

Національний інститут раку, Київ

# ВЕРИФІКАЦІЯ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ НЕЙРОБЛАСТОМИ (огляд літератури)



О.М. Грабовий, Н.М. Храновська, М.Б. Зарецький, Г.І. Климнюк

Адреса:  
Грабовий Олександр Миколайович  
Національний інститут раку  
03022, Київ, вул. Ломоносова, 33/43  
Тел.: (044) 258-11-24  
E-mail: agrabovoy@yandex.ru

Нейробластома є однією з найбільш специфічних для дитячого віку солідних злоякісних пухлин. На сьогодні імуногістохімічні та молекулярно-генетичні дослідження при нейробластомі є необхідним компонентом діагностики, методами виявлення мікрометастазів і мінімальної залишкової хвороби в кістковому мозку, а також складовими системи стратифікації хворих за групами ризику, що є необхідними умовами виконання сучасних протоколів лікування. Незважаючи на всі досягнення у верифікації та прогнозуванні перебігу нейробластоми, ця проблема ще не є вирішеною. Завданням сьогоденних досліджень нейробластоми є не тільки вдосконалення підходів до визначення гістогенетичного типу пухлини, її окремих імуногістохімічних та молекулярно-генетичних ознак, а й комплексна оцінка цих та інших ознак з їх взаємозв'язками, які можуть виступати у якості високоінформативних критеріїв прогнозу розвитку пухлини.

Нейробластома (НБ) є однією з найбільш специфічних для дитячого віку солідних злоякісних пухлин, яка зустрічається найчастіше і становить приблизно 8% всіх онкологічних захворювань у дітей, займає 6-те місце в структурі дитячої онкозахворюваності. Щорічно реєструється 8–10 НБ на 1 млн живонароджених дітей. У 50% випадків НБ діагностуються у дітей у віці до 1 року, в 2,75% випадків — до 4 років та в 90% — до 10 років. Піки захворюваності припадають на дітей у віці до 1 року та 2–4 років. Серед хворих співвідношення хлопчики/дівчатка становить 1,2:1 [75]. Частота виявлення НБ при аутопсіях більш ніж у 400 разів перевищує клінічну маніфестацію цих пухлин, що вказує на їх спонтанну інволюцію у більшості дітей [61]. Первинна пухлина частіше локалізується в наднирковій залозі (32%), паравертебрально в заочеревинному просторі (28%), у задньому середостінні (15%), значно рідше в ділянці малого таза (6%) та шиї (2%) [17, 90].

НБ має здатність до раннього гематогенного метастазування, і майже у 50% хворих при надходженні в клініку спостерігаються метастази в кістковий мозок (КМ) та кістки, лімфатичні вузли [18]. Первинно-метастатичну форму виявляють у 25% спостережень у дітей у віці до 1 року і в 68% — у дітей старших 1 року.

Згідно з даними SEER [48] загальна 5-річна виживаність при НБ зросла з 24% у 1960–1963 рр. до 54% — в 1985–1994 рр., 5-річна виживаність у дітей віком до 1 року становить 83%, від 1 до 5 років — 55% та старших 5 років — 40%.

НБ належить до групи ембріональних пухлин, таких як гепатобластома, нефробластома, ембріональна рабдіоміосаркома. Ці пухлини характеризуються

маніфестацією в ранньому віці, мають схожі цитоморфологічні характеристики, притаманні ембріональним пухлинам. Разом з тим НБ відрізняється низкою специфічних унікальних ознак її біологічної поведінки, не притаманних іншим злоякісним пухлинам:

1. Здатність до спонтанної регресії. Однак досі не виявлено жодної ознаки, яка визначає злам у перебігу захворювання від прогресування до регресії [29, 36, 100].

2. Здатність до диференціювання. У культурі клітин, що була отримана з агресивної пухлини, у процесі росту спостерігалися явища диференціювання [8]. Деякі речовини здатні ініціювати цей процес *in vitro*: фактор росту нервової тканини, деякі цитостатики, папаверин, ретиноева кислота. Однак до сьогодні не було повідомлень про успішну індукцію процесу диференціювання *in vivo*. За даними Berthold [15] диференціювання злоякісних НБ у доброякісні пухлини відбувається доволі рідко (1:1150), проте переконливо.

3. Здатність до стрімкого агресивного розвитку та бурхливого метастазування [18].

НБ виникає з ембріональних нейробластів, які походять з нервового гребеня і утворюють ганглії периферичного відділу нервової системи та надниркові залози [53, 66]. Сучасна гістологічна класифікація периферичних нейробластичних пухлин, запропонована Міжнародним комітетом з патології НБ після адаптації раніше існуючих систем Yoshi і Shimada, включає 4 категорії новоутворень [82, 96]:

- НБ (з бідною стромою зі шваннівських клітин);
- гангліонейробластоми зі змішаним клітинним складом (багату шваннівською стромою);

**Ключові слова:** нейробластома, верифікація, прогноз.

- гангліонейрому (з переважанням стромального компонента);
- гангліонейробластому нодулярну зі складною будовою (багату на строми, з переважанням строми та бідною строною).

**НБ** типова (синоніми: симпатогніома, симпатична НБ, ембріональна симпатогма) є низькодиференційованою пухлиною, представленою переважно дрібними круглими клітинами з гіперхромними ядрами, не рідко зі своєрідним розташуванням хроматину в вигляді зерен та вузьким обідком цитоплазми («голі ядра»). Досить часто зустрічаються й клітини дещо більших розмірів, що нагадують симпатобласти (мають світле ядро та цитоплазму, пилоподібний хроматин), а також клітини типу лемобластів. Клітини розміщуються хаотично, залежно від кількості строми. Місцями спостерігаються «розетки» та «псевдорозетки» у вигляді послідовності клітин, між якими знаходиться ніжноволокниста субстанція (розетки Homer-Wright). Зустрічаються також окремі багатоядерні клітини, що нагадують гангліозні та інколи, групуючись, утворюють «завитки» [65]. Пухлина часто містить великі ділянки некрозу. Інтерстиційні крововивливи відносно часто зустрічаються в менш диференційованих пухлинах. Дифузна інфільтрація лімфоцитами типова для більш диференційованих пухлин. Наявність кальцифікатів — характерна ознака НБ, а їх кількість може збільшуватися у процесі виразної відповіді пухлини на терапію [52, 89].

**Гангліоневрома** (синоніми: неврогангліома, гангліонарна неврома) належить за своєю природою до доброякісних пухлин. Являє собою щільний, часточкової будови вузол, добре відокремлений від оточуючих тканин. Мікроскопічно характерна наявність клітин типу гангліозних, що розкидані поодиночці або групами та оточені пухкими прошарками сполучної тканини та нервових волокон, з наявністю серед них шваннівських елементів та фіброцитів. Місцями формуються «завихрення», серед яких власне і скупчуються клітини типу лемоцитів, що мають неправильну форму, велике ядро з крупними грудками хроматину. Часом спостерігаються групи клітин типу симпатобластів з інтенсивно забарвленими ядрами та тонким обідком цитоплазми [65].

**Гангліонейробластома** (синоніми: злоякісна гангліоневрома, гангліозно-клітинна НБ) відносять до проміжної форми пухлин — між гангліоневромою та типовою НБ. Гангліонейробластома дуже схожа за гістологічною будовою на гангліоневрому, проте менш щільна та здатна до проростання у суміжні тканини, тому часто її також називають злоякісною гангліоневромою. Мікроскопічно її відмінними особливостями є присутність, окрім великих гангліозних клітин та лемоцитів, значної

кількості нейрочитів різного ступеня диференціювання, більш схожих на нейробласти. Поряд із дрібними нейрочитами зустрічаються великі багатоядерні клітини з вакуолізованою цитоплазмою. Клітини розкидані по нижній фібрилярній субстанції. Також часто спостерігаються мітози та вогнища некрозу, утворення дрібних кіст [78, 81, 93].

Причини виникнення НБ невідомі, і жодних конкретних впливів оточуючого середовища або факторів ризику досі не виявлено. За даними епідеміологічних досліджень виникло припущення у якості етіопатогенетичних факторів НБ розглядати вживання матір'ю алкоголю, нейротропних ліків, діуретиків чи впливу на батьків протягом тривалого часу електромагнітного поля [23].

Дуже юний вік більшості пацієнтів з НБ та диференційований стан клітин нашттовхують на думку, що рушійні події індукції пухлини відбуваються в пренатальний період чи на дуже ранніх етапах життя. Отже, НБ може розглядатися як прояв злоякісного аберантного розвитку симпатичної нервової системи. Відомо, що НБ доволі часто супроводжується іншими захворюваннями, пов'язаними з аномаліями розвитку похідних нервового гребеня: хворобою Гіршпрунга, синдромом вродженої центральної гіповентиляції, нейрофіброматозом та ін. [7, 16].

Переважає більшість НБ виникає без сімейної історії, однак 1–2% вперше виявлених пухлин мають сімейний анамнез [61]. Донедавна, однак, мало було відомо про генетичні основи цієї хвороби. Нещодавно було встановлено ключову роль мутації *ALK* у зародковій лінії при розвитку більшості спадкових форм та наявність мутацій в гені *ALK* у 5–15% спорадичних випадків прогресуючої НБ [34, 46, 49, 68]. *ALK* (anaplastic lymphoma kinase) — рецептор тирозинкінази, уперше виявлений при аналізі специфічної транслокації, пов'язаної з рідкісною формою неходжкінської лімфоми. Прояв цих мутацій характеризується високою кіназою активністю та значним онкогенетичним потенціалом [71].

Діти зі спорадичними або сімейними НБ у поєднанні з синдромом вродженої центральної гіповентиляції, хворобою Гіршпрунга, як правило, також мають мутації з втратою функції гена *PHOX2B* [67]. ДНК-асоційований блок, що кодується *PHOX2B*-геном, є членом родини paired homeobox білків і транскрипційним фактором, залученим у регуляцію нейрогенезу, що відіграє ключову роль у ранній диференціації симпатoadреналової гілки з клітин нервового гребеня. Доведено його вирішальне значення у розвитку НБ, у тому числі сімейних форм [92].

Діагностичний комплекс для НБ включає:

1. Аналіз пухлинної тканини за допомогою світлової мікроскопії (з іму-

ногістохімічним (ІГХ) дослідженням), електронної мікроскопії.

2. Аналіз аспірату КМ або трепанобіопсії на вміст клітин НБ.

3. Виявлення підвищеного рівня сироваткових катехоламінів (наприклад дофаміну і норадреналіну) та їх попередників і метаболітів в сироватці або сечі (ванілінмигдалевої та гомованілінової кислот).

4. Виявлення біомаркерів для оцінки прогнозу перебігу захворювання та стратифікації хворих за групами ризику до початку лікування.

Допоміжними сироватковими маркерами пухлинного росту для діагностики НБ є рівень нейронспецифічної енолази, феритину та гангліозидів [84, 98].

За морфологією типова НБ належить до сімейства дрібнокруглоклітинних пухлин і при звичайній світловій мікроскопії часто важко визначити гістологічний тип пухлини, особливо враховуючи те, що в різних зрізах її будова може значно відрізнятися за клітинністю, ознаками дозрівання та кількістю строми. Виходячи з великої імовірності допущення помилки при оцінці новоутворення за препаратами, забарвленими гематоксиліном та еозином, необхідне проведення ІГХ дослідження [40]. Найчастіше імунофенотипування пухлини проводиться на матеріалі, ущільненому в парафіні, хоча можливе й на заморожених зрізах. Важливим елементом відтворення повної картини захворювання є також ІГХ виявлення клітин пухлини у КМ, для чого використовуються як мазки з пунктатів, так і трепанобіоптати, ущільнені в парафіні.

У діагностиці НБ у панелі антитіл, що можуть бути використані, основну групу становлять нейрональні маркери [2, 40, 51, 64, 73, 99], серед яких найбільш специфічними є антитіла до нейрофіламентів (NF) і антигену NB84. Їх експресія у пухлині, що складається з дрібних круглих клітин, з високою вірогідністю вказує на НБ. Але за цих умов обов'язковим є виключення неспецифічності чи аберантності реакції, що визначається використанням мінімум двох нейрональних маркерів, зовнішнього контролю та включення до панелі маркерів, відсутніх в НБ (віментин (Vim), десмін (Des), CD45). Однак особливо слід відзначити, що експресія NF і NB84 може бути відсутня у значній частині випадків НБ низького диференціювання. У такому разі верифікація проводиться з використанням інших нейрональних маркерів (нейронспецифічної енолази (NSE), синаптофізину (Syn), хромограніну А (CGA), Leu-7 (CD57)). Але вони є значно менш специфічними та можуть виявлятися у дуже схожих морфологічно пухлинах, таких як саркома Юїнга/PNET, рабдіоміосаркома, десмопластична дрібнокруглоклітинна пухлина (табл. 1).

**Таблиця 1** Панель основних антитіл, які використовуються при діагностиці та диференційній діагностиці нейробластом та інших пухлин з малих округлих клітин

Тип пухлини	Маркери, що використовуються в рутинній діагностиці																			
	Vim	CK	Des	CD45	NF	NB84	NSE	PGP 9,5	Syn	CGA	CD57	CD56	S-100	CD99	Flt-1	Osteocalcin	Myo D1	WT1	CD34	
НБ	+	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++*	-	-	-	-	-	-	-
Рабдоміосаркома	+++	-	+++	-	-	+	++	+	+	+	++	++	+	+	-	-	+++	-	-	
Саркома Юінга/PNET	++	+	-	-	++	++	++	+	++	++	+	+	+	+++	++	-	-	-	-	
Дрібноклітинна синовіальна саркома	+++	+++	-	-	-	-	++	+	-	-	+++	+++	+	+	-	-	-	-	-	
Мезенхімальна хондросаркома	+++	-	-	-	-	-	+	+	-	-	++	++	+++	+	-	-	-	-	-	
Дрібноклітинна остеосаркома	+++	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+++	-	-	-	-	
Десмопластична дрібноокруглоклітинна пухлина	+++	+++	+++	-	+	-	++	+	++	++	+	+	+	+++	-	-	-	+++	-	
Злоякісна лімфома	++	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	+	+	-	++	+	-	-	-	+	

Примітка: «+++» – зустрічається в більш ніж 75% пухлин; «++» – зустрічається в 50–75% пухлин; «+» – зустрічається в 10–50% пухлин; «-» – зустрічається в менш ніж 10% пухлин; \* – виявляється у підтримуючих клітинах пухлини.

Значимим для діагностики НБ є застосування антитіла проти білка S-100, який виявляється у стромальних елементах НБ. Цей маркер, крім того, що вказує на нейральне походження пухлини, дозволяє більш чітко визначити у складі НБ нейральну строму, хоча остання може бути відсутня у варіанті НБ бідної на шваннівську строму [21, 31, 80].

Наш досвід свідчить, що прицільне ІГХ дослідження на НБ виправдовує себе тільки при локалізації дрібноокруглоклітинної пухлини лише у наднирковій залозі. У цьому випадку ми використовуємо панель, що включає Vim, Des, NF, Syn, S-100, CD99. При результатах Vim<sup>+</sup>, Des<sup>+</sup>, NF<sup>+</sup>, Syn<sup>+</sup>, S-100<sup>+</sup>, CD99<sup>+</sup> практично однозначно пухлина визначається як НБ. У ряді випадків у цій панелі можуть бути негативними NF<sup>-</sup> і S-100<sup>-</sup>, що потребує обов'язкового застосування додатково інших нейрональних маркерів (за зростанням інформативності – NB84, NSE, CD57, CD56, CGA), оскільки встановлення типу новоутворення за одним маркером є малодостовірним.

При виявленні дрібноокруглоклітинної пухлини інших локалізацій ми вважаємо доцільним проводити поетапне дослідження. На першому етапі ставимо Vim, Des, NSE та у разі Vim<sup>+</sup>, Des<sup>+</sup>, NSE<sup>+</sup> прицільно ставимо реакції для підтвердження НБ.

Слід однак зазначити, що приблизно кожний 10-й випадок НБ потребує для верифікації визначення понад 10 маркерів, а висновок робиться шляхом виключення інших гістогенетичних типів пухлин. У третині таких випадків встановити точний діагноз НБ допомагають молекулярно-генетичні дослідження.

Одним із найважливіших завдань для сучасної патологічної анатомії є не тільки встановлення гістогенетичного типу пухлини, а й визначення факторів прогнозу для дітей, хворих на НБ, при дослідженні матеріалу первинної біопсії пухлини або операційного матеріалу [6]. Виявлення цих факторів патологом дозволяє визначити групу ризику та призначити адекватну протипухлинну терапію, а у майбутньому оцінити її ефективність за відповіддю пухлини на лікування [1, 3].

На основі гістопатологічної класифікації Шимади (Shimada) розроблена Міжнародна патологічна класифікація НБ (INSP), в якій виділяють 2 гістологічні групи пухлин зі сприятливою та несприятливою гістопатологічною будовою [74, 79, 82]. Для цього враховується:

1. Ступінь диференціації нейробластів.
2. Наявність або відсутність шваннівської строми (багаті стромою, збіднені стромою).
3. Індекс клітинної проліферації (МКІ – мітотично-каріорексичний індекс, індекс Шимади – підраховується кількість мітозів та каріорексисів на 5000 пухлинних клітин).
4. Нодулярність будови.
5. Вік хворого.

**Гістологічна група зі сприятливим прогнозом:**

- пацієнти будь-якого віку з багатою стромою пухлиною нодулярної будови;
- пацієнти молодші 18 міс з пухлиною зі збідненою стромою, МКІ нижчим за 200/5000, із диференційованими або недиференційованими нейробластами;
- пацієнти молодші 60 міс з пухлиною зі збідненою стромою, МКІ нижчим за 100/5000 та добре диференційованими клітинами пухлини.

**Гістологічна група з несприятливим прогнозом:**

- пацієнти будь-якого віку з пухлиною зі збідненою стромою та нодулярною будовою;
- пацієнти будь-якого віку з пухлиною зі збідненою стромою та нодулярною будовою, із диференційованими або недиференційованими нейробластами та МКІ вищим ніж 200/5000;
- пацієнти старші 18 міс із пухлиною зі збідненою стромою, недиференційованими НБ та МКІ вищим ніж 100/5000;
- пацієнти старші 18 міс із пухлиною зі збідненою стромою, диференційованими НБ та МКІ вищим за 100–200/5000;
- пацієнти старші 60 міс із пухлиною зі збідненою стромою, диференці-

йованими НБ та МКІ нижчим ніж 100/5000.

Слід зазначити, що гістопатологічна класифікація НБ є дуже корисним інструментом, оскільки допомагає виділити групи хворих, яким потрібні агресивні протоколи лікування або зниження інтенсивності лікування після дослідження біопсійного та післяопераційного матеріалу [65].

Тепер усе більшого значення набувають біологічні прогностичні фактори, що базуються на результатах імунофенотипування та молекулярно-генетичного аналізу, які активно розробляються [40, 65, 95].

Серед ІГХ прогностичних маркерів при НБ одним із найвагоміших є визначення експресії глікопротеїну CD44, з яким пов'язують реалізацію метастатичного потенціалу різноманітних новоутворень [69]. Експресія CD44 на мембранах клітин НБ є показником сприятливого прогнозу [37, 38]. Також дуже важливе значення має рівень експресії маркерів проліферації, таких як Ki-67 та REPP 86, високий рівень асоціюється з несприятливим перебігом захворювання [54, 55, 63]. Є літературні дані [47], які свідчать, що висока експресія ендотеліального фактора росту судин (VEGF) у дітей старших 18 міс має чітку кореляцію з поганим прогнозом. У даний час продовжуються дослідження щодо оцінки ролі експресії мутантних маркерів апоптозу BCL-2 Вах у відповіді НБ на лікування [44]. Отримано дані щодо прогностичної сприятливості значущості експресії c-kit (CD117) в клітинах НБ [56, 97].

Слід зазначити, що для визначення прогнозу захворювання можливе використання деяких спеціальних гістологічних методів дослідження, що не є високоартістичними. Так, згідно з даними літератури [83] при дослідженні ділянок аргірофільних ядерцевих організаторів пухлинних клітин (AgNOR) у дітей з метастатичною НБ була визначена певна залежність між кількістю AgNOR у клітинах первинної пухлини, клітинах регіональних та віддалених метастазів і між прогнозом хвороби. Таким чином було визначено, що в НБ IV стадії кількість AgNOR найбільша в клітинах віддаленого

метастазу, в той час як у НБ IV S стадії їх кількість майже однакова, як у первинній пухлині, так і в регіональних та віддалених метастазах. Отже, цей метод дає можливість відобразити властивості метастатичної НБ, вказуючи на регрес пухлини та/або сприятливий прогноз [41].

На сьогодні молекулярно-генетичні та цитогенетичні дослідження є обов'язковою складовою діагностичного комплексу при НБ і разом із гістологічною класифікацією, стадією та віком хворого служать для встановлення групи ризику та вибору оптимальної тактики лікування [94]. Слід зазначити, що для НБ не відомо ніяких специфічних генетичних перебудов, які могли б служити в якості чітких діагностичних маркерів. Водночас для її клітин притаманний цілий комплекс цитогенетичних та молекулярних аномалій [26, 33, 42, 50]. Вони часто є причиною гетерогенності клінічного перебігу пухлини. Вважається, що коекспресія генів тирозингідроксилази та DOPA-декарбоксілази є вельми характерною для НБ, тому існує припущення, що ці маркери можуть бути використані в диференційній діагностиці НБ від інших дрібноклітинних пухлин дитячого віку [59, 60]. Комплекс основних цитогенетичних та молекулярних аномалій при НБ представлено у табл. 2 [5 з доповненнями].

У 2005 р. на зустрічі голів провідних педіатричних груп на основі досліджень даних 8800 пацієнтів, що лікувалися в Європі, Японії, США, Канаді та Австралії у період з 1990 по 2002 р., була запропонована Система міжнародної класифікації НБ за групами ризику (INRGSS) [9, 35]. Ця нова система включає також й індивідуальні генетичні характеристики пухлини — ампліфікацію гена *N-myc*, делецію 11q, плоідність

ДНК та дозволяє розрізнити 4 групи ризику вже на етапі первинної діагностики: групу дуже низького ризику, групу низького ризику, групу проміжного ступеня ризику та групу високого ризику [20, 76]. На основі цієї класифікації пропонується нова система стадіювання INRG (L1, L2, M, MS), яка зараз перебуває на стадії удосконалення та потребує включення нових індивідуальних біологічних ознак пухлинних клітин (табл. 3).

Статус гена *n-myc* є центральним стратифікаційним біологічним маркером для визначення групи ризику незалежно від гістопатологічної будови НБ та ступеня її диференціювання [12, 14]. Ампліфікація гена *n-myc* чітко асоціюється із швидкою прогресією пухлини та поганим прогнозом у пацієнтів будь-якого віку та стадії захворювання [24]. Ампліфікація гена *n-myc* часто сягає 50–400 копій гена на клітину з відповідним високим рівнем його експресії. Це спостерігається у 25% первинних пухлин і корелює з прогресуючою стадією захворювання та резистентністю до лікування. В асоціації із ампліфікацією гена *n-myc* виявлено наявність ампліфікації деяких інших генів, таких як *DDX1*, *NAG* та *ALK*. Не дивлячись на це, важливо наголосити, що у великому відсотку випадків метастатичних НБ ампліфікація гена *n-myc* все-таки не виявляється. Тому пошук нових прогностичних та стратифікаційних генетичних маркерів при НБ або їх комплексу триває, і це є актуальною проблемою дитячої онкології. Пошук нових генетичних маркерів охоплює множинні перебудови геному та епігенетичні порушення в пухлинній клітині, що пов'язані з канцерогенезом при НБ.

Загалом, прогностично сприятливі форми НБ характеризуються здатністю до спонтанної регресії або дозрівання без цитотоксичної терапії. Ці пухлини майже

в усіх випадках поліплоїдні з невеликими сегментними хромосомними абераціями та з відсутністю ампліфікації генів [58]. Вміст у них ДНК становить близькі до триплоїдних значення. Гіперплоїдні пухлини без жодних структурних змін хромосом легше піддаються лікуванню та інколи здатні до спонтанної регресії [45]. Разом з тим плоідність ДНК в якості монофактора має обмежене значення, оскільки анеуплоїдні пухлини можуть також мати сегментні хромосомні аберації (набуття або втрати лише частини хромосом) та ампліфікацію гена *n-myc*, що завжди визначає несприятливий перебіг пухлинного процесу [4]. НБ з агресивним перебігом характеризуються множинними сегментними абераціями хромосом та ампліфікаціями окремих генів, зокрема гена *n-myc* в 25% випадків первинних пухлин.

Як найбільш потенційно патогномонічні при НБ розглядаються хромосомні порушення, якими є делеції хромосомних ділянок 1p36.3 або 11q23, незбалансоване набуття довгих плечей хромосоми 17, а також делеції 3p, 4p, 9p та 12p [27, 62, 72, 85, 101]. Деякі з цих хромосомних аномалій асоційовані з ампліфікацією гена *n-myc*. Більш ніж у половині випадків НБ спостерігаються аномалії в довгому плечі 17-ї хромосоми. Незбалансований приріст 17q часто поєднується з незбалансованою транслокацією 1 або 11 хромосом [43]. Контрольні точки приросту 17q є різними, але вони завжди включають в себе район 17q22, що супроводжується посиленням ефекту одного чи більше генів. Ця аномалія асоціюється з більш агресивним перебігом захворювання.

Делеція 11q рідко зустрічається в пухлинах з ампліфікацією *n-myc*, однак асоційована з іншою групою НБ високого ступеня ризику [10, 28]. Висока частота

Таблиця 2 Молекулярні та цитогенетичні аномалії при нейробластомі

Тип аномалії	Хромосоми/гени
Кількісні аномалії хромосом	Гіпердиплоїдія, 3n, 4n, +17, +17q21-pterм
Делеції	1p(1p36,3-р36,2), 11q23, 17p, 3p, 4p, 9p, 12p, 14q (14q23), 18q21,1
Дуплікації та ампліфікації	1q21-q25, 17q, <i>N-myc</i> (2p24)
Втрата гетерозиготності	1p36, 14q32
Зміна експресії генів	<i>H-ras</i> , <i>MRP</i> , <i>CD44+</i> , <i>TrkA</i> , <i>ZF5-3</i> , теломераза, тирозингідроксилаза, DOPA-декарбоксілаза
Транслокації	1-ша, 11-та хромосоми

Таблиця 3 Система міжнародної класифікації нейробластом за групами ризику (INRGSS)

INRG стадія	Вік, міс	Гістологічна категорія/ступінь диференціювання	Статус гена <i>n-myc</i>	11q аберації	Плоідність	Група ризику
L1/L2		Гангліоневрома зріла, гангліонейробластома проміжна	Немає ампліфікації			Дуже низький
L1		Будь-які, виключаючи гангліоневрому зрілу або проміжну	Є ампліфікація			Високий
L2	<18	Будь-які, виключаючи гангліоневрому зрілу або проміжну	Немає ампліфікації	Немає		Низький
				Є		Проміжний
	≥18	Гангліонейробластома нодулярна, диференційована нейробластома	Немає ампліфікації	Немає		Низький
				Є		Проміжний
		Гангліонейробластома нодулярна, низькодиференційована нейробластома або недиференційована нейробластома	Немає ампліфікації			Проміжний
			Є ампліфікація			Високий
M	<18		Немає ампліфікації		Гіперплоідність	Низький
	<12		Немає ампліфікації		Диплоїдність	Проміжний
	12–<18		Немає ампліфікації		Диплоїдність	Проміжний
	<18		Є ампліфікація			Високий
MS	<18		Немає ампліфікації	Немає		Дуже низький
				Є		Високий
			Є ампліфікація			Високий

ламкості в 11q-делетованому районі дозволяє припускати хромосомну нестабільність фенотипу генів, розташованих в 11q. Одним із таких генів є *H2AFX*, що розташований в 11q23.3. *H2AFX* кодує варіант корового гістону H2A, який становить ~2–25% всього клітинного H2A і випадково вбудовується в нуклеосоми. *H2AFX* у фосфорильованому стані фланкує ДНК у місцях дволанцюгових розривів. При втраті однієї з алелей *H2AFX* спостерігається порушення геномної стабільності за відсутності p53. Ось чому зростання ламкості хромосом, що спостерігається у пухлинах за делецією 11q, може бути пояснено частково втратою копії *H2AFX*. Слід зазначити, що на даний час ще остаточно не ідентифіковані гени (онкогени або гени-супресори), які знаходяться в аномальних ділянках хромосом та задіяні в патогенезі НБ.

Зміни функції білка p53 є одним з найбільш універсальних молекулярних порушень у клітинах при різних злоякісних новоутвореннях. Його інактивация призводить до менш ефективного функціонування внутрішньоклітинних сигнальних систем, що гальмують клітинний цикл при пошкодженнях, пригнічують індукцію апоптозу, зменшують ефективність репарації ДНК, підвищують ефективність адаптації до гіпоксії та стимулюють ангиогенез, інгібують диференціювання; зумовлюють сильну генетичну нестабільність, яка є промотором подальшої пухлинної прогресії. Втрата функціональної активності p53 значно підвищує темп появи клітин, що розмножуються, з різноманітними генетичними аномаліями. Слід зазначити, що залежність прогнозу перебігу злоякісного процесу при НБ від типу мутації в гені *TP53* поки вивчена доволі погано. Для НБ є більш характерним втрата ділянки хромосоми 17p, де розташовується ген *TP53*, мутації самого гена зустрічаються лише в 1–2% випадків [30].

Востанні роки виявлені нові механізми регуляції активності гена *TP53* та встановлена його значимість в прогресії НБ. Велика роль у цьому процесі відводиться епігенетичним факторам — мікроРНК. Нещодавно ідентифіковано мікроРНК 380, задіяну в зворотній регуляції активності гена *TP53* при НБ [88]. Ця мікроРНК не виявлена в нормальних клітинах здорової людини, але вона дуже активна в період розвитку ембріона. Також продемонстрована роль інших мікроРНК в регуляції генів, задіяних в патогенезі НБ. Показано, що miR-34a залучена у процес апоптозу, опосередкований p53, та інгібує експресію білка NMYC. Тому зниження рівня експресії miR-34a при НБ може розглядатися як суттєвий негативний прогностичний фактор, але це потребує ретельного дослідження. Гіперекспресія miR-17-92, виявлена при злоякісних новоутвореннях різних типів, сприяє прогресії пухлини

та блокуванню чутливості до проапоптотичних стимулів [22, 86].

Епігенетична інактивация генів може бути обумовлена іншим механізмом — метилюванням промоторної ділянки гена. У цьому плані найбільший інтерес становлять гени, задіяні в різних сигнальних шляхах у клітині: процеси апоптозу, регуляції клітинного циклу, диференціюванні, інвазії та метастазуванні. Зокрема, гіперметилювання гена ретиноевої кислоти (*RARB2*) може вказувати на чутливість клітин НБ до цього стимулу, що індукує диференціацію пухлинних клітин. Слід зазначити, що дослідження значення епігенетичних механізмів в патогенезі НБ знаходяться на початковому етапі [25, 26].

В якості несприятливих факторів прогнозу можна розглядати низький рівень експресії генів *H-ras*, *CD44<sup>v6</sup>* та відсутність експресії *TRKA* в пухлинних клітинах [10, 16, 19, 77].

Як вже зазначалося, характерною особливістю НБ є здатність до раннього гематогенного метастазування. Ураження КМ є стійким індикатором IV стадії захворювання, що характеризується агресивним перебігом та стійкістю до хіміотерапії. Дослідження КМ є обов'язковою складовою діагностичного комплексу при НБ. Необхідним є виконання пункції КМ або трепанобіопсії груднини та крил клубової кістки. Одержаний матеріал досліджують цитологічно, імунологічно, молекулярно-генетично (виявлення мікроРНК генів за допомогою real-time RT-PCR).

ІГХ методи дослідження є високоінформативними, але не завжди достатніми при виявленні дисемінованого ураження КМ та мінімальної залишкової хвороби. У таких випадках більш ефективним є використання молекулярно-генетичних методів дослідження, а зокрема RT-PCR, яка дає можливість визначити високоспецифічні молекулярно-генетичні маркери та дозволяє ідентифікувати одну пухлинну клітину серед 105–107 ядровмісних клітин. Вимірювання транскриптів гена тирозингідроксилази та DOPA-декарбоксілази в КМ є високочутливим методом для виявлення незначної кількості клітин НБ, встановлення наявності метастазів у КМ та визначення рівня мінімальної залишкової хвороби, а також для виявлення пухлинних клітин у лейкоконцентраті перед проведенням трансплантації клітин-попередників гемопоєзу [11, 13, 39, 87]. Наявність експресії тирозингідроксилази під час хіміотерапії, особливо на початковому етапі, свідчить про можливість виникнення резистентності до лікування. Загалом, наявність експресії тирозингідроксилази та DOPA-декарбоксілази асоціюється з прогресуючою стадією НБ, несприятливим прогнозом перебігу захворювання і зниженням рівня виживаності [57, 91].

Таким чином, рутинне гістологічне дослідження у значній частині випадків не є доказовим при верифікації НБ. Враховуючи це, ІГХ стає абсолютною необхідною для типування НБ. І навіть при «очевидності» для патолога діагнозу за результатами вивчення препаратів, забарвлених гематоксилином і еозином, є доцільним ІГХ підтвердження гістогенетичного типу пухлини. Слід враховувати, що гістогенетичне типування НБ у невеликому відсотку випадків не може бути здійснене за допомогою ІГХ методів. У такій ситуації реальну допомогу надають дослідження молекулярно-генетичні методи.

ІГХ та молекулярно-генетичні технології забезпечують не тільки можливість гістологічного типування НБ, а й визначення низки прогностичних ознак [40, 70], є базою для методів виявлення мікрометастазів та мінімальної залишкової хвороби в КМ, є складовою частиною системи стратифікації хворих за групами ризику та необхідною умовою виконання сучасних протоколів лікування [32].

Незважаючи на визначні досягнення у дослідженні властивостей НБ, далеко не завжди пухлина поведеться так, як очікується. Інколи при діагностуванні гангліоневроми, що мала б мати сприятливий прогноз для пацієнта, після, на перший погляд, типового в цьому випадку лікування спостерігається непередбачене метастазування та перехід у злоякісний форми НБ [18]. Відомі й випадки спонтанного регресу типової НБ до гангліоневроми [29, 36]. Саме наявність таких випадків потребує не лише визначення гістогенетичного типу пухлини та її окремих ІГХ та молекулярно-генетичних ознак, а й комплексної оцінки цих та інших ознак з їх взаємозв'язками, які можуть виступати в якості високоінформативних критеріїв прогнозу розвитку пухлини [2].

Впровадження нових мультимодальних підходів до лікування та подальший прогрес у терапії НБ вимагають удосконалення системи стратифікації хворих за групами ризику та підходів до індивідуалізації лікування на основі морфологічних та генетичних особливостей пухлини. Комплексна оцінка морфологічних, імунофенотипових, молекулярно-генетичних та інших ознак НБ дає змогу розглянути гетерогенність клітинного складу пухлини за морфофункціональними ознаками та визначити клітинний склад новоутворення, за характером якого можна більш точно прогнозувати подальший перебіг хвороби. Разом із виявленням нових прогностичних молекулярно-генетичних, цитогенетичних та епігенетичних маркерів це надасть можливість удосконалити систему стратифікації хворих за групами ризику та дозволить суттєво підвищити ефективність лікування хворих на НБ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галахин К.А., Курик Е.Г. (2000) Лечебный патоморфоз злокачественных опухолей пищеварительного тракта. К.: Книга плюс: 176.
2. Грабовый О.М., Зарецкий М.Б. (2012) Возможности та складності гістологічного тилування солідних пухлин у дітей. Клінічна онкологія, 5(1): 153–157.
3. Грабовой А.Н., Тарасова Т.А., Кошубарова М.В. (2012) Гистологическая оценка ответа опухоли на химио-лучевую терапию. Клінічна онкологія, 6(2): 154–156.
4. Климинюк Г.И., Храновская Н.Н., Балицкая О.В., и др. (2008) Показатели ДНК-статуса клеток опухоли в определении резистентных к цитостатической терапии форм солидных новообразований у детей. Детская онкология, 2: 8–12.
5. Рушковский С.Р., Афанасьева Е.С., Безруков В.Ф. и др. (2005) Молекулярные и цитогенетические маркеры солидных опухолей у детей. Онкология, 7(4).
6. Франк Г.А. (2004) Проблемы морфологической классификации и диагностики опухолей мягких тканей. Практическая онкология, 5(4): 23–26.
7. Acharya S., Jayabose S., Kogan S.J. et al. (1997) Prenatally diagnosed neuroblastoma. Cancer, 80: 304.
8. Ambros I.M., Attarbaschi A., Rumpel S. et al. (2001) Neuroblastoma cells provoke Schwann cell proliferation *in vitro*. Med Pediatr Oncol., 36: 163–168.
9. Ambros P.F., Ambros I.M., Brodeur G.M. et al. (2009) International consensus for neuroblastoma molecular diagnostics: report from the International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Biology Committee. British J Cancer., 100: 1471–1482.
10. Attiyeh E.F., London W.B., Mosse Y.P. (2005) Chromosome 1q and 11q deletions and outcome in neuroblastoma. N. Engl. J. Med., 353: 2243–2253.
11. Avigad S., Feinberg-Gorenstein G., Luria D. et al. (2009) Minimal residual disease in peripheral blood stem cell harvests from high-risk neuroblastoma patients. J. Pediatr. Hematol. Oncol., 31: 22–26.
12. Bagatell R., Beck-Popovich M., London W.B. et al. (2009) Significance of MYCN amplification in international neuroblastoma staging system stage 1 and 2 neuroblastoma: a report from the International Neuroblastoma Risk Group database. J. Clin. Oncol., 27(3): 365–370.
13. Beiske K., Burchill S.A., Cheung I.Y. et al. (2009) Pearson and KK Matthey. Consensus criteria for sensitive detection of minimal neuroblastoma cells in bone marrow, blood and stem cell preparations by immunocytology and QRT-PCR: recommendations by the International Neuroblastoma Risk Group Task Force. British Journal of Cancer, 100: 1627–1637.
14. Bernardi B.D., Gerrard M., Boni L. et al. (2009) Высокие показатели выживаемости при использовании терапии сниженной интенсивности у детей с диссеминированной нейробластомой без амплификации гена MYCN. Journal of Clinical Oncology, 27(7): 1034–1040.
15. Berthold F., Baillet A., Hero B. et al. (1999) Which cases are found and missed by neuroblastoma screening at 1 year? Results from the 1992 to 1995 study in three Federal States of Germany. J. Clin. Oncol., 17(4): 1200.
16. Bown N., Cotterill S., Lastowska M. (1999) Gain of chromosome arm 17q and adverse outcome in patients with neuroblastoma. N. Engl. J. Med., 340: 1954–1961.
17. Brodeur G.M., Maris J.M. (2002) Neuroblastoma. Principles and Practice of Pediatric Oncology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins: 937.
18. Brodeur G.M. (2003) Neuroblastoma: Biological insights into a clinical enigma. Nature Rev. Cancer, 3: 203–216.
19. Brodeur G.M., Nakagawara A., Yamashiro D.J. et al. (1997) Expression of TrkA, TrkB and TrkC in human neuroblastomas. J. Neurooncol., 31(1–2): 49–55.
20. Brodeur G.M., Fong C.T., Morita M. (1988) Molecular analysis and clinical significance of N-myc amplification and chromosome 1q monosomy in human neuroblastomas. Prog. Clin. Biol. Res., 271: 3–15.
21. Brook F.B., Raafat F., Eldeeb B.B., Mann J.R. (1988) Histologic and immunohistochemical investigation of neuroblastomas and correlation with prognosis. Hum. Pathol., 19: 879–888.
22. Buchner J. (2011) MYCN and microRNA in neuroblastoma. A dissertation for the degree of Philosophiae Doctor. University Hospital of North Norway: 85.
23. Bunin G., Ward E., Kramer S. (1990) Neuroblastoma and parental occupation. Am. J. Epidemiol., 131(5): 776–780.
24. Canete A., Gerrard M., Rubie H. et al. (2009) Poor survival for infants with MYCN-amplified metastatic neuroblastoma despite intensified treatment: the International Society of Pediatric Oncology European neuroblastoma experience. J. Clin. Oncol., 27(7): 1014–1019.
25. Capasso M., Devoto M., Hou C. et al. (2009) Common variations in *BAR1* influence susceptibility to high-risk neuroblastoma. Nat. Genet., 41: 718–723.
26. Capasso M., Diskin S. (2010) Genetics and genomics of neuroblastoma. Cancer Genetics, Cancer Treatment and Research. B. Pasche (ed.) Springer Science LLC: 65–84.
27. Caren H., Fransson S., Ejeskar K., Martinsson T. (2007) Genetic and epigenetic changes in the common 1p36 deletion in neuroblastoma tumors. British J. Cancer., 97: 1416–1424.
28. Caren H., Kryh H., Nethander M. et al. (2010) High-risk neuroblastoma tumors with 11q-deletion display a poor prognostic, chromosome instability phenotype with later onset. PNAS, 107(9): 4323–4328.
29. Carlsen N.L. (1990) How frequent is spontaneous remission of neuroblastomas? Implications for screening. Br. J. Cancer, 61: 441–6.
30. Carr J., Bell E., Pearson A. et al. (2006) Increased frequency of aberrations in the p53/MDM/p14ARF pathway in neuroblastoma cell lines established at relapse. Cancer Res., 66(4): 2138–45.
31. Carter R.L., al-Sams S.Z., Corbett R.P., Clinton S. (1990) A comparative study of immunohistochemical staining for neuron-specific enolase, protein gene product 9.5 and S-100 protein in neuroblastoma, Ewing's sarcoma and other round cell tumours in children. Histopathology, 16: 461–467.
32. Cecchetto G., Mosseri V., De Bernardi B. et al. (2005) Surgical risk factors in primary surgery for localized neuroblastoma: the LNESG1 study of the European International Society of Pediatric Oncology Neuroblastoma Group. J. Clin. Oncol., 23: 8483–9.
33. Chen Q.-R., Song Y.K., Yu L.-R. et al. (2010) Global genomic and proteomic analysis identifies biological pathways related to high-risk neuroblastoma. J. Proteome Res., 9(1): 373–382.
34. Chen Y., Takita J., Choi Y.L. et al. (2008) Oncogenic mutations of ALK kinase in neuroblastoma. Nature, 455: 971–4.
35. Cohn S.L., Pearson A.D., London W.B. et al. (2009) The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG Task Force report. J. Clin. Oncol., 27: 289–97.
36. Cole W.H., Everson T.C. (1956) Spontaneous regression of cancer: preliminary report. Ann Surg., 144: 366–83.
37. Combaret V., Gross N., Lasset C. et al. (1996) Clinical relevance of CD44 cell-surface expression and N-myc gene amplification in a multicentric analysis of 121 pediatric neuroblastomas. J. Clin. Oncol., 14: 25–34.
38. Comito M.A., Savell V.H., Cohen M.B. (1996) CD44 expression in neuroblastoma and related tumors. J. Pediatr. Hematol. Oncol., 19: 292–296.
39. Corrias M.V., Haupt R., Carlini B. et al. (2012) Multiple target molecular monitoring of bone marrow and peripheral blood samples from patients with localized neuroblastoma and healthy donors. Pediatr. Blood Cancer, 58: 43–49.
40. Dabbs D.J. (2010) Diagnostic Immunohistochemistry. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Ch. Livingstone: 941.
41. Cassia C., Parra A., Zerbini E.R. et al. (2007) Morphometric evaluation of nB84, synaptophysin and AgNOR is useful for the histological diagnosis and prognosis in peripheral neuroblastic tumors (pNTs). Clinics Universidade de São Paulo, 62 (6): 731–740.
42. Deyell R.J., Affiyeh E.F. (2011) Advances in the understanding of constitutional and somatic genomic alterations in neuroblastoma. Cancer Genetics, 204: 113–121.
43. Diskin S.J., Hou C., Glessner J.T. et al. (2009) Copy number variation at 1q21.1 associated with neuroblastoma. Nature, 459: 987–91.
44. Gallo G., Giarnieri E., Bosco S. et al. (2003) Aberrant bcl-2 and bax protein expression related to chemotherapy response in neuroblastoma. Anticancer Res., 23: 777–784.
45. George R.E., London W.B., Cohn S.L. et al. (2005) Hyperdiploidy plus nonamplified MYCN confers a favorable prognosis in children 12 to 18 months old with disseminated neuroblastoma: a pediatric oncology group study. J. Clin. Oncol., 23(27): 6466–6473.
46. George R.E., Sanda T., Hanna M. et al. (2008) Activating mutations in ALK provide a therapeutic target in neuroblastoma. Nature, 455: 975–8.
47. Gordana J., Srdana Č., Jasminka S. et al. (2009) Vascular endothelial growth factor in children with neuroblastoma: a retrospective analysis. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 28: 143.
48. Horner M., Ries L., Krapcho M. (2009) SEER cancer statistics review. Nat. J. Cancer., 45(5): 723–727.
49. Janoueix-Lorosey I., Lequin D., Brugieres L. et al. (2008) Somatic and germline activating mutations of the ALK kinase receptor in neuroblastoma. Nature, 455: 967–970.
50. Janoueix-Lorosey I., Schleiermacher G., Michels E. (2009) Overall genomic pattern is a predictor of outcome in neuroblastoma. J. Clin. Oncol., 27(7): 1026–1033.
51. Joshi V.V. (2000) Peripheral neuroblastic tumors: pathologic classification based on recommendations of international neuroblastoma pathology committee (modification of Shimada classification). Pediatr. Dev. Pathol., 3: 184–199.
52. Joshi V.V., Silverman J.F., Altshuler G. et al. (1993) Systematization of primary histopathologic and fine-needle aspiration cytologic features and description of unusual histopathologic features of neuroblastic tumors. A report from the Pediatric Oncology Group. Hum Pathol., 24: 493.
53. Knudson A.G. Jr, Strong L.C. (1972) Mutation and cancer: neuroblastoma and pheochromocytoma. Am. J. Hum. Genet., 24: 514–32.
54. Krams M., Heidebrecht H.J., Hero B. et al. (2003) Repp86 expression and outcome in patients with neuroblastoma. J. Clin. Oncol., 21: 1810–1818.
55. Krams M., Hero B., Berthold F. et al. (2002) Proliferation marker KI-67 discriminates between favorable and adverse prognosis in advanced stages of neuroblastoma with and without MYCN amplification. Cancer, 94: 854–861.
56. Krams M., Parwaresch R., Sipos B. et al. (2004) Expression of the c-kit receptor characterizes a subset of neuroblastomas with favorable prognosis. Oncogene, 23: 588–595.
57. Kuroda T., Morikawa N., Matsuoka K. et al. (2008) Prognostic significance of circulating tumor cells and bone marrow micrometastasis in advanced neuroblastoma. J. Pediatr. Surg., 43(12): 2182–5.
58. Ladenstein R., Ambros I.M., Potschger U. et al. (2001) Prognostic significance of DNA di-tetraploidy in neuroblastoma. Med. Pediatr. Oncol., 36: 83–92.
59. Lee S.T., Ki C.S., Sung K.W. et al. (2001) Molecular detection of tyrosine hydroxylase in the peripheral blood of patients with neuroblastoma: useful at diagnosis but not predictable of subsequent relapse during off-therapy follow-up. Pediatr. Hematol. Oncol., 28: 16–23.
60. Lee S.T., Suh Y.L., Ko Y.H. et al. (2010) Measurement of tyrosine hydroxylase transcripts in bone marrow using biopsied tissue instead of aspirates from neuroblastoma. Pediatr. Blood Cancer, 55: 273–278.
61. Manual of Pediatric Hematology and Oncology, (2011) Fifth Edition Philip Lanzkowsky, Elsevier: 1054.
62. Maris J.M., Mosse Y.P., Bradfield J.P. et al. (2008) Chromosome 6p22 locus associated with clinically aggressive neuroblastoma. N. Engl. J. Med., 358: 2585–93.
63. Mejia C., Navarro S., Pellin A. et al. (2003) Prognostic significance of cell proliferation in human neuroblastoma: comparison with other prognostic factors. Oncol. Rep., 10: 243–247.
64. Miettinen M., Chatten J., Paetau A., Stevenson A. (1998) Monoclonal antibody NB84 in the differential diagnosis of neuroblastoma and other small round cell tumors. Am. J. Surg. Pathol., 22: 327–332.
65. Modern soft tissue pathology: tumors and non-neoplastic conditions (2010) Edited by Markku Miettinen, Cambridge University Press: 1105
66. Mora J., Cheung N.-K., Juan G. et al. (2001) Neuroblastic and schwannian stroma cells of neuroblastoma are derived from a tumoral progenitor cell. Cancer Res., 61: 6892–6898.
67. Mosse Y.P., Laudenslager M., Khazi D. et al. (2004) Germline PHOX2B mutation in hereditary neuroblastoma. Am. J. Hum. Genet., 75: 727–30.
68. Mosse Y.P., Laudenslager M., Longo L. et al. (2008) Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. Nature, 455: 930–5.
69. Munchar M.J., Sharif N.A., Jamal R., Looi L.M. (2003) CD44s expression correlated with the International Neuroblastoma Pathology Classification (Shimada system) for neuroblastic tumours. Pathology, 35: 125–129.
70. Oberthuer A., Theissen J., Westermann F. et al. (2009) Molecular Characterization and Classification of Neuroblastoma. Future Oncology, 5 (5): 625–639.
71. Ogawa S., Takita J., Sanada M., Hayashi Y. (2011) Oncogenic mutations of ALK in neuroblastoma. Cancer Sci., 102 (2): 302–308.
72. Okawa E.R., Gotoh T., Manne J. et al. (2008) Expression and sequence analysis of candidates for the 1p36.31 tumor suppressor gene deleted in neuroblastoma. Oncogene, 27: 803–810.
73. Parham D.M. (2011) Neuroectodermal and neuroendocrine tumors principally seen in children. Am. J. Clin. Pathol., 115(Suppl): 113–128.
74. Peuchmaur M., d'Amore E.S.G., Joshi V.V. et al. (2003) Revision of International Neuroblastoma Pathology Classification: Confirmation of favorable and unfavorable prognostic subsets in ganglioneuroblastoma, nodular. Cancer, 98: 2274–2281.
75. Ross J.A., Severson R.K., Pollock B.H. et al. (1996) Childhood cancer in the United States. A geographical analysis of cases from the Pediatric Cooperative Clinical Trials groups. Cancer, 77: 201.
76. Schneiderman J., London W.B., Brodeur G.M. et al. (2008) Clinical significance of MYCN amplification and ploidy in favorable-stage neuroblastoma: a report from the Children's Oncology Group. J. Clin. Oncol., 26(6): 913–918.
77. Seeger R.C., Siegel S.E., Sidell N. (1992) Neuroblastoma: clinical perspectives, monoclonal antibodies, and retinoic acid. Ann. I. Med., 6: 84–873.
78. Shimada H., Ambros I.M., Dehner L.P. et al. (1999) Terminology and morphologic criteria of neuroblastic tumors: recommendations by the International Neuroblastoma Pathology Committee. Cancer, 86: 349.
79. Shimada H., Ambros I.M., Dehner L.P. et al. (1999) The International Neuroblastoma Pathology Classification (the Shimada system). Cancer, 86: 364.
80. Shimada H., Aoyama C., Chiba T., Newton W.A. Jr, (1985) Prognostic subgroups for undifferentiated neuro-

blastoma: immunohistochemical study with anti-S-100 protein antibody. *Hum. Pathol.*, 16: 471–476.

**81.** Shimada H., Chatten J., Newton W.A. Jr. et al. (1984) Histopathologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtypes of ganglioneuroblastoma and an agelinked classification of neuroblastomas. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 73: 405.

**82.** Shimada H., Nakagawa A., (2006) Pathology of the Peripheral Neuroblastic Tumors. *Laboratory Medicine*, 37(11): 684–689.

**83.** Shimotake T., Lwai N., Tokiwa K. et al. (1994) Increased Numbers of Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions between Primary and Metastatic Sites Predict Tumor Progression in Stage IV and IV-S Neuroblastoma. *Cancer*, 73: 3103–7.

**84.** Singal A., Agarwala S. (2005) Tumor markers in pediatric solid tumors. *J. Indian. Assoc. Pediatr. Surg.*, 10(3): 183–190.

**85.** Spitz R., Hero B., Ernestus K., Berthold F. (2003) Deletions in chromosome arms 3p and 11q are new prognostic markers in localized and 4s neuroblastoma. *Clin. Cancer Res.*, 9: 52–58.

**86.** Stalling R.L. (2009) MicroRNA involvement in the pathogenesis of neuroblastoma: potential for microRNA mediated therapeutics. *Curr. Pharm. Des.*, 15(4): 456–462.

**87.** Stutterheim J., Gerritsen A., Zappeij-Kannegie-ter L. et al. (2009) PHOX2B is a novel and specific marker

for minimal residual disease testing in neuroblastoma. *J. Clin. Oncol.*, 26: 1–11.

**88.** Swarbrick A., Woods S.L., Shaw A. et al. (2010) Mir-380-5p represses p53 to control cellular survival and is associated with poor outcome in MYCN amplified neuroblastoma. *Nature Medicine*, 16: 1134–1140.

**89.** Tornoczky T., Kalman E., Kajtar P.G. et al. (2004) Large cell neuroblastoma: A distinct phenotype with aggressive clinical behavior. *New entity? Cancer*, 100: 390–397.

**90.** Trager C. (2009) Neuroblastoma: incidence, biology and outcome. *Stockholm: Karolinska Institutet*: 56.

**91.** Trager C., Vernby A., Kullman A. et al. (2008) mRNAs of tyrosine hydroxylase and dopa decarboxylase but not of GD2 synapse are specific for neuroblastoma minimal residual disease and predicts outcome for children with high risk disease when measured at diagnosis. *Int. J. Cancer.*, 123: 2849–2855.

**92.** Trochet D., Bourdeaut F., Janoueix-Lerosey I. et al. (2004) Germ-line mutations of the paired-like homeobox 2B (PHOX2B) gene in neuroblastoma. *Am. J. Hum. Genet.*, 74: 761–4.

**93.** Umehara S., Nakagawa A., Matthay K.K. et al. (2000) Histopathology defines prognostic subsets of ganglioneuroblastoma, nodular. *Cancer*, 89: 1150–1161.

**94.** van Roy N., De Preter K., Hoebeek J. et al. (2009) The emerging molecular pathogenesis of neuroblastoma:

implications for improved risk assessment and targeted therapy. *Genome Medicine*, 1: 74, 1–74, 11.

**95.** Variend S., Burchill S.A. (2003) Neuroblastoma. *Mol. Biol. Pathol. Paediatr. Cancer*: 161–166.

**96.** Viprey V.F., Corrias M.V., Kadegal B. et al. (2007) Standardisation of operating procedures for the detection of minimal disease by QRT-PCR in children with neuroblastoma. *Quality assurance on behalf of SIOPEN-R-NET. Europ. J. Cancer*, 43: 341–350.

**97.** Vitali R., Cesi V., Nicotra M.R. et al. (2003) c-Kit is preferentially expressed in MYCN-amplified neuroblastoma and its effect on cell proliferation is inhibited *in vitro* by STI-571. *Int. J. Cancer*, 106: 147–152.

**98.** Vogl M., Muller M. (2002) Tumor markers: review and clinical application (IFCC series). *Milan*.

**99.** Wick M.R. (2000) Immunohistology of neuroendocrine and neuroectodermal tumors. *Semin Diagn Pathol.*, 17: 194–203.

**100.** Yamamoto K., Hanada R., Kikuchi A. et al. (1998) Spontaneous regression of localized neuroblastoma detected by mass screening. *J. Clin. Oncol.*, 16: 1265–9.

**101.** Yong M.H., Hwang W.S., Knight L.A. et al. (2009) Comparing histopathological classification with MYCN, 1p36 and 17q status detected by fluorescence *in situ* hybridization from 14 untreated primary neuroblastomas in Singapore. *Singapore Med. J.*, 50(11): 1090–1094.

## Верификация и прогнозирование течения нейробластомы (обзор литературы)

А.Н. Грабовой, Н.М. Храновская, М.Б. Зарецкий, Г.И. Климнюк  
Национальный институт рака, Киев

**Резюме.** Нейробластома является одной из солидных злокачественных опухолей наиболее специфичных для детского возраста. На сегодняшний день иммуногистохимические и молекулярно-генетические исследования при нейробластоме являются необходимым компонентом диагностики, методами выявления микрометастазов и минимальной остаточной болезни в костном мозгу, составляющими системы стратификации больных по группам риска, что являются необходимыми условиями выполнения современных протоколов лечения. Несмотря на все достижения в верификации и прогнозирования течения нейробластомы, эта проблема все еще является неразрешенной. Задачей современных исследований нейробластомы является не только усовершенствование подходов к определению гистогенетического типа опухоли, ее отдельных иммуногистохимических и молекулярно-генетических признаков, но и комплексная оценка этих и других признаков с их взаимосвязями, которые могут выступать в качестве высокоинформативных критериев прогноза развития опухоли.

**Ключевые слова:** нейробластома, верификация, прогноз.

## Verification and prognosis of neuroblastoma (review)

A.N. Grabovyi, N.M. Khranovska, M.B. Zaretsky, G.I. Klymnyuk  
The National Cancer Institute, Kiev

**Summary.** Neuroblastoma is one of solid malignant tumors the most specific for childhood. To date, immunohistochemical and molecular genetic investigations of neuroblastoma are necessary component of the diagnostic, methods of detection of micrometastases and minimal residual disease in bone marrow that makes the stratification of patients into risk groups, which is indispensable for modern treatment protocols. Despite of all the achievement in verification and prognosis of neuroblastoma, this problem is still unresolved. The aim of current research of neuroblastoma is not only improvement of approaches to the definition of histogenetic type of tumor, its individual immunohistochemical and molecular genetic features, but comprehensive assessment of these and other characteristics with their relationships, which can act as a highly informative criteria for prediction of tumor development.

**Key words:** neuroblastoma, verification, prediction.