

## ARAŞTIRMA MAKALESİ

Makale No: 68

**IDH-Mutant Astrositomlarda FISH-Temelli CDKN2A/B ve EGFR ile Klinikopatolojik Değerlendirme****Clinicopathologic and FISH-Based Evaluation of CDKN2A/B and EGFR in IDH Mutant Astrocytomas**Ahmet Yasir YILDIRIM<sup>1</sup>, Sırma ÇETİN<sup>1</sup>, İlyas DOLAŞ<sup>2</sup>, Bilge BİLGİÇ<sup>1</sup>, Gökçen ÜNVERENGİL<sup>1</sup><sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

## ÖZ

**Giriş ve Amaç:** İzositrat dehidrojenaz (İDH) mutant astrositomlar belirgin genetik özellikler gösteren heterojen bir tümör grubudur. Dünya Sağlık Örgütü Merkezi Sinir Sistemi tümörleri sınıflamasına göre CDKN2A/B homozigot delesyonları derece 4 tümörlerde izlenirken, Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) amplifikasyonları İDH-wildtype tümörlerde izlenmektedir. Bu çalışma İDH-mutant astrositomlarda bahsedilen genetik özelliklerin sıklığı ve prognoza etkisini incelemektedir.

**Yöntem:** Bu çalışmada 2016 ve 2020 yılları arasında İDH-mutant astrositom tanısı almış supratentöryel yerleşimli 39 adet tümörü incelemeye aldık. CDKN2A/B delesyonları ve EGFR amplifikasyonları rutin floresan in situ hibridizasyon yöntemiyle değerlendirilmiş ve histolojik parametreler ile prognozla olan ilişkisi araştırılmıştır.

**Bulgular:** CDKN2A/B delesyonları vakaların %61,5'inde saptanmıştır ancak sadece iki vakada yüksek oranda (nükleusların  $\geq 30\%$ ) homozigot

delesyon tespit edilmiştir. Hiçbir vakada EGFR gen amplifikasyonu görülmemiştir. Ne tümör derecesi ne de mitoz sayısı genel veya hastalısız sağkalımla ilişkili bulunmuştur. Yüksek oranda homozigot CDKN2A/B delesyonu gösteren iki vakada yüksek dereceli tümöre transformasyon görülmemiş olup her ikisi de son klinik kontrol sırasında hayattadır.

**Sonuç:** Bu bulgular morfolojik özelliklerin sağkalım açısından tek başına yetersiz olduğunu ve moleküler belirteçlerin de tanı açısından kriterlere dâhil edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur. CDKN2A/B de gelişen spesifik mutasyonların prognostik öneminin anlaşılması açısından daha geniş hasta grubuna ve daha uzun takip süresine ihtiyaç vardır.

**Anahtar Sözcükler:** Astrositom, CDKN2A/B delesyonu, EGFR amplifikasyonu, FISH, prognoz, mitotik endeks.

## ABSTRACT

**Introduction:** Isocitrate dehydrogenase (IDH)-mutant astrocytomas represent a biologically distinct but clinically heterogeneous lineage. In the World Health Organization Central Nervous System 5 (WHO, CNS) classification, CDKN2A/B homozygous deletion is a grade 4-defining alteration, while Epidermal growth factor receptor (EGFR) amplification is primarily associated with IDH-wildtype glioblastomas. This study evaluates the frequency and prognostic significance of these alterations in strictly defined IDH-mutant astrocytomas.

**Methods:** We analyzed 39 supratentorial IDH-mutant astrocytomas diagnosed between 2016 and 2020. CDKN2A/B deletion and EGFR amplification were assessed via routine fluorescent in situ hybridization (FISH) based testing and correlated with histologic parameters and clinical outcomes.

**Results:** CDKN2A/B deletion was identified in 61.5% of cases; however, high-level homozygous deletion ( $\geq 30\%$  of nuclei) was present in only two cases. Epidermal growth factor receptor amplification was absent in all evaluable tumors. Neither WHO grade nor mitotic activity demonstrated a significant correlation with overall or disease-free survival. Notably, patients with high-level CDKN2A/B homozygous deletion remained alive without high-grade transformation at last follow-up.

**Conclusion:** These findings highlight the limited prognostic value of morphology within this molecular lineage and underscore the necessity of integrating molecular biomarkers into diagnostic frameworks. Larger multicenter cohorts with extended follow-up are essential to clarify the long-term prognostic significance of specific CDKN2A/B alterations.

**Keywords:** Astrocytoma, CDKN2A/B deletion, EGFR amplification, FISH, prognosis, mitotic index.

**Cite this article as:** Yıldırım AY, Çetin S, Dolaş İ, Bilgiç B, Ünverengil G. Clinicopathologic and FISH-Based Evaluation of CDKN2A/B and EGFR in IDH Mutant Astrocytomas. Arch Neuropsychiatry 2026;63:431–435. doi: 10.29399/npa.29351

## GİRİŞ

Diffüz gliomlar erişkinlerde merkezi sinir sisteminde en sık görülen malign tümörler olup belirgin biyolojik ve klinik heterojenite gösterirler (1). İzositrat dehidrojenaz (İDH) mutasyonlarının keşfi; daha önce sadece morfolojik özelliklerine göre sınıflandırılan tümörlerin, farklı prognostik seyirlere sahip, ayrı moleküler kökenlerden geldiğini ortaya koyarak gliom

taksonomisini tümüyle değiştirmiştir (1,2). İDH-mutant astrositomlar, başta ATRX (alfa-talasemi X'e bağlı zihinsel engellilik) kaybı ve TP53 yolağı değişimleri olmak üzere kendilerine has moleküler özellikler ile tanımlanırlar. Bu özellikler söz konusu tümörlerin 1p/19q kodelesyonu gösteren oligodendrogliomlar ve glioblastomlardan ayırt eder (3,4).

## Öne Çıkan Noktalar

- Mitoz sayısının prognoza etkisi saptanmadı
- Tümör derecesi sağkalımı öngörmeye etkisiz
- Astrositomlar yüksek dereceli astrositomlara progrese olabilir

Bu ortak moleküler özelliklere rağmen İDH mutant astrositomlu hastalarda klinik sonuçlar değişkenlik gösterir. Moleküler özellikler tanımlanmadan önce oluşturulan geleneksel histopatolojik değerlendirme kriterleri -sitolojik atipi, mitotik aktivite, mikrovasküler proliferasyon ve nekroz-prognozu öngörmeye sınırlı bir hassasiyete sahiptir (5-7). Gözlemciler arasındaki tutarsızlıklar bu kriterlerin tekrarlanabilirliğini daha da zayıflatarak yanlış sınıflandırmalara ve tutarsız sağkalım öngörülerine yol açmaktadır (6,8,9). Söz konusu kısıtlamalar; geniş genomik veri setleri ve meta analizlerin CDKN2A/B homozigot delesyonu ile kötü prognoz arasındaki ilişkiyi ortaya koymasıyla birlikte, bu değişikliğin DSÖ MSS5 sınıflamasında 'derece 4 tanımlayan moleküler özellik' olarak yer almasına zemin hazırlamıştır (9-15).

Epidermal büyüme faktörü reseptörü amplifikasyonları ise glioblastomlar için karakteristik bir mutasyon olup İDH mutant astrositomlarda nadiren izlenir (16-19). Bu bağlamda EGFR amplifikasyonu primer olarak İDH mutant astrositomlar için prognostik özellikten ziyade dışlayıcı niteliğiyle ön plana çıkmaktadır.

CDKN2A/B delesyonlarının prognozla ilişkisi geniş çaplı genetik çalışmalarıyla ortaya konmuş olsa da, floresan in situ hibridizasyon (FISH) temelli klinik kohortlarda bu prognostik farkı istatistiksel olarak göstermek mümkün olmamıştır (20-22). Günlük pratikte FISH incelemesine dayalı tanı kriterleri sınırlı olup bu bulguların klinik pratikte nasıl sonuç vereceğine dair veriler oldukça önemlidir. Çalışmamızın amacı: İDH-mutant astrositomlarda CDKN2A/B delesyonu ve EGFR amplifikasyonu sıklığını ve bunların prognoz üzerindeki etkilerini incelemek, ayrıca bu moleküler verileri histopatolojik bulgular ve klinik seyir ile ilişkilendirmektir.

## YÖNTEM

2016 ve 2020 yılları arasında merkezimizde supratentöryal yerleşimli İDH mutant astrositom tanısı almış 39 adet erişkin hastaya ait dokular çalışmaya dâhil edildi. Tümörlerin tümü İDH1-R132H immünohistokimyasal

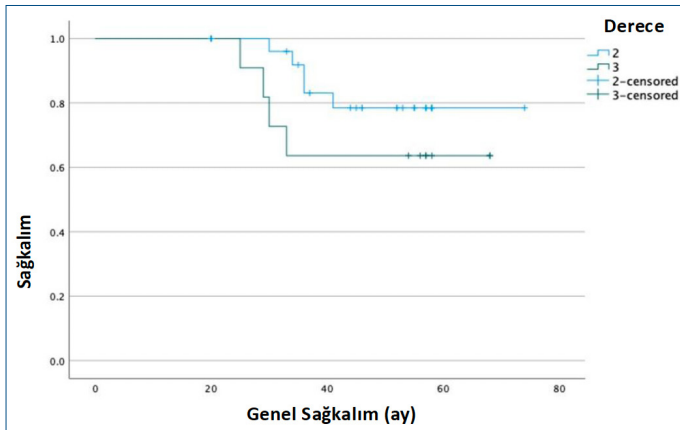
incelemesi ile pozitif sonuç vermiş olup 1p/19q kodelesyonu gösteren vakalar çalışma dışı bırakıldı (23). ATRX kaybı ve p53 pozitiflikleri astrositik kökeni gösteren belirteçler olarak değerlendirildi (3,4). Histolojik değerlendirme DSÖ MSS5 kriterlerine uygun olarak yapıldı (2). Mitotik aktivite tekrarlanabilirliği artırmak amacıyla 10 büyük büyüme alanındaki (2,37 mm<sup>2</sup>) mitotik figürler sayılarak belirlenmiştir (8,24).

Formalinle fikse edilmiş parafine gömülü doku kesitleri üzerinde, Abbott Vysis CDKN2A/CEP9 ve EGFR/CEP7 problemleri kullanılarak iki renkli FISH işlemi gerçekleştirilmiştir. CDKN2A/CEP9 sinyal oranının 0,8'in altında olması CDKN2A/B delesyonu olarak kabul edildi. Tümör nükleuslarında her iki CDKN2A sinyalinde kayıp homozigot delesyon olarak değerlendirildi, %30'dan fazla homozigot delesyon yüksek oranda homozigot delesyon kabul edildi (20-22). EGFR/CEP7 sinyal oranının 2'den fazla olması veya sinyal kümeleri varlığı EGFR amplifikasyonu olarak değerlendirildi (17,18,22). Tüm vakalarda en az 100'den fazla hücre nükleusu değerlendirmeye alındı. Yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, tedavi ve takip verilerini içeren klinik bilgiler tıbbi kayıtlardan elde edilmiştir. Genel sağkalım (GS), cerrahi tarihinden ölüme veya son takibe kadar; hastalısız sağkalım (HS) ise cerrahiden radyolojik veya histolojik progresyona kadar geçen süre olarak hesaplanmıştır. Sağkalım eğrileri Kaplan-Meier yöntemiyle oluşturulmuş, gruplar arası karşılaştırmalar ise log-rank testi ile gerçekleştirilmiştir.

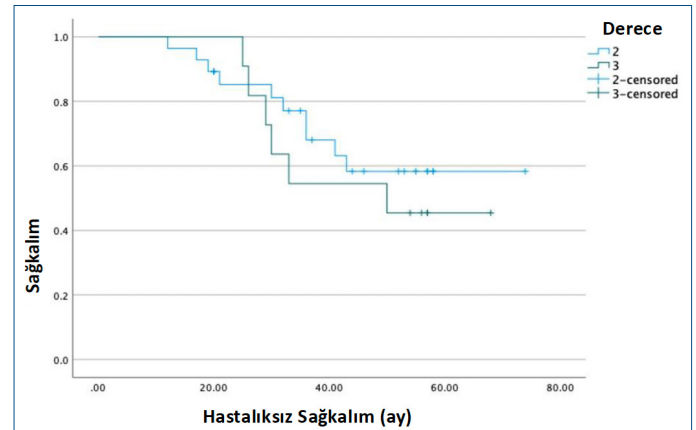
## BULGULAR

Tanı anındaki ortalama yaş 38 (18-55 arası) olup hastaların %61,5'i erkektir. Tümörler en sık frontal ve temporal lob yerleşimlidir. Gemistositik morfoloji vakaların %38,5'inde görülmüştür, ATRX ekspresyon kaybı %74,3 olup İDH mutant astrositomların özellikleriyle uyumludur (3,4). Mitotik aktivite tüm vakalarda düşüktür: tümörlerin %53,8'inde hiç mitoz görülmemiş, %33,3'ünde bir mitoz görülmüş olup yalnız %12,8'inde birden fazla mitotik figür görülmüştür. Ne mitotik endeks ne de DSÖ derecesi genel sağkalım (GS) veya hastalısız sağkalım (HS) ile korelasyon göstermiştir; bu durum, söz konusu moleküler alt tip içerisinde geleneksel histolojik derecelendirmenin prognostik yararını sorgulayan önceki kanıtlarla tutarlıdır. (6-8,24,25) (Şekil 1 ve 2).

CDKN2A/B delesyonu 39 tümörün 24'ünde saptandı (%61,5). Yedi vakada değişken oranda homozigot delesyon görüldü, yüksek oranda homozigot delesyon (nükleusların  $\geq$ %30) ise iki vakada saptandı. Söz konusu iki hasta erken dönemde agresif klinik seyir sergilememiş olup, 52 aylık medyan takip süresinde yüksek dereceli transformasyon gelişmeksizin yaşamlarını sürdürmektedir; ancak hastalardan birinde lokalize düşük dereceli nüks izlenmiştir. Hibridizasyon kalitesi yeterli bulunan 27 tümörün hiçbirinde

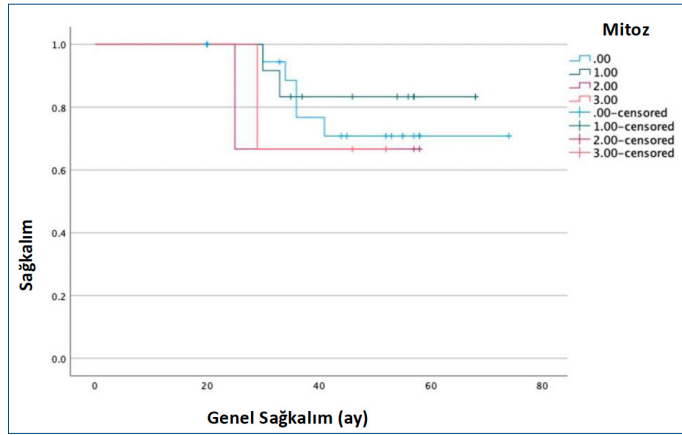


(a)



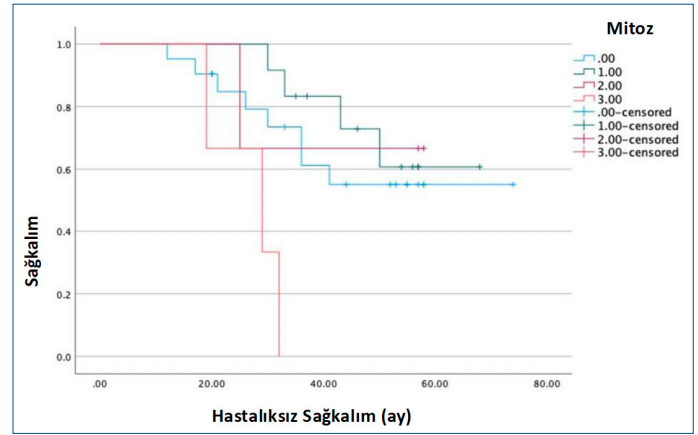
(b)

Şekil 1. Derece 2 ve Derece 3 astrositomlar arasında tümör derecesi, daha kötü bir genel sağkalım (OS) (a) veya hastalısız sağkalım (DFS) (b) ile ilişkili değildir.

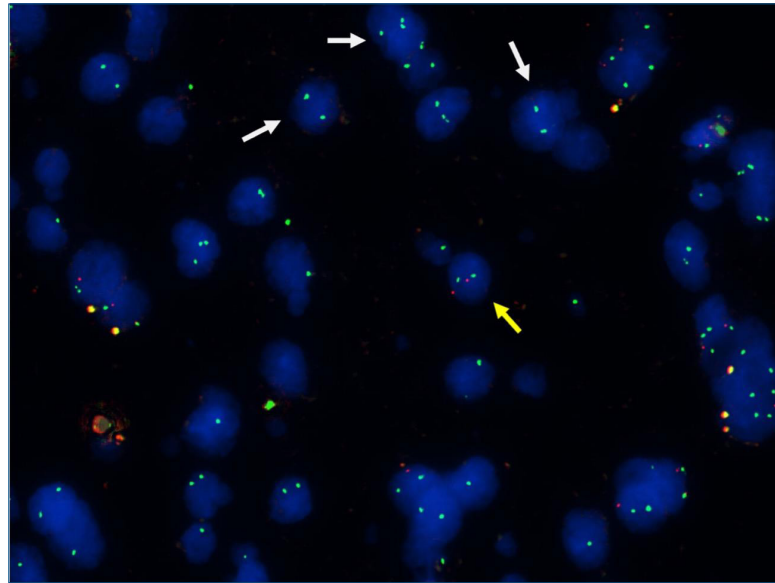


(a)

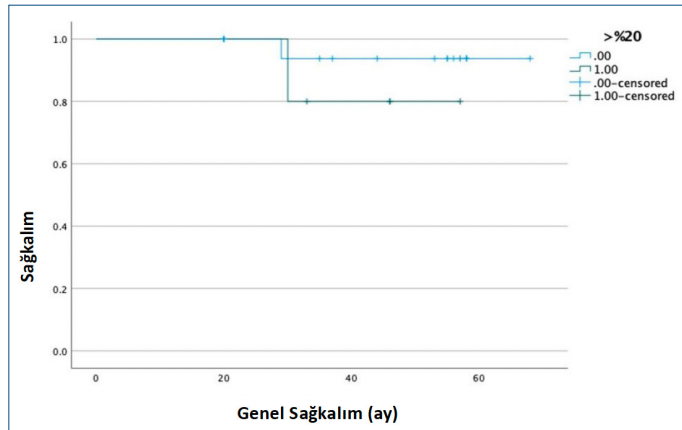
**Şekil 2.** On büyük büyütme alanındaki ( $2,37 \text{ mm}^2$ ) mitoz sayısı; Derece 2 ve Derece 3 astroditomlar arasında daha kötü bir genel sağkalım (a) veya hastalısız sağkalım (b) ile ilişkili değildir.



(b)

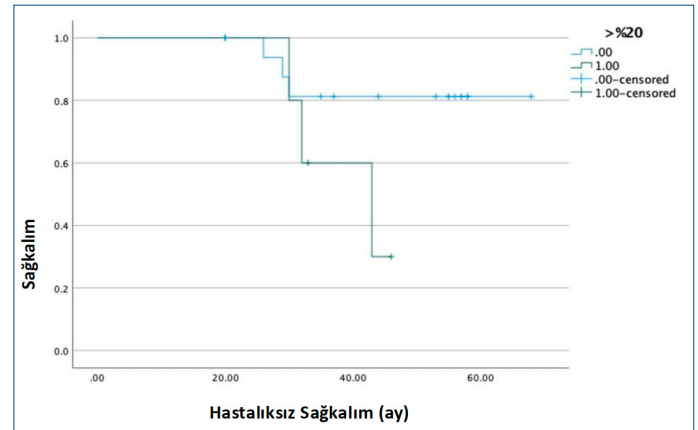


**Şekil 3.** Beyaz oklar homozigot CDKN2A/B delesyonlarını, sarı ok ise normal sinyalleri göstermektedir.



(a)

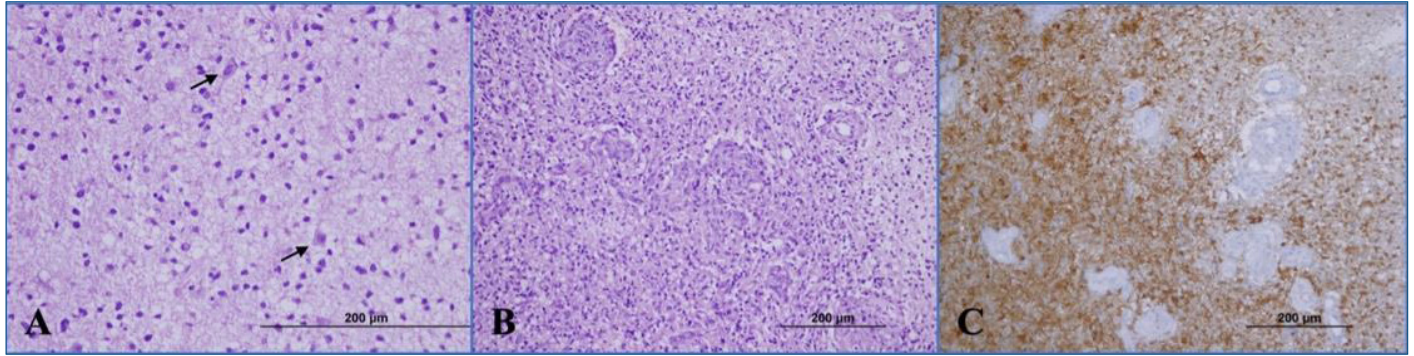
**Şekil 4.** CDKN2A/B genindeki hemizigot delesyonlar; Derece 2 ve Derece 3 astroditomlar arasında daha kötü bir OS (a) veya DFS (b) ile ilişkili değildir.



(b)

EGFR amplifikasyonu saptanmamıştır; bu bulgu, EGFR amplifikasyonunun IDH-mutant astroditomlardan ziyade glioblastomlar için karakteristik olduğu yönündeki güncel literatür verileriyle tam bir uyum içerisindedir. (16-19) (Şekil 3 ve 4).

Takip sürecinde iki hastada DSÖ derece 4'e radyolojik ve morfolojik progresyon saptanmış olsa da her iki hastanın da son kontrolde hayatta olduğu görülmüştür. Derece 2 ve Derece 3 tümörler için beş yıllık genel sağkalım oranları sırasıyla %65,2 ve %54,5 olarak hesaplanmış olup,



**Şekil 5.** İzositrat dehidrojenaz mutant astroisitomda tümör derecesi progresyonunun histopatolojik özellikleri: **(a)** Belirgin nükleer atipi veya mitotik aktivite izlenmeyen, hafif selülarite ile karakterize Derece 2 astroisitomun ilk başvuruındaki görünümü (H&E). **(b)** Takiplerin üçüncü yılında nüks eden tümör belirgin sitolojik atipi ve mikrovasküler proliferasyon ile daha yüksek bir dereceye progresyonu göstermektedir (H&E). **(c)** Nüks tümör hücrelerinde İDH-1 immünohistokimyasal boyamasında izlenen güçlü ve yaygın sitoplazmik pozitiflik, moleküler kökeni doğrulamaktadır.

aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgular, İDH-mutant astroisitomlarda histolojik derecelendirmenin sınırlı ayırt edici gücünü pekiştirmektedir (Şekil 5).

## TARTIŞMA

Bu çalışma; geleneksel morfoloji temelli prognostik belirteçlerin -özellikle DSÖ derecesi ve mitotik endeksin İDH-mutant astroisitomlar içerisinde sınırlı bir prognostik öngörü sunduğuna dair literatüre ek kanıtlar sağlamaktadır. Çok sayıda gözlemciler arası ve çok merkezli çalışma; aslında moleküler sınıflandırma öncesi dönemin biyolojik olarak heterojen tümör kategorileri için geliştirilmiş olan mitotik aktivite ve histolojik derece değerlendirmelerinde ciddi bir değişkenlik olduğunu belgelemiştir (5-8). Bulgularımız, söz konusu önceki gözlemlerle uyumlu olarak; İDH mutasyon durumu ile tanımlanan ortak bir tümör grubu içerisinde, tek başına morfolojik özelliklerin riski belirlemeyi güvenilir bir şekilde sağlayamadığını göstermektedir.

Değerlendirilebilir tümörlerin tamamında EGFR amplifikasyonunun bulunmaması; EGFR aracılı onkogenik sinyal iletiminin glioblastomun tanımlayıcı bir moleküler özelliği olduğu ve İDH-mutant astroisitomlarda neredeyse hiç görülmediği yönündeki yerleşik görüşü güçlü bir şekilde desteklemektedir (16-19). Bu kohortta EGFR amplifikasyonunun hiç saptanmaması; EGFR durumunun İDH-mutant tümörler içerisinde prognostik bir değişken olmadığı görüşünü pekiştirmektedir.

CDKN2A/B delesyonu nispeten yaygın görülürken, yüksek düzeyli homozigot delesyonun nadir saptanması; önceki FISH veya yeni nesil dizileme tabanlı çalışmalarda bildirilen frekanslarla uyumluluk göstermektedir (9,10,20,21,26). Geniş genomik veri setleri ve güncel meta-analizler; CDKN2A/B homozigot delesyonunu, İDH-mutant astroisitomlardaki en güçlü olumsuz prognostik biyobelirteçlerden biri olarak tutarlı bir şekilde tanımlamaktadır (9-15). Bununla birlikte, kohortumuzdaki klinik sonuçlar -her iki yüksek düzeyli homozigot delesyonlu vakadaki progresyonsuz sağkalım dâhil- uzun vadeli riski saptamada yetersiz kalabildiği diğer küçük FISH tabanlı çalışmaların bulgularını yansıtmaktadır (20,21,26). Bu durum; CDKN2A/B homozigot delesyonunun olumsuz (deleterious) etkisinin, ağırlıklı olarak uzatılmış takip sürelerinde (extended follow-up) ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir.

Güncel çok merkezli kanıtlar, CDKN2A/B alterasyonlarına dair anlayışımızı genişletmiştir. Ippen ve ark. (2025), İDH-mutant astroisitomlarda hemizigot delesyonların bile sağkalımı bağımsız olarak kötüleştirdiğini göstermiş; bu durum, CDKN2A/B kopya sayısı azalmasının tümör agresifliği üzerinde doza bağımlı bir etkisi olabileceğini düşündürmüştür (27). Serimizde hemizigot delesyonlar sık görülmeyle birlikte, muhtemelen sınırlı örneklem büyüklüğü ve takip süresi nedeniyle erken dönem olumsuz

sonuçlar sergilememiştir. Yine de bu bulgular; CDKN2A/B durumunun ikili (binary) bir alterasyon olmaktan ziyade sürekli bir prognostik spektrum üzerinde hareket ettiği kavramıyla örtüşmekte ve daha geniş kapsamlı, genomik olarak entegre edilmiş veri setlerine duyulan ihtiyacın altını çizmektedir (9,27).

Global kopya sayısı yükü, PDGFRA amplifikasyonu, CDK4 alterasyonları ve DNA metilasyon derecesini içeren ek moleküler faktörler; anlamlı bir prognostik veriler sağlamaktadır (12-15,24,28). Sonuç olarak; moleküler verilerin sürece entegre edilmesi, tek başına morfolojiye kıyasla çok daha üstün bir prognostik öngörü sağlamaktadır. Dizileme tabanlı yaklaşımların mevcudiyetine rağmen FISH; rutin nöropatoloji pratiğinde güvenilir, sağlam ve yaygın olarak erişilebilir bir araç olma özelliğini korumaktadır.

## Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamız tek merkezli tasarımı ve sınırlı örneklem büyüklüğü nedeniyle kısıtlı olup; bu durum, özellikle yüksek düzeyli CDKN2A/B homozigot delesyonu gibi nadir olaylar için istatistiksel olarak anlamlı ilişkilerin saptanmasını zorlaştırmaktadır. Tedavi heterojenitesi çalışmamın retrospektif oluşu sebebiyle bulunmakla birlikte, saptanabilir bir sistematik yanlılığa yol açmamıştır. Metilasyon profillemesi veya tüm genom dizilemenin eksikliği; CDKN2A/B alterasyonları ile daha geniş genomik yapı arasındaki etkileşimleri inceleme kapasitesini sınırlandırmaktadır. Takip süresi erken ve orta vadeli sonuçları değerlendirmek için yeterli olsa da; İDH-mutant gliomlarda iyi bilinen sağkalım eğrilerindeki geç dönem sapmaları tam olarak tanımlayabilmek için daha uzun süreli değerlendirmelere ihtiyaç duyulacaktır (14,15,28).

Sonuç olarak, bu İDH-mutant astroisitom kohortunda; DSÖ derecesi ve mitotik aktiviteyi içeren geleneksel histolojik göstergeler klinik sonuçları güvenilir bir şekilde öngörememiştir. Epidermal büyüme faktörü reseptörü amplifikasyonu tüm vakalarda istisnasız olarak negatif saptanmış olup; bu bulgu, EGFR amplifikasyonunun İDH-mutant tümörlerdeki bir prognostik biyobelirteçten ziyade, glioblastomlar için ayırt edici bir özellik olma rolünü daha da pekiştirmiştir (16-19). CDKN2A/B delesyonları sık görülürken, yüksek düzeyli homozigot delesyonlara nadiren rastlanmış ve bu olgular erken agresif klinik seyir sergilememiştir. Ippen ve arkadaşları (27) tarafından sunulan güncel veriler de dâhil olmak üzere, yeni ortaya çıkan çok merkezli kanıtlar; CDKN2A/B alterasyonlarının ikili bir etkiden ziyade kademeli bir biyolojik etki oluşturabileceğini ve CDKN2A/B durumunun sürekli bir prognostik spektrum içinde konumlandığını düşündürmektedir (9,27). Tüm bu bulgular birlikte ele alındığında, moleküler biyobelirteçlerin tanısal ve prognostik sistemlere entegre edilmesinin önemini vurgulamaktadır. İDH-mutant astroisitomlarda risk sınıflandırmasını hassaslaştırmak ve prognostik doğruluğu artırmak için; metilasyon profillemesini de içeren, daha uzun takip süreli ve geniş kapsamlı çok merkezli çalışmaların yapılması elzemdir.

**Etik Komite Onayı:** Bu proje İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu Tarafından onaylanmıştır (2022/476).

**Bilgilendirilmiş Onam:** Çalışmanın retrospektif doğası ve hasta bilgilerinin anonim kullanımı sebebiyle, aydınlatılmış onam gerekliliği etik kurul tarafından kaldırılmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir- AYY, GÜ; Tasarım- AYY, GÜ; Denetleme- AYY; Kaynaklar- AYY; Malzemeler- AYY; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- AYY; Analiz ve/veya Yorum- AYY; Literatür Taraması- AYY; Yazıyı Yazan- AYY, SÇ; Eleştirel İnceleme- GÜ, BB, İD.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu proje İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (proje numarası: 38938).

## KAYNAKLAR

- Aoki K, Nakamura H, Suzuki H, Matsuo K, Kataoka K, Shimamura T, et al. Prognostic relevance of genetic alterations in diffuse lower-grade gliomas. *Neuro Oncol.* 2018;20:66. [Crossref]
- Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Neuro Oncol.* 2021;23:1231–1251. [Crossref]
- Cimino PJ, Zager M, McFerrin L, Wirsching HG, Bolouri H, Hentschel B, et al. Multidimensional scaling of diffuse gliomas: application to the 2016 World Health Organization classification system with prognostically relevant molecular subtype discovery. *Acta Neuropathol Commun.* 2017;5:39. [Crossref]
- Pekmezci M, Rice T, Molinaro AM, Walsh KM, Decker PA, Hansen H, et al. Adult Infiltrating Gliomas with WHO 2016 integrated diagnosis: additional prognostic roles of ATRX and TERT. *Acta Neuropathol.* 2017;133:1001. [Crossref]
- van den Bent MJ, Wefel JS, Schiff D, Taphoorn MJB, Jaecle K, Junck L, et al. Response assessment in neuro-oncology (a report of the RANO group): assessment of outcome in trials of diffuse low-grade gliomas. *Lancet Oncol.* 2011;12:583–593. [Crossref]
- Franceschi E, Tosoni A, Bartolini S, Minichillo S, Mura A, Asioli S, et al. Histopathological grading affects survival in patients with IDH-mutant grade II and grade III diffuse gliomas. *Eur J Cancer.* 2020;137:10–17. [Crossref]
- Olar A, Wani KM, Alfaro-Munoz KD, Heathcock LE, van Thuijl HF, Gilbert MR, et al. IDH mutation status and role of WHO grade and mitotic index in overall survival in grade II-III diffuse gliomas. *Acta Neuropathol.* 2015;129:585–596. [Crossref]
- Kros JM, Rushing E, Uwimana AL, Hernández-Lain A, Michotte A, Al-Hussaini M, et al. Mitotic count is prognostic in IDH mutant astrocytoma without homozygous deletion of CDKN2A/B. Results of consensus panel review of EORTC trial 26053(CATNON) and EORTC trial 22033-26033. *Neuro Oncol.* 2023;25:1443–1449. [Crossref]
- Lu VM, O'Connor KP, Shah AH, Eichberg DG, Luther EM, Komotar RJ, et al. The prognostic significance of CDKN2A homozygous deletion in IDH-mutant lower-grade glioma and glioblastoma: a systematic review of the contemporary literature. *J Neurooncol.* 2020;148:221–229. [Crossref]
- Appay R, Dehais C, Maurage CA, Alentorn A, Carpentier C, Colin C, et al. CDKN2A homozygous deletion is a strong adverse prognosis factor in diffuse malignant IDH-mutant gliomas. *Neuro Oncol.* 2019;21:1519. [Crossref]
- Shirahata M, Ono T, Stichel D, Schrimpf D, Reuss DE, Sahm F, et al. Novel, improved grading system (s) for IDH-mutant astrocytic gliomas. *Acta Neuropathol.* 2018;136:153–166. [Crossref]
- Kling T, Ferreyra Vega S, Suman M, Dénes A, Lipatnikova A, Lagerström S, et al. Refinement of prognostication for IDH-mutant astrocytomas using DNA methylation-based classification. *Brain Pathol.* 2024;34:132–133. [Crossref]
- Yuile A, Satgunaseelan L, Wei JQ, Rodriguez M, Back M, Pavlakis N, et al. CDKN2A/B homozygous deletions in astrocytomas: a literature review. *Curr Issues Mol Biol.* 2023;45:5276–5292. [Crossref]
- Choate KA, Pratt EPS, Jennings MJ, Winn RJ, Mann PB. IDH mutations in glioma: molecular, cellular, diagnostic, and clinical implications. *Biology (Basel).* 2024;13:885. [Crossref]
- Wang H, Zhang X, Liu J, Chen W, Guo X, Wang Y, et al. Clinical roles of EGFR amplification in diffuse gliomas: a real-world study using the 2021 WHO classification of CNS tumors. *Front Neurosci.* 2024;18. [Crossref]
- Brennan CW, Verhaak RGW, McKenna A, Campos B, Noushmehr H, Salama SR, et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell.* 2013;155:462–477. [Crossref]
- Weller M, Felsberg J, Hentschel B, Gramatzki D, Kubon N, Wolter M, et al. Improved prognostic stratification of patients with isocitrate dehydrogenase-mutant astrocytoma. *Acta Neuropathol.* 2024;147:11. [Crossref]
- Hözl D, Hutarew G, Zellinger B, Alinger-Scharinger B, Schlicker HU, Schwartz C, et al. EGFR amplification is a phenomenon of IDH wildtype and TERT mutated high-grade glioma: an integrated analysis using fluorescence in situ hybridization and DNA methylome profiling. *Biomedicines.* 2022;10:794. [Crossref]
- Hasselblatt M, Jaber M, Reuss D, Grauer O, Bibo A, Terwey S, et al. Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype: a dissolving diagnosis. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2018;77:422–425. [Crossref]
- Marker DF, Pearce TM. Homozygous deletion of CDKN2A by fluorescence in situ hybridization is prognostic in grade 4, but not grade 2 or 3, IDH-mutant astrocytomas. *Acta Neuropathol Commun.* 2020;8. [Crossref]
- Ranade M, Epari S, Shetty O, Dhanavade S, Chavan S, Sahay A, et al. CDKN2A/B deletion in IDH-mutant astrocytomas: an evaluation by fluorescence in-situ hybridization. *J Neurooncol.* 2024;167:189–198. [Crossref]
- Horbinski C, Miller CR, Pery A. Gone FISHing: clinical lessons learned in brain tumor molecular diagnostics over the last decade. *Brain Pathol.* 2011;21:57–73. [Crossref]
- Capper D, Zentgraf H, Bals J, Hartmann C, von Deimling A. Monoclonal antibody specific for IDH1 R132H mutation. *Acta Neuropathol.* 2009;118:599–601. [Crossref]
- Yang RR, Shi Z-F, Zhang Z-Y, Chan AK-Y, Aibaidula A, Wang W-W, et al. IDH mutant lower grade (WHO Grades II/III) astrocytomas can be stratified for risk by CDKN2A, CDK4 and PDGFRA copy number alterations. *Brain Pathol.* 2020;30:541–553. [Crossref]
- Reuss DE, Mamatjan Y, Schrimpf D, Capper D, Hovestadt V, Kratz A, et al. IDH mutant diffuse and anaplastic astrocytomas have similar age at presentation and little difference in survival: a grading problem for WHO. *Acta Neuropathol.* 2015;129:867–873. [Crossref]
- Reis GF, Pekmezci M, Hansen HM, Rice T, Marshall RE, Molinaro AM, et al. CDKN2A loss is associated with shortened overall survival in lower-grade (World Health Organization Grades II-III) astrocytomas. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2015;74:442–452. [Crossref]
- Ippen FM, Hielscher T, Friedel D, Göbel K, Reuss D, Herold-Mende C, et al. The prognostic impact of CDKN2A/B hemizygous deletions in IDH-mutant glioma. *Neuro Oncol.* 2025;27:743–754. [Crossref]
- Yoda RA, Marxen T, Longo L, Ene C, Wirsching HG, Keene CD, et al. Mitotic index thresholds do not predict clinical outcome for IDH-mutant astrocytoma. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2019;78:1002–1010. [Crossref]