGFR1::TACC1* fúze má i proto unikání biologické vlastnosti, vedoucí k aneuploidii a abnormální proliferaci. Toto se zatím vysvětluje dvojí lokalizací *FGFR1::TACC1* fúzního proteinu. Na buněčné membráně vede abnormální aktivace konstitutivní dimerizací *FGFR1::TACC1* proteinu k aktivaci MAKP dráhy a PI3K dráhy. V jádře tento protein pravděpodobně narušuje funkci dělicího vřeténka. (Lasorella et al., 2017)

FGFR2 fúze: Fúze zahrnující *FGFR2* gen byly v souborech PLGG pacientů popsány a jsou méně časté než *FGFR1* fúze a fúzní partneři jsou různí. (Ida et al., 2021)

FGFR3 fúze: Fúze zahrnující *FGFR3* gen jsou z *FGFR* fúzí nejméně časté, v literatuře jsou popisovány jednotky případů pLGG. Podobně jako u *FGFR2* jsou fúzní partneři opět různí. (Bale, 2020)

Lze shrnout, že *FGFR* alterace jsou nejčastější u hemisferálních pLGG. (Lassaletta et al., 2016) Jejich vliv na prognózu zatím není zcela jasný. Nicméně je patrné, že pLGG nesoucí přetavbu *FGFR* typu *FGFR1::TACC1* a *FGFR1::TKD* nenesou další změny, naproti tomu *FGFR1* mutované tumory ano a zdá se, že tito pacienti mají horší prognózu. (Ryall et al., 2020) Terapeutická odpověď na užití *FGFR* inhibitoru erdafitinibu byla recentně publikována u jednoho pLGG pacienta s *FGFR1::TKD*. (Stepien et al., 2024)

NTRK

NTRK (Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase) je rodina genů zahrnující tři tyrosin kinázové receptory – *NTRK 1 (TrkA)*, *NTRK2 (TrkB)*, *NTRK3 (TrkC)*. Tyto RTK hrají klíčovou roli ve vývoji a funkci nervového systému. Ligandem pro *NTRK* receptory jsou neurotrofiny, skupina růstových faktorů důležitá pro přežití, diferenciaci a růst neuronů. (Kaplan & Miller, n.d.)

Analýza *NTRK* alterací u 13 467 tumorů dětského i dospělého věku publikovaná v roce 2018 popisuje *NTRK* fúze u gliomů dětského s incidencí 4 %, (resp. HGG vs LGG, 5.3 % vs 2.5 %) (Okamura et al., 2018) U pLGG byly identifikovány fúze v genech pro neurotrofické tyrozinkinázové receptory *NTRK2 (TrkB)* a *NTRK3 (TrkC)*, přičemž identifikované fúze zahrnovaly dimerizační doménu. (Tabulka 3) Předpokládá se, že tyto fúze vedou k ligand nezávislé dimerizaci a tím konstitutivní aktivaci RAS/MAPK dráhy a mTOR dráhy. (Jones et al., 2013) Je důležité zmínit, že ke konstitutivní aktivaci *NTRK* receptoru může docházet i dalšími typy genetických alterací jako jsou amplifikace, mutace či zvýšená exprese. (Okamura et al., 2018) Potenciální cíl pro terapii aktuálně dostupnými *NTRK* inhibitory představují pouze *NTRK* fúze. (Drilon et al., 2017) Výsledky, které přinesl pan-*NTRK* inhibitor larotrectinib v prospektivní studii vyvolaly velkou senzaci. Míra odpovědi byla deklarována až 76 %, tzn. u 76 % pacientů léčených larotrectinibem došlo k alespoň 30 % zmenšení tumoru podle Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST), verze 1.1. Po roce terapie u 71 % pacientů odpověď trvala. (Drilon et al., 2018) Orální pan-*NTRK*, ROS a ALK inhibitor – entrectinib – prokázal míru odpovědi 57 % a Úřad pro kontrolu potravin a léčiv USA jej schválila pro pacienty starší 12let. (Marcus et al., 2021)

Tabulka 3. NTRK fúze u pLGG v literatuře

NTRK fúze	Zdroj
<i>QKI::NTRK2, NACC2::NTRK2</i>	(Jones et al., 2013)
<i>ETV6::NTRK3</i>	(Zhang et al., 2013)
<i>RBPM5::NTRK3</i>	(Torre et al., 2018)
<i>SLMAP::NTRK2</i>	(Qaddoumi et al., 2016)

ROS

ROS1 gen kóduje receptorovou tyrosin kinázu. Fúze genu *ROS* vedoucí ke konstitutivní aktivaci kinázové domény byla identifikována u různých typů nádorových onemocnění, u pLGG jsou *ROS* fúze velmi vzácné. (Tabulka 4) Funkci RTK *ROS* v normálních buňkách nebylo zatím plně porozuměno, přesto mají *ROS* fúze terapeutický potenciál, ať již selektivními *ROS* inhibitory (lorlatinib) či multi-kinázovými inhibitory, kdy největší úspěch u dětských CNS tumorů má již zmiňovaný entrektinib. (Liu et al., 2018)

Tabulka 4. ROS fúze u pLGG v literatuře

ROS fúze	Zdroj
<i>CEP85L::ROS1, GOPC::ROS1</i>	(Johnson et al., 2017)
<i>TMEM106B::ROS1</i>	(Chmielecki et al., 2021)
<i>KLC1::ROS1</i>	(Nakano et al., 2019)

ALK

Gen pro kinázu anaplastického lymfomu (ALK) kóduje tyrosin kinázový receptor, který patří do super-rodiny insulinových receptorů. Jedná se o evolučně vysoce konzervovanou tyrosin kinázu, která má podle studií in vitro a na myších modelech roli při fetálním vývoji a diferenciaci neuronů. Změny genu *ALK* s onkogenním potenciálem byly identifikované napříč dětskými i dospělými, solidními i hematologickými malignitami. U pLGG se jedná o vzácné případy hemisferálních tumorů. (Tabulka 5) Změny v genu *ALK* představují potenciální cíle pro léčbu ALK inhibitory. (Cao et al., 2019) Jejich úskalí tkví ve vznikající rezistenci, s cílem ji překonat byly vyvinuty již tři generace ALK inhibitorů. Evropská léková

agentura schválila pro použití u dětí ALK inhibitor první generace crizotinib (ALK a ROS1 inhibitor). (Pearson et al., 2021)

Tabulka 5. Publikované ALK fúze u pLGG

ALK fúze	Zdroj
<i>GIGYF2::ALK</i>	(Valera et al., 2020)
<i>KTN1::ALK, CCDC88A::ALK</i>	(Olsen et al., 2015)
<i>PPP1CB::ALK</i>	(Chmielecki et al., 2021)
<i>EML4::ALK</i>	(Johnson et al., 2017)

MET

Gen Mesenchymal Epithelial Transition (MET) kóduje další transmembránovou receptorovou tyrosin kinázu. Mutace v genu MET byly popsány u pLGG (Ryall et al., 2020), kdežto MET fúze byly protazím, co se gliomů týče, identifikovány pouze u kojeneckých hemisferálních HGG, kde se ale předpokládá určitý biologický překryv mezi pLGG a pHGG. (Bender et al., 2016; Stucklin et al., 2019)

PDGFRA

Jako poslední RTK zapojenou do patogeneze pLGG zmíním **Platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFRA)**. Mutace v genu PDGFRA je spojována s myxoidním glioneurálním tumorem. Jedná se zde o dinukleotidovou mutaci v kodonu 385, která vede k záměně bazické aminokyseliny lysin za hydrofobní leucin nebo izoleucin (*p.K385L/I*). Funkční dopad mutace PDGFRA *p.K385L/I* nebyl zatím publikován. Přestavby postihující extracelulární část PDGFRA, které byly opakovaně pospané u HGG, vedou ke konstitutivní aktivaci intracelulární tyrosin kinázové domény a tím spouští aktivaci PI3K a MAPK signální dráhu. (Ozawa et al., 2010)

1.3.3 Ostatní

Přibližně 5 % alterací detekovaných pLGG jsou bez přímé souvislosti s RAS/MAKP dráhou. (Ryall et al., 2020) V literatuře byla věnována pozornost zejména onkogenům MYB1 a MYBL1 a genu pro histon H3F3A.

MYB a MYBL

MYB rodina genů se skládá ze tří členů – *MYB*, *MYBL1* (*MYB protooncogene like 1*), *MYBL2*, které kódují transkripční faktory (TF). Jednotlivé *MYB* TF interagují s různými kofaktory a jejich exprese (ať už ve smyslu tkáňové specifity či fáze embryonálního vývoje) se často nepřekrývá, což naznačuje jejich rozdílné biologické role. (Ramsay & Gonda, 2008) *MYBL1* protein je lokalizovaný v nukleoplasmě a podílí se na pozitivní regulaci transkripce pomocí RNA polymerázy II a dále na regulaci genové exprese cestou RNA interference (gene silencing by RNA). Jeho důležitý paralog *MYB* gen kóduje také transkripční faktor, jehož role při proliferaci a diferenciaci hematopoetických buněk skrze regulaci transkripce a genové exprese je v literatuře zdůrazňována.

Onkogenní změny postihující *MYB* protein popsané napříč různými nádorovými onemocněními jsou overexprese, fúze a ektopická vazba onkoproteinu *MYB* na somaticky mutované enhancerové sekvence.

Z pohledu pLGG jsou změny v genu pro *MYB* a *MYBL1* popisovány u difúzních gliomů, a to sice u AG a difúzního astrocytomu a *MYB*-*MYBL*-změněného. (Bandopadhyay et al., 2016; Qaddoumi et al., 2016) Typickou anatomickou lokalizací, ve které je alterovaný gen *MYB* či *MYBL* detekován, jsou mozkové hemisféry, byly ovšem popsány i v diencephalonu či mozkovém kmeni. (Chiang et al., 2019) Byť se z publikovaných dat zdá patrná predominance změn v genech rodiny *MYB* u astrocytárních gliomů, byl publikován i jeden případ tumoru s histologickými rysy oligodendrogliomu a *MYB::MAML2* fúzí. (Qaddoumi et al., 2016)

Patognomickým rysem se pro AG zdá fúze *MYB::QKI*. Bandopadhyay ve své publikaci popsala tři mechanismy na základě, kterých fúze *MYB::QKI* spouští a udržuje nádorovou transformaci. Za prvé translokace propůjčí *MYB* genu super enhancer transkripce. Za druhé *MYB::QKI* fúzní protein funguje jako TF pro gen *MYB*. Za třetí hemizygotní ztrátou exprese proteinu *QKI* dochází k částečné ztrátě tumor supresorové funkce proteinu *QKI*. (Bandopadhyay et al., 2016) Vzácně jsou u AG detekované i jiné *MYB* fúze (Tabulka 6), či souběh *MYB::QKI* fúze a *BRAF V600E* mutace. (Chiang et al., 2019)

Tabulka 6. AG a jiné než MYB::QKI fúze v literatuře

Myb fúze	Zdroj
MYB::ESR1	(Qaddoumi et al., 2016)
MYB::LOC105378099, MYB::PCDHGA1	(Chiang et al., 2019)

Skupina difúzních gliomů, MYB-, MYBL- alterovaných je definována abnormální expresí těchto genů. U *MYBL1* dochází k parciální duplikaci se zkrácením C-terminálního regulační domény *MYBL1*. Trunkace-duplikace *MYBL1* může být buď tandemová (Ramkissoo et al., 2013) nebo vytvářet fúze s různými fúzními partnery bez jasné preference. (Tabulka 7) V jiném početním zastoupení ale v obdobném spektru jsou u difúzních astrocytomu MYB-, MYBL alterovaných detekované *MYB* změny jako u AG.

Tabulka 7. *MYBL1* u difúzních gliomů v literatuře

MYBL fúze	Zdroj
MYBL1::PCDHGA1	(Chiang et al., 2019)
MYBL1::MMP16	
MYBL1::MAML2, MYBL1::LOC1549	

IDH1/2

Isocitrát dehydrogenáza 1 (IDH1) a isocitrát dehydrogenáza 2 (IDH2) jsou enzymy katalyzující oxidaci isocitrátu na alfa-ketoglutarát za přenosu elektronů na koenzym nikotinamidadenin dinukleotid fosfát (NADP+) za vzniku redukované formy NADPH. Každý z enzymů je kódován jiným genem (*IDH1* gen na chr2, *IDH2* gen na chr15). Mezi sebou se enzymy *IDH1* a *IDH2* liší subcelulární lokalizací (*IDH1* – cytoplasma, *IDH2* – mitochondrie). Oba sehraávají specifické role v buněčném metabolismu a podléhají vlastním regulačním mechanismům. Mutovaný gen *IDH1/2* produkuje protein se změněnou enzymatickou aktivitou, jejichž vlivem dochází k produkci 2-hydroxyglutarátu (2HG), který se v buňce jako karcinogen hromadí a narušuje buněčnou homeostázu. (Clark et al., 2016)

Mutace v genech pro *IDH1/2* jsou běžné u dospělých gliomů, kde jsou popisovány přibližně u 70 % nádorů stupně II a III. (Williams et al., 2008). V pediatrické populaci je mutace v genech *IDH1/2* extrémně vzácná, popisována v méně než 1 % případů. (Ryall et al., 2020) Typicky se v takových případech jedná o *IDH1 R132H* variantu *IDH1* mutovaného

proteinového řetězce, ale byly identifikovány i jiné mutace v tomto hotspotu, které vedou k jiným záměnám AMK. (Balss et al., 2008) IDH inhibitory jsou ve vývoji.

Histon H3F3A

Gen *H3F3A* kóduje na replikaci nezávislou variantu **histonu 3 H3.3**. To znamená, že se přímo nepodílí na replikaci DNA, ale podílí se na remodelaci chromatinu a regulaci genové exprese tím, že označuje aktivní chromatin. (Ahmad & Henikoff, 2002) Histon 3 H3.3 je důležitý pro transkripční plasticitu – zapíná a vypíná jednotlivé transkripční programy a je důležitý pro udržení transkripční paměti. (Yuen & Knoepfler, 2013) Metylace *H3K27* je marker heterochromatinu spojeného s transkripční represí zprostředkovanou Polycomb represivním komplexem (*PRC*). Mutace *K27M* vede k záměně lysinu za methionin, což způsobí ztrátu trimethylace, změnu na epigenetické úrovni. Pro zajímavost, byl popsán i další mechanismus ztráty trimethylace lysinu 27 u difúzních středočarových dětských gliomů, postrádající mutaci *H3-K27M*, a to sice nadměrnou expresí negativního proteinu *EZH1P*, který funguje jako regulátor *PRC*. (Castel et al., 2020)

Méně častá mutace *H3-G34R/V* vede k záměně glycinu za arginin nebo valin. Mutace *K27M* a *G34R/V* se v nádorech vzájemně vylučují a vykazují odlišné profily genové exprese a vzorce metylace DNA. Mechanismy, kterými mutace *H3.3G34R/V* přispívá ke gliomagenézi, jsou relativně méně zřejmé. (Schwartzentruber et al., 2012) Gen *HIST1H3B* kóduje **histon H3.1** a analogická mutace *p.Lys27Met (K27M)* v něm byla popsána u pLGG. (Bechet et al., 2014)

Ač jsou mutace v genu pro histon 3 H3 u pLGG vzácné, popisují se napříč histologickými subtypy (PA, PXA, GG) a vyskytují se buď jako jedinečná událost či v kombinaci s dalšími SNV (*BRAF V600E*, *FRFR1* či *NF1* mutace...). (Ryall et al., 2020) U pLGG nejsou k dispozici dostatečně robustní studie, jak ovlivňuje mutace v H3 celkovou délku přežití a klinický průběh. Z dostupných dat u HGG a kazuistik či souborů pacientů u pLGG lze extrapolovat, že mutace *H3K27* zhoršuje prognózu i u pacientů s pLGG. (Puget et al., 2015)

CDKN2A

Gen cyklin dependentní kinasový inhibitor 2A (CDKN2A) kóduje tumor supresorové proteiny *p16* a *p14arf*. Oba tyto proteiny jsou zapojeny do regulace buněčného cyklu a senescence. Jak již bylo zmíněno, *CDKN2A* delece se u pLGG objevuje jako přídavná

událost k BRAF V600E mutaci a je spojena s horší prognózou a rizikem maligní transformace. (Mistry et al., 2015) Pravděpodobně je to dáno tím, že ztráta *CDKN2A* umožňuje tumoru uniknout před onkogenem indukovanou senescencí. (Jacob et al., 2011)

PIK3CA

Gen *fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát 3-kinasová katalytická podjednotka alpha (PIK3CA)* kóduje protein *p110 alfa*, který je katalytickou podjednotkou *fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K)*, která je součástí mTOR signalizační dráhy. Onkogenní mutace v tomto genu byly nalezeny u DNET a mají aktivační funkci. (Luzzi et al., 2019)

1.4 Prognóza

pLGG se svojí biologickou povahou chovají jako chronické onemocnění, jsou pro ně typické mnohočetné progresy, přičemž celkové přežití zůstává excelentní a 80 % dětí se dožije dospělosti. Nicméně, vysoké OS pLGG je vykoupeno zásadním dopadem na kvalitu života pacienta a jeho rodiny. (Krishnatry et al., 2016) Jedinou kurativní modalitu pro ně představuje **totální resekce tumoru**, kterou podle publikovaných dat podstoupí až 80 % pLGG pacientů. (Wisoff et al., 2011) Hlavní prediktivní faktor chirurgické resekability je anatomická lokalizace, přičemž 94 % LGG lokalizovaných v zadní jámě lební je chirurgicky odstraněno, naproti tomu u středočarových tumorů v oblasti chiasmatu či hypotalamu bylo subtotálně nebo kompletně odstraněno pouze 3.2 % nádorů. (Stokland et al., 2010) Pokud chirurgický zákrok ohrožuje zachování neurologických funkcí, účinnost zbývajících léčebných modalit se značně snižuje. Historicky se užívala k léčbě neresekabilních progredujících pLGG **radioterapie**. V posledním desetiletí se ale pro závažné pozdní následky, kterých se naši pacienti dožívají, od této metody u pLGG odklonilo. Nelze zamlčet, že ozařování velmi dobře kontroluje růst pLGG a v mnoha případech bylo definitivním řešením opakujících se progresí, ovšem za cenu nevratného poškození neurokognitivních funkcí, změn na vaskulatuře CNS (Moay-Moay, ikty) a zvýšeného rizika maligní transformace. (Armstrong et al., 2011; Campen et al., 2012; Ullrich et al., 2007) Další léčebnou strategií jsou rozličné **chemoterapeutické režimy**. (Tabulka 8) S jejich efektivitou polemizuje neuspokojivé 5leté PFS 40 - 50 % u pacientů léčených chemoterapeutiky bez ohledu na to, jaký režim byl použitý. (Nageswara Rao & Packer, 2014)

Tabulka 8. Srovnání PFS u jednotlivých CHT režimů v publikované literatuře

Režim	5leté PFS	Studie
Karboplatina + vinkristin vs thioguanin + prokarbazin + lomustin + vinkristin	39 % ±4 % vs 52 % ± 5 %	(Ater et al., 2012)
Vinblastin	42 % ± 7 %	(Bouffet et al., 2012)
Karboplatina + vinkristin vs Karboplatina + vinkristin + etoposid	46 % vs 41 %	(Gnekow et al., 2017)
Kombinované režimy s Bevacizumabem	29 % *3leté PFS	(Green et al., 2023)

Porozumění biologii pLGG představuje další střípek ke stanovení správné diagnózy, jejíž důležitost a dopad na management léčby snad ani není potřeba více rozvádět. Rozklíčování biologických vlastností přispěje k vytipování skupiny pacientů, u které je třeba zvolit agresivnější léčebný přístup a kde naopak stačí vyčkávat a observovat. Potřeba nových léčebných možností, které zajistí kontrolu růstu nádorového onemocnění a zároveň nezatíží pacienta množstvím nežádoucích účinků, je pro tuto perspektivní skupinu pacientů více než zřejmá.

2. Cíle

Společným tématem historických studií pLGG je, že rekrutovaly a dělily pacienty podle klasických histologických znaků tumorů. Hypotézou je, že tyto znaky nemusí nutně odrážet základní biologii daného tumoru a tím pádem mohou být náchylné k nepřesnostem v klasifikaci. Ve světle těchto poznatků vznikl základ předkládané disertační práce.

Hlavním cílem bylo analyzovat a popsat retrospektivní kohortu dětských pacientů léčených pro gliomy nízkého stupně malignity. Jednotlivá témata, kterými se v práci zabývám jsou navržena tak, aby poskytla komplexní pohled na molekulárně-genetické charakteristiky pLGG a jejich význam pro diagnostiku, prognózu a léčbu.

Lze je rozdělit do několika dílčích kroků:

1. **Charakterizace molekulárně-genetického pozadí pLGG:** Cílem je podrobně popsat genetické změny v kohortě dětských pacientů léčených pro pLGG. To zahrnuje identifikaci a analýzu frekvence výskytu specifických genetických alterací, jako jsou SNV a přestavby v genech *BRAF*, *FGFR*, *MYB/MYBL1*, *NTRK*, *IDH*, *ALK*, *RAF*, *ROS* a dalších.

2. **Rozvíjet strategie pro optimální diagnostický proces a management materiálu:** S využitím získaných dat navrhnout optimalizaci diagnostického vyšetřovacího postupu s ohledem na vyšetřované geny a použité laboratorní metody.

3. **Popsat vzácné skupiny pLGG:** Identifikovat změny na molekulární a epigenetické úrovni u vzácných podskupin pLGG jako jsou míšní, talamické a IHD mutované hemisferální pLGG. Studovat u těchto raritních nádorů klinický průběh onemocnění včetně agresivity, odpovědi na léčbu, míry progresu a celkového přežití. To zahrnuje analýzu vztahu mezi specifickými genetickými změnami a faktory jako věk při diagnóze, anatomická lokalizace a histologický typ.

4. **Vyhodnotit potenciální terapeutické cíle pro cílenou léčbu:** Na základě identifikovaných genetických změn navrhnout a diskutovat možnosti cílené terapie pro dětské pacienty s gliomy nízkého stupně malignity. To zahrnuje posouzení vhodnosti a dostupnosti inhibitorů *BRAF*, *RAS*, *NTRK* a dalších relevantních molekulárních cílů pro léčbu této specifické patientské skupiny.

5. Analyzovat dopad léčebných modalit na kvalitu života pacientů: Posoudit, jak použité terapie ovlivňuje dlouhodobé neurologické výsledky a kvalitu života pacientů, včetně výskytu pooperačních deficitů a neurokognitivních dysfunkcí.

3. Sběr dat a metodika

3.1 Soubor pacientů a klinické sledování

Vzorky nádorů a klinická data pacientů s diagnózou pLGG, léčených v našem centru v letech 1999 až 2021, byly shromážděny pro hodnocení přežití, radiologických dat a molekulární analýzu. Pacienti byli sledováni ambulantně s pravidelnými kontrolami pomocí magnetické rezonance. Veškerá klinická data byla shromažďována retrospektivně. Poslední pacient byl zaregistrován dne 7. prosince 2021 a stav onemocnění pacientů byl aktualizován ke dni 22. února 2022. Pacienti, kteří jsou součástí analyzované kohorty, dali informovaný souhlas v souladu s našimi rutinními postupy.

Molekulárně-epigenetické vyšetření nádorových vzorků probíhalo v Laboratoři Molekulární Patologie Ústavu patologie a molekulární medicíny 2. LF pod vedením paní doktorky Lenky Krskové a v Laboratoři biologie solidních tumorů Kliniky dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol pod odborným dohledem pana doktora Aleše Víchy. Podrobný popis metod vyšetření je součástí publikací, které tvoří hlavní obsah disertační práce. Z molekulárně genetických metod tato práce staví zejména na metodách založených na nukleových kyselinách, tj. polymerázová řetězová reakce, Sangerovo sekvenování, RNA panelové sekvenování, metoda MLPA a vyšetření DNA metylačního profilu.

Stručnou metodiku RNA panelového sekvenování a volbu vyšetřovacího panelu genů a metodiku vyšetření DNA metylačního profilu uvádím níže.

3.2 RNA panelové sekvenování

Na základě kvality zachovaných nukleové kyseliny ve vzorcích jsme používali jeden z komerčně dostupných panelů Archer® FusionPlex® (Archer DX, Boulder, Colorado) - Lung kit / Oncology Research kit. (Tabulka 9) Tyto panely mají odlišné požadavky na kvalitu nukleové kyseliny v důsledku různého počtu analyzovaných genů a jsou používány pro identifikaci fúzí a SNV. Výhodou těchto panelů je možnosti identifikace fúze i s neznámým partnerem. Extrakce RNA, příprava knihovny a paralelní sekvenování byly provedeny podle doporučení výrobce. Amplikony multiplexní polymerázové řetězové reakce byly sekvenovány na přístroji Illumina MiSeq a data byla analyzována pomocí dvou různých softwarů Archer a Arriba (<https://github.com/suhrig/arriba/>). Identifikované fúzní transkripty byly validovány pomocí RT-PCR.

Tabulka 9. Přehled vyšetřovaných genů pomocí dvou užitých genových panelů firmy Diagnostica Longwood.

● označuje geny, u kterých byly vyšetřované přestavby (fúze, sestřihové varianty, změny v exonech), ♦ označuje geny, ve kterých byly vyšetřované SNV. Oncology research panel tvoří kompletní soupis genů, Lung panel pouze geny s **modrým** písmem. Zpracováno podle <https://www.dlongwood.com/>.

ABL1	●	ERBB2	●	INSR	●	NRG1	●	RARA	●
ABL2	●	ERBB4	●	JAK1	●	NTRK1	●	RELA	●
AKT1	●	ERG	●	JAK2	●	NTRK2	●	RET	●
AKT2	●	ESR1	●	JAK3	●	NTRK3	●	ROS1	●
AKT3	●	ESRRA	●	KIT	●	NUMBL	●	RSPO2	●
ALK	●	ETV1	●	MAML2	●	NUT	●	RSPO3	●
ARHGAP26	●	ETV4	●	MAST1	●	PDGFRA	♦●	SYK	●
AXL	●	ETV5	●	MAST2	●	PDGFRB	●	TERT	●
BRAF	♦●	ETV6	●	MET	♦●	PIK3CA	●	TFE3	●
BRD3	●	EWSR1	●	MSMB	●	PKN1	●	TFEB	●
BRD4	●	FGFR1	●	MUSK	●	PPARG	●	THADA	●
CRLF2	●	FGFR2	●	MYB	●	PRKCA	●	TMPRSS2	●
CSF1R	●	FGFR3	●	MYC	●	PRKCB	●	TSLP	●
EGFR	●	FGR	●	NOTCH1	●	PTK2B	●	TYK2	●
EPOR	●	IL2RB	●	NOTCH2	●	RAF1	●		

3.3 DNA metylační profilování

Analýza DNA metylačního profilu byla provedena pomocí sady Infinium Methylation EPICBeadChip Kit (Illumina, San Diego, CA, USA). Celkem 250 ng DNA izolované z čerstvě zmražené nádorové tkáně bylo změněno bisulfitovou konverzí užitím sady ZymoResearch EZ DNA Methylation kit (Zymo Research Corp, Irvine, CA, USA). V případě parafinových vzorků byla obnova DNA provedena podle pokynů výrobce (sada Infinium FFPE DNA Restoration kit, Illumina, San Diego, CA, USA), stejně jako samotná Infinium HD Methylation Assay. Metylační třída byla stanovena s použitím veřejně dostupných verzí klasifikátoru v11b4 a v12.5. (<https://www.moleculareuropathology.org/>)

3.4 Statistická analýza

Statistická analýza přežití bez progresu a celkového přežití byla spočítána metodou Kaplan-Meier a p-hodnoty pomocí log-rank testu v otevřeném statistickém prostředí R (v4.1.2), s použitím balíčků R survival (v2.41–3) a ggplot2 (v2.2.1).

4. Výsledky

Kohortu analyzovanou v této práci tvoří pacienti mladší 21 let, kteří byli diagnostikováni a/nebo léčeni na Klinice dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v letech 1999 - 2021 pro gliom nízkého stupně malignity. Pacienti se známým CPS nejsou součástí kohorty. Z celkového počtu 289 pacientů byly k dispozici klinická data pro analýzu přežití u 282. Chybějící nebo nedostatečně kvalitní materiál vzorku nádoru k molekulárně genetickému vyšetření mělo 52 pacientů, molekulární alterace byla identifikovaná u 237 pacientů.

Tabulka 10

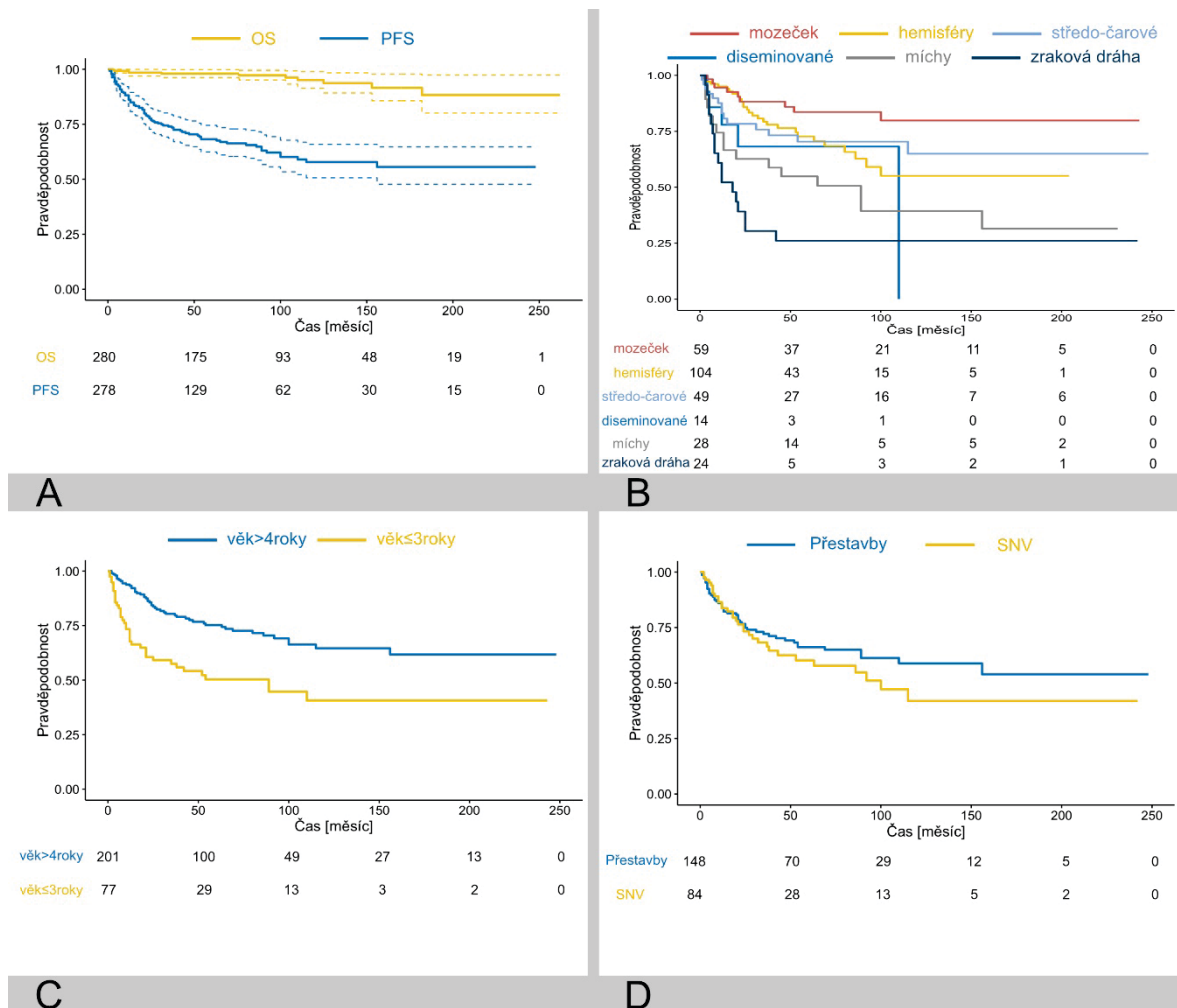
Proměnná	Počet pacientů
Celkem	289
Muži	148
Ženy	141
Věk [medián, roky]	8.68
Lokalizace	
Hemisferální	109
Zraková dráha	25
Středočarové	51
Mozeček	62
Mícha	28
Diseminované	14
Histologie	
Difúzní pLGG	
AG	1
DA	44
PLNTY	1
OG	3
Ohraničené astrocytární pLGG	
PA	128
PXA	8
Glioneuronální a neuronální tumory	
GG	51
DIA/DIG	6
DLGNT	2
DNET	21
RFGNT	1
MGNT	5
LGG NOS	18
Alterace	
Přestavby	
ALK	3
BRAF	108
FGFR	26
NTRK	8
MYB/MYBL	5
RAF	1
ROS	1
SNV	
KRAS	5
BRAF	59
FGFR	10
MET	1
IHD	10
UM/UN (UM)	52

Základní data shrnuje Tabulka 10. Medián věku celé kohorty byl 8.68 let (rozmezí: 0.00 – 20.22). Distribuce pohlaví byla rovnoměrná, kohortu tvořilo 149 dívek (51 %). Z lokalizací tvoří nejpočetnější skupinu tumory lokalizované v oblasti mozkových hemisfér (n = 109), druhou nejpočetnější lokalizací je mozeček (n = 62). Středočarovými tumory (n = 51) se rozumí pLGG lokalizované v oblasti basálních ganglií, glanduly pinealis, III. komory, thalamu, mesencefala, pontu, či prodloužené míchy. Vzácné jsou míšní pLGG (n = 28) a sporadické pLGG v oblasti zrakové dráhy (n = 25), dále bylo identifikováno 14 pacientů s diseminovaným pLGG. Z histologických typů dominují pilocytární astrocytomy (44 %), gangliogliomy (17 %), difúzní astrocytomy (15 %) a ostatní histologické skupiny tvoří zbylých 9 % (n = 27), 18 pLGG nebylo histologicky blíže zařazeno.

64 % identifikovaných alterací představovaly genové přestavby. Přestavby genu *BRAF* tvořily fúze *KIAA1549::BRAF* (n = 96) a nekanonické *BRAF* fúze (n = 12). Kategorii *KIAA1549::BRAF* fúzí lze podle četnosti identifikovaných exonů obou genů ve kterých k fúzi dochází, rozdělit na *KIAA1549::BRAF* běžné fúzní varianty (*ex16-ex9*, *ex15-ex9*) (n = 73), či *KIAA1549::BRAF* a vzácné fúzní varianty (*ex16-ex11*, *ex15-ex11*, *ex13-ex11*, *ex17-ex11*) (n = 19). V oblasti míchy byla identifikovaná doposud nepopsaná fúzní

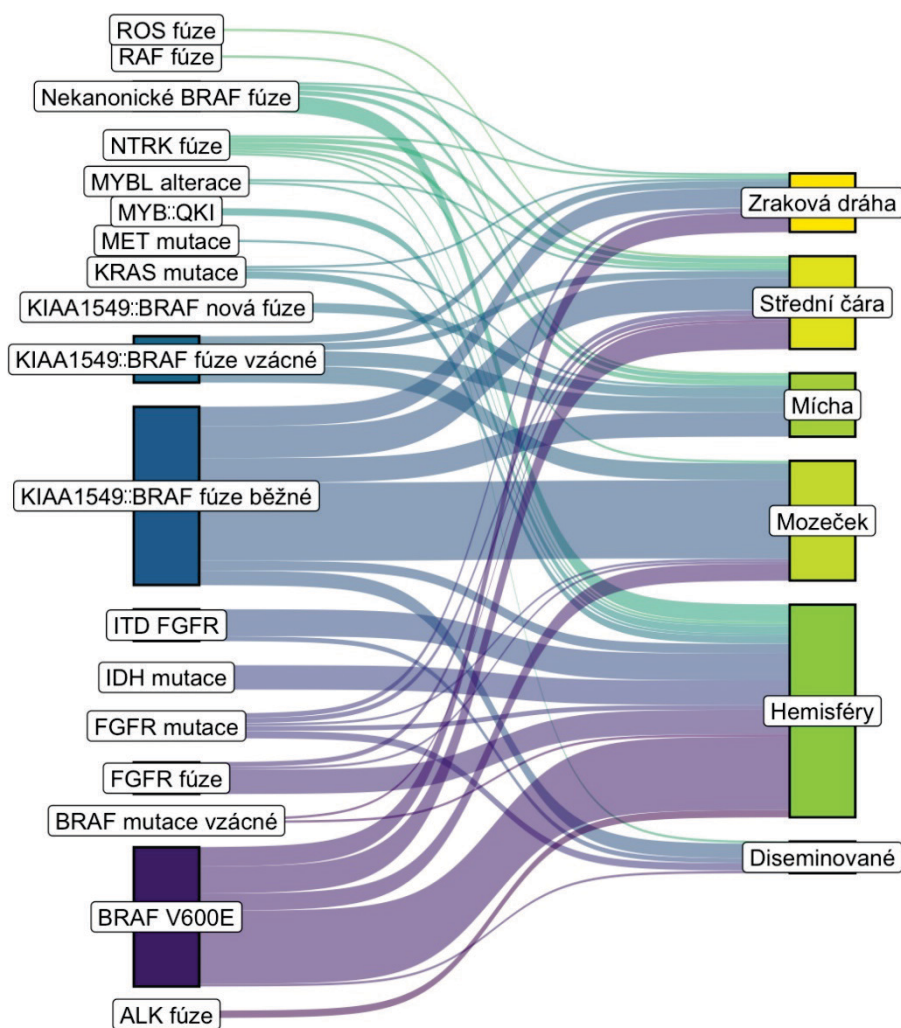
varianta *KIAA1549::BRAF ex10-ex9* (n = 4), které se blíže věnuji v publikaci o spinálních

pLGG. U 59 pacientů byla identifikována patogenní mutace v genu *BRAF*, z toho 96 % představovala mutace *BRAFV600E*. *FGFR* je druhý nejčastěji změněný gen ve studované kohortě pLGG. Byly identifikované *FGFR1* a *FGFR2* fúze (n = 13), *FGFR1* interní tandemové duplikace (n = 13) a *FGFR1* mutace (n = 10). Přestavby genu *MYB/MYBL* tvořily *MYBL* trunkace (n = 2) a *MYB-QKI* fúze (n = 3). Další fúzně změněné geny ve studované kohortě jsou onkogeny *NTRK2* (n = 8), *ALK* (n = 3), *RAF* (n = 1), *ROS* (n = 1). Jednonukleotidové varianty (SNV), mimo již zmíněný gen *FGFR1* a *BRAF*, nesl gen *IDH1* (n = 10), *KRAS* (n = 5) a *MET* (n = 1).



Obrázek 2. Kaplan-Meierovi křivky přežití. A – Křivka znázorňuje celkové přežití (žlutá barva) a přežití bez progresu (modrá barva) pro celou kohortu pacientů. B – Křivka přežití bez progresu u jednotlivých anatomických lokalit, $p < 0.0001$. C – Křivka přežití bez progresu pro pacienty, kteří mají tři roky a méně (žlutá barva) ve srovnání s křivkou přežití bez progresu pro pacienty 4 roky a starší (modrá barva), $p < 0.0001$. D – Křivka přežití bez progresu pro pacienty jejichž nádorové onemocnění neslo přestavbu (modrá barva) jednoho z výše uvedených genů ve srovnání s uvedenými SNV (žlutá barva), $p = 0.3$.

Celkové 5leté, resp. 10leté přežití je 97 % (CI: 0.951 – 0.995), resp. 93 % (CI: 0.892 – 0.984), 5leté, resp. 10leté přežití bez progresu je 67 % (CI: 0.611 – 0.734), resp. 58 % (CI: 0.507 – 0.659). (Obrázek 2 A) Medián času do progresu byl 18 měsíců (rozmezí: 1 – 156 měsíců). Medián sledování byl 74 měsíců (rozmezí: 1 – 262 měsíců). Statisticky významný rozdíl pro přežití bez progresu byl prokázán mezi jednotlivými anatomickými lokalizacemi, také mezi pacienty mladšími tří let a staršími (Obrázek 2 B – C), a také mezi pacienty s kompletně odstraněným tumorem a pacienty s ponechaným reziduem. Naopak se nepodařilo prokázat statisticky významný rozdíl pro přežití bez progresu mezi jednotlivými genetickými alteracemi ani mezi přestavbami a mutacemi. (Obrázek 2 D) Komplexnost a pestrost identifikovaných genetických změn v závislosti na jednom z klíčových faktorů progresu – lokalizaci – znázorňuje Obrázek 3.



Obrázek 3. Diagram znázorňuje distribuci genetických změn v závislosti na anatomických lokalizacích. Jednotlivé atributy jsou barevně odlišeny, šířka spojnic i boxů odpovídá poměrovému zastoupení daných entit.

Unikání jedno-institucionální konsekutivní kohorta s kompletní klinickou anotací, která byla v rámci disertační práce doplněna o komplexní molekulárně genetické vyšetření umožnila identifikovat a analyzovat vzácné skupiny pLGG. Vzácné ve smyslu anatomické lokalizace – míšní, (Příloha 1) talamické a talamopedunkulární pLGG, (Příloha 2) nebo ve smyslu molekulární alterace, kdy jsme analyzovali IDH alterované pLGG (Příloha 3). Předkládaná data byla také podkladem pro studii zaměřenou na pozdní následky po prodělané onkologické léčbě u pacientů s tumorem zadní jámy lební, kde největší podíl tvoří právě pacienti s pLGG. (Příloha 4)

4.1 Genomická analýza spinálních pLGG

Misove A, Vicha A, Broz P, Vanova K, Sumerauer D, Stolova L, Sramkova L, Koblizek M, Zamecnik J, Kyncl M, Holubova Z, Liby P, Taborsky J, Benes V, Pernikova I, Jones DTW, Sill M, Stancokova T, Krskova L, Zapotocky M. Integrated genomic analysis revealed high priority actionable targets in pediatric intramedullary low-grade gliomas. *Acta neuropathol commun.* 10, 143 (2022). doi: 10.1186/s40478-022-01446-0 (**Příloha 1**)

Dětské míšní gliomy (sLGGs) tvoří přibližně 5 % všech pLGG. Úroveň molekulárně genetického poznání této vzácné skupiny CNS tumorů dětského věku byla v době naší publikace značně neutěšená. Znalosti byly limitovány na výsledky získané pomocí metod FISH, Nano-String či RT-PCR. Panovala absence publikované výlučně dětské kohorty pacientů a chybělo jakékoli sdělení stran zkušenosti s cílenou terapií. Naše práce si kladla za cíl alespoň částečně tyto mezery v poznání pLGG eliminovat.

Kohortu tvořilo 26 pacientů, což představuje všechny bioptované pacienty s sLGGs léčené mezi léty 2000-2020. Medián věku při diagnóze byl 4.55 let (rozmezí 1.15 – 17.54 let), histologicky dominovaly pilocytární astrocytom, difuzní astrocytom a gangliogliom.

Analýza odhalila onkogenní alteraci u 93 % vzorků, které bylo možné rozdělit do dvou základních skupin. První skupinu tvořily *BRAF* fúze (83 %), které predominantně tvořily *KIAA1549::BRAF* fúze s vysokým podílem vzácných variant a druhou skupinou byly non-*BRAF* změny. Sekundární změny představovaly ve skupině non-*BRAF* sLGGs homozygotní delecí *CDKN2A* a u *BRAF* sLGGs patogenní varianty v *MET* a *EGFR*.

Za zmínku stojí zejména identifikace nové fúzní varianty *KIAA1549::BRAF* (ex10:ex9) ve čtyřech případech spolu se vzácnými typy fúzí *KIAA1549::BRAF* (21 %). Anatomická

distribuční analýza *KIAA1549::BRAF* ex10:ex9-pozitivních nádorů odhalila specifický vzorec, kdy tumory nesoucí tuto fúzi jsou lokalizovány cerviko-thorakálně. V jiné anatomické lokalizaci tato nová fúzní varianta nebyla v naší kohortě pacientů odhalena.

Non-*BRAF* změny (*CLIP::NTRK2*, *KANK1::NTRK2*, *RAF1::QKI* a *KRAS Q61H*) byly nalezeny u čtyř pacientů. Skupinu spojoval nízký věk (≤ 3 roky) při diagnóze a atypické histologické rysy. Molekulární testování hrálo v této skupině pacientů klíčovou roli pro stanovení správné diagnózy a při rozhodování o léčebné strategii. Příkladem toho může být pacient, který byl iniciálně na základě histologického vyšetření klasifikován jako HGG (anaplastický astrocytom grade III) a díky molekulárním a epigenetickým charakteristikám tumoru byl překlasifikován jako sLGG. To mělo zásadní vliv na jeho management.

Prezentovaná data představují další střípek pro budoucí prospektivní pLGG studie. Lze shrnout, že více než polovina nalezených genetických alterací nebyla dříve v kontextu sLGGs popsána. Dokonce byla odhalena nová varianta fúze *KIAA1549::BRAF* ex10:ex9, která se zdá pro míšň lokalizaci exkluzivní. V kontextu nových terapeutických možností se sLGGs jeví perspektivní, neboť 92 % pacientů z naší kohorty neslo alteraci potenciálně vhodnou k cílené terapii. Efekt *MEK* a *NTRK* inhibitorů dokládáme na několika kazuistikách, které jsou součástí publikace. Sdělení jednoznačně podtrhává význam důležitosti integrované diagnózy jak pro počáteční stratifikaci onemocnění, tak pro následnou terapii pLGG.

4.2 Přežití a zachování neurologických funkcí u talamických a talamopedunkulárních pLGG

Benes V, Zapotocky M, Liby P, Taborsky J, Blazkova J, Blazkova J, Sumerauer D, **Misove A**, Pernikova I, Kyncl M, Krskova L, Koblizek M, Zamecnik J, Bradac O, Tichy M. Survival and functional outcomes in paediatric thalamic and thalamopeduncular low grade gliomas. *Acta Neurochir* 164, 1459–1472 (2022). doi:10.1007/s00701-021-05106-5 (**Příloha 2**)

Talamické a talamopedunkulární pLGG svým růstem tlačí na funkčně krucální oblasti mozku (bazální ganglia, hypotalamus...) a přilehlé neuro-vaskulární struktury (II. a III. hlavový nerv, arteria cerebri posterior...). Svou nepříznivou anatomickou lokalizací působí řadu neurologických příznaků a neurochirurgický výkon v této diskrétní topografii je značně rizikový. Nicméně, pokroky v zobrazovacích metodách, mikrochirurgických metodách

a intraoperačním monitoringu umožnily v posledních letech extenzivnější chirurgické výkony. Cílem této studie bylo posoudit, zda je rozsáhlá resekce pro děti s talamickými a talamopedunkulárními pLGG prospěšná.

Do studie bylo zahrnuto 21 pacientů z naší kohorty pLGG, kteří byli léčeni mezi léty 2005 až 2020. Strategie operačního výkonu bylo odstranění celého tumoru v případě, že to bylo technicky proveditelné a neohrožoval by takový rozsah resekce pacientovi neurologické funkce.

Z odebraného materiálu nádorové tkáně byla základní molekulární alterace úspěšně identifikována u 17 pacientů (81 %). Většina nádorů nesla fúzi *KIAA1549::BRAF* (n = 10) nebo mutaci *BRAF V600E* (n = 3). U tří pacientů byly odhaleny změny v RTK (*FGFR1*, *NTRK1* a *ROS1*). Navíc, byla zachycena zárodečná mutace v genu *NF1*, což vedlo u tohoto pacienta k potvrzení neurofibromatózy typu 1. U tří pacientů (19 %) nebyla odhalena žádná změna na molekulární úrovni, což bylo buď v důsledku nedostatečného množství nádorové tkáně (n = 3) nebo v důsledku negativity výsledků všech použitých vyšetřovacích metod včetně RNA sekvenování (n = 1). Kompletní odstranění tumoru bylo provedeno u šesti pacientů, z celé kohorty měl jeden pacient trvalý pooperační deficit. Tento pacient s *KIAA1549::BRAF* fúzovaným tumorem podstoupil neúplnou resekci tumoru a následná progresse byla řešena chemoterapií. Žádný z pacientů, který podstoupil kompletní odstranění tumoru neprodělal v době publikace recidivu onemocnění. Ze zbylé části prodělalo progresi onemocnění 60 % dětí, medián přežití bez progresse byl 7,3let. Důležité je podotknout, že progresse byly bezpříznakové, zachycené na dispenzárních kontrolách magnetickou rezonancí a následně řešeny buď systémovou terapií, další resekci a jeden pacient byl pouze sledován.

Výsledky podtrhávají důležitost racionálního chirurgického přístupu, který upřednostňuje pooperační kvalitu života dětí s talamickými a talamopedunkulárními pLGG. Zatímco kompletní resekce nabízí nejlepší šanci na vyléčení, zásadní je rovnováha mezi kontrolou nádoru a zachováním neurologických funkcí, podpořená faktem, že 88 % pacientů, u kterých byla známá alterace, nese ve svém onemocnění potenciální cíl pro molekulárně terapii.

4.3 Vzácne varianty mutací v genu *IDH1* u pLGG mohou demaskovat Li-Fraumeniho syndrom

Sumerauer D, Krskova L, Vicha A, **Misove A**, Mamatjan Y, Jencova P, Vlckova M, Slamova L, Vanova K, Liby P, Taborsky J, Koblizek M, Klubal R, Kyncl M, Zadeh G, Stary J, Zamecnik J, Ramaswamy V, Zapotocky M. Rare *IDH1* variants are common in pediatric hemispheric diffuse astrocytomas and frequently associated with Li - Fraumeni syndrome. *Acta Neuropathol.* 1–3 (2020). doi:10.1007/s00401-019-02118-5 (**Příloha 3**)

Jak již bylo naznačeno v úvodu práce, mutace v genu *IDH1* jsou běžné u dospělých gliomů, ale v dětském věku jsou vzácné a jejich vliv je nejasný. Předkládaná práce se zaměřila na výskyt *IDH1* mutace u hemisferálních pLGG a překvapivě odhalila asociaci vzácných variant *IDH1* mutace u adolescentů s Li-Fraumeniho syndromem. Podkladem Li-Fraumeniho syndromu je zárodečná mutace v genu *TP53*, která nositele predisponuje k rannému rozvoji nádorových onemocnění.

Komplexní molekulárně genetická analýza odhalila v kohortě 76 hemisferálních pLGG celkem 9 pacientů (11.8 %) s *IDH1* mutací. Medián věku pacientů s mutovanými *IDH1* pLGG byl 12,8let (rozmezí 10.6 – 17.2let). Šokující bylo, že pouze tři pacienti nesli klasickou variantu mutace *IDH1 R132H*, kdežto zbylých 6 pacientů neslo vzácné *IDH1* mutace, konkrétně *IDH1 R132G*, *R132S* a *R132C*. Germinální *TP53* patogenní mutace byla odhalena u 43 % pacientů, u kterých byl k dispozici vzorek krve, a z nich 67 % (2/3) tumorů neslo vzácnou variantu *IDH1* mutace. Data získané pomocí DNA metylační array ukazují, že pLGG nesoucí *IDH1* mutace sdílejí podobný epigenetický profil s *IDH1* mutovanými gliomy dospělého věku. Toto zjištění naznačuje možné agresivní biologické chování *IDH1* mutovaných pLGG, což může usnadnit proces volby vhodné léčebné strategie a intenzity sledování daných pacientů.

Z dat uvedených v publikaci vyplývá, že změny v genu *IDH1* jiné než *R132H* jsou u dětských hemisférických difúzních astrocytomů relativně časté a v téměř polovině případů byly spojeny s k nádorům predisponujícím syndromem. Rutinně užívané metody detekce mutačního stavu *IDH1* spoléhají především na imunohistochemické vyšetření nebo droplet digital PCR. Obě tyto metody jsou specifické pro detekci mutace *IDH1 R132H*, což podle našeho zjištění může vést k podhodnocení výskytu *IDH1* mutace u pLGG. Celkově studie přispívá k porozumění molekulárně genetického pozadí hemisferálních pLGG, zejména

v kontextu CPS jako je Li-Fraumeniho syndrom. Prezentovaná data jednoznačně deklarují důležitost pátrání po *IDH* změnách v gliomech u dětských pacientů a podtrhují nutnost komplexního molekulárně genetického vyšetření pacientů s pLGG v kontextu stanovení diagnózy a rozhodováním o léčbě.

4.4 Vliv léčebné modality na studijní výsledky u pacientů s tumorem zadní jámy

lební

Kruseova J, Kovacova AS, Zapotocky M, Sumerauer D, Pernikova I, Starkova D, **Misove A**, Zichova A, Capek V, Langer T, Zehnhoff-Dinnesen A, Eckschlager T, Kyncl M. Older age is a protective factor for academic achievements irrespective of treatment modalities for posterior fossa brain tumours in children. PLoS One 15, 1–12 (2020). [doi:10.1371/journal.pone.0243998](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243998) (*Příloha 4*)

Studie sleduje pozdní následky a kvalitu života retrospektivní kohorty pediatrických pacientů léčených pro tumor v oblasti zadní jámy lební (ZJL) mezi lety 1980 – 2012. V definovaném časovém období přeživalo déle než pět let okolo 70 % pacientů s tumorem ZJL. Vysoká míra přežitá byla vykoupena intenzifikovanými léčebnými režimy, zejména chemoterapeutickými režimy na bázi cisplatinu a radioterapií. Studie si kladla za cíl zmapovat dlouhodobou toxicitu, která je významným problémem ovlivňujícím kvalitu života přeživších.

Kohortu tvoří 70 pacientů s gliálními tumory; z toho 61 jsou pLGG a zbytek ependymomy a 40 pacientů s meduloblastomem. V kohortě není žádný pacient s HGG, to je dáno tristní prognózou tohoto onemocnění, která ani nedovoluje rozvinout dlouhodobé nežádoucí účinky. Výkonnost, která byla hodnocena pomocí Karnofsky skóre (KS), byla snížena u 18 % pacientů s gliálním nádorem. Všichni tito pacienti byli léčeni radioterapií, chirurgicky nebo kombinací těchto dvou metod. Nejnižších hodnot KS dosahovali pacienti léčení radioterapií a byla prokázána statisticky významná korelace mezi nízkým KS a horšími studijními výsledky. Problémy se sluchem mělo 25 % všech pacientů. Zajímavé je, že nebyla prokázána žádná korelace mezi úrovní dosaženého vzdělání a poléčebnými změnami na magnetické rezonanci.

Výsledky zdůrazňují zranitelnost, zejména dětí mladších pěti let, k dlouhodobým nežádoucím účinkům, ze kterých byly prominentní poruchy sluchu a potíže s učením. Předložená data ilustrují, že intenzivní léčba za cenu záchrany života způsobí handicap, které následně snižují kvalitu života. Vysoké zastoupení pacientů s pLGG podtrhává důležitost hledání co nejšetrnějšího přístupu k těmto pacientům s perspektivou dlouhodobého přežití a biologicky indolentním onemocněním.

5. Diskuze

Těžiště disertační práce tkví v unikátní kohortě pacientů rozšířené o klinickou anotaci a molekulárně genetickou analýzu nádorových vzorků. Tvoří ji více téměř 300 pacientů léčených pro pLGG za 22 let. Obdobná kohorta u nás doposud nebyla publikovaná, práce obohacuje vědění o pLGG jak u nás, tak i v zahraničí, jak je doloženo konkrétními publikacemi. S určitou mírou opatrnosti lze výsledky extrapolovat na tuzemskou populaci pLGG a vyvozovat z nich závěry pro naši praxi.

Za nejdůležitější výsledky své práce považuji identifikaci driver alterací u konkrétních pacientů, neboť tradičně byly pLGG diagnostikovány výlučně na základě histologie, ale to ne vždy odráželo jejich biologické vlastnosti i když mezi jednotlivými histologickými entitami pLGG existují určité překryvy. Klasifikace, která stojí pouze na subjektivním hodnocení histologických znaků se z dnešního pohledu jeví jako nedostatečná. Aby bylo možné efektivně rozpoznat jednotlivé typy pLGG, je nezbytné mít robustní na biologii založenou klasifikaci. Je strhující, že s boomem molekulárních metod se nám nástroje objektivního poznání dostávají do rukou a je nutné se je naučit efektivně využívat a znát jejich limity. Hvězda molekulárního poznání pLGG se zrodila v roce 2008, kdy dvě na sobě nezávislé vědecké skupiny popsaly genovou duplikaci *BRAF* jako spouštěč gliomogeneze pLGG. (Jones et al., 2008; Pfister et al., 2008) Definitivně toto směřování potvrdila aktuální CNS5 klasifikace. Kromě toho, že přinesla již nevyhnutelnou integraci molekulárních charakteristik do diagnostiky, také odlišila difúzní gliomy dětského a dospělého typu, což je krok vpřed v jasném oddělení těchto prognosticky a biologicky odlišných skupin nádorů. U pLGG je tumorogeneze hnána abnormální aktivací MAP kinázové dráhy, kdežto u dospělých LGG dominují IDH alterované tumory. Biologicky se jedná o dvě zásadně odlišná onemocnění. Jednou z dílčích výzkumných otázek bylo, proč se u části dětských pacientů objevuje typ dospělých LGG IDH alterovaných? Vodítkem byla ztráta somatické p53, která byla imunohistochemickým vyšetřením patrná u šesti pacientů. Vzorek krve pro analýzu statutu germinální *TP53* byl k dispozici u sedmi pacientů a u tří z nich došlo k diagnostikování Li-Fraumeniho syndromu. (Příloha 3)

Explozivní nárůst znalostí o pLGG přinesl nesporné benefity pro pacienty, co se diagnostiky, stratifikace, managementu a možností léčby týče. Takto postavený komplexní přístup na druhé straně zvyšuje nároky na prováděné metody. Například s nárůstem poznanych

fúzních variant *KIAA1549::BRAF* je zřejmé, že identifikace pomocí RT-PCR se stává neefektivní. Na toto poukážeme i v publikaci o míšních gliomech, kdy díky komprehensivnímu molekulárnímu vyšetření byla objevena dokonce nová fúzní varianta *KIAA1549::BRAF ex10-9*. Naproti tomu jiná studie zabývající se míšními gliomy z roku 2020, která se z podstaty použitých metod omezila na identifikaci pouze nejčastějších *KIAA1549::BRAF* podtypů uvádí incidenci 42 %. (Grob et al., 2020) To je v korelaci s poznáním, kdy v naší kohortě sLGGs byla incidence běžných subtypů *KIAA1549::BRAF* 34 %, ale k tomu jsme identifikovali u dalších 35 % pacientů vzácný či nový typ této fúze. (Příloha 1) Volba nedostatečně robustních vyšetřovacích metod může vést v případě sLGGs až u poloviny *KIAA1549::BRAF* fúzovaných tumorů k falešně negativnímu výsledku.

Jedním z cílů práce bylo optimalizovat vyšetřovací postup u pLGG s ohledem na mnohdy limitované množství materiálu získaného probatorní biopsií, jako tomu bývá u diskretních anatomických lokalizací typu míšních a středočarových pLGG. U tumorů v neuro-anatomicky citlivých oblastech může být s ohledem na zachování neurologických funkcí jediná možnost biopsie či částečné odstranění tumoru. Právě u těchto pacientů, kde máme k dispozici rozsahem výkonu omezené množství biologického materiálu, hraje vyšetření spouštěcích alterací klíčovou roli, protože nepřináší pouze diagnostickou informaci, ale potenciálně představuje i cíl pro molekulární terapii a z našich dat víme, že pacienti s nekompletně odstraněným tumorem jsou v riziku progresu. Z tohoto pohledu, se za optimální jeví v prvním kroku cílené vyšetření nejčastějších alterací pro danou lokalitu a histologii pomocí RT-PCR či Sangerova sekvenování a v případě negativního výsledku přistoupit k RNA panelovému sekvenování, kdy volba konkrétního komerčně dostupného panelu genů závisí zejména na množství materiálu a jeho kvalitě. Tento postup krystalizoval při zpracování prezentované objemné kohorty pacientů a jeví se z ekonomického i časového pohledu neoptimálnější. Volba, která definuje, jaké alterace vyšetřit v prvním kroku algoritmu, se stává jasnější jak s přibývajícími publikovanými daty, tak se znalostí vlastní kohorty pacientů. Další vrstvu informací přináší vyšetření epigenetického otisku tumoru na základě DNA metylace. Velký posun v tomto ohledu přinesl veřejně dostupný Heidelberský klasifikátor, který byl v roce 2018 publikován v časopise Nature. Je založen na více než deseti tisících metylačních profilech CNS tumorů, na základě kterých rozděluje CNS tumory do metylačních skupin. (Capper et al., 2018) Aplikace ukázala, že dokáže některé skupiny CNS tumorů definovat velmi přesně. Co se týče dětských CNS tumorů stojí za

zmínku meduloblastomy, které lze dle DNA metylačního profilu rozdělit do čtyř hlavních klinicky relevantních podskupin nebo ependymomy, kdy sdružení podle metylace DNA je klinicky homogennější. Na základě současného stavu poznání a naší zkušenosti u pLGG vidím význam vyšetřování metylačního profilu pLGG zejména v odlišení od jiných skupin CNS tumorů, kdy například odlišení některý pLGG a HGG či ependymomů může být velmi složité a pro pacienta má rozsáhlé dopady na terapii (Příloha 1, příloha 3). V takovýchto indikovaných situacích může metylační DNA profil přinést chybějící střípek do diagnostické mozaiky.

Jak vyplývá z předložených výsledků, důležitým faktorem určujícím prognózu pLGG je věk v době diagnózy. pLGG novorozeneckého, kojeneckého a batolecího věku se chovají agresivněji v porovnání se staršími pacienty s pLGG. (Stucklin et al., 2019) Tento vzorec jsme potvrdili i u skupiny míšních gliomů. Pacienti mladší čtyři let se jednak odlišovali spektrem alterací, kdy 60 % z nich neslo buď *KIAA1549::BRAF* vzácné či nový typ fúze nebo non-*BRAF* fúze (*FGFR1*, *NTRK2*, *RAF1* fúze). Také se lišili mikroskopickým obrazem, který nesl určitou podobnost s ependymomy a bylo nutné pro definitivní diagnózu pLGG provést kompletní molekulární i epigenetické vyšetření vzorku. Žádná non-*BRAF* fúze v sLGGs kohortě nebyla identifikována u strašších pacientů. Hypotézu o horší prognóze pacientů mladších, než čtyři roky potvrdilo statisticky významně horší OS i EFS. (Příloha 1)

Významně prognózu ovlivňuje také lokalizace onemocnění. Nepředurčuje pouze klinickou prezentaci a možný neurologický deficit, ale prakticky definuje možný rozsah resekcího výkonu. Jak naznačuje úvod práce, jediné kurativní řešení pro pacienty s pLGG je makroskopicky kompletní resekce tumoru. Více jsme se vlivu rozsahu resekce na následné zachování neurologických funkcí a přežití věnovali u pLGG lokalizovaných v talamopedunkulární a talamické oblasti. Studie podtrhává indolentní povahu pLGG a zdůrazňuje, že prioritou chirurgického přístupu musí být zachování neurologických funkcí před rozsahem resekce. Reziduální onemocnění lze efektivně sledovat pomocí dispenzárních kontrol magnetickou rezonancí a při dokumentované progresi lze zvážit další terapeutický přístup, neboť pLGG v drtivé většině své pacienty neohrožuje na životě. V celé kohortě zemřelo 11 pacientů následkem nekontrolované progresse pLGG. 92 % pacientů v naší kohortě dlouhodobě přežívá a kvalita života po léčbě u nich hraje naprosto zásadní roli. Konzistentnímu sledování přeživších pLGG pacientů i v dospělosti je na Klinice dětské

hematologie a onkologie 2. LF UK součástí péče o pacienty od jejího založení. Díky tomu bylo možné hodnotit dosažené vzdělání u pacientů léčených pro tumor oblasti zadní jámy z nichž více než polovinu tvoří právě pLGG. (Příloha 4). Závěr studie, že se sníženou soběstačností se pojí nižší dosažené vzdělání a to zejména u pacientů po radioterapii, podpořil již zaběhlou klinickou praxi, kdy v roce 2006 byl prozatím poslední pacient s pLGG v prezentované kohortě léčen radioterapií. Nežádoucí účinky užití terapie byly tím prominentnější, čím byl pacient mladší v době diagnózy, což je v souladu, s již publikovanými daty. (Krishnatry et al., 2016) Historicky byla radioterapie léčbou volby pro symptomatické pacienty s inoperabilními pLGG, u kterých poskytovala kontrolu nad růstem tumoru. (Grabenbauer et al., 2000) Nicméně v kontextu, kdy se většina pacientů dožívá dospělosti jsou potenciální známé následky spojené s radioterapií akceptovatelné jen ve velmi ojedinělých pLGG případech. (Bandopadhyay et al., 2014)

O to důkladněji by měla být radioterapie zvažována u pacientů, kteří nesou ve svém nádorovém onemocnění potenciálně cílitelnou genetickou změnu, což v naší kohortě představuje téměř 90 % pacientů. V současné době máme zkušenost s cílenou terapií u pacientů s pLGG, jmenovitě s BRAF, MEK a NTRK inhibitory, či kombinací BRAF a MEK inhibitorů. (Bouffet et al., 2023) Aktuálně je na našem pracovišti otevřená klinická studie fáze 3 s akronymem LOGGIC/FIREFLY-2, která randomizuje užití pan-RAF inhibitoru v první linii oproti standardní chemoterapii u dětských pLGG pacientů. (van Tilburg et al., 2024) V toto mezikontinentální výzkumné úsilí vyústili dosavadní zkušenosti s molekulárními inhibitory u pLGG, které mění zaběhlé paradigma u BRAF V600E mutovaných tumorů jako prognosticky nepříznivých. Nutno ovšem podotknout, že zkušenost s cílenou léčbou u pLGG je zatím limitovaná na kazuistiky či soubory pacientů a předpokládané dokončení výše zmíněné randomizované studie je odhadováno na rok 2030. Navíc znalost dlouhodobých efektů této terapie u dětských pacientů je prozatím limitovaná. Stále platí, že pacienti s *BRAF* mutovanými tumory mají zvýšené riziko maligní transformace, která se objevuje zhruba u 3 % všech pacientů s pLGG. Nejčastěji opakující se alterace identifikované u maligně transformovaných pLGG jsou *BRAF V600E* a delece *CDKN2A*. Dokonce retrospektivní analýza sekundárních *BRAF* mutovaných HGG původní *BRAF* mutaci odhalila ve všech odpovídajících pLGG a v 80 % i původní ztrátu *CDKN2A*. (Mistry et al., 2015)

Lze tedy shrnout, že molekulárně epigenetické znalosti konkrétního tumoru jsou integrální součástí up-to-date diagnostického procesu. Žádná samostatně stojící metoda nebude schopna pLGG spolehlivě klasifikovat a vždy se bude jednat o integraci informací, zejména anatomické lokalizace, histologického subtypu, driver alterace a v konkrétních případech i metylačního profilu. Spolehlivá znalost biologie pLGG je klíčová pro diagnostiku, stratifikaci rizika a léčbu. Molekuly inhibující abnormální aktivitu MAPK dráhy jsou předmětem studií a představují určitou naději, jak získat kontrolu nad růstem nádorů, u pacientů s opakovaně progredujícím pLGG.

6. Závěr

Pacienti léčení pro pLGG zůstávají i nadále terapeutickou a prognostickou výzvou, a nutí nás se stále více zaměřit na kvalitu života přežívajících. Balancujeme zde na hraně mezi chronickým onemocněním s četnými progresemi a potenciálním maligním zvratem a toxicitou podávané léčby. Správné stanovení diagnózy je pro pacienty s pLGG krucální. Disertační práce demonstruje na mnoha rovinách důležitost integrované diagnózy pro tyto pacienty a odklání se od dnes již obsoletního poznání pLGG založeného pouze na histologickém obraze onemocnění. Neméně důležitá je volba dostatečně robustních laboratorních vyšetřovacích metod, neboť nevhodně zvolenými postupy nám nemalá část pacientů nesoucí vzácné varianty genetických změn uniká.

Jedním z motivátorů, proč práce vznikla, je že potřebujeme v klinické praxi nástroj, na jehož základě budeme schopni pacienty spolehlivě identifikovat, díky čemuž bude moci vytvořit efektivnější léčebná schémata. Byť úplné odstranění tumoru představuje jedinou kurativní modalitu, vždy musí být provedeno s maximálním důrazem na zachování neurologických funkcí s ohledem na excelentní celkové přežití pacientů s pLGG. Radioterapie je pro své dobře známe dlouhodobé nežádoucí účinky rezervována pouze pro rozvážně indikované pacienty s nekontrolovatelnými progresemi onemocněními a dobrou perspektivou stran kvality nadcházejícího života. Ani dubiózní efekt různých chemoterapeutických režimů nedodává příliš na jistotě. Optimisticky může znít, že téměř dvě třetiny pacientů s pLGG nesou potenciální cíl pro terapii molekulárními inhibitory, což klade důraz na precizní znalost molekulárně genetického pozadí tumorů našich pacientů, pro což tato práce staví dobrý základ.

Domnívám se, že práce představuje významný přínos k pochopení molekulární patogeneze pLGG a jejich diagnostiky a léčby. Integrace získaných poznatků do klinické praxe může vést k významnému zlepšení péče o pacienty, zvýšení míry přežití a zachování kvality života. Je zřejmá potřeba dalšího výzkumu, zejména pro pacienty s mnohočetnými progresemi nebo nádory v kritických anatomických lokalizacích.

7. Souhrn

V disertační práci jsem se zaměřila na komplexní molekulárně-genetickou charakterizaci pLGG v uplynulých dvaceti letech. Díky spolupráci Kliniky dětské hematologie a onkologie a Laboratoře molekulární patologie Ústavu patologie a molekulární medicíny bylo možné detailně popsat genetické změny v těchto nádorech a korelovat je s klinickými výsledky. Zjištění potvrzují zásadní význam integrace molekulární diagnostiky do klinické praxe, která umožňuje přesnější klasifikaci nádorů, lepší prognózu a v některých případech i výběr cílené terapie. Přínos práce tkví také v detailním rozboru vzácných skupin pLGG, který odhalil specifika v molekulárním profilu. To umožňuje lépe pochopit biologii těchto nádorů a potenciálně nabízí nové možnosti pro jejich léčbu.

8. Summary

In my dissertation, I focused on the comprehensive molecular-genetic characterization of pLGG in the past twenty years. Thanks to the collaboration between the Department of Pediatric Hematology and Oncology and the Laboratory of Molecular Pathology at the Institute of Pathology and Molecular Medicine, it was possible to describe in detail the genetic changes in these tumors and correlate them with clinical outcomes. The findings confirm the crucial importance of integrating molecular diagnostics into clinical practice, which allows for a more precise classification of tumors, better prognosis, and in some cases, the selection of targeted therapy. The contribution of the work also lies in the detailed analysis of rare pLGG groups, which revealed specifics in the molecular profile. This enables a better understanding of the biology of these tumors and potentially offers new possibilities for their treatment.

9. Seznam literatury

- Ahmad, K., & Henikoff, S. (2002). The Histone Variant H3 . 3 Marks Active Chromatin by Replication-Independent Nucleosome Assembly. *Molecular Cell*, *9*, 1191–1200.
- Al Krinawe, Y., Esmailzadeh, M., Hartmann, C., Krauss, J. K., & Hermann, E. J. (2020). Pediatric rosette-forming glioneuronal tumor of the septum pellucidum. *Child's Nervous System*, *36*(11), 2867–2870. <https://doi.org/10.1007/s00381-020-04575-w>
- Anan, M., Inoue, R., Ishii, K., Abe, T., Fujiki, M., Kobayashi, H., ... Nakazato, Y. (2009). A rosette-forming glioneuronal tumor of the spinal cord: the first case of a rosette-forming glioneuronal tumor originating from the spinal cord. *Human Pathology*, *40*(6), 898–901. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.humpath.2008.11.010>
- Anerillas, C., Abdelmohsen, K., & Gorospe, M. (2020). Regulation of senescence traits by MAPKs. *GeroScience*, *42*(2), 397–408. <https://doi.org/10.1007/s11357-020-00183-3>
- Appay, R., Pages, M., Colin, C., Jones, D. T. W., Varlet, P., & Figarella-Branger, D. (2020). Diffuse leptomenigeal glioneuronal tumor: A double misnomer? A report of two cases. *Acta Neuropathologica Communications*, *8*(1), 10–16. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-00978-7>
- Armstrong, G. T., Conklin, H. M., Huang, S., Srivastava, D., Sanford, R., Ellison, D. W., ... Morris, E. B. (2011). Survival and long-term health and cognitive outcomes after low-grade glioma. *Neuro-Oncology*, *13*(2), 223–234. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noq178>
- Aronco, L. D., Rouleau, C., Gayden, T., Crevier, L., Claude, J., Sébastien, D., ... Ellezam, B. (2017). Brainstem angiocentric gliomas with MYB – QKI rearrangements. *Acta Neuropathologica*, *134*(4), 667–669. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1763-1>
- Arora, R. S., Alston, R. D., Eden, T. O. B., Estlin, E. J., Moran, A., & Birch, J. M. (2009). Age-incidence patterns of primary CNS tumors in children, adolescents, and adults in England. *Neuro-Oncology*. <https://doi.org/10.1215/15228517-2008-097>
- Ater, J. L., Zhou, T., Holmes, E., Mazewski, C. M., Booth, T. N., Freyer, D. R., ... Pollack, I. F. (2012). Randomized study of two chemotherapy regimens for treatment of low-grade glioma in young children: A report from the Children's Oncology Group. *Journal of Clinical Oncology*, *30*(21), 2641–2647. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.36.6054>
- Bale, T. A. (2020, December 21). FGFR- gene family alterations in low-grade

- neuroepithelial tumors. *Acta Neuropathologica Communications*, Vol. 8, p. 21.
<https://doi.org/10.1186/s40478-020-00898-6>
- Balss, J., Meyer, J., Mueller, W., Korshunov, A., Hartmann, C., & von Deimling, A. (2008). Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathologica*, 116(6), 597–602. <https://doi.org/10.1007/s00401-008-0455-2>
- Bandopadhyay, P., Bergthold, G., London, W. B., Goumnerova, L. C., Morales La Madrid, A., Marcus, K. J., ... Manley, P. E. (2014). Long-term outcome of 4,040 children diagnosed with pediatric low-grade gliomas: An analysis of the Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) database. *Pediatric Blood & Cancer*, 61(7), 1173–1179. <https://doi.org/10.1002/pbc.24958>
- Bandopadhyay, P., Ramkissoon, L. A., Jain, P., Bergthold, G., Wala, J., Zeid, R., ... Resnick, A. C. (2016). MYB-QKI rearrangements in angiocentric glioma drive tumorigenicity through a tripartite mechanism. *Nature Genetics*, 48, 273. Retrieved from <https://doi.org/10.1038/ng.3500>
- Bechet, D., Gielen, G. G. H., Korshunov, A., Pfister, S. M., Rousso, C., Faury, D., ... Jabado, N. (2014). Specific detection of methionine 27 mutation in histone 3 variants (H3K27M) in fixed tissue from high - grade astrocytomas. *Acta Neuropathologica*, 733–741. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1337-4>
- Becker, A. P., Scapulatempo-Neto, C., Carloni, A. C., Paulino, A., Sheren, J., Aisner, D. L., ... Reis, R. M. (2015). KIAA1549: BRAF Gene Fusion and FGFR1 Hotspot Mutations Are Prognostic Factors in Pilocytic Astrocytomas. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 74(7), 743–754.
<https://doi.org/10.1097/NEN.0000000000000213>
- Bender, S., Gronych, J., Warnatz, H. J., Hutter, B., Gröbner, S., Ryzhova, M., ... Jones, D. T. W. (2016). Recurrent MET fusion genes represent a drug target in pediatric glioblastoma. *Nature Medicine*, 22(11), 1314–1320.
<https://doi.org/10.1038/nm.4204>
- Besnard, A., Castel, D., Barets, D., Barret, E., Lacroix, L., Bielle, F., ... Chr, F. (2018). Co-occurrence of histone H3 K27M and BRAF V600E mutations in paediatric midline grade I ganglioglioma. (24), 103–111. <https://doi.org/10.1111/bpa.12473>
- Blumcke, I., Aronica, E., Urbach, H., Alexopoulos, A., & Gonzalez-Martinez, J. A. (2014). A neuropathology-based approach to epilepsy surgery in brain tumors and proposal

- for a new terminology use for long-term epilepsy-associated brain tumors. *Acta Neuropathologica*, 128(1), 39–54. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1288-9>
- Blumcke, I., Spreafico, R., Haaker, G., Coras, R., Kobow, K., Bien, C. G., ... Avanzini, G. (2017). Histopathological Findings in Brain Tissue Obtained during Epilepsy Surgery. *The New England Journal of Medicine*, 377(17), 1648–1656. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1703784>
- Bouffet, E., Hansford, J. R., Garrè, M. L., Hara, J., Plant-Fox, A., Aerts, I., ... Hargrave, D. R. (2023). Dabrafenib plus Trametinib in Pediatric Glioma with BRAF V600 Mutations. *New England Journal of Medicine*, 389(12), 1108–1120. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2303815>
- Bouffet, E., Jakacki, R., Goldman, S., Hargrave, D., Hawkins, C., Shroff, M., ... Baruchel, S. (2012). Phase II study of weekly vinblastine in recurrent or refractory pediatric low-grade glioma. *Journal of Clinical Oncology*, 30(12), 1358–1363. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.34.5843>
- Bridge, J. A., Liu, X. Q., Sumegi, J., Nelson, M., Reyes, C., Bruch, L. A., ... McComb, R. D. (2013). Identification of a novel, recurrent SLC44A1-PRKCA fusion in papillary glioneuronal tumor. *Brain Pathology*, 23(2), 121–128. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2012.00612.x>
- Broniscer, A., Baker, S. J., West, A. N., Fraser, M. M., Proko, E., Kocak, M., ... Fuller, C. E. (2007). Clinical and Molecular Characteristics of Malignant Transformation of Low-Grade Glioma in Children. *Journal of Clinical Oncology*, 25(6), 682–689. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.8213>
- Buhl, J. L., Selt, F., Hielscher, T., Guiho, R., Ecker, J., Sahm, F., ... Milde, T. (2019). The Senescence-associated Secretory Phenotype Mediates Oncogene-induced Senescence in Pediatric Pilocytic Astrocytoma. *Clinical Cancer Research*, 25(6), 1851–1866. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1965>
- Burotto, M., Chiou, V. L., & Lee, J. (2014). *The MAPK Pathway Across Different Malignancies : A New Perspective*. <https://doi.org/10.1002/cncr.28864>
- Campen, C. J., Kranick, S. M., Kasner, S. E., Kessler, S. K., Zimmerman, R. A., Lustig, R., ... Fisher, M. J. (2012). Cranial Irradiation Increases Risk of Stroke in Pediatric Brain Tumor Survivors. *Stroke*, 43(11), 3035–3040. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.112.661561>

- Cao, Z., Gao, Q., Fu, M., Ni, N. A. N., Pei, Y., & Ou, W. Bin. (2019). Anaplastic lymphoma kinase fusions: Roles in cancer and therapeutic perspectives (review). *Oncology Letters*, *17*(2), 2020–2030. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9856>
- Capper, D., Jones, D. T. W., Sill, M., Hovestadt, V., Schrimpf, D., Sturm, D., ... Pfister, S. M. (2018). DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. *Nature*, *555*(7697), 469–474. <https://doi.org/10.1038/nature26000>
- Capper, D., Stichel, D., Sahm, F., Jones, D. T. W., Schrimpf, D., Sill, M., ... von Deimling, A. (2018). Practical implementation of DNA methylation and copy-number-based CNS tumor diagnostics: the Heidelberg experience. *Acta Neuropathologica*, *136*(2), 181–210. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1879-y>
- Castel, D., Kergrohen, T., Espariat, A. T., Mackay, A., Ghermaoui, S., Lechapt, E., ... Debily, M. A. (2020). Histone H3 wild - type DIPG / DMG overexpressing EZHIP extend the spectrum diffuse midline gliomas with PRC2 inhibition beyond H3 - K27M mutation. *Acta Neuropathologica*, *139*(6), 1109–1113. <https://doi.org/10.1007/s00401-020-02142-w>
- Chan, A. K., Han, S. J., Choy, W., Belefond, D., Aghi, M. K., Berger, M. S., ... Solomon, D. A. (2017). Familial melanoma-astrocytoma syndrome: synchronous diffuse astrocytoma and pleomorphic xanthoastrocytoma in a patient with germline CDKN2A/B deletion and a significant family history. *Clinical Neuropathology*, *36*(5), 213–221. <https://doi.org/10.5414/NP301022>
- Chan, J. A., Zhang, H., Roberts, P. S., Jozwiak, S., Wieslawa, G., Lewin-Kowalik, J., ... Kwiatkowski, D. J. (2004). Pathogenesis of Tuberous Sclerosis Subependymal Giant Cell Astrocytomas: Biallelic Inactivation of TSC1 or TSC2 Leads to mTOR Activation. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *63*(12), 1236–1242. <https://doi.org/10.1093/jnen/63.12.1236>
- Chen, W., Yang, Y., Patricia, S., Pratiseyo, D., Sutanto, R., & Hendriansyah, L. (2020). Central nervous system neuroepithelial tumors with MN1 - alteration: an individual patient data meta-analysis of 73 cases. *Brain Tumor Pathology*, *37*(4), 145–153. <https://doi.org/10.1007/s10014-020-00372-0>
- Chen, X., Pan, C., Zhang, P., Xu, C., Sun, Y., Yu, H., ... Zhang, L. (2017). Clinical commentary BRAF V600E mutation is a significant prognosticator of the tumour regrowth rate in brainstem gangliogliomas. *Journal of Clinical Neuroscience*, *46*, 50–57.

<https://doi.org/10.1016/j.jocn.2017.09.014>

- Chen, Y.-H., & Gutmann, D. H. (2014). The molecular and cell biology of pediatric low-grade gliomas. *Oncogene*, *33*(16), 2019–2026. <https://doi.org/10.1038/onc.2013.148>
- Chiang, J. C. H., Harreld, J. H., Orr, B. A., Sharma, S., Ismail, A., Segura, A. D., & Ellison, D. W. (2017). Low-grade spinal glioneuronal tumors with BRAF gene fusion and 1p deletion but without leptomeningeal dissemination. *Acta Neuropathologica*, *134*(1), 159–162. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1728-4>
- Chiang, J., Harreld, J. H., Tinkle, C. L., Moreira, D. C., Li, X., Acharya, S., ... Ellison, D. W. (2019). A single-center study of the clinicopathologic correlates of gliomas with a MYB or MYBL1 alteration. *Acta Neuropathologica*, *138*(6), 1091–1092. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-02081-1>
- Chmielecki, J., Bailey, M., He, J., Elvin, J., Vergilio, J., Suh, J., ... Lipson, D. (2021). Genomic Profiling of a Large Set of Diverse Pediatric Cancers Identifies Known and Novel Mutations across Tumor Spectra. *Cancer Research*, *77*(2), 509–519. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1106>
- Cin, H., Meyer, C., Herr, R., Janzarik, W. G., Lambert, S., Jones, D. T. W., ... Pfister, S. M. (2011). Oncogenic FAM131B-BRAF fusion resulting from 7q34 deletion comprises an alternative mechanism of MAPK pathway activation in pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathologica*, *121*(6), 763–774. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0817-z>
- Clark, O., Yen, K., & Mellinghoff, I. K. (2016). Molecular Pathways: Isocitrate Dehydrogenase Mutations in Cancer. *Clinical Cancer Research*, *22*(8), 1837–1842. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-1333>
- Cohen, J. W., & Walter, A. W. (2016). Hypothalamic Glioma in a Patient With Sturge-Weber Syndrome. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, *38*(1), 2015–2017. <https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000000438>
- Collins, V. P., Jones, D. T. W., & Giannini, C. (2015). Pilocytic astrocytoma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathologica*, *129*(6), 775–788. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1410-7>
- Daoud, E. V., Wachsmann, M., Richardson, T. E., Mella, D., Pan, E., Schwarzbach, A., ... Hatanpaa, K. J. (2019). Spinal pleomorphic xanthoastrocytoma With a QKI-RAF1 Fusion. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, *78*(1), 10–14. <https://doi.org/10.1093/jnen/nly112>

- Davies, H., Bignell, G. R., Cox, C., Stephens, P., Edkins, S., Clegg, S., ... Futreal, P. A. (2002). Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*, *417*(6892), 949–954. <https://doi.org/10.1038/nature00766>
- De Luca, A., Maiello, M. R., D'Alessio, A., Pergameno, M., & Normanno, N. (2012). The RAS/RAF/MEK/ERK and the PI3K/AKT signalling pathways: role in cancer pathogenesis and implications for therapeutic approaches. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, *16*(sup2), S17–S27. <https://doi.org/10.1517/14728222.2011.639361>
- Deng, M. Y., Sill, M., Sturm, D., Stichel, D., Witt, H., Ecker, J., ... Sahm, F. (2020). Diffuse glioneuronal tumour with oligodendroglioma-like features and nuclear clusters (DGONC) – a molecularly defined glioneuronal CNS tumour class displaying recurrent monosomy 14. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, *46*(5), 422–430. <https://doi.org/10.1111/nan.12590>
- Deng, Maximilian Y., Sill, M., Chiang, J., Schittenhelm, J., Ebinger, M., Schuhmann, M. U., ... Jones, D. T. W. (2018). Molecularly defined diffuse leptomeningeal glioneuronal tumor (DLGNT) comprises two subgroups with distinct clinical and genetic features. *Acta Neuropathologica*, *136*(2), 239–253. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1865-4>
- Dougherty, M. J., Santi, M., Brose, M. S., Ma, C., Resnick, A. C., Sievert, A. J., ... Biegel, J. A. (2010). Activating mutations in BRAF characterize a spectrum of pediatric low-grade gliomas. *Neuro-Oncology*, *12*(7), 621–630. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noq007>
- Drilon, A., Laetsch, T. W., Kummar, S., DuBois, S. G., Lassen, U. N., Demetri, G. D., ... Hyman, D. M. (2018). Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion–Positive Cancers in Adults and Children. *New England Journal of Medicine*, *378*(8), 731–739. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1714448>
- Drilon, A., Siena, S., Ou, S. H. I., Patel, M., Ahn, M. J., Lee, J., ... De Braud, F. G. (2017). Safety and antitumor activity of the multitargeted pan-TRK, ROS1, and ALK inhibitor entrectinib: Combined results from two phase I trials (ALKA-372-001 and STARTRK-1). *Cancer Discovery*, *7*(4), 400–409. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-1237>
- Ellison, D. W., Hawkins, C., Jones, D. T. W., Onar, A., Stefan, T., Reifenberger, G., & Louis, D. N. (2019). cIMPACT - NOW update 4 : diffuse gliomas characterized by MYB , MYBL1 , or FGFR1 alterations or BRAF V600E mutation. *Acta Neuropathologica*,

- 137(4), 683–687. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-01987-0>
- Fernandez, A. F., Assenov, Y., Martin-Subero, J. I., Balint, B., Siebert, R., Taniguchi, H., ... Esteller, M. (2012). A DNA methylation fingerprint of 1628 human samples. *Genome Research*, 22(2), 407–419. <https://doi.org/10.1101/gr.119867.110>
- Fisher, P. G., Tihan, T., Goldthwaite, P. T., Wharam, M. D., Carson, B. S., Weingart, J. D., ... Burger, P. C. (2008). Outcome Analysis of Childhood Low-Grade Astrocytomas. *Pediatric Blood and Cancer*, 51, 245–250. <https://doi.org/10.1002/pbc.21563>
- Gembruch, O., Junker, A., Mönninghoff, C., Ahmadipour, Y., Darkwah Oppong, M., Sure, U., ... Lemonas, E. (2018). Liponeurocytoma: Systematic Review of a Rare Entity. *World Neurosurgery*, 120, 214–233. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wneu.2018.09.001>
- Gnekow, A. K., Walker, D. A., Kandels, D., Picton, S., Giorgio Perilongo, Grill, J., ... Sposto, R. (2017). A European randomised controlled trial of the addition of etoposide to standard vincristine and carboplatin induction as part of an 18-month treatment programme for childhood (≤ 16 years) low grade glioma – A final report. *European Journal of Cancer*, 81, 206–225. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.04.019>
- Goode, B., Mondal, G., Hyun, M., Ruiz, D. G., Lin, Y., Zif, J. Van, ... Solomon, D. A. (2018). A recurrent kinase domain mutation in *PRKCA* defines chordoid glioma of the third ventricle. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-02826-8>
- Grabenbauer, G. G., Schuchardt, U., Buchfelder, M., Rödel, C. M., Gusek, G., Marx, M., ... Sauer, R. (2000). Radiation therapy of optico–hypothalamic gliomas (OHG) – radiographic response, vision and late toxicity. *Radiotherapy and Oncology*, 54(3), 239–245. [https://doi.org/10.1016/S0167-8140\(00\)00149-3](https://doi.org/10.1016/S0167-8140(00)00149-3)
- Green, K., Panagopoulou, P., D’Arco, F., O’Hare, P., Bowman, R., Walters, B., ... Opocher, E. (2023). A nationwide evaluation of bevacizumab-based treatments in pediatric low-grade glioma in the UK: Safety, efficacy, visual morbidity, and outcomes. *Neuro-Oncology*, 25(4), 774–785. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noac223>
- Greer, A., Foreman, N. K., Donson, A., Davies, K. D., & Kleinschmidt-DeMasters, B. K. (2017). Desmoplastic infantile astrocytoma/ganglioglioma with rare BRAF V600D mutation. *Pediatric Blood & Cancer*, 64(6). <https://doi.org/10.1002/pbc.26350>
- Grob, S. T., Nobre, L., Campbell, K. R., Davies, K. D., Ryall, S., Aisner, D. L., ... Mulcahy Levy, J. M. (2020). Clinical and molecular characterization of a multi-institutional cohort of

- pediatric spinal cord low-grade gliomas. *Neuro-Oncology Advances*, 2(1), 1–9.
<https://doi.org/10.1093/noajnl/vdaa103>
- Guerreiro Stucklin, A. S., Ryall, S., Fukuoka, K., Zapotocky, M., Lassaletta, A., Li, C., ... Hawkins, C. (2019). Alterations in ALK/ROS1/NTRK/MET drive a group of infantile hemispheric gliomas. *Nature Communications*, 10(1), 1–13.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-12187-5>
- Gutmann, D. H., Ferner, R. E., Listernick, R. H., Korf, B. R., Wolters, P. L., & Johnson, K. J. (2017). Neurofibromatosis type 1. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17004.
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.4>
- Gutmann, D. H., McLellan, M. D., Hussain, I., Wallis, J. W., Fulton, L. L., Fulton, R. S., ... Mardis, E. R. (2013). Somatic neurofibromatosis type 1 (NF1) inactivation characterizes NF1-associated pilocytic astrocytoma. *Genome Research*, 23(3), 431–439. <https://doi.org/10.1101/gr.142604.112>
- Haigis, K. M. (2017). KRAS Alleles: The Devil Is in the Detail. *Trends in Cancer*, 3(10), 686–697. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2017.08.006>
- Hawkins, C., Walker, E., Mohamed, N., Zhang, C., Jacob, K., Shirinian, M., ... Tabori, U. (2011). BRAF-KIAA1549 Fusion Predicts Better Clinical Outcome in Pediatric Low-Grade Astrocytoma. *Clinical Cancer Research*, 17(14), 4790–4798.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0034>
- Helffferich, J., Nijmeijer, R., Brouwer, O. F., Boon, M., Fock, A., Hoving, E. W., ... de Bont, E. S. J. M. (2016). Neurofibromatosis type 1 associated low grade gliomas: A comparison with sporadic low grade gliomas. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 104, 30–41.
<https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.05.008>
- Helgager, J., Lidov, H. G., Mahadevan, N. R., Kieran, M. W., Ligon, K. L., & Alexandrescu, S. (2017). A novel GIT2-BRAF fusion in pilocytic astrocytoma. *Diagnostic Pathology*, 12(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s13000-017-0669-5>
- Hirose, T., Nobusawa, S., Sugiyama, K., & Amatya, V. J. (2018). Astroblastoma: a distinct tumor entity characterized by alterations of the X chromosome and MN1 rearrangement. *Brain Pathology*, 28(7), 684–694. <https://doi.org/10.1111/bpa.12565>
- Horbinski, C., Hamilton, R. L., Nikiforov, Y., & Pollack, I. F. (2010). Association of molecular alterations, including BRAF, with biology and outcome in pilocytic astrocytomas. *Acta*

- Neuropathologica*, 119(5), 641–649. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0634-9>
- Hou, Y., Pinheiro, J., Sahm, F., Reuss, D. E., Schrimpf, D., Stichel, D., ... Bertero, L. (2019). Papillary glioneuronal tumor (PGNT) exhibits a characteristic methylation profile and fusions involving PRKCA. *Acta Neuropathologica*, 137(5), 837–846. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-01969-2>
- Huang, L., Guo, Z., Wang, F., & Fu, L. (2021). *KRAS mutation: from undruggable to druggable in cancer*. (May), 1–20. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00780-4>
- Hukin, J., Siffert, J., Velasquez, L., Zagzag, D., & Allen, J. (2002). Leptomeningeal dissemination in children with progressive low-grade neuroepithelial tumors. *Neuro-Oncology*, 4(4), 253–260. <https://doi.org/10.1093/neuonc/4.4.253>
- Huse, J. T., Snuderl, M., Jones, D. T. W., Brathwaite, C. D., Altman, N., Lavi, E., ... Matthias, C. (2017). Polymorphous low - grade neuroepithelial tumor of the young (PLNTY): an epileptogenic neoplasm with oligodendroglioma - like components , aberrant CD34 expression , and genetic alterations involving the MAP kinase pathway. *Acta Neuropathologica*, 133(3), 417–429. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1639-9>
- Ida, C. M., Johnson, D. R., Nair, A. A., Davila, J., Kollmeyer, T. M., Minn, K., ... Giannini, C. (2021). Polymorphous Low-Grade Neuroepithelial Tumor of the Young (PLNTY): Molecular Profiling Confirms Frequent MAPK Pathway Activation. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 80(9), 821–829. <https://doi.org/10.1093/jnen/nlab075>
- Ida, C. M., Rodriguez, F. J., Burger, P. C., Caron, A. A., Jenkins, S. M., Spears, G. M., ... Giannini, C. (2014). Pleomorphic Xanthoastrocytoma : Natural History and Long-Term Follow-Up. *Brain Pathology*, 25(50), 575–586. <https://doi.org/10.1111/bpa.12217>
- Jacob, K., Quang-Khuong, D. A., Jones, D. T. W., Witt, H., Lambert, S., Albrecht, S., ... Jabado, N. (2011). Genetic aberrations leading to MAPK pathway activation mediate oncogene-induced senescence in sporadic pilocytic astrocytomas. *Clinical Cancer Research*, 17(14), 4650–4660. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0127>
- Jain, P., Fierst, T. M., Han, H. J., Smith, T. E., Vakil, A., Storm, P. B., ... Waanders, A. J. (2017). *CRAF gene fusions in pediatric low-grade gliomas define a distinct drug response based on dimerization profiles*. 36(45), 6348–6358. <https://doi.org/10.1038/onc.2017.276>

- Janzarik, W., Kratz, C., Loges, N., Olbrich, H., Klein, C., Schäfer, T., ... Omran, H. (2007). Further Evidence for a Somatic KRAS Mutation in a Pilocytic Astrocytoma. *Neuropediatrics*, 38(2), 61–63. <https://doi.org/10.1055/s-2007-984451>
- Johnson, A., Severson, E., Gay, L., Vergilio, J.-A., Elvin, J., Suh, J., ... Ramkissoon, S. H. (2017). Comprehensive Genomic Profiling of 282 Pediatric Low- and High-Grade Gliomas Reveals Genomic Drivers, Tumor Mutational Burden, and Hypermutation Signatures. *The Oncologist*, 22(12), 1478–1490. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2017-0242>
- Jones, D T W, Kocialkowski, S., Liu, L., Pearson, D. M., Ichimura, K., & Collins, V. P. (2009). Oncogenic RAF1 rearrangement and a novel BRAF mutation as alternatives to KIAA1549:BRAF fusion in activating the MAPK pathway in pilocytic astrocytoma. *Oncogene*, 28(20), 2119–2123. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.73>
- Jones, David T.W., Kocialkowski, S., Liu, L., Pearson, D. M., Bäcklund, L. M., Ichimura, K., & Collins, V. P. (2008). Tandem Duplication Producing a Novel Oncogenic BRAF Fusion Gene Defines the Majority of Pilocytic Astrocytomas. *Cancer Research*, 68(21), 8673–8677. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2097>
- Jones, David T W, Hutter, B., Jäger, N., Korshunov, A., Kool, M., Warnatz, H.-J., ... Lichter, P. (2013). Recurrent somatic alterations of FGFR1 and NTRK2 in pilocytic astrocytoma. *Nature Genetics*, 45(8), 927–932. <https://doi.org/10.1038/ng.2682>
- Kaplan, D. R., & Miller, F. D. (n.d.). *Neurotrophin signal transduction in the nervous system*. 381–391.
- Katoh, M., & Katoh, M. (2007). WNT signaling pathway and stem cell signaling network. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 13(14), 4042–4045. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2316>
- Kluwe, L., Hagel, C., Tatagiba, M., Thomas, S., Stavrou, D., Ostertag, H., ... Mautner, V. F. (2001). Loss of NF1 alleles distinguish sporadic from NF1-associated pilocytic astrocytomas. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 60(9), 917–920. <https://doi.org/10.1093/jnen/60.9.917>
- Kool, M., Korshunov, A., Remke, M., Jones, D. T. W., Schlanstein, M., Northcott, P. A., ... Pfister, S. M. (2012). Molecular subgroups of medulloblastoma: An international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. *Acta Neuropathologica*, 123(4), 473–484.

<https://doi.org/10.1007/s00401-012-0958-8>

- Krishnatry, R., Zhukova, N., Guerreiro Stucklin, A. S., Pole, J. D., Mistry, M., Fried, I., ... Tabori, U. (2016). Clinical and treatment factors determining long-term outcomes for adult survivors of childhood low-grade glioma: A population-based study. *Cancer*, *122*(8), 1261–1269. <https://doi.org/10.1002/cncr.29907>
- Kurani, H., Gurav, M., Shetty, O., Chinnaswamy, G., Moiyadi, A., Gupta, T., ... Epari, S. (2019). Pilocytic astrocytomas: BRAFV600E and BRAF fusion expression patterns in pediatric and adult age groups. *Child's Nervous System*, *35*(9), 1525–1536. <https://doi.org/10.1007/s00381-019-04282-1>
- Laine, A., & Ronai, Z. (2005). *Ubiquitin Chains in the Ladder of MAPK Signaling*. (April), 1–11.
- Lambert, S. R., Witt, H., Hovestadt, V., Zucknick, M., Kool, M., Pearson, D. M., ... Jones, D. T. W. (2013). Differential expression and methylation of brain developmental genes define location - specific subsets of pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathologica*, *126*(2), 291–301. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1124-7>
- Lasorella, A., Sanson, M., & Iavarone, A. (2017). FGFR-TACC gene fusions in human glioma. *Neuro-Oncology*, *19*(4), 475–483. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now240>
- Lassaletta, A., Zapotocky, M., Bouffet, E., Hawkins, C., & Tabori, U. (2016). An integrative molecular and genomic analysis of pediatric hemispheric low-grade gliomas : an update. *Child's Nervous System*, 1789–1797. <https://doi.org/10.1007/s00381-016-3163-6>
- Lassaletta, A., Zapotocky, M., Mistry, M., Ramaswamy, V., Honnorat, M., Krishnatry, R., ... Tabori, U. (2017). *Therapeutic and Prognostic Implications of BRAF V600E in Pediatric Low-Grade Gliomas*. *35*(25). <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.71.8726>
- Lee, D., Cho, Y. H., Kang, S. Y., Yoon, N., Sung, C. O., & Suh, Y. L. (2015). BRAF V600E mutations are frequent in dysembryoplastic neuroepithelial tumors and subependymal giant cell astrocytomas. *Journal of Surgical Oncology*, *111*(3), 359–364. <https://doi.org/10.1002/jso.23822>
- Liu, D., Offin, M., Harnicar, S., Li, B. T., & Drilon, A. (2018). Entrectinib: an orally available, selective tyrosine kinase inhibitor for the treatment of NTRK, ROS1, and ALK fusion-positive solid tumors. *Therapeutics and Clinical Risk Management, Volume 14*, 1247–1252. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S147381>

- Louis, D. N., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Cavenee, W. K., Burger, P. C., Jouvett, A., ... Kleihues, P. (2007). The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathologica*, 114(2), 97–109. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>
- Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., Deimling, A. Von, Figarella, D., Webster, B., ... Ellison, D. W. (2016). The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System : a summary. *Acta Neuropathologica*. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
- Louis, D. N., Perry, A., Wesseling, P., Brat, D. J., Cree, I. A., Figarella-branger, D., ... Ellison, D. W. (2021). The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-Oncology*, 23(8), 1231–1251. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106>
- Luzzi, S., Elia, A., Maestro, M. Del, Elbabaa, S. K., Carnevale, S., Guerrini, F., ... Galzio, R. (2019). Literature Review Dysembryoplastic Neuroepithelial Tumors : What You Need to Know. *World Neurosurgery*, 127, 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.04.056>
- Marcus, L., Donoghue, M., Aungst, S., Myers, C. E., Helms, W. S., Shen, G., ... Pazdur, R. (2021). FDA Approval Summary: Entrectinib for the Treatment of NTRK gene Fusion Solid Tumors. *Clinical Cancer Research*, 27(4), 928–933. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2771>
- Marsh, D. J., Coulon, V., Lunetta, K. L., Rocca-serra, P., Patricia, L., Dahia, M., ... Eng, C. (1998). Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan – Zonana syndrome , two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. *Human Molecular Genetics*, 7(3), 507–515. <https://doi.org/10.1093/hmg/7.3.507>
- Mirow, C., Pietsch, T., Berkefeld, S., Kwiecien, R., Warmuth-Metz, M., Falkenstein, F., ... Gnekow, A. K. (2014). Children &1 year show an inferior outcome when treated according to the traditional LGG treatment strategy: A report from the german multicenter trial HIT-LGG 1996 for children with low grade glioma (LGG). *Pediatric Blood & Cancer*, 61(3), 457–463. <https://doi.org/10.1002/psc.24729>
- Mistry, M., Zhukova, N., Merico, D., Rakopoulos, P., Krishnatry, R., Shago, M., ... Tabori, U. (2015). BRAF Mutation and CDKN2A Deletion Define a Clinically Distinct Subgroup of

- Childhood Secondary High-Grade Glioma. *Journal of Clinical Oncology*, 33(9), 1015–1022. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.58.3922>
- Nageswara Rao, A. A., & Packer, R. J. (2014). Advances in the Management of Low-Grade Gliomas. *Current Oncology Reports*, 16(8), 398. <https://doi.org/10.1007/s11912-014-0398-9>
- Nakano, Y., Tomiyama, A., Kohno, T., Yoshida, A., Yamasaki, K., & Ozawa, T. (2019). Identification of a novel KLC1 – ROS1 fusion in a case of pediatric low- grade localized glioma. *Brain Tumor Pathology*, 36(1), 14–19. <https://doi.org/10.1007/s10014-018-0330-3>
- Northcott, P. A., Pfister, S. M., & Jones, D. T. W. (2015). Next-generation (epi)genetic drivers of childhood brain tumours and the outlook for targeted therapies. *The Lancet Oncology*, 16(6), e293–e302. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71206-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71206-9)
- Okamura, R., Boichard, A., Kato, S., Sicklick, J. K., Bazhenova, L., & Kurzrock, R. (2018). Analysis of NTRK Alterations in Pan-Cancer Adult and Pediatric Malignancies : Implications for NTRK-Targeted Therapeutics. *JCO Precision Oncology*, 8(Fig 1), 1–20. <https://doi.org/10.1200/PO.18.00183>
- Olsen, T. K., Panagopoulos, I., Meling, T. R., Micci, F., Gorunova, L., Thorsen, J., ... Brandal, P. (2015). Fusion genes with ALK as recurrent partner in ependymoma-like gliomas: A new brain tumor entity? *Neuro-Oncology*, 17(10), 1365–1373. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov039>
- Ostrom, Q. T., Cioffi, G., Gittleman, H., Patil, N., Waite, K., Kruchko, C., ... Western, C. (2019). CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016. *Neuro-Oncology*, 21(S5), 1–100. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz150>
- Ostrom, Q. T., Price, M., Neff, C., Cioffi, G., Waite, K. A., Kruchko, C., & Barnholtz-sloan, J. S. (2023). CBTRUS Statistical Report : Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2016—2020. *Neuro-Oncology*, 25(S4), iv1–iv99. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noad149>
- Ozawa, T., Brennan, C. W., Wang, L., Squatrito, M., Sasayama, T., Nakada, M., ... Holland, E. C. (2010). PDGFRA gene rearrangements are frequent genetic events in PDGFRA-amplified glioblastomas. *Genes and Development*, 24(19), 2205–2218.

<https://doi.org/10.1101/gad.1972310>

- Pages, M., Lacroix, L., Tauziede-Espariat, A., Castel, D., Daudigeos-Dubus, E., Ridola, V., ... Varlet, P. (2015). Papillary glioneuronal tumors: histological and molecular characteristics and diagnostic value of SLC44A1-PRKCA fusion. *Acta Neuropathologica Communications*, 3, 85. <https://doi.org/10.1186/s40478-015-0264-5>
- Pearson, A. D. J., Barry, E., Mossé, Y. P., Ligas, F., Bird, N., de Rojas, T., ... Vassal, G. (2021). Second Paediatric Strategy Forum for anaplastic lymphoma kinase (ALK) inhibition in paediatric malignancies: ACCELERATE in collaboration with the European Medicines Agency with the participation of the Food and Drug Administration. *European Journal of Cancer (Oxford, England : 1990)*, 157, 198–213. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2021.08.022>
- Pekmezci, M., Villanueva-Meyer, J. E., Goode, B., Ziffle, J. Van, Onodera, C., Grenert, J. P., ... Solomon, D. A. (2018). The genetic landscape of ganglioglioma. *Acta Neuropathologica Communications*, 6(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0551-z>
- Per, H., Kondaş, O., Kumandaş, S., & Kurtsoy, A. (2009). A report of a desmoplastic non-infantile ganglioglioma in a 6-year-old boy with review of the literature. *Neurosurgical Review*, 32(3), 369–374. <https://doi.org/10.1007/s10143-009-0195-3>
- Perilongo, G., Garrè, M. L., & Giangaspero, F. (2003). Low-grade gliomas and leptomeningeal dissemination: a poorly understood phenomenon. *Child's Nervous System*, 19(4), 197–203. <https://doi.org/10.1007/s00381-003-0733-1>
- Peset, I., & Vernos, I. (2008). The TACC proteins: TACC-ling microtubule dynamics and centrosome function. *Trends in Cell Biology*, 18(8), 379–388. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2008.06.005>
- Pfister, S., Janzarik, W. G., Remke, M., Ernst, A., Werft, W., Becker, N., ... Lichter, P. (2008). BRAF gene duplication constitutes a mechanism of MAPK pathway activation in low-grade astrocytomas. *Journal of Clinical Investigation*, 118(5), 1739–1749. <https://doi.org/10.1172/JCI33656>
- Phillips, J. J., Gong, H., Chen, K., Joseph, N. M., Van, J., Jin, L., ... Shieh, J. T. C. (2017). Activating NRF1-BRAF and ATG7-RAF1 fusions in anaplastic pleomorphic xanthoastrocytoma without BRAF p.V600E mutation. *132(5)*, 757–760.

- <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1616-3>. Activating
- Pickles, J. C., Mankad, K., Aizpurua, M., Paine, S. M. L., Bridges, L. R., Carceller, F., ... Jacques, T. S. (2021). A case series of Diffuse Glioneuronal Tumours with Oligodendroglioma-like features and Nuclear Clusters (DGONC). *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 47(3), 464–467. <https://doi.org/10.1111/nan.12680>
- Prados, M., & Mamelak, A. N. (1994). Metastasizing low grade gliomas in children. Redefining an old disease. *Cancer*, 73(11), 2671–2673. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19940601\)73:11<2671::AID-CNCR2820731103>3.0.CO;2-G](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1097-0142(19940601)73:11<2671::AID-CNCR2820731103>3.0.CO;2-G)
- Puget, S., Beccaria, K., Blauwblomme, T., Roujeau, T., James, S., Grill, J., ... Sainte-rose, C. (2015). Biopsy in a series of 130 pediatric diffuse intrinsic Pontine gliomas. *Child's Nervous System*, 31, 1773–1780. <https://doi.org/10.1007/s00381-015-2832-1>
- Qaddoumi, I., Orisme, W., Wen, J., Santiago, T., Gupta, K., Dalton, J. D., ... Ellison, D. W. (2016). Genetic alterations in uncommon low-grade neuroepithelial tumors: BRAF, FGFR1, and MYB mutations occur at high frequency and align with morphology. *Acta Neuropathologica*, 131(6), 833–845. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1539-z>
- Ramkissoon, L. A., Horowitz, P. M., Craig, J. M., Ramkissoon, S. H., Rich, B. E., Schumacher, S. E., ... Ligon, K. L. (2013). Genomic analysis of diffuse pediatric low-grade gliomas identifies recurrent oncogenic truncating rearrangements in the transcription factor MYBL1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(20), 8188–8193. <https://doi.org/10.1073/pnas.1300252110>
- Ramsay, R. G., & Gonda, T. J. (2008). *MYB function in normal and cancer cells*. 8(july). <https://doi.org/10.1038/nrc2439>
- Rivera, B., Gayden, T., Carrot-zhang, J., Nadaf, J., Boshari, T., Faury, D., ... Kerl, K. (2016). Germline and somatic FGFR1 abnormalities in dysembryoplastic neuroepithelial tumors. *Acta Neuropathologica*, 131(6), 847–863. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1549-x>
- Rodriguez, F. J., Schniederjan, M. J., Nicolaidis, T., Tihan, T., Burger, P. C., & Perry, A. (2015). High rate of concurrent BRAF-KIAA1549 gene fusion and 1p deletion in disseminated oligodendroglioma-like leptomeningeal neoplasms (DOLN). *Acta Neuropathologica*, 129(4), 609–610. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1400-9>
- Rodriguez, F. J., Tihan, T., Lin, D., McDonald, W., Nigro, J., Feuerstein, B., ... Burger, P. C.

- (2014). Clinicopathologic Features of Pediatric Oligodendrogliomas: A Series of 50 Patients. *American Journal of Surgical Pathology*, 38(8), 1058–1070.
<https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000221>
- Rosenberg, S., Simeonova, I., Bielle, F., Verreault, M., Bance, B., Roux, I. Le, ... Villa, C. (2018). A recurrent point mutation in PRKCA is a hallmark of chordoid gliomas. *Nature Communications*. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04622-w>
- Ryall, S., Arnaldo, A., Krishnatry, R., Mistry, M., Khor, K., Sheth, J., ... Hawkins, C. E. (2017). *Multiplex Detection of Pediatric Low-Grade Glioma Signature Fusion Transcripts and Duplications Using the NanoString nCounter System*. 76(7), 562–570.
<https://doi.org/10.1093/jnen/nlx042>
- Ryall, S., Tabori, U., & Hawkins, C. (2020). Pediatric low-grade glioma in the era of molecular diagnostics. *Acta Neuropathologica Communications*, 8(1), 30.
<https://doi.org/10.1186/s40478-020-00902-z>
- Ryall, S., Zapotocky, M., Fukuoka, K., Nobre, L., Guerreiro Stucklin, A., Bennett, J., ... Hawkins, C. (2020). Integrated Molecular and Clinical Analysis of 1,000 Pediatric Low-Grade Gliomas. *Cancer Cell*, 37(4), 569-583.e5.
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.03.011>
- Satge, D., Monteil, P., Sasco, A. J., Vital, A., Ohgaki, H., Ph, D., ... Vekemans, M. (2001). Aspects of Intracranial and Spinal Tumors in Patients with Down Syndrome and Report of a Rapidly Progressing Grade 2 Astrocytoma. *Cancer*, 91(8), 1458–1466.
[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(20010415\)91:8<1458::AID-CNCR1153>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1097-0142(20010415)91:8<1458::AID-CNCR1153>3.0.CO;2-B)
- Schindler, G., Capper, D., Meyer, J., Janzarik, W., Omran, H., Herold-Mende, C., ... Von Deimling, A. (2011). Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathologica*, 121(3), 397–405. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0802-6>
- Schuettpeitz, L. G., McDonald, S., Whitesell, K., Desruisseau, D. M., Grange, D. K., Gurnett, C. A., & Wilson, D. B. (2009). Pilocytic astrocytoma in a child with Noonan syndrome. *Pediatric Blood & Cancer*, 53(6), 1147–1149. <https://doi.org/10.1002/pbc.22193>
- Schwartzentruber, J., Korshunov, A., Liu, X. Y., Jones, D. T. W., Pfaff, E., Jacob, K., ... Jabado, N. (2012). Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling

- genes in paediatric glioblastoma. *Nature*, 482(7384), 226–231.
<https://doi.org/10.1038/nature10833>
- Sharma, M. C., Ralte, A. M., Gaekwad, S., Santosh, V., & Shankar, S. K. (2004). Subependymal Giant Cell Astrocytoma - a Clinicopathological Study of 23 Cases with Special Emphasis on Histogenesis. *Pathology Oncology Research*, 10(4), 219–224.
<https://doi.org/10.1007/BF03033764>
- Sharma, M. K., Mansur, D. B., Reifenberger, G., Perry, A., Leonard, J. R., Aldape, K. D., ... Gutmann, D. H. (2007). Distinct Genetic Signatures among Pilocytic Astrocytomas Relate to Their Brain Region Origin. *Cancer Research*, 67(3), 890–900.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0973>
- Sharma, M. K., Zehnbauer, B. A., Watson, M. A., & Gutmann, D. H. (2005). RAS pathway activation and an oncogenic RAS mutation in sporadic pilocytic astrocytoma. *Neurology*, 65(8), 1335–1336.
<https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000180409.78098.d7>
- Sievers, P., Appay, R., Schimpf, D., Stichel, D., Reuss, D. E., Wefers, A. K., ... Jones, D. T. W. (2019). Rosette-forming glioneuronal tumors share a distinct DNA methylation profile and mutations in FGFR1, with recurrent co-mutation of PIK3CA and NF1. *Acta Neuropathologica*, 138(3), 497–504. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-02038-4>
- Sievert, A. J., & Fisher, M. J. (2009). Pediatric Low-Grade Gliomas. *Journal of Child Neurology*, 24(11), 1397–1408. <https://doi.org/10.1177/0883073809342005>
- Solomon, D. A., Korshunov, A., Sill, M., Jones, D. T. W., Kool, M., Pfister, S. M., ... Perry, A. (2018). Myxoid glioneuronal tumor of the septum pellucidum and lateral ventricle is defined by a recurrent PDGFRA p.K385 mutation and DNT-like methylation profile. *Acta Neuropathologica*, 136(2), 339–343. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1883-2>
- Stepien, N., Mayr, L., Schmook, M. T., Raimann, A., Dorfer, C., Peyrl, A., ... Gojo, J. (2024). Feasibility and antitumour activity of the FGFR inhibitor erdafitinib in three paediatric CNS tumour patients. *Pediatric Blood and Cancer*, 71(3), 1–5.
<https://doi.org/10.1002/pbc.30836>
- Stokland, T., Liu, J., Ironside, J. W., Ellison, D. W., Taylor, R., Robinson, K., ... Walker, D. A. (2010). A multivariate analysis of factors determining tumor progression in childhood low-grade glioma: a population-based cohort study (CCLG CNS9702). *Neuro-*

- Oncology*, 12(12), 1257–1268. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noq092>
- Stone, T. J., Keeley, A., Virasami, A., Harkness, W., Tisdall, M., Izquierdo, E., ... Jacques, T. S. (2018). Comprehensive molecular characterisation of epilepsy - associated glioneuronal tumours. *Acta Neuropathologica*, 135(1), 115–129. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1773-z>
- Tatevossian, R. G., Tang, B., Dalton, J., ForsheW, T., Lawson, A. R., Ma, J., ... Gajjar, A. (2010). MYB upregulation and genetic aberrations in a subset of pediatric low-grade gliomas. *Acta Neuropathologica*, 120(6), 731–743. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0763-1>
- Torre, M., Jessop, N., Hornick, J. L., & Alexandrescu, S. (2018). Expanding the spectrum of pediatric NTRK-rearranged fibroblastic tumors to the central nervous system: A case report with RBPMS-NTRK3 fusion. *Neuropathology*, 38(6), 624–630. <https://doi.org/10.1111/neup.12513>
- Turner, A. L., D’Souza, P., Belirgen, M., & Al-Rahawan, M. M. (2020). Atypical Presentation of Multinodular and Vacuolating Neuronal Tumor of the Cerebrum in a Boy. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, 11(1), 214–215. <https://doi.org/10.1055/s-0039-3402574>
- Ullrich, N. J., Robertson, R., Kinnamon, D. D., Scott, R. M., Kieran, M. W., Turner, C. D., ... Pomeroy, S. L. (2007). Moyamoya following cranial irradiation for primary brain tumors in children. *Neurology*, 68(12), 932–938. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000257095.33125.48>
- Valera, Elvis T., Neder, L., Queiroz, R. G., Santos, A. C., Sousa, G. R., Oliveira, R. S., ... Tone, L. G. (2020). Perinatal complex low- and high-grade glial tumor harboring a novel GIGYF2-ALK fusion. *Pediatric Blood & Cancer*, 67(1), 1–3. <https://doi.org/10.1002/pbc.28015>
- Valera, Elvis Tercei, McConechy, M. K., Gayden, T., Rivera, B., Jones, D. T. W., Wittmann, A., ... Jabado, N. (2018). Methylome analysis and whole-exome sequencing reveal that brain tumors associated with encephalocraniocutaneous lipomatosis are midline pilocytic astrocytomas. *Acta Neuropathologica*, 136(4), 657–660. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1898-8>
- van Tilburg, C. M., Kilburn, L. B., Perreault, S., Schmidt, R., Azizi, A. A., Cruz-Martínez, O., ... Witt, O. (2024). LOGGIC/FIREFLY-2: a phase 3, randomized trial of tovorafenib vs.

- chemotherapy in pediatric and young adult patients with newly diagnosed low-grade glioma harboring an activating RAF alteration. *BMC Cancer*, 24(1), 147.
<https://doi.org/10.1186/s12885-024-11820-x>
- VandenBerg, S. R. (1993). Desmoplastic Infantile Ganglioglioma and Desmoplastic Cerebral Astrocytoma of Infancy. *Brain Pathology*, 3(3), 275–281.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1993.tb00754.x>
- Wang, A. C., Jones, D. T. W., Abecassis, I. J., Cole, B. L., Leary, E. S., Lockwood, C. M., ... Ojemann, J. G. (2020). Desmoplastic Infantile Ganglioglioma/Astrocytoma (DIG/DIA) Are Distinct Entities with Frequent BRAFV600 Mutations. *Molecular Cancer Research*, 16(10), 1491–1498. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-17-0507>
- Wang, Y., Xiong, J., Chu, S. G., Liu, Y., Cheng, H. X., Wang, Y. F., ... Mao, Y. (2009). Rosette-forming glioneuronal tumor: Report of an unusual case with intraventricular dissemination. *Acta Neuropathologica*, 118(6), 813–819.
<https://doi.org/10.1007/s00401-009-0569-1>
- Westmose, C., Sehested, A., Mateu-regué, À., Østrup, O., Scheie, D., Nysom, K., ... Rossing, M. (2016). A new NFIA: RAF1 fusion activating the MAPK pathway in pilocytic astrocytoma. *Cancer Genetics*, 209(10), 440–444.
<https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2016.09.002>
- Williams, P. D., Siân, J., Xiaosong, Z., Cheng-Ho, L. J., J., L. R., Philipp, A., ... W., K. K. (2008). An Integrated Genomic Analysis of Human Glioblastoma Multiforme. *Science*, 321(5897), 1807–1812. <https://doi.org/10.1126/science.1164382>
- Wisoff, J. H., Sanford, R. A., Heier, L. A., Sposto, R., Burger, P. C., Yates, A. J., ... Kun, L. E. (2011). Primary Neurosurgery for Pediatric Low-Grade Gliomas: A Prospective Multi-Institutional Study From the Children’s Oncology Group. *Neurosurgery*, 68(6), 1548–1555. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1227/NEU.0b013e318214a66e>
- Xia, H., Huang, Z., Liu, S., Zhao, X., He, R., Wang, Z., ... Cui, Y. (2021). LncRNA DiGeorge syndrome critical region gene 5: A crucial regulator in malignant tumors. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 141. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111889>
- Yang, S.-H., Sharrocks, A. D., & Whitmarsh, A. J. (2013). MAP kinase signalling cascades and transcriptional regulation. *Gene*, 513(1), 1–13.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.10.033>
- Yao, Z., Torres, N. M., Tao, A., Gao, Y., Luo, L., Li, Q., ... Rosen, N. (2015). BRAF Mutants

Evade ERK-Dependent Feedback by Different Mechanisms that Determine Their Sensitivity to Pharmacologic Inhibition. *Cancer Cell*, 28(3), 370–383.

<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.08.001>

Yao, Z., Yaeger, R., Rodrik-Outmezguine, V. S., Tao, A., Torres, N. M., Chang, M. T., ...

Rosen, N. (2017). Tumours with class 3 BRAF mutants are sensitive to the inhibition of activated RAS. *Nature*, 548(7666), 234–238. <https://doi.org/10.1038/nature23291>

Yuen, B. T. K., & Knoepfler, P. S. (2013). Histone H3.3 Mutations: A Variant Path to Cancer.

Cancer Cell, 24(5), 567–574. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.09.015>

Zhang, J., Wu, G., Miller, C. P., Tatevossian, R. G., Dalton, J. D., Tang, B., ... Ellison, D. W.

(2013). Whole-genome sequencing identifies genetic alterations in pediatric low-grade gliomas. *Nature Genetics*, 45(6), 602–612. <https://doi.org/10.1038/ng.2611>

10. Přílohy

Příloha 1

Misove A, Vicha A, Broz P, Vanova K, Sumerauer D, Stolova L, Sramkova L, Koblizek M, Zamecnik J, Kyncl M, Holubova Z, Liby P, Taborsky J, Benes V, Pernikova I, Jones DTW, Sill M, Stancokova T, Krskova L, Zapotocky M. Integrated genomic analysis revealed high priority actionable targets in pediatric intramedullary low-grade gliomas. *Acta neuropathol commun.* 10, 143 (2022). doi: 10.1186/s40478-022-01446-0 [IF 7.8]

– publikace byla oceněna Cenou Vlasty a Ervína Adamových (2. LF UK)

Autorský podíl: Design studie, příprava studované kohorty, sběr klinických a epidemiologických dat, molekulárně genetická analýza vzorků, příprava publikace včetně obrazových příloh, recenzní řízení

Příloha 2

Benes V, Zapotocky M, Liby P, Taborsky J, Blazkova J, Blazkova J, Sumerauer D, **Misove A**, Pernikova I, Kyncl M, Krskova L, Koblizek M, Zamecnik J, Bradac O, Tichy M. Survival and functional outcomes in paediatric thalamic and thalamopeduncular low-grade gliomas. *Acta Neurochir* 164, 1459–1472 (2022). doi:10.1007/s00701-021-05106-5 [IF 2.4]

Autorský podíl: Identifikace talamických a talamopedunkulárních LGG v kohortě pLGG, genetická analýza vzorků, příprava odpovídajících částí manuskriptu

Příloha 3

Sumerauer D, Krskova L, Vicha A, **Misove A**, Mamatjan Y, Jencova P, Vlckova M, Slamova L, Vanova K, Liby P, Taborsky J, Koblizek M, Klubal R, Kyncl M, Zadeh G, Stary J, Zamecnik J, Ramaswamy V, Zapotocky M. Rare IDH1 variants are common in pediatric hemispheric diffuse astrocytomas and frequently associated with Li - Fraumeni syndrome. *Acta Neuropathol.* 1–3 (2020). doi:10.1007/s00401-019-02118-5 [IF 12.7]

Autorský podíl: Identifikace hemisferálních LGG v kohortě pLGG, genetická analýza somatických alterací, spolupráce na odpovídajících částí manuskriptu

Příloha 4

Kruseova J, Kovacova AS, Zapotocky M, Sumerauer D, Pernikova I, Starkova D, **Misove A**, Zichova A, Capek V, Langer T, Zehnhoff-Dinnesen A, Eckschlager T, Kyncl M. Older age is a protective factor for academic achievements irrespective of treatment modalities for posterior fossa brain tumours in children. *PLoS One* 15, 1–12 (2020). doi:10.1371/journal.pone.0243998 [IF 3.7]

Autorský podíl: Analýza dat, spolupráce na odpovídajících částí manuskriptu

11. Další publikace autorky

Publikace, které s hlavním tématem disertační práce souvisí okrajově nebo jej pouze doplňují

Entenmann CJ, **Misove A**, Holub M, Zapotocky M, Sumerauer D, Tomasek M, Koblizek M, Bradac O, Benes V. Current management in the treatment of intramedullary ependymomas in children. *Childs Nerv Syst* 39, 1183–1192 (2023). doi:10.1007/s00381-022-05814-y [**IF 1.4**]

Kazda T, **Misove A**, Burkon P, Pospisil P, Hynkova L, Selingerova I, Dziacky A, Belanova R, Bulik M, Rehak Z, Poprach A, Slama O, Slampa P, Slaby O, Jancalek R, Lakomy R. Incidence of left-right hippocampal metastases: analysis of 473 patients with 4063 brain metastases. *Neuro. Oncol.* 19, iii104 (2017). doi:10.1155/2018/2459608 [**IF 15.9**]

Misove A, Vicha A, Zapotocky M, Malis J, Balko J, Nemeckova T, Szabova J, Kyncl M, Novakova-Kodetova D, Stolova L, Jencova P, Broz P, Krskova L. An unusual fusion gene EML4 - ALK in a patient with congenital mesoblastic nephroma. *Genes Chromosomes Cancer*. 60(12):837-840 (2021). doi:10.1002/gcc.22990 [**IF 3.7**]

Trkova K, Sumerauer D, Bubenikova A, Krskova L, Vicha A, Koblizek M, Zamecnik J, Jurasek B, Kyncl M, Malinova B, Ondrova B, Jones DTW, Sill M, Strnadova M, Stolova L, **Misove A**, Benes V, Zapotocky M. Clinical and molecular study of radiation-induced gliomas. *Sci Rep* 14:3118 (2024). doi:10.1038/s41598-024-53434-0 [**IF 4.6**]

Vicha A, Stolova L., Jencova P, Zapotocky M, Sumerauer D, **Misove A**, Koblizek M, Broz P, Zamecnik J, Kyncl M, Liby P, Krskova L. Využití metylačního profilu v diagnostice a prognostice nádorových onemocnění CNS. *Cesk Patol.* 57(3): 154–160 (2021).

– přehledový článek