

CLASIFICACIÓN ACTUAL SEGÚN LA OMS DE LOS GLIOMAS INFILTRANTES

Autora: Cristina Carrato Moñino.

Departamento de Anatomía Patológica. Hospital Germans Trias i Pujol, Barcelona

Los gliomas infiltrantes: conceptos generales y clasificación actual

Los gliomas son tumores primarios del sistema nervioso central (SNC) que remedan a la glía. Según el grado de infiltración del parénquima cerebral circundante se distinguen dos grandes grupos de gliomas: los gliomas infiltrantes o difusos (GI), que infiltran el tejido cerebral vecino sano de manera difusa, y los gliomas bien delimitados o circunscritos, que lo hacen de una manera más limitada. Los GI son, en la gran mayoría de los casos, irresecables y su historia natural viene marcada por la recidiva tumoral. Además, los gliomas de menor grado de malignidad tienden a progresar a un grado mayor de malignidad.

Los GI constituyen, en la población adulta y como conjunto, la segunda neoplasia primaria del SNC en frecuencia, siendo la primera el meningioma. Representan el 28% de todos los tumores primarios y el 80% de los tumores primarios malignos (1).

Los GI se han clasificado tradicionalmente en tres tipos histológicos (astrocitomas, oligodendrogliomas y oligoastrocitomas) teniendo en cuenta la célula glial normal a la que remeda la célula neoplásica (astrocitos, oligodendrocitos, o ambos, respectivamente). Para cada tipo histológico, la Organización Mundial de la Salud (OMS), organismo que lidera la clasificación histológica de todas las neoplasias humanas, asigna un grado de malignidad que va del II (no existen GI de grado I) al IV, de menor a mayor agresividad. Así, y durante décadas, entre los GI se han distinguido: el astrocitoma difuso (grado II de malignidad) (AII), el astrocitoma anaplásico (grado III de malignidad) (AIII), el oligodendroglioma (grado II de malignidad) (OII), el oligodendroglioma anaplásico (grado III de malignidad) (OIII), el oligoastrocitoma (grado II de malignidad) (OAII) y el oligoastrocitoma anaplásico (grado III de malignidad) (OAIII). El glioblastoma (GB) corresponde al astrocitoma infiltrante grado IV de malignidad. También se ha aplicado el término GB (concretamente como GB con componente oligodendroglioma) al

oligoastrocitoma grado IV de malignidad. No existen tumores oligodendrogiales puros con un grado IV de malignidad (2).

La nueva clasificación de los tumores del SNC de la OMS, aparecida en 2016 (3), ha supuesto un cambio importante en el abordaje del diagnóstico de los tumores del SNC. Bajo el concepto de un diagnóstico integrado, y en un intento de alcanzar una mayor objetividad, algunos tumores del SNC se definen ya no sólo por su fenotipo (su aspecto al microscopio) sino también por su genotipo (sus alteraciones moleculares). Si nos referimos concretamente a los GI, las principales aportaciones de esta nueva clasificación han sido: 1) la práctica desaparición del grupo de los oligoastrocitomas (OA) como entidad; 2) la incorporación de un grupo nuevo de GI denominado “glioma difuso de la línea media con mutación H3 K27M”; y 3) la necesidad del estudio de las mutaciones de los genes *IDH* (*IDH1* y *IDH2*), de las mutaciones de *ATRX* y de la codeleción de 1p/19q para la catalogación diagnóstica definitiva de la lesión tumoral (ver más adelante). De este modo, la actual clasificación de la OMS 2016 distingue, dentro de los astrocitomas infiltrantes, el AII y el AIII con mutación de *IDH* (AII-IDHm y AIII-IDHm) y el AII y el AIII sin mutación de *IDH* (AII-IDHwt y AIII-IDHwt, del inglés *wild type*). Las mutaciones de *ATRX* y de *TP53* son características propias, aunque no necesarias, para el diagnóstico de estirpe astrocitaria en un GI. Para el diagnóstico de OII y OIII se requiere la presencia de mutación en *IDH* (*IDHm*) y la codeleción de 1p/19q. El grupo de los OA, como se ha mencionado anteriormente, desaparecería en su práctica totalidad y los tumores antes englobados bajo este concepto se reclasifican como astrocitomas difusos (AD) u oligodendrogliomas (OD), en función de las alteraciones moleculares detalladas arriba. La OMS contempla la posibilidad de casos donde el estudio molecular no pueda llevarse a cabo (por no disponer, por ejemplo, de suficiente material tisular) y propone realizar el diagnóstico morfológico clásico en esas situaciones, mencionando esta eventualidad como NOS (del inglés *Not Otherwise Specified*) (ej. AII, NOS) (El término NOS ha sido recientemente matizado y diferenciado del concepto NEC: *Not Elsewhere Classified*; ver referencia 4). En el caso del GB, que sigue correspondiendo a un AD grado IV de malignidad, la nueva clasificación de la OMS 2016 establece dos grupos claramente diferentes que, al igual que el resto de los AD, se denominan GB con mutación de *IDH* (GB-IDHm) y GB sin mutación de *IDH* (GB-IDHwt) (Figura 1) (3).

Diffuse astrocytic and oligodendroglial tumours	
Diffuse astrocytoma, IDH-mutant	9400/3
Gemistocytic astrocytoma, IDH-mutant	9411/3
<i>Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype</i>	9400/3
Diffuse astrocytoma, NOS	9400/3
Anaplastic astrocytoma, IDH-mutant	9401/3
<i>Anaplastic astrocytoma, IDH-wildtype</i>	9401/3
Anaplastic astrocytoma, NOS	9401/3
Glioblastoma, IDH-wildtype	9440/3
Giant cell glioblastoma	9441/3
Gliosarcoma	9442/3
<i>Epithelioid glioblastoma</i>	9440/3
Glioblastoma, IDH-mutant	9445/3*
Glioblastoma, NOS	9440/3
Diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant	9385/3*
Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9450/3
Oligodendroglioma, NOS	9450/3
Anaplastic oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9451/3
<i>Anaplastic oligodendroglioma, NOS</i>	9451/3
<i>Oligoastrocytoma, NOS</i>	9382/3
<i>Anaplastic oligoastrocytoma, NOS</i>	9382/3

Figura 1: Clasificación actual de los gliomas infiltrantes en gliomas IDHm y IDHwt. En la nueva clasificación de la OMS, los astrocitomas difusos y los oligodendroglomas se agrupan en una misma categoría diagnóstica, a diferencia de lo que ocurría en las clasificaciones anteriores, donde los tumores se agrupaban por tipo histológico (Figura extraída de referencia 3)

Visión general de las alteraciones moleculares diagnósticas en gliomas infiltrantes

Abajo se muestra un esquema muy general, a modo de resumen, donde se detallan las principales alteraciones moleculares que acontecen en los diferentes tipos histológicos de los GI (Figura 2). En este esquema se reconocen y se ubican los marcadores anteriormente mencionados, así como otros marcadores de los que se hablará posteriormente.

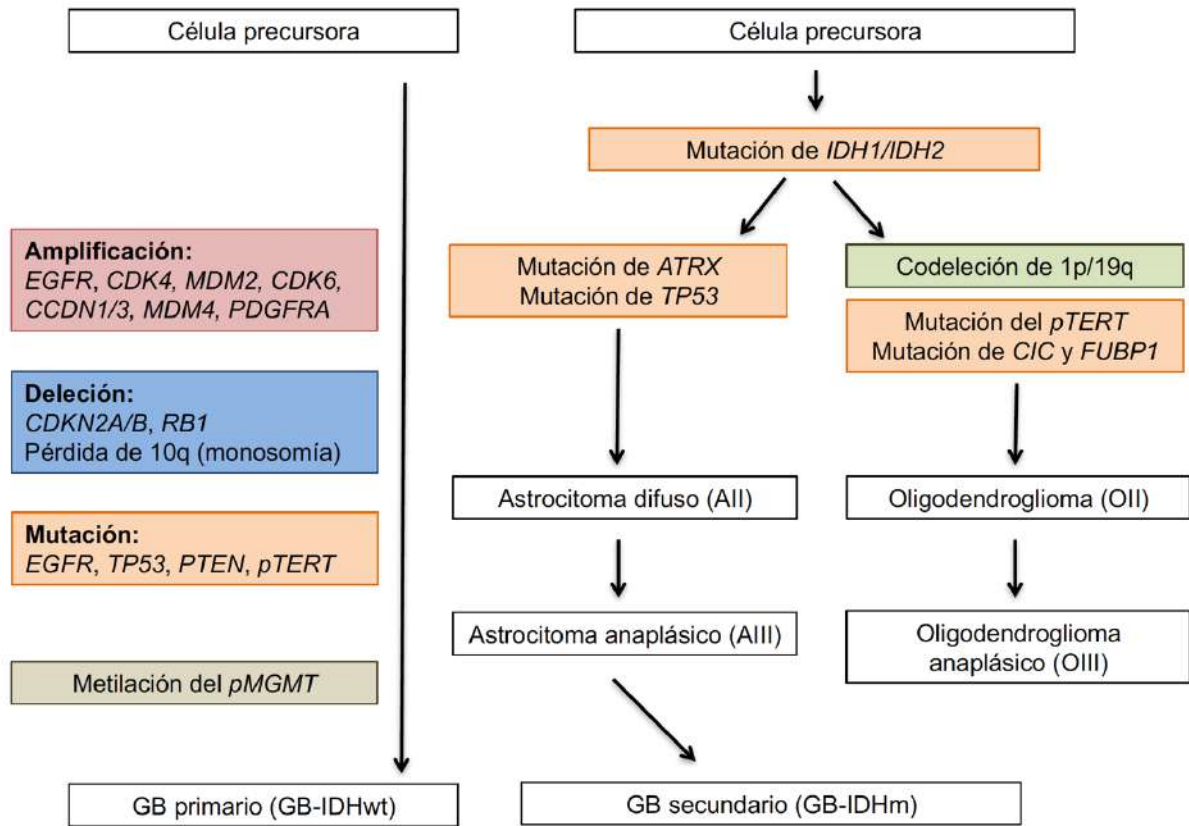


Figura 2: Principales alteraciones moleculares en los diferentes grupos de gliomas infiltrantes. (pTERT: promotor de TERT, pMGMT: promotor de MGMT)

Como se observa arriba, las alteraciones moleculares que presentan la mayoría de los casos de AII y AIII (que en la actual clasificación de la OMS se corresponden en su mayor parte a AII-IDHm y AIII-IDHm), son mutación de *ATRX* y *TP53*, alteraciones que también pueden verse en algunos casos de GB, pero únicamente en los antiguamente denominados GB secundarios, ahora GB-IDHm. Por tanto, aunque pueden estar presentes, las mutaciones de *ATRX* y *TP53* son muy infrecuentes en el grupo de GB en general (aprox el 10%), a diferencia de lo que pasa con las alteraciones moleculares que se observan en el grupo de los GB primarios o GB-IDHwt, el grupo mayoritario de GB (aprox el 90%). También se puede observar que los OD se caracterizan molecularmente por la mutación de *IDH* y la codelección de 1p/19q. En este esquema no hay un lugar concreto para los AII-IDHwt y los AIII-IDHwt que, como luego se mencionará, han sido caracterizados y reclasificados recientemente bajo un punto de vista molecular. Para entender esa nueva reclasificación (ver más adelante), vale la pena prestar atención al esquema presentado arriba, en concreto a la mutación del promotor de gen *TERT* (pTERT), que caracteriza, por un lado, al grupo de los OD y, por otro, al de los GB-IDHwt;

así como a la amplificación de *EGFR*, que se observa de manera casi exclusiva en los GB-IDHwt.

Algunas de las alteraciones moleculares que se detallan en esta tabla constituyen marcadores pronósticos o predictivos de respuesta al tratamiento, como, por ejemplo, la metilación del promotor de *MGMT*. En el presente texto se comentarán únicamente los marcadores a considerar y de qué modo para emitir el diagnóstico integrado de un GI según la actual clasificación OMS 2016.

Algoritmo para el diagnóstico integrado de los gliomas infiltrantes

Como ya se ha explicado, la clasificación actual de los GI integra la información molecular a la histológica para alcanzar el diagnóstico final o diagnóstico integrado. La información molecular ayuda, principalmente, en la toma de decisiones del tipo histológico, pero también, en situaciones puntuales, puede ayudar a designar el grado de malignidad del tumor.

La EANO (European Association of Neuro-Oncology) ha publicado recientemente las guías para el diagnóstico y tratamiento de los GI (5). Este trabajo incluye una figura muy ilustrativa del algoritmo diagnóstico a aplicar para la clasificación histológica-molecular de los GI. El algoritmo se basa en la determinación de 4 marcadores moleculares: IDH, ATRX, 1p/19q y H3F3K27M, junto al análisis histológico de la muestra (Figura 3).

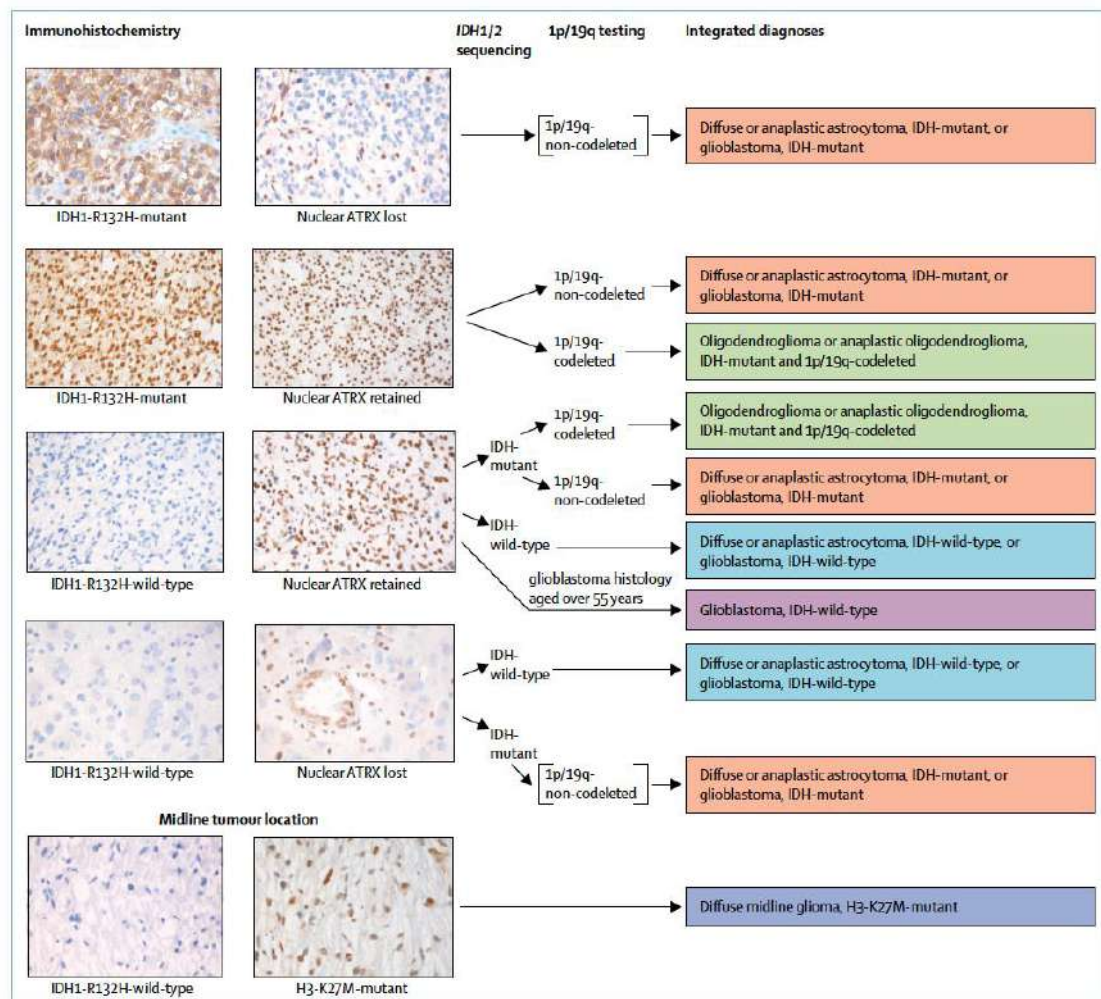


Figura 3: Algoritmo diagnóstico propuesto por la EANO y publicado en *Lancet Oncology* en 2017 (Figura extraída de referencia 5)

El primer paso para el diagnóstico de una lesión cerebral es una buena valoración histológica que, en este primer momento, servirá para asegurar que la muestra corresponde a un GI y no a otro tipo de tumor, a una lesión no tumoral o a parénquima cerebral sano.

En caso de corresponder a un GI, el análisis debe iniciarse con el estudio inmunohistoquímico (IHQ) de IDH1-R132H (la forma mutada más frecuente de *IDH1*) y de ATRX, tal y como se muestra en la Figura 3. Merece la pena mencionar aquí que la mutación de *ATRX* es un marcador de línea astrocitaria y se encuentra íntimamente ligada con la mutación de *IDH*, de forma que los casos IDHwt no tienen prácticamente nunca mutación de *ATRX*. Además, no todos los astrocitomas IDHm tienen mutación en *ATRX*.

El anticuerpo anti-IDH1-R132H marca la forma mutada de la proteína (es una tinción citoplasmática con o sin tinción nuclear), por lo que una tinción IHQ positiva indica que existe mutación en el gen *IDH1*, pero su negatividad no excluye que exista otro tipo de mutación en el gen *IDH1* o una mutación en el gen *IDH2*. Por tanto, un GI positivo para IDH1-R132H es un GI-IDHm; pero un GI negativo para IDH1-R132H no siempre es un GI-IDHwt.

En cuanto a ATRX, el anticuerpo que se emplea en la práctica clínica diaria marca la forma nativa de la proteína (con una tinción nuclear), con lo que una positividad para ATRX significa, a priori, la ausencia de mutación de *ATRX*, mientras que, en caso de existir mutación, la tinción IHQ resultará negativa.

Por tanto, y tal y como se indica en la Figura 3, un GI con positividad para IDH1-R132H (mutado) y negatividad para ATRX (mutado) es un astrocitoma infiltrante. Según la existencia o no de una serie de características histológicas, las que se emplean para gradar los AD, como la presencia y el número de figuras de mitosis, o la existencia de hiperplasia microvascular o necrosis (ver más adelante) el caso será catalogado como un AII-IDHm, un AIII-IDHm o un GB-IDHm.

En el caso de que un GI sea IDHm (por IHQ) pero no tenga pérdida de ATRX, la lesión puede corresponder a un OD o a un astrocitoma sin mutación de ATRX (tal y como se mencionó anteriormente la mutación de *ATRX* es un marcador de línea astrocitaria, pero no todos los astrocitomas IDHm tienen *ATRX* mutado). En estos casos el estudio debe proseguir con la determinación de la codeleción de 1p/19q que, de estar presente, permite catalogar el caso como un OD y, de lo contrario, como un astrocitoma. Posteriormente, deben aplicarse los criterios histológicos de malignidad específicos para cada tipo histológico (OD o AD), para decidir el grado de malignidad del GI (OII-OIII para los OD; AII-AIII-GB para los astrocitomas *IDHm*). Como ya se ha mencionado, la actual clasificación de la OMS 2016 requiere de la presencia de mutación de *IDH* y de la codeleción de 1p/19q para el diagnóstico de OD (que, por tanto, no se llamará OD-IDHm, porque todos los OD son IDHm).

¿Qué pasa si un GI es negativo para IDH1-R132H? Pues que en principio no tiene mutación de *IDH1*. Pero, como ya se ha mencionado anteriormente, esta aseveración

no es del todo cierta, porque un GI puede tener otra mutación diferente de R132H en *IDH1* o, con mucha menor frecuencia, una mutación en *IDH2* (las mutaciones en *IDH1* y *IDH2* son mutuamente excluyentes) y constituir un GI-IDHm. Por tanto, en esos casos debemos investigar si existen mutaciones diferentes a *IDH1*-R132H antes de catalogar el caso como IDHwt. Este estudio se hace por secuenciación de los genes *IDH1* y *IDH2*. Si no se evidencia mutación en el estudio de secuenciación se puede hablar de GI-IDHwt (de hecho, sería astrocitoma-IDHwt, porque los OD por definición tienen mutación de *IDH*). En este punto se gradaría el caso en AII-AIII-GB siguiendo los criterios morfológicos de malignidad del astrocitoma. Si, por el contrario, en el estudio de secuenciación de *IDH* se detecta una mutación, entonces hay que prestar atención a la IHQ de ATRX. Una inmunonegatividad para ATRX indica que el tumor es un astrocitoma. Pero si la IHQ para ATRX es positiva el caso podría tratarse de un astrocitoma (no todos los astrocitomas tienen mutación de ATRX) o de un OD, por lo que se debe proseguir con el estudio de la codeleción de 1p/19q que, de estar presente, obligaría a catalogar el caso como un OD. Posteriormente a conocer el tipo histológico, se aplicarán los criterios histológicos específicos para cada tipo histológico para gradar el caso según la OMS.

La actual clasificación de la OMS hace una salvedad al algoritmo diagnóstico en los casos con *IDH*-R132H negativo: en aquellos tumores que morfológicamente sean astrocitarios, sean inmunopositivos para ATRX y cumplan criterios histológicos de grado IV de malignidad (GB), si el paciente tiene más de 54 años no hace falta proseguir con el estudio por secuenciación de *IDH*, pues la probabilidad de encontrar mutaciones diferentes a *IDH1*-R132H en estos pacientes es prácticamente nula. Estos casos corresponden a la mayoría de casos de GI en un servicio de Anatomía Patológica: GB-IDHwt en pacientes mayores de 54 años. Únicamente se debe proseguir con el estudio mediante secuenciación de *IDH* si hay mutación de ATRX (pérdida de la expresión IHQ), pues, como se ha comentado antes, la mutación de ATRX se da en casos habitualmente con mutación de *IDH*, o si existe evidencia de un GI previo de menor grado (con lo que el diagnóstico más probable es un GB secundario o GB-IDHm).

Glioma difuso de la línea media con mutación H3 K27M

El glioma difuso de la línea media con mutación H3 K27M (GDLM) es una nueva entidad dentro de los GI, introducida por primera vez en la clasificación de la OMS en el año 2016.

La OMS la define como un GI de alto grado (por definición corresponde a un grado IV de malignidad), que ocupa la línea media (el tronco del encéfalo, tálamo o médula espinal), de diferenciación predominantemente astrocitaria y con mutación K27M en los genes *H3F3A* o *HIST1H3B/C* (3).

El GDLM es más frecuente entre la población pediátrica, aunque también puede observarse en adultos y, en algunos casos, en otras localizaciones, tales como la región pineal o el hipotálamo. La entidad anteriormente conocida como glioma pontino intrínseco difuso se englobaría ahora en este grupo de lesiones (6).

El aspecto histológico del GDLM es muy variable e incluye lesiones con poca celularidad y ausencia de mitosis, hiperplasia microvascular o necrosis, así como lesiones con la morfología típica de un GB (3). En todos los casos se observa una mutación K27M afectando a H3.3 (codificada por *H3F3A*) o a H3.1 (codificada por *HIST1H3B* o *HIST1H3C*) como rasgo que define la entidad. Esta mutación puede detectarse mediante estudio IHQ con un anticuerpo específico para la proteína mutada. La mayor parte de los casos de GDLM son inmunopositivos, además, para p53 (lo que indica una probable mutación del gen *TP53*) y muestran pérdida de la expresión proteica de ATRX. Los casos de GDLM son GI-IDHwt (6).

Por tanto, ante un GI que ocupa la línea media se debería añadir, al estudio IHQ de IDH1-R132H y ATRX, la determinación, también por IHQ, de H3-K27M (que marca la forma mutada de la proteína) que, de ser positiva, obliga a catalogar el caso como un GDLM (grado IV de malignidad) (el estudio de H3-K27M puede hacerse también por secuenciación génica).

Una entidad relacionada con el GDLM es el GI con mutación H3-G34R. Al igual que los GDLM, estos tumores son GI-IDHwt y tienen mutación de *ATRX* y *TP53*, aunque de forma más variable. Estos casos aparecen frecuentemente en niños y adultos jóvenes y corresponden a GI de alto grado, con supervivencias sólo ligeramente superiores a otros GB-IDHwt. No obstante, la actual clasificación de la OMS no incluye estos tumores como

una entidad separada ni les asigna un grado concreto de malignidad. Un dato muy importante es que, a diferencia del GDLM, la mayor parte de los casos de GI H3-G34R ocupan los hemisferios cerebrales (7). Por ello, ante un GI de alto grado en un paciente joven, IDHwt y con pérdida de ATRX, deberíamos descartar la posibilidad de un GI H3-G34R mediante el empleo de la IHQ (existe un anticuerpo que, de manera similar a K27M, reconoce la forma mutada G34R de la proteína) o por medio de secuenciación génica. Muchos de estos casos muestran una morfología característica, con áreas donde el tumor muestra un aspecto poco diferenciado, tipo tumor primitivo neuroectodérmico (8).

Criterios histológicos para la gradación de los GI

En la actualidad, los criterios para la gradación de los GI siguen siendo criterios histológicos (con alguna excepción a ver más adelante en el apartado “Aclaraciones y nuevas aportaciones en la catalogación molecular de los GI con fines diagnósticos”) (3).

Así, ante un GI de estirpe astrocitaria la OMS estipula que se debe prestar atención a la existencia de figuras de mitosis, hiperplasia microvascular (HVM) y necrosis. Un astrocitoma infiltrante con evidente actividad mitótica, pero sin HVM ni necrosis corresponde a un AIII (o astrocitoma anaplásico), mientras que la presencia de HVM o necrosis obliga a catalogar el caso como un GB.

En el caso de un OD, la presencia de 6 o más figuras de mitosis por 10 campos de gran aumento, HVM o necrosis, convierte el caso en un ODIII (u OD anaplásico). No existe OD grado IV de malignidad.

Por tanto, es importante catalogar primero el tipo histológico de la lesión para aplicar los criterios de malignidad específicos en cada caso.

Aclaraciones y nuevas aportaciones a la actual clasificación de la OMS 2016

En el mismo año 2016 un grupo de expertos (principalmente neuropatólogos, pero también oncólogos, muchos de ellos implicados en las guías de la clasificación de la

OMS) lideraron una iniciativa a la que denominaron c-IMPACT-NOW (the Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy-Not Official WHO). El objetivo del grupo fue crear un foro para resolver los diferentes problemas que plantea la actual clasificación de la OMS (con la inclusión de los datos moleculares), así como proponer recomendaciones de pequeños cambios o aclaraciones en la clasificación entre los largos periodos de tiempo que pasan entre la publicación de las guías revisadas por la OMS (pasaron 9 años entre la última publicación en 2007 y la actual en 2016). La intención final del grupo es establecer guías de recomendación para los patólogos asistenciales y para futuras ediciones de la clasificación de la OMS.

Tres son los trabajos publicados por este grupo hasta la fecha: en el primero, los autores abordan los términos NOS (Not Otherwise Specify) and NEC (Not Elsewhere Classified) (4); en el segundo clarifican la definición del GDLM, AII-IDHm y AIII-IDHm (9); y en el tercero abordan el tema de los AII-AIII-IDHwt (10). Por su mayor relevancia nos centraremos en los dos últimos trabajos.

Con respecto a los GDLM, el trabajo argumenta que la definición de una entidad en base a una mutación (sobre todo cuando implica un grado de malignidad IV por definición) merece una atención especial. En este sentido, en los últimos años se ha descrito la existencia de mutación de H3-K27M en casos de gliomas no infiltrantes (comoependimomas, astrocitomas pilocíticos o gangliogliomas). Es por ello que los autores de este trabajo insisten en la necesidad de reservar el término GDLM (grado IV de malignidad) exclusivamente para aquellos gliomas que sean infiltrantes (y no bien delimitados o circunscritos) y que, además, ocupen la línea media. Insisten, también, en la necesidad de ser muy cautelosos con la interpretación de la IHQ para H3-K27M, de modo que sólo debe valorarse la tinción nuclear (y no citoplasmática) de las células tumorales.

En cuanto a la definición de AII-AIII-IDHm, en el segundo trabajo publicado por el grupo queda aclarado un punto no abordado directamente en el libro de la OMS: en el contexto de un GI de morfología astrocitaria, la negatividad IHQ para ATRX y/o la positividad IHQ intensa y difusa para p53 (que marcaría la existencia de mutación en *TP53*) permite emitir el diagnóstico de AII-AIII-IDHm, sin que sea necesario proseguir con el estudio de la codeleción de 1p/19q.

La última recomendación del grupo, publicada muy recientemente, es un claro ejemplo de cómo las alteraciones moleculares no sólo ayudan a definir el tipo histológico del GI sino que también pueden determinar su grado de malignidad. En este trabajo los autores proponen que en un AII-IDHwt o un AIII-IDHwt (nos referimos siempre a GI) la presencia de amplificación de *EGFR* (a niveles elevados), la combinación de ganancia de todo el cromosoma 7 y pérdida de todo el cromosoma 10 (+7/-10) o la mutación en *pTERT* lo revela como un grado IV de malignidad al que debe designarse como “Glioma astrocitario difuso, IDHwt, con características moleculares de GB, grado IV de malignidad de la OMS”.

Consideraciones finales

La clasificación de la OMS publicada en 2016 ha supuesto un cambio en el abordaje del diagnóstico de los GI, que considera tanto los datos moleculares como los datos histológicos para establecer el diagnóstico final o diagnóstico integrado. Este hecho obliga a los servicios de Anatomía Patológica a disponer de un mínimo de determinaciones moleculares (muchas de ellas simples marcadores IHQ, pero otras técnicas más complejas como el FISH para determinación de 1p/19q o *EGFR*; o la secuenciación para *IDH* o *pTERT*) y ha supuesto un aumento en el tiempo que los patólogos tardan en emitir el diagnóstico, pues la escasez de tejido en muchas de las muestras obliga a hacer un acercamiento molecular secuencial.

La integración de los datos moleculares ha permitido un diagnóstico del tipo histológico y del grado de malignidad, en el caso concreto del grado IV, más objetivo y reproducible, pero también ha generado nuevas cuestiones que están siendo abordadas por el grupo c-IMPACT-NOW y que van siendo publicadas de manera periódica en la literatura permitiendo, así, la incorporación actualizada de esta información a la práctica asistencial diaria.

Bibliografía destacada

1) Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, Rouse C, Chen Y, Dowling J, Wolinsky Y, Kruchko C, Barnholtz-Sloan J. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2007-2011. *Neuro Oncol.* 2014;16 Suppl 4: iv1-iv63

2) Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. WHO classification of tumours of the central nervous system. 4th ed. Lyon, France: IARC Press, 2007

3) Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. WHO classification of tumours of the central nervous system. 4th ed Revised. Lyon, France: IARC Press, 2016

4) Louis DN, Wesseling P, Paulus W, Giannini C, Batchelor TT, Cairncross JG, Capper D, Figarella-Branger D, Lopes MB, Wick W, van den Bent M. cIMPACT-NOW update 1: Not Otherwise Specified (NOS) and Not Elsewhere Classified (NEC). *Acta Neuropathol.* 2018 Mar;135(3):481-484

5) Weller M, van den Bent M, Tonn JC, Stupp R, Preusser M, Cohen-Jonathan-Moyal E, Henriksson R, Le Rhun E, Balana C, Chinot O, Bendszus M, Reijneveld JC, Dhermain F, French P, Marosi C, Watts C, Oberg I, Pilkington G, Baumert BG, Taphoorn MJB, Hegi M, Westphal M, Reifenberger G, Soffietti R, Wick W; European Association for Neuro-Oncology (EANO) Task Force on Gliomas. European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Lancet Oncol.* 2017 Jun;18(6):e315-e329

6) Solomon DA, Wood MD, Tihan T, Bollen AW, Gupta N, Phillips JJ, Perry A. Diffuse Midline Gliomas with Histone H3-K27M Mutation: A Series of 47 Cases Assessing the Spectrum of Morphologic Variation and Associated Genetic Alterations. *Brain Pathol.* 2016;26(5):569-80

7) Sturm D, Witt H, Hovestadt V, Khuong-Quang DA, Jones DT, Konermann C, Pfaff E, Tönjes M, Sill M, Bender S, Kool M, Zapatka M, Becker N, Zucknick M, Hielscher T, Liu XY, Fontebasso AM, Ryzhova M, Albrecht S, Jacob K, Wolter M, Ebinger M, Schuhmann MU, van Meter T, Frühwald MC, Hauch H, Pekrun A, Radlwimmer B, Niehues T, von Komorowski G, Dürken M, Kulozik AE, Madden J, Donson A, Foreman NK, Drissi R, Fouladi M, Scheurlen W, von Deimling A, Monoranu C, Roggendorf W, Herold-Mende C, Unterberg A, Kramm CM, Felsberg J, Hartmann C, Wiestler B, Wick W, Milde T, Witt O, Lindroth AM, Schwartzentruber J, Faury D, Fleming A, Zakrzewska M, Liberski PP, Zakrzewski K, Hauser P, Garami M, Klekner A, Bognar L, Morrissy S, Cavalli F, Taylor MD, van Sluis P, Koster J, Versteeg R, Volckmann R, Mikkelsen T, Aldape K,

Reifenberger G, Collins VP, Majewski J, Korshunov A, Lichter P, Plass C, Jabado N, Pfister SM. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. *Cancer Cell*. 2012;22(4):425-37

8) Neumann JE, Dorostkar MM, Korshunov A, Mawrin C, Koch A, Giese A, Schüller U. Distinct Histomorphology in Molecular Subgroups of Glioblastomas in Young Patients. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2016 May;75(5):408-14

9) Louis DN, Giannini C, Capper D, Paulus W, Figarella-Branger D, Lopes MB, Batchelor TT, Cairncross JG, van den Bent M, Wick W, Wesseling P. cIMPACT-NOW update 2: diagnostic clarifications for diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant and diffuse astrocytoma/anaplastic astrocytoma, IDH-mutant. *Acta Neuropathol*. 2018 Apr;135(4):639-642

10) Brat DJ, Aldape K, Colman H, Holland EC, Louis DN, Jenkins RB, Kleinschmidt-DeMasters BK, Perry A, Reifenberger G, Stupp R, von Deimling A, Weller M. cIMPACT-NOW update 3: recommended diagnostic criteria for "Diffuse astrocytic glioma, IDH-wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV". *Acta Neuropathol*. 2018 Nov;136(5):805-810