



Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Lek. med. MARTA KIERZYŃKA

RETROSPEKTYWNA ANALIZA KLINICZNYCH,
HISTOLOGICZNYCH I BIOLOGICZNYCH
CZYNNIKÓW ROKOWNICZNYCH W ZWOJAKU
ZARODKOWYM U DZIECI

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Praca realizowana w Klinice Onkologii, Hematologii i Transplantologii
Pediatricznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Pod kierunkiem promotora

Prof. dr hab. Danuty Januszkiewicz-Lewandowskiej

Poznań, 2020 r.



Per aspera ad astra

*Pragnę gorąco podziękować
Pani Profesor Danucie Januszkiewicz-Lewandowskiej
za wiarę w moją osobę oraz okazaną pomoc i czas,
Mężowi za wsparcie w dążeniu do celu
oraz całej Rodzinie za inspirowanie mnie do dalszego rozwoju.*

Spis treści

Podziękowania	4
Spis treści	6
Wykaz skrótów	8
1 Wstęp	12
1.1 Epidemiologia neuroblastoma	14
1.2 Charakterystyka kliniczna i symptomatologia neuroblastoma	16
1.3 Rozpoznawanie i diagnostyka różnicowa neuroblastoma	18
1.4 Czynniki rokownicze a klasyfikacja neuroblastoma	20
1.5 Rokownicze czynniki kliniczne i biochemiczne	20
1.6 Rokownicze czynniki histologiczne	22
1.7 Rokownicze czynniki biologiczne i genetyczne	24
1.8 Leczenie	26
1.9 Rokowanie w neuroblastoma	29
2 Cel pracy	31
3 Materiał i metody	33
4 Wyniki	40
4.1 Płeć	40
4.2 Wiek	42
4.3 Stopień zaawansowania	43
4.4 Stopień zaawansowania a wyniki leczenia	45
4.5 Badania laboratoryjne	47
4.6 Amplifikacja genu MYCN	47
4.7 Lokalizacja guza pierwotnego i ognisk przerzutowych	51
4.8 Przebieg leczenia	57
4.9 Klasyfikacja do grup ryzyka według INRGSS a leczenie	59
4.10 Leczenie operacyjne	60
4.11 Leczenie uzupełniające	61

4.12 Realizacja zaplanowanego leczenia	61
4.13 Wyniki leczenia	63
5 Dyskusja	66
6 Wnioski	79
Streszczenie w języku polskim	81
Streszczenie w języku angielskim (summary)	85
Spis tabel	89
Spis rycin	91
Bibliografia	92
Skan uchwały Komisji Bioetycznej numer 72/16	115

Wykaz skrótów

13-cis-RA	Isotretinoina, 13-cis-retinoic acid (nazwa leku Accutane lub Roaccutane)
AFP	Alfa-fetoproteina (ang. AFP - alfa-fetoprotein)
ALK	Kinaza tyrozynowa ALK
auto-HSCT	Autologiczny przeszczep komórek krwiotwórczych (ang. HSCT - hematopoietic stem cell transplantation)
BuMel	Protokół mieloablacyjny z zastosowaniem leków busulfan i melfalan
CADO	Chemioterapia złożona z cyklofosfamidu, adriamycyny, winkrystyny
CCHS	Congenital Central Hypoventilation Syndrome; „Klątwa Ondyny”
CEA	Antygen karcinoembrionalny (ang. CEA - carcinoembrional antigen)
CEM	Protokół mieloablacyjny z zastosowaniem leków karboplatyna, etopozyd, melfalan
CO	Chemioterapia złożona z cyklofosfamidu i winkrystyny
COG	Pediatryczna grupa onkologów (ang. COG - Children’s Oncology Group)
COJEC	Chemioterapia indukcyjna z zastosowaniem leków cyklofosamid, winkrystyna, cisplatyna, etopozyd, karboplatyna

CR	Całkowita odpowiedź. (ang. Complete response)
CUN	Centralny układ nerwowy
DOPA-PET	Pozytonowa tomografia emisyjna z zastosowaniem fluorodopaminy (ang. DOPA-PET - Positron-emission tomograph z zastosowaniem fluorodopaminy)
ESIOP NB	Europejska grupa Międzynarodowego Stowarzyszenia Onkologii Dziecięcej do spraw neuroblastoma (ang. ESIOP NB - European International Society of Paediatric Oncology Neuroblastoma Group)
G-SCF	Czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (ang. G-SCF - granulocyte stimulating colony factor)
GD2	Gangliozyd (ang. GD2 - Disialoganglioside)
HCG	Gonadotropina kosmówkowa (ang. HCG - chorionic gonadotropin)
HRNBL SIOPEN	Program leczenia grupy SIOPEN dla grupy wysokiego ryzyka dzieci chorujących na neuroblastoma (ang. HRNBL - High Risk Neuroblastoma European Study)
HVA	Kwas homowanilinowy (ang. HVA - homovanilic acid)
IDRF	Obrazowe czynniki ryzyka (ang. IDRF - imaging disease risk factor)
IHH	Izolowana hemihypertrofia (ang. IHH - isolated hemihypertrophy)
INCR	Międzynarodowe kryteria odpowiedzi na leczenie neuroblastoma (ang. INCR - International Neuroblastoma Response Criteria)
INRG	Międzynarodowa grupa ds. oceny ryzyka dla neuroblastoma (ang. INRG -International Neuroblastoma Risk Group)
INRGSS	Międzynarodowy system klasyfikacji grup ryzyka neuroblastoma (ang. INRGSS - International Neuroblastoma Risk Group Staging System)
INSS	Międzynarodowy system klasyfikacji stopnia zaawansowania neuro-

	blastoma (ang. INSS - International Neuroblastoma Staging System)
KT	Tomografia komputerowa
LDH	Dehydrogenaza mleczanowa
LINES	Protokół leczenia dla grupy niskiego i pośredniego ryzyka neuroblastoma (ang. Low and Intermediate Risk Neuroblastoma European Study)
mAb ch14.18	Chimeryczne przeciwciało monoklonalne ch14.18
MIBG	3-Metajodobenzyloguanidyna
MKI	Indeks mitotyczno-kariokinetyczny (ang. Mitosis-karyorrhexis index)
MR	Rezonans magnetyczny
MYCN	Protoonkogen MYCN
NB	Neuroblastoma
NCA	Liczbowe zaburzenia chromosomalne (ang. Numeral Chromosome Abnormalities)
NR	Brak odpowiedzi (ang. No response)
NSE	Neuronoswoista enolaza (ang. Neuron-specific enolase)
OMS	Zespół opsonii i mioklonii (ang. Opsoclonus-myoclonus syndrome)
PD	Progresja choroby (ang. Progressive disease)
PR	Częściowa odpowiedź (ang. Partial response)
SCA	Strukturalne zaburzenia chromosomalne (ang. Segmental Chromosome Abnormalities)
SIOP	Międzynarodowe Stowarzyszenie Onkologii Dziecięcej (ang. Interna-

	tional Society of Paediatric Oncology)
TRKA	Receptor dla nerwowego czynnika wzrostu (ang. high affinity nerve growth factor receptor, Tropomyosin receptor kinase A)
TRKB	Kinaza B receptora tyrozynowego (ang. Tropomyosin receptor kinase B, tyrosine receptor kinase B)
USG	Ultrasonografia
VIP	Wazoaktywny peptyd jelitowy (ang. Vasoactive protein)
VMA	Kwas wanilinomigdałowy (ang. Vanillin-migdalic acid)
VP/Carbo	Chemioterapia złożona z leków etopozyd i karboplatyna

Rozdział 1

Wstęp

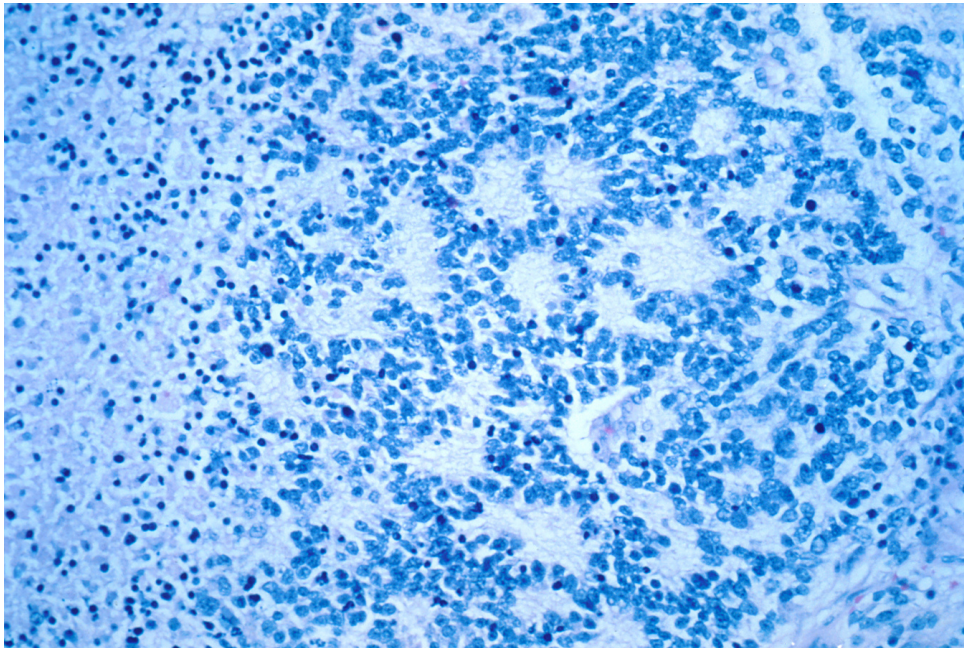
Neuroblastoma (NB) jest najczęstszym pozaczaszkowym guzem litym u dzieci, stanowiąc od 8% do 10% wszystkich przypadków nowotworów wieku dziecięcego [1, 2, 3]. Jest po ostrych białaczkach, chłoniakach i guzach mózgu czwartym, najczęściej rozpoznawanym nowotworem w pediatrii. Pomimo postępu leczenia, neuroblastoma odpowiada za około 15% wszystkich zgonów z powodu nowotworów u dzieci. Zachorowalność roczna na neuroblastoma wynosi od 6 do 11 nowych przypadków na milion dzieci w wieku od 0 do 15 lat [4, 5]. W Polsce rozpoznaje się corocznie około 70 - 80 nowych przypadków NB [6].

Neuroblastoma, inaczej nazywana nerwiak zarodkowy, nerwiak płodowy, zwojak zarodkowy (współczulny), nerwiak zarodkowy/płodowy współczulny (łac. i ang. neuroblastoma) rozwija się z komórek prekursorowych układu nerwowego, najczęściej wywodzących się ze współczulnego układu nerwowego [7, 8], a jego typową lokalizacją są nadnercza [9]. NB może również występować w innych miejscach, w których obecna jest tkanka nerwowa układu sympatycznego. Neuroblastoma jest najczęstszą chorobą nowotworową w wieku niemowlęcym, a aż 90% rozpoznań NB zdarza się przed ukończeniem 5 roku życia [10]. Pomimo, iż nerwiak zarodkowy jest często rozpoznawany w okresie okołoporodowym, brak jest jednoznacznych przesłanek odnośnie wpływu czynników środowiskowych lub genetycznych na występowanie tej choroby. Tak więc etiologia nerwiaka zarodkowego ciągle pozostaje niejasna.

Cechą kliniczną neuroblastoma jest jej heterogenność, zależna od zróżnicowania guza, lokalizacji anatomicznej i wieku dziecka w momencie rozpoznania. Dzieci zdiagnozowane przed 1 rokiem życia i/lub ze zlokalizowaną postacią neuroblastoma pozostają w pełnej remisji choroby po zastosowaniu często wyłącznie zabiegu chirurgicznego lub niewielkiej terapii adjuwantowej [11, 12]. Niektóre z guzów NB ulegają spontanicznej regresji lub różnicują się w kierunku łagodnych guzów typu ganglioneuroma [13, 14, 15]. Evans i wsp. [16], po raz pierwszy opisali odrębną podgrupę pacjentów - niemowląt, które pomimo rozsianej choroby (stadium Ms lub IVs) uzyskują spontaniczną regresję choroby [17]. W przeciwieństwie do nich, większość starszych dzieci prezentujących krwiopochodne przerzutowanie odległe umiera z powodu progresji choroby, pomimo intensywnego wysiłku terapeutycznego. Ta różnorodność kliniczna jest ściśle skorelowana z molekularnymi cechami biologicznymi neuroblastoma. Zgodnie z modelem genetycznym zaproponowanym przez Brodeur i wsp. [18] sugeruje się, że istnieją co najmniej trzy różne rodzaje nerwiaka zarodkowego. Uważa się, że inicjacja nowotworzenia następuje w prymitywnym neuroblasście, choć do tej pory nie została jednoznacznie poznana. Zainicjowanie nowotworzenia w NB może obejmować inaktywację genu/ów supresorowych, które mogą predysponować do rozwoju NB w postaciach wrodzonych, gdy zmutowany allel jest już obecny w komórce rozrodczej.

Stopień zróżnicowania NB w momencie transformacji nowotworowej określa wzorzec ekspresji receptora neurotrofiny. W przybliżeniu jedna trzecia guzów posiada znamienne wysoką ekspresję TRKA (ang. high affinity nerve growth factor receptor, Tropomyosin receptor kinase A). Te guzy (typ 1) wydają się być wyindukowane „wadą” w procesie mitozy, ponieważ są hyperdiploidalne, a zmiany strukturalne chromosomów są rzadko obserwowane. Pacjenci z typem 1 NB mają dobre rokowanie, a leczenie obejmuje zwykle sam zabieg operacyjny. Drugi typ guza NB to taki, w którym dominuje ekspresja TRKB (ang. Tropomyosin receptor kinase B, tyrosine receptor kinase B) i niestabilność genomu. Strukturalne zmiany dotyczą głównie chromosomu 17q. Guzy, które tracą materiał genetyczny na długich ramionach chromosomów 11 i/lub 14, rzadko wykazują delecję 1p lub amplifikację genu MYCN (typ 2). Natomiast guzy z delecją 1p często nabywają amplifi-

kację genu MYCN i charakteryzują się wysoce złośliwym przebiegiem klinicznym (typ 3). Obraz histologiczny typowy dla neuroblastoma przedstawia Rycina 1.1.



Rycina 1.1: Obraz mikroskopowy neuroblastoma z formowaniem typowych rozetek. (wg. dr. Maria Tsokos, National Cancer Institute, <http://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=2593>)

Bardziej precyzyjna definicja zmian molekularnych w nerwiaku zarodkowym znajduje się nadal w sferze badań. Należy mieć nadzieję, że w przyszłości poznanie molekularnego mechanizmu nowotworzenia w neuroblastoma zaowocuje specyficznymi terapiami skutkującymi poprawą wyleczalności, zwłaszcza typu 2 i 3 neuroblastoma.

1.1 Epidemiologia neuroblastoma

Zwojaka zarodkowego współczulnego po raz pierwszy opisał Rudolf Virchow w 1864 roku, mylnie włączając go do grupy glejaków. W 1891 roku niemiecki histopatolog Felix Marchand wykazał związek między opisywanym guzem a układem współczulnym [19]. W 1914 roku Karl Herxheimer i wsp. wykazali, że komórki nowotworu reagują z barwnikami wykrywającymi obecność znaczników neuronalnych [20]. Harvey Williams Cushing w 1927 wykazał, że komórki neuroblastoma mogą dojrzewać przechodząc w ganglioneuroma [21].

Pod względem częstości występowania nowotworów u dzieci, neuroblastoma klasyfikuje

się na czwartym miejscu, po białaczkach, chłoniakach i guzach mózgu, ale już na drugim pośród guzów litych [22]. Neuroblastoma jest najczęściej rozpoznawanym guzem okresu noworodkowego. Połowa dzieci ze zwojakiem zarodkowym współczulnym w momencie rozpoznania nie ukończyła 2 roku życia, a blisko 80% zachorowań ujawnia się przed ukończeniem 4 roku życia [5]. Nowotwór ten wykazuje pewną korelację z płcią, nieznacznie częściej chorują chłopcy, co wykazały badania przeprowadzone przez Lacayo [23].

W sporadycznych przypadkach opisane jest rodzinne występowanie neuroblastoma [24, 25, 26, 27, 28, 29]. Nie istnieją określone czynniki ryzyka bezpośrednio predysponujące do zachorowania, jednakże zaobserwowano, iż NB częściej występuje w zespole Beckwith-Wiedemanna [30] czy izolowanej hemihypertrofii (IHH). Neuroblastoma występowała częściej także w zespole Simpsona-Golabiego-Behmela [31], który cechuje między innymi nadmierny wzrost, wady proksymalnych części kończyn oraz zwiększone ryzyko nowotworzenia. NB rozpoznawana była częściej u dzieci z matek, które w ciąży przyjmowały fenytoinę [32], hormony płciowe czy spożywały alkohol [33]. Ostatnie badania pokazały, iż germinalne mutacje genów kinazy ALK i PHOX2B mogą być odpowiedzialne za tzw. rodzinne występowanie neuroblastoma. Mutacje genu kinazy ALK, umiejscowionego na chromosomie 2 odpowiadać mają za blisko 90% postaci rodzinnie występującej neuroblastoma. Mutacje genu PHOX2B zlokalizowanego na chromosomie 4 towarzyszą równoczesnemu występowaniu choroby Hirschsprunga oraz wrodzonego zespołu centralnej hipowentylacji (CCHS - congenital central hypoventilation syndrome; "kłątwa Ondyny"). Osoby ze zmienionym genem ALK lub PHOX2B są narażone na zwiększone ryzyko rozwoju neuroblastoma. Ryzyko powstania guza jest najwyższe w okresie niemowlęcym i zmniejsza się w późnym dzieciństwie. Uważa się, że u około 50-60 procent osób ze zmianą w genie ALK rozwinie się neuroblastoma.

1.2 Charakterystyka kliniczna i symptomatologia neuroblastoma

Neuroblastoma wywodzi się z komórek prekursorowych cewy nerwowej. Najczęściej umiejscowiona jest w nadnerczach, jednakże może występować w każdym miejscu, w którym znajdują się komórki różnicujące się w kierunku współczulnego lub rzadziej przywspółczulnego układu autonomicznego. Ze względu na dużą liczbę możliwych miejsc pierwotnej lokalizacji guza oraz ognisk przerzutowania, nowotwór ten może powodować wystąpienie szeregu objawów [34, 35, 36, 37, 38, 39]. W dużej mierze nie są one typowe dla neuroblastoma, naśladować mogą inne choroby wieku dziecięcego, w tym między innymi niedokrwistość, zapalenie stawów, biegunkę, zaparcia, nawracające zakażenia układu moczowego i oddechowego [40]. Poza stwierdzaną masą guza, wśród objawów, z którymi zgłaszają się do lekarza rodzice dziecka z rozpoznaniem neuroblastoma wymienić można także niepokój, brak łaknienia, bóle brzucha, wzrost obwodu brzucha, któremu może towarzyszyć poszerzenie siatki naczyń na powłokach brzusznych, spadek masy ciała, osłabienie czy gorączka. Należy pamiętać, że najczęstszą lokalizacją neuroblastoma jest jama brzuszna, a jedynym objawem wstępnym może być tylko ból brzucha [41, 42, 43].

Inną, częstą lokalizacją jest śródpiersie [44, 45, 46, 47], gdzie neuroblastoma może powodować objawy jak kaszel, trudności połykania, uczucie duszności lub ból. Przy intensywnie rosnącym guzie szczytu klatki piersiowej objawem wiodącym może być zespół żyły głównej górnej. U dzieci, u których neuroblastoma zlokalizowana jest w okolicy zwojów współczulnych szyjnych poza wyczuwalnym guzem, może występować zespół Hornera [48], charakteryzujący się triadą objawów: zwężeniem szpary powiekowej, zwężeniem źrenicy i zapadnięciem gałki ocznej.

Zwojak zarodkowy współczulny wywodzi się z komórek prekursorowych cewy nerwowej, stąd często pierwotna lokalizacja obejmuje także okolicę przykręgosłupową [49, 50]. Wnikający do kanału kręgowego guz, uciskając lub naciekając rdzeń i korzenie nerwowe może powodować objawy porażenia nerwów, bóle pleców i kręgosłupa czy zaburzenia unerwienia

układu pokarmowego i moczowego. Stąd pojawić się mogą takie objawy jak przeczulica, zaniki mięśniowe, skolioza, zaburzenia funkcji pęcherza moczowego czy zwieracza odbytu. Guzy zlokalizowane pierwotnie w miednicy, poza wyczuwalną masą mogą powodować zaparcia, zastój moczu i nawracające infekcje układu moczowego [51]. W przebiegu przerzutowej postaci neuroblastoma mogą występować nieswoiste objawy jak utrata masy ciała, gorączka, senność, bladość, osłabienie, drażliwość, niepokój [52]. Część z nich związana jest z cechami infiltracji szpiku przez komórki nowotworowe lub np. krwawieniem do samego guza. Przerzutowanie do kości może skutkować bólami kości, niepokojem, niedokrwistością, małopłytkowością czy leukopenią. Cechy infiltracji kości płaskich oczodołu powodują występowanie wybroczyn i podbiegnięć krwotocznych pod postacią tzw. krwiałków okularowych, wytrzeszczu gałki ocznej z cechami obrzęku powiek i spojówek, z towarzyszącym obrzękiem tarczy nerwu wzrokowego, zanikiem nerwu wzrokowego i zezem oraz krwawieniami do siatkówki. Inne miejsca przerzutowania to węzły chłonne, wątroba, centralny układ nerwowy czy skóra i tkanka podskórna. Przerzutowanie do skóry i tkanki podskórnej manifestuje się pojedynczymi lub mnogimi guzkami o niebieskawym kolorze (ang. blueberry muffins), najczęściej w obrębie tułowia i kończyn i jest charakterystyczne dla postaci 4s/Ms u niemowląt [53]. Neuroblastoma charakteryzuje się także występowaniem zespołów paraneoplastycznych [54, 55, 56, 57] związanych z nadprodukcją katecholamin (nadciśnienie tętnicze, kołatanie serca, napadowe zaczerwienienie twarzy, nadmierna potliwość), wazoaktywnego peptydu jelitowego - VIP (wodniste biegunki, hypokalemia, bóle brzucha, atonia jelit) [58, 59, 60, 61, 62]. W przebiegu neuroblastoma u około od 2% do 4% dzieci obserwuje się, o niewyjaśnionej etiologii, encefalopatię mózdzkową (zespół Kinsbourne'a, zespół mioklonii i opsoklonii - OMS) [63, 64, 65, 66]. Zespół opsoklonii-mioklonii może mieć podłoże idiopatyczne, poinfekcyjne oraz towarzyszyć chorobom onkologicznym, u dzieci najczęściej neuroblastoma [67, 68], a u dorosłych rakowi drobnokomórkowemu płuc bądź rakowi piersi. Wśród objawów dominują gwałtowne, chaotyczne ruchy gałek ocznych, nieregularne, miokloniczne skurcze drobnych mięśni, mimowolne ruchy w postaci zrywów i ataksja [69]. Zespół ten towarzyszy zazwyczaj postaci zlokalizowanej neuroblastoma, zwykle pierwotnie w klatce piersiowej. Objawy

OMS najczęściej ustępują po leczeniu, ale u około od 70% do 80% pacjentów pozostają deficyty neurologiczne pod postacią zaburzeń zachowania czy trudności w nauce.

Bogata symptomatologia neuroblastoma pokazuje, że jest to nowotwór o „niejednej twarzy”, któremu często towarzyszy maska pozornie błahych chorób wieku dziecięcego. Znajomość objawów wstępnych jest bardzo ważna, gdyż skutkować może rozpoznaniem nowotworu przez lekarza pierwszego kontaktu na wczesnych etapach zaawansowania choroby.

1.3 Rozpoznawanie i diagnostyka różnicowa neuroblastoma

Dokładny wywiad dostarcza istotnych informacji na temat początku choroby i objawów, które zaniepokoiły rodziców i skłoniły ich do udania się do lekarza. Kolejno badanie przedmiotowe, choć trudne u małego pacjenta, może ukierunkować na właściwe rozpoznanie. Podstawą jednak rozpoznania neuroblastoma i zakwalifikowania do określonej grupy zaawansowania choroby, grupy ryzyka i grupy terapeutycznej są wyniki wielu badań dodatkowych, w tym laboratoryjnych, obrazowych, histologicznych i genetycznych.

Celem uwidocznienia zmiany pierwotnej i ewentualnych ognisk przerzutowania należy wykonać badania obrazowe ultrasonograficzne (USG) [70, 71], tomografii komputerowej (KT) [72], rezonansu magnetycznego (MR) i scyntygraficzne (scyntygrafia MIBG) [73]. Często już samo badanie USG może dać podstawy do rozpoznania, zwłaszcza przy obecności charakterystycznych dla neuroblastoma zwapnień w obrębie guza [74, 75]. Jednak zawsze należy dla pełnej oceny rozległości zmian wykonać badania w tomografii komputerowej i/lub rezonansu magnetycznego i to nie tylko lokalizacji pierwotnej guza, ale także pozostałych części ciała (jama brzuszna, miednica, klatka piersiowa, szyja, głowa). Badanie scyntygrafii MIBG służy do oceny ogniska pierwotnego i ognisk przerzutowych. Badanie to ma także swoje zastosowanie w przebiegu terapii, dla oceny odpowiedzi na leczenie. W przypadku niemożności wykonania badania scyntygrafii MIBG lub wobec tzw. „niemej” tkanki guza (bez wychwytu w badaniu scyntygrafii MIBG) diagnostykę należy uzupełnić o

badanie scyntygraficzne układu kostnego. W ostatnim czasie coraz częściej wykorzystuje się w diagnostyce obrazowej neuroblastoma badanie tomografii DOPA-PET [76, 77, 78].

Drugim torem w diagnostyce zwojaka zarodkowego są badania laboratoryjne, z których poza badaniami podstawowymi takimi jak morfologia, rozmaz krwi obwodowej, OB, CRP (białko ostrej fazy), LDH (dehydrogenaza mleczanowa), wykładniki czynności wątroby i nerek, należy oznaczyć stężenie w surowicy ferrytyny i neuronospecyficznej enolazy (NSE). Badaniem bezwzględnie wymaganym jest ocena wydalania katecholamin [79, 80, 81] lub ich metabolitów w dobowej zbiorce moczu, w tym stężenia dopaminy, kwasu wanilinomigdałowego (VMA) i/lub homowanilinowego (HVA) [82].

Wszystkie wyżej wymienione badania obrazowe i laboratoryjne nie są wystarczające dla pełnego rozpoznania neuroblastoma. Z uwagi na heterogenność biologiczną neuroblastoma, bezwzględnie konieczne są badania histologiczne oraz genetyczne. Wyniki tych badań w dobie aktualnej klasyfikacji do grup terapeutycznych neuroblastoma są najistotniejszymi, poza wiekiem dziecka czynnikami prognostycznymi. Stąd zawsze należy uzyskać świeży materiał guza do badania histologicznego oraz do badania genetycznego w kierunku oceny statusu protoonkogenu MYCN (oceny stopnia amplifikacji genu MYCN) [83] oraz zmian strukturalnych chromosomów. Ostatnim z badań, bardzo istotnym dla potwierdzenia naciekania szpiku przez komórki neuroblastoma, jest ocena szpiku i/lub trepanobiopatu.

Diagnostyka różnicowa zmiany guzowatej - oporu patologicznego wykrytego w czasie badania przedmiotowego dziecka każdorazowo obliuguje do wykluczenia choroby onkologicznej. Zmiany stwierdzane w obrębie jamy brzusznej, miednicy czy klatki piersiowej w pierwszej mierze należy różnicować z guzem nerki – guzem Wilmsa (ang. nephroblastoma), guzami wątroby, mięsakami tkanek miękkich czy guzami germinalnymi i guzami jajnika [84]. Pomocne w różnicowaniu są wówczas markery osoczowe takie jak alfa-fetoproteina – AFP, choriongonadotropina - HCG, czy antygen karcinoembrionalny – CEA [85]. Towarzyszące przerzutowej postaci neuroblastoma powiększenie węzłów chłonnych, niedokrwistość czy małopłytkowość nakazują w uzasadnionych przypadkach różnicowanie z białaczkami i/lub

chłoniakami.

Należy pamiętać, aby różnicować „patologiczną masę” także z procesami o podłożu zapalnym, pourazowym lub z wrodzoną wadą rozwojową. Stąd też w sytuacjach wątpliwych i nietypowych należy wykluczyć między innymi torbiele nerek, powiększenie wątroby i śledziony w przebiegu chorób infekcyjnych, ropnie, pakiety węzłów chłonnych związane z zakażeniami na tle mononukleozy zakaźnej czy jersiniozy, ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń, kamienie kałowe, a u dziewczynek w okresie prokreacyjnym także ciążę [86].

1.4 Czynniki rokownicze a klasyfikacja neuroblastoma

Dane pozyskane z szeregu opracowań wskazują, że rokowanie w neuroblastoma zależy od tzw. czynników rokowniczych, wśród których wymienić należy czynniki kliniczne, histologiczne i biologiczno-genetyczne (Tabela 1.1) . Ogólna przeżywalność w neuroblastoma według INRG (International Neuroblastoma Risk Group) wynosi około 55%, w tym blisko 100% w stopniu 1., 75% w 2., 43% w 3., 15% w 4. i 70-80% w stopniu 4s [87]. W zależności od występowania określonych czynników prognostycznych stosowane jest odpowiednie postępowanie terapeutyczne. Indywidualizacja leczenia oraz jego intensywności wiąże się nie tylko z lepszym rokowaniem, ale także z ograniczeniem toksyczności stosowanej terapii i ryzyka wystąpienia powikłań późnych związanych z leczeniem przeciwnowotworowym [88].

1.5 Rokownicze czynniki kliniczne i biochemiczne

Pośród klinicznych czynników rokowniczych najistotniejszym pozostaje wiek dziecka w chwili rozpoznania [89, 90, 91, 92]. Niemowlęta mają bardzo dobre rokowanie, natomiast dzieci starsze po 2 roku życia znacznie gorsze. Czynniki rokownicze biochemiczne takie jak, wysokie wartości osoczowych stężeń ferrytyny $> 142 \mu\text{g/dl}$ [93, 94] LDH >1500 j.U. [95] i NSE >100 ng/ml wiążą się z większą masą nowotworu i są niekorzystnym czynnikiem rokowniczym. Obecność mnogich przerzutów do kości jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym [96]. Wyższy stopień zaawansowania nowotworu stanowi o złym

rokowaniu. Analiza wydalania dopaminy i kwasu wanilinomigdałowego wskazuje na tzw. guzy wydzielające i „nieme”. Wszystkie z wymienionych markerów biochemicznych mają znaczenie w potwierdzeniu rozpoznania, ale także w monitorowaniu leczenia neuroblastoma. NB charakteryzuje się niejednorodnością przebiegu klinicznego, począwszy od wolno rosnących nowotworów do formy z rozległymi przerzutami w momencie rozpoznania i złym rokowaniem pomimo intensywnej terapii. Stadium zaawansowania nowotworu początkowo klasyfikowano według Evans i wsp., dalej wg modyfikacji Brodeur i wsp. [18, 97]. Klasyfikacja ta obejmuje stadia począwszy od zlokalizowanych guzów (stadium I) z dobrym wynikiem leczenia, do nowotworów z przerzutowaniem do kości lub szpiku kostnego (stadium IV) ze złą prognozą (Tabela 1.1) [98].

Tabela 1.1: Klasyfikacja stopnia zaawansowania neuroblastoma wg Evans i wsp. [98].

Stopień zaawansowania	Opis
I	Guz ograniczony do jednego narządu, możliwy do usunięcia w całości.
II	Guz nacieka poza narząd, w którym się rozwinął, nie przekracza jednak linii pośrodkowej ciała. Węzły chłonne po stronie, w której rozwija się nowotwór zajęte lub nie.
III	Guz przekracza linię pośrodkową ciała, węzły chłonne z przerzutami lub bez.
IV	Odległe przerzuty drogą krwi do narządów wewnętrznych: płuc, wątroby, mózgu, do tkanek miękkich i odległych węzłów chłonnych.
IVs	Niemowlęta z małym guzem nadnercza (jak w stadium I i II), przerzutami do wątroby, skóry, szpiku kostnego bez zniszczenia struktury kości.

Kolejna nowsza klasyfikacja wprowadzona przez International Neuroblastoma Staging System – INSS [22, 99] dzieli neuroblastoma na:

Stadium 1

Zlokalizowany nowotwór z całkowitym wycięciem guza, z lub bez mikroskopowej pozostałości choroby; węzły chłonne bez cech mikroskopowego zajęcia (węzły w łączności z guzem pierwotnym i usunięte w całości, mogą mieć cechy zajęcia).

Stadium 2A

Zlokalizowany guz z niecałkowitym wycięciem; węzły chłonne bez cech mikroskopowego zajęcia.

Stadium 2B

Zlokalizowany guz z całkowitym lub niecałkowitym wycięciem, węzły chłonne z cechami mikroskopowego zajęcia.

Stadium 3

Nieoperacyjny jednostronny guz, infiltrujący w linii pośrodkowej, z lub bez zajęcia regionalnych węzłów chłonnych; lub umiejscowiony jednostronny guz z zajęciem węzłów chłonnych w okolicy przeciwnej; lub guz linii środkowej z obustronnym szerzeniem się przez infiltrację lub zajęcie węzłów chłonnych.

Stadium 4

Każdy guz pierwotny z rozsiewem do odległych węzłów chłonnych, kości, szpiku kostnego, wątroby i/lub innych narządów (z wyjątkiem przypadków określonych dla stadium 4s).

Stadium 4s

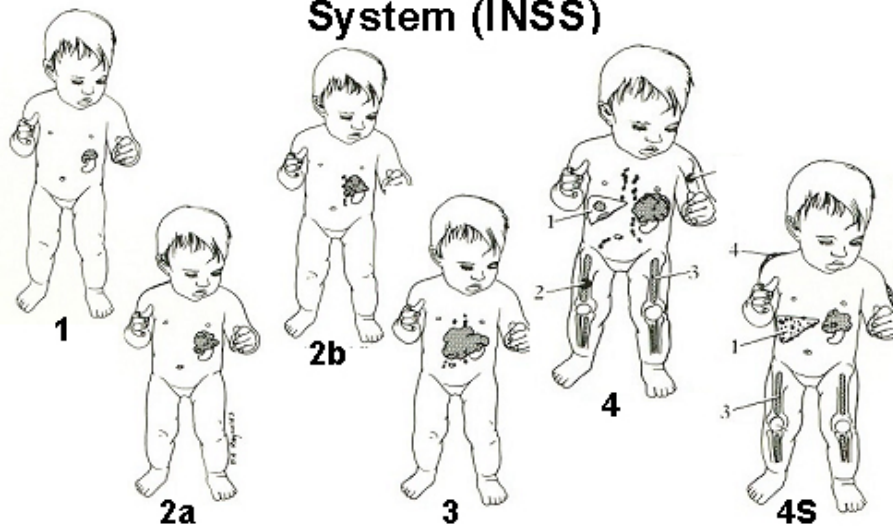
Zlokalizowany pierwotny nowotwór (zdefiniowany dla stadium 1, 2A lub 2B), z rozprzestrzenieniem ograniczonym do wątroby, skóry i/lub szpiku kostnego (ograniczone do niemowląt w wieku poniżej 1 roku życia). Stopień zajęcia szpiku w stadium 4s powinien być minimalny, tj. mniej niż 10% komórek jądrzastych w biopsji szpiku. Większy stopień zajęcia szpiku kwalifikuje do rozpoznania stadium 4.

Graficzne odzwierciedlenie zmiany pierwotnej i zmian przerzutowych w neuroblastoma według klasyfikacji INSS przedstawia Rycina 1.2.

1.6 Rokownicze czynniki histologiczne

Ocena histologiczna zróżnicowanych postaci neuroblastoma jest obecnie kluczowa w stratyfikacji do grup ryzyka i w doborze terapii. Klasyfikacja Shimada i wsp. opiera się na czterech kryteriach, uwzględniających charakter podścieliska, odsetek komórek różnicują-

International Neuroblastoma Staging System (INSS)



Rycina 1.2: Graficzne przedstawienia klasyfikacji INSS (źródło: www.fda.gov).

ych się w kierunku komórek zwojowych, indeks mitotyczno-kariokinetyczny (MKI, ang. mitosis-karyorrhexis index) [100, 101, 102] i wiek pacjenta [103]. Wyróżnia się nowotwory bogatopodścieliskowe zawierające dużą ilość podścieliska zbudowanego z wrzecionowatych komórek typu Schwanna (S100+), podobne do guzów typu neurofibroma i schwannoma oraz nowotwory ubogopodścieliskowe zawierające podścielisko drobnowłókienkowe typu neuropile. Odsetek komórek różnicujących się w kierunku komórek zwojowych pozwala na podział guzów o charakterze dojrzewającym (zawierających >5% neuroblastów dojrzewających do komórek zwojowych) oraz o charakterze niedojrzałym (zawierających mniej niż 5% komórek zwojowych). MKI niski oznacza mniejszą niż 100 liczbę komórek dzielących się, piknotycznych i apoptotycznych z cechami karyorrhexis na 5000 komórek nowotworu, MKI średni wynosi mniej niż 200, a MKI wysoki wynosi więcej niż 200 takich komórek. Shimada i wsp. dzielą pacjentów na trzy grupy wiekowe: poniżej 18 miesięcy, od 18 miesięcy do 5 lat i powyżej 5 lat. Szczegółową klasyfikację wg Shimada i wsp. przedstawiono w Tabeli 1.2.

Tabela 1.2: Klasyfikacja neuroblastoma według Shimada i wsp. [103].

Typ	Wiek	Korzystna charakterystyka histologiczna	Niekorzystna charakterystyka histologiczna
Bogatopodścieliskowy		dobrze zróżnicowany mieszany	guzkowy
Ubogopodścieliskowy	< 18 miesięcy	MKI < 200	MKI > 200
	18-60 miesięcy	MKI < 100 i typ dojrzewający	MKI > 100 lub niedojrzały
	> 5 lat	Żadne	Wszystkie

1.7 Rokownicze czynniki biologiczne i genetyczne

Neuroblastoma stanowi aktualnie pokazowy model wykorzystania danych genomowych tkanki guza do określenia prognozy choroby u pacjenta i doboru leczenia. Jednak przed ustanowieniem międzynarodowej grupy ds. czynników ryzyka w neuroblastoma (International Neuroblastoma Risk Group - INRG) w 2004 r., konsensus w sprawie markerów, metodologii i interpretacji danych nie istniał, podważając wiarygodność decydujących markerów genetycznych jako czynników rokowniczych w neuroblastoma. Komitet Biologii INRG zidentyfikował wysoce prognostyczne czynniki genetyczne – biomarkery neuroblastoma, które należy uwzględnić w nowym schemacie klasyfikacji ryzyka INRG. Należą do nich: amplifikacja genu MYCN >10 kopii/jądro komórkowe, uznawana za najbardziej niekorzystny czynnik rokowania w neuroblastoma, obecność delekcji 1p35-36, związana ze złym rokowaniem, delekcje 11q, 14q, 17q, naddatek 17q (ang. 17q gain) o niekorzystnym znaczeniu oraz naddatek na chromosomach 6, 7 i 18 [104, 105, 106, 107]. Ploidia komórek neuroblastoma jest uznawana za czynnik lepszego rokowania w przypadku guzów hiperdiploidalnych. Z korzystnym rokowaniem wiąże się także wyższa ekspresja CD44 i wysoki poziom ekspresji nerwowego czynnika wzrostu TrkA [108].

Zgodnie z czynnikami ryzyka wg INRGSS, do których zalicza się wiek poniżej 12 miesięcy lub poniżej 18 miesięcy, obecność amplifikacji genu MYCN, rodzaj rozpoznania histologicznego oraz ploidię DNA zaproponowano nowy podział neuroblastoma na grupy ryzyka niskiego, średniego i wysokiego (Tabela 1.3) [109].

Tabela 1.3: Podział na stopnie ryzyka według INRGSS - International Neuroblastoma Risk Group Staging System [109].

Stopień INSS	Wiek	Status MYCN	Histologiczna klasyfikacja wg Shimada	Plodia DNA	Grupa ryzyka
1	<18 r.ż.	+/-	+/-	+/-	niska
	1-18 r.ż.	nieobecne	+/-	+/-	niska
2	1-18 r.ż.	obecne	sprzyjająca	+/-	niska
	1-18 r.ż.	obecne	niesprzyjająca	+/-	wysoka
3	<1 r.ż.	nieobecne	+/-	+/-	średnia
	<1 r.ż.	obecne	+/-	+/-	wysoka
	1-18 r.ż.	nieobecne	sprzyjająca	+/-	średnia
	1-18 r.ż.	nieobecne	niesprzyjająca	+/-	wysoka
	1-18 r.ż.	obecne	+/-	+/-	wysoka
4	<1 r.ż.	nieobecne	+/-	+/-	średnia
	<1 r.ż.	+/-	+/-	+/-	wysoka
	1-18r.ż.	+/-	+/-	+/-	wysoka
4s	<1 r.ż.	nieobecne	sprzyjająca	>1	niska
	<1 r.ż.	nieobecne	+/-	=1	średnia
	<1 r.ż.	nieobecne	niesprzyjająca	+/-	średnia
	<1 r.ż.	obecne	+/-	+/-	średnia

+/- brak wpływu

W 2005 roku po przeanalizowaniu 8800 przypadków dzieci, u których rozpoznano neuroblastoma w latach 1990-2002 International Neuroblastoma Risk Group (INRG) proponowała aktualizację klasyfikacji neuroblastoma. Biorąc pod uwagę, że dzieci w grupie wiekowej 12 - 18 miesięcy życia, wcześniej klasyfikowane jako grupa wysokiego ryzyka, osiągały bardzo dobry współczynnik przeżyć, zaklasyfikowano je obecnie do grupy średniego ryzyka. Powstała nowa klasyfikacja zaproponowana przez International Neuroblastoma Risk Group (INRGSS) [110], która wprowadziła następujące określenia:

Stopień L1: zlokalizowana choroba bez czynników ryzyka,

Stopień L2: zlokalizowana choroba z czynnikami ryzyka,

Stopień M: rozsiana choroba,

Stopień Ms: rozsiana choroba, typ „specjalny” (odpowiada 4s).

W latach 2001-2006 Kohler i wsp. wskazali, że wprowadzenie chemioterapii przed przeprowadzeniem zabiegu operacyjnego w przypadku dzieci ze zlokalizowaną neuroblastoma,

ale obciążoną czynnikami ryzyka zobrazowanymi w badaniach dodatkowych radiologicznych, zmniejsza ilość powikłań w czasie oraz po zabiegu operacyjnym o jedną trzecią [111]. Czynniki ryzyka zabiegu zdefiniowane w czasie badań obrazowych (Imaging disease risk factor - IDRf) w zależności od umiejscowienia, scharakteryzowane zostały przez Monclair i wsp. 2015 w następujący sposób [112]:

Szyja

- Guz otacza tętnicę kręgową i / lub tętnicę szyjną
- Korzenie splotu ramiennego otaczają guz
- Guz przekracza linię pośrodkową

Tułów

- Guz otacza tchawicę lub główne oskrzele
- Guz otacza gałęzie naczyń podobojczykowych
- Guz w lokalizacji trzustkowej, guz okołaortalny
- Guz śródpiersia, infiltrujący połączenie kostno-kręgowo między Th9 i Th12

Brzuch

- Guz nadnerczy naciekający wnękę wątroby
- Guz nadnerczy naciekający naczynia kręzkowe
- Guz naciekający jedną lub obie szypuły nerkowe
- Guz otaczający naczynia biodrowe
- Guz miednicy przekraczający wyjście nerwu kulszowego

Jako guz typu Dumbbell scharakteryzowane są nowotwory zlokalizowane w obrębie kanału kręgowego, szerzące się pomiędzy wyrostkami kolczystymi, niezależnie od ich lokalizacji.

1.8 Leczenie

Terapia dzieci z rozpoznaniem schorzenia onkologicznego jest złożonym i trudnym procesem, wymagającym ścisłej współpracy dużego grona specjalistów. Zalicza się do nich

onkologów, hematologów, chirurgów, pediatrów, radiologów, anestezjologów oraz lekarzy medycyny paliatywnej. Na całościowe leczenie składa się chemioterapia, radioterapia, leczenie operacyjne, przeszczepienie macierzystych komórek krwiotwórczych, immunoterapia oraz leczenie choroby resztkowej [113, 114, 115]. Intensywność leczenia zależy od stopnia zaawansowania choroby, wieku dziecka, przynależności do grup ryzyka. Chemioterapię stosuje się praktycznie we wszystkich przypadkach neuroblastoma z wyjątkiem dzieci, u których zmiana może zostać wycięta w całości już na początku leczenia [116, 117, 118, 119]. Zadaniem wstępnej chemioterapii jest przywrócenie operacyjności guza pierwotnego oraz zmniejszenie wielkości i liczby przerzutów. Dzięki zmniejszeniu rozmiarów guza, zabieg operacyjny staje się mniej traumatyzujący dla dziecka.

W przeszłości w Europie leczenie było stratyfikowane zgodnie z zaawansowaniem nowotworu zdefiniowanym początkowo przez klasyfikację wg Evans i wsp., kolejno przez International Neuroblastoma Staging System – Międzynarodowy System Klasyfikacji Neuroblastoma, uwzględniający wiek dziecka w momencie rozpoznania (pacjenci podzieleni byli na grupy powyżej i poniżej 12 miesięcy życia) i status genu MYCN. Wprowadzona nowa międzynarodowa klasyfikacja grup rokowniczych neuroblastoma (International Neuroblastoma Risk Group – INRG) uwzględnia heterogenność kliniczną i zapewnia narzędzie do stratyfikacji leczenia na podstawie parametrów klinicznych, takich jak wiek (\leq lub $>$ 18 miesięcy), stadium zaawansowania (zlokalizowany guz: L lub przerzutowy: M), obecność lub brak czynników ryzyka zdefiniowanych w obrazie KT/MR w odniesieniu do chirurgicznego usunięcia guza (brak ryzyka związanego z wynikiem badań obrazowych: L1, ryzyko związane z wynikiem badań obrazowych: L2), a także danych genetycznych wynikających z analizy tkanki nowotworowej, w tym statusu protoonkogenu MYCN oraz obecności lub nieobecności segmentowych nieprawidłowości chromosomalnych (segmental chromosome abnormalities – SCA), przy jednoczesnym uwzględnieniu jedynie niewielkiej liczby zmian obserwowanych powtarzalnie w NB (delecja ramienia chromosomu 1p lub 11q).

Około 40% pacjentów z NB cierpi na chorobę stopnia 4., tzw. wysokiego ryzyka nawrotu choroby z zajęciem szpiku kostnego i zmianami przerzutowymi odległymi w węzłach chłon-

nych czy kościach Moss i wsp. [120]. W tej grupie dzieci osiąga się słabe wyniki leczenia pomimo intensywnej terapii multimodalnej. Według International Neuroblastoma Staging System (INSS), konwencjonalna cytologia rozmazów szpiku jest wciąż jedyną akceptowaną techniką wykrywania natywnych komórek NB. Należy jednak pamiętać, że czułość tej metody jest ograniczona i pozwala jedynie na większe niż 0,1% zajęcie szpiku przez komórki nowotworowe [121].

W początkowej fazie choroby ważnym czynnikiem dyktującym, w której grupie zaawansowania ostatecznie znajdzie się dany pacjent jest czas. W większości wypadków początek objawów jest skryty, co może wiązać się z długim interwałem czasowym pomiędzy zachorowaniem a rozpoczęciem leczenia, co w dalszej kolejności wpływa na zaawansowanie choroby. W Stanach Zjednoczonych dzieci, u których guz jest ograniczony do jednego narządu i jest możliwa radykalna resekcja stanowią 21% pacjentów z neuroblastoma. Odpowiednio II stopień to 15%, III – 17%, IV - 41%, a IVs - 6% [87]. W Polsce około 70% przypadków neuroblastoma znajduje się w III lub IV stopniu zaawansowania w chwili rozpoznania, co wiąże się z koniecznością zastosowania dłuższego, bardziej obciążającego organizm leczenia [122]. Na podstawie badań przeprowadzonych w Japonii przez Kaneko i wsp. [123] w latach 1985-1990, dzieci w stopniu zaawansowania III stanowiły 18%, zaś dzieci w stopniu IV 82%, co zostało opisane także przez Sawaguchi i wsp. [124]. Wyniki tych badań stały się przesłanką do wprowadzenia w Japonii w latach 1984 - 2004 badań skринingowych noworodków oraz niemowląt. Badania te oparte były na oznaczeniu ilości kwasu homowanilinowego (HVA) i kwasu wanilinomigdałowego (VMA) w moczu. Po opublikowaniu wyników podobnych badań prowadzonych w Niemczech i Kanadzie, które jednoznacznie wykazały brak związku między wyżej wymienionymi badaniami a zmniejszeniem umieralności dzieci z powodu neuroblastoma, odstąpiono od prowadzenia tego rodzaju badań przesiewowych [125, 126]. W Stanach Zjednoczonych prowadzone są badania nad odrębnym protokołem leczniczym dzieci z rozpoznaną neuroblastoma prenatalnie [127].

W 1969 roku powstało Międzynarodowe Towarzystwo Onkologii Dziecięcej (SIOP Interna-

tional Society of Paediatric Oncology) zajmujące się problemami onkologii dziecięcej oraz młodych dorosłych [128]. Dzięki wymianie doświadczeń w ramach grupy SIOP, zaczęto wprowadzać w wielu krajach ujednolicone protokoły leczenia, co spowodowało poprawę efektów leczenia. W związku z obserwowanym wzrostem zachorowań na nowotwory okresu dzieciństwa i okresu młodzieżowego oraz znaczną redukcją innych przyczyn umieralności dzieci, takich jak choroby zakaźne, niedożywienie, już w latach 1990-2009 wyodrębniono w ramach SIOP komitet zajmujący się promocją wiedzy z zakresu onkologii dziecięcej, zwłaszcza w krajach o niskim poziomie opieki zdrowotnej. Utworzono także 12 grup roboczych, wśród których w 1994 roku SIOP wyodrębniło Europejską Grupę Neuroblastoma (European SIOP Neuroblastoma Group, ESIOP NB). Postęp w leczeniu neuroblastoma dokonał się dzięki wprowadzeniu nowych form terapii. W latach 2002–2008 zainicjowano badanie kliniczne dla neuroblastoma wysokiego ryzyka (SIOP-EUROPE-NBL-1). Zastosowano tzw. „przyspieszony” protokół COJEC (8 cykli chemioterapii oddzielonych dziesięciodniowymi przerwami), po którym dokonywano auto-HSCT (auto-HSCT, ang. autologous hematopoietic stem cell transplantation, autologiczny przeszczep krwiotwórczych komórek macierzystych) z zastosowaniem dwóch sposobów mieloablacji [129, 130, 131], tzw. protokołu CEM (karboplatyna, etopozyd, melfalan) lub BuMel (busulfan, melfalan). Badanie pozwoliło ocenić skuteczność zastosowania czynników wzrostu G-SCF (granulocyte colony-stimulating factor) i porównać protokoły mieloablacji. W latach 2005–2010 wprowadzono kolejne badanie NB2004 w grupie pacjentów wszystkich grup ryzyka. Badanie to miało na celu sprawdzenie skuteczności topotekanu w połączeniu z terapią MIBG. W roku 2007 zainicjowano kolejne badanie kliniczne COG w grupie pacjentów z neuroblastoma wysokiego ryzyka, które miało między innymi na celu porównanie pojedynczych i podwójnych auto-HSCT [132].

1.9 Rokowanie w neuroblastoma

W zależności od stopnia zaawansowania choroby, stopnia ryzyka wznowy choroby, rodzaju odpowiedzi na terapię, poszczególne grupy neuroblastoma różnią się pod względem rokowania. Szacuje się, że ogólna umieralność spowodowana neuroblastoma to około 55%

wszystkich zachorowań [133]. W I stopniu zaawansowania możliwe jest całkowite wyleczenie praktycznie 100% małych pacjentów. W II stopniu wyleczalność wynosi 75%, odpowiednio w stadium III - 43% oraz w IV - 15% [134]. Według danych Amerykańskiego Towarzystwa Onkologicznego w zależności od grup ryzyka pięcioletnie przeżycie dzieci z neuroblastoma przedstawia się następująco: 95%, 90-95% i 40-50% odpowiednio dla grup niskiego, pośredniego i wysokiego ryzyka wznowy neuroblastoma [135].

Rozdział 2

Cel pracy

W niniejszym opracowaniu podjęto próbę scharakteryzowania obrazu klinicznego i przebiegu terapii dzieci z rozpoznaną neuroblastoma leczonych w Klinice Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Dokładnej analizie poddano przebieg leczenia, zależny od grupy ryzyka, występowanie wznowy oraz progresji choroby. Szczegółowo przeanalizowano terminowość i stopień realizacji planowego leczenia w obrębie danych protokołów terapeutycznych.

Jest to pierwsza od dwudziestu lat retrospektywna analiza tak dużej grupy pacjentów z rozpoznaniem neuroblastoma leczonych we wspomnianym ośrodku, będącym jedynym dla województwa wielkopolskiego miejscem terapii nowotworów dziecięcych.

Cel pracy realizowano poprzez:

1. Retrospektywną analizę klinicznych, histologicznych i biologicznych czynników rokowniczych w zwojaku zarodkowym u dzieci oraz ich wpływu na przebieg i efekt leczenia.
2. Ocenę planowej realizacji protokołów terapeutycznych w odniesieniu do uzyskanych efektów leczenia.

Dodatkowo szczególną uwagę zwrócono na czas, jaki upłynął od wystąpienia pierwszego objawu do rozpoczęcia specjalistycznego leczenia. Z racji często skrytego przebiegu choroby rodzice nierzadko przeoczą początkowe objawy choroby. Także, ciągle niewystarczająca dostępność do badań obrazowych, w tym badania ultrasonograficznego nie ułatwia rozpoznania neuroblastoma w niższych stadiach zaawansowania choroby. Przeprowadzona analiza stanowić może swoistą wskazówkę dla postępowania mającego na celu poprawę wczesnego rozpoznawania neuroblastoma u dzieci.

Rozdział 3

Material i metody

i. Obserwację pacjentów objętych badaniem zakończono 30 września 2019 roku.

Diagnozę neuroblastoma postawiono każdorazowo na podstawie wyników badań biochemicznych, obrazowych oraz wyniku badania histologicznego. Oceny stopnia zaawansowania choroby nowotworowej dokonywano w oparciu o badania ultrasonograficzne, tomografii komputerowej, rezonansu magnetycznego, scyntygrafii MIBG lub scyntygrafii z technetem oraz wyniki badań cytologicznych szpiku i/lub trepanobiopsji. Oceniano obecność ogniska pierwotnego i ognisk przerzutowych w klatce piersiowej, jamie brzusznej, miednicy, centralnym układzie nerwowym, węzłach chłonnych obwodowych, w układzie kostnym i w szpiku.

Szczegółowo przeanalizowano następujące parametry:

- wiek w momencie rozpoznania,
- stopień zaawansowania,
- status genu MYCN – obecność lub brak amplifikacji,
- obecność objawów początkowych,
- czas od początku objawów do diagnozy,
- pierwotne umiejscowienie zmiany,
- obecność przerzutów,

- wynik badania histologicznego,
- wydzielanie katecholamin w moczu,
- czas od początku objawów do wprowadzenia celowanego leczenia,
- rodzaj zastosowanego leczenia,
- przebieg leczenia pod kątem jego planowej realizacji,
- występowanie powikłań związanych z prowadzoną terapią,
- wyniki leczenia.

Pacjenci z rozpoznaniem neuroblastoma leczeni byli według dwóch protokołów dla grup tzw. nie-wysokiego ryzyka i wysokiego ryzyka („non-high risk” i high risk). Zastosowane protokoły terapeutyczne oparte były o schematy leczenia zaproponowane przez dwa badania europejskie LINES (Low and Intermediate Risk Neuroblastoma European Study) i HR-NBL SIOPEN. Badanie europejskie LINES obejmuje w jednym protokole leczenie wszystkich pacjentów z neuroblastoma tzw. „nieposiadających cech grupy wysokiego ryzyka”, z podziałem na dwie grupy ryzyka niskiego i pośredniego.

Zgodnie z wytycznymi badania European study LINES grupa pacjentów niskiego ryzyka obejmowała dzieci z neuroblastoma bez amplifikacji genu MYCN, z objawami zagrażającymi życiu lub bez nich w następujących sytuacjach klinicznych:

1. Dzieci w wieku ≤ 18 miesięcy ze zlokalizowanym nerwiakiem zarodkowym z czynnikami ryzyka wykluczającymi wyprzedzający zabieg chirurgiczny (stadium INRG L2).
2. Dzieci w wieku ≤ 12 miesięcy z rozsiałym nerwiakiem zarodkowym, z wykluczeniem przerzutowania do kości, płucnej, płuc lub CUN (stadium INRG Ms).

Program terapii LINES dla grupy neuroblastoma niskiego ryzyka ma na celu przede wszystkim zminimalizować intensywność leczenia, chemioterapii i zabiegu chirurgicznego u wszystkich pacjentów z niskim ryzykiem nawrotu neuroblastoma. Szczegółowy program leczenia w tej grupie chorych przedstawiono w Tabeli 3.1 [22].

Tabela 3.1: Schemat leczenia dzieci zakwalifikowanych według INGR do grupy niskiego ryzyka.

GRUPA	CHARAKTERYSTYKA	LECZENIE
1	Stopień INRG L2, do 18 miesiąca życia, bez amplifikacji MYCN, bez symptomów zagrażających życiu, z NCA.	Chemioterapia (CO x 2-4 ± VP/Carbo x 2), zabieg
2	Stopień INRG L2, do 18 miesiąca życia, bez amplifikacji MYCN, obecność symptomów zagrażających życiu, z NCA	VP/Carbo x 2 ± CADO x 2 ± zabieg
3	Stopień INRG L2, do 18 miesiąca życia, bez amplifikacji MYCN, brak/obecność symptomów zagrażających życiu, z SCA.	VP/Carbo x 2-4 ± CADO x 2 ± zabieg
4	Stopień INRG Ms do 12 miesiąca życia, bez amplifikacji MYCN, brak symptomów zagrażających życiu, z NCA.	Obserwacja
5	Stopień INRG Ms do 12 miesiąca życia, bez amplifikacji MYCN, obecność symptomów zagrażających życiu, z NCA.	VP/Carbo x 2 ± CADO x 2
6	Stopień INRG Ms do 12 miesiąca życia, bez amplifikacji MYCN, obecność symptomów zagrażających życiu, z SCA.	VP/Carbo x 2-4 ± CADO x 2 ± zabieg

Wyjaśnienie skrótów: VP – Etopozyd, Carbo – Karboplatyna, CADO: Cyklofosfamid, Winkrystyna, Adriamycyna; NCA – liczbowe zaburzenia chromosomalne, SCA – strukturalne zaburzenia chromosomalne

Zgodnie z wytycznymi badania European study LINES pośrednia grupa ryzyka obejmowała pacjentów z neuroblastoma w następujących sytuacjach klinicznych:

1. Dzieci w wieku > 18 miesięcy ze zlokalizowanym nerwiakiem zarodkowym, bez amplifikacji MYCN, z czynnikami ryzyka wykluczającymi wyprzedzające zabiegi chirurgiczne (stadium INRG L2).
2. Dzieci w wieku ≤ 12 miesięcy z rozsianym nerwiakiem zarodkowym, w tym z przerzutami do kości, opłucnej, płuc i / lub CUN (stadium INRG M), bez amplifikacji genu MYCN.
3. Dzieci ze zlokalizowanym wyciętym neuroblastoma (stopień INSS I) z amplifikacją genu MYCN.

Program terapii LINES dla grupy neuroblastoma ryzyka pośredniego ma na celu zmniejsz-

szyć intensywność chemioterapii u pacjentów ze stadium INRG L2 i u pacjentów z ganglioneuroblastoma. Dodatkowo program proponuje zwiększenie wskazań do radioterapii i leczenia 13-cis-RA w przypadku słabo zróżnicowanego lub niezróżnicowanego histologicznie stadium INRG L2 NB oraz dla pacjentów z ganglioneuroblastoma typ nodular. Dodatkowo program zakłada utrzymanie bardzo dobrych wyników leczenia niemowląt w stadium M wg INRG z tzw. umiarkowanym leczeniem. Pacjentów grupy średniego ryzyka podzielono na cztery podgrupy, a możliwy przebieg terapii przedstawiono w Tabeli 3.2.

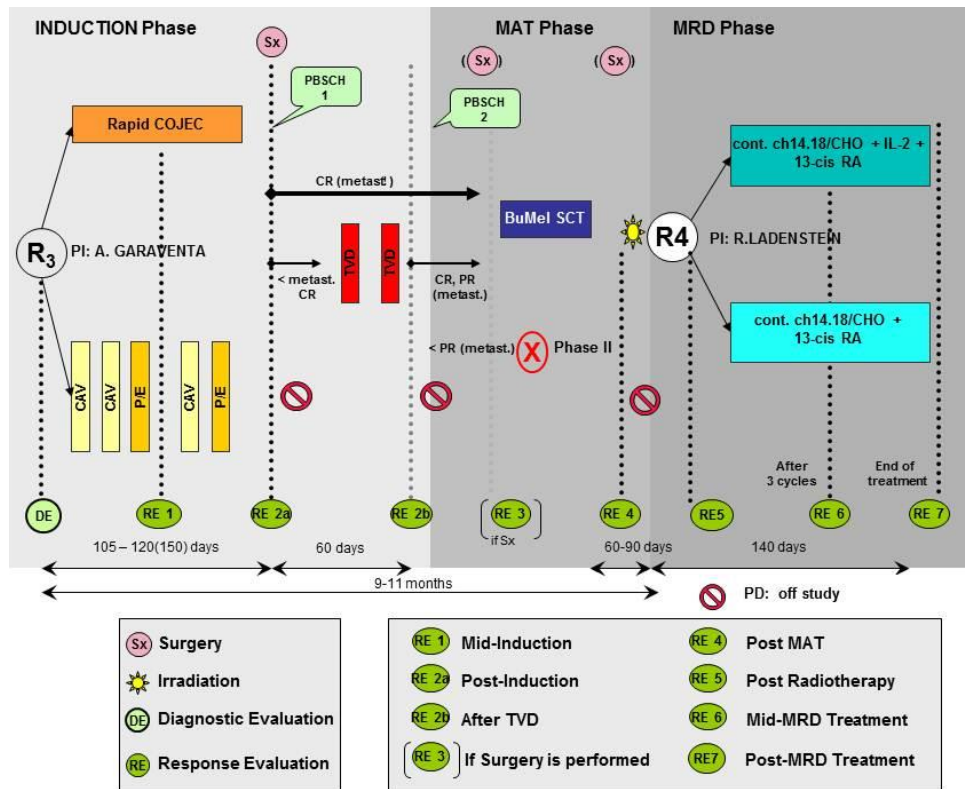
Tabela 3.2: Schemat leczenia dzieci zakwalifikowanych według INGR do grupy średniego ryzyka.

GRUPA	CHARAKTERYSTYKA	LECZENIE
7	Stopień L2 według INRG neuroblastoma lub ganglioneuroblastoma, bez amplifikacji MYCN, wiek powyżej 18 miesięcy, zróżnicowana histopatologia.	VP/Carbo x 2 + CADO x 2 lub VP/Carbo x 2 ± zabieg
8	Stopień L2 według INRG neuroblastoma lub ganglioneuroblastoma, bez amplifikacji MYCN, wiek powyżej 18 miesięcy, zróżnicowana/ niezróżnicowana histopatologia.	VP/Carbo x 2, CADO x 2, VP/Carbo x 1 + CADO x 1 lub CADO x 2, ± zabieg radioterapia, 6 kursów 13-cis-RA
9	I stopień według klasyfikacji INSS, amplifikacja MYCN, dowolny wiek.	VP/Carbo x 2, CADO x 2, VP/Carbo x 1, CADO x1) następową radioterapia, 6 kursów 13-cis-R.
10	Stopień M w klasyfikacji INRG, bez amplifikacji MYCN, wiek poniżej 12 miesięcy.	VP/Carbo x 2- 4 ± CADO x 2-4), ± zabieg

Wyjaśnienie skrótów: VP – Etopozyd, Carbo – Karboplatyna, CADO: Cyklofosamid, Winkrystyna, Adriamycyna; NCA – liczbowe zaburzenia chromosomalne, SCA – strukturalne zaburzenia chromosomalne

Protokół leczenia pacjentów z neuroblastoma grupy wysokiego ryzyka HR-NBL SIOPEN aktywowany został w 2002 roku. Do leczenia tym protokołem kwalifikowano pacjentów:

1. W wieku poniżej 21 lat z potwierdzoną neuroblastoma wysokiego ryzyka zdefiniowaną wg INSS w stadium 2, 3, 4 i 4s z amplifikacją genu MYCN lub w stadium 4 bez amplifikacji genu MYCN w wieku > 12 miesięcy w momencie rozpoznania.



Rycina 3.1: Schemat protokołu terapeutycznego neuroblastoma grupy wysokiego ryzyka (wg High Risk Neuroblastoma Study 1.7 of SIOP-EUROPE (SIOPEN)) [99]

- Od 2006 roku włączono także niemowlęta z potwierdzoną neuroblastoma z amplifikacją genu MYCN.

Protokół leczenia pacjentów z neuroblastoma grupy wysokiego ryzyka HR-NBL SIOPEN (Rycina 3.1) poprzez wprowadzenie leczenia indukcyjnego ma za zadanie doprowadzić do szybkiego i skutecznego uzyskania zmniejszenia masy pierwotnej guza oraz redukcji przerzutów. Zastosowanie auto-HSCT, radioterapii, eliminacja choroby resztkowej poprzez wprowadzenie immunoterapii z chimerycznym przeciwciałem monoklonalnym (mAb ch14.18), rozpoznającym gangliozyd GD2 na komórkach neuroblastoma oraz leczenia 13-cis-RA zaowocować powinno zmniejszeniem częstości występowania nawrotów w tej grupie chorych [99].

Oceny odpowiedzi na leczenie dokonano w oparciu o niżej przedstawione kryteria INRC – ang. International Neuroblastoma Response Criteria (Międzynarodowe Kryteria Odpowiedzi Neuroblastoma) (Tabela 3.3) [136]. Kryteria odpowiedzi na leczenie neuroblastoma

Tabela 3.3: Kryteria odpowiedzi na leczenie neuroblastoma wg INRC [136].

Rodzaj odpowiedzi	Guz pierwotny	Ogniska przerzutowe
Całkowita odpowiedź CR – Complete Response	Brak guza	Brak guza/ów, wydzielanie katecholamin w normie
Bardzo dobra częściowa odpowiedź VGPR – Very Good Partial Response	Zmniejszenie wymiarów guza o 90-95%	Brak guza/ów, wszystkie ogniska przerzutowe mniejsze o >50%, dopuszczalne zajęcie szpiku z jednego miejsca pobrania
Częściowa odpowiedź PR – Partial Response	Zmniejszenie wymiarów guza o >50%	
Odpowiedź mieszana MR – Mixed Response	Brak nowych zmian; redukcja zmiany/zmian >50% z <25% zwiększeniem jakiegokolwiek zmiany	
Brak odpowiedzi NR – No Response	Brak nowych zmian; redukcja zmiany/zmian <50% z <25% zwiększeniem jakiegokolwiek zmiany	
Progresja choroby PD – Progressive Disease	Pojawienie się nowej zmiany; zwiększenie >25% jakiegokolwiek zmiany; pojawienie się zajęcia szpiku poprzednio nie stwierdzanego	

w odniesieniu do miejsc przerzutowych według INRC przedstawiono szczegółowo w Tabeli 3.4.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy zastosowaniu programu Statistica firmy StatSoft. Dane ilościowe opisano poprzez przedstawienie średniej arytmetycznej oraz mediany. Do oceny analizy istotności oraz korelacji użyto testu U-Manna Whitney’ a oraz testu t-Studenta. Analizę wpływu czynników rokowniczych na przeżycie dzieci z neuroblastoma badano za pomocą regresji logicznej. Istotność we wszystkich zastosowanych testach ustalono na poziomie $< 0,05$.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (uchwała nr. 72/16 z dnia 14 stycznia 2016).

Tabela 3.4: Kryteria odpowiedzi na leczenie według INRC w odniesieniu do miejsc przerzutowych w szpiku i układzie kostnym [136].

Rodzaj odpowiedzi	Ogniska Przerzutowe
<p>Całkowita odpowiedź CR – Complete response</p>	<ul style="list-style-type: none"> • badanie MIBG w odniesieniu do układu kostnego nie uwidoczniono zmian wcześniej stwierdzanych, • brak cech zajęcia szpiku w trepano-biopsji, • cytomorfologiczna remisja w dwóch aspiratach szpiku
<p>Częściowa odpowiedź PR – Partial response</p>	<ul style="list-style-type: none"> • badanie MIBG w odniesieniu do układu kostnego >50% redukcja wcześniej stwierdzanych ognisk przerzutowych przy braku nowych zmian, • nie więcej niż 3 pozytywne zmiany w badaniu MIBG w odniesieniu do układu kostnego

Rozdział 4

Wyniki

Do grupy badanej zakwalifikowano 77 dzieci z rozpoznaniem neuroblastoma. Szczegółowe dane kliniczne, wyniki badań laboratoryjnych i obrazowych w badanej grupie chorych przedstawiono w Tabeli 4.1. Dalsza analiza miała na celu wykazanie wpływu wybranych czynników na końcowy efekt leczenia. Badanych pacjentów podzielono na grupę całkowicie wyleczonych, obejmującą 35 pacjentów, którzy zakończyli leczenie, kolejnych 31 dzieci zostało włączonych do grupy braku reakcji na leczenie, a dalszych 11 dzieci, które zmarło zaszeregowano do osobnej grupy pacjentów. W grupie całkowicie wyleczonych było 18 dziewczynek oraz 17 chłopców, w grupie opisanej jako brak reakcji na leczenie było 14 dziewczynek oraz 15 chłopców.

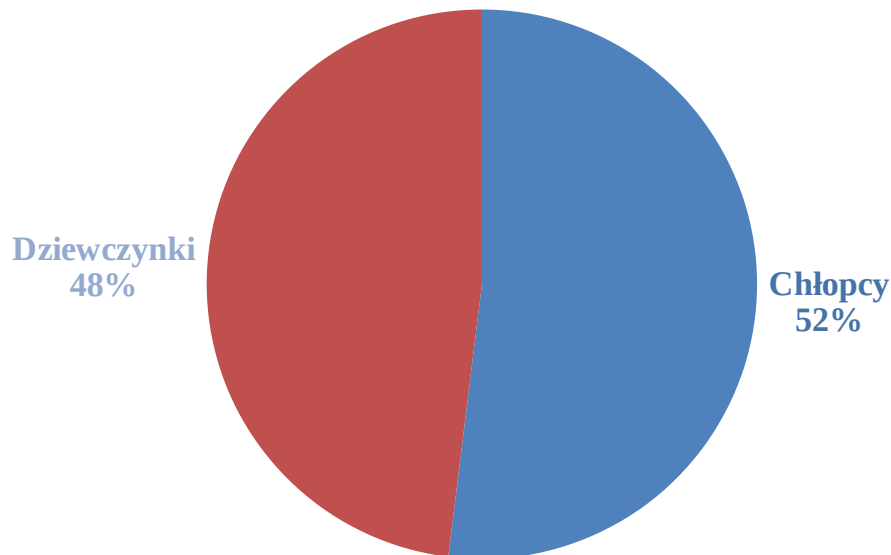
4.1 Płeć

W badanej grupie było 37 (48%) dziewczynek i 40 (52%) chłopców (Rycina 4.1). Nie stwierdzono istotnie częstszego występowania którejkolwiek płci. W badanej grupie chorych rozkład obu płci był zbliżony, nie stwierdzono związku między płcią dziecka z rozpoznaniem neuroblastoma a zgonem z powodu choroby nowotworowej. W grupie dzieci żyjących są 32 dziewczynki i 32 chłopców, zaś w grupie dzieci, które zmarły z powodu neuroblastoma jest nieco więcej chłopców ($n=8$) niż dziewcząt ($n=5$). Różnica ta nie jest istotna ($p=0,446$).

Tabela 4.1: Charakterystyka badanej grupy 77 dzieci leczonych z powodu neuroblastoma.

Badany parametr		N	%
Płeć	Chłopcy	40	51,95
	Dziewczęta	37	48,05
Wiek	Zakres (miesiące)	0-132	-
	Mediana (miesiące)	11	-
	Liczba pacjentów <12 miesiąca życia	35	45,45
	Liczba pacjentów ≥ 12 a < 18 miesiącem życia	11	14,29
	Liczba pacjentów ≥ 18 miesiąca życia	31	40,26
Czas od wystąpienia objawów do zgłoszenia się do kliniki	wykryty prenatalnie lub w okresie noworodkowym	16	20,78
	< 1 miesiąca	28	36,36
	≥ 1 miesiąca	25	32,47
	brak danych	8	10,39
Stopień zaawansowania wg INSS	1	22	28,57
	2	4	5,19
	3	10	12,99
	4	37	48,06
	4s	4	5,19
Amplifikacja MYCN	Nieobecna	48	62,34
	Obecna	18	23,38
	Niebadana	11	14,28
Dobowa zbiórka moczu	Nie wykonano	10	12,99
	Wykonano	67	87,01
	Podwyższony poziom dopaminy	20	29,85
	Podwyższony poziom VMA i dopaminy	5	7,46
	Podwyższony poziom VMA	1	1,49
Przerzuty w momencie rozpoznania	Prawidłowy poziom VMA i dopaminy	41	61,20
	Obecne	36	46,75
Protokół leczniczy	Nieobecne	41	53,25
	LINES	28	36,36
Chemioterapia	HR-NBL	49	63,64
	Stosowano	55	71,43
Terminowa realizacja chemioterapii	Nie stosowano (wyłącznie zabieg)	22	28,57
	Tak	33	60
Czas od pojawienia się objawów do rozpoczęcia leczenia	Nie	22	40
	Zakres w tygodniach	0-116	-
Wznowa/Progresja	Mediana czasu w tygodniach	1	-
	Tak	19	24,68
	Nie	56	72,72
Efekt leczenia *	Brak danych	2	2,60
	Całkowita remisja	35	45,45
	Bardzo dobra częściowa remisja	31	40,26
	Zgon	11	14,29

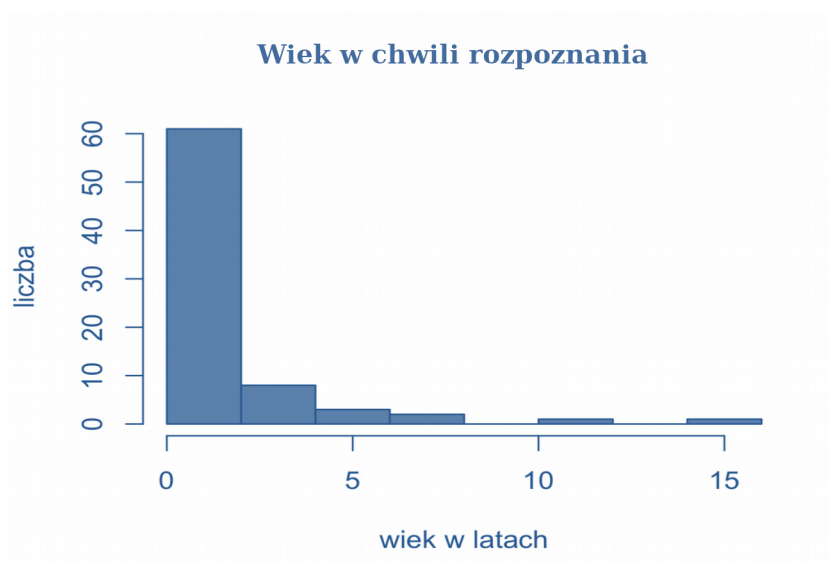
* Dane na dzień 30.09.2019



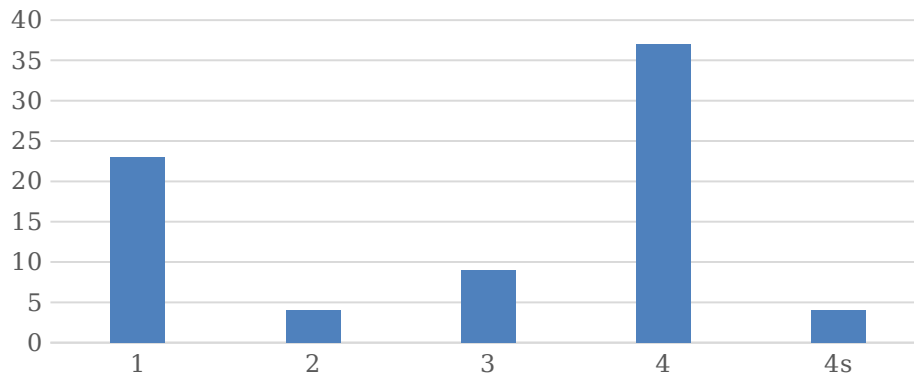
Rycina 4.1: Rozkład płci w badanej grupie dzieci z rozpoznaniem neuroblastoma.

4.2 Wiek

Wiek pacjentów w momencie rozpoznania jest ciągle jednym z najistotniejszych czynników rokowniczych. Warunkuje on przynależność do danej grupy terapeutycznej i rokowniczej. Wiek pacjentów w badanej grupie wahał się od 5 dni do 11 lat z medianą 46,9 tygodni (Rycina 4.2). W badanej grupie nie stwierdzono zwiększonego ryzyka zgonu wyłącznie w zależności od wieku dzieci z neuroblastoma ($p=0,904$; test U-Manna Whitney'a i $p=0,104$; test T-Studenta). W grupie badanej nie zaobserwowano także związku między wiekiem w momencie rozpoznania a efektem leczenia (Tabela 4.2).



Rycina 4.2: Rozkład wieku u dzieci w momencie rozpoznania neuroblastoma.



Rycina 4.3: Rozkład stopni zaawansowania nowotworu wg INSS w całej analizowanej grupie dzieci w momencie rozpoznania neuroblastoma.

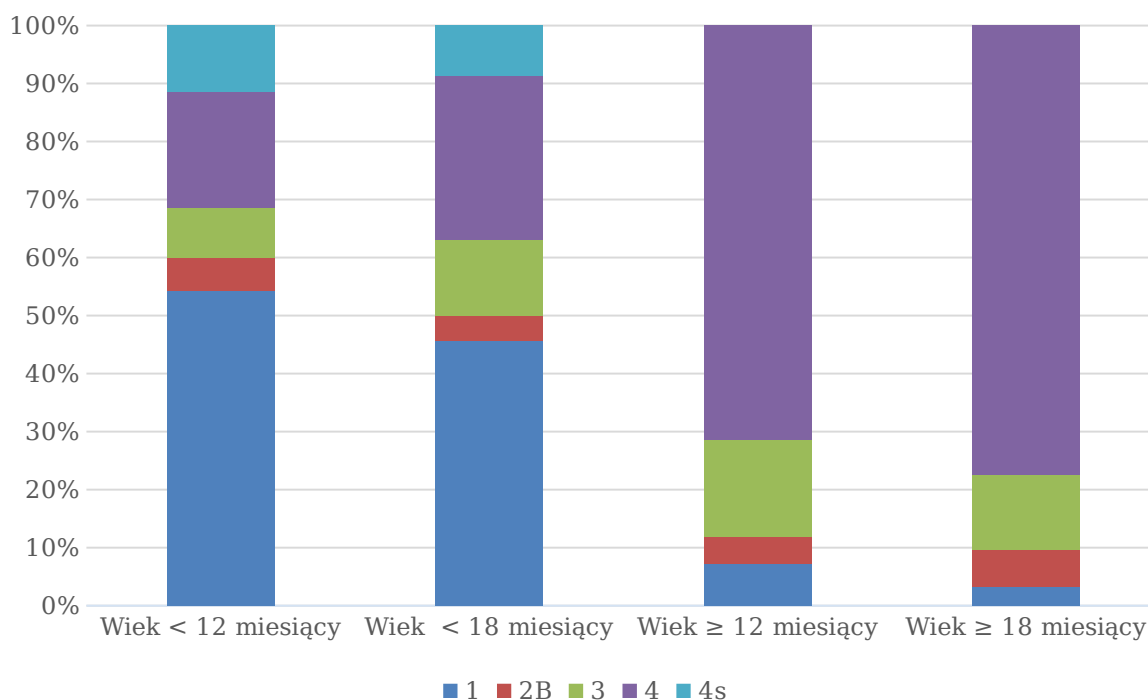
Tabela 4.2: Efekt leczenia w zależności od wieku w momencie rozpoznania.

Badany parametr	Całkowite wyleczenie	Brak reakcji na leczenie	p
Wiek w momencie rozpoznania (w tygodniach) Średnia/mediana (zakres)	61,706/32,286 (0-298,286)	116,340/49,857 (0-871,714)	0.806

4.3 Stopień zaawansowania

Kolejnym analizowanym czynnikiem rokowniczym był stopień zaawansowania nowotworu. Z uwagi na brak u wszystkich pacjentów wyników badań aberracji liczbowych i strukturalnych oraz badań amplifikacji MYCN zdecydowano o podziale pacjentów wg klasyfikacji INSS. W badanej grupie, 1. stopień zaawansowania wg INSS stwierdzono u 22 pacjentów (28,57%), 2. stopień zaawansowania u 4 dzieci (5,19%), 3. stopień u 10 pacjentów (12,99%), 4. stopień u 37 dzieci (48,06%), stopień 4s u 4 niemowląt (5,19%). Graficzne przedstawienie rozkładu stopni zaawansowania nowotworu obrazuje Rycina 4.3.

U badanych pacjentów rozkład stopni zaawansowania w zależności od wieku w momencie rozpoznania przedstawiał się następująco (Rycina 4.4):



Rycina 4.4: Rozkład stopni zaawansowania nowotworu wg INSS względem wieku w momencie rozpoznania neuroblastoma.

- Grupa pacjentów, którzy nie ukończyli pierwszego roku życia w momencie rozpoznania liczyła 35 dzieci. Uwzględniając stopień zaawansowania podział przedstawiał się następująco: 1. stopień zaawansowania prezentowało 19 dzieci, co stanowi 54,29% badanych, 2. stopień zaawansowania wykazano u 2 dzieci – 5,71%, 3. stopień zaawansowania był rozpoznany u 3 dzieci co stanowiło odpowiednio 8,57%, najwyższy 4. stopień zaawansowania obarczony najpoważniejszym rokowaniem był rozpoznany u 7 dzieci – 20,00%. Wyszczególniono jeszcze stopień 4s dla dzieci w tej grupie wiekowej, który rozpoznano odpowiednio u 4 małych pacjentów – 11,43%.
- Szczególną uwagę w ostatnich latach poświęca się grupie pacjentów w wieku < 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania. Jest to grupa dzieci, u których pomimo wysokiego stopnia zaawansowania możliwe jest stosowanie mniej agresywnej chemioterapii. W badanej grupie 46 dzieci spełniało to kryterium wiekowe. W grupie tej 1. stopień zaawansowania stwierdzono u 21 pacjentów (45,65%), 2. stopień u 2 dzieci (4,35%), 3. stopień u 6 pacjentów (13,04%), a 4. stopień u 13 chorych (28,26%). Porównanie częstości występowania poszczególnych grup zaawansowania

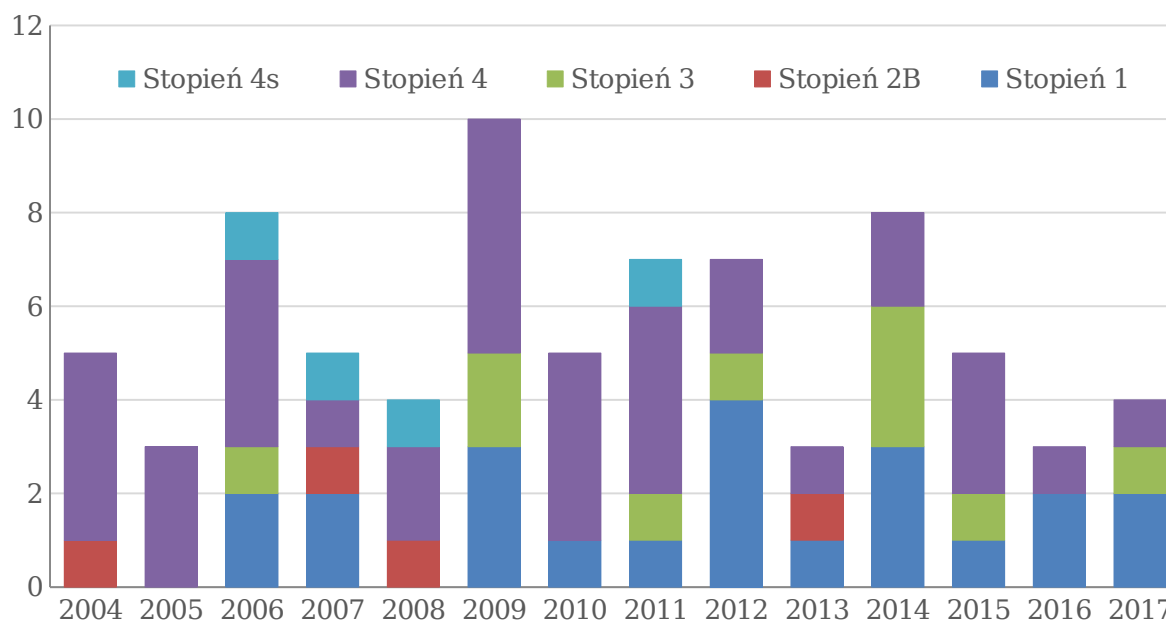
między niemowlętami a dziećmi poniżej 18 miesiąca życia w chwili zachorowania, pokazuje na wzrost liczby pacjentów w najwyższym stopniu zaawansowania w interwale czasowym między 12 a 18 miesiącem życia. Liczba pacjentów w stopniu 4s pozostała niezmienna, stanowiąc 8,70% tej podgrupy.

- Grupa pacjentów ≥ 12 miesiąca życia w chwili rozpoznania neuroblastoma stanowiła 42 chorych. Rozkład poszczególnych grup zaawansowania przedstawiał się następująco: 1. stopień zaawansowania stwierdzono u 3 pacjentów (7,14%), 2. stopień zaawansowania u 2 dzieci (4,76%), 3. stopień zaawansowania był obserwowany u 7 chorych (16,67%), a najwyższy 4. stopień zaawansowania u 30 pacjentów (71,43%). Stopień 4s z racji ograniczeń wiekowych nie występował w danej grupie.
- Dzieci, które zachorowały w wieku ≥ 18 miesiąca życia było 31. Rozkład stopni zaawansowania w tej grupie wiekowej przedstawiał się następująco: 1. stopień zaawansowania został rozpoznany u 1 dziecka (3,23%), 2. stopień zaawansowania u kolejnych 2 pacjentów (6,45%), 3. stopień wystąpił u 4 dzieci (12,90%), a pozostała część grupy, czyli 24 pacjentów zostało zakwalifikowanych do 4. stopnia zaawansowania, stanowiąc aż 77,42% tej podgrupy wiekowej.

Przeanalizowano także częstość występowania neuroblastoma w poszczególnych latach prowadzonego badania z uwzględnieniem stopnia zaawansowania choroby wg INSS (Rycina 4.5).

4.4 Stopień zaawansowania a wyniki leczenia

Przeprowadzono analizę wystąpienia zgonu w zależności od stopnia zaawansowania choroby w momencie rozpoznania. Nie zanotowano zgonu w grupie dzieci zakwalifikowanych do stopni 1, 2 i 3 wg INSS. W grupie dzieci z 4. stopniem zaawansowania wg INSS wystąpiło 10 zgonów, a w grupie 4s jeden zgon (Tabela 4.3). Zastosowanie analizy statystycznej przy pomocy testu regresji logicznej pozwoliło wykazać, że stopień zaawansowania w sposób istotny statystycznie wpływał na ryzyko zgonu dzieci w badanej grupie ($p=0,002$).



Rycina 4.5: Liczba zachorowań neuroblastoma w poszczególnych latach prowadzonego badania z uwzględnieniem stopnia zaawansowania choroby wg INSS.

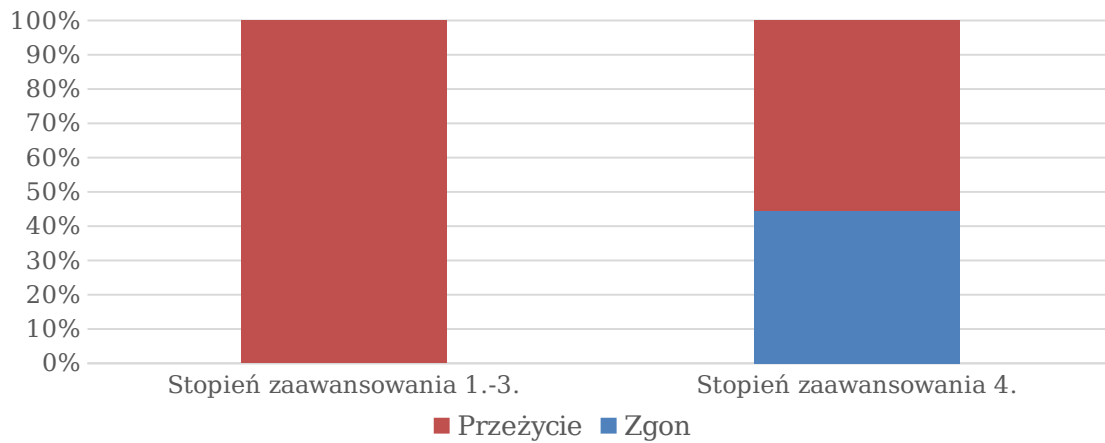
Tabela 4.3: Odsetek zgonów z powodu neuroblastoma w zależności od stopnia zaawansowania nowotworu wg INSS.

Stopień zaawansowania	1	2	3	4	4s
Przeżycie	22	4	10	27	3
Zgon	0	0	0	10	1
Odsetek zgonów	0%	0%	0%	27,03%	25,00%

Przeanalizowano także skuteczność leczenia w zależności od stopnia zaawansowania. Zaobserwowano istotnie statystyczny związek między stopniem zaawansowania nowotworu a efektami leczenia. Dzieci zakwalifikowane do pierwszych trzech stopni zaawansowania istotnie częściej zakończyły leczenie jako całkowicie wyleczone (Tabela 4.4 i Rycina 4.6).

Tabela 4.4: Efekt leczenia w zależności od stopnia zaawansowania choroby.

Badany parametr	Całkowite wyleczenie	Brak reakcji na leczenie	OR (95% CI)	p
Stopień zaawansowania 1./2./3./4./4s.	18/3/5/7/2	5/1/4/18/1	1., 2., 3., 4. vs 4s 0,150 (0,048-0,467)	0.0007



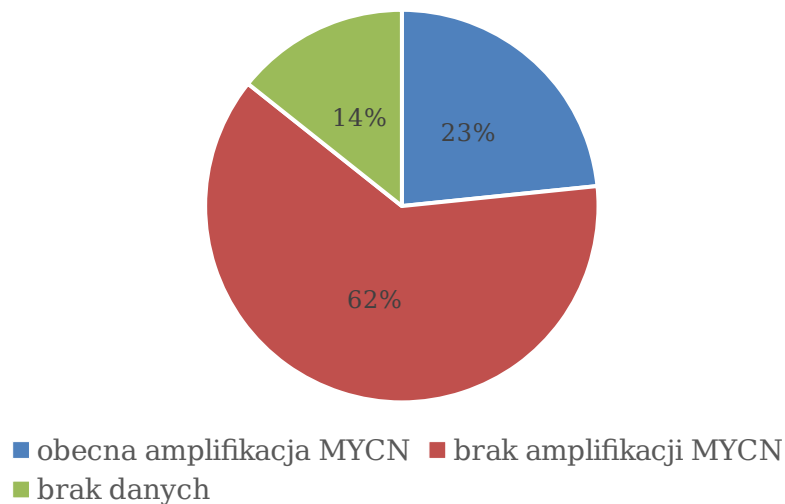
Rycina 4.6: Ryzyko zgonu w zależności od stopnia zaawansowania neuroblastoma w momencie rozpoznania.

4.5 Badania laboratoryjne

Przeanalizowano wyniki badań laboratoryjnych (LDH, ferrytyna, NSE, morfologia krwi obwodowej, CRP oraz wydalanie katecholamin w moczu), które są pomocne przy rozpoznaniu neuroblastoma. Nie wykazano istotnych różnic w poziomach analizowanych markerów w odniesieniu do przeżycia u dzieci z neuroblastoma ($p=0,443$). W badanej grupie dzieci nie wykazano także związku między wynikami poziomów dopamina i VMA w dobowej zbiórce moczu a efektami leczenia ($p=0,663$). Podobnie nie wykazano związku między poziomami ferrytyny, LDH i NSE a efektami leczenia ($p=0,921$). Stąd nie przedstawiono ich w opracowaniu uznając o nieistotnym znaczeniu dla przebiegu choroby.

4.6 Amplifikacja genu MYCN

Najistotniejszym niezależnym czynnikiem rokowniczym jest status genu MYCN w tkance guza neuroblastoma. Za obecność amplifikacji uznaje się występowanie w jądrze komórkowym powyżej 10 kopii tego genu w stosunku do genu kontrolnego. Oznaczenie stopnia amplifikacji genu MYCN wykonano u 66 pacjentów (85,71%). Amplifikację powyżej 10 kopii genu MYCN w stosunku do genu kontrolnego stwierdzono u 18/66 pacjentów (27,27%). Amplifikacji genu MYCN nie wykazano u 48/66 pacjentów (72,73%). Status genu MYCN w analizowanej grupie chorych przedstawiono na Rycinie 4.7.

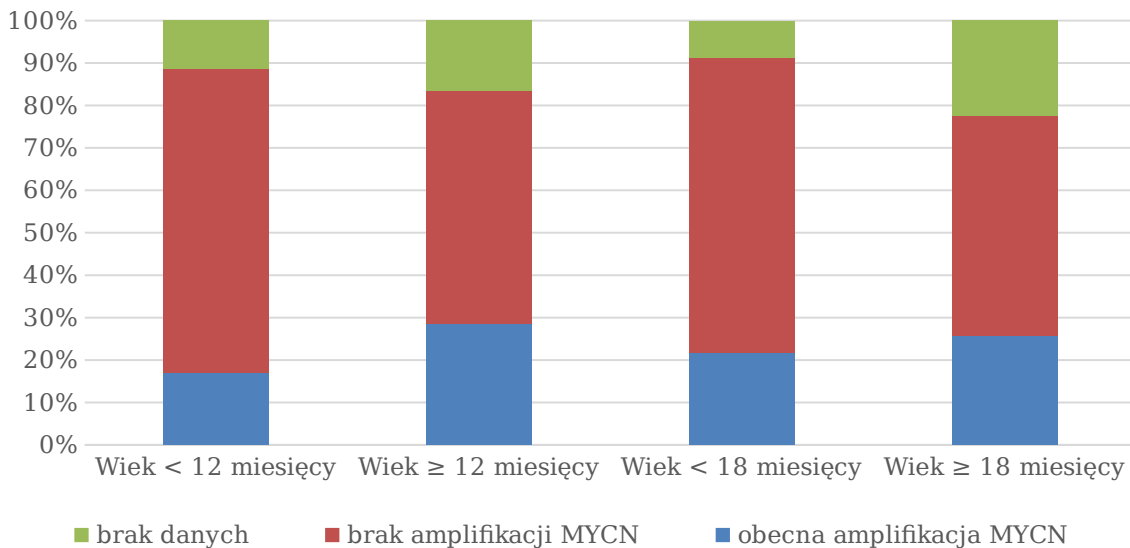


Rycina 4.7: Status genu MYCN w całej badanej grupie dzieci z neuroblastoma.

Kolejno przeprowadzono analizę występowania amplifikacji genu MYCN w poszczególnych podgrupach wiekowych dzieci w momencie rozpoznania neuroblastoma (w przedziałach wiekowych <12 i <18 miesiąca życia oraz ≥ 12 i ≥ 18 miesiąca życia) oraz w podgrupach z podziałem na stopnie zaawansowania choroby.

Analiza uwzględniająca obecność amplifikacji genu MYCN w przedziałach wiekowych przedstawiała się następująco:

- W grupie wiekowej < 12 miesiąca życia amplifikację genu MYCN wykryto u 6 dzieci (17,14%), nie stwierdzono jej u 25 pacjentów (71,42%), a u 4 pacjentów nie ma danych na temat statusu amplifikacji genu MYCN.
- W grupie pacjentów < 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania neuroblastoma obecność amplifikacji genu MYCN potwierdzono u 10 pacjentów (21,74%), jej brak u 32 pacjentów (69,57%). U 4 dzieci status genu MYCN pozostaje nieznan.
- W grupie dzieci z rozpoznaną neuroblastoma w wieku ≥ 12 miesiąca życia obecność amplifikacji genu MYCN potwierdzono u 12 pacjentów (27,57%), nie wykryto jej u 23 pacjentów (54,76%), a brak danych dotyczył 7 przypadków.
- W grupie dzieci powyżej 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania neuroblastoma obecność amplifikacji genu MYCN stwierdzono u 8 dzieci (25,81%), nie wykryto jej u 16 pacjentów (51,61%), a brak danych na temat statusu genu MYCN dotyczył 7 chorych.

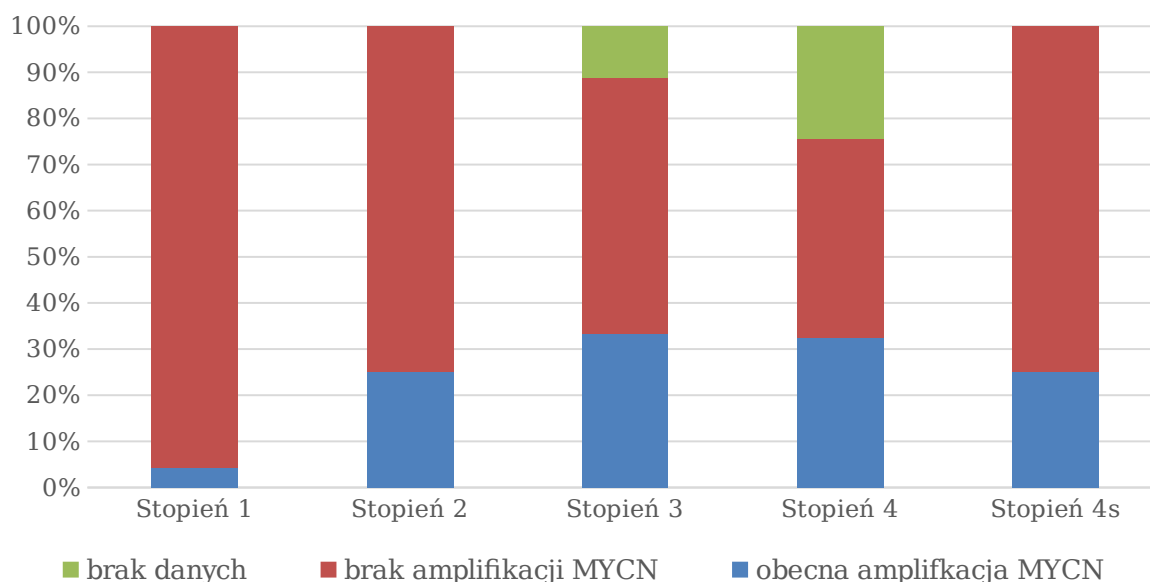


Rycina 4.8: Zależność pomiędzy wiekiem pacjenta w momencie rozpoznania neuroblastoma a obecnością amplifikacji genu MYCN w tkance guza.

Uzyskane wyniki zobrazowano graficznie na Rycinie 4.8.

Analiza obecności amplifikacji genu MYCN w grupach uwzględniających stopień zaawansowania neuroblastoma wg INSS wykazała:

- Obecność amplifikacji genu MYCN u 1 dziecka (4,54%) w 1. stopniu zaawansowania. Nie wykryto amplifikacji genu MYCN u pozostałych 21 spośród 22 dzieci z tej grupy, co stanowi aż 95,46%.
- W 2. stopniu zaawansowania obecność amplifikacji genu MYCN potwierdzono u 1 pacjenta (25%), u pozostałych 3 spośród 4 dzieci (75%) nie wykryto amplifikacji genu MYCN.
- W grupie 10 dzieci z 3. stopniem zaawansowania choroby obecność amplifikacji genu MYCN stwierdzono w 3 przypadkach (37,50%), nie wykryto jej w 5 przypadkach (62,50%), w dwóch przypadkach brak było danych na temat statusu genu MYCN.
- Najwyższy 4. stopień zaawansowania obejmował 37 pacjentów, a amplifikacja genu MYCN obecna była u 12 dzieci (32,44%), jej brak stwierdzono u 16 pacjentów (43,24%). Brak danych na temat statusu genu MYCN dotyczył 9 chorych (24,32%).
- W stopniu 4s w jednym przypadku stwierdzono obecność amplifikacji genu MYCN na całą grupę dzieci liczącej łącznie 4 pacjentów.



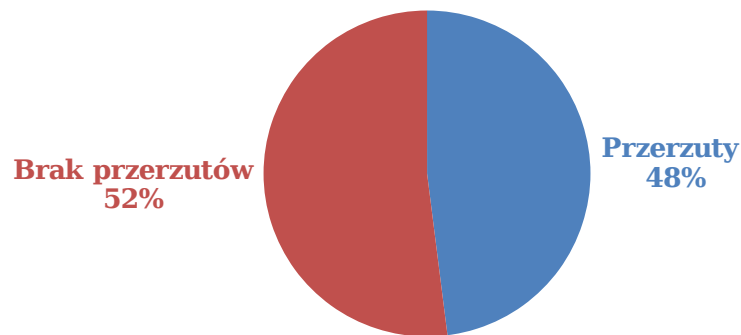
Rycina 4.9: Obecność amplifikacji genu MYCN w tkance guza w poszczególnych grupach zaawansowania neuroblastoma wg INSS.

Wyniki tej analizy zobrazowano graficznie na Rycinie 4.9.

Przeprowadzona analiza statystyczna na całej badanej grupie chorych nie wykazała istotnego wpływu występowania amplifikacji genu MYCN na przeżycie ($p=0,242$). Stwierdzono natomiast wpływ obecności amplifikacji genu MYCN na przeżycie w grupie chorych w 4. stopniu zaawansowania choroby ($p=0,012$). Amplifikacja genu MYCN jest jednym z istotnych czynników rokowniczych w przypadku dzieci z rozpoznaną neuroblastoma. Wykryta obecność amplifikacji genu MYCN klasyfikuje dane dziecko do grupy wysokiego ryzyka, co skutkuje zastosowaniem bardziej intensywnego leczenia, a z drugiej strony wiąże się ze zwiększeniem ryzyka niepowodzenia terapii. Wykazano statystycznie istotny związek między brakiem reakcji na leczenie a obecnością amplifikacji genu MYCN (Tabela 4.5).

Tabela 4.5: Efekt leczenia w zależności od obecności amplifikacji MYCN.

Badany parametr	Całkowite wyleczenie	Brak reakcji na leczenie	OR (95% CI)	p
Obecność amplifikacji MYCN tak/nie/brak danych	4/28/3	10/15/4	tak vs nie 4,667 (1,249-17,439)	0.017



Rycina 4.10: Występowanie przerzutów nowotworowych w momencie rozpoznania neuroblastoma.

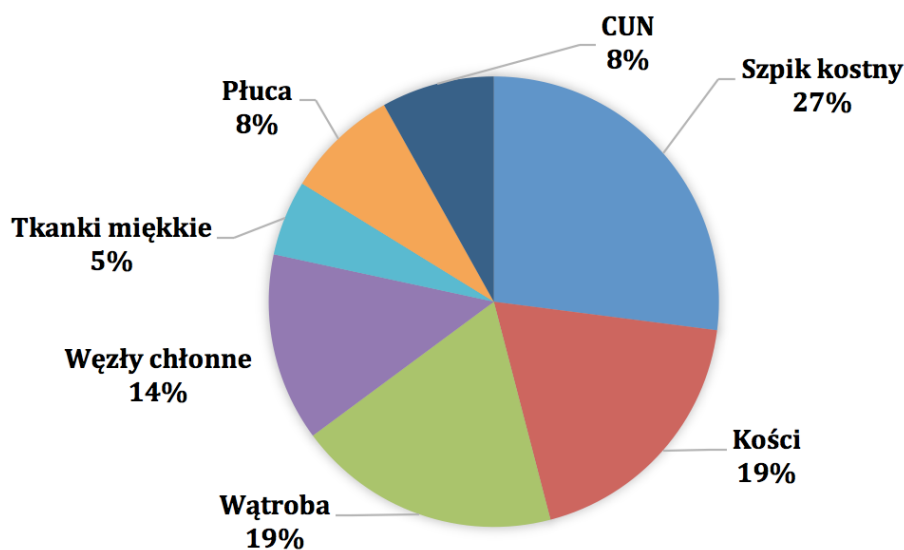
4.7 Lokalizacja guza pierwotnego i ognisk przerzutowych

Guzy pierwotne najczęściej były zlokalizowane w nadnerczu (53 dzieci; 68,83%), w tym w prawym u 27 dzieci, a w lewym u 26 pacjentów. Umieszczenie guza w śródpiersiu obserwowano u 9 (11,69%) dzieci, lokalizację pozanadnerczową w jamie brzusznej obserwowano w 11 przypadkach (14,29%) a w innym umiejscowieniu w 4 przypadkach (5,19%). Jama brzuszna była najczęstszą lokalizacją w grupie dzieci, których choroba zakończyła się zgonem (38% badanych). Rozsianą postać choroby z występowaniem odległych przerzutów w momencie rozpoznania neuroblastoma stwierdzono u 37 pacjentów (48,06% badanych) (Rycina 4.10).

Częstość występowania przerzutów w zależności od miejsca ich występowania przedstawiono na Rycinie 4.11. W zależności od miejsca przerzutowania, przy analizie tylko jednego miejsca przerzutowania w momencie rozpoznania podział wyglądał następująco:

- u 10 spośród 37 dzieci z przerzutową postacią neuroblastoma obecność komórek nowotworowych wykryto w szpiku, co stanowiło 27,03% tej grupy chorych;
- w 7 przypadkach stwierdzono obecność przerzutów w kościach, co stanowi odpowiednio 18,92% pacjentów z przerzutową neuroblastoma;
- zmiany w wątrobie wykryto u 7 pacjentów (18,92%) z przerzutową postacią neuroblastoma;

- u trzech pacjentów wykryto zmiany w płucach, co odpowiada 8,11% wszystkich dzieci zakwalifikowanych do grupy pacjentów z przerzutową postacią neuroblastoma;
- w przypadku pięciu pacjentów z przerzutową postacią neuroblastoma przerzuty zlokalizowane były w odległych węzłach chłonnych (13,51%);
- w trzech przypadkach z przerzutową postacią neuroblastoma zmiany zlokalizowane były w centralnym układzie nerwowym (8,11%);
- w trzech przypadkach z przerzutową postacią neuroblastoma zmiany zlokalizowane były w centralnym układzie nerwowym (8,11%);



Rycina 4.11: Częstość występowania przerzutów w momencie rozpoznania neuroblastoma a miejsce ich występowania.

Obecność więcej niż jednego rodzaju przerzutu tj. do więcej niż jednego narządu/tkanki przedstawiała się następująco:

- przerzuty tylko w szpiku i w kościach rozpoznano u 6/37 pacjentów,
- przerzuty w szpiku i w wątrobie stwierdzono u 3/37 pacjentów,
- obecność zmian tylko w szpiku kostnym oraz w węzłach chłonnych stwierdzono u 3/37 dzieci,
- przerzuty tylko w kościach i w wątrobie rozpoznano u 3/37 pacjentów,
- przerzuty tylko w kościach oraz w węzłach chłonnych stwierdzono u 2/37 dzieci.

Biorąc pod uwagę łączne występowanie zmian przerzutowych dane przedstawiają się na-

stepująco:

- Zmiany zlokalizowane tylko w jednym narządzie wykazano u 9 pacjentów,
- Zmiany rozsiane stwierdzono u 28 dzieci.

Kolejna tabela obrazuje zależność pomiędzy występowaniem przerzutów a stopniem zaawansowania choroby wg INSS (Tabela 1.3). Kolejna tabela obrazuje zależność pomiędzy występowaniem przerzutów a stopniem zaawansowania choroby wg INSS (Tabela 4.6).

Tabela 4.6: Zależność pomiędzy stopniem zaawansowania a obecnością zmian przerzutowych. W analizie nie uwzględniono stopnia 4s.

Grupa zaawansowania	1-3	4	OR (95% CI)	p
Przerzuty tak/nie/brak danych	3/28/5	35/0/2	tak vs nie 31,5 (7,551-131,413)	<0,001

Obecność przerzutów jest ważnym czynnikiem rokowniczym w momencie rozpoznania nowotworu. Kwalifikuje to pacjenta do 4 stopnia zaawansowania lub w przypadku dzieci do 12 miesiąca życia do stopnia 4s. Zaobserwowano statystycznie istotny związek między obecnością przerzutów a brakiem reakcji na leczenie (Tabela 4.7).

Tabela 4.7: Efekt leczenia w zależności od obecności przerzutów w momencie rozpoznania.

Badany parametr	Całkowite wyleczenie	Brak reakcji na leczenie	OR (95% CI)	p
Przerzuty tak/nie	6/29	19/10	tak vs nie 9,183 (2,862-29,465)	0,0001

Grupa wysokiego ryzyka obejmowała pacjentów, u których w momencie rozpoznania wykryte były przerzuty i/lub amplifikacja genu MYCN. Ta grupa miała istotnie wyższe ryzyko zgonu ($p=0,003$). Wyjątek stanowiła grupa pacjentów ze stopniem 4s, która obejmowała niemowlęta z przerzutami do wątroby, skóry oraz szpiku, bez cech naciekania kości. Iloraz ryzyka zgonu w grupie zaawansowania 4. z obecnymi przerzutami w chwili rozpoznania w porównaniu do pacjentów z chorobą zlokalizowaną różnił się istotnie i wynosił 0,117 (Tabela 4.8).

Kolejno przeanalizowano czas od wystąpienia niepokojących objawów, które spowodowały

Tabela 4.8: Ryzyko zgonu u pacjentów w stopniu 4. wg INSS.

Badany parametr	Zgon	Przeżycie	OR (95% CI)	p
Obecność przerzutów	10	26	0,117 (0,024-0,571)	0,003

zgłoszenie się rodziców z dzieckiem do lekarza. U 16 dzieci (20,78% badanych) guz nie dawał żadnych objawów, został wykryty w czasie badań prenatalnych lub w badaniu USG wykonanym w okresie noworodkowym. W grupie pacjentów, którzy nie przeżyli choroby średni czas od wystąpienia objawów do zgłoszenia się do lekarza wynosił 2,17 miesięcy (mediana 1 miesiąc, zakres od 0 do 6 miesięcy), natomiast w grupie pacjentów wyleczonych analogiczny interwał czasowy wynosił średnio 4,24 miesięcy (mediana 1 miesiąc, zakres od 0 do 5 miesięcy). Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy dwoma grupami ($p=0,803$; test U-Manna Whitney'a). Liczba objawów (od 1 do 3), które zaniepokoiły rodziców przed udaniem się do lekarza nie wpływała istotnie na przeżycie ($p=0,525$). Rodzicom w niektórych przypadkach trudno jest podać dokładny moment rozpoczęcia objawów choroby. Przeanalizowano dostępne dane, zmierzono średni interwał czasowy między początkiem objawów a rozpoczęciem leczenia. Nie zauważono statystycznie istotnego związku interwału czasowego między początkiem objawów a rozpoznaniem i efektem terapii (Tabela 4.9).

Tabela 4.9: Efekt leczenia w zależności od czasu wystąpienia pierwszych objawów choroby do momentu rozpoznania.

Badany parametr	Całkowite wyleczenie	Brak reakcji na leczenie	p
Czas od początku leczenia (w dniach) Średnia/mediana (zakres) 0-novorodek	61,71/32,29 (0-79)	4,29/1,25 (0-20)	0,478

Neuroblastoma charakteryzuje się dużą różnorodnością objawów chorobowych. W rozmowach rodzice najczęściej podają występowanie jednego wiodącego objawu, który spowodował, że skontaktowali się z lekarzem. Nowotwory zakwalifikowane do grupy wysokiego ryzyka, z obecnością przerzutów mogą dawać więcej niż jeden objaw. Nie wykazano istotnego wpływu liczby objawów na końcowy efekt leczenia (Tabela 4.10).

Tabela 4.10: Efekt leczenia w zależności od ilości objawów poprzedzających rozpoznanie.

Badany parametr	Całkowite wyleczenie	Brak reakcji na leczenie	P
Ilość objawów 0/1/2/3	12/16/5/2	11/13/3/2	0,091

Przeanalizowano także czas od wystąpienia niepokojących objawów do zgłoszenia się do kliniki i rozpoczęcia leczenia w zależności od stopnia zaawansowania choroby. Rodzice dzieci z neuroblastoma w 4. stopniu zaawansowania wg INSS paradoksalnie podawali częściej występowanie niepokojących objawów, co skutkowało szybszym zgłoszeniem się do lekarza i rozpoczęciem leczenia. Powyższą analizę obrazuje Tabela 4.11.

Tabela 4.11: Czas od wystąpienia niepokojących objawów do zgłoszenia się do szpitala w zależności od stopnia zaawansowania neuroblastoma wg INSS.

Grupa zaawansowania	1-3	4	OR (95% CI)	p
Ilość objawów 0/1/2/3	17/17/0/2	7/18/9/3	0 vs 1,2,3 0,247 (0,086-0,711)	0,007
Objawy początkowe bez objawów/objawy obecne	16/20	5/32	tak vs brak 5,511 (1,728-17,581)	0,002
Czas od objawu do zgłoszenia się do kliniki (w tygodniach) Średnia/mediana (zakres)	9,083/2 (0-100)	3,303/1 (0-15)	–	0,028
Czas od objawu do rozpoczęcia leczenia (w tygodniach) Średnia/mediana (zakres)	12,77/5 (0-116)	4,869/3 (0-17,5)	–	0,045

Analizując czas między rozpoznaniem a rozpoczęciem leczenia wykazano istotne różnice pomiędzy ww grupami chorych (Tabela 4.12). W pierwszej grupie (całkowicie wyleczonych) średni interwał czasowy między postawieniem diagnozy a rozpoczęciem leczenia wynosił 0,192 tygodnia. Natomiast w grupie pacjentów, których efekt leczenia określono jako brak reakcji na leczenie, średni czas pomiędzy rozpoznaniem a rozpoczęciem terapii wynosił 0,898 tygodnia. Różnica ta była istotna statystycznie.

Tabela 4.12: Efekt leczenia w zależności od interwału czasowego między rozpoznaniem a rozpoczęciem leczenia.

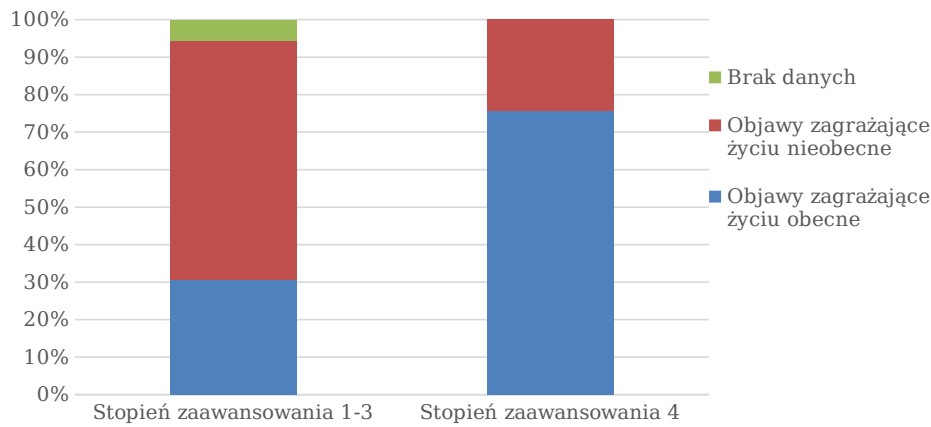
Badany parametr	Całkowite wyleczenie	Brak reakcji na leczenie	OR (95% CI)	p
Czas od rozpoznania do rozpoczęcia leczenia w tygodniach Średnia/mediana (zakres)	0,192/0 (0-3)	0,898/0 (0-10)	–	0,031

Dodatkowym czynnikiem, który przeanalizowano w odniesieniu do przeżycia dzieci był czas od pojawienia się objawów choroby do zabiegu operacyjnego usunięcia guza (zabieg pierwotny lub odroczone). W grupie pacjentów, u których wystąpił zgon średni czas od zaobserwowania objawów choroby przez rodziców do zabiegu operacyjnego usunięcia guza wynosił 33,7 tygodni (przy zakresie od 0,7 do 160,7; z medianą 16,6 tygodni). W grupie pacjentów, którzy przeżyli, średni czas od zaobserwowania objawów choroby do zabiegu wynosił 14,9 tygodni (przy zakresie od 0 do 166,7 tygodni; mediana dla tej grupy chorych była zerowa ze względu na pacjentów zdiagnozowanych prenatalnie lub zaraz po urodzeniu). Tak poprowadzona analiza pokazała istotną różnicę pomiędzy wyżej wymienionymi podgrupami (Tabela 4.13).

Tabela 4.13: Związek pomiędzy czasem od pojawienia się objawów choroby do zabiegu operacyjnego usunięcia guza w poszczególnych grupach zaawansowania neuroblastoma.

Grupa zaawansowania	1-3	4	OR (95% CI)	p
Czas od rozpoznania do zabiegu (w tygodniach) Średnia/mediana (zakres)	4,305/0 (0-77,143)	36,379 /16,429 (0-166,714)	–	<0,00001

Neuroblastoma jest nowotworem, który lokalizuje się w szczególnych przestrzeniach anatomicznych dając objawy zagrażające życiu podczas zabiegu, zdefiniowane w badaniach obrazowych (Imaging disease risk factor - IDRF) (szczegółowo omówione na stronach 23 oraz 24). Ryzyko zgonu w grupie pacjentów prezentujących objawy IDRF było istotnie



Rycina 4.12: Występowanie objawów zagrażających życiu IDRF a stopień zaawansowania choroby.

wyższe w porównaniu z grupą chorych wolnych od wspomnianych objawów (Tabela 4.14). Wykazano także istotną zależność pomiędzy stopniem zaawansowania neuroblastoma a występowaniem objawów zagrażających życiu IDRF (Tabela 4.15, Rycina 4.12).

Tabela 4.14: Ryzyko zgonu u dzieci z objawami IDRF w momencie rozpoznania neuroblastoma.

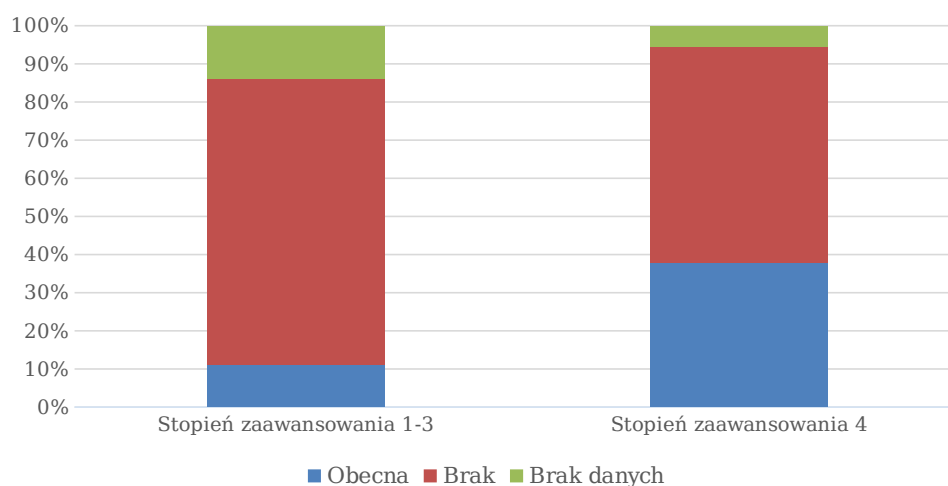
Badany parametr	Zgon	Przeżycie	OR (95% CI)	p
Obecność IDRF	11	32	0,194 (0,04-0,948)	0,029

Tabela 4.15: Występowanie objawów zagrażających życiu IDRF a stopień zaawansowania choroby.

Grupa zaawansowania	1-3	4	OR (95% CI)	p
Objawy zagrażające życiu w momencie rozpoznania tak/nie/brak danych	11/23/2	28/9/0	tak vs nie 6,505 (2,301-18,393)	0,0002

4.8 Przebieg leczenia

W badanej grupie dzieci przeanalizowano przebieg leczenia oraz końcowy jego efekt – wystąpienie progresji/wznowy lub zgonu. Progresję w przebiegu terapii lub wznowę po zakończeniu leczenia obserwowano łącznie u 19 pacjentów (24.68% badanych). Istotnie



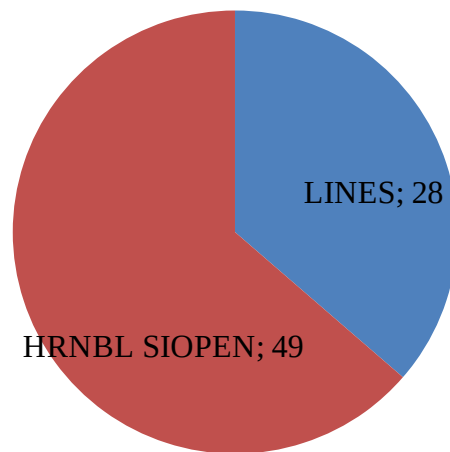
Rycina 4.13: Wystąpienie progresji lub wznowy choroby a stopień zaawansowania neuroblastoma wg INSS.

częściej wystąpiła ona w tej grupie chorych, u których choroba zakończyła się zgonem ($p=1,338 \cdot 10^{-7}$). Wykazano także istotną zależność pomiędzy stopniem zaawansowania a ryzykiem wystąpienia progresji oraz wznowy choroby. Dane te zaprezentowano odpowiednio w Tabeli 4.16 oraz na Rycinie 4.13.

Wystąpienie wznowy pomimo przeprowadzonego leczenia jest negatywnym czynnikiem w rokowaniu dalszego wyleczenia pacjenta. Stwierdzono statystycznie istotny związek pomiędzy wznową a brakiem reakcji na leczenie ($p=0,009$). Progresja pomimo włączenia kompleksowego leczenia jest negatywnym czynnikiem rokowniczym. W badanej grupie nie wykazano jednak statystycznie istotnego związku pomiędzy wystąpieniem progresji a efektem leczenia ($p=0,194$).

Tabela 4.16: Wystąpienie progresji lub wznowy choroby a stopień zaawansowania neuroblastoma wg INSS.

Grupa zaawansowania	1-3	4	OR (95% CI)	p
Progresja/Wznowa tak/nie/brak danych	4/27/5	15/20/2	tak vs nie 4,5 (1,291-15,691)	0,014



Rycina 4.14: Kwalifikacja pacjentów do grup ryzyka wg INRGSS i zastosowany program terapeutyczny.

4.9 Klasyfikacja do grup ryzyka według INRGSS a leczenie

Zgodnie z klasyfikacją według INRGSS - International Neuroblastoma Risk Group Staging System dzieci zakwalifikowano do odpowiednich grup ryzyka (Rycina 4.14). 28 pacjentów (36,36%) leczono według protokołu LINES, zaliczając do grupy niskiego ryzyka, 25 chorych (32,47%), a do średniego 3 dzieci. 49 dzieci (63,64%) zakwalifikowano do grupy wysokiego ryzyka i poddano terapii według protokołu HR-NBL SIOPEN.

Chemioterapię zastosowano łącznie u 55 pacjentów (71,43%), a u 22 dzieci (28,57%) leczenie obejmowało jedynie zabieg operacyjny usunięcia guza (dzieci ze stopniem 1.). U 20 spośród 77 analizowanych dzieci (25,97%) leczenie obejmowało dodatkowo radioterapię. Z 77 dzieci leczonych z powodu neuroblastoma progresja lub wznowa wystąpiła w 19 przypadkach (24,68% badanych). W całej analizowanej grupie zaobserwowano 11 zgonów (14,29%). Łącznie z powodu progresji oraz zgonu leczenie nie zostało ukończone u 13 pacjentów (16,88%). U 11 dzieci zakwalifikowanych początkowo do grupy niskiego lub średniego ryzyka zmieniono leczenie z protokołu LINES na HR-NBL SIOPEN. Przyczyną zmiany postępowania terapeutycznego było wystąpienie progresji lub wznowy choroby (odpowiednio u 7 i 4 dzieci).

Jak już wcześniej opisano, zgodnie z klasyfikacją według INRGSS - International Neuro-

blastoma Risk Group Staging System, pacjenci podzieleni zostali na grupy niskiego, średniego i wysokiego ryzyka wznowy choroby. Pierwsze dwie grupy pacjentów były leczone według protokołu LINES, a dzieci, u których rozpoznano nowotwór wysokiego ryzyka były leczone przy pomocy protokołu HR-NBL SIOOPEN. Zaobserwowano statystycznie istotny związek między stosowaniem protokołu LINES, co łączy się z rozpoznaniem neuroblastoma niskiego lub średniego ryzyka z całkowitym wyleczeniem (Tabela 4.17).

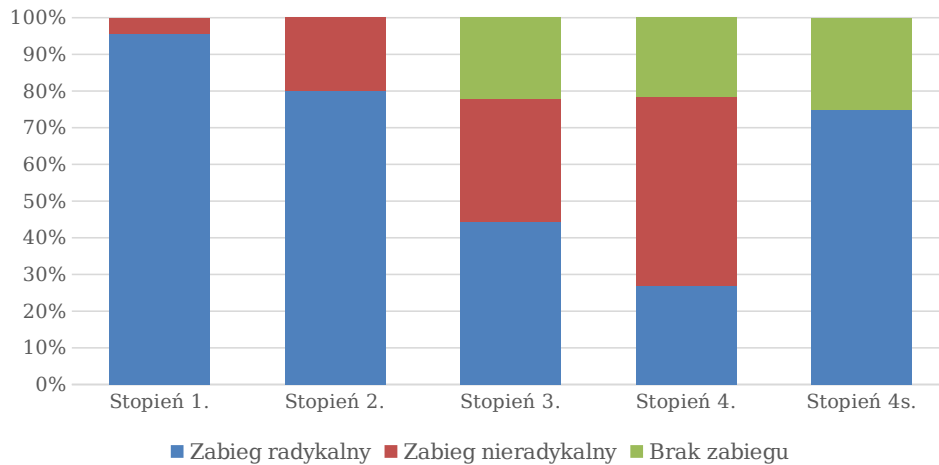
Tabela 4.17: Efekt leczenia w zależności od stosowanego protokołu terapeutycznego.

Badany parametr	Całkowite wyleczenie	Brak reakcji na leczenie	OR (95% CI)	p
LINES vs HR-NBL SIOOPEN	22/13	6/23	LINES vs HR-NBL SIOOPEN 0,154 (0,05-0,477)	0,0007

4.10 Leczenie operacyjne

Zabieg operacyjny wykonano u 63 pacjentów (81,82%), w tym u 23 dzieci zakwalifikowanych do grupy niskiego i średniego ryzyka (82,14%). W grupie dzieci z rozpoznaną neuroblastoma wysokiego ryzyka odsetek przeprowadzonych zabiegów operacyjnych wynosił 81.63%. W zależności od stopnia zaawansowania nowotworu przeprowadzenie radykalnego zabiegu może być bardzo trudne, w postaci przerzutowej na początku leczenia często niemożliwe.

W 1. stopniu zaawansowania choroby zabieg operacyjny wykonano u wszystkich pacjentów, radykalny u 21 dzieci co stanowi 95,45%, a u jednego pacjenta nieradykalny. W 2. stopniu zaawansowania u jednego dziecka wykonano zabieg nieradykalny (25%), natomiast u wszystkich pozostałych wykonano zabieg z radyklanym wycięciem zmiany (75%). W grupie pacjentów z 3. stopniem zaawansowania nie przeprowadzono zabiegu u 2 dzieci (20%). W przypadku pozostałych wykonano zabieg został przeprowadzony, w tym u 4 dzieci z radykalnym usunięciem guza (40%), u kolejnych 3 pacjentów (30%) z pozostawieniem części masy nowotworu. W grupie dzieci z 4. stopniem zaawansowania zabieg przeprowadzono u 12 dzieci, co stanowi 32,43% badanych w tym stopniu zaawansowa-



Rycina 4.15: Zakres radykalności zabiegów chirurgicznych usunięcia guza w zależności od wyjściowego stopnia zaawansowania neuroblastoma wg INSS.

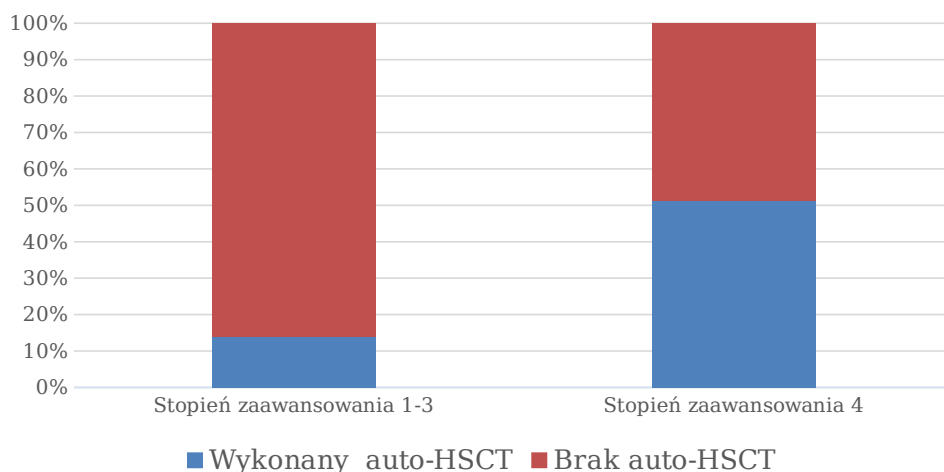
nia. Zabieg w dużej mierze nieradykalny przeprowadzono u 19 pacjentów (51,35%), nie wykonano w ogóle zabiegu usunięcia guza u 8 pacjentów (21,62%). Odsetek radykalnych zabiegów chirurgicznych w poszczególnych stopniach zaawansowania choroby przedstawiono na Rycinie 4.15.

4.11 Leczenie uzupełniające

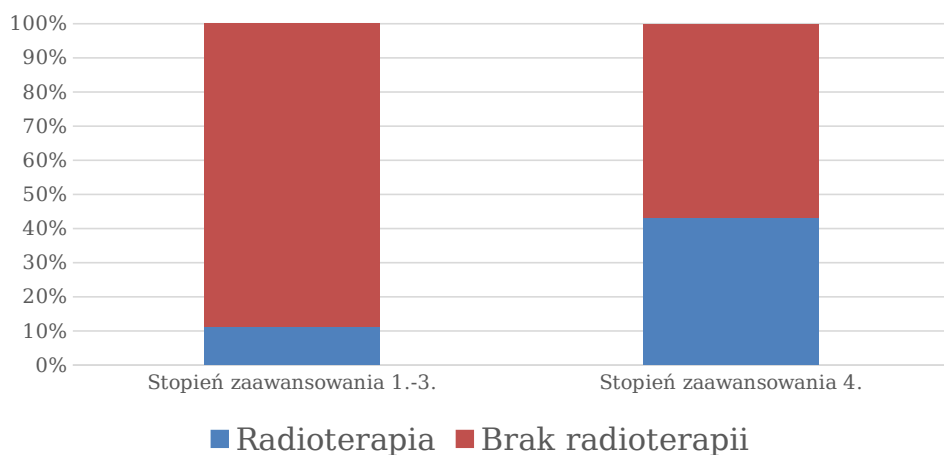
W zaawansowanych postaciach neuroblastoma leczenie intensyfikowano stosując auto-HSCT i/lub radioterapię. Zastosowanie auto-HSCT i/lub radioterapii w poszczególnych stadiach zaawansowania przedstawiają Ryciny 4.16 i 4.17. Dodatkowo w przypadku dzieci zakwalifikowanych do grupy najwyższego ryzyka terapię uzupełniano o leczenie choroby resztkowej, które obejmowało podawanie kwasu retinowego, a u części dzieci także immunoterapię. Immunoterapię zastosowano w przypadku 8 dzieci (16,33% analizowanych pacjentów HR NBL).

4.12 Realizacja zaplanowanego leczenia

Planowa realizacja protokołów leczniczych jest ważnym czynnikiem rokującym skuteczność terapii zwłaszcza w zaawansowanych postaciach neuroblastoma. W przeprowadzonym badaniu nie wykazano jednak istotnie statystycznego związku między czasową re-



Rycina 4.16: Zastosowanie auto-HSCT w poszczególnych stadiach zaawansowania neuroblastoma wg INSS.



Rycina 4.17: Zastosowanie radioterapii w poszczególnych stadiach zaawansowania neuroblastoma wg INSS.

alizacją protokołu HR-NBL SIOPEN oraz protokołu LINES a skutecznością terapii (Tabela 4.18).

Tabela 4.18: Efekt leczenia w zależności od planowej realizacji protokołów leczenia.

Badany parametr	Całkowite wyleczenie	Brak reakcji na leczenie	OR (95% CI)	p
Czasowa realizacja protokołów leczenia tak/nie/brak danych	15/19/1	15/14/0	tak vs nie 0,6 (0,112-3,214)	0,686

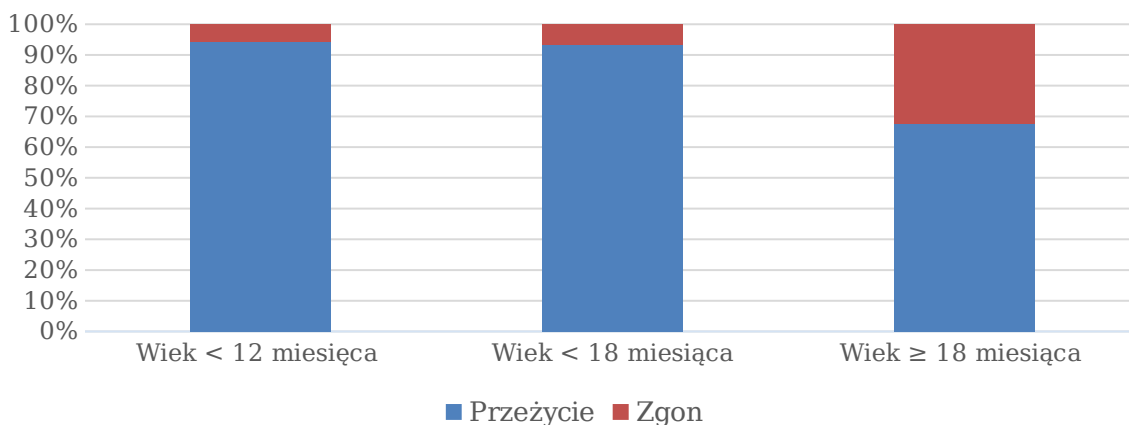
W przypadku neuroblastoma grupy wysokiego ryzyka leczenie prowadzone było według protokołu HR-NBL SIOPEN, który zakłada w określonych punktach czasowych zrealizowanie danej formy terapii - chemioterapii COJEC, mobilizacji macierzystych komórek krwiotwórczych CD34+, zabiegu operacyjnego, auto-HSCT, radioterapii i leczenia mającego na celu zlikwidowanie choroby resztkowej (Rycina 1.2). Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy grupą chorych, którzy planowo zrealizowali terapię w porównaniu do dzieci, u których nie udało się skutecznie przeprowadzić leczenia (np. przerwy w terapii, ominięcie dawek leków) (Tabela 4.19).

Tabela 4.19: Analiza planowej realizacji protokołu HR-NBL SIOPEN a przeżycie pacjentów z neuroblastoma grupy wysokiego ryzyka.

Badany parametr	Zgon	Przeżycie	OR (95% CI)	p
Czasowa realizacja tak/nie	8/5	15/13	tak vs nie 0,721 (0,189-2,759)	0,632

4.13 Wyniki leczenia

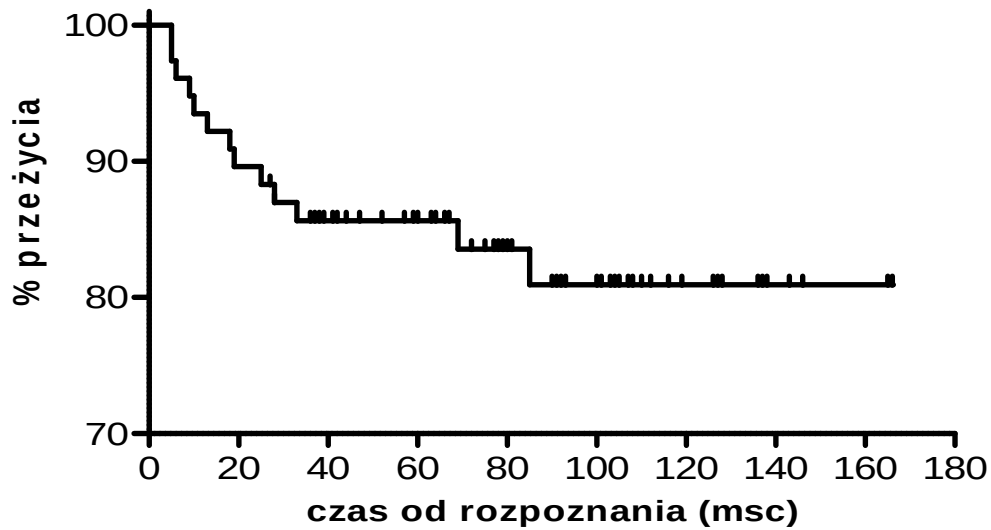
Obserwację pacjentów zakończono 30 września 2019 roku. W analizowanej grupie żyje 66 pacjentów, 11 zmarło, w tym 10 z powodu progresji lub wznowy choroby zasadniczej. Jedno dziecko zginęło w remisji choroby podstawowej wskutek powikłań okołoprzeszczepowych. Ryzyko zgonu było istotnie wyższe w grupie dzieci, których leczenie obejmowało chemioterapię, co wynikało u nich wyłącznie ze stopnia zaawansowania choroby i przynależności do wyższej grupy ryzyka ($p=0,015$). Jedynie w grupie leczonej zgodnie z protokołem HR-NBL SIOPEN obserwowano zgony – 11/49 dzieci, stąd różnica pomię-



Rycina 4.18: Procentowy udział zgonów w badanej grupie pacjentów w zależności od wieku w momencie zachorowania.

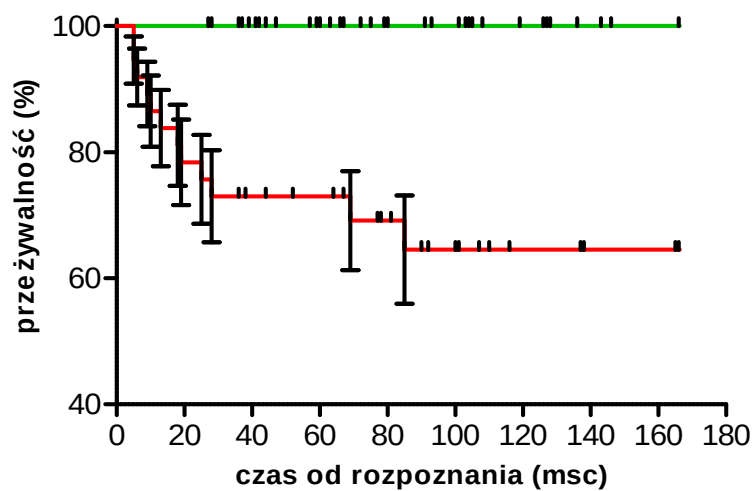
dzy obu grupami terapeutycznymi była wysoce istotna ($p=0,003$). Warunkowane to było ponownie wyłącznie wyższym stopniem zaawansowania choroby i przynależnością do wyższej grupy ryzyka w przypadku pacjentów leczonych protokołem HR-NBL SIOPEN. Nie zaobserwowano zgonu w 1., 2. i 3. stopniu zaawansowania. Zmarło 10 spośród 37 dzieci z 4. stopniem zaawansowania (27,03%) i jedno spośród 4 dzieci z grupy 4s.

W analizowanej grupie 77 dzieci przeżyło 66 (85,71%) pacjentów. Całkowitą remisję choroby uzyskało 35 spośród 66 dzieci (53,03%), a bardzo dobrą częściową odpowiedź na leczenie stwierdzono u 31 żyjących pacjentów (46,97%). Spośród 35 dzieci w wieku zachorowania < 12 miesięcy życia zmarło dwoje (5,71%), natomiast w grupie 46 pacjentów w wieku < 18 miesięcy życia nie żyje troje (6,52%). Najwięcej zgonów z powodu choroby zasadniczej obserwowano w grupie 31 dzieci w wieku ≥ 18 miesięcy życia w momencie rozpoznania neuroblastoma (8/31 – 25,81%). Powyższą analizę prezentuje Rycina 4.18, a krzywą przeżycia dla całej grupy chorych obrazuje Rycina 4.19. Kolejna Rycina 4.20 przedstawia krzywe przeżycia chorych w grupach uwzględniających stopień zaawansowania neuroblastoma wg INSS. W analizie nie uwzględniono grupy 4s.



Rycina 4.19: Krzywa przeżycia 77 pacjentów leczonych z powodu neuroblastoma.

Wpływ stopnia zaawansowania choroby na przeżywalność



Rycina 4.20: Krzywe przeżycia w poszczególnych grupach wg stopnia zaawansowania neuroblastoma. Krzywa oznaczona kolorem zielonym – stopnie 1-3, krzywa oznaczona kolorem czerwonym – stopień 4.

Rozdział 5

Dyskusja

Neuroblastoma jest najczęstszym pozaczaskowym guzem litym u dzieci, stanowiąc 10% wszystkich zachorowań i odpowiadając za 15% zgonów dzieci chorujących na nowotwory [137].

Neuroblastoma występuje sporadycznie, choć są znane przypadki rodzinnego występowania neuroblastoma [138, 139].

Ze względu na działania niepożądane oraz toksyczności stosowanego leczenia dąży się do minimalizowania terapii w takim stopniu, aby uzyskać trwałe wyleczenie przy maksymalnym oddaleniu późnych działań niepożądanych i powikłań wywołanych terapią przeciwnowotworową. W zależności od stopnia zaawansowania neuroblastoma w momencie rozpoznania i czynników biologicznych pacjenci klasyfikowani są do poszczególnych grup ryzyka, od których zależy intensywność leczenia. Aktualny podział szereguje pacjentów do grupy niskiego, pośredniego i wysokiego ryzyka. Podział ten jest kompatybilny z klasyfikacją INGR opracowaną na podstawie badania 8800 pacjentów z rozpoznaniem neuroblastoma [140, 141]. Klasyfikacja ta zastąpiła wcześniejszą – INSS, zaproponowaną w 1986 roku [18, 97]. Klasyfikacja zaakceptowana przez SIOPEN jest oparta między innymi na: wieku dziecka w momencie rozpoznania, chirurgicznych czynnikach ryzyka całkowitego wycięcia zmiany, obecności lub braku amplikacji genu MYCN. Z kolei klasyfikacja zaakceptowana przez COG opiera się na: wieku dziecka, obecności amplikacji genu MYCN, plodii DNA, histologii i pooperacyjnych czynnikach ryzyka [142, 143].

W niniejszym opracowaniu podjęto próbę scharakteryzowania obrazu klinicznego i przebiegu terapii dzieci z rozpoznaną neuroblastoma, leczonych w Klinice Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Jest to pierwsza od dwudziestu lat retrospektywna analiza tak dużej grupy pacjentów z rozpoznaniem neuroblastoma leczonych w jedynym dla województwa wielkopolskiego ośrodku, zajmującym się kompleksową diagnostyką i terapią nowotworów dziecięcych.

Przeprowadzona analiza obejmuje grupę 77 pacjentów, u których w latach 2005-2017 rozpoznano neuroblastoma. Badanych zaszeregowano zarówno do grup zaawansowania wg INSS, jak i do grup ryzyka według klasyfikacji INRGSS, co dawało wskazania do prowadzenia odpowiedniego leczenia. Zaledwie niewielki odsetek dzieci nie miał określonego statusu protoonkogenu MYCN pod kątem jego amplifikacji. Nie udało się natomiast u większości przeanalizować liczbowych i strukturalnych zmian chromosomalnych w tkance guza. Stąd ograniczeniem tego retrospektywnego opracowania jest brak możliwości zaszeregowania chorych do jednoznacznych grup ryzyka, wymaganych protokołem LINES.

Do grupy niskiego ryzyka zakwalifikowane zostały dzieci, u których nie wykryto amplifikacji MYCN, niezależnie od występujących objawów zagrażających życiu oraz:

- Pacjenci < 18 miesiąca życia, ze zlokalizowany guzem oraz czynnikami ryzyka wykluczającymi wstępny zabieg chirurgiczny (stopień wg klasyfikacji INRGSS L2),
- Niemowlęta < 12 miesiąca życia, z niezlokalizowanym guzem, bez przerzutów do płuc, skóry, kości oraz centralnego układu nerwowego (stopień wg klasyfikacji INRGSS Ms).

Do grupy pośredniego ryzyka zakwalifikowane zostały dzieci:

- W wieku >18 miesiąca życia, bez amplifikacji genu MYCN, u których badanie histologiczne wykazało zróżnicowaną neuroblastoma lub zróżnicowaną ganglioneuroblastoma nodular lub niezróżnicowaną lub słabozróżnicowaną neuroblastoma oraz niezróżnicowaną lub słabozróżnicowaną ganglioneuroblastoma nodular,
- Zakwalifikowane do grupy I wg INSS z obecną amplifikacją genu MYCN,

- W wieku <12 miesiąca życia bez amplifikacji genu MYCN oraz w stopniu M wg klasyfikacji INRGSS.

Pozostali pacjenci zostali zakwalifikowani do grupy wysokiego ryzyka. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że przydział do grupy terapeutycznej LINES od 1-10 nie mógł być jednoznaczny z uwagi na brak oznaczeń strukturalnych i liczbowych zmian chromosomalnych w tkance guza. Na podstawie przynależności do grup ryzyka pacjenci leczeni byli według dwóch protokołów dla grup tzw. nie-wysokiego ryzyka (LINES - Low and Intermediate Risk Neuroblastoma European Study) i wysokiego ryzyka HR-NBL SIOPEN.

W 1971 roku Evans i wsp. zaproponowali podział pacjentów z rozpoznaniem zwojakiem zarodkowym na pięć grup w zależności od wielkości zmiany pierwotnej oraz obecności lub braku przerzutów [98]. Wprowadzenie tego typu podziału miało za zadanie z jednej strony ujednoczenie oceny zaawansowania neuroblastoma u dzieci, z drugiej zaś służyło określeniu intensywności leczenia i prognozowania. Berthold i wsp. ocenili częstotliwość występowania neuroblastoma i wykazali, że dzieci w pierwszych trzech stopniach zaawansowania stanowią mniejszość w całej grupie pacjentów z tym nowotworem [144]. Zwrócili także uwagę na wysokie prawdopodobieństwo wystąpienia progresji nowotworu w grupie dzieci z zaawansowaną neuroblastoma, co wiązało się również z większym ryzykiem zgonu. Rozkład stopni zaawansowania neuroblastoma w momencie rozpoznania ocenianych wg INSS w badanej grupie chorych wynosił 28,57%, 5,19%, 12,99%, 48,06% i 5,19%, dla 1., 2., 3., 4. i 4s stopnia zaawansowania. Badania na grupie chorych z neuroblastoma w USA pokazały zbliżony rozkład stopni zaawansowania, z nieznacznie niższym odsetkiem dzieci w stopniu 4. i 1. oraz z równoczesnym wyższym procentowym udziałem pacjentów w 2. i 3. stopniu zaawansowania [87]. Porównując wyżej zaawansowane stadia choroby – 3. i 4. łącznie, w badanej przez mnie grupie było ich nieznacznie więcej (61% versus 58%) w odniesieniu do cytowanego badania. Przeprowadzona analiza częstości występowania neuroblastoma w poszczególnych latach prowadzonego badania z uwzględnieniem stopnia zaawansowania choroby wg INSS, pokazała nieznaczną tendencję do częstszego rozpoznawania chorych w 1. stopniu zaawansowania choroby oraz wykrytych prenatalnie. Może

to być skutkiem większej dostępności do badań USG w wieku wczesno niemowlęcym oraz pogłębionej edukacji zarówno personelu medycznego jak i rodziców.

Stopień zaawansowania choroby w momencie rozpoznania wpływa na wyniki leczenia, przeżywalność i rokowanie. Powis. i wsp. potwierdzili lepsze rokowanie dla pacjentów, u których udało się usunąć całkowicie zmianę nowotworową [145]. Podobnie Perez i wsp. w swoim opracowaniu potwierdzili, że u dzieci w I oraz II stadium według klasyfikacji Evans, u których leczenie ograniczono do zabiegu operacyjnego mają bardzo wysoki odsetek przeżyć [146]. W I stopniu zaawansowania możliwe jest całkowite wyleczenie praktycznie 100% małych pacjentów. W II stopniu wyleczalność wynosi 75%, odpowiednio w stadium III - 43% oraz w IV - 15% [134]. Według danych Amerykańskiego Towarzystwa Onkologicznego w zależności od grup ryzyka pięcioletnie przeżycie dzieci z neuroblastoma przedstawia się następująco: 95%, 90-95% i 40-50% odpowiednio dla grup niskiego, pośredniego i wysokiego ryzyka wznowy neuroblastoma [135]. W przeprowadzonym w niniejszym badaniu wykazano, że stopień zaawansowania w sposób istotny statystycznie wpływał na ryzyko zgonu dzieci. Zgon nie wystąpił w grupie dzieci zakwalifikowanych do stopni 1, 2 i 3 wg INSS, natomiast aż u 27% dzieci z 4. stopniem zaawansowania neuroblastoma choroba zakończyła się zgonem. Dodatkowo wykazano, że dzieci zakwalifikowane do pierwszych trzech stopni zaawansowania istotnie częściej zakończyły leczenie jako całkowicie wyleczone. Wykazano także istotną zależność pomiędzy stopniem zaawansowania a ryzykiem wystąpienia progresji oraz wznowy choroby. Podobne wyniki i wnioski uzyskali inni autorzy, którzy opisywali wysokie ryzyko wystąpienia wznowy i niepowodzenia leczenia w zależności od stopnia zaawansowania [147, 148]. Rossi i wsp. wykazali, że dzieci, których leczenie zakończyło się niepowodzeniem znacznie częściej miały w chwili rozpoznania obecne przerzuty oraz radiologiczne cechy objawów zagrażających życiu, które skłoniły rodziców oraz lekarzy do intensywnych działań diagnostyczno-terapeutycznych [149].

Evans i wsp. przeprowadzili analizę wpływu wieku na szanse przeżycia chorych z neuroblastoma [16]. Zwrócili uwagę, że dzieci ze zdiagnozowaną neuroblastoma w tym samym stopniu zaawansowania posiadają dużo lepsze rokowanie w przypadku młodszych dzieci.

Początkowo wiek dzieci w momencie rozpoznania młodszych lub starszych niż 12 miesięcy życia stanowił istotny czynnik rokowniczy. Goldman i wsp. wykazali znacznie wyższe szanse na przeżycie u dzieci poniżej 2 roku życia [150]. Hartmann i wsp. w swoim opracowaniu zbadali związek między czynnikami rokowniczymi a rokowaniem, w tym między innymi wiekiem pacjentów w momencie rozpoznania. W grupie obejmującej dwieście osiemnaścioro dzieci powyżej pierwszego roku życia, wykazali istotny związek między trzema czynnikami rokowniczymi, które obejmowały: wiek poniżej drugiego roku życia, brak przerzutów do szpiku kostnego w momencie rozpoznania oraz odpowiedni schemat leczenia [151]. Schmidt i wsp. wykazali w swoim opracowaniu, że dzieci z rozpoznaną neuroblastoma w stopniu 4. z obecną amplikacją MYCN w wieku od 12 do 18 miesięcy życia mają statystycznie większe szanse przeżycia w stosunku do dzieci starszych [152]. Do podobnych wniosków doszli London i wsp. na podstawie retrospektywnej analizy danych chorych z neuroblastoma [153]. Na podstawie wyników swoich badań zaproponowali przesunięcie wieku z dwunastu miesięcy na osiemnaście jako granicznego okresu mającego istotne znaczenie dla rokowania pacjentów z neuroblastoma. Cytowani autorzy wykazali także, że wiek chorych jest czynnikiem o istotnie większym znaczeniu w grupie pacjentów z nowotworami hiperploidalnymi. Analizowanych chorych w wieku powyżej 18 miesięcy podzielono na dwie grupy, jedną między 18 a 24 miesiącem życia oraz drugą powyżej 2 roku życia. W pierwszej podgrupie pacjenci z hiperploidalnym guzem mieli lepsze rokowanie. Podobnej zależności nie obserwowano jednak w grupie pacjentów powyżej 2 roku życia w momencie rozpoznania neuroblastoma. Zhao i wsp. porównali pięcioletnie przeżycie wolne od zdarzeń niepożądanych w grupie chorych z rozpoznaniem neuroblastoma w wieku do 12 miesiąca życia w stosunku do dzieci, u których chorobę zdiagnozowano pomiędzy 12-18 miesiącem życia [154]. Autorzy wykazali większy odsetek przeżyć w grupie dzieci z rozpoznaniem neuroblastoma w wieku do 12 miesiąca życia. Inne badanie przeprowadzone przez Sano i wsp. pokazało, że wiek istotnie wpływa na przeżycie dzieci, u których neuroblastoma została rozpoznana w wieku niemowlęcym, do 18 oraz 24 miesiąca życia [155]. Badania oceny wpływu wieku na przeżycie chorych w grupie dzieci starszych niż 12 miesięcy, ale młodszych niż 18 miesięcy, pokazały, że także w tej grupie małych

pacjentów rokowanie jest bardzo dobre i porównywalne do niemowląt. Stąd w aktualnych rekomendacjach terapeutycznych przynależność do określonych grup terapeutycznych dotyczy zarówno wieku 12 jak i 18 miesięcy. Wiek pacjentów w momencie rozpoznania jako jeden z najistotniejszych czynników rokowniczych warunkuje przynależność do danej grupy terapeutycznej i rokowniczej. Dzieci odpowiednio otrzymują mniej lub bardziej intensywne leczenie. Co więcej na końcowy efekt leczenia oceniany w zależności od wieku pacjentów miał wpływ także drugi czynnik prognostyczny - stopień zaawansowania choroby w momencie rozpoznania. Poprowadzona analiza występowania określonego stopnia zaawansowania choroby w poszczególnych przedziałach wieku pacjenta pokazała skrajnie nierównomierny rozkład. W badanej grupie dzieci 1. stopień zaawansowania stwierdzono u 54% niemowląt oraz u 7% w grupie dzieci powyżej 12 miesiąca życia i zaledwie u 3% dzieci w wieku powyżej 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania neuroblastoma. Z kolei, najgorzej rokujący stopień 4. stwierdzono jedynie u 20% niemowląt, ale aż u 71% w grupie dzieci powyżej 12 miesiąca życia i u 77% dzieci w wieku powyżej 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania neuroblastoma. Podobnie odrębnie kształtował się udział chorych z amplifikacją MYCN- czynnikiem złego rokowania w poszczególnych przedziałach wiekowych pacjentów. W badanej grupie dzieci amplifikację MYCN stwierdzono zaledwie u 17% niemowląt, ale już u 28% w grupie dzieci powyżej 12 miesiąca życia i u 26% dzieci w wieku powyżej 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania neuroblastoma. Stąd nie jest dziwne, że w ocenianej przez mnie grupie chorych nie stwierdzono zwiększonego ryzyka zgonu wyłącznie w zależności od wieku dzieci z neuroblastoma, nie zaobserwowano także związku między wiekiem w momencie rozpoznania a końcowym efektem leczenia.

W badaniach przeprowadzonych przez Jacyo i wsp. [23] wykazano, że neuroblastoma nieznacznie częściej występuje w populacji męskiej – około 1,2 razy częściej. Z kolei Stokes i wsp. wykazali, że pacjenci płci męskiej stanowili statystycznie istotną większość chorych z neuroblastoma [156]. Co więcej chłopcy charakteryzowali się wyższym stopniem zaawansowania w momencie rozpoznania oraz gorszym rokowaniem dotyczącym 10 letniego przeżycia. De Silva i wsp. wykazali, że płęć męska wiązała się z istotnie większym ryzykiem wystąpienia nowotworu złośliwego u dzieci [157]. W badanej przeze mnie grupie

chorych rozkład obu płci był zbliżony, nie stwierdzono związku między płcią dziecka z rozpoznaniem neuroblastoma a zgonem z powodu choroby nowotworowej.

Obecność amplifikacji protoonkogenu MYCN jest istotnym markerem złego rokowania w neuroblastoma, co opisano w wielu publikacjach [158, 159, 160, 136]. Maris i wsp. wykazali amplifikację genu MYCN w 20% analizowanych przypadków neuroblastoma [91]. Obecność amplifikacji MYCN w komórkach guza została uznana, zarówno przez klasyfikację INRG jak i COG za najsilniejszy czynnik rokowniczy. Zwielokrotnienie kopii MYCN, poza pierwszym stopniem zaawansowania w zasadzie klasyfikuje pacjenta do grupy wysokiego ryzyka [161]. Dane takie przedstawili w swoich opracowaniach Schwab i wsp. jak również Brodeur i wsp. [159, 160]. Wspomniani autorzy wykazali, że pacjenci z potwierdzoną obecnością amplifikacji genu MYCN zaledwie w 30% przeżywają do 6 lat od rozpoznania neuroblastoma [137, 162]. Bourhis i wsp. w swojej pracy, w której przebadali 59 pacjentów z neuroblastoma wykazali, że wielkość amplifikacji MYCN i ploidii w tkance guza stanowią, niezależne od wieku pacjenta i stadium zaawansowania choroby w momencie rozpoznania czynniki złego rokowania [163]. Przeprowadzona przez wspomnianych autorów analiza wieloczynnikowa jednoznacznie wskazała, że jedynie amplifikacja genu MYCN i ploidia w tkance guza wiążą się istotnie z brakiem reakcji na zastosowane leczenie. Dodatkowo cytowani autorzy wykryli, że u pacjentów, u których stwierdzono diploidalność komórek nowotworowych częściej dochodziło do amplifikacji genu MYCN, co łączyło się z gorszym rokowaniem w porównaniu do chorych z triploidalnym neuroblastoma. Kolejni autorzy analizowali wpływ amplifikacji genu MYCN i ploidii komórek neuroblastoma na długość przeżycia wolnego od choroby [164]. Wykazali, że dzieci w wieku poniżej 12 miesięcy życia w momencie rozpoznania, u których stwierdzono hiperdiploidalny charakter guza mają lepsze rokowanie i wyższe szanse na długotrwałe wyleczenie. Podobne znaczenie miały wspomniane czynniki także w grupie pacjentów w wieku między 12-24 miesiącem życia w chwili rozpoznania neuroblastoma. Nie wykazano natomiast zależności pomiędzy ploidią komórek neuroblastoma a wynikami leczenia u dzieci w wieku powyżej 24 miesięcy życia w momencie rozpoznania choroby. Lutz i wsp. wykazali, że wyższe stężenia białka N-MYC zwiększa tempo syntezy DNA oraz szybkość

prolifracji komórek, skracając czas trwania fazy G1 cyklu komórkowego [165]. Schwach i wsp. dodatkowo wykazali większą częstość występowania amplifikacji genu MYCN w nowotworach o mniejszym stopniu zróżnicowania [166]. Bernards i wsp. w swojej pracy stwierdzili korelację pomiędzy amplifikacją genu MYCN a zmniejszeniem ekspresji białka zgodności tkankowej klasy I, co z kolei wiązało się z szybszym wzrostem guza oraz większą zdolnością do przerzutowania, a dalej z mniejszymi szansami na całkowite wyzdrowienie [167]. Kolejne interesujące badanie przeprowadzili Castle i wsp., którzy w swojej pracy badali związek pomiędzy rokowaniem, obecnością amplifikacji MYCN oraz obecnością protoonkogenu BCL-2 [168]. Białko bcl-2 zapobiega naturalnej śmierci komórki oraz promuje wzrost komórek, co wiąże się z większą zdolnością do przerzutowania oraz mniejszą skutecznością terapii. We wspomnianej pracy obecność białka bcl-2 była związana z niekorzystną histologią guza oraz większą częstością występowania amplifikacji MYCN, co łączyło się z gorszym rokowaniem u badanych pacjentów. Wysunięto także wnioski, że obecność ekspresji białka bcl-2 może być ważnym czynnikiem rokowniczym w przypadku neuroblastoma. Combared i wsp. przeprowadzili badania powiązania obecności amplifikacji MYCN oraz ekspresji CD44 na powierzchni komórek nowotworowych [169]. Cytowani autorzy wykazali, że obecność tego konkretnego białka powierzchniowego wiąże się z niższym stopniem zaawansowania, młodszym wiekiem, korzystną histologią oraz mniejszą częstością występowania amplifikacji MYCN. W wyżej wymienionej pracy przeprowadzono analizę także innych czynników prognostycznych takich jak: wiek, stadium zaawansowania, histologia guza, obecność lub brak amplifikacji MYCN oraz ekspresja białka CD44. W tym konkretnym badaniu wykazano, że istotny związek z rokowaniem u chorych istnieje wyłącznie dla stopnia zaawansowania neuroblastoma oraz dla stopnia ekspresji białka powierzchniowego CD44 na komórkach guza. Brodeur i wsp. badali natomiast czy obecność amplifikacji MYCN w przebiegu leczenia jest stała u pacjentów z rozpoznaniem neuroblastomy [170]. Wspomniani autorzy wykazali, że wielkość amplifikacji MYCN jest stała od momentu rozpoznania i nie ulega zmianom na dalszych etapach terapii.

Mając na uwadze przytoczone doniesienia i wyniki badań jednoznacznie należy stwierdzić,

że obecność amplifikacji MYCN jest istotnym czynnikiem złego rokowania czynnikiem w neuroblastoma. Dlatego aktualnie standardem postępowania w przypadku rozpoznania neuroblastoma pozostaje potwierdzenie amplifikacji MYCN w tkance guza. Wynik tego badania jest niezbędny do określenia grupy ryzyka i zastosowania odpowiedniej terapii.

W badanej grupie dzieci amplifikację powyżej 10 kopii genu MYCN w stosunku do genu kontrolnego stwierdzono u 27% pacjentów. Analiza uwzględniająca obecność amplifikacji genu MYCN w zależności od wieku dzieci w momencie rozpoznania wskazała na wyższy odsetek chorych z potwierdzoną amplifikacją MYCN w grupie dzieci starszych powyżej 18 miesiąca życia. Amplifikację MYCN stwierdzono zaledwie u 17% niemowląt, ale już u 28% dzieci w wieku powyżej 12 miesiąca życia i u 26% chorych w wieku powyżej 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania neuroblastoma. Odmiennie kształtowało się występowanie amplifikacji MYCN wśród pacjentów z różnych grup ryzyka zaawansowania choroby. Obecność amplifikacji genu MYCN stwierdzono zaledwie u 4% dzieci z 1. stopniem zaawansowania choroby, ale już w znacznie wyższym odsetku w bardziej zaawansowanych stadiach choroby - u 37% dzieci w stadium 3. i u 32% dzieci w stadium 4. Przeprowadzona analiza statystyczna na całej badanej grupie chorych nie wykazała istotnego wpływu występowania amplifikacji genu MYCN na przeżycie. Stwierdzono natomiast wpływ obecności amplifikacji genu MYCN na przeżycie w grupie chorych w 4. stopniu zaawansowania choroby. Takie wyniki badań mogą być warunkowane faktem, że wykryta obecność amplifikacji genu MYCN klasyfikuje dane dziecko do grupy wysokiego ryzyka, co skutkuje zastosowaniem bardziej intensywnego leczenia, a z drugiej strony wiąże się ze zwiększeniem ryzyka niepowodzenia terapii. Wykazano statystycznie istotny związek między brakiem reakcji na leczenie a obecnością amplifikacji genu MYCN w badanej grupie dzieci. Potwierdzono także, że istnieje związek pomiędzy zakwalifikowaniem do określonej grupy terapeutycznej i ryzykiem wystąpienia zgonu - istotnie niższe ryzyko zgonu stwierdzono w grupie niskiego oraz pośredniego ryzyka w porównaniu do grupy wysokiego ryzyka.

W prowadzonym badaniu przeanalizowano czas od wystąpienia niepokojących objawów,

które spowodowały zgłoszenie się rodziców z dzieckiem do lekarza do rozpoczęcia leczenia oraz stopień realizacji zaplanowanego leczenia pod kątem terminowości prowadzonej terapii, jak i odstępstw od protokołu w prowadzonym leczeniu. Aż u 21% badanych guz nie powodował żadnych objawów i został wykryty w czasie badań prenatalnych lub w badaniu USG wykonanym w okresie noworodkowym. Średni czas od wystąpienia objawów choroby do zgłoszenia się do lekarza wynosił średnio niewiele ponad 2 miesiące w grupie dzieci, u których leczenie neuroblastoma zakończyło się niepowodzeniem i średnio około 4 miesiące w grupie pacjentów wyleczonych. Nie były to jednak różnice istotne, co może być spowodowane mimo wszystko małą liczebnością badanej grupy. Długi czas pomiędzy początkiem zachorowania a włączeniem leczenia może wpływać z niskiego statusu socjoekonomicznego pacjentów. W Stanach Zjednoczonych przeprowadzono badania porównujące wpływ emigracji z Meksyku na zachorowalność i przeżywalność pacjentów z rozpoznaną chorobą nowotworową. Pinheiro i wsp. w przeprowadzonej analizie udowodnili wyższy wskaźnik zachorowania między innymi na neuroblastoma u dzieci rdzennych mieszkańców Meksyku w porównaniu do pozostałych mieszkańców zamieszkujących w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej [171]. Bansal i wsp. analizując populację indyjską wykazali, że niski status społeczny oraz utrudniony dostęp do fachowej pomocy medycznej, jak również niska wiedza medyczna i takie czynniki dodatkowe jak niedożywienie lub utrudniony dostęp do niektórych procedur medycznych istotnie wpływają na przeżywalność dzieci z chorobą nowotworową [172].

Analizując czas między rozpoznaniem a rozpoczęciem leczenia wykazano istotne różnice pomiędzy dwoma wyżej wymienionymi grupami chorych. W grupie całkowicie wyleczonych średni interwał czasowy między postawieniem diagnozy a rozpoczęciem leczenia był krótszy i wynosił 0,192 tygodnia. Natomiast w grupie pacjentów, których efekt leczenia określono jako brak reakcji na leczenie, średni czas pomiędzy rozpoznaniem a rozpoczęciem terapii wynosił 0,898 tygodnia. Neuroblastoma jest nowotworem, który lokalizuje się w szczególnych przestrzeniach anatomicznych dając objawy zagrażające życiu podczas zabiegu, zdefiniowane w badaniach obrazowych (Imaging disease risk factor - IDRf). Ryzyko zgonu w grupie pacjentów prezentujących objawy IDRf było istotnie wyższe w

porównaniu z grupą chorych wolnych od wspomnianych objawów. Wykazano także istotną zależność pomiędzy stopniem zaawansowania neuroblastoma a występowaniem objawów zagrażających życiu IDRF. Wspomniane wyżej parametry warunkowały także długość okresu od pojawienia się objawów choroby do zabiegu operacyjnego usunięcia guza (zabieg pierwotny lub odroczone). W grupie pacjentów, u których wystąpił zgon średni czas od zaobserwowania objawów choroby przez rodziców do zabiegu operacyjnego usunięcia guza wynosił blisko średnio 34 tygodnie. Natomiast w grupie pacjentów, którzy przeżyli, średni czas od zaobserwowania objawów choroby do zabiegu był istotnie krótszy i wynosił blisko 15 tygodni. W badanej grupie dzieci przeanalizowano przebieg leczenia oraz końcowy jego efekt – wystąpienie progresji/wznowy lub zgonu. Progresję w przebiegu terapii lub wznowę po zakończeniu leczenia obserwowano łącznie u blisko 25% badanych. Istotnie częściej wystąpiła ona w tej grupie chorych, u których choroba zakończyła się zgonem. Wykazano także istotną zależność pomiędzy stopniem zaawansowania a ryzykiem wystąpienia progresji oraz wznowy choroby. W całej analizowanej grupie zmarło nieco ponad 14% dzieci. Najwięcej zgonów z powodu progresji lub wznowy choroby zasadniczej, bo aż blisko 26% obserwowano w grupie dzieci w wieku ≥ 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania neuroblastoma. W grupie dzieci młodszych niż 18 miesięcy w momencie rozpoznania neuroblastoma zmarło zaledwie niecałe 7% pacjentów.

Zgodnie z klasyfikacją według INRGSS - International Neuroblastoma Risk Group Staging System badane dzieci zakwalifikowano do odpowiednich grup ryzyka. Blisko 33% pacjentów leczono według protokołu LINES, a około 64% dzieci według protokołu HR-NBL SIOPEN. Chemioterapię zastosowano łącznie u 71% pacjentów, a tylko u 29% dzieci leczenie obejmowało jedynie zabieg operacyjny usunięcia guza. Aż u 26% dzieci leczenie obejmowało dodatkowo radioterapię. W przeprowadzonym badaniu nie wykazano istotnego statystycznego związku między czasową realizacją protokołu HR-NBL SIOPEN oraz protokołu LINES a skutecznością terapii. Nie stwierdzono także istotnej różnicy pomiędzy grupą chorych, którzy planowo zrealizowali terapię w porównaniu do dzieci, u których nie udało się skutecznie przeprowadzić leczenia (np. przerwy w terapii, ominięcie dawek leków).

Aktualnie prowadzone są badania nad nowymi formami terapii, zwłaszcza w zaawansowanych stadiach neuroblastoma. Dotyczą one zarówno leczenia operacyjnego, chemioterapeutycznego, immunologicznego, jak i terapii celowanej. Tokiwa i wsp. w swojej pracy wykazali, że nawet w przypadku nowotworów w 4. stopniu zaawansowania przeprowadzenia zabiegu operacyjnego połączonego z limfadenaktomią może być skutecznym sposobem leczenia [173]. W grupie liczącej 47 pacjentów, u których udało się przeprowadzić całkowite wycięcie zmian połączone z limfadenaktomią nie zaobserwowano pojawienia się wznowy w miejscu zabiegu operacyjnego. Obserwowano jednak więcej zgonów spowodowanych wystąpieniem progresji choroby. Peinemann i wsp. przeprowadzili badania mające na celu porównanie skuteczności leczenia pacjentów z grupy wysokiego ryzyka z rozpoznaną neuroblastoma schematem Rapid COJEC w stosunku do innych protokołów terapeutycznych [174, 175]. Wnioskowali, że skuteczność leczenia pacjentów porównywanymi schematami leczenia była zbliżona. Uwagę zwrócili że w przypadku protokołu Rapid COJEC, istnieje większe prawdopodobieństwo wystąpienia wczesnych objawów niepożądanych toksyczności leczenia takich jak nefrotoksyczność, gorączka neutropeniczna czy posocznica. Prowadzone dalsze badania mają więc na celu ograniczenie toksyczności terapii u dzieci z postacią przerzutową neuroblastoma przy równoczesnym postępie w leczeniu progresji i wznowy choroby. Badane są różnorodne przeciwciała, które mogą być potencjalnie wykorzystane w leczeniu dzieci z rozsianą postacią przerzutową neuroblastoma [176, 177, 178]. Przykładem jest badanie, w którym Mody i wsp. zaproponowali leczenie bortezomibem wraz z irinotekanem u pacjentów z rozsianym postacią neuroblastoma, oporną na standardowe metody leczenia [179]. Bortezomib, jako inhibitor proteasomu stymuluje apoptozę komórek nowotworowych [180, 181]. W przeprowadzonych badaniach uzyskano obiecujące wyniki pod względem przeżywalności pacjentów, istotnym jest także tolerowana toksyczność terapii. Terapia ta znajduje się aktualnie w ramach projektów badawczych, jednak z powodu małej liczby pacjentów objętych wyżej wymienionym leczeniem, autorzy zwracają uwagę na konieczność przeprowadzenia dalszej fazy badań. Greenwood i wsp. z kolei wykazali skuteczność stosowania dinutuximabu u dzieci z przerzutową postacią neuroblastoma [182]. Substancją czynną jest przeciwciało monoklonalne

wykazujące swoiste działanie przeciwko disialogangliozydowi 2 (GD2), który to w dużych ilościach znajduje się na powierzchni błony komórkowej komórek neuroblastoma [183]. W badaniu tym autorzy podkreślili nie tylko skuteczność leczenia, ale także stosunkowo małą toksyczność. Jednym jednak z istotnych ograniczeń jest wiek pacjenta, który musi mieć ukończone 12 miesięcy życia. Kolejni autorzy - Bocca i wsp. w swoim badaniu sprawdzili a skuteczność działania bevacizumabu w połączeniu z limfocytami T GD2-CAR [184]. Próby te zostały przeprowadzone na linii komórkowej neuroblastoma. Autorzy uzyskali wysoką skuteczność tej formy terapii i wnioskowali o konieczność prowadzenia dalszych badań z udziałem pacjentów z rozpoznaną neuroblastoma. Z kolei Faraj i wsp. porównali skuteczność leczenia przeciwciałami monoklonalnymi anty-GD2 w połączeniu z topotecanem [185]. Leki te działały synergistycznie, a podawanie razem tych substancji miało lepsze działanie antynowotworowe. Wyniki swoich badań tłumaczyli, że immunoterapia zwiększa wychwytywanie topotecanu przez komórki nowotworowe poddane immunoterapii, co z kolei powoduje większą skuteczność, nawet przy zastosowaniu mniejszych dawek topotecanu, co wiąże się z mniejszą toksycznością leczenia. Należy pamiętać, że pomimo prowadzonego intensywnego leczenia oraz prób nowych terapii, rokowanie u dzieci z przerzutową postacią neuroblastoma oporną na leczenie nadal nie jest zadowalające.

Rozdział 6

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonej analizy klinicznych, histologicznych i biologicznych czynników rokowniczych w zwojaku zarodkowym u dzieci oraz ich wpływu na przebieg i efekt leczenia wysunięto następujące wnioski:

1. Przeprowadzona analiza częstości występowania neuroblastoma w poszczególnych latach prowadzonego badania z uwzględnieniem stopnia zaawansowania choroby wg INSS, pokazała tendencję do częstszego rozpoznawania chorych w 1. stopniu zaawansowania choroby oraz przypadków wykrytych prenatalnie.
2. Stopień zaawansowania neuroblastoma w sposób istotny wpływał na ryzyko zgonu dzieci. Wykazano także istotną zależność pomiędzy stopniem zaawansowania a ryzykiem wystąpienia progresji oraz wznowy choroby - dzieci zakwalifikowane do pierwszych trzech stopni zaawansowania neuroblastoma istotnie częściej zakończyły leczenie jako całkowicie wyleczone.
3. Wykazano istotną zależność pomiędzy stopniem zaawansowania neuroblastoma a występowaniem objawów zagrażających życiu IDRF. Ryzyko zgonu w grupie pacjentów prezentujących objawy IDRF było istotnie wyższe w porównaniu z grupą chorych wolnych od wspomnianych objawów.

4. W badanej grupie dzieci amplifikację powyżej 10 kopii genu MYCN w stosunku do genu kontrolnego stwierdzono u 27% pacjentów. Wykazano istotnie wyższy odsetek chorych z potwierdzoną amplifikacją MYCN w grupie dzieci starszych powyżej 18 miesiąca życia.
5. Analizując całą badaną grupę chorych nie wykazano istotnego wpływu występowania amplifikacji genu MYCN na przeżycie. Stwierdzono natomiast istotny wpływ obecności amplifikacji genu MYCN na przeżycie w grupie chorych w 4. stopniu zaawansowania choroby.
6. W grupie całkowicie wyleczonych średni interwał czasowy między postawieniem diagnozy a rozpoczęciem leczenia był istotnie krótszy w porównaniu do grupy pacjentów, których efekt leczenia określono jako brak reakcji na leczenie.
7. W przeprowadzonym badaniu nie wykazano istotnego związku między czasową realizacją protokołu HR-NBL SIOPEN oraz protokołu LINES a skutecznością terapii. Nie stwierdzono także istotnej różnicy pomiędzy grupą chorych, którzy planowo zrealizowali terapię w porównaniu do dzieci, u których nie udało się skutecznie przeprowadzić leczenia.
8. Progresję w przebiegu terapii lub wznowę po zakończeniu leczenia obserwowano łącznie u blisko 25% badanych i istotnie częściej wystąpiła ona w tej grupie chorych, u których choroba zakończyła się zgonem.

Streszczenie

Neuroblastoma jest najczęstszym pozaczaskowym guzem litym u dzieci, stanowiąc 10% wszystkich zachorowań i odpowiadając za 15% zgonów dzieci chorujących na nowotwory. W niniejszym opracowaniu podjęto próbę scharakteryzowania obrazu klinicznego i przebiegu terapii dzieci z rozpoznaną neuroblastoma, leczonych w Klinice Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Jest to pierwsza od dwudziestu lat retrospektywna analiza tak dużej grupy pacjentów z rozpoznaniem neuroblastoma leczonych w jedynym dla województwa wielkopolskiego ośrodku, zajmującym się kompleksową diagnostyką i terapią nowotworów dziecięcych. Przeprowadzona analiza obejmuje grupę 77 pacjentów, u których w latach 2005-2017 rozpoznano neuroblastoma. Badanych zaszeregowano zarówno do grup zaawansowania wg INSS, jak i do grup ryzyka według klasyfikacji INRGSS, co dawało wskazania do prowadzenia odpowiedniego leczenia. Zaledwie niewielki odsetek dzieci nie miał określonego statusu protoonkogenu MYCN pod kątem jego amplifikacji. Na podstawie przynależności do grup ryzyka pacjenci leczeni byli według dwóch protokołów dla grup tzw. nie-wysokiego ryzyka (LINES - Low and Intermediate Risk Neuroblastoma European Study) i wysokiego ryzyka HR-NBL SIOPEN.

Rozkład stopni zaawansowania neuroblastoma w momencie rozpoznania ocenianych wg INSS w badanej grupie chorych wynosił 29%, 5%, 13%, 48% i 5%, odpowiednio dla 1., 2., 3., 4. i 4s stopnia zaawansowania. Przeprowadzona analiza częstości występowania neuroblastoma w poszczególnych latach prowadzonego badania z uwzględnieniem stopnia zaawansowania choroby wg INSS, pokazała nieznaczną tendencję do częstszego rozpoznawania chorych w 1. stopniu zaawansowania choroby oraz przypadków wykrytych pre-natalnie. W przeprowadzonym badaniu wykazano, że stopień zaawansowania w sposób istotny statystycznie wpływał na ryzyko zgonu dzieci. Zgon nie wystąpił w grupie dzieci

zakwalifikowanych do stopni 1, 2 i 3 wg INSS, natomiast aż u 27% dzieci z 4. stopniem zaawansowania neuroblastoma choroba zakończyła się zgonem. Dodatkowo wykazano, że dzieci zakwalifikowane do pierwszych trzech stopni zaawansowania istotnie częściej zakończyły leczenie jako całkowicie wyleczone. Wykazano także istotną zależność pomiędzy stopniem zaawansowania a ryzykiem wystąpienia progresji oraz wznowy choroby.

W badanej grupie dzieci 1. stopień zaawansowania stwierdzono u 54% niemowląt, u 7% w grupie dzieci powyżej 12 miesiąca życia i zaledwie u 3% dzieci w wieku powyżej 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania neuroblastoma. Z kolei, najgorzej rokujący stopień 4. stwierdzono jedynie u 20% niemowląt, ale aż u 71% w grupie dzieci powyżej 12 miesiąca życia i u 77% dzieci w wieku powyżej 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania neuroblastoma. Rozkład obu płci był zbliżony, nie stwierdzono związku między płcią dziecka z rozpoznaniem neuroblastoma a zgonem z powodu choroby nowotworowej. W badanej grupie dzieci amplifikację powyżej 10 kopii genu MYCN w stosunku do genu kontrolnego stwierdzono u 27% pacjentów. Analiza uwzględniająca obecność amplifikacji genu MYCN w zależności od wieku dzieci w momencie rozpoznania wskazała na istotnie wyższy odsetek chorych z potwierdzoną amplifikacją MYCN w grupie dzieci starszych powyżej 18 miesiąca życia. Amplifikację MYCN stwierdzono zaledwie u 17% niemowląt, ale już u 28% dzieci w wieku powyżej 12 miesiąca życia i u 26% chorych w wieku powyżej 18 miesiąca życia w momencie rozpoznania neuroblastoma. Odmienne kształtowało się występowanie amplifikacji MYCN wśród pacjentów z różnych grup ryzyka zaawansowania choroby. Obecność amplifikacji genu MYCN stwierdzono zaledwie u 4% dzieci z 1. stopniem zaawansowania choroby, ale już w znacznie wyższym odsetku w bardziej zaawansowanych stadiach choroby - u 37% dzieci w stadium 3. i u 32% dzieci w stadium 4. Przeprowadzona analiza statystyczna na całej badanej grupie chorych nie wykazała istotnego wpływu występowania amplifikacji genu MYCN na przeżycie. Stwierdzono natomiast wpływ obecności amplifikacji genu MYCN na przeżycie w grupie chorych w 4. stopniu zaawansowania choroby.

W prowadzonym badaniu przeanalizowano czas od wystąpienia niepokojących objawów, które spowodowały zgłoszenie się rodziców z dzieckiem do lekarza do rozpoczęcia leczenia oraz stopień realizacji zaplanowanego leczenia pod kątem terminowości prowadzonej terapii, jak i odstępstw od protokołu w prowadzonym leczeniu. Aż u 21% badanych guz

nie powodował żadnych objawów i został wykryty w czasie badań prenatalnych lub w badaniu USG wykonanym w okresie noworodkowym. Średni czas od wystąpienia objawów choroby do zgłoszenia się do lekarza wynosił średnio niewiele ponad 2 miesiące w grupie dzieci, u których leczenie neuroblastoma zakończyło się niepowodzeniem i średnio około 4 miesięcy w grupie pacjentów wyleczonych. Nie były to jednak różnice istotne. Analizując czas między rozpoznaniem a rozpoczęciem leczenia wykazano istotne różnice pomiędzy dwoma wyżej wymienionymi grupami chorych. W grupie całkowicie wyleczonych średni interwał czasowy między postawieniem diagnozy a rozpoczęciem leczenia był krótszy i wynosił 0,192 tygodnia. Natomiast w grupie pacjentów, których efekt leczenia określono jako brak reakcji na leczenie, średni czas pomiędzy rozpoznaniem a rozpoczęciem terapii wynosił 0,898 tygodnia.

Zgodnie z klasyfikacją według INRGSS - International Neuroblastoma Risk Group Staging System badane dzieci zakwalifikowano do odpowiednich grup ryzyka. Blisko 33% pacjentów leczono według protokołu LINES, a około 64% dzieci według protokołu HR-NBL SIOPEN. Chemioterapię zastosowano łącznie u 71% pacjentów, a tylko u 29% dzieci leczenie obejmowało jedynie zabieg operacyjny usunięcia guza. Aż u 26% dzieci leczenie obejmowało dodatkowo radioterapię. W przeprowadzonym badaniu nie wykazano istotnie statystycznego związku między czasową realizacją protokołu HR-NBL SIOPEN oraz protokołu LINES a skutecznością terapii. Nie stwierdzono także istotnej różnicy pomiędzy grupą chorych, którzy planowo zrealizowali terapię w porównaniu do dzieci, u których nie udało się skutecznie przeprowadzić leczenia (np. przerwy w terapii, ominięcie dawek leków).

Neuroblastoma jest nowotworem, który lokalizuje się w szczególnych przestrzeniach anatomicznych dając objawy zagrażające życiu podczas zabiegu, zdefiniowane w badaniach obrazowych (Imaging disease risk factor - IDRF). Ryzyko zgonu w grupie pacjentów prezentujących objawy IDRF było istotnie wyższe w porównaniu z grupą chorych wolnych od wspomnianych objawów. Wykazano także istotną zależność pomiędzy stopniem zaawansowania neuroblastoma a występowaniem objawów zagrażających życiu IDRF. Wspomniane wyżej parametry warunkowały także długość okresu od pojawienia się objawów choroby do zabiegu operacyjnego usunięcia guza (zabieg pierwotny lub odroczone). W grupie pacjentów, u których wystąpił zgon średni czas od zaobserwowania objawów choroby przez

rodziców do zabiegu operacyjnego usunięcia guza wynosił blisko średnio 34 tygodnie. Natomiast w grupie pacjentów, którzy przeżyli, średni czas od zaobserwowania objawów choroby do zabiegu był istotnie krótszy i wynosił blisko 15 tygodni. W badanej grupie dzieci przeanalizowano przebieg leczenia oraz końcowy jego efekt – wystąpienie progresji/wznowy lub zgonu. Progresję w przebiegu terapii lub wznowę po zakończeniu leczenia obserwowano łącznie u blisko 25% badanych. Istotnie częściej wystąpiła ona w tej grupie chorych, u których choroba zakończyła się zgonem. Wykazano także istotną zależność pomiędzy stopniem zaawansowania a ryzykiem wystąpienia progresji oraz wznowy choroby. W całej analizowanej grupie zmarło nieco ponad 14% dzieci. Najwięcej zgonów z powodu progresji lub wznowy choroby zasadniczej, bo aż blisko 26% obserwowano w grupie dzieci w wieku ≥ 18 miesięcy życia w momencie rozpoznania neuroblastoma. W grupie dzieci młodszych niż 18 miesięcy w momencie rozpoznania neuroblastoma zmarło zaledwie niecałe 7% pacjentów.

Przeprowadzona analiza stanowić może swoistą wskazówkę dla postępowania mającego na celu poprawę wczesnego rozpoznawania oraz leczenia neuroblastoma u dzieci.

Summary

Neuroblastoma is the most-common pediatric extracranial solid tumor; it is responsible for 10% of all cancer cases and for 15% whose disease ended with death. In this research, an attempt was made to characterise the clinical picture and the treatment course of children diagnosed with neuroblastoma and treated in the Department of Pediatric Oncology, Haematology and Transplantology of Karol Jonscher Clinical Hospital of Medical University in Poznań. This is the first, since twenty years retrospective analysis of such a large group of patients with the diagnosis of neuroblastoma treated in the only one centre in the only centre dealing with comprehensive diagnostics and the therapy of pediatric cancer in the Wielkopolska Region. The analysis covers a group of 77 patients who were diagnosed with neuroblastoma in the years 2005-2017. The subjects were classified to both advancement groups according to INSS and risk groups according to INRGSS classification, which gave indications for appropriate treatment. Only a small percentage of children did not have a specific status of MYCN protooncogene for its amplification. Patients were treated according to two protocols based on the risk groups they belonged to, which were: the group of so-called no-high risk (LINES - Low and Intermediate Risk Neuroblastoma European Study) and high-risk group HR-NBL SIOPEN.

The distribution of neuroblastoma at the time of diagnosis in the group of patients assessed according to INSS was 29%, 5%, 13%, 48% and 5% respectively for 1., 2., 3., 4., and 4s stage of disease. The analysis of occurrence of neuroblastoma in particular years of the study, taking into account the stage of the disease according to INSS, showed a slight tendency for more frequent diagnosis of patients with stage 1 of disease and prenatally discovered cases. The study showed that the stage of advancement had a statistically significant effect on the risk of child's death. The death of child did not occur in the group of children classified with stages 1, 2 and 3 according to INSS but as much as 27% of children with stage 4 of neuroblastoma died. Additionally, it has been shown

that children qualified with the first three stages of disease have significantly more often completed the treatment completely cured. A significant correlation between the stage of disease and the risk of progression and relapse was also demonstrated.

In the studied groups of children, 57% of infants with stage 1 was found, 7% in the group of children over 12 months, and 3% in the group of children over 18 months, when neuroblastoma was recognised. On the other hand, the worst prognosis with stage 4 was found only in 20% of infants, and as much as 71% in the group of children over 12 months, and 77% in the group of children over 18 months at the time of neuroblastoma diagnosis. The distribution of both sexes was similar, there was no correlation between the child's sex with the neuroblastoma diagnosis and the death due to neoplasm. In the studied group of children amplification of more than 10 copies of MYCN gene in relation to the control gene was found in 27% of patients. The analysis taking into account the presence of MYCN gene amplification depending on the age of children at the time of diagnosis showed a significantly higher percentage of patients with confirmed MYCN amplification in the group of older children over 18 months. Amplification of MYCN was found in only 17% of infants however, as much as in 28% of children over 12 months and in 26% of patients over 18 months at the time of neuroblastoma diagnosis. The occurrence of MYCN amplification among patients from different risk groups of disease progression was different. The presence of MYCN gene amplification was found in only 4% of children with stage 1 of disease but already in much higher percentage in more advanced stages of disease, in 37% of children with stage 3 and in 32% with stage 4. Statistical analysis of the whole study group did not show significant influence of MYCN gene amplification on the survival. However, the influence of MYCN gene amplification on survival in the group of patients with stage 4 was found. The research analysed the time from the occurrence of alarming symptoms that caused parents to come to the doctor's office with their child to the start of treatment and the degree of implementation of the planned treatment in terms of timeliness of treatment and the deviations from the protocol in the conducted treatment. As many as 21% of the examined tumors did not cause any symptoms and were detected during prenatal examinations or during ultrasound performed in the neonatal period. The average time from the onset of the symptoms of the disease to the doctor's appointment was just over two months in the group of children whose neuroblastoma treatment was unsuccessful and about average four months in the

group of cured patients. However, the difference was not significant. Time between the diagnosis and the start of treatment showed significant differences between the two groups of patients mentioned above. In the group of the completely cured patients the average time between the diagnosis and the treatment was shorter and it lasted 0.192 of week. On the other hand, in the group of patients whose treatment effect was defined as no response to the treatment, the average time between the diagnosis and the start of the treatment was 0.898 of week. According to the INRGSS - International Neuroblastoma Risk Group Staging System, the examined children were classified into appropriate risk groups. Nearly 33% of patients were treated according to LINES protocol and around 64% of children according to HR-NBL SIOOPEN protocol. Chemotherapy was applied in 71% of patients in total, and only 29% of children underwent surgery to remove the tumor. As many as 26% of children were additionally treated with radiotherapy. The study did not show any significant statistical correlation between the temporal implementation of the HR-NBL SIOOPEN and LINES protocols and the effectiveness of the therapy. Moreover, there was no significant difference between the group of patients who underwent the therapy in a planned way compared to the children who did not managed to successfully complete the treatment (e.g. therapy breaks, drug doses bypassed). Neuroblastoma is a neoplasm that localizes in specific anatomical spaces giving life-threatening symptoms during surgery, as defined by disease risk factor imaging (IDRF). The risk of death in a group of patients presenting IDRF symptoms was significantly higher compared to the group of patients free of the mentioned symptoms. A significant correlation between the stage of neuroblastoma and the occurrence of life-threatening IDRF symptoms was also demonstrated. The above-mentioned parameters also determined the length of the period from the appearance of the disease symptoms to the surgical removal of the tumor (primary surgery or postponed surgery). In the group of patients who died the average time from the observation of symptoms of the disease by parents to the surgical removal of the tumor was almost 34 weeks. On the other hand, in the group of patients who survived, the average time between the observation of the disease symptoms to surgery was significantly shorter and it lasted nearly 15 weeks. In the studied group of children, the course of treatment and its final effect – the occurrence of progression/relapse or death – were analysed. The progression in the course of the treatment was observed in nearly 25% of the cases. Indeed, it occurred more frequently in this group of patients

whose disease ended in death. A significant correlation between the stage and the risk of progression and relapse was also demonstrated. In the whole analysed group, slightly more than 14% of children has died. The highest number of deaths due to the progression or the relapse of the underlying disease, as nearly 26%, were observed in the group of children aged ≥ 18 months at the time of the neuroblastoma diagnosis. In the groups of children younger than 18 months at the time of neuroblastoma diagnosis, only less than 7% of patients died.

The analysis may be a specific guideline for the management of improving early diagnosis of neuroblastoma in children and their treatment.

Spis tabel

1.1	Klasyfikacja stopnia zaawansowania neuroblastoma wg Evans i wsp. [98].	21
1.2	Klasyfikacja neuroblastoma według Shimada i wsp. [103].	24
1.3	Podział na stopnie ryzyka według INRGSS - International Neuroblastoma Risk Group Staging System [109].	25
3.1	Schemat leczenia dzieci zakwalifikowanych według INGR do grupy niskiego ryzyka.	35
3.2	Schemat leczenia dzieci zakwalifikowanych według INGR do grupy średniego ryzyka.	36
3.3	Kryteria odpowiedzi na leczenie neuroblastoma wg INRC	38
3.4	Kryteria odpowiedzi na leczenie według INRC w odniesieniu do miejsc przerzutowych w szpiku i układzie kostnym	39
4.1	Charakterystyka badanej grupy 77 dzieci leczonych z powodu neuroblastoma.	41
4.2	Efekt leczenia w zależności od wieku w momencie rozpoznania.	43
4.3	Odsetek zgonów z powodu neuroblastoma w zależności od stopnia zaawansowania nowotworu wg INSS.	46
4.4	Efekt leczenia w zależności od stopnia zaawansowania choroby.	46
4.5	Efekt leczenia w zależności od obecności amplifikacji MYCN.	50
4.6	Zależność pomiędzy stopniem zaawansowania a obecnością zmian przerzutowych.	53
4.7	Efekt leczenia w zależności od obecności przerzutów w momencie rozpoznania.	53
4.8	Ryzyko zgonu u pacjentów w stopniu 4. wg INSS.	54

4.9	Efekt leczenia w zależności od czasu wystąpienia pierwszych objawów choroby do momentu rozpoznania.	54
4.10	Efekt leczenia w zależności od ilości objawów poprzedzających rozpoznanie.	55
4.11	Czas od wystąpienia niepokojących objawów do zgłoszenia się do szpitala w zależności od stopnia zaawansowania neuroblastoma wg INSS.	55
4.12	Efekt leczenia w zależności od interwału czasowego między rozpoznaniem a rozpoczęciem leczenia.	56
4.13	Związek pomiędzy czasem od pojawienia się objawów choroby do zabiegu operacyjnego usunięcia guza w poszczególnych grupach zaawansowania neuroblastoma.	56
4.14	Ryzyko zgonu u dzieci z objawami IDRF w momencie rozpoznania neuroblastoma.	57
4.15	Występowanie objawów zagrażających życiu IDRF a stopień zaawansowania choroby.	57
4.16	Wystąpienie progresji lub wznowy choroby a stopień zaawansowania neuroblastoma wg INSS.	58
4.17	Efekt leczenia w zależności od stosowanego protokołu terapeutycznego. . .	60
4.18	Efekt leczenia w zależności od planowej realizacji protokołów leczenia. . . .	63
4.19	Analiza planowej realizacji protokołu HR-NBL SIOPEN a przeżycie pacjentów z neuroblastoma grupy wysokiego ryzyka.	63

Spis rycin

1.1	Obraz mikroskopowy neuroblastoma z formowaniem typowych rozetek. . .	14
1.2	Graficzne przedstawienia klasyfikacji INSS	23
3.1	Schemat protokołu terapeutycznego neuroblastoma grupy wysokiego ryzyka	37
4.1	Rozkład płci w badanej grupie dzieci z rozpoznaniem neuroblastoma. . . .	42
4.2	Rozkład wieku u dzieci w momencie rozpoznania neuroblastoma.	42
4.3	Rozkład stopni zaawansowania nowotworu wg INSS w całej analizowanej grupie dzieci w momencie rozpoznania neuroblastoma.	43
4.4	Rozkład stopni zaawansowania nowotworu wg INSS względem wieku w momencie rozpoznania neuroblastoma.	44
4.5	Liczba zachorowań neuroblastoma w poszczególnych latach prowadzonego badania z uwzględnieniem stopnia zaawansowania choroby wg INSS.	46
4.6	Ryzyko zgonu w zależności od stopnia zaawansowania neuroblastoma w momencie rozpoznania.	47
4.7	Status genu MYCN w całej badanej grupie dzieci z neuroblastoma.	48
4.8	Zależność pomiędzy wiekiem pacjenta w momencie rozpoznania neuroblastoma a obecnością amplifikacji genu MYCN w tkance guza.	49
4.9	Obecność amplifikacji genu MYCN w tkance guza w poszczególnych grupach zaawansowania neuroblastoma wg INSS.	50
4.10	Występowanie przerzutów nowotworowych w momencie rozpoznania neuroblastoma.	51

4.11	Częstość występowania przerzutów w momencie rozpoznania neuroblastoma a miejsce ich występowania.	52
4.12	Występowanie objawów zagrażających życiu IDRF a stopień zaawansowania choroby.	57
4.13	Wystąpienie progresji lub wznowy choroby a stopień zaawansowania neuroblastoma wg INSS.	58
4.14	Kwalifikacja pacjentów do grup ryzyka wg INRGSS i zastosowany program terapeutyczny.	59
4.15	Zakres radykalności zabiegów chirurgicznych usunięcia guza w zależności od wyjściowego stopnia zaawansowania neuroblastoma wg INSS.	61
4.16	Zastosowanie auto-HSCT w poszczególnych stadiach zaawansowania neuroblastoma wg INSS.	62
4.17	Zastosowanie radioterapii w poszczególnych stadiach zaawansowania neuroblastoma wg INSS.	62
4.18	Procentowy udział zgonów w badanej grupie pacjentów w zależności od wieku w momencie zachorowania.	64
4.19	Krzywa przeżycia 77 pacjentów leczonych z powodu neuroblastoma.	65
4.20	Krzywe przeżycia w poszczególnych grupach wg stopnia zaawansowania neuroblastoma.	65

Bibliografia

- [1] Al-Tonbary, Y., Badr, M., Mansour, A., El Safy, U., Saeed, S., Hassan, T., Elashery, R., Nofal, R. i Darwish, A. *Clinico-epidemiology of neuroblastoma in north east Egypt: A 5-year multicenter study*. *Oncology Letters*, 2015, 10, 2; 1054–1062.
- [2] Miller, R. W., L Young Jr, J. i Novakovic, B. *Childhood cancer*. *Cancer*, 1995, 75, S1; 395–405.
- [3] Brodeur, G. i Maris, J. „Principles and practice of pediatric oncology”. Red. Pizzo, P. A. i Poplack, D. G. 2002. Rozd. Neuroblastoma.
- [4] Kowalczyk, J. R. *Alarmujące objawy onkologiczne u dziecka*. *Pediatrics po Dyplomie*, 2014, Wydanie specjalne Hematologia/Onkologia; 65–67.
- [5] Balcerska, A. *Epidemiologia chorób nowotworowych u dzieci*. *Forum Medycyny Rodzinnej*, 2009, 3, 1; 61–63.
- [6] Raciborska, A. Neuroblastoma. <http://www.imid.med.pl/pl/neuroblastoma>.
- [7] Weinstein, J. L., Katzenstein, H. M. i Cohn, S. L. *Advances in the diagnosis and treatment of neuroblastoma*. *The Oncologist*, 2003, 8, 3; 278–292.
- [8] Roberts, T., Chernova, O. i Cowell, J. K. *NB4S, a member of the TBC1 domain family of genes, is truncated as a result of a constitutional t (1; 10)(p22; q21) chromosome translocation in a patient with stage 4S neuroblastoma*. *Human Molecular Genetics*, 1998, 7, 7; 1169–1178.
- [9] Mahapatra, S. i Challagundla, K. B. *Neuroblastoma*. *Cancer*, 2017.

- [10] Budny, A., Litak, J. i Grochowski, C. *Neuroma embryonic sympathetic-Neuroblastoma. Review of the literature*. Journal of Education, Health and Sport, 2017, 7, 4; 504–513.
- [11] Alvarado, C. S., London, W. B., Look, A. T., Brodeur, G. M., Altmiller, D. H., Thorner, P. S., Joshi, V. V., Rowe, S. T., Nash, M. B., Smith, E. I. i in. *Natural history and biology of stage A neuroblastoma: a Pediatric Oncology Group Study*. Journal of Pediatric Hematology/Oncology, 2000, 22, 3; 197–205.
- [12] Perez, C. A., Matthay, K. K., Atkinson, J. B., Seeger, R. C., Shimada, H., Haase, G. M., Stram, D. O., Gerbing, R. B. i Lukens, J. N. *Biologic variables in the outcome of stages I and II neuroblastoma treated with surgery as primary therapy: a children's cancer group study*. Journal of Clinical Oncology, 2000, 18, 1; 18–18.
- [13] Evans, A. E., Gerson, J. i Schnauffer, L. *Spontaneous regression of neuroblastoma*. Natl Cancer Inst Monogr, 1976, 44; 49–54.
- [14] D'Angio, G., Evans, A. i Koop, C. E. *Special pattern of widespread neuroblastoma with a favourable prognosis*. The Lancet, 1971, 297, 7708; 1046–1049.
- [15] Haas, D., Ablin, A. R., Miller, C., Zoger, S. i Matthay, K. K. *Complete pathologic maturation and regression of stage IVS neuroblastoma without treatment*. Cancer, 1988, 62, 4; 818–825.
- [16] Evans, A. E. i D'Angio, G. J. *Age at diagnosis and prognosis in children with neuroblastoma*. Journal of Clinical Oncology, 2005, 23, 27; 6443.
- [17] Brodeur, G. M. *Spontaneous regression of neuroblastoma*. Cell and Tissue Research, 2018, 372, 2; 277–286.
- [18] Brodeur, G. M., Seeger, R. C., Barrett, A., Berthold, F., Castleberry, R. P., D'Angio, G., De Bernardi, B., Evans, A. E., Favrot, M. i Freeman, A. I. *International criteria for diagnosis, staging, and response to treatment in patients with neuroblastoma*. Journal of Clinical Oncology, 1988, 6, 12; 1874–1881.
- [19] Marchand, F. *Beiträge zur Kenntniss der normalen und pathologischen Anatomie der Glandula carotica under Nebennieren*. A. Hirschwald, 1891.

-
- [20] Herxheimer, G. *Ueber Tumoren des Nebennierenmarkes, insbesondere das Neuroblastoma sympathicum*. Beitr. path. Anat, 1914, 57; 112.
- [21] Cushing, H. i Wolbach, S. B. *The transformation of a malignant paravertebral sympathicoblastoma into a benign ganglioneuroma*. The American Journal of Pathology, 1927, 3, 3; 203.
- [22] European Low and Intermediate Risk Neuroblastoma a Siopen Study Version Version 4.0; 5 January 2012.
- [23] Jacyo, N. J. *Neuroblastoma*. eMedicine.
- [24] Wong, K.-Y., Hanenson, I. B. i Lampkin, B. C. *Familial neuroblastoma*. American Journal of Diseases of Children, 1971, 121, 5; 415–416.
- [25] Maris, J. M., Hogarty, M. D., Bagatell, R. i in. *Neuroblastoma*. Medline, 2007, 9579; 2106–2120.
- [26] Zimmermann, J. *Ganglioneuroblastome als erbliche Systemerkrankung des Sympathicus*. Beitr Pathol Anat, 1951, 3, 3; 355–372.
- [27] Gerson, J. M., Chatten, J. i Eisman, S. *Familial neuroblastoma: a follow-up*. The New England Journal of Medicine, 1974, 290, 26; 1487.
- [28] Pegelow, C. H., Ebbin, A. J., Powars, D. i Towner, J. W. *Familial neuroblastoma*. The Journal of Pediatrics, 1975, 87, 5; 763–765.
- [29] Hecht, F., Hecht, B. K., Northrup, J. C., Trachtenberg, N., Wood, T. S. i Cohen, J. D. *Genetics of familial neuroblastoma: Long-range studies*. Cancer Genetics and Cytogenetics, 1982, 7, 3; 227–230.
- [30] Cohen, M. M. *Beckwith-Wiedemann syndrome: historical, clinicopathological, and etiopathogenetic perspectives*. Pediatric and Developmental Pathology, 2005, 8, 3; 287–304.
- [31] Behmel, A., Plöchl, E. i Rosenkranz, W. *A new X-linked dysplasia gigantism syndrome: identical with the Simpson dysplasia syndrome?* Human Genetics, 1984, 67, 4; 409–413.

- [32] Koren, G., Demitrakoudis, D., Weksberg, R., Rieder, M., Shear, N. H., Sonely, M., Shandling, B. i Spielberg, S. P. *Neuroblastoma after prenatal exposure to phenytoin: cause and effect?* *Teratology*, 1989, 40, 2; 157–162.
- [33] Kramer, S., Ward, E., Meadows, A. T. i Malone, K. *Medical and drug risk factors associated with neuroblastoma: a case-control study.* *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 1987, 78, 5; 797–804.
- [34] Kawalec, W. i Kubicka, K. *Choroby układu krążenia.* *Pediatrics*, 2008; 270–339.
- [35] Szewczyk, K., Wieczorek, A., Młynarski, W., Janczar, S., Woszczyk, M., Gamrot, Z., Chaber, R., Wysocki, M., Pogorzała, M., Bik-Multanowski, M. i in. *Unfavorable outcome of neuroblastoma in patients with 2p gain.* *Frontiers in oncology*, 2019, 9; 1018.
- [36] Kreitz, K., Ernst, A., Schmidt, R., Simon, T., Fischer, M., Volland, R., Hero, B. i Berthold, F. *A new risk score for patients after first recurrence of stage 4 neuroblastoma aged ≥ 18 months at first diagnosis.* *Cancer medicine*, 2019, 8, 17; 7236–7243.
- [37] Li, Y. Z., Liu, Y. W., Wang, S. C., Tai, J., Zhang, J., Liu, Y. H., Li, X. D., Zhang, X. X., Ge, W. i Ni, X. *Clinical analysis of head and neck neurogenic tumor in childhood.* *Journal of Clinical Otorhinolaryngology, Head, and Neck Surgery*, 2019, 33, 10; 983.
- [38] Orr, K. E. i McHugh, K. *The new international neuroblastoma response criteria.* *Pediatric Radiology*, 2019, 49, 11; 1433–1440.
- [39] Fleck, S., Marx, S., Bobak, C., Richter, V., Nowak, S., El Rafee, E., Siebert, N., Ehlert, K., Schroeder, H. W. S. i Lode, H. N. *Neuroblastoma with intracerebral metastases and the need for neurosurgery: a single-center experience.* *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*, 2019, 1, aop; 1–6.
- [40] Rudnick, E., Khakoo, Y., Antunes, N. L., Seeger, R. C., Brodeur, G. M., Shimada, H., Gerbing, R. B., Stram, D. O. i Matthay, K. K. *Opsoclonus-myoclonus-ataxia syndrome in neuroblastoma: Clinical outcome and antineuronal antibodies—a re-*

-
- port from the children's cancer group study. *Medical and Pediatric Oncology*, 2001, 36, 6; 612–622.
- [41] Jamer, T., Pytrus, T., Zaleska-Dorobisz, U. i Iwańczak, B. *Ganglioneuroblastoma in a child with chronic abdominal pain-a case report*. *Developmental Period Medicine*, 2018, 22, 4; 364–370.
- [42] Fahy, A. S. i Pierro, A. *A systematic review of prenatally diagnosed intra-abdominal enteric duplication cysts*. *European Journal of Pediatric Surgery*, 2019, 29, 01; 068–074.
- [43] Abate, M. i Pigazzi, A. *Mesenteric fibromatosis in a patient with a history of neuroblastoma: a case report*. *Journal of Surgical Case Reports*, 2018, 2018, 9; rjy209.
- [44] Stone, A., Friedman, D. N., Kushner, B. H., Wolden, S., Modak, S., LaQuaglia, M. P., Costello, J., Wu, X., Cheung, N.-K. i Sklar, C. A. *Assessment of pulmonary outcomes, exercise capacity, and longitudinal changes in lung function in pediatric survivors of high-risk neuroblastoma*. *Pediatric Blood & Cancer*, 2019, 66, 11; e27960.
- [45] Chen, C.-H., Wu, K.-H., Chao, Y.-H., Weng, D.-F., Chang, J.-S. i Lin, C.-H. *Clinical manifestation of pediatric mediastinal tumors, a single center experience*. *Medicine*, 2019, 98, 32.
- [46] De Martino, L., Spennato, P., Vetrella, S., Capasso, M., Porfito, C., Ruotolo, S., Abate, M. E., Cinalli, G. i Quaglietta, L. *Symptomatic malignant spinal cord compression in children: a single-center experience*. *Italian Journal of Pediatrics*, 2019, 45, 1; 80.
- [47] Kazemian, M., Fallahi, M., Rouzrokh, M., Aghdam, M. K., Khalili, M. i Goudarzi-pour, K. *Neonatal neuroblastoma presented with respiratory distress, a case report*. *Respiratory Medicine Case Reports*, 2019, 28; 100874.
- [48] Braungart, S., Craigie, R. J., Farrelly, P. i Losty, P. D. *Paediatric Horner's syndrome: is investigation for underlying malignancy always required?* *Archives of Disease in Childhood*, 2019; 984–987.

- [49] Hawley, J., Veal, G. J., Errington, J., McDonald, L. G. i Tweddle, D. A. *The use of pharmacokinetically guided carboplatin chemotherapy in a pre-term infant with neuroblastoma-associated spinal cord compression*. *Pediatric Blood & Cancer*, 2019, 66, 9; e27825.
- [50] Pio, L., Blanc, T., Saint Denis, T. de, Irtan, S., Valteau-Couanet, D., Michon, J., Brisse, H., Galmiche-Rolland, L., Joyeux, L., Odent, T. i in. *Multidisciplinary surgical strategy for dumbbell neuroblastoma: A single-center experience of 32 cases*. *Pediatric Blood & Cancer*, 2019, 66; e27670.
- [51] Lu, D., Liu, J., Chen, Y., Chen, F. i Yang, H. *Primary cervical ganglioneuroblastoma: A case report*. *Medicine*, 2018, 97, 12.
- [52] Georgakis, M. K., Dessypris, N., Baka, M., Moschovi, M., Papadakis, V., Polychronopoulou, S., Kourti, M., Hatzipantelis, E., Stiakaki, E., Dana, H. i in. *Neuroblastoma among children in Southern and Eastern European cancer registries: Variations in incidence and temporal trends compared to US*. *International Journal of Cancer*, 2018, 142, 10; 1977–1985.
- [53] Bayliss Mallory, S., Bree, A. i Chern, P. *Dermatologia pediatryczna: diagnostyka i leczenie, tłum.* A. Kaszuba, M. Ziarkiewicz, red. A. Kaszuba, Lublin: Czelej, 2007; 51–56.
- [54] Wildhaber, B., Niggli, F., Bergsträsser, E., Stallmach, T. i Sacher, P. *Paraneoplastic syndromes in ganglioneuroblastoma: contrasting symptoms of constipation and diarrhoea*. *European Journal of Pediatrics*, 2003, 162, 7-8; 511–513.
- [55] Buys Roessingh, A. S. de, Lorient, M.-H., Wiesenauer, C. i Lallier, M. *Lambert-Eaton myasthenic syndrome revealing an abdominal neuroblastoma*. *Journal of Pediatric Surgery*, 2009, 44, 8; e5–e7.
- [56] Jardine, D. L., Krediet, C. P. T. i Robinson, B. A. *Baroreflex failure secondary to paraneoplastic encephalomyelitis in a 17 year old woman with neuroblastoma*. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 2004, 75, 11; 1650–1651.
- [57] Taşdemiroglu, E., Patchell, R. A. i Kryscio, R. *Neurological complications of childhood malignancies*. *Acta Neurochirurgica*, 1999, 141, 12; 1313–1321.

-
- [58] Newton, E. R., Louis, F., Dalton, M. E. i Feingold, M. *Fetal neuroblastoma and catecholamine-induced maternal hypertension*. *Obstetrics and Gynecology*, 1985, 65, 3 Suppl; 49S–52S.
- [59] Kaplan, S. J., Holbrook, C. T., McDaniel, H. G., Buntain, W. L. i Crist, W. M. *Vasoactive intestinal peptide secreting tumors of childhood*. *American Journal of Diseases of Children*, 1980, 134, 1; 21–24.
- [60] Boisvilliers, M. de, Perrin, F., Hebache, S., Balandre, A.-C., Bensalma, S., Garnier, A., Vaudry, D., Fournier, A., Festy, F., Muller, J.-M. i in. *VIP and PACAP analogs regulate therapeutic targets in high-risk neuroblastoma cells*. *Peptides*, 2016, 78; 30–41.
- [61] Maugeri, G., D’Amico, A. G., Rasà, D. M., Saccone, S., Federico, C., Cavallaro, S. i D’Agata, V. *PACAP and VIP regulate hypoxia-inducible factors in neuroblastoma cells exposed to hypoxia*. *Neuropeptides*, 2018, 69; 84–91.
- [62] Kabalan, P., Gifford, A. J. i Ziegler, D. S. *Unresectable VIP-secreting neuroblastoma: Efficacy of debulking and steroids for symptom control*. *Pediatric Blood & Cancer*, 2018, 65, 12; e27358.
- [63] Zhang, Y.-T., Feng, L.-H., Zhang, Z., Zhong, X.-D. i Chang, J. *Different kinds of paraneoplastic syndromes in childhood Neuroblastoma*. *Iranian Journal of Pediatrics*, 2015, 25, 1.
- [64] Blaes, F. i Dharmalingam, B. *Childhood opsoclonus-myoclonus syndrome: diagnosis and treatment*. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 2016, 16, 6; 641–648.
- [65] Brunklaus, A., Pohl, K., Zuberi, S. M. i Sousa, C. de. *Outcome and prognostic features in opsoclonus-myoclonus syndrome from infancy to adult life*. *Pediatrics*, 2011, 128, 2; e388–e394.
- [66] Sirvent, N., Bérard, E., Chastagner, P., Feillet, F. i Wagner, K. *Hypothalamic dysfunction associated with neuroblastoma: evidence for a new Paraneoplastic syndrome?* *Medical and Pediatric Oncology*, 2003, 40, 5; 326–328.
- [67] Blaes, F. i Dharmalingam, B. *Childhood opsoclonus-myoclonus syndrome: diagnosis and treatment*. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 2016, 16, 6; 641–648.

- [68] Hero, B., Clement, N., Øra, I., Pierron, G., Lapouble, E., Theissen, J., Pasqualini, C., Valteau-Couanet, D., Plantaz, D., Michon, J. i in. *Genomic profiles of neuroblastoma associated with opsoclonus myoclonus syndrome*. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 2018, 40, 2; 93–98.
- [69] Pranzatelli, M. R. i McGee, N. R. *Neuroimmunology of OMS and ANNA-1/anti-Hu paraneoplastic syndromes in a child with neuroblastoma*. *Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation*, 2018, 5, 2; e433.
- [70] Swift, C. C., Eklund, M. J., Kraveka, J. M. i Alazraki, A. L. *Updates in diagnosis, management, and treatment of neuroblastoma*. *Radiographics*, 2018, 38, 2; 566–580.
- [71] Dumba, M., Jawad, N. i McHugh, K. *Neuroblastoma and nephroblastoma: a radiological review*. *Cancer Imaging*, 2015, 15, 1; 5.
- [72] Piccardo, A., Lopci, E., Conte, M., Foppiani, L., Garaventa, A., Cabria, M., Villavecchia, G., Fanti, S. i Cistaro, A. *PET/CT imaging in neuroblastoma*. *Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2013, 57, 1; 29–39.
- [73] Sharp, S. E., Trout, A. T., Weiss, B. D. i Gelfand, M. J. *MIBG in neuroblastoma diagnostic imaging and therapy*. *Radiographics*, 2016, 36, 1; 258–278.
- [74] Zhao, L., Mu, J., Du, P., Wang, H., Mao, Y., Xu, Y., Xin, X. i Zang, F. *Ultrasound-guided core needle biopsy in the diagnosis of neuroblastic tumors in children: a retrospective study on 83 cases*. *Pediatric Surgery International*, 2017, 33, 3; 347–353.
- [75] Park, Y., Lee, H. J., Jung, Y. J., Lee, J. H., Kwon, J. Y. i Kim, Y.-H. *Prenatally detected thoracic neuroblastoma*. *Obstetrics & Gynecology Science*, 2018, 61, 2; 278–281.
- [76] Piccardo, A., Morana, G., Puntoni, M., Campora, S., Sorrentino, S., Zucchetta, P., Ugolini, M., Conte, M., Cistaro, A., Ferrarazzo, G. i in. *Diagnosis, Treatment Response, and Prognosis: The Role of 18F-DOPA PET/CT in Children Affected by Neuroblastoma in Comparison with 123I-mIBG Scan: The First Prospective Study*. *Journal of Nuclear Medicine*, 2020, 61, 3; 367–374.

-
- [77] Bar-Sever, Z., Biassoni, L., Shulkin, B., Kong, G., Hofman, M. S., Lopci, E., Manea, I., Kozirowski, J., Castellani, R., Boubaker, A. i in. *Guidelines on nuclear medicine imaging in neuroblastoma*. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2018, 45, 11; 2009–2024.
- [78] Liu, C.-J., Lu, M.-Y., Liu, Y.-L., Ko, C.-L., Ko, K.-Y., Tzen, K.-Y., Chang, H.-H., Yang, Y.-L., Jou, S.-T., Hsu, W.-M. i in. *Risk stratification of pediatric patients with neuroblastoma using volumetric parameters of 18F-FDG and 18F-DOPA PET/CT*. Clinical Nuclear Medicine, 2017, 42, 3; e142–e148.
- [79] Verly, I. R. N., Kuilenburg, A. B. P. van, Abeling, N. G. G. M., Goorden, S. M. I., Fiocco, M., Vaz, F. M., Noesel, M. M. van, Zwaan, C. M., Kaspers, G. L., Merks, J. H. M. i in. *Catecholamines profiles at diagnosis: Increased diagnostic sensitivity and correlation with biological and clinical features in neuroblastoma patients*. European Journal of Cancer, 2017, 72; 235–243.
- [80] Shabat, A. B., Ash, S., Luckman, J., Toledano, H. i Goldenberg-Cohen, N. *Likelihood of Diagnosing Neuroblastoma in Isolated Horner Syndrome*. Journal of Neuro-Ophthalmology, 2019, 39, 3; 308–312.
- [81] Croitoru, D. P., Sinsky, A. B. i Laberge, J.-M. *Cystic neuroblastoma*. Journal of Pediatric Surgery, 1992, 27, 10; 1320–1321.
- [82] Shen, Y., Li, H., Lu, J., Luo, X., Guan, Q. i Cheng, L. *Analytical validation and clinical application of urinary vanillylmandelic acid and homovanillic acid by LC-MS/MS for diagnosis of neuroblastoma*. Biomedical Chromatography, 2019, 33, 6; e4484.
- [83] Kaczówka, P., Wieczorek, A., Czogała, M., Książek, T., Szewczyk, K. i Balwierz, W. *The role of N-Myc gene amplification in neuroblastoma childhood tumour–single-centre experience*. Contemporary Oncology, 2018, 22, 4; 223.
- [84] Zielińska, E., Misiak, G., Wegner, O. i Bodalski, J. *Trudności diagnostyczne i terapeutyczne zaawansowanych stadiów hepatoblastoma – doświadczenia własne i przegląd piśmiennictwa*. Przegląd Pediatryczny, 2004, 34; 254–257.

- [85] Chhieng, D. C. *Fine needle aspiration biopsy of liver – an update*. World Journal of Surgical Oncology, 2004, 2, 1; 5.
- [86] Wieteska, M., Wawrzyńska, L., Wiatr, E., Chabowski, M., Bestry, I., Kurzyńska, M. i Torbicki, A. *Wegener's granulomatosis presenting with ischaemic stroke*. Advances in Respiratory Medicine, 2008, 76, 3; 180–185.
- [87] Procentowy udział każdego ze stopni zaawansowania został zaczerpnięty z Północno-Amerykańskich danych 1253 przypadków NB. INGR.
- [88] Li, X. i Meng, Y. *A prognostic nomogram for neuroblastoma in children*. PeerJ, 2019, 7; e7316.
- [89] Horner, M. J., Ries, L. A. G., Krapcho, M., Neyman, N., Aminou, R., Howlader, N., Altekruse, S. F., Feuer, E. J., Huang, L., Mariotto, A. i in. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2006, National Cancer Institute. Bethesda, MD. 2009.
- [90] Nakagawara, A., Li, Y., Izumi, H., Muramori, K., Inada, H. i Nishi, M. *Neuroblastoma*. Japanese Journal of Clinical Oncology, 2018, 48, 3; 214–241.
- [91] Maris, J. M., Hogarty, M. D., Bagatell, R. i in. *Neuroblastoma*. Lancet, 2007, 369; 2106–2120.
- [92] Bansal, D., Totadri, S., Chinnaswamy, G., Agarwala, S., Vora, T., Arora, B., Prasad, M., Kapoor, G., Radhakrishnan, V., Laskar, S. i in. *Management of neuroblastoma: ICMR consensus document*. The Indian Journal of Pediatrics, 2017, 84, 6; 446–455.
- [93] Berthold, F., Spix, C., Kaatsch, P. i Lampert, F. *Incidence, survival, and treatment of localized and metastatic neuroblastoma in Germany 1979–2015*. Pediatric Drugs, 2017, 19, 6; 577–593.
- [94] Campbell, K., Shyr, D., Bagatell, R., Fischer, M., Nakagawara, A., Nieto, A. C., Brodeur, G. M., Matthay, K. K., London, W. B. i DuBois, S. G. *Comprehensive evaluation of context dependence of the prognostic impact of MYCN amplification in neuroblastoma: A report from the International Neuroblastoma Risk Group (INRG) project*. Pediatric Blood & Cancer, 2019, 66, 8; e27819.

-
- [95] Aygun, N. *Biological and genetic features of neuroblastoma and their clinical importance*. Current Pediatric Reviews, 2018, 14, 2; 73–90.
- [96] Jo, J. H., Do Ahn, S., Koh, M., Kim, J. H., Lee, S.-w., Song, S. Y., Yoon, S. M., Kim, Y. S., Kim, S. S., Park, J.-h. i in. *Patterns of recurrence after radiation therapy for high-risk neuroblastoma*. Radiation Oncology Journal, 2019, 37, 3; 224.
- [97] Brodeur, G. M., Pritchard, J., Berthold, F., Carlsen, N. L., Castel, V., Castellberry, R. P., De Bernardi, B., Evans, A. E., Favrot, M. i Hedborg, F. *Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment*. Journal of Clinical Oncology, 1993, 11, 8; 1466–1477.
- [98] Evans, A. E., D'Angio, G. J. i Randolph, J. *A proposed staging for children with neuroblastoma*. Children's cancer study group A. Cancer, 1971, 27, 2; 374–378.
- [99] High Risk Neuroblastoma Study 1.7 SIOP-EUROPE (Siopen).
- [100] Atikankul, T., Atikankul, Y., Santisukwongchote, S., Marrano, P., Shuangshoti, S. i Thorner, P. S. *MIB-1 Index as a surrogate for Mitosis-Karyorrhexis Index in neuroblastoma*. The American Journal of Surgical Pathology, 2015, 39, 8; 1054–1060.
- [101] Teshiba, R., Kawano, S., Wang, L. L., He, L., Naranjo, A., London, W. B., Seeger, R. C., Gastier-Foster, J. M., Look, A. T., Hogarty, M. D. i in. *Age-dependent prognostic effect by Mitosis-Karyorrhexis Index in neuroblastoma: a report from the Children's Oncology Group*. Pediatric and Developmental Pathology, 2014, 17, 6; 441–449.
- [102] Gestblom, C., Hoehner, J. C. i Pählman, S. *Proliferation and apoptosis in neuroblastoma: subdividing the mitosis-karyorrhexis index*. European Journal of Cancer, 1995, 31, 4; 458–463.
- [103] Shimada, H., Chatten, J., Newton, W. A., Sachs, N., Hamoudi, A. B., Chiba, T., Marsden, H. B. i Misugi, K. *Histopathologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtypes of ganglioneuroblastoma and an age-linked classification of neuroblastomas*. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 1984, 73, 2; 405–416.

- [104] Campbell, K., Gastier-Foster, J. M., Mann, M., Naranjo, A. H., Van Ryn, C., Bagatell, R., Matthay, K. K., London, W. B., Irwin, M. S., Shimada, H. i in. *Association of MYCN copy number with clinical features, tumor biology, and outcomes in neuroblastoma: A report from the Children's Oncology Group*. *Cancer*, 2017, 123, 21; 4224–4235.
- [105] Yagyu, S., Iehara, T., Tanaka, S., Gotoh, T., Misawa-Furihata, A., Sugimoto, T., London, W. B., Hogarty, M. D., Teramukai, S., Nakagawara, A. i in. *Serum-based quantification of MYCN gene amplification in young patients with neuroblastoma: potential utility as a surrogate biomarker for neuroblastoma*. *PLOS ONE*, 2016, 11, 8.
- [106] Bansal, D., Totadri, S., Chinnaswamy, G., Agarwala, S., Vora, T., Arora, B., Prasad, M., Kapoor, G., Radhakrishnan, V., Laskar, S. i in. *Management of neuroblastoma: ICMR consensus document*. *The Indian Journal of Pediatrics*, 2017, 84, 6; 446–455.
- [107] Wang, L. L., Teshiba, R., Ikegaki, N., Tang, X. X., Naranjo, A., London, W. B., Hogarty, M. D., Gastier-Foster, J. M., Look, A. T., Park, J. R. i in. *Augmented expression of MYC and/or MYCN protein defines highly aggressive MYC-driven neuroblastoma: a Children's Oncology Group study*. *British Journal of Cancer*, 2015, 113, 1; 57–63.
- [108] Costa, R. A. i Seuánez, H. N. *Investigation of major genetic alterations in neuroblastoma*. *Molecular Biology Reports*, 2018, 45, 3; 287–295.
- [109] Shimada, H., Ambros, I. M., Dehner, L. P., Hata, J.-i., Joshi, V. V., Roald, B., Stram, D. O., Gerbing, R. B., Lukens, J. N., Matthay, K. K. i in. *The international neuroblastoma pathology classification (the Shimada system)*. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 1999, 86, 2; 364–372.
- [110] Naranjo, A., Irwin, M. S., Hogarty, M. D., Cohn, S. L., Park, J. R. i London, W. B. *Statistical framework in support of a revised Children's Oncology Group neuroblastoma risk classification system*. *JCO Clinical Cancer Informatics*, 2018, 2; 1–15.

-
- [111] Kohler, J., Rubie, H., Castel, V., Beiske, K., Holmes, K., Gambini, C., Casale, F., Munzer, C., Erminio, G., Parodi, S. i in. *Treatment of children over the age of one year with unresectable localised neuroblastoma without MYCN amplification: results of the SIOPEX study*. European Journal of Cancer, 2013, 49, 17; 3671–3679.
- [112] Monclair, T., Mosseri, V., Cecchetto, G., De Bernardi, B., Michon, J. i Holmes, K. *Influence of image-defined risk factors on the outcome of patients with localised neuroblastoma. A report from the LNESG1 study of the European International Society of Paediatric Oncology Neuroblastoma Group*. Pediatric Blood & Cancer, 2015, 62, 9; 1536–1542.
- [113] Lowas, S. R. i Lettieri, C. K. *A Case of Anti-NMDA Receptor Encephalitis During Dinutuximab Therapy for Neuroblastoma*. Journal of pediatric hematology/oncology, 2019.
- [114] Bagatell, R. i Cohn, S. L. *Genetic discoveries and treatment advances in neuroblastoma*. Current Opinion in Pediatrics, 2016, 28, 1; 19.
- [115] Whittle, S. B., Smith, V., Doherty, E., Zhao, S., McCarty, S. i Zage, P. E. *Overview and recent advances in the treatment of neuroblastoma*. Expert Review of Anticancer Therapy, 2017, 17, 4; 369–386.
- [116] Maris, J. M. *Recent advances in neuroblastoma*. New England Journal of Medicine, 2010, 362, 23; 2202–2211.
- [117] Matthay, K. K., Villablanca, J. G., Seeger, R. C., Stram, D. O., Harris, R. E., Ramsay, N. K., Swift, P., Shimada, H., Black, C. T., Brodeur, G. M. i in. *Treatment of high-risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid*. New England Journal of Medicine, 1999, 341, 16; 1165–1173.
- [118] Xiong, Y. L., Yuan, G. B., Zheng, C. X., Rao, M. H., Fan, Y. Z. i Yan, Q. B. *The chemotherapy response evaluated by (99m) Tc-HTOC, (18) F-FDG PET-CT and whole body bone scan for a case of children with neuroblastoma*. Chinese Journal of Oncology, 2019, 41, 10; 781–782.

- [119] B Interiano, R. i M Davidoff, A. *Current management of neonatal neuroblastoma*. Current Pediatric Reviews, 2015, 11, 3; 179–187.
- [120] Moss, T. J., Reynolds, C. P., Sather, H. N., Romansky, S. G., Hammond, G. D. i Seeger, R. C. *Prognostic value of immunocytologic detection of bone marrow metastases in neuroblastoma*. New England Journal of Medicine, 1991, 324, 4; 219–226.
- [121] Chen, A. M., Trout, A. T. i Towbin, A. J. *A review of neuroblastoma image-defined risk factors on magnetic resonance imaging*. Pediatric Radiology, 2018, 48, 9; 1337–1347.
- [122] Potrykowska, A., Strzelecki, Z., Szymborski, J. i Witkowski, J. *Zachorowalność i umieralność na nowotwory a sytuacja demograficzna Polski*. Rządowa Rada Ludnościowa, 2014.
- [123] Kaneko, M., Tsuchida, Y., Uchino, J.-i., Takeda, T., Iwafuchi, M., Ohnuma, N., Mugishima, H., Yokoyama, J., Nishihira, H., Nakada, K. i in. *Treatment results of advanced neuroblastoma with the first Japanese study group protocol*. Study Group of Japan for Treatment of Advanced Neuroblastoma. Journal of Pediatric Hematology/Oncology, 1999, 21, 3; 190–197.
- [124] Sawaguchi, S., Kaneko, M., Uchino, J.-I., Takeda, T., Iwafuchi, M., Matsuyama, S., Takahashi, H., Nakajo, T., Hoshi, Y., Okabe, I. i in. *Treatment of advanced neuroblastoma with emphasis on intensive induction chemotherapy. A report from the Study Group of Japan*. Cancer, 1990, 66, 9; 1879–1887.
- [125] Sanghavi, D. *Screen Alert: How an Ounce of RX Prevention can Cause a Pound of Hurt*. Slate Magazine E-Pub, 2006.
- [126] Schilling, F. H., Spix, C., Berthold, F., Erttmann, R., Sander, J., Treuner, J. i Michaelis, J. *Children may not benefit from neuroblastoma screening at 1 year of age. Updated results of the population based controlled trial in Germany*. Cancer Letters, 2003, 197, 1-2; 19–28.

-
- [127] Texas Children's Cancer Center – Clinical Trials – PEPI: Protracted Etoposide In a Phase II Upfront Window for Induction Therapy for High Risk Neuroblastoma. http://www.txccc.org/content.cfm?content_id=1475.
- [128] Arora, R. S., Challinor, J. M., Howard, S. C. i Israels, T. *Improving care for children with cancer in low-and middle-income countries—a SIOP PODC initiative*. Pediatric Blood & Cancer, 2016, 63, 3; 387–391.
- [129] Sano, H., Fujimoto, M., Okuno, K., Ueyama, J.-i., Takano, S., Hayashi, K. i Kan-zaki, S. *Epstein–Barr virus-associated posttransplant lymphoproliferative disorder involving the central nervous system following autologous hematopoietic stem cell transplantation for neuroblastoma*. SpringerPlus, 2014, 3, 1; 582.
- [130] Khandelwal, P., Millard, H. R., Thiel, E., Abdel-Azim, H., Abraham, A. A., Auletta, J. J., Boulad, F., Brown, V. I., Camitta, B. M., Chan, K. W. i in. *Hematopoietic stem cell transplantation activity in pediatric cancer between 2008 and 2014 in the United States: a Center for International Blood and Marrow Transplant Research report*. Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2017, 23, 8; 1342–1349.
- [131] Wachowiak, J., Chybicka, A., Kowalczyk, J. R., Wysocki, M., Goździk, J., Górczyńska, E., Kałwak, K., Styczyński, J., Drabko, K. i Pieczonka, A. *Development and current use of in hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents in Poland: Report of the Polish pediatric study group for hematopoietic stem cell transplantation of the Polish society for pediatric oncology and hematology*. Transfusion and Apheresis Science, 2018, 57, 3; 316–322.
- [132] George, R. E., Li, S., Medeiros-Nancarrow, C., Neuberg, D., Marcus, K., Shamberger, R. C., Pulsipher, M., Grupp, S. A. i Diller, L. *High-Risk Neuroblastoma Treated With Tandem Autologous Peripheral-Blood Stem Cell–Supported Transplantation: Long-Term Survival Update*. Journal of clinical oncology, 2006, 24, 18; 2891–2896.
- [133] Lacayo, N. i Coppes, M. *Pediatrics Neuroblastoma*. Pediatrics Neuroblastoma, 2016.
- [134] Neuroblastoma: The Facts. The Rhode Island Cancer Council.

- [135] Detailed Guide: Neuroblastoma. 5-year survival rates for neuroblastoma based on risk groups. American Cancer Society 2016.
- [136] Park, J. R., Bagatell, R., Cohn, S. L., Pearson, A. D., Villablanca, J. G., Berthold, F., Burchill, S., Boubaker, A., McHugh, K., Nuchtern, J. G. i in. *Revisions to the international neuroblastoma response criteria: a consensus statement from the National Cancer Institute clinical trials planning meeting*. Journal of Clinical Oncology, 2017, 35, 22; 2580.
- [137] Weber, A., Imisch, P., Bergmann, E. i Christiansen, H. *Coamplification of DDX1 correlates with an improved survival probability in children with MYCN-amplified human neuroblastoma*. Journal of Clinical Oncology, 2004, 22, 13; 2681–2690.
- [138] Wagget, J., Aherne, G. i Aherne, W. *Familia neuroblastoma: report of two sib pairs*. Archives of disease in childhood, 1973, 48, 1; 63.
- [139] Kollerud, R. D. R., Blaasaas, K. G., Claussen, B., Nafstad, P., Cannon-Albright, L. A., Ruud, E., Wesenberg, F. i Næss, Ø. *Family history of cancer and the risk of childhood solid tumours: a Norwegian nationwide register-based cohort study*. British Journal of Cancer, 2018, 118, 6; 905–912.
- [140] Cohn, S. L., Pearson, A. D. J. i B, L. W. *International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: An INRG Task Force report*. Journal of Clinical Oncology, 2008.
- [141] Monclair, T., Brodeur, G. M., Ambros, P. F., Brisse, H. J., Cecchetto, G., Holmes, K., Kaneko, M., London, W. B., Matthay, K. K., Nuchtern, J. G. i in. *The international neuroblastoma risk group (INRG) staging system: an INRG task force report*. Journal of Clinical Oncology, 2009, 27, 2; 298.
- [142] Cecchetto, G., Mosseri, V., De Bernardi, B., Helardot, P., Monclair, T., Costa, E., Horcher, E., Neuenschwander, S., Toma, P., Rizzo, A. i in. *Surgical risk factors in primary surgery for localized neuroblastoma: the LNESG1 study of the European International Society of Pediatric Oncology Neuroblastoma Group*. Journal of Clinical Oncology, 2005, 23, 33; 8483–8489.
- [143] Kushner, B. H. i Cohn, S. L. *Intermediate-risk neuroblastoma*. 2005.

-
- [144] Berthold, F., Hero, B., Breu, H., Christiansen, H., Erttmann, R., Gnekow, A., Herrmann, F., Klingebiel, T., Lampert, F., Weinel, P. i in. *The recurrence patterns of stages I, II and III neuroblastoma: experience with 77 relapsing patients*. *Annals of Oncology*, 1996, 7, 2; 183–187.
- [145] Powis, M. R., Imeson, J. D. i Holmes, S. J. K. *The effect of complete excision on stage III neuroblastoma: a report of the European Neuroblastoma Study Group*. *Journal of Pediatric Surgery*, 1996, 31, 4; 516–519.
- [146] Perez, C. A., Matthay, K. K., Atkinson, J. B., Seeger, R. C., Shimada, H., Haase, G. M., Stram, D. O., Gerbing, R. B. i Lukens, J. N. *Biologic variables in the outcome of stages I and II neuroblastoma treated with surgery as primary therapy: a children's cancer group study*. *Journal of Clinical Oncology*, 2000, 18, 1; 18–18.
- [147] Rajbhandari, P., Lopez, G., Capdevila, C., Salvatori, B., Yu, J., Rodriguez-Barrueco, R., Martinez, D., Yarmarkovich, M., Weichert-Leahey, N., Abraham, B. J. i in. *Cross-cohort analysis identifies a TEAD4–MYCN positive feedback loop as the core regulatory element of high-risk neuroblastoma*. *Cancer Discovery*, 2018, 8, 5; 582–599.
- [148] Brunen, D., Vries, R. C. de, Lieftink, C., Beijersbergen, R. L. i Bernards, R. *PIM kinases are a potential prognostic biomarker and therapeutic target in neuroblastoma*. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2018, 17, 4; 849–857.
- [149] Russo, R., Cimmino, F., Pezone, L., Manna, F., Avitabile, M., Langella, C., Koster, J., Casale, F., Raia, M., Viola, G. i in. *Kinome expression profiling of human neuroblastoma tumors identifies potential drug targets for ultra high-risk patients*. *Carcinogenesis*, 2017, 38, 10; 1011–1020.
- [150] Coldman, A. J., Fryer, C. J. H., Elwood, J. M. i Sonley, M. J. *Neuroblastoma: influence of age at diagnosis, stage, tumor site, and sex on prognosis*. *Cancer*, 1980, 46, 8; 1896–1901.
- [151] Hartmann, O., Valteau-Couanet, D., Vassal, G., Lapierre, V., Brugieres, L., Delgado, R., Couanet, D., Lumbroso, J. i Benhamou, E. *Prognostic factors in metastatic neuroblastoma in patients over 1 year of age treated with high-dose che-*

- motherapy and stem cell transplantation: a multivariate analysis in 218 patients treated in a single institution.* Bone Marrow Transplantation, 1999, 23, 8; 789–795.
- [152] Schmidt, M. L., Lal, A., Seeger, R. C., Maris, J. M., Shimada, H., O’Leary, M., Gerbing, R. B. i Matthay, K. K. *Favorable prognosis for patients 12 to 18 months of age with stage 4 nonamplified MYCN neuroblastoma: a Children’s Cancer Group Study.* Journal of Clinical Oncology, 2005, 23, 27; 6474–6480.
- [153] London, W. B., Castleberry, R. P., Matthay, K. K., Look, A. T., Seeger, R. C., Shimada, H., Thorner, P., Brodeur, G., Maris, J. M., Reynolds, C. P. i in. *Evidence for an age cutoff greater than 365 days for neuroblastoma risk group stratification in the Children’s Oncology Group.* Journal of Clinical Oncology, 2005, 23, 27; 6459–6465.
- [154] Zhao, J., Pan, C., Xu, M., Zhou, M., Gao, Y., Hu, W. T. i Tang, J. Y. *Long-term follow-up of neuroblastoma in children less than 18 months of age.* Chinese Journal of Pediatrics, 2017, 55, 10; 754–759.
- [155] Sano, H., Bonadio, J., Gerbing, R. B., London, W. B., Matthay, K. K., Lukens, J. N. i Shimada, H. *International neuroblastoma pathology classification adds independent prognostic information beyond the prognostic contribution of age.* European Journal of Cancer, 2006, 42, 8; 1113–1119.
- [156] Stokes, W. A., Camilon, P. R., Banglawala, S. M., Nguyen, S. A., Harvey, R., Vandergrift III, W. A. i Schlosser, R. J. *Is sex an independent prognostic factor in esthesioneuroblastoma?* American Journal of Rhinology & Allergy, 2015, 29, 5; 369–372.
- [157] Paula Silva, N. de, Souza Reis, R. de, Cunha, R. G., Oliveira, J. F. P., Oliveira Santos, M. de, Pombo-de-Oliveira, M. S. i Camargo, B. de. *Maternal and birth characteristics and childhood embryonal solid tumors: a population-based report from Brazil.* PloS ONE, 2016, 11, 10.
- [158] Seeger, R. C., Brodeur, G. M., Sather, H., Dalton, A., Siegel, S. E., Wong, K. Y. i Hammond, D. *Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapid*

-
- progression of neuroblastomas*. New England Journal of Medicine, 1985, 313, 18; 1111–1116.
- [159] Schwab, M., Alitalo, K., Klempnauer, K.-H., Varmus, H. E., Bishop, J. M., Gilbert, F., Brodeur, G., Goldstein, M. i Trent, J. *Amplified DNA with limited homology to myc cellular oncogene is shared by human neuroblastoma cell lines and a neuroblastoma tumour*. Nature, 1983, 305, 5931; 245–248.
- [160] Brodeur, G. M., Seeger, R. C., Schwab, M., Varmus, H. E. i Bishop, J. M. *Amplification of N-myc in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage*. Science, 1984, 224, 4653; 1121–1124.
- [161] Costa, R. A. i Seuáñez, H. N. *Investigation of major genetic alterations in neuroblastoma*. Molecular Biology Reports, 2018, 45, 3; 287–295.
- [162] Januszkiewicz-Lewandowska, D., Grześkowiak-Melanowska, J. i Nowak, J. *Wykorystanie amplikogenu N-myc w rokowaniu i podejmowaniu leczenia zaawansowanych postaci neuroblastoma u dzieci*. Reports of Practical Oncology & Radiotherapy, 1998, 3; 60.
- [163] Bourhis, J., DeVathaire, F., Wilson, G. D., Hartmann, O., Terrier-Lacombe, M. J., Boccon-Gibod, L., McNally, N., Lemerle, J., Riou, G. i Benard, J. *Combined analysis of DNA ploidy index and N-myc genomic content in neuroblastoma*. Cancer Research, 1991, 51, 1; 33–36.
- [164] Look, A. T., Hayes, F. A., Shuster, J. J., Douglass, E. C., Castleberry, R. P., Bowman, L., Smith, E. i Brodeur, G. *Clinical relevance of tumor cell ploidy and N-myc gene amplification in childhood neuroblastoma: a Pediatric Oncology Group study*. Journal of Clinical Oncology, 1991, 9, 4; 581–591.
- [165] Lutz, W., Stöhr, M., Schürmann, J., Wenzel, A., Löhr, A. i Schwab, M. *Conditional expression of N-myc in human neuroblastoma cells increases expression of alpha-prothymosin and ornithine decarboxylase and accelerates progression into S-phase early after mitogenic stimulation of quiescent cells*. Oncogene, 1996, 13, 4; 803–812.
- [166] Schwab, M., Ellison, J., Busch, M., Rosenau, W., Varmus, H. E. i Bishop, J. M. *Enhanced expression of the human gene N-myc consequent to amplification of DNA*

- may contribute to malignant progression of neuroblastoma.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 1984, 81, 15; 4940–4944.
- [167] Bernardis, R., Dessain, S. K. i Weinberg, R. A. *N-myc amplification causes down-modulation of MHC class I antigen expression in neuroblastoma.* Cell, 1986, 47, 5; 667–674.
- [168] Castle, V. P., Heidelberger, K. P., Bromberg, J., Ou, X., Dole, M. i Nuñez, G. *Expression of the apoptosis-suppressing protein bcl-2, in neuroblastoma is associated with unfavorable histology and N-myc amplification.* The American Journal of Pathology, 1993, 143, 6; 1543.
- [169] Combaret, V., Gross, N., Lasset, C., Frappaz, D., Peruisseau, G., Philip, T., Beck, D. i Favrot, M. C. *Clinical relevance of CD44 cell-surface expression and N-myc gene amplification in a multicentric analysis of 121 pediatric neuroblastomas.* Journal of Clinical Oncology, 1996, 14, 1; 25–34.
- [170] Brodeur, G. M., Hayes, F. A., Green, A. A., Casper, J. T., Wasson, J., Wallach, S. i Seeger, R. C. *Consistent N-myc copy number in simultaneous or consecutive neuroblastoma samples from sixty individual patients.* Cancer Research, 1987, 47, 16; 4248–4253.
- [171] Pinheiro, P. S., Callahan, K. E., Stern, M. C. i Vries, E. de. *Migration from Mexico to the United States: a high-speed cancer transition.* International Journal of Cancer, 2018, 142, 3; 477–488.
- [172] Bansal, D., Totadri, S., Chinnaswamy, G., Agarwala, S., Vora, T., Arora, B., Prasad, M., Kapoor, G., Radhakrishnan, V., Laskar, S. i in. *Management of neuroblastoma: ICMR consensus document.* The Indian Journal of Pediatrics, 2017, 84, 6; 446–455.
- [173] Tokiwa, K., Fumino, S., Ono, S. i Iwai, N. *Results of retroperitoneal lymphadenectomy in the treatment of abdominal neuroblastoma.* Archives of Surgery, 2003, 138, 7; 711–715.

-
- [174] Peinemann, F., Dalen, E. C. van i Berthold, F. *Rapid COJEC Induction Therapy for High-risk Neuroblastoma Patients—Cochrane Review*. Klinische Pädiatrie, 2016, 228, 03; 130–134.
- [175] Peinemann, F., Kahangire, D. A., Dalen, E. C. van i Berthold, F. *Rapid COJEC versus standard induction therapies for high-risk neuroblastoma*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2015, 5.
- [176] Schultz, L. M., Majzner, R., Davis, K. L. i Mackall, C. *New developments in immunotherapy for pediatric solid tumors*. Current Opinion in Pediatrics, 2018, 30, 1; 30–39.
- [177] Sait, S. i Modak, S. *Anti-GD2 immunotherapy for neuroblastoma*. Expert review of anticancer therapy, 2017, 17, 10; 889–904.
- [178] Bosse, K. R., Raman, P., Zhu, Z., Lane, M., Martinez, D., Heitzeneder, S., Rathi, K. S., Kendsersky, N. M., Randall, M., Donovan, L. i in. *Identification of GPC2 as an oncoprotein and candidate immunotherapeutic target in high-risk neuroblastoma*. Cancer Cccell, 2017, 32, 3; 295–309.
- [179] Mody, R., Zhao, L., Yanik, G. A. i Opipari, V. *Phase I study of bortezomib in combination with irinotecan in patients with relapsed/refractory high-risk neuroblastoma*. Pediatric Blood & Cancer, 2017, 64, 11; e26563.
- [180] Velcade ulotka informacyjna.
- [181] Podlewski, J. K. i Chwalibogowska-Podlowska, A. *Leki współczesnej terapii*. Wyd. XVII. Warszawa: Split Trading Sp. zoo, 2005.
- [182] Greenwood, K. i Foster, J. *Dinutuximab for the treatment of pediatric patients with neuroblastoma*. Drugs of Today, 2017, 53, 9; 469–476.
- [183] Dinutuksymab. Charakterystyka produktu leczniczego.
- [184] Bocca, P., Di Carlo, E., Caruana, I., Emionite, L., Cilli, M., De Angelis, B., Quintarelli, C., Pezzolo, A., Raffaghello, L., Morandi, F. i in. *Bevacizumab-mediated tumor vasculature remodelling improves tumor infiltration and antitumor efficacy of GD2-CAR T cells in a human neuroblastoma preclinical model*. Oncoimmunology, 2018, 7, 1; e1378843.

- [185] Faraj, S., Bahri, M., Fougeray, S., El Roz, A., Fleurence, J., Véziers, J., Leclair, M. D., Thébaud, E., Paris, F. i Birklé, S. *Neuroblastoma chemotherapy can be augmented by immunotargeting O-acetyl-GD2 tumor-associated ganglioside*. *Onco-immunology*, 2018, 7, 1; e1373232.



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 72/16

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentystry (Dz. U. 2011, Nr 277, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. 2008 Nr 45, poz. 271 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 15 listopada 2010 r. w sprawie wzorów wniosków przedkładanych w związku z badaniem klinicznym, wysokości opłat za złożenie wniosków oraz sprawozdania końcowego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. 2010r. nr 222 poz. 1453, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. 2010r. nr 107 poz. 679, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. 2010, Nr 194 poz. 1290); Ustawa z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (Dz. U. 2011 nr 82, poz. 453); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 0 poz. 491); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznym z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 14 stycznia 2016r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu:

prof. dr hab. Danuta Januszkiewicz- Lewandowska

Miejsce prowadzenia badań:

**Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej
UM w Poznaniu**

Główny badacz: lek. med. Marta Kierzynka

Członkowie zespołu

badawczego:

dr Paweł Kurzawa

lek. med. Sandra Rutkowska

Temat badań:

„Retrospektywna analiza klinicznych, histologicznych i biologicznych czynników rokowniczych w zwojaku zarodkowym u dzieci”.

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

Przewodniczący Komisji

prof. dr hab. med. Paweł Chęciński