



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
*“Ιατρική Γενετική: Κλινική και Εργαστηριακή Κατεύθυνση”*

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**“Κλινική σημασία γενετικών βιοδεικτών στην  
παρακολούθηση και θεραπεία παιδιών με  
νευροβλάστωμα και μυελοβλάστωμα”**

ΑΘΗΝΑ ΤΑΒΕΡΝΑΡΑΚΗ-ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΟΥ  
Α.Μ.:20180146

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή**

Ελένη Φρυσίρα, (Επιβλέπων)  
*Ομότιμη Καθηγήτρια Κλινικής-Ιατρικής Γενετικής, Ιατρικής Σχολής  
ΕΚΠΑ*  
Ιωάννα-Ραχήλ Συνοδινού-Traeger,  
*Καθηγήτρια Γενετικής, Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ*  
Μαρία Τζέτη,  
*Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γενετικής, Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ*

ΑΘΗΝΑ  
Φεβρουάριος 2019



HELLENIC REPUBLIC  
**National and Kapodistrian  
University of Athens**  
— EST. 1837 —

School of Health Sciences  
Department of Medicine

**MASTER PROGRAM IN**  
*“Medical Genetics: Clinic & Laboratory Direction”*

MASTER THESIS

**“Clinical significance of genetic biomarkers in  
monitoring and treatment of children suffering from  
neuroblastoma and medulloblastoma”**

Athina Tavernaraki-Trintafyllou  
Register Number:20180146

**Examining Board Members**

Helen Fryssira,  
Emeritus Professor of Clinical-Medical Genetics, Medical School  
NKUA  
Joanne-Rachel Synodinos-Traeger,  
Professor of Genetics, Medical School NKUA  
Maria Tzetis,  
Associate Professor of Genetics, Medical School NKUA

Athens  
February 2019

© [2020]

Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ)  
[Αθηνά Ταβερναράκη-Τριανταφύλλου, Μεταπτυχιακή φοιτήτρια]

*Η παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, η οποία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Π.Μ.Σ. "ΙΑΤΡΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ: ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ" αποτελεί συνιδιοκτησία του ΕΚΠΑ και της φοιτήτριας, ο/η καθένας/μία από τους/τις οποίους/ες έχει το δικαίωμα ανεξάρτητης χρήσης και αναπαραγωγής τους (στο σύνολο ή τμηματικά) για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, σε κάθε περίπτωση αναφέροντας τον τίτλο και τον/την συγγραφέα και το ΕΚΠΑ όπου εκπονήθηκε η Διπλωματική Εργασία καθώς και τον Επιβλέποντα και την άλλα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής.*



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

## **ΒΕΒΑΙΩΣΗ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

«Δηλώνω υπεύθυνα ότι η συγκεκριμένη Διπλωματική Εργασία με τίτλο:  
**“Κλινική σημασία γενετικών βιοδεικτών στην παρακολούθηση και  
θεραπεία παιδιών με νευροβλάστωμα και μυελοβλάστωμα”**

για τη λήψη του μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών του **Π.Μ.Σ. “ΙΑΤΡΙΚΗ  
ΓΕΝΕΤΙΚΗ:ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ”**, της  
Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, έχει συγγραφεί από εμένα προσωπικά και δεν  
έχει υποβληθεί ούτε έχει εγκριθεί στο πλαίσιο κάποιου άλλου  
μεταπτυχιακού ή προπτυχιακού τίτλου σπουδών, στην Ελλάδα ή στο  
εξωτερικό.

Η εργασία αυτή αντιπροσωπεύει τις προσωπικές μου απόψεις επί του  
θέματος.

Κατά τη συγγραφή, ακολούθησα την πρόπουσα ακαδημαϊκή δεοντολογία.  
Οι πηγές στις οποίες ανέτρεξα για την εκπόνηση της συγκεκριμένης  
διπλωματικής αναφέρονται στο σύνολό τους, δίνοντας πλήρεις αναφορές  
στους συγγραφείς, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που  
ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Έχω επίσης αποφύγει  
οποιαδήποτε ενέργεια που συνιστά παράπτωμα λογοκλοπής. Γνωρίζω ότι η  
λογοκλοπή μπορεί να επισύρει ποινή ανάκλησης του πτυχίου μου.  
Σε κάθε περίπτωση, αναληθούς ή ανακριβούς δηλώσεως, υπόκειμαι στις  
συνέπειες που προβλέπονται στον Κανονισμό Σπουδών του Μεταπτυχιακού  
Προγράμματος Σπουδών «Ιατρική Γενετική: Κλινική και Εργαστηριακή  
Κατεύθυνση», και στις διατάξεις που προβλέπει η Ελληνική και Κοινοτική  
Νομοθεσία περί πνευματικής ιδιοκτησίας».

Η ΔΗΛΟΥΣΑ

Υπογραφή:

Ονοματεπώνυμο: Αθηνά Ταβερναράκη-Τριανταφύλλου

Αριθμός Μητρώου:20180146

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

### “Κλινική σημασία γενετικών βιοδεικτών στην παρακολούθηση και θεραπεία παιδιών με νευροβλάστωμα και μυελοβλάστωμα”

**Εισαγωγή:** Το νευροβλάστωμα είναι όγκος του συμπαθητικού νευρικού συστήματος που επηρεάζει κυρίως νεογνά και μικρά παιδιά με ποικίλα κλινικά αποτελέσματα που οφείλονται στο διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο. Το μυελοβλάστωμα είναι ο πιο κοινός όγκος του εγκεφάλου της παιδικής ηλικίας. Η μέχρι πρότινος θεραπευτική προσέγγιση βασιζόταν σε κλινικά, ιστολογικά και ραδιολογικά στοιχεία, τα οποία φαίνεται να μην επαρκούν αφού παρατηρείται συχνά αποτυχία της θεραπείας ή και επανεμφάνιση των όγκων. Παρά τις εξελίξεις στην θεραπεία, ορισμένοι ασθενείς καταλήγουν λόγω της νόσου και οι επιζήσαντες υποφέρουν από μακροχρόνιες παρενέργειες της θεραπείας.

**Σκοπός:** Σκοπός της εργασίας είναι η ανάδειξη της σημασίας ορισμένων γενετικών δεικτών στην βελτίωση της πρόγνωσης και της θεραπείας των ασθενών με νευροβλάστωμα και μυελοβλάστωμα.

**Μεθοδολογία:** Η παρούσα εργασία είναι βιβλιογραφική και για την εκπόνηση της συγκεντρώθηκαν άρθρα. Παρατίθενται πληροφορίες για τους γενετικούς δείκτες με τη μεγαλύτερη προγνωστική αξία για τους δύο καρκίνους ξεχωριστά. Έμφαση δόθηκε στους επαληθευμένους δείκτες και σε αυτούς που χρησιμοποιούνται στην κλινική πρακτική.

**Αποτελέσματα:** Για το νευροβλάστωμα αξιολογούνται η ηλικία, η πλοειδία και οι δείκτες ενίσχυση του MYCN, απώλεια του 11q23 και 1p36 και προσθήκη της περιοχής 17q21-qter. Το μυελοβλάστωμα ταξινομείται σε 4 υποομάδες με διαφορετικά γενετικά χαρακτηριστικά και πρόγνωση. Η μοριακή αξιολόγηση των όγκων και ταξινόμηση των ασθενών βάση αυτών έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει την πρόγνωση και επιβίωση τους λόγω της γρηγορότερης, καλύτερης και ακριβέστερης επιλογής της κατάλληλης θεραπείας.

**Συμπέρασμα:** Η ενσωμάτωση της ταξινόμησης των ασθενών βάση των μοριακών χαρακτηριστικών των όγκων τους, θα αυξήσει την ειδικότητα της θεραπείας και την αποτελεσματικότητά της, θα περιορίσει τις παρενέργειες της και θα βελτιώσει την επιβίωση των ασθενών.

**Αθήνα, λέξεις κλειδιά:** νευροβλάστωμα, μυελοβλάστωμα, γενετικοί βιοδείκτες, στοχευμένη θεραπεία.

## ABSTRACT

### **“Clinical value of genetic biomarkers in monitoring and treatment of children suffering from neuroblastoma and medulloblastoma”**

**BACKGROUND:** Neuroblastoma is a tumor of the sympathetic nervous system effecting mostly infants and young children. It is characterized by its heterogeneous clinical behavior which is a result of the different genetic background of each tumor. Medulloblastoma is the most common brain tumor in children. Until recently, treatment was based on clinical, histological and radiological elements. Since relapse and treatment failure are often observed current stratification and treatment seem to be inadequate. Despite the advances in treatment many patients still die from the diseases and survivors suffer from long term side effects of the treatment used.

**AIM:** The aim of this study was to overview the value of using specific genetic biomarkers for improved prognostication and treatment of patients suffering from neuroblastoma and medulloblastoma

**METHODOLOGY:** This study was done by researching current literature. Information about the biomarkers with the most significant prognostic value for each cancer is provided. The focus was on confirmed markers and the ones used in clinical practice.

**RESULTS:** For neuroblastoma age, ploidy and the markers MYCN amplification, loss 11q and 1p and gain of 17q21-qter are evaluated. Medulloblastoma consists of four subgroups with distinct genetic backgrounds and prognosis. Molecular stratification of the tumors and the patient classification, based on molecular data will improve their prognosis and survival because of the quicker, better and more precise choosing of the most appropriate treatment.

**CONCLUSIONS:** The integration of the classification of each patient based on their cancer’s molecular profiles, will improve treatment specificity and efficacy, reducing the side effects, and improving patient survival.

**Athens, keywords:** neuroblastoma, myeloblastoma, genetic biomarkers, targeted therapy.

## **ΣΚΟΠΟΣ**

Η παρούσα βιβλιογραφική διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ στην Αθήνα το 2019, στα πλαίσια του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών με τίτλο «Ιατρική Γενετική: Κλινική και Εργαστηριακή Κατεύθυνση». Οι καρκίνοι της παιδικής ηλικίας συνοδεύονται από σημαντική θνητότητα και νοσηρότητα ακόμα και μετά την θεραπεία λόγω των παρενεργειών της. Το νευροβλάστωμα και το μυελοβλάστωμα ανήκουν σε αυτή την κατηγορία καρκίνων και χαρακτηρίζονται από ευρεία κλινική και γενετική ετερογένεια. Ειδικοί έχουν επισημάνει την ανάγκη για κατηγοριοποίηση των ασθενών προκειμένου να γίνεται σωστή και ακριβής επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής προσέγγισης. Έτσι ώστε να αποφεύγονται τυχόν παρενέργειες της θεραπείας στους ασθενείς χαμηλού κινδύνου που χρήζουν μόνο παρακολούθησης ή χειρουργικής επέμβασης χωρίς επιθετική χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία αλλά και να εντατικοποιείται η θεραπεία στους ασθενείς υψηλού κινδύνου για να αυξηθεί η πιθανότητα επιβίωσής τους. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε ανασκόπηση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας και συγκεντρώθηκαν πληροφορίες σχετικά με την σημασία της χρήσης γενετικών βιοδεικτών στη θεραπεία και την πρόγνωση ασθενών με νευροβλάστωμα και μυελοβλάστωμα.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ABSTRACT .....	6
ΣΚΟΠΟΣ.....	7
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ .....	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	11
ΝΕΥΡΟΒΛΑΣΤΩΜΑ.....	12
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
Γενικά Χαρακτηριστικά .....	12
Επιδημιολογικά στοιχεία .....	13
Κλινική εικόνα .....	14
Ηλικία κατά την διάγνωση .....	15
Παθοφυσιολογία .....	16
Αυθόρμητη υποστροφή (spontaneous regression) .....	17
Διάγνωση.....	19
Μέθοδοι ταξινόμησης των ασθενών .....	21
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	22
Φθορίζον in situ υβριδισμός (fluorescent in situ hybridization, FISH) .....	22
Αλληλούχιση .....	23
Genome Wide Association Studies (GWAS).....	23
Πολλαπλή ενίσχυση υβριδοποιημένων ανιχνευτών με το ένζυμο της λιγάσης (Multiplex Ligation–dependant Probe Amplification, MLPA)..	24
Συγκριτικός Γενωμικός Υβριδισμός σε Μικροσυστοιχίες (array Comparative Genomic Hybridization, aCGH) .....	24
Κυτταρομετρία ροής .....	24
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	25
Γενετικό υπόβαθρο .....	25
Γενετικοί βιοδείκτες ευρέως αποδεκτοί από τοconsensus του 2009 ...	30
Βιοδείκτες σημαντικής κλινικής σημασίας εκτός consensus.....	34
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	37
Γενετικά και βιολογικά χαρακτηριστικά .....	37
Θεραπεία ανά ομάδα.....	37



Στοχευμένη θεραπεία.....	39
ΜΥΕΛΟΒΛΑΣΤΩΜΑ .....	41
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	41
Γενικά Χαρακτηριστικά .....	41
Επιδημιολογικά στοιχεία .....	42
Κλινική εικόνα .....	43
Διάγνωση.....	43
Ιστολογία.....	44
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	45
Ανάλυση μεταγραφικού προφίλ.....	45
Ποσοτική PCR αντίστροφης μεταγραφής (Real-time reverse transcription polymerase chain reaction).....	45
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	47
Μοριακές υποομάδες.....	47
Εκτίμηση κινδύνου .....	50
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	53
Θεραπεία .....	59
Εξατομικευμένη θεραπεία .....	60
Επανεμφάνιση-Υποτροπή.....	60
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	63

### ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Εικόνα 1: Κλινική εκδήλωση νευροβλαστώματος Maris et al 2010 .....	12
Εικόνα 2: Μοντέλο διαφοροποίησης νευροβλάστωματος σε καλόηθες γαγγλιονεύρωμα, προσαρμοσμένη από Ambros et al 1996.....	17
Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών αυθόρμητης υποστροφής, Brodeur, 2018.....	19
Εικόνα 4: Μαγνητική τομογραφία όπου απεικονίζονται όγκοι στα επινεφρίδια πηγή: Louis και Shohet, 2015.....	20
Εικόνα 5: Διεθνής κατηγοριοποίηση νευροβλαστώματος πηγή: Arendonk και Chung.....	21
Εικόνα 6: (A) μεταφασικά χρωμοσώματα όπου φαίνεται έλλειμμα του 1p36, (B) αποτελέσματα FISH, (E) μεταφασικά χρωμοσώματα,(F) αποτελέσματα FISH όπου φαίνεται ενίσχυση του MYCN, (I) μεταφασικά χρωμοσώματα όπου παρατηρούνται μη ισοζυγισμένες μεταθέσεις που έχουν σαν αποτέλεσμα την προσθήκη του 17q, Bown 2001 .....	23
Εικόνα 7: Δομή της πρωτεΐνης MYCN.....	31

Εικόνα 8: (Α) Μη ισοζυγισμένη μετατόπιση που έχει σαν αποτέλεσμα την απώλεια του 1p3.6 και την προσθήκη του 17q21-qter. (Β) Σχέση των πιο συχνών ανωμαλιών σε πρωτοπαθείς όγκους. Πηγή: Bown et al 2001.....	35
Εικόνα 9: Διάγραμμα επιβίωσης ασθενών αναλόγως τις δομικές ανωμαλίες προσαρμοσμένο από Carén et al 2009. ....	35
Εικόνα 10: Επίπτωση γενετικών ανωμαλιών σε κάθε στάδιο του νευροβλαστώματος προσαρμοσμένη από Bown et al 2001. ....	36
Εικόνα 11: Σχέση γενετικών χαρακτηριστικών και έκβασης της νόσου προσαρμοσμένη από Bown et al 2001.....	36
Εικόνα 12: Δομή του εγκεφάλου και εντόπιση των διαφορετικών υποομάδων μυελοβλαστώματος, προσαρμοσμένο από El Doussouki et al και το βιβλίο της βιολογίας Α λυκείου. ....	41
Εικόνα 13: Οι διαφορετικοί ιστολογικοί τύποι μυελοβλαστώματος Gajjar και Robinson. ....	44
Εικόνα 14: Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR.....	45
Εικόνα 15: Ανίχνευση σήματος με τη χρήση TaqMan probes.....	46
Εικόνα 16: Τα χαρακτηριστικά κάθε υποομάδας σύμφωνα με το consensus του 2010 και οι ονομασίες τους σε προηγούμενες μελέτες, Taylor et al. .	47
Εικόνα 17: Σύνοψη των υποομάδων και του περαιτέρω διαχωρισμού τους σύμφωνα με τους Taylor et al 2010. ....	48
Εικόνα 18: Ανίχνευση της συσσωρευμένης β-κατενίνης (μπλε κοκκία) στα καρκινικά κύτταρα της υποομάδας WNT Ellison et al. ....	48
Εικόνα 19: Αποτελέσματα FISH παρατηρούνται μονοσωμία 6, 17p:617q, προσθήκη του MYCN και ενίσχυση του MYC Ellison et al.....	49
Εικόνα 20: Εκτίμηση κινδύνου για τους ασθενείς με μυελοβλάστωμα τύπου SHH χρησιμοποιώντας κλινικούς και μοριακούς δείκτες πρόγνωσης Shih et al 2014. ....	51
Εικόνα 21: Εκτίμηση κινδύνου για τους ασθενείς με μυελοβλάστωμα της ομάδας 3 χρησιμοποιώντας κλινικούς και μοριακούς δείκτες πρόγνωσης Shih et al 2014. ....	51
Εικόνα 22: Εκτίμηση κινδύνου για τους ασθενείς με μυελοβλάστωμα της ομάδας 4 χρησιμοποιώντας κλινικούς και μοριακούς δείκτες πρόγνωσης Shih et al 2014. ....	52
Εικόνα 23: Καμπύλες επιβίωσης για τις υποομάδες SHH, 3 και 4 αντίστοιχα Shih et al 2014. ....	52
Εικόνα 24: Αντίσταση στη θεραπεία επανεμφανιζόμενου μυελοβλαστώματος ομάδας 3 και 4 προσαρμοσμένη από Ramaswamy και Taylor 2017. ....	60
Εικόνα 25: Θετική επιλογή του μεταστατικού κλώνου προσαρμοσμένη από Ramaswamy και Taylor 2017. ....	61

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

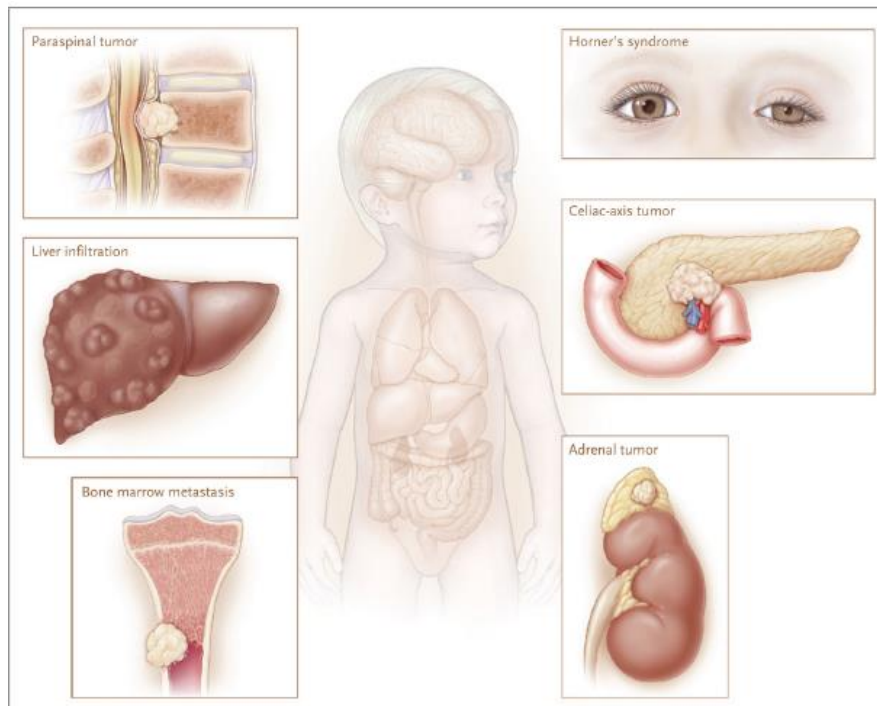
Πίνακας 1: Υποομάδες σύμφωνα με το σύστημα INRG προσαρμοσμένος από τους Cohnet al .....	25
Πίνακας 2:Σύνδρομα καρκινικής προδιάθεσης που περιλαμβάνουν και αυξημένη πιθανότητα προδιάθεσης νευροβλαστώματος προσαρμοσμένος από Barr και Applebaum 2018.....	27
Πίνακας 3: Κατηγοριοποίηση νευροβλαστωμάτων βάση των γενετικών τους χαρακτηριστικών προσαρμοσμένος από International consensus for neuroblastoma molecular diagnostics, 2009.....	32
Πίνακας 4: Σύστημα ταξινόμησης των ασθενών σύμφωνα με το consensus τουINRGCohnet al 2009 .....	34
Πίνακας 5: Δείκτες πρόγνωσης στο νευροβλάστωμα και τεχνικές ανίχνευσής τους προσαρμοσμένος από Ambroset al 2009.....	36
Πίνακας 6: Δείκτες πρόγνωσης στο μυελοβλάστωμα και τεχνικές ανίχνευσής τουςπροσαρμοσμένο από Taylor et al, 2011, El Doussouki et al, 2018, Shihet al, 2014 .....	50

## ΝΕΥΡΟΒΛΑΣΤΩΜΑ

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

#### Γενικά Χαρακτηριστικά

Το νευροβλάστωμα είναι μια σπάνια κακοήθεια του συμπαθητικού νευρικού συστήματος (Luksch et al, 2016). Επηρεάζει μικρά παιδιά με μέση ηλικία διάγνωσης τους 19 μήνες και αποτελεί τον συχνότερο εξωκρανιακό όγκο της βρεφικής και παιδικής ηλικίας (Van Arendonk και Chung 2018, Maris 2010, Bosse και Maris, 2016). Αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι ο επιπολασμός του νευροβλαστώματος στις ΗΠΑ είναι ένα περιστατικό ανά 7000 γεννήσεις και η επίπτωση 10,54 περιπτώσεις ανά εκατομμύριο το χρόνο σε παιδιά κάτω των 15 ετών (London et al, 2005). Πιο συγκεκριμένα αποτελεί το 20% των καρκίνων που διαγιγνώσκονται στο πρώτο χρόνο της ζωής και μπορεί να διαγνωστεί όσο το έμβρυο βρίσκεται ακόμα στη μήτρα (Bosse και Maris 2016, Maris et al, 2007). Περίπου το 37% των ασθενών διαγιγνώσκονται κατά τη νεογνική ηλικία και το 90% είναι μικρότεροι των πέντε ετών τη στιγμή της διάγνωσης (London et al, 2005). Οι πρωτοπαθείς όγκοι ανιχνεύονται στον μυελό των επινεφριδίων, στις παρασπονδύλιες και περιαιορτικές περιοχές και όπου υπάρχει ιστός συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Εμφανίζονται με την μορφή μαζών στην κοιλιακή χώρα, στο θώρακα ή στον λαιμό και λεκάνη (Van Arendonk και Chung 2018, Maris, 2010). Το νευροβλάστωμα είναι συνήθως θανατηφόρο, με το 30% των ασθενών να έχουν θετική τελικά έκβαση της νόσου (Ambros et al, 1996). Τα τελευταία χρόνια το ποσοστό αυτό έχει παρουσιάσει βελτίωση.



Εικόνα 1: Κλινική εκδήλωση νευροβλαστώματος Maris et al 2010

Η πρόγνωση αλλά και η επιλογή κατάλληλης θεραπείας για τους ασθενείς αποτελεί πρόκληση, λόγω της χαρακτηριστικά υψηλής κλινικής ετερογένειας που εμφανίζει το νευροβλάστωμα (VanArendonk και Chung 2018). Το εύρος της περιλαμβάνει νεογνά με όγκους που υποστρέφονται αυθόρμητα (spontaneous regression), παιδιά με εντοπισμένους όγκους με ευνοϊκά γενετικά χαρακτηριστικά που έχουν αυξημένη επιβίωση με περιορισμένη κυτταροτοξική θεραπεία και σοβαρά ασθενή παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας, εφήβους ακόμα και νεαρούς ενήλικες με ευρέως εξαπλωμένη νόσο η οποία συνεχίζει να εξαπλώνεται ακόμα και μετά από εντατική συνδυασμένη χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία (Maris et al, 2007). Η παρατηρούμενη ετερογένεια οφείλεται σε χαρακτηριστικά του όγκου, όπως είναι η εντόπιση, το μέγεθος, ο βαθμός εξάπλωσης, τα φαινόμενα από την έκκριση κατεχολαμινών και οι γενετικές ανωμαλίες (Colom και Chung, 2011). Τις τελευταίες δεκαετίες γίνεται προσπάθεια συσχέτισης γενετικών ανωμαλιών που έχουν παρατηρηθεί στο γενετικό υλικό των κυττάρων του όγκου με τα χαρακτηριστικά του όπως η αυθόρμητη υποστροφή και η μεταστατική εξάπλωση (Ambrosio et al, 2009).

### **Επιδημιολογικά στοιχεία**

Το νευροβλάστωμα είναι ο πιο κοινός εξωκρανιακός όγκος της παιδικής ηλικίας (Howlader et al, 2012). Ευθύνεται για το 15% περίπου των θανάτων από καρκίνο στον παιδιατρικό πληθυσμό (Park et al, 2010). Περισσότερες από 650 περιπτώσεις διαγιγνώσκονται κάθε χρόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες (Gurney et al, 1997). Ο επιπολασμός όπως αναφέρθηκε νωρίτερα υπολογίζεται σε 1 ανά 7.000 γεννήσεις. Η επίπτωση σε παιδιά μικρότερα των 15 ετών είναι 10,54 ανά 1.000.000. Αποτελεί το 8%-10% όλων των παιδικών όγκων (Park et al, 2010). Στο 37% των ασθενών η διάγνωση γίνεται στην νεογνική ηλικία και το 90% κατά την διάγνωση είναι μικρότεροι των πέντε ετών, με το 30% αυτών μέσα στον πρώτο χρόνο ζωής και μέσο όρο ηλικίας διάγνωσης τους 19 με 22 μήνες (London et al, 2005, Esiashvili et al, 2009). Από τα δεδομένα που αφορούν την ηλικία διάγνωσης φαίνεται ότι το νευροβλάστωμα είναι μία νόσος της νεογνικής ηλικίας, με το μεγαλύτερο ποσοστό διάγνωσης να γίνεται στον πρώτο μήνα της ζωής (Howlader et al, 2012, London et al, 2005). Σπανίως εμφανίζεται στην εφηβική ή ενήλικη ηλικία, όμως όταν εμφανίζεται χαρακτηρίζεται από δυσμενές αποτέλεσμα (Colom και Chung, 2011).

Η επίπτωση του νευροβλαστώματος σε παιδιά αφρικανικής καταγωγής είναι ελαφρώς μικρότερη από αυτή των καυκάσιων (Ward et al, 2014). Φαίνεται να υπάρχουν διαφορές στη βιολογία του νευροβλαστώματος αναλόγως την φυλή (Henderson et al, 2011). Αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι οι Αφροαμερικανοί είναι πιθανότερο να αναπτύξουν νευροβλάστωμα υψηλού ρίσκου με μοιραία αποτελέσματα (Latorre et al, 2012). Παρατηρείται επίσης μια μικρή προτίμηση προς τους άρρενες της τάξης του 1.2:1 (Park et al, 2010).

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι το περιβάλλον δεν φαίνεται να σχετίζεται με αύξηση ή μείωση της επίπτωσης του νευροβλαστώματος (Heck et al, 2009).

Έχει παρατηρηθεί οικογενειακό ιστορικό στο 1-2% των περιπτώσεων και υπάρχουν ενδείξεις για αυτοσωμικό επικρατητικό τρόπο κληρονομησης και μειωμένη διεισδυτικότητα (Esiashvili et al, 2009). Ασθενείς με τέτοιο γενετικό υπόβαθρο διαγιγνώσκονται σε μικρότερη ηλικία, κατά μέσο όρο στους 9 μήνες, από ότι ασθενείς με σποραδικό νευροβλάστωμα και είναι πιο πιθανό να εμφανίσουν πολλαπλούς πρωτοπαθείς όγκους.

Η αποτελεσματικότητα της θεραπείας του νευροβλαστώματος βελτιώνεται σταθερά τα τελευταία 30 χρόνια. Το ποσοστό της πενταετούς επιβίωσης ανέβηκε από το 52% στο 74% (Maris 2010). Πιο συγκεκριμένα στον υπότυπο χαμηλού κινδύνου η βελτίωση της θεραπευτικής προσέγγισης έχει σαν αποτέλεσμα το ποσοστό επιβίωσης πλέον να αγγίζει το 92%. Όσον αφορά τους ασθενείς με νευροβλάστωμα υψηλού κινδύνου, υπολογίζεται ότι το 50-60% αυτών θα υποτροπιάσει επομένως έχει παρατηρηθεί μέτρια μείωση της θνησιμότητας στον υπότυπο αυτό (Maris, 2010). Σε έρευνα του International Neuroblastoma Risk Group (INRG) βρέθηκε ότι ο μέσος όρος χρόνου υποτροπής είναι οι 13,2 μήνες. Το 73% των ασθενών της μελέτης που υποτροπίασαν ήταν ηλικίας 18 μηνών και μεγαλύτεροι. Ως επί τι πλείστον το ποσοστό πενταετούς επιβίωσής τους παραμένει χαμηλό, στο 20%, παρά τις πιο επιθετικές θεραπείες (London et al, 2010).

### **Κλινική εικόνα**

Περίπου το 65% των όγκων εμφανίζονται στην κοιλιακή χώρα οι μισοί από αυτούς εντοπίζονται στον μυελό (medulla) των επινεφριδίων (Colon και Chung, 2011). Η πρωτοπαθής κακοήθεια μπορεί επίσης να εμφανιστεί στην περιοχή του θώρακα σε ποσοστό 20%, στο λαιμό σε ποσοστό 5% αλλά και στην λεκάνη στο ίδιο ποσοστό (Park et al, 2010, Kushner, 2004). Στο 1% των περιπτώσεων δεν ανιχνεύεται πρωτοπαθής όγκος (Park et al, 2010, Kushner 2004).

Πολλοί ασθενείς είναι ασυμπτωματικοί, ορισμένοι όμως εκδηλώνουν γενικευμένα συμπτώματα όπως αδιαθεσία, πυρετό και απώλεια βάρους, εμφάνιση μεγεθυνόμενης μάζας, πόνο, διόγκωση της κοιλιακής χώρας, λεμφαδενοπάθεια ή και αναπνευστική δυσχέρεια λόγω συμπίεσης ή ηπατομεγαλίας. Μάζες που εντοπίζονται στην περιοχή της λεκάνης δύναται να προκαλέσουν δυσκοιλιότητα και δυσκολία στην ούρηση ενώ όγκοι στην περιοχή του θώρακα δυσφαγία, δύσπνοια κ.α. (Colon et al, 2003).

Κατά τη διάγνωση το 50% των ασθενών παρουσιάζει εντοπισμένο όγκο ενώ το 35% έχει ήδη εξάπλωση στους λεμφαδένες (Park et al, 2010). Η μετάσταση μπορεί να γίνει μέσω του αίματος ή και της λέμφου προς τον μυελό των οστών, τα οστά, το ήπαρ. Συχνά επηρεάζονται οι κόγχες των

ματιών όπου παρατηρείται πρήξιμο και πρόπτωση δίνοντας την χαρακτηριστική εικόνα των “raccoon eyes”. Η μετάσταση στο δέρμα, κατά την οποία οι ασθενείς παρουσιάζουν υποδόρια οζίδια (blueberry muffin syndrome), έχει συσχετιστεί με ευνοϊκή πρόγνωση και αυθόρμητη υποστροφή στο φυσιολογικό (Colom και Chung, 2011).

Λόγω της νευροενδοκρινικής του ιδιότητας το νευροβλάστωμα έχει την ικανότητα έκκρισης κατεχολαμινών, των οποίων η έκκριση προκαλεί υπέρταση και ταχυκαρδία.

## **Ηλικία κατά την διάγνωση**

### **Νεογνά και παιδιά**

Η επίδραση της ηλικίας διάγνωσης στην τελική έκβαση της νόσου είναι σημαντική. Σύμφωνα με στατιστικά δεδομένα της SEER (U.S. Surveillance, Epidemiology, and End Results), τα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης διαμορφώνονται ως εξής: (Horner et al, 2009)

- Ασθενείς μικρότεροι του ενός έτους: 90%
- Ασθενείς ηλικίας 1 με 4 ετών: 68%
- Ασθενείς ηλικίας 5 με 9: 52%
- Ασθενείς ηλικίας 10 με 14: 66%

Έρευνες έδειξαν ότι η επίδραση της ηλικίας επηρεάζεται σημαντικά από κλινικούς και παθοφυσιολογικούς παράγοντες όπως η ιστολογία του όγκου το στάδιο της νόσου και οι γενετικές ανωμαλίες (Strother et al, 2012, Baker et al, 2010, Schmidt et al, 2000, Schmidt et al, 2005, George et al, 2005, London et al, 2005).

### **Έφηβοι και ενήλικες**

Σπάνια παρατηρείται νευροβλάστωμα σε εφήβους και ενήλικες. Μάλιστα, αντιπροσωπεύει συνολικά το 5% των περιπτώσεων νευροβλαστώματος. Σε αυτή την ηλικιακή ομάδα το νευροβλάστωμα παρουσιάζει πιο ήπια κλινική πορεία όταν συγκρίνεται με ασθενείς νεότερης ηλικιακής ομάδας και αντίσταση στην χημειοθεραπεία (Cheung et al, 2012). Σε εφήβους άνω των 10 ετών ή και σε ενήλικες το νευροβλάστωμα χαρακτηρίζεται από κακή πρόγνωση ανεξάρτητα από το εντόπιση και το στάδιο της νόσου.

Η πενταετής περίοδος χωρίς ανεπιθύμητα συμβάντα (event free survival-EFS) ανέρχεται στο 32% σε ασθενείς 10 με 21 ετών, και το ποσοστό επιβίωσης (overall survival OS) 46% για νευροβλάστωμα τετάρτου σταδίου, η δεκαετής περίοδος χωρίς ανεπιθύμητα συμβάντα EFS rate ανέρχεται στο 3% και η επιβίωση OS (overall survival) στο 5% (Mossé et al, 2014). Η επιθετική χημειοθεραπεία και η εγχείρηση επιτυγχάνουν την μείωση της ασθένειας σε μεγάλο βαθμό σε ποσοστό ασθενών μεγαλύτερο από 50% (Kushner et al, 2003, Conte et al, 2006). Άλλες παρεμβάσεις

όπως τοπική ακτινοθεραπεία, αυτόλογη μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων και η χρήση άλλων παραγόντων με επιβεβαιωμένη δράση πιθανόν να βελτιώσουν την φτωχή πρόγνωση που χαρακτηρίζει τους εφήβους και τους ενήλικες (Kushner et al, 2003, Mossé et al, 2014).

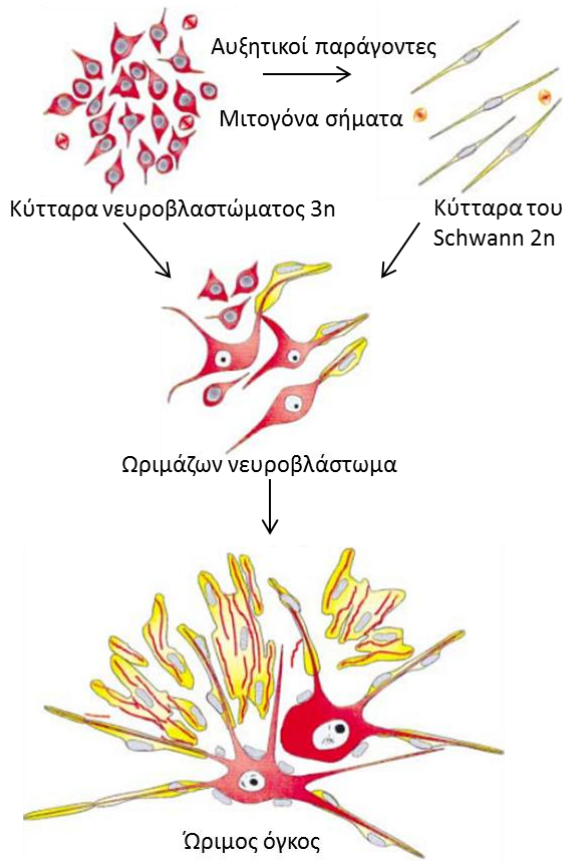
## **Παθοφυσιολογία**

Το νευροβλάστωμα είναι μία αναπτυξιακή κακοήθεια, η οποία εμφανίζεται στα νευρωνικά γάγγλια του περιφερικού συμπαθητικού νευρικού συστήματος (Louis και Shohet, 2016). Η μακροπρόθεσμη επιβίωση εξαρτάται κυρίως από τον βαθμό διαφοροποίησης του όγκου. Οι ασθενείς με όγκους με αδιαφοροποίητα κύτταρα τείνουν να έχουν χειρότερη πρόγνωση από ασθενείς με πιο διαφοροποιημένους όγκους (Fredlund et al, 2008).

Τα κύτταρα του Schwann έχουν την ιδιότητα να προάγουν την διαφοροποίηση και να αναστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό των νευρικών κυττάρων μέσω παραγόντων διαφοροποίησης που εκκρίνουν (Ambros et al, 1996). Είναι γνωστό ότι μιτογόνα σήματα από τους άξονες των φυσιολογικών νευρώνων επάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του Schwann (Wood et al, 1975, Salzer et al, 1980, Nordlund et al, 1992, Bressler et al, 1985, Ratner et al, 1988). Προτάθηκε λοιπόν ότι τα κύτταρα του νευροβλαστώματος που βρίσκονται υπό διαφοροποίηση εκκρίνουν χημειοτακτικές, μιτογόνες και ουσίες που προάγουν την διαφοροποίηση για τα κύτταρα του Schwann όπως συμβαίνει και φυσιολογικά (Ambros et al, 1996). Τα κύτταρα του Schwann αποτελούν μια πηγή NGF(neural growth factor) που είναι απαραίτητος παράγοντας διαφοροποίησης των νευρικών κυττάρων του συμπαθητικού. Συνεπώς πιθανόν να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αυτοπεριορισμού ορισμένων νευροβλαστωμάτων (Ambros et al, 1996).

Στην εικόνα 2 παρουσιάζεται σχηματικά η αλληλεπίδραση των μη διαφοροποιημένων τριπλοειδών κυττάρων του νευροβλαστώματος με τα κύτταρα του Schwann. Τα ίδια τα καρκινικά κύτταρα επάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του Schwann μέσω της έκκρισης μιτογόνων και αυξητικών παραγόντων. Τα κύτταρα του Schwann που είναι διπλοειδή μεταναστεύουν στο σημείο του όγκου όπου καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του νευροβλαστώματος και προάγουν την διαφοροποίησή τους.





**Εικόνα 2: Μοντέλο διαφοροποίησης νευροβλαστώματος σε καλοήθες γαγγλιονεύρωμα, προσαρμοσμένη από Ambros et al 1996**

Η ευρεία κλινική και παθοφυσιολογική ετερογένεια του νευροβλαστώματος αντικατοπτρίζει την βιολογία της ανάπτυξης της νευρικής ακρολοφίας (Takahashi et al, 2013). Η νευρική ακρολοφία είναι μια παροδική δομή που σχηματίζεται κατά την εμβρυογένεση και προέρχεται από το νευροεκτόδερμα (Hall, 2000). Τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας διαφοροποιούνται σε τύπους κυττάρων όπως είναι οι περιφερικοί νευρώνες, εντερικοί νευρώνες και γλοία, μελανοκύτταρα, κύτταρα του Schwann και κύτταρα του κρανιοπροσωπικού και του μυελού των επινεφριδίων (Le Dourin και Kalcheim, 1999).

### **Αυθόρμητη υποστροφή (spontaneous regression)**

Το φαινόμενο της αυθόρμητης υποστροφής έχει περιγραφεί καλά σε νεογνά με την νόσο. Έρευνες έδειξαν ότι ορισμένα ασυμπτωματικά νεογνά με μικρούς όγκους χαμηλού σταδίου που ανιχνεύτηκαν από τον προληπτικό έλεγχο είτε τυχαία μέσω του υπερηχογραφήματος συχνά τείνουν να υποστρέφονται αυθόρμητα. Σε αυτή την περίπτωση συνιστάται παρακολούθηση χωρίς χειρουργική επέμβαση. Ως επί το πλείστον το φαινόμενο παρατηρείται σε όγκους με τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

- Πλήθος χρωμοσωμάτων κοντά στην τριπλοειδία
- Απουσία ενίσχυσης του *MYCN*

- Απουσία ελλείμματος του χρωμοσώματος 1p
- Απουσία έκφρασης της τελομεράσης
- Έκφραση της πρωτεΐνης H-Ras
- Έκφραση του υποδοχέα της της νευροτροφίνης TrkA (αυξητικός παράγοντας του νευρικού)

Παρόλα αυτά είναι δύσκολο να προβλεφτεί με ακρίβεια ποια νευροβλαστώματα θα υποστραφούν αυθόρμητα βάση της ηλικίας και του σταδίου της νόσου. Ωστόσο έχουν προταθεί ορισμένοι μηχανισμοί μέσω των οποίων το νευροβλάστωμα υποστρέφεται (Brodeur και Bagatell, 2014).

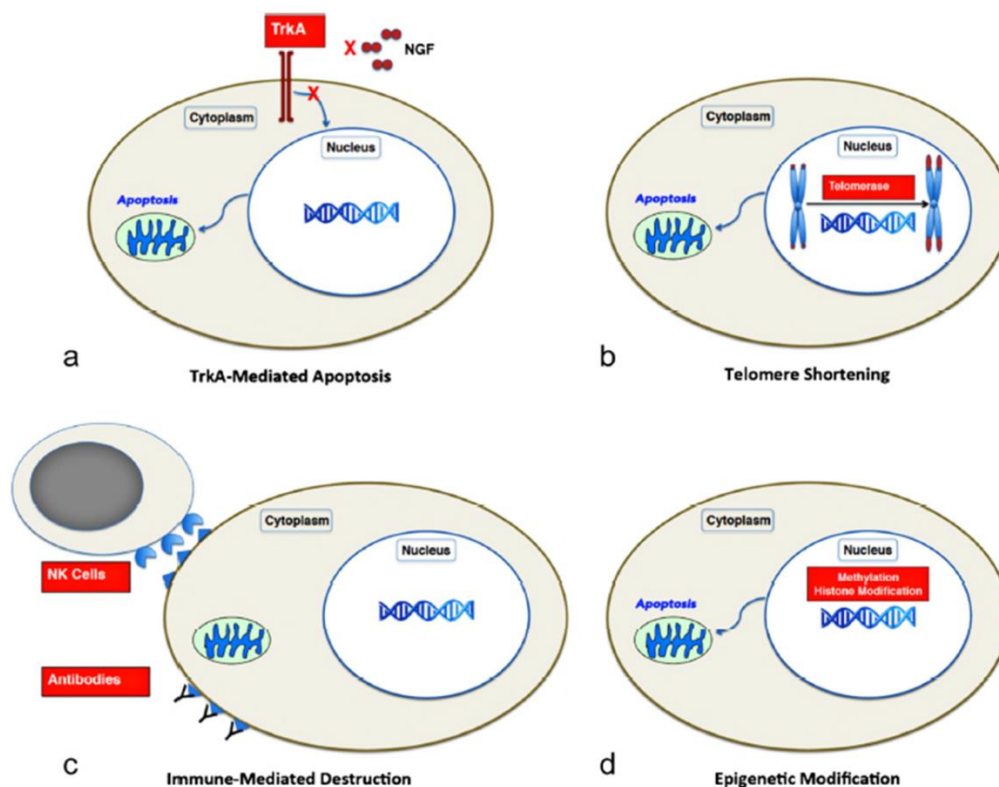
Ο πρώτος αφορά την στέρηση νευροτροφίνης. Ο υποδοχέας της τροπομοουσίνης, TrkA είναι μια κινάση που ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων της νευροτροφίνης και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και διατήρηση του νευρικού συστήματος. Ελλείπει του προσδέτη της, του αυξητικού παράγοντα των νευρώνων (nerve growth factor NGF), η TrkA επάγει αποπτωτικά σήματα, ενώ κατά τη σύνδεσή τους επάγει τη διαφοροποίηση. Εικάζεται ότι τα νευροβλαστώματα που εκφράζουν στην επιφάνεια τους την TrkA είτε διαφοροποιούνται σε καλοήγη γαγγλιονευρώματα παρουσία του NGF, είτε οδηγούνται σε απόπτωση όταν υπάρχει έλλειψη του (Brodeur και Bagatell, 2014).

Ο δεύτερος μηχανισμός περιλαμβάνει την απώλεια λειτουργίας της τελομεράσης. Η τελομεράση είναι ένα ένζυμο που ευθύνεται για τη σύνθεση και διατήρηση των τελομερών, που είναι νουκλεοτιδικές επαναλήψεις στα άκρα των χρωμοσωμάτων σημαντικές για την αντιγραφή και τη διατήρηση της ακμαιοτήτας των χρωμοσωμάτων (Brodeur και Bagatell, 2014). Η μειωμένη δράση της τελομεράσης έχει σαν αποτέλεσμα μικρότερα τελομερή γεγονός που οδηγεί το κύτταρο στη γήρανση και τελικά στο θάνατο (Brodeur και Bagatell, 2014).

Ο τρίτος προτεινόμενος μηχανισμός αφορά μηχανισμούς της ανοσίας. Έχει παρατηρηθεί ότι η αυθόρμητη υποστροφή του νευροβλαστώματος συνδέεται με την εμφάνιση σοβαρής λοίμωξης (Brodeur και Bagatell, 2014). Λόγω της ύπαρξης αντισωμάτων και T-λεμφοκυττάρων στο περιβάλλον του όγκου πιθανόν να συμμετέχει στην υποστροφή του η αντίδραση του ανοσοποιητικού του ίδιου του ασθενή. Ορισμένοι όγκοι φαίνεται να ξεφεύγουν της αναγνώρισης από το ανοσοποιητικό μέσω της μείωσης έκφρασης των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας HLA I (Brodeur και Bagatell, 2014). Στα νευροβλαστώματα που υποστρέφονται παρατηρούνται φυσιολογικά επίπεδα έκφρασης HLA I και συνεπώς ευνοείται η αναγνώρισή τους από τα φυσικά φονικά κύτταρα (NK cells) και την καταστροφή τους (Brodeur και Bagatell, 2014).

Ο τέταρτος μηχανισμός περιλαμβάνει αλλαγές στους επιγενετικές μηχανισμούς, οι οποίες όμως δεν έχουν αποσαφηνιστεί ακόμα. Στην εικόνα

συνοψίζονται οι τέσσερις προτεινόμενοι μηχανισμοί αυθόρμητης υποστροφής (Brodeur και Bagatell, 2014).



Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών αυθόρμητης υποστροφής, Brodeur, 2018.

## Διάγνωση

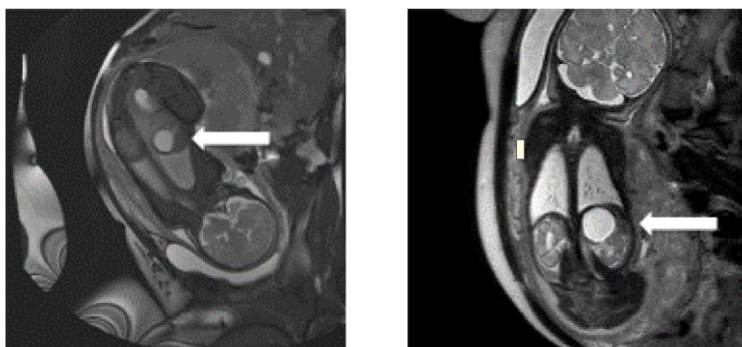
Η διάγνωση του νευροβλαστώματος περιλαμβάνει τεχνικές απεικόνισης του όγκου, την ανίχνευση μεταβολιτών των κατεχολαμινών στα ούρα, βιοψία και στη σπάνια περίπτωση εμβρυικού νευροβλαστώματος υπέρηχο.

Η απεικόνιση του όγκου γίνεται με αξονική ή μαγνητική τομογραφία (MRI). Παρασπονδύλιοι όγκοι που είναι πιθανόν να προκαλέσουν συμπίεση της σπονδυλικής στήλης απεικονίζονται με μαγνητική. Το σπινθηρογράφημα με ραδιοσημασμένη metaiodobenzylguanidine (MIBG) έχει σημαντικό ρόλο στην αξιολόγηση του νευροβλαστώματος, τόσο στην ανίχνευση του πρωτογενούς όγκου και στην ανίχνευση της περιοχής της μετάστασης όσο και στην αξιολόγηση της απόκρισης του ασθενούς στη θεραπεία. Για το 10% των νευροβλαστωμάτων με αρνητικό σπινθηρογράφημα χρησιμοποιείται Τομογραφία Εκπομπής Ποζιτρονίων (PET scan για την αξιολόγηση της έκτασης της νόσου.

Η συγκέντρωση των μεταβολιτών των κατεχολαμινών σε συνάρτηση με την κρεατινίνη στα ούρα μετράται πριν από τη θεραπεία για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης του ασθενούς σε αυτή. Αν οι τιμές τους παραμένουν αυξημένες υποδηλώνουν ανθεκτικότητα στη θεραπεία. Η ανίχνευση κατεχολαμινών στον ορό χρησιμοποιείται σε ειδικές συνθήκες.

Συχνά είναι απαραίτητος ιστός από τον όγκο γιατί παρέχει όλες τις πληροφορίες για τη βιολογία, την κατηγοριοποίηση και τη θεραπευτική του αντιμετώπιση. Πιο συγκεκριμένα χρειάζεται σημαντικός αριθμός κυττάρων προκειμένου να καθοριστούν ο αριθμός των αντιγράφων του *MYCN*, ο δείκτης πλοειδίας και τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες του όγκου. Είναι απαραίτητος ιστός από αρκετές βιοψίες για την επαρκή κατηγοριοποίηση του όγκου. Για ασθενείς μεγαλύτερους των 18 μηνών με νευροβλάστωμα σταδίου 4 μπορεί να επαρκεί για τη διάγνωση και την εκτίμηση του κινδύνου κάθε ασθενή δείγμα μυελού των οστών με εκτεταμένη εξάπλωση του όγκου σε συνδυασμό με μεταβολίτες των κατεχολαμινών. Για τον έλεγχο της ενίσχυσης του *MYCN* είναι προτιμητέα η βιοψία αλλά, εκτίμηση της ενίσχυσης μπορεί να γίνει και με δείγμα μυελού όταν υπάρχει τουλάχιστον 30% εξάπλωση του νευροβλαστώματος.

Σε σπάνιες περιπτώσεις το νευροβλάστωμα μπορεί να ανιχνευθεί προγεννητικά με υπέρηχο (Jennings et al 1993). Οι οδηγίες αντιμετώπισής του συνεχίζουν να εξελίσσονται σχετικά με την βιοψία σε νεογνά μικρότερα των 6 μηνών με υποψία νευροβλαστώματος που πιθανόν να υποστραφεί αυθόρμητα. Σε κλινική μελέτη της Γερμανίας για νεογνά μικρότερα των 3 μηνών υπήρχε υποψία εντοπισμένου νευροβλαστώματος (Nuchtern et al 2012). Τα νεογνά παρακολούθηθηκαν για ένα διάστημα 1 με 18 μηνών πριν πραγματοποιηθεί βιοψία ή εγχείρηση, δεν παρατηρήθηκαν βλαπτικές συνέπειες από την καθυστέρηση αυτή. Τα αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό με έρευνα του Children's Oncology Group (COG) όπου το 81% των νεογνών με μικρές ( $\leq 3.1$  cm) μάζες στα επινεφρίδια απέφυγαν την εγχείρηση υποδηλώνουν ότι όγκοι αυτού του μεγέθους μπορούν να τεθούν υπό παρακολούθηση με ασφάλεια αν δεν έχει διαπιστωθεί μετάσταση και δεν υπάρχει συμμετοχή μεγάλων αγγείων ή οργάνων (Hero et al, 2008).



**Εικόνα 4: Μαγνητική τομογραφία όπου απεικονίζονται όγκοι στα επινεφρίδια πηγή: Louis και Shohet, 2015**

Συμπερασματικά, η διάγνωση του νευροβλαστώματος θα πρέπει να βασίζεται σε ένα από τα παρακάτω κριτήρια:

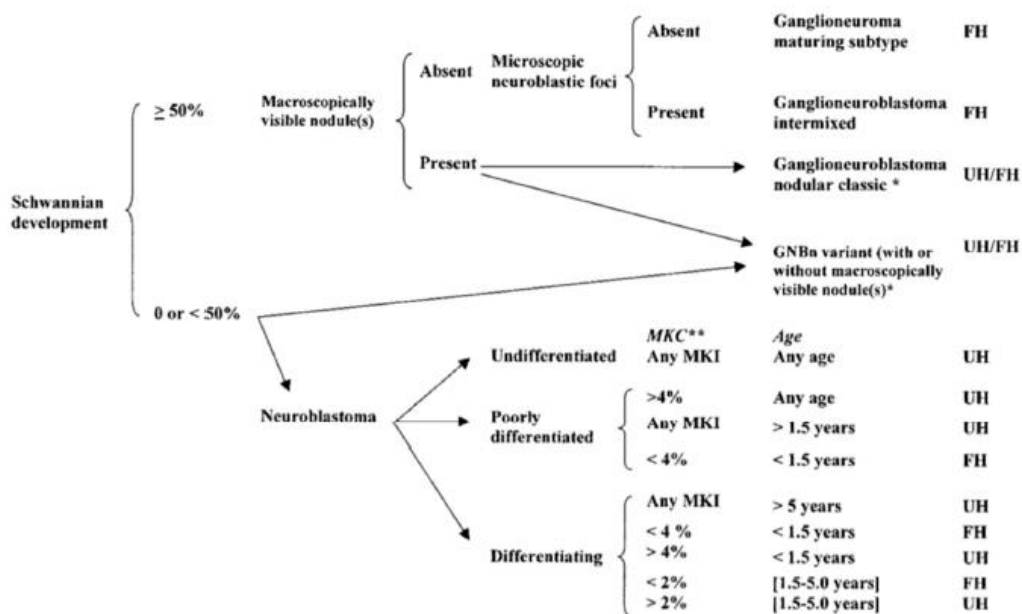
- Ξεκάθαρη ιστολογική διάγνωση του όγκου με μικροσκοπία.

- Συνδυασμός βιοψίας μυελού των οστών ή βιοψίας με αμφίσημα καρκινικά κύτταρα με αυξημένα επίπεδα μεταβολιτών των κατεχολαμινών στα ούρα (Brodeur et al, 1993).

### Μέθοδοι ταξινόμησης των ασθενών

Το νευροβλάστωμα ανήκει στην ευρύτερη ομάδα των περιφερικών νευροβλαστικών όγκων. Σε αυτή περιλαμβάνονται το γαγγλιονευροβλάστωμα (intermixed και κονδυλώδες) και το γαγγλιονεύρωμα (Colon και Chung 2011). Με σκοπό να προβλεφτεί η συμπεριφορά του όγκου και για την καλύτερη διαχείρισή του έχει κριθεί απαραίτητη η σωστή αξιολόγηση των ασθενών και η κατηγοριοποίησή τους σε υποομάδες (Esposito et al, 2017). Το νευροβλάστωμα μπορεί να διαχωριστεί σε τρεις υποκατηγορίες βάση του βαθμού διαφοροποίησης των κυττάρων του και του δείκτη MKI (mitosis-karyorrhexis index) που αποτελεί μέτρο της συχνότητας εύρεσης καρκινικών κυττάρων που βρίσκονται σε μίτωση με καρυόρρηξη, δηλαδή κατακερματισμένο πύρηνα. Ο δείκτης αυτός παίρνει τις τιμές χαμηλός, ενδιάμεσος και υψηλός (Goto et al, 2001, Cheung και Dyer 2013).

Τα κύτταρα του νευροβλαστώματος έχουν ποικίλους βαθμούς διαφοροποίησης, η αξιολόγησή τους βοηθά στην πρόβλεψη της πρόγνωσης των ασθενών (VanArendonk και Chung 2018). Οι όγκοι ταξινομούνται βάση του βαθμού διαφοροποίησης σύμφωνα με τις οδηγίες του International Neuroblastoma Pathology Classification του International Neuroblastoma Pathology Committee. Τα αδιαφοροποίητα νευροβλαστώματα έχουν κακή πρόγνωση ενώ τα διαφοροποιημένα καλή.



Εικόνα 5: Διεθνής κατηγοριοποίηση νευροβλαστώματος πηγή: Arendonk και Chung.

Είναι κοινά αποδεκτό ότι ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας έχουν αυξημένο κίνδυνο θανάτου από την εξάπλωση της νόσου, ενώ νεογνά με εντοπισμένους όγκους θεραπεύονται σχεδόν πάντα ακόμα και χωρίς να χρειαστεί κυτταροτοξική θεραπεία (Maris 2010). Όμως για τους ασθενείς που βρίσκονται ενδιάμεσα αυτών των δύο άκρων οι απόψεις διίσταντο, δυσκολεύοντας την κοινή αποδοχή μιας συμφωνίας (consensus). Για την επίλυση αυτού του ζητήματος ξεκίνησε μια διεθνής προσπάθεια για την κοινή συμφωνία (Maris 2010). Στη μελέτη αυτή των Cohn et al, βρέθηκε ότι το έλλειμμα στο 11q σχετίζεται θετικά με έλλειμμα στο 17q και αρνητικά με την ενίσχυση του γονιδίου *MYCN* ενώ, δεν σχετίζεται με την πλοειδία και την δομική μετάλλαξη του 1p. Το νέο σύστημα ταξινόμησης International Neuroblastoma Risk Group Staging System (INRGSS), εισήχθη για την καλύτερη κατηγοριοποίηση των ασθενών και αντικατέστησε το παλιό (Cohn και Chung 2011). Οι υποομάδες σύμφωνα με το INRGSS αξιολογούνται ακτινολογικά βάση της ύπαρξης ή απουσίας παραγόντων κινδύνου (IDRF) και την ύπαρξη μετάστασης. Έτσι οι υποκατηγορίες διαμορφώνονται ως εξής όπως φαίνονται στο πίνακα.

Η ηλικία του ασθενούς, το στάδιο της νόσου τη στιγμή της διάγνωσης και ο βαθμός ενίσχυσης του γονιδίου *MYCN* στα κύτταρα του νευροβλαστώματος αποτελούν τα τρία καθοριστικά στοιχεία που επηρεάζουν το κλινικό αποτέλεσμα (Cohn et al, 2009). Σε συνδυασμό με το έλλειμμα του βραχίονα q του χρωμοσώματος 11 και του βραχίονα p του χρωμοσώματος 1, τις ιστολογικές ιδιότητες του όγκου και την πλοειδία αποτελούν τα θεμέλια της αξιολόγησης και κατηγοριοποίησης των ασθενών. Όμως ο τρόπος με τον οποίο η ετερογένεια του όγκου εξελίσσεται κατά την διάρκεια της θεραπείας παραμένει ακόμα άγνωστος (Cheung και Dyer 2013).

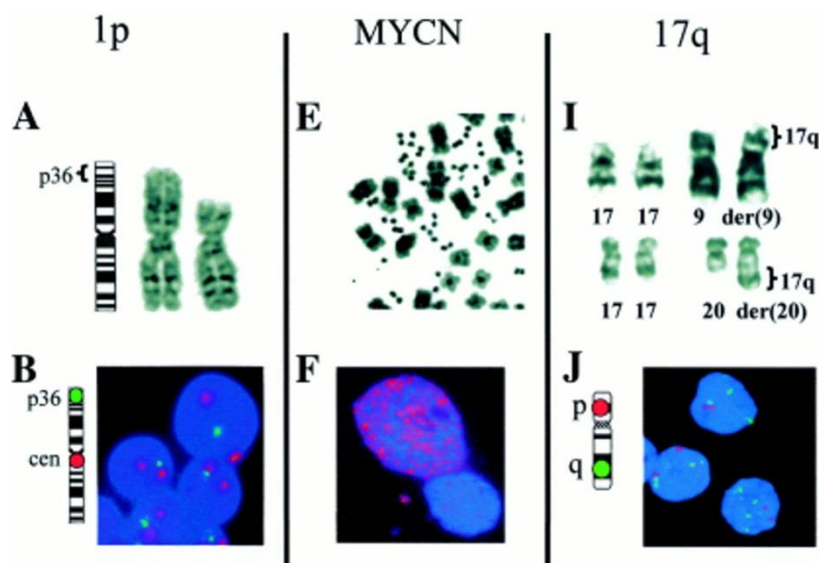
## **ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

Για την εκπόνηση της παρούσας εργασίας μελετήθηκαν κυρίως άρθρα ανασκόπησης που περιελάμβαναν διεθνείς οδηγίες και consensus στα οποία αναλύθηκαν 8800 ασθενείς από τη βάση δεδομένων του INRG με φθορίζον in situ υβριδισμό και γονιδιακά πάνελ.

## **Φθορίζον in situ υβριδισμός (fluorescent in situ hybridization, FISH)**

Ο φθορίζον in situ υβριδισμός είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση νουκλεϊκών οξέων μέσα στο κύτταρο. Είναι μια ισχυρή μέθοδος για την ανάλυση κυττάρων και ιστών σε γενετικό επίπεδο και θεωρείται gold standard για την κυτταρογενετική ανίχνευση χρωμοσωμικών ανακατατάξεων και ανωμαλιών. Η ανίχνευσή τους γίνεται μέσω της χρήσης ανιχνευτών σημασμένων με φθορίζουσες ουσίες (Huber et al 2018). Για την κατάταξη των όγκων στις κατάλληλες υποομάδες προτείνεται η χρήση αυτής της τεχνικής σε περίπτωση που δεν είναι

διαθέσιμη η αλληλούχιση. Σημαντικό πλεονέκτημα της μεθόδου αποτελεί η ανάλυση κύτταρο προς κύτταρο.



Εικόνα 6: (A) μεταφασικά χρωμοσώματα όπου φαίνεται έλλειμμα του 1p36, (B) αποτελέσματα FISH, (E) μεταφασικά χρωμοσώματα,(F) αποτελέσματα FISH όπου φαίνεται ενίσχυση του MYCN, (I) μεταφασικά χρωμοσώματα όπου παρατηρούνται μη ισοζυγισμένες μεταθέσεις που έχουν σαν αποτέλεσμα την προσθήκη του 17q, Bown 2001

## Αλληλούχιση

Η αλληλούχιση είναι η διαδικασία καθορισμού της πρωτοταγούς δομής δηλαδή της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων των νουκλεϊκών οξέων. Τα πάνελ γονιδίων ανήκουν στην αλληλούχιση επόμενης γενιάς όπου πραγματοποιείται η αλληλούχιση παρακολουθώντας τη σύνθεση του DNA, εν τω γενέσθαι, και ανά μόριο που συντίθεται. Με τα πάνελ γονιδίων αλληλουχούνται συγκεκριμένα γονίδια ή περιοχές που σχετίζονται με την ασθένεια ή χαρακτηριστικό υπό εξέταση, σε μικρότερο διάστημα και με μικρότερο κόστος από την αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος ενός ανθρώπου.

Για την ανίχνευση ανωμαλιών στο μυελοβλάστωμα συστήνεται η αλληλούχιση επόμενης γενιάς ολόκληρου του γονιδιώματος (WGS) ή αλληλούχιση των εξωνίων όλων των γονιδίων του γονιδιώματος υπό μελέτη (WES).

## Genome Wide Association Studies (GWAS)

Μελέτες ολόκληρου του γονιδιώματος (GWAS) έχουν αναδείξει γονίδια που εμπλέκονται στην παθολογία κάθε υποομάδας.

Στις μελέτες GWAS ελέγχεται ολόκληρο το γονιδίωμα των ασθενών με σκοπό την εύρεση γονιδίων που εμπλέκονται στην ασθένεια υπό μελέτη. Ερευνάται όλο το γονιδίωμα, ταυτόχρονα για εκατοντάδες μεταλλάξεις που εμφανίζονται συχνότερα στους ασθενείς από ότι στους υγιείς.

## **Πολλαπλή ενίσχυση υβριδοποιημένων ανιχνευτών με το ένζυμο της λιγάσης (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification, MLPA)**

Η τεχνική της εξαρτώμενης από την αντίδραση της λιγάσης, πολλαπλής ενίσχυσης ανιχνευτών (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification, MLPA) βασίζεται στην τεχνολογία της PCR και επιτρέπει την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση πολλαπλών αλληλουχιών σε ολόκληρο το γονιδίωμα σε μια αντίδραση, με τη χρήση ενός μόνο ζεύγους εκκινητών. Χρησιμοποιείται για την ανίχνευση ανωμαλιών που δεν δύναται να ανιχνευτούν με FISH λόγω του μικρού τους μεγέθους όπως είναι μικροελλείμματα, μικροδιπλασιασμοί και γονιδιακές ενισχύσεις σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές (Ambros et al, 2009). Με την χρήση των ίδιων εκκινητών η απόδοση της αντίδρασης είναι ίδια για κάθε αλληλουχία στόχο. Η διαδικασία περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

- Αποδιάταξη του DNA και υβριδισμός των ανιχνευτών (probe mix) στην DNA αλληλουχία στόχο.
- Αντίδραση λιγάσης για την συνένωση των υβριδοποιημένων ανιχνευτών.
- PCR για την ενίσχυση του τμήματος DNA που προκύπτει από την συνένωση των ανιχνευτών με την αντίδραση της λιγάσης.

## **Συγκριτικός Γενωμικός Υβριδισμός σε Μικροσυστοιχίες (array Comparative Genomic Hybridization, aCGH)**

Ο συγκριτικός γενωμικός υβριδισμός σε μικροσυστοιχίες aCGH, ή μοριακός καρυότυπος, είναι μια τεχνική της μοριακής γενετικής μέσω της οποίας εντοπίζονται υπομικροσκοπικά ελλείμματα ή διπλασιασμοί που δεν δύναται να ανιχνευτούν με τον συμβατικό καρυότυπο. Η μέθοδος βασίζεται στην αρχή του ανταγωνιστικού υβριδισμού των νουκλειϊκών οξέων και εκμεταλλεύεται την τεχνολογία μικροεκτύπωσης ολιγονουκλεοτιδικών ανιχνευτών πάνω σε γυάλινα slides.

Μέσω της τεχνικής αυτής δεν μπορούν να ανιχνευτούν σημειακές αλλαγές στην αλληλουχία ενός γονιδίου, μικρές προσθήκες (insertions) και απαλοιφές (deletions) νουκλεοτιδίων ή και νουκλεοτιδικές επεκτάσεις (expansions) ισοζυγισμένες μεταθέσεις καθώς και μικρό ποσοστό μωσαικισμού.

## **Κυτταρομετρία ροής**

Η κυτταρομετρία αναφέρεται σε μετρήσεις φυσικών ή/και χημικών χαρακτηριστικών κυττάρων ή άλλων βιολογικών μορίων π.χ. χρωμοσωμάτων. Η κυτταρομετρία ροής είναι μια τεχνική μέτρησης και ελέγχου μικροσκοπικών σωματιδίων όπως κύτταρα, χρωμοσώματα, κατά την επαναδιαλυτοποίησή τους σε ένα υγρό το οποίο ρέει μέσα από ένα μηχάνημα ηλεκτρονικής ανίχνευσης. Είναι μία ποσοτική και ποιοτική



μέθοδος που επιτρέπει την ταυτόχρονη και πολυμετρική ανάλυση, φυσικών ή/και χημικών χαρακτηριστικών.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το 2009 σε διεθνές consensus ειδικών στο νευροβλάστωμα κατέληξαν σε βιοδείκτες οι οποίοι δίνουν σημαντικές πληροφορίες για την κατηγοριοποίηση των ασθενών σε ομάδες κινδύνου, την πρόγνωση τους αλλά και την θεραπευτική τους αντιμετώπιση (Ambros et al 2009).

Πίνακας 1: Υποομάδες σύμφωνα με το σύστημα INRG προσαρμοσμένος από τους Cohnet et al

Υποομάδα	Περιγραφή	Πενταετής event free survival
<b>L1</b>	Εντοπισμένος όγκος σε ένα σημείο του σώματος που δεν περιλαμβάνει ζωτικές δομές	>85%
<b>L2</b>	Τοπικά υποτροπιάζον όγκος με ένα ή παραπάνω παράγοντες κινδύνου IDRF	≥ 75%-≤85%
<b>M</b>	Μεταστατική νόσος εκτός από MS	≥50%-≤75%
<b>MS</b>	Μεταστατική νόσος σε άτομα μεγαλύτερα των 18 μηνών που έχει επεκταθεί στο δέρμα, το ήπαρ ή/και στον μυελό των οστών	≤ 50%

## Γενετικό υπόβαθρο

Την τελευταία δεκαετία έχουν γίνει σημαντικά βήματα προς την κατανόηση των υποκείμενων γενετικών συμβάντων που πυροδοτούν την ογκογένεση και ανάπτυξη του νευροβλαστώματος (Bosse και Maris, 2016). Πολλά από τα αρχικά συμβάντα έχουν ταυτοποιηθεί πρόσφατα και έχουν βελτιώσει την κατανόηση μας για της βιολογικές ανωμαλίες που ωθούν και καθοδηγούν την ογκογένεση του νευροβλαστώματος. Παράλληλα έχουν αναδείξει πιθανά μονοπάτια στόχους για θεραπεία.

Στα κύτταρα των κακοηθειών της παιδικής ηλικίας εμφανίζονται με μικρότερη συχνότητα σωματικές μεταλλάξεις από ότι σε καρκίνους των ενηλίκων στους οποίους ανιχνεύονται συχνότερα σωματικές και σπανιότερα μεταλλάξεις της γαμετικής σειράς (Vogelstein et al, 2013). Επομένως, παρά τις εκτεταμένες προσπάθειες αλληλούχισης του γονιδιώματος των καρκινικών κυττάρων, έχουν βρεθεί λίγες επαναλαμβανόμενες μεταλλάξεις παρούσες τη στιγμή της διάγνωσης (Sausen et al, 2013, Pugh et al, 2013, Molenaar et al, 2012, Cheung et al, 2012).

## Οικογενές νευροβλάστωμα

Το οικογενές νευροβλάστωμα είναι σπάνιο και αντιστοιχεί στο 1%-2% όλων των περιπτώσεων νευροβλαστώματος (Mosse et al, 2008).

Κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο και έχει μειωμένη διεισδυτικότητα (65%) (Nakagawara et al 2018). Στις οικογένειες αυτές η νόσος εμφανίζεται ως επί το πλείστον σε μικρότερη ηλικία όπου παρατηρούνται περισσότεροι πολλαπλοί πρωτογενείς όγκοι σε σχέση με σποραδικούς.

Συχνότερα εμφανίζονται μεταλλάξεις στο γονίδιο (ογκογονίδιο) **ALK** του υποδοχέα κινάσης τυροσίνης, ο οποίος εκφράζεται κατά την ανάπτυξη των κυττάρων του νευρικού (Cheung και Dyer, 2013). Πιθανόν να συμμετέχει στη ρύθμιση της ισορροπίας μεταξύ πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης μέσω ποικίλων μονοπατιών, συμπεριλαμβανομένου των μονοπατιών των MAPK και RAP1 (Soultou et al, 2001, Motegi et al, 2004, Schonherr et al, 2010). Οι μεταλλάξεις στο *ALK* σχετίζονται με μικρότερη πιθανότητα επιβίωσης των ασθενών με νευροβλάστωμα ενδιάμεσου και υψηλού κινδύνου (Bresler et al, 2014). Μεταλλάξεις στην *ALK* ανιχνεύονται και στο σποραδικό νευροβλάστωμα.

Στο οικογενές νευροβλάστωμα η *ALK* ενεργοποιείται μέσω παρανοηματικών (missense) μεταλλάξεων κέρδους λειτουργίας στην περιοχή κινάσης τυροσίνης στην γενωμική περιοχή 2p23-24, ενώ συχνά τέτοιου τύπου μεταλλάξεις έχουν παρατηρηθεί και στο σποραδικό νευροβλάστωμα σε συγκεκριμένα hotspots όπως τα R1275Q και F1174L (Colon και Chung, 2011, Bosse και Maris, 2016, Kelleher και McDermott, 2010). Παρόλο που οι περισσότερες σωματικές μεταλλάξεις ενεργοποίησης της *ALK* δεν εμφανίζονται στην γαμετική σειρά, η πιο κοινή σωματική μετάλλαξη (R1275Q) είναι και η πιο κοινή μετάλλαξη της γαμετικής σειράς (Bresler et al, 2014, de Pontual et al, 2011). Σε σπάνιες περιπτώσεις μετάλλαξεις κέρδους λειτουργίας όπως οι μεταλλάξεις F1245V και F1174V στην γαμετική σειρά, οδηγούν όχι μόνο σε νευροβλάστωμα αλλά και σε αναπτυξιακά και νευρολογικά προβλήματα, υποδηλώνοντας τον σημαντικό ρόλο της *ALK* στην φυσιολογική ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος (Bresler et al, 2014, de Pontual et al, 2011). Βάση αυτών των αποτελεσμάτων έχουν ξεκινήσει κλινικές δοκιμές μικρομοριακών αναστολέων της πρωτεΐνης με σκοπό να γίνουν άμεσα διαθέσιμοι στους ασθενείς (Mosse et al, 2013).

Άλλη μία μετάλλαξη στο οικογενές νευροβλάστωμα αναγνωρίστηκε στο γονίδιο **PHOX2B** που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 4q12 και που κωδικοποιεί για έναν μεταγραφικό παράγοντα που προωθεί την έξοδο από τον κυτταρικό κύκλο και την νευρωνική διαφοροποίηση, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των αυτόνομων νευρώνων (Mosse et al, 2004, Trochet et al, 2004 Trochet et al, 2005, Raabe et al, 2008). Σπάνιως το νευροβλάστωμα συσχετίζεται με το σύνδρομο congenital central hypoventilation syndrome (Ondine curse) λόγω μεταλλάξεων στην πρωτεΐνη PHOX2B. Μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας έχουν σαν αποτέλεσμα την απώλεια τελικής διαφοροποίησης των κυττάρων του

νευροβλαστώματος και βρίσκονται στο 10% των οικογενών νευροβλαστωμάτων (Raabe et al, 2008, Amiel et al, 2003).

Εικάζεται ότι οι πρωτεΐνες ALK και PHOX2B αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (Bachetti et al, 2010). Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται ότι η PHOX2B ρυθμίζει άμεσα την έκφραση της ALK, γεγονός που αναδεικνύει τη σύνδεση των μονοπατιών των δύο πρωτεϊνών που παρατηρούνται μεταλλάξεις στο οικογενές νευροβλάστωμα (Bachetti et al, 2010). Μεταλλάξεις κέρδους λειτουργίας στο γονίδιο της ALK έχουν συσχετιστεί με το κληρονομικό νευροβλάστωμα με μεγάλη διεισδυτικότητα (Mosse 2008, Janoueix-Lerosey 2008). Γενετικός έλεγχος των γονιδίων των ALK και PHOX2B για μεταλλάξεις της γαμετικής σειράς γίνεται σε παιδιά με οικογενειακό ιστορικό νευροβλαστώματος καθώς και στα παιδιά με αμφίπλευρο νευροβλάστωμα (Bosse και Maris, 2016). Ασυμπτωματικά παιδιά στα οποία έχουν βρεθεί μεταλλάξεις στα γονίδια ALK ή PHOX2B, ελέγχονται κάθε τρεις μήνες με υπέρηχο κοιλίας και με μέτρηση των επιπέδων κατεχολαμινών στα ούρα μέχρι την ηλικία των πέντε ετών (Bosse και Maris, 2016). Όμως δεν υπάρχουν κατευθυντήριες οδηγίες που να επιβεβαιώνουν αυτές τις κλινικές πρακτικές.

Επίσης υπάρχουν πολλά σύνδρομα που περιλαμβάνουν αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης νευροβλαστώματος. Τα σύνδρομά είναι τα εξής:

- Costello
- Noonan
- Νευροϊνωμάτωση τύπου 1
- Li-Fraumeni
- Οικογενή σύνδρομα φαιοχρωμοκυτώματος/παραγαγγλιώματος
- Σύνδρομο ROHHAD (rapid-onset obesity, hypothalamic dysfunction, hypoventilation, and autonomic dysfunction)
- Beckwith-Wiedemann

**Πίνακας 2: Σύνδρομα καρκινικής προδιάθεσης που περιλαμβάνουν και αυξημένη πιθανότητα προδιάθεσης νευροβλαστώματος προσαρμοσμένος από Barr και Applebaum 2018.**

<b>Ασθένεια</b>	<b>Γονίδιο</b>	<b>Τύπος μετάλλαξης</b>	<b>Προδιαθεσικοί όγκοι</b>
Congenital Central Hypoventilation Syndrome (CCHS)	<i>PHOX2B</i>	Αλλαγής πλαισίου ανάγνωσης (frameshift) ή δυσερμινεύσιμες (missense)	Νευροβλάστωμα Γαγγλιονεύρωμα Γαγγλιονευροβλάστωμα
ROHHAD	Άγνωστο	Άγνωστο	Νευροβλάστωμα Γαγγλιονεύρωμα Γαγγλιονευροβλάστωμα
Costello	<i>HRAS</i>	Δυσερμινεύσιμες μεταλλάξεις	Θύλωμα (Papilloma),

		πρόσθετης λειτουργικότητας (Activating missense)	Ραυδομυοσάρκωμα, Νευροβλάστωμα
Noonan	<i>PTPN11, SOS1, RAF1, KRAS</i>	πρόσθετης λειτουργικότητας (activating)	Λευχαιμία, Νευροβλάστωμα
Νευροϊνωμάτωση τύπου 1	<i>NF1</i>	πρόσθετης λειτουργικότητας (activating)	Νευρίνωμα, κακόηθες σβάννωμα (malignant peripheral nerve sheath tumor, MPNST), Όγκοι του εγκεφάλου, Λευχαιμία, Οπτικό γλοίωμα, Νευροβλάστωμα
Beckwith–Wiedemann	<i>CDKN1C*, H19, IGF2, KNBQOT1</i>	Ανώμαλη μεθυλίωση (Abnormal methylation) του χρωμοσώματος 11 ή μονογονεϊκή δισωμία (uniparental disomy)	Όγκος του Wilms, Ηπατοβλάστωμα, Νευροβλάστωμα
Li–Fraumeni	<i>TP53</i>	Δυσερμινεύσιμες	Καρκίνος του μαστού, οστεοσάρκωμα, όγκοι του εγκεφάλου Νευροβλάστωμα, Λευχαιμία, adrenocortical carcinoma, Καρκίνος των μαλακών ιστών
Weaver Syndrome	<i>EZH2</i>	Δυσερμινεύσιμες και μη νοηματικές (truncating)	Νευροβλάστωμα
Οικογενή σύνδρομα φαιοχρωμοκυττώματος/παραγαγγλιώματος	<i>SDHB*, SDHAF2, SDHC, SDHD</i>	Σημείου συρραφής (Splice site), αλλαγής πλαισίου ανάγνωσης (frameshift), μη νοηματικές (nonsense)	Παραγαγγλίωμα, Φαιοχρωμοκύττωμα, Νευροβλάστωμα
Αναιμία Fanconi	<i>FANCA, FANCC, FANCG, BRCA1, BRCA2*, PALB2*, BRIP1*</i>	Μη νοηματικές, αλλαγής πλαισίου ανάγνωσης, δυσερμινεύσιμες	Όγκος του Wilms Λευχαιμία, μυελοβλάστωμα, Νευροβλάστωμα, Εμβρυικοί όγκοι, σαρκώματα, νεφροβλάστωμα

Η αμερικάνικη ένωση για την έρευνα στον καρκίνο (American Association for Cancer Research, AACR) προτείνει έλεγχο των ατόμων με προδιαθεσικές μεταλλάξεις με βιοχημική και ακτινολογική παρακολούθηση, με σκοπό την έγκαιρη διάγνωση όγκων στα πρώτα δέκα χρόνια ζωής τους. Η παρακολούθηση ξεκινά μετά τη γέννηση ή κατά τη διάγνωση της προδιάθεσης για νευροβλάστωμα και συνεχίζει ανά τρεις μήνες μέχρι την ηλικία των 6 ετών. Στη συνέχεια ο έλεγχος γίνεται κάθε 6 μέχρι τα 10 έτη.

### **Σποραδικό νευροβλάστωμα**

Το σποραδικό νευροβλάστωμα έχει μελετηθεί με μελέτες GWAS οι οποίες έχουν βοηθήσει στην ταυτοποίηση νέων μονοπατιών στην έναρξη και ανάπτυξη της ασθένειας. Έχουν ταυτοποιηθεί **SNPs** στα εξής γονίδια: *LINC00340* και *LOC729177* (FLJ44180). Ενώ παράλληλα έχουν βρεθεί πολυμορφισμοί στα γονίδια *BARD1* (σε Αφροαμερικάνους), *PTPRD*, *ODZ3*, *PTPN11*, *MYCN* (P44L), *NRAS*, *LMO1*, *DUSP12*, *HSD17B12*, *DDX4-IL31RA*, *HACE1* και *LIN28B* (Bosse και Maris, 2016, Sausen et al, 2013, Pugh et al, 2013, Molenaar et al, 2013).

Μεταλλάξεις στο γονίδιο *PHOX2B* και σε γενετικούς τόπους που αναδεικνύονται από μελέτες ολόκληρου του γονιδιώματος (GWAS) είναι σχετικά σπάνιες στο σποραδικό νευροβλάστωμα, όμως περίπου 6-10% των σποραδικών αυτών όγκων φέρουν σωματικές μεταλλάξεις ενεργοποίησης στην *ALK* και το 3-4% φέρουν μεταλλάξεις αύξησης του αριθμού αντιγράφων του γονιδίου (Mosse et al, 2008, Chen et al, 2008). Το γεγονός ότι το *ALK* βρίσκεται και στο σποραδικό αλλά και στο οικογενές όπως προαναφέρθηκε δείχνει ότι η *ALK* είναι ένας κύριος οδηγός της ογκογένεσης στο νευροβλάστωμα με μεταλλάξεις κέρδους λειτουργίας και αύξησης του αριθμού των γονιδιακών αντιγράφων να σχετίζονται με δυσμενές κλινικό αποτέλεσμα (Berry et al, 2012, Schulte et al, 2011).

### **Δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες**

Σε γενικές γραμμές, στα κύτταρα των νευροβλαστωμάτων χαμηλού, ενδιάμεσου ρίσκου και σταδίου 4S ανιχνεύονται αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Ενώ, στα κύτταρα των νευροβλαστωμάτων υψηλού κινδύνου χρωμοσωμικές ανακατατάξεις (Maris 2010). Η επίπτωση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών αυτών, αυξάνεται με την ηλικία του ασθενή κατά τη διάγνωση και παρέχει πληροφορίες για την πρόγνωση και την έκβαση της νόσου (Molenaar et al 2013, Cheung et al, 2012, Coco et al, 2012).

Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες στις περιοχές 1p (συνήθως έλλειμμα 1p36), 1q (συνήθως προσθήκη 1q23), 3p, 11q (συνήθως έλλειμμα 11q23), 14q, και 17p ανιχνεύονται καλύτερα με συγκριτικό γενωμικό υβριδισμό (Janoueix-Lerosey et al, 2009, Schleiermacher et al, 2011, Carén et al, 2010, Schleiermacher et al, 2010, Defferrari et al, 2015).

Απαντώνται σε νευροβλαστώματα υψηλού κινδύνου ή/και σταδίου. Ανάμεσα στους ασθενείς αυξημένος αριθμός χρωμοσωμικών θραυσμάτων συνεπώς και δομικών ανωμαλιών συνάδει με τα εξής:

- Προχωρημένη ηλικία διάγνωσης
- Προχωρημένο στάδιο της νόσου
- Υψηλότερος κίνδυνος υποτροπής
- Φτωχότερο αποτέλεσμα

Σε παιδιά μεγαλύτερα των 18 μηνών έχει παρατηρηθεί σημαντική διαφορά στην επιβίωση μεταξύ ασθενών με δομικές ανωμαλίες (67%) και χωρίς (100%) ανεξάρτητα από την ιστολογία του όγκου. Οι δομικές ανωμαλίες είναι επίσης ενδεικτικές της υποτροπής στα νεογνά με εντοπισμένη ή μεταστατική νόσο χωρίς ενίσχυση του *MYCN*.

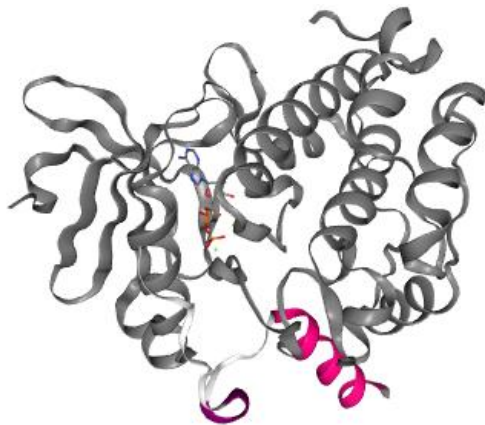
Επιβεβαιωμένοι δείκτες που επισημαίνουν κακή πρόγνωση είναι έλλειμμα του 1p, 11q και προσθήκη της περιοχής 17q στο χρωμόσωμα 1. Επίσης, έχουν βρεθεί αλλά όχι τεκμηριωθεί ελλείμματα στα 3p, 4p, 9p και 14q και προσθήκες στα 1q, 2p, 7q, και 11p έχουν συσχετιστεί με την μη ευνοϊκή έκβαση της νόσου (Caron et al, 1996, Attiyeh et al, 2005, Bown et al, 1999, Vandesompele et al, 2005).

### **Γενετικοί βιοδείκτες ευρέως αποδεκτοί από τοconsensus του 2009**

Οι παρακάτω βιοδείκτες σύμφωνα με το διεθνές consensus του 2009 έχουν σημαντική προγνωστική αξία και αξιοποιούνται στην κλινική πράξη για την κατηγοριοποίηση, την παρακολούθηση και την επιλογή κατάλληλης θεραπείας για τους ασθενείς με νευροβλάστωμα.

### **MYCN**

Μία από τις συχνότερες γενετικές ανακατατάξεις είναι η ενίσχυση του γονιδίου *MYCN*, το οποίο εδράζεται κοντά στο γονίδιο που κωδικοποιεί για την ALK. Παρατηρείται στο 16-25% των όγκων και σηματοδοτεί την κακή έκβαση της νόσου (Brodeur, 2003, Ambros et al, 2009). Στους ασθενείς με νευροβλάστωμα υψηλού κινδύνου απαντάται σε ποσοστό 40-50% (Kreissman et al, 2013). Αναλύσεις έδειξαν ότι σε όλα τα στάδια της ασθένειας ενίσχυση του *MYCN* προβλέπει την κακή πρόγνωση για την επιβίωση και την πρόοδο της νόσου. Σε μελέτη κοορτής όπου συμμετείχαν ασθενείς με εντοπισμένο όγκο με ενίσχυση του *MYCN* φάνηκε ότι η υπερδιπλοειδία αποτελεί ευνοϊκό προγνωστικό παράγοντα σε σχέση με την διπλοειδία. Όμως ασθενείς με υπερδιπλοειδείς όγκους και ενίσχυση του *MYCN* ή οποιαδήποτε άλλη δομική ανωμαλία έχουν χειρότερη πρόγνωση από ασθενείς με υπερδιπλοειδείς όγκους χωρίς ενίσχυση του *MYCN*.



PDB ID 5G1X.B

**Εικόνα 7: Δομή της πρωτεΐνης MYCN.**

Η πρωτεΐνη *MYCN* είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που εδράζεται στο χρωμόσωμα 2 στην περιοχή 2p24 και ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό, την ανάπτυξη, την διαφοροποίηση και την κυτταρική επιβίωση κατά την ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος (Grimmer και Weiss, 2006). Είναι πρωτοογκογονίδιο ομόλογο του MYC (c-MYC) και εκφράζεται στη αναπτυσσόμενη νευρική ακρολοφία όπου ρυθμίζεται από πληθώρα σηματοδοτικών μονοπατιών όπως το Wnt και το Hedgehog (Bagca και Ancic, 2016, Grimmer και Weiss, 2006).

Η γενετική αυτή ανακατάταξη που πλέον χαρακτηρίζεται ως κλασική στο νευροβλάστωμα, η γονιδιακή ενίσχυση του ογκογονιδίου *MYCN*, σχετίζεται με δυσμενές κλινικό αποτέλεσμα (Brodeur et al, 1984, Seeger et al, 1985). Συνάδει με κλινικά επιθετική νόσο προχωρημένου σταδίου και αποτυχία της θεραπευτικής αγωγής (Brodeur et al, 1984, Seeger et al, 1985).

Ο μεταγραφικός παράγοντας που κωδικοποιείται από το *MYCN* δημιουργεί ετεροδιμερή με την πρωτεΐνη MAX, η οποία λειτουργεί ως ρυθμιστής της μεταγραφής, και ενεργοποιούν την μεταγραφή των γονιδίων στόχων τους (Cascon και Robledo, 2012). Έτσι η πρωτεΐνη MYCN θεωρήθηκε ότι θα μπορούσε να αποτελέσει πιθανό στόχο για την θεραπεία του νευροβλαστώματος (Burkhardt et al, 2003, Kanget al, 2006). Όμως η στόχευση του MYCN με μοριακούς αναστολείς αποδείχθηκε δύσκολη λόγω της δυσκολίας της στόχευσης πλειοτροπικών μεταγραφικών παραγόντων που εκφράζονται σε όλους τους ιστούς και του μικρού μεγέθους της περιοχής πρόσδεσης του MYCN στις δύο α-έλικές του (Luscher και Larsson, 1999). Για αυτούς τους λόγους παρόλο που το *MYCN* έχει συσχετιστεί εδώ και 30 χρόνια με το νευροβλάστωμα, δεν είχε βρεθεί μέχρι πρόσφατα τρόπος στόχευσής της για την θεραπεία του νευροβλαστώματος. Πλέον έχουν αναπτυχθεί εναλλακτικοί τρόποι στόχευσης μέσω παράκαμψης της ανάγκης για άμεση στόχευση της πρωτεΐνης. Οι στρατηγικές εναλλακτικής στόχευσης της MYCN περιλαμβάνουν: παρεμπόδιση της αλληλεπίδρασης

MYCN/MAX, η ανάπτυξη μικρών μορίων που παρεμποδίζουν την μεταγραφή του γονιδίου ή την τη σταθερότητα της πρωτεΐνης και παραγωγή φαρμάκων που στοχεύουν συνθετικές αλληλεπιδράσεις του MYCN με παράγοντες που προκαλούν την καταστροφή του (Huang και Weiss, 2013, Barone et al, 2013).

**Πίνακας 3: Κατηγοριοποίηση νευροβλαστωμάτων βάση των γενετικών τους χαρακτηριστικών προσαρμοσμένος από International consensus for neuroblastoma molecular diagnostics, 2009.**

Νευροβλαστικοί όγκοι	Πορεία	Γενετική	
Επιθετικό νευροβλάστωμα	Πρόοδος- εξέλιξη της νόσου	Μεταλλάξεις Ενίσχυση MYCN Με ή χωρίς δομικές ανωμαλίες	Πλοειδία 2 n/ 4n
	Πρόοδος- εξέλιξη της νόσου	Χωρίς ενίσχυση MYCN Με δομικές ανωμαλίες Όπως: έλλειμμα 11q και 1p προσθήκη 17q  Χωρίς ενίσχυση MYCN Και χωρίς δομικές ανωμαλίες;	
Καλοήθες διπλοειδές νευροβλάστωμα	Χωρίς δομικές ανωμαλίες;		
Επιθετικό τριπλοειδές νευροβλάστωμα	Ενίσχυση MYCN, δομικές ανωμαλίες		
Καλοήθες νευροβλάστωμα	Αυθόρμητη υποστροφή σταδίου 4S/MS και υπολειμματικής νόσου	Χωρίς ενίσχυση MYCN	+/- 3n
	Αυθόρμητη ωρίμανση	Πιθανή ύπαρξη δομικών ανωμαλιών	

### 11q23

Απώλεια της γενωμικής περιοχής 11q23 παρατηρείται στο ένα τρίτο των νευροβλαστωμάτων, έχει συσχετιστεί με κακή πρόγνωση, μεγαλύτερη ηλικία διάγνωσης, απουσία ενίσχυσης του MYCN και άλλα χρωμοσωμικά σπασίματα (Attiyeh et al, 2005). Η συχνότητα εύρεσης του ελλείμματος αυξάνεται με το στάδιο της νόσου. Πιο συγκεκριμένα απαντάται στο 8% των όγκων πρώτου σταδίου και στο 52% των όγκων τετάρτου σταδίου (Spitz et al, 2006). Το γεγονός ότι σχετίζεται αρνητικά με την ενίσχυση του MYCN καθιστά αυτό το έλλειμμα σημαντικό βιοδείκτη για τον επιθετικό υπότυπο νευροβλαστώματος χωρίς ενίσχυση του MYCN (Attiyeh et al, 2005). Συνήθως παρατηρείται μαζί με έλλειμμα της γενωμικής περιοχής 3p σε όγκους προχωρημένου σταδίου, όμως θεωρείται ότι το έλλειμμα του χρωμοσώματος 3 συμβαίνει αργότερα στην ογκογένεση (Vandesompele et



al, 2005). Παρόλο που δεν έχουν ταυτοποιηθεί ακόμα τα υπεύθυνα γονίδια για την ογκογένεση που εδράζονται στις χρωμοσωμικές αυτές περιοχές, είναι πιθανόν τα μεγάλα ελλείμματα τους να επηρεάζουν ταυτόχρονα πολλά γονίδια μέσω ανώμαλης μεθυλίωσης και άλλων επιγενετικών μηχανισμών (Bosse και Maris 2016).

### **Πλοειδία**

Η πλοειδία ή αλλιώς δείκτης DNA των όγκων του νευροβλαστώματος έχει αναδειχθεί ως ένας σημαντικός δείκτης της έκβασης του ασθενούς. Είναι από τους κύριους δείκτες που χρησιμοποιούνται από το σύστημα κατηγοριοποίησης των ασθενών INRG, αποτελεί σημαντικό δείκτη για τους ασθενείς μικρότερους των 18 μηνών (Cohn et al, 2009, Look et al, 1991). Διπλοειδείς όγκοι (δείκτης DNA) παρατηρούνται στο ένα τρίτο των ασθενών, ενώ τα δύο τρίτα εμφανίζουν υπερδιπλοειδία με δείκτη DNA >1 (Look et al, 1991). Νεογνά με υπερδιπλοειδείς όγκους έχουν σημαντικά αυξημένη πιθανότητα επιβίωσης (Look et al, 1991). Λόγω της αξιοπιστίας του ο δείκτης DNA συνεχίζει να χρησιμοποιείται προγνωστικός δείκτης από τα περισσότερα συστήματα κατηγοριοποίησης. Όμως με την πρόοδο της τεχνολογίας στον τομέα των γενομικών τεχνικών έχει γίνει σαφές ότι οι μεταλλάξεις αριθμού αντιγράφων του νευροβλαστώματος μπορούν να χωριστούν σε δύο κύριες γενικές κατηγορίες οι οποίες ανεξάρτητα από τους γενετικούς τόπους που περιέχουν έχουν κλινική προγνωστική αξία (Schleiermacher et al, 2012, Janoueix-Lerosey et al, 2009).

Σε γενικές γραμμές, όγκοι με προσθήκες ολόκληρων χρωμοσωμάτων (υπερδιπλοειδία) σχετίζονται με χαμηλότερο κίνδυνο και ευνοϊκό κλινικό αποτέλεσμα ενώ όγκοι με τμηματικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες χαρακτηρίζονται ως υψηλού κινδύνου και σχετίζονται με πιο κλινικά επιθετική νόσο (Schleiermacher et al, 2012, Janoueix-Lerosey et al, 2009).

**Πίνακας 4: Σύστημα ταξινόμησης των ασθενών σύμφωνα με το consensus του INRG Cohn et al 2009**

INRG Stage	Age (months)	Histologic Category	Grade of Tumor Differentiation	MYCN	11q Aberration	Ploidy	Pretreatment Risk Group
L1/L2		GN maturing; GNB intermixed					A Very low
L1		Any, except GN maturing or GNB intermixed		NA Amp			B Very low K High
L2	< 18	Any, except GN maturing or GNB intermixed		NA	No		D Low
					Yes		G Intermediate
	≥ 18	GNB nodular; neuroblastoma	Differentiating Poorly differentiated or undifferentiated	NA NA Amp	No		E Low
					Yes		H Intermediate
							N High
M	< 18			NA		Hyperdiploid	F Low
	< 12			NA		Diploid	I Intermediate
	12 to < 18			NA		Diploid	J Intermediate
	< 18			Amp			O High
	≥ 18						P High
MS	< 18			NA	No		C Very low
					Yes		Q High
					Amp		R High

## Βιοδείκτες σημαντικής κλινικής σημασίας εκτός consensus

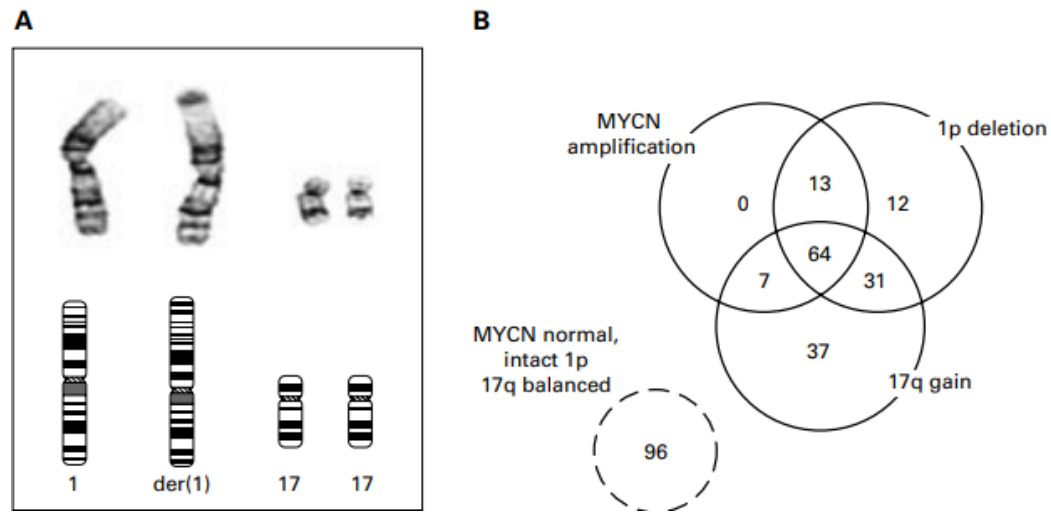
### 1p36

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, τα ελλείμματα 1p36 και 11q23 έχουν προγνωστική αξία στο νευροβλάστωμα (White et al, 2001, Attiyeh et al, 2005). Απώλεια της ετεροζυγωτίας (Loss of heterozygosity, LOH) στο 1p36 συμβαίνει στο 70% των νευροβλαστωμάτων και στο 23-35% των πρωτοπαθών όγκων και σχετίζεται με χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου όπως μεγαλύτερη ηλικία, ενίσχυση του *MYCN* και μετάσταση (White et al, 2001, Attiyeh et al, 2005).

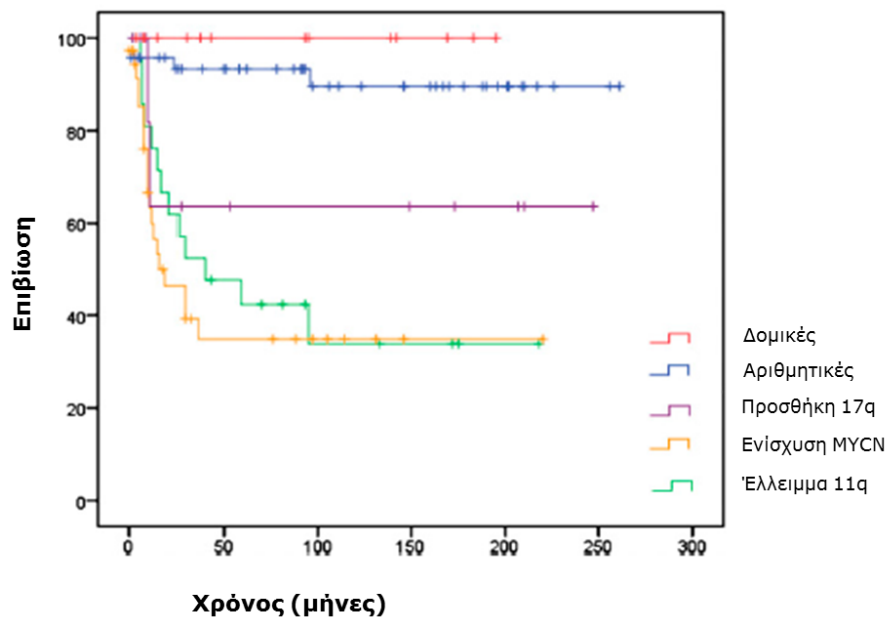
### 17q

Η συχνότερη γενετική ανωμαλία στο νευροβλάστωμα είναι η προσθήκη του άπω τμήματος του βραχίονα q του χρωμοσώματος 17 συνήθως στο χρωμόσωμα 1. Παρατηρείται στο 80% των νευροβλαστωμάτων και στο 50% των πρωτοπαθών όγκων (Bown et al, 1999, Bown et al, 2001, Van Royet al, 2009). Ενώ ο διπλασιασμός ολόκληρου του χρωμοσώματος 17 σχετίζεται με καλή πρόγνωση, οι μη ισοζυγισμένες μεταθέσεις του με τα χρωμοσώματα 1p και 11q είναι δείκτης κακής πρόγνωσης και σχετίζεται συχνά με άλλους βιοδείκτες που παραπέμπουν σε επιθετικό νευροβλάστωμα όπως η γονιδιακή ενίσχυση του *MYCN*, τη μεγαλύτερη ηλικία και το έλλειμμα του βραχίονα p του χρωμοσώματος 1 (Bown et al, 1999, Bown et al, 2001, Van Royet al, 2009). Όμως δεν έχει ταυτοποιηθεί

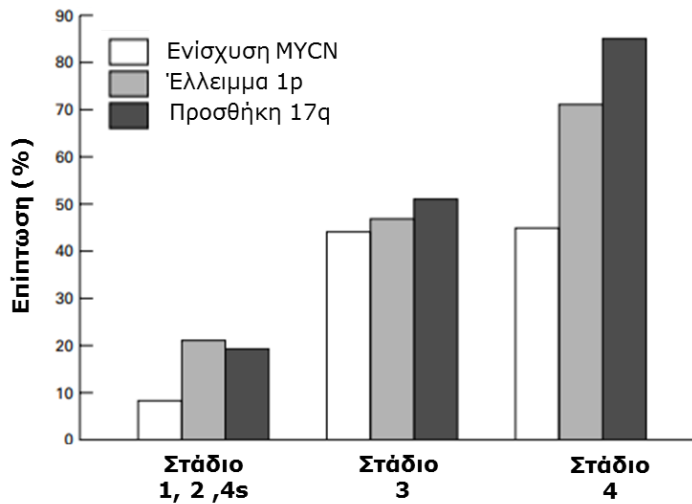
ακόμα ο μηχανισμός μέσω του οποίου συμμετέχει στην επιθετική ογκογένεση του νευροβλαστώματος.



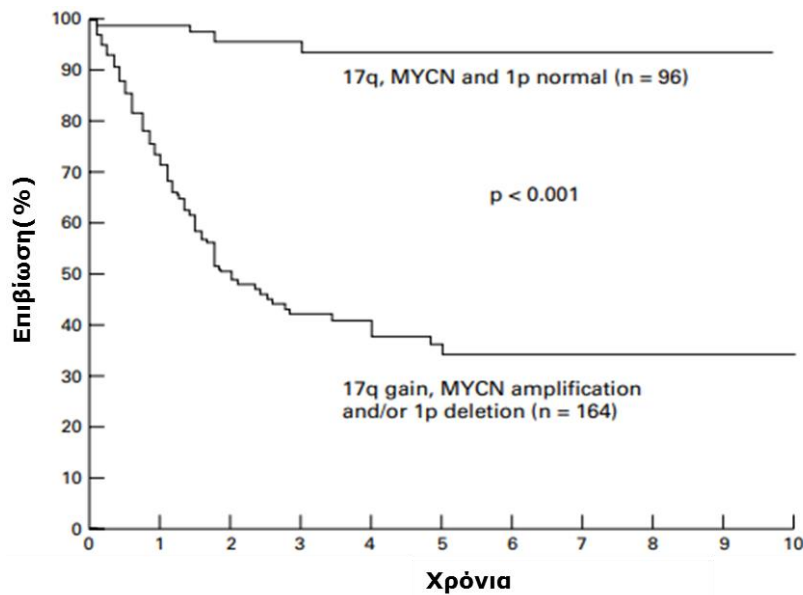
**Εικόνα 8:** (A) Μη ισοζυγισμένη μετατόπιση που έχει σαν αποτέλεσμα την απώλεια του 1p3.6 και την προσθήκη του 17q21-qter. (B) Σχέση των πιο συχνών ανωμαλιών σε πρωτοπαθείς όγκους. Πηγή: Bown et al 2001.



**Εικόνα 9:** Διάγραμμα επιβίωσης ασθενών ανάλογα με τους τύπους μεταλλάξεων προσαρμοσμένο από Carén et al 2009.



**Εικόνα 10:** Επίπτωση γενετικών ανωμαλιών σε κάθε στάδιο του νευροβλαστώματος προσαρμοσμένη από Bown et al 2001.



**Εικόνα 11:** Σχέση γενετικών χαρακτηριστικών και έκβασης της νόσου προσαρμοσμένη από Bown et al 2001.

Στον πίνακα 3 συνοψίζονται σημαντικότεροι δείκτες για την εκτίμηση του κινδύνου των ασθενών με νευροβλάστωμα καθώς και οι τεχνικές ανίχνευσής τους.

**Πίνακας 5:** Δείκτες πρόγνωσης στο νευροβλάστωμα και τεχνικές ανίχνευσής τους προσαρμοσμένος από Ambroset al 2009

Δείκτες	Πρόγνωση	Μέθοδος ελέγχου
MYCN (2p24)	Κακή	FISH,PCR, MLPA, aCGH
Έλλειμμα 11q	Κακή	FISH,PCR, MLPA, aCGH
Έλλειμμα 1p	Κακή	FISH,PCR, MLPA, aCGH
Έλλειμμα 17q	Κακή	FISH,PCR, MLPA, aCGH
Πλοειδία	3n Καλή 2n, 4n Κακή	κυτταρομετρία ροής

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### Γενετικά και βιολογικά χαρακτηριστικά

Οι ασθενείς με νευροβλάστωμα, οι οποίοι είναι ως επί το πλείστον παιδιά διαχωρίζονται σε υποομάδες με διαφορετικό κίνδυνο υποτροπής σύμφωνα με κλινικούς παράγοντες και βιολογικούς δείκτες τη στιγμή της διάγνωσης.

#### **A) Ασθενείς χαμηλού ή ενδιάμεσου κινδύνου**

Ασθενείς που κατηγοριοποιούνται ως χαμηλού ή ενδιάμεσου κινδύνου έχουν ευνοϊκή πρόγνωση, με ποσοστό επιβίωσης που υπερβαίνει το 95%. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει κυρίως παιδιά μικρότερα των 18 μηνών, οι όγκοι τους είναι συνήθως κοντά στην τριπλοειδία.

#### **B) Ασθενείς υψηλού κινδύνου**

Η πρόγνωση σε αυτή την ομάδα είναι λιγότερο ευνοϊκή με το ποσοστό μακροπρόθεσμης επιβίωσης να είναι χαμηλότερο του 50%. Το νευροβλάστωμα υψηλού κινδύνου εμφανίζεται ως επί το πλείστον σε παιδιά μεγαλύτερα των 18 μηνών και είναι συχνά μεταστατικό στα οστά. Δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες προσθήκες ή ελλείμματα και ενίσχυση του *MYCN* ανιχνεύονται συνήθως στους όγκους αυτής της ομάδας οι οποίοι είναι σχεδόν διπλοειδείς ή τετραπλοειδείς. Κύρια γενομικά χαρακτηριστικά των νευροβλαστωμάτων υψηλού κινδύνου αποτελούν τα εξής:

- Δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες
- Γονιδιακή ενίσχυση του *MYCN*

### Θεραπεία ανά ομάδα

Η κατηγοριοποίηση σύμφωνα με το σύστημα INRG (International Neuroblastoma Risk Group) χρησιμοποιείται για να καθοριστεί η καλύτερη δυνατή στρατηγική για τον έλεγχο του νευροβλαστώματος κάθε ασθενή. Εστιάζοντας στην ελαχιστοποίηση ή ακόμα και αποφυγή της θεραπείας σε ασθενείς χαμηλού κινδύνου και στην εντατικοποίηση της θεραπείας για ασθενείς υψηλού κινδύνου με σκοπό την βελτίωση των πιθανοτήτων επιβίωσής τους. Για τους όγκους πολύ χαμηλού κινδύνου προτείνεται μόνο παρακολούθηση λόγω του ότι σε αυτή την ομάδα είναι πολύ συχνή η αυθόρμητη υποστροφή.

Το ισχύον πρωτόκολλο παρακολούθησης βασίζεται σε μία μελέτη των Nuchtern et al για μικρούς όγκους (<5 cm) και για μη διηθητικούς σε παιδιά μικρότερα των 12 μηνών. Η παρακολούθηση για αυτά περιλαμβάνει υπερήχους και έλεγχο των κατεχολαμινών τους, αύξησης κατά 50% είτε του μεγέθους του όγκου είτε των επιπέδων των κατεχολαμινών σηματοδοτεί την ανάγκη για χειρουργική αφαίρεση του όγκου. Παρόλο που η μελέτη περιελάμβανε επινεφριδιακούς όγκους, εκτιμάται ότι η πιθανότητα

αυθόρμητης υποστροφής είναι η ίδια αν όχι μεγαλύτερη για τους μη επινεφριδιακούς όγκους. Για αυτό το λόγο βρίσκεται σε εξέλιξη έρευνα από το Children's Oncology Group (COG) προκειμένου να εξεταστεί η σκοπιμότητα της επέκτασης των κριτηρίων και για τους μη επινεφριδιακούς όγκους.

Για ορισμένους όγκους χαμηλού κινδύνου όπως όγκους σταδίου L1 που δεν πληρούν τα κριτήρια για παρακολούθηση, μπορεί να γίνει χειρουργική επέμβαση με ή χωρίς ή ελάχιστη θεραπεία μετεγχειρητικά βάση των βιολογικών χαρακτηριστικών του όγκου. Για άλλους όγκους χαμηλού ή ενδιάμεσου κινδύνου, ως επί το πλείστον σταδίου L2 χωρίς ενίσχυση του *MYCN*, πραγματοποιείται βιοψία μετά την οποία ξεκινά χημειοθεραπεία την οποία μπορεί να ακολουθήσει χειρουργική αφαίρεση του νευροβλαστώματος ή και όχι. Σε γενικές γραμμές υπάρχει μια τάση επιλογής λιγότερο επιθετικών συστημικών θεραπειών και χειρουργικών επεμβάσεων δεδομένου της ασφάλειας των μειωμένων χημειοθεραπευτικών σχημάτων και του ευρήματος ότι μη εγχειρήσιμο (unresected), υπολειμματικό, ή επανεμφανιζόμενο νευροβλάστωμα με ευνοϊκά βιολογικά χαρακτηριστικά είναι πιθανόν να υποστραφεί αυθόρμητα έχοντας μικρό έως καθόλου αντίκτυπο στην επιβίωση.

Ικανοποιητικός θεραπευτικός στόχος μέσω της χημειοθεραπείας με ή χωρίς εγχείρηση θεωρείται μείωση του μεγέθους του νευροβλαστώματος μεγαλύτερη του 50% ή μεγαλύτερη του 90% για όγκους υψηλότερου κινδύνου. Εξαιρέση αποτελούν οι όγκοι σταδίου L2 σύμφωνα με το σύστημα INRG σε παιδιά μικρότερα των 18 μηνών. Σε αυτή την περίπτωση προτείνεται παρακολούθηση για όγκους που μένουν σταθεροί και χημειοθεραπεία όταν παρατηρηθεί αύξηση του μεγέθους του όγκου μεγαλύτερη του 25%.

Το πρώτο βήμα στην αντιμετώπιση νευροβλαστώματος υψηλού κινδύνου είναι η έναρξη χημειοθεραπείας με σκοπό τη μείωση του μεγέθους του όγκου αμέσως μετά τη διάγνωση. Σε γενικές γραμμές τα σχήματα χημειοθεραπείας σε αυτές τις περιπτώσεις περιλαμβάνουν 6 κύκλους ενός συνδυασμού πλατίνας, αλκυλιωτικών παραγόντων και αναστολείς της τοποϊσομεράσης. Χρησιμοποιείται επίσης μεταιωδοβενζυλγουανιδίνη (I-metaiodobenzylguanidine I-MIBG) ως πρώτη θεραπεία για νευροβλαστώματα τύπου MIBG-avid. Ο αναστολέας της ALK crizotinib χρησιμοποιείται για όγκους που φέρουν μεταλλάξεις στην ALK.

Σε μελέτη του Children's Oncology Group (COG) αξιολογούνται εις βάθος αυτές οι νέες θεραπείες σε συνδυασμό με τις ήδη υπάρχουσες στην περίπτωση των νευροβλαστωμάτων με μεταλλάξεις στην ALK. Κατά το διάστημα της χημειοθεραπείας για την μείωση του μεγέθους του όγκου συλλέγονται παράλληλα βλαστοκύτταρα (stem cells) των ασθενών για μεταγενέστερη αυτόλογη μεταμόσχευσή τους πίσω στον ασθενή. Στο τέλος

της χημειοθεραπείας (4<sup>ος</sup>-6<sup>ος</sup> κύκλος) πραγματοποιείται χειρουργική επέμβαση. Στόχος είναι εκτομή του νευροβλαστώματος μεγαλύτερη του 90% του όγκου του, αποφεύγοντας όμως την αφαίρεση άλλων οργάνων (νεφροί, πάγκρεας κ.α.). Τονίζεται επίσης ότι η επιθετικότητα της αφαίρεσης χρειάζεται να συνυπολογίζεται σε συνδυασμό με τη νοσηρότητα και τη θνητότητα.

Για τη περίπτωση των ασθενών σταδίου MS κατά το σύστημα INRG που περιλαμβάνει ασθενείς μικρότερους των 18 μηνών με πρωτογενείς όγκους L1 ή L2, χωρίς ευνοϊκά ιστολογικά ή γενετικά χαρακτηριστικά και μετάσταση περιορισμένη στο δέρμα, το ήπαρ και στο μυελό των οστών (όχι παραπάνω από 10% συμμετοχή involvement) συνιστάται παρακολούθηση σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία και χειρουργική επέμβαση μόνο για τους συμπτωματικούς ασθενείς.

### **Στοχευμένη θεραπεία**

Οποιαδήποτε προσπάθεια γίνεται μέχρι στιγμής για εξατομικευμένη θεραπεία βρίσκεται σε προ-κλινικό στάδιο. Παρακάτω παρατίθεται η προσπάθεια στόχευσης του *MYCN* ως παράδειγμα, η ανάπτυξη θεραπειών για άλλους στόχους είναι προς το παρόν υπό δοκιμή.

### **Στόχευση *MYCN***

Από τη στιγμή της συσχέτισης της γονιδιακής ενίσχυσης του *MYCN* στο νευροβλάστωμα και του σημαντικού ρόλου που διαδραματίζει στην πρόγνωση και πορεία του ασθενούς, γίνονται προσπάθειες στόχευσης της πρωτεΐνης με σκοπό την μείωση της δράσης της (Greengard, 2018). Όμως, η στόχευση του *MYCN* αποδείχτηκε δύσκολη λόγω της έλλειψης επιφανειών στην περιοχή πρόσδεσης του με το DNA όπου μπορούν να προσδεθούν φάρμακα (Greengard, 2018). Στη συνέχεια δείχτηκε ότι ο αποτελεσματικότερος τρόπος αναστολής της δράσης του *MYCN* είναι μέσω έμμεσης στόχευσης του (Barone et al, 2013, Bayliss et al, 2017).

Προκειμένου να λειτουργήσει ως μεταγραφικός παράγοντας το *MYCN* χρειάζεται να διμεριστεί με την πρωτεΐνη MAX (Wenzel και Schwab 1995, Albiñan et al, 2010). Επομένως έχουν γίνει προσπάθειες παρεμπόδισης αυτής της αλληλεπίδρασης προκειμένου να ανασταλεί η δράση του *MYCN*. Έχουν μελετηθεί, μεταξύ άλλων, δύο μόρια τα 10074-G5 και 10058-F4 τα οποία παρεμποδίζουν την αλληλεπίδραση *MYCN*-MAX και προκαλούν διαφοροποίηση και απόπτωση των καρκινικών κυττάρων στα οποία υπάρχει ενίσχυση του *MYCN* (Muller et al, 2014). Το μόριο 10058-F4 κατέστειλε την ανάπτυξη των όγκων σε διαγονιδιακά και σε γυμνά ποντίκια με μόσχευμα νευροβλαστώματος με ενίσχυση του *MYCN* (Ribeiro et al, 2016, Zirath et al, 2013). Παρόλο που και τα δύο αυτά μόρια στοχευμένα μπλοκάρουν την αλληλεπίδραση *MYCN*-MAX in vitro, έχουν χαμηλή

διαλυτότητα και μικρό χρόνο ημιζωής, γεγονός που τα καθιστά λιγότερο αποτελεσματικά in vivo (Guo et al, 2009, Clausen et al, 2010).

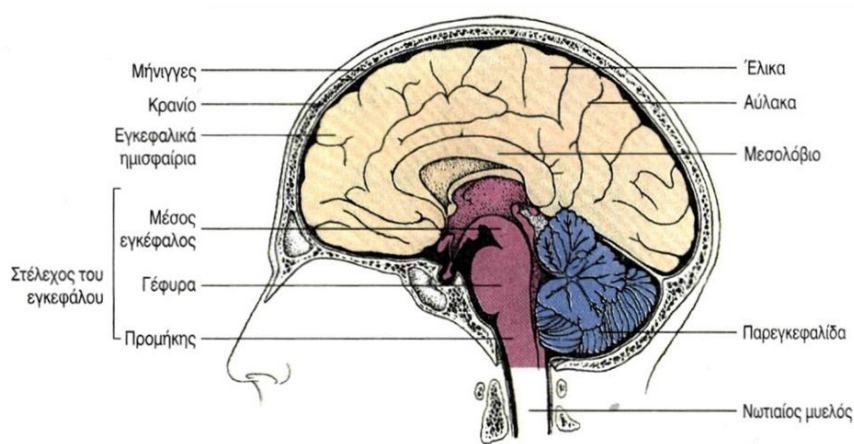


# ΜΥΕΛΟΒΛΑΣΤΩΜΑ

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### Γενικά Χαρακτηριστικά

Το μυελοβλάστωμα είναι μια από τις πιο συχνές κακοήθειες του εγκεφάλου σε παιδιά (Archer et al, 2017). Εντοπίζεται στην παρεγκεφαλίδα και στο στέλεχος και είναι υπεύθυνο για το 10% των καρκίνων του εγκεφάλου της παιδικής ηλικίας (Millard και De Braganca, 2016, El Doussouki et al, 2019).



**Εικόνα 12: Δομή του εγκεφάλου και εντόπιση των διαφορετικών υποομάδων μυελοβλαστώματος, προσαρμοσμένο από El Doussouki et al και το βιβλίο της βιολογίας Α Λυκείου.**

Οι όγκοι αυτοί χαρακτηρίζονται από τάση προς μετάσταση στο κεντρικό νευρικό σύστημα και λιγότερο συχνά στο νευράξονα (Kline et al, 2017). Σπανίως εντοπίζεται σε ενήλικες και φαίνεται να έχει μικρή υπεροχή ως προς τους άρρενες. Οι ασθενείς διαχωρίζονται σε τέσσερις ομάδες με συγκεκριμένα μοριακά και βιολογικά χαρακτηριστικά αλλά και θεραπευτική αντιμετώπιση (Archer et al, 2017). Το ποσοστό επιβίωσης ποικίλει αναλόγως την ομάδα στην οποία ανήκει ο κάθε ασθενής (Taylor et al, 2012). Τα πρωτόκολλα θεραπείας περιλαμβάνουν χειρουργική επέμβαση, χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία στον εγκέφαλο και τη σπονδυλική στήλη για ασθενείς άνω των τριών ετών (Archer et al, 2017). Μετά την αφαίρεση του όγκου οι ασθενείς μεγαλύτεροι των τριών ετών διαχωρίζονται βάση της έκτασης της εκτομής και την εκτίμηση της παρουσίας μετάστασης σε ενδιάμεσο, με ποσοστό πενταετούς επιβίωσης

γύρω στο 85% και σε υψηλού κινδύνου με το αντίστοιχο ποσοστό να ανέρχεται στο 70% (Millard και De Braganca, 2016).

Η έκβαση της νόσου σε νεογνά και παιδιά μικρότερα των τριών ετών είναι χειρότερη, κυρίως λόγω του ότι δεν ενδείκνυται ακτινοθεραπείας εξαιτίας της επίδρασής της στην ανάπτυξη των γνωστικών ικανοτήτων του ασθενούς (Millard και De Braganca, 2016).

Η θεραπεία του μυελοβλαστώματος προκαλεί σημαντική νοσηρότητα στους ασθενείς, ειδικά στους μικρότερους, αλλά και στους μετέπειτα επιζήσαντες (Millard και De Braganca, 2016). Αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι η ακτινοβολία μειώνει το IQ των μικρότερων ασθενών μέχρι και 40 μονάδες, με τη μείωση αυτή να είναι αντιστρόφως ανάλογη της ηλικίας (Merchant et al, 2006).

Αρχικά τα μυελοβλαστώματα κατηγοριοποιούνταν ανάλογα με την ιστοπαθολογία τους σε κλασικά, μεγαλοκυτταρικά, αναπλαστικά, δεσμοπλαστικά/κονδυλώδη και με εκτεταμένη παρουσία κονδύλων (MBEN) (Millard και De Braganca, 2016). Οι δύο τελευταίοι τύποι φαίνεται να έχουν καλύτερη πρόγνωση σε σχέση με τους άλλους σε νεαρά παιδιά. Η κατηγοριοποίηση των ασθενών πλέον γίνεται ανάλογα με τα μοριακά χαρακτηριστικά του όγκου αρχικά σε τέσσερις υποομάδες: wingless (Wnt), sonic hedgehog (Shh), υποομάδα 3 (group 3) και υποομάδα 4 (group 4). Στη συνέχεια βρέθηκε ότι οι τέσσερις ομάδες διαχωρίζονται περαιτέρω σε 12 (El Doussouki et al 2018).

Κάθε υποομάδα διαθέτει συγκεκριμένα κλινικά και γενετικά χαρακτηριστικά και διαφορετική πρόγνωση (Millard και De Braganca, 2016). Μάλιστα προτείνεται η τροποποίηση των πρωτοκόλλων θεραπείας για κάθε μοριακή υποομάδα ώστε να αυξηθεί η επιβίωση και η ποιότητα ζωής των ασθενών μετά το τέλος της θεραπείας.

### **Επιδημιολογικά στοιχεία**

Παρόλο που το μυελοβλάστωμα είναι ένας από τους πιο κοινούς αν όχι ο πιο κοινός όγκος του εγκεφάλου της παιδικής ηλικίας παρατηρείται, όχι τόσο συχνά, και σε ενήλικες (Millard και De Braganca, 2016). Αποτελεί το 9,2% των παιδιατρικών όγκων του εγκεφάλου σε ηλικίες 0-14 ετών. Κάθε χρόνο, διαγιγνώσκονται γύρω στις 338 νέες περιπτώσεις στις ΗΠΑ (Ostrom et al, 2015). Το 30% των περιπτώσεων αφορούν ενήλικες συνήθως κάτω από 40 ετών. Η επίπτωση του μυελοβλαστώματος υπολογίζεται στις 0.7 περιπτώσεις ανά 100.000 τον χρόνο και είναι μεγαλύτερη στην πρώτη δεκαετία της ζωής ανάμεσα στα 3 με 4 χρόνια και στα 8 με 10 (Millard και De Braganca, 2016).

Λιγότερο από το 5% των περιπτώσεων σχετίζονται με γενετικά σύνδρομα προδιάθεσης για καρκίνο όπως το σύνδρομο Turcot και Gorlin.

## **Κλινική εικόνα**

Το μυελοβλάστωμα ανιχνεύεται συνήθως στην παρεγκεφαλίδα (Rorke, 1983, Louis et al 2016). Λόγω της σχετικά ταχείας ανάπτυξης του όγκου, οι ασθενείς εμφανίζουν συμπτώματα που εξελίσσονται σε χρονικό διάστημα εβδομάδων ή και μηνών (Millard και De Braganca, 2016). Παρατηρούνται συμπτώματα δυσλειτουργίας της παρεγκεφαλίδας, όμως πλειοψηφία των συμπτωμάτων οφείλεται σε απόφραξη του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (CSF) που έχει σαν αποτέλεσμα τη συσσώρευση του στον εγκέφαλο την αύξηση της ενδοκρανιακής πίεσης και τη δημιουργία υδροκέφαλου (Millard και De Braganca, 2016, NIH PDQ). Συνήθως η διάγνωση στα παιδιά με μυελοβλάστωμα γίνεται δύο με τρεις μήνες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων, τα οποία περιλαμβάνουν (Ramaswamy et al, 2014, Millard και De Braganca, 2016):

- Σχετικά απότομη έναρξη πονοκεφάλων, ειδικά κατά το πρωινό ξύπνημα
- Ευερεθιστότητα
- Αλλαγές συμπεριφοράς
- Ναυτία ή/και έμετο
- Λήθαργο
- Αταξία, συμπεριλαμβανομένου αστάθειας κορμού
- Ακούσια κίνηση των ματιών, νυσταγμό
- Οίδημα του οπτικού δίσκου, Papilledema

## **Διάγνωση**

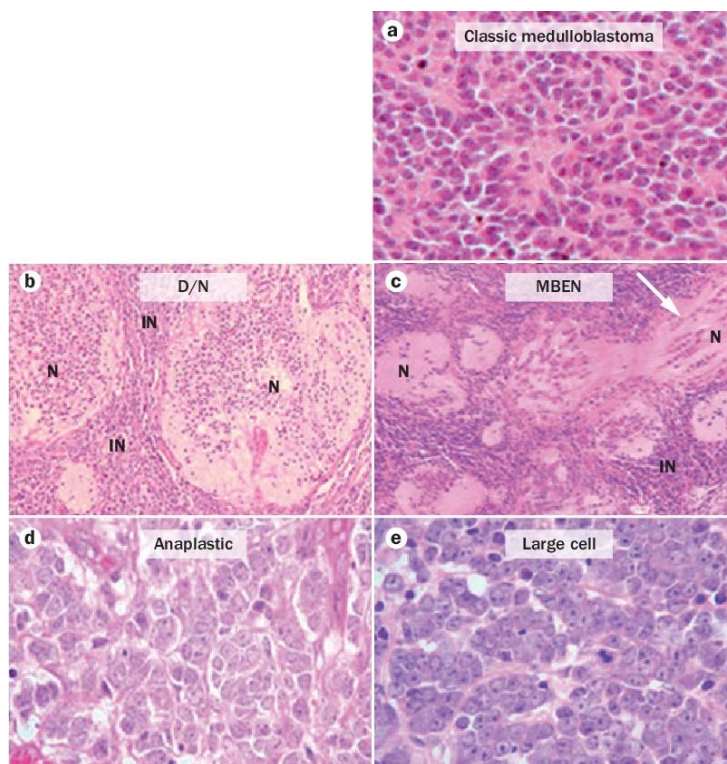
Η διάγνωση του μυελοβλαστώματος περιλαμβάνει τεχνικές απεικόνισης (Childhood Medulloblastoma and Other Central Nervous System Embryonal Tumors Treatment (PDQ®)–Health Professional Version).

Οι απεικονιστικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι η μαγνητική και η αξονική τομογραφία. Με την μαγνητική να προτιμάται περισσότερο επειδή παρέχει περισσότερες πληροφορίες για τυχόν μετάσταση (Chintagumpala et al, 2015). Συνιστάται ο έλεγχος ολόκληρου του νευράξωνα λόγω της τάσης για μετάσταση στα αρχικά στάδια της νόσου (Childhood Medulloblastoma and Other Central Nervous System Embryonal Tumors Treatment (PDQ®)–Health Professional Version).

## Ιστολογία

Σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησής του 2007 του παγκοσμίου οργανισμού υγείας, το μυελοβλάστωμα παρουσιάζει πέντε ιστολογικά πρότυπα με διαφορετική πρόγνωση και επίπτωση (Louis et al, 2007):

- Κλασικό (classic)
- Δεσμοπλαστικό/κονδυλώδες (desmoplastic/nodular)
- Αναπλαστικό (anaplastic)
- Μεγαλοκυτταρικό (large cell)
- Μυελοβλάστωμα με εκτεταμένο σχηματισμό κονδύλων (medulloblastoma with extensive nodularity, MBEN)



**Εικόνα 13: Οι διαφορετικοί ιστολογικοί τύποι μυελοβλαστώματος Gajjar και Robinson.**

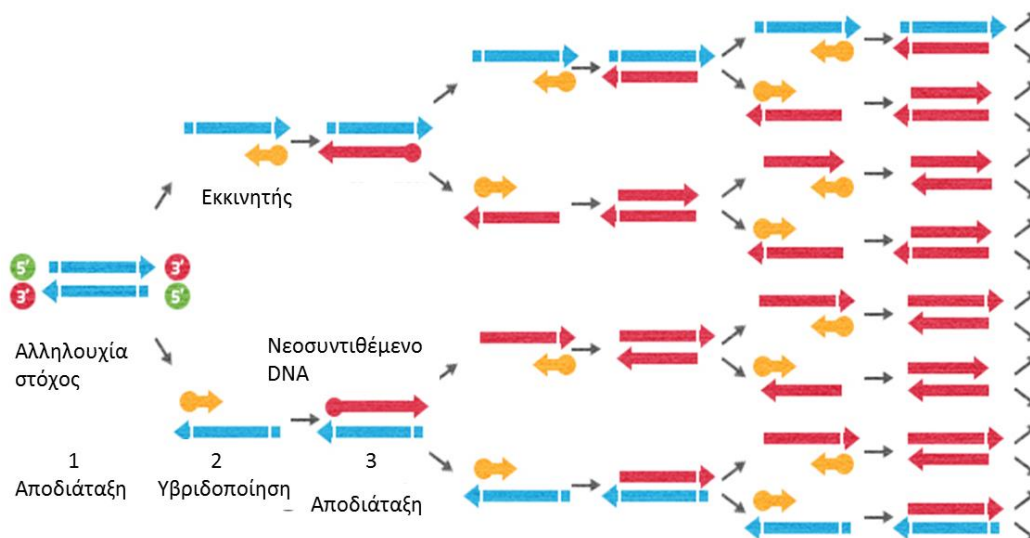
## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

### Ανάλυση μεταγραφικού προφίλ

Για την ανάλυση του μεταγραφικού προφίλ των όγκων και συνεπώς της έκφρασης των γονιδίων τους χρησιμοποιήθηκαν μικροσυστοιχίες, τεχνική που βασίζεται στην αρχή του ανταγωνιστικού υβριδισμού όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Έγινε σύγκριση των επιπέδων των mRNA ασθενών με μυελοβλάστωμα και υγιών. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες (π.χ. αριθμητικές μεταλλάξεις, ανακατατάξεις) και οι γονιδιακές επεκτάσεις επιβεβαιώθηκαν με FISH ενώ οι μεταλλάξεις σε επίπεδο νουκλεοτιδίου με ποσοτική (real time) reverse transcriptase PCR (Polymerase Chain Reaction) (Cho et al, 2011).

### Ποσοτική PCR αντίστροφης μεταγραφής (Real-time reverse transcription polymerase chain reaction)

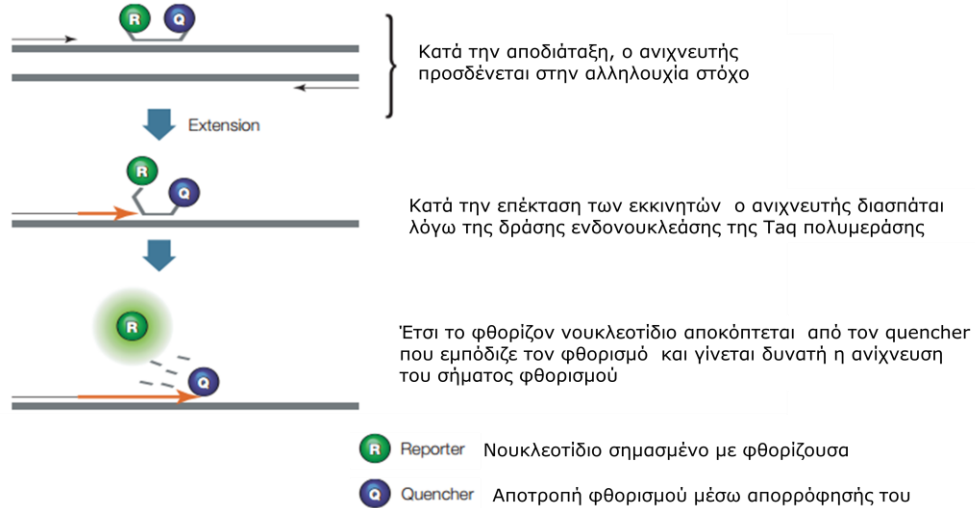
Η PCR βασίζεται στην ιδιότητα του DNA να αναδιατάσσεται και να επαναδιατάσσεται όταν βρίσκεται σε κατάλληλες συνθήκες. Η ενίσχυση του εκμαγείου DNA επιτυγχάνεται με τη χρήση του ενζύμου πολυμεράσης του DNA, η οποία έχει την ικανότητα να προσθέτει νουκλεοτίδια σε ελεύθερη 3'-OH ομάδα (Mullis KB). Για το λόγο αυτό προστίθενται οι εκκινητές.



Εικόνα 14: Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR

Στην PCR αντίστροφης μεταγραφής το RNA μετατρέπεται σε cDNA μέσω του ενζύμου της αντίστροφης μεταγραφάσης (reverse transcriptase). Για τη μεταγραφή χρησιμοποιούνται τυχαία εξαμερή, ολιγοdT<sub>s</sub>, ή ειδικοί εκκινητές συμπληρωματικοί προς την αλληλουχία στόχο. Το cDNA που παράγεται χρησιμοποιείται ως εκμαγείο στην συνέχεια για την PCR.

Η ποσοτική PCR ή PCR πραγματικού χρόνου, δίνει την δυνατότητα ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης των προϊόντων όσο η αντίδραση βρίσκεται στην εκθετική φάση με τη χρήση φθορίζοντων ανιχνευτών (TaqMan).










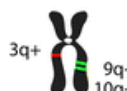
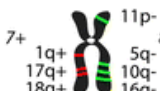


**Εικόνα 15: Ανίχνευση σήματος με τη χρήση TaqMan probes**

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

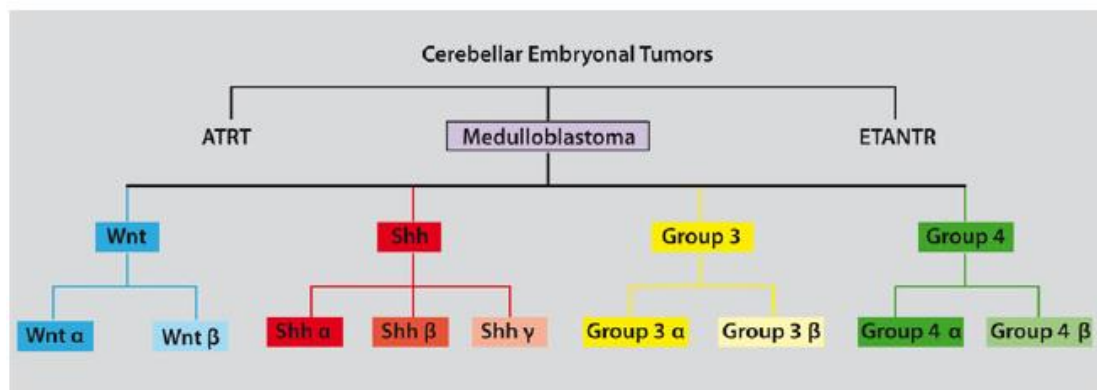
### Μοριακές υποομάδες

Το 2010 ειδικοί του μυελοβλαστώματος κατέληξαν, βάση των διαθέσιμων στοιχείων στον διαχωρισμό των ασθενών σε τέσσερις κύριες υποομάδες (Wnt, Shh, υποομάδα 3 και υποομάδα 4), οι οποίες διαιρούνται περαιτέρω σε υπότυπους όπως φαίνεται στην εικόνα 17 (Taylor et al, 2010).

Οι μοριακές υποομάδες του μυελοβλαστώματος αναγνωρίζονται βάση των μεταγραφικών τους προφίλ. Οι διακριτοί καρυότυποι που χαρακτηρίζουν κάθε ομάδα επηρεάζουν σημαντικά τα πρότυπα γονιδιακής έκφρασης των καρκινικών κυττάρων. Επίσης αναφέρεται ότι κάθε ομάδα προκύπτει από διαφορετική προγονική κυτταρική γενεαλογία.

Molecular Subgroups of Medulloblastoma				
CONSENSUS	WNT	SHH	Group 3	Group 4
Cho (2010)	C6	C3	C1/C5	C2/C4
Northcott (2010)	WNT	SHH	Group C	Group D
Kool (2008)	A	B	E	C/D
Thompson (2006)	B	C, D	E, A	A, C
<b>DEMOGRAPHICS</b>				
Age Group: 				
Gender: ♀ ♂	♂ ♂ : ♀ ♀	♂ ♂ : ♀ ♀	♂ ♂ : ♀ ♀	♂ ♂ : ♀ ♀
<b>CLINICAL FEATURES</b>				
Histology	classic, rarely LCA	desmoplastic/nodular, classic, LCA	classic, LCA	classic, LCA
Metastasis	rarely M+	uncommonly M+	very frequently M+	frequently M+
Prognosis	very good	infants good, others intermediate	poor	intermediate
<b>GENETICS</b>				
				
<b>GENE EXPRESSION</b>				
	WNT signaling MYC +	SHH signaling MYCN +	Photoreceptor/GABAergic MYC +++	Neuronal/Glutamatergic minimal MYC / MYCN

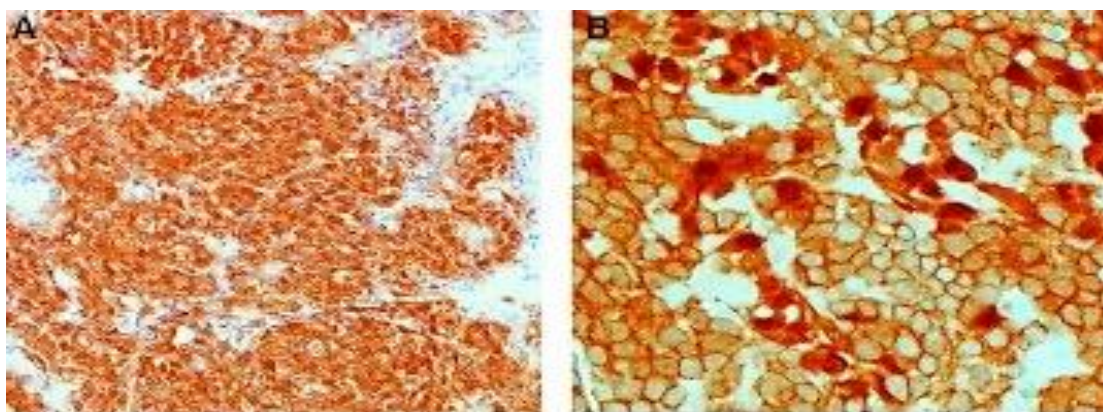
Εικόνα 16: Τα χαρακτηριστικά κάθε υποομάδας σύμφωνα με το consensus του 2010 και οι ονομασίες τους σε προηγούμενες μελέτες, Taylor et al.



Εικόνα 17: Σύνοψη των υποομάδων και του περαιτέρω διαχωρισμού τους σύμφωνα με τους Taylor et al 2010.

### Υποομάδα Wingless (Wnt)

Επηρεάζει κυρίως παιδιά αλλά εμφανίζεται και σε ενήλικες, στην ίδια συχνότητα και στα δύο φύλα. Οι ασθενείς αυτής της υποομάδας έχουν πολύ καλή πρόγνωση. Στα μυελοβλαστώματα αυτού του τύπου παρατηρείται απορρύθμιση της σηματοδότησης του μονοπατιού WNT, έλλειμμα του χρωμοσώματος 6 και μεταλλάξεις στο γονίδιο της β-κατενίνης. Η υποομάδα αυτή, διαχωρίζεται σύμφωνα με το consensus του 2010 σε δύο υπότυπους Wnt-α και Wnt-β (Taylor et al 2010).



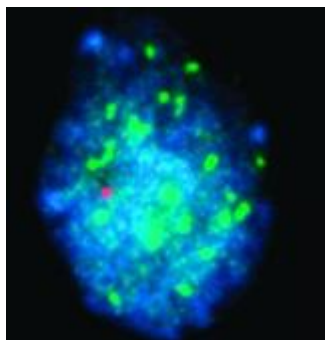
Εικόνα 18: Ανίχνευση της συσσωρευμένης β-κατενίνης (μπλε κοκκία) στα καρκινικά κύτταρα της υποομάδας WNT Ellison et al.

### Υποομάδα Sonichedghehog (Shh)

Το μυελοβλάστωμα αυτής της υποομάδας επηρεάζει νεογνά και ενήλικες και σπανιότερα παιδιά (Taylor et al 2010). Τα νεογνά έχουν ευνοϊκή πρόγνωση ενώ οι άλλες ηλικιακές ομάδες ενδιάμεση (Taylor et al 2010). Παρατηρούνται μεταλλάξεις σε στοιχεία του μονοπατιού SHH όπως στα γονίδια των πρωτεϊνών PTCH1, SUFU, SMO, TP53 ενισχύσεις των γονιδίων MYCN και GLI2 καθώς και προσθήκη του βραχίονα q του χρωμοσώματος 3 και έλλειμμα των 9q και 10q (Taylor et al 2010). Η υποομάδα αυτή, διαχωρίζεται σε τρεις υπότυπους Shh-α, Shh-β και Shh-γ σύμφωνα με το



consensus του 2010. Μεταγενέστερα βρέθηκε ότι μπορεί να διαχωριστεί περαιτέρω σε τέσσερις υποομάδες (El Doussouki et al, 2019).



**Εικόνα 19:** Αποτελέσματα FISH παρατηρείται ενίσχυση του *MYC* Ellison et al.

### **Υποομάδα 3**

Σε αυτή την περίπτωση επηρεάζονται κυρίως παιδιά και σπανιότερα νεογνά άρρενα σε διπλάσια συχνότητα από ότι θήλεα. Χαρακτηρίζονται επίσης από προφίλ έκφρασης που προσομοιάζει GABAεργικούς νευρώνες και φωτουποδοχείς. Σε αυτή την υποομάδα ανιχνεύονται κυρίως χρωμοσωμικά ελλείμματα και προσθήκες τα συχνότερα είναι έλλειμμα του 11p, ολόκληρου του χρωμοσώματος 8 και των βραχιόνων q των χρωμοσωμάτων 5, 10 και 16. Οι συχνότερες προσθήκες είναι των βραχιόνων q των χρωμοσωμάτων 1, 17, 18 και ολόκληρου του χρωμοσώματος 7. Μεταλλάξεις που απαντώνται συχνά είναι το ισοχρωμόσωμα 17q και η ενίσχυση του γονιδίου *MYC* (Taylor et al 2010). Η υποομάδα αυτή, διαχωρίζεται σύμφωνα με το consensus του 2010 σε δύο υπότυπους α και β (Taylor et al 2010). Αργότερα διαχωρίστηκε περαιτέρω σε τρεις υποομάδες (El Doussouki et al, 2019).

### **Υποομάδα 4**

Η υποομάδα 4 είναι η πιο συχνά εμφανιζόμενη και επηρεάζει κυρίως παιδιά αλλά εμφανίζεται σπανιότερα σε ενήλικες και νεογνά (Taylor et al 2010). Στους όγκους αυτής της υποομάδας ανιχνεύονται ελλείμματα των χρωμοσωμάτων 8 και X στα θήλεα καθώς και του βραχίονα p του χρωμοσώματος 11. Παρατηρείται επίσης ισοχρωμόσωμα i17q, διπλασιασμός του χρωμοσώματος 7 και προσθήκη των 17q και 18q. Χαρακτηρίζονται από προφίλ έκφρασης νευρικών γλουταμινεργικών κυττάρων με ενίσχυση των γονιδίων *CDK6* και *MYCN* (Taylor et al 2010). Η υποομάδα αυτή, μπορεί να διαχωριστεί σε δύο υπότυπους α και β σύμφωνα με το consensus του 2010 (Taylor et al 2010). Στην συνέχεια διαχωρίστηκε περαιτέρω σε τρεις υποομάδες (El Doussouki et al, 2019). Αναφέρεται ότι προγνωστική σημασία έχουν οι εξής δείκτες.

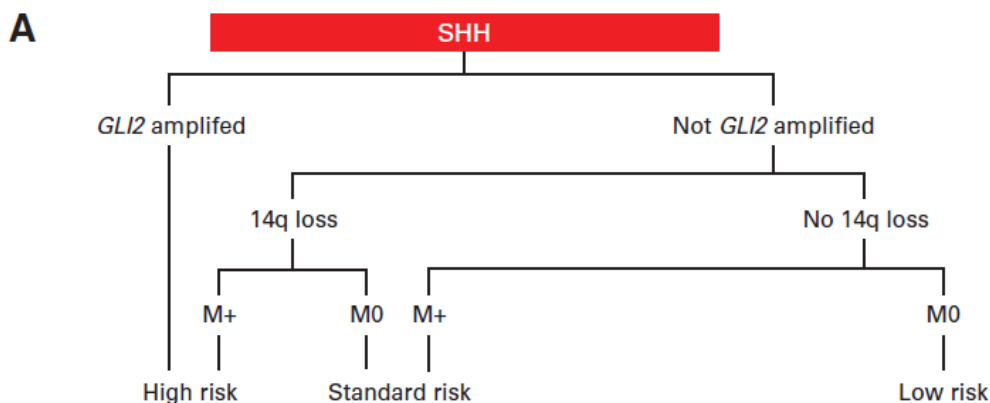
**Πίνακας 6: Δείκτες πρόγνωσης στο μυελοβλάστωμα και τεχνικές ανίχνευσής τους προσαρμοσμένο από Taylor et al, 2011, El Doussouki et al, 2018, Shih et al, 2014**

Δείκτες	υποομάδα	Ενδεικτική μέθοδος ελέγχου
Μονοσωμία 6	WNT	FISH
GLI2	Κακή	PCR, FISH
Έλλειμμα 14q	Κακή	FISH
Μετάσταση	Κακή	Απεικονιστικές μέθοδοι
Ενίσχυση MYC	Κακή	FISH, Ανοσοϊστοχημικές μέθοδοι
i17q	Κακή	FISH
Έλλειμμα 11	Ευνοϊκή	FISH
Προσθήκη 17	Ευνοϊκή	FISH

### **Εκτίμηση κινδύνου**

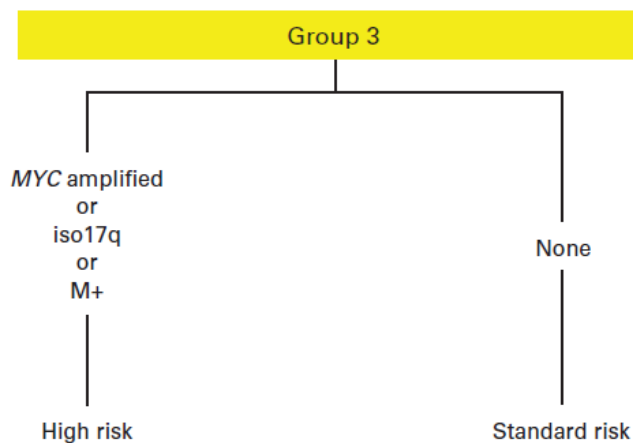
Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω η ακριβής εκτίμηση του κινδύνου κάθε ασθενή είναι σημαντική για την έγκαιρη έναρξη επιθετικής θεραπείας για τους ασθενείς υψηλού κινδύνου ή για την εφαρμογή λιγότερο επιθετικής προσέγγισης για τους ασθενείς χαμηλού και ενδιάμεσου κινδύνου, αποφεύγοντας έτσι τις παρενέργειες. Οι Shih et al σε μελέτη τους, η οποία είναι εκτός consensus αλλά μπορεί να βοηθήσει στην εκτίμηση σε συνδυασμό με αυτό, προτείνουν την συνδυασμένη χρήση κλινικών μεταβλητών όπως είναι η ιστολογία και η παρουσία μετάστασης, της υποομάδας και ορισμένων μοριακών δεικτών για την αξιόπιστη πρόγνωση και εκτίμηση του κινδύνου, με σκοπό την αύξηση της επιβίωσης των ασθενών.

Όσον αφορά την υποομάδα SHH, αναφέρεται ότι η ενίσχυση των γονιδίων *GLI2* και *MYCN* αποτελούν δείκτες κακής πρόγνωσης. Η απώλεια του 14q αποδείχθηκε να σχετίζεται με σημαντικά μειωμένη επιβίωση, όμως δεν βρέθηκε ελάχιστη περιοχή ελλείμματος σε πρόσφατες μελέτες αλληλούχισης. Η χρωμόθρυψη σχετίζεται επίσης με μειωμένη επιβίωση σε ασθενείς με όγκους SHH. Τελικά οι ερευνητές καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η παρουσία ενίσχυσης του *GLI2*, του ελλείμματος 14q και μετάστασης σε ασθενείς είναι αρκετά για να τους κατηγοριοποιούν ως υψηλού και ενδιάμεσου κινδύνου. Η απουσία τους, καθιστά τους ασθενείς αυτής της υποομάδας χαμηλού κινδύνου με εξαιρετικά ποσοστά επιβίωσης. Συνεπώς για την ακριβή πρόβλεψη της πρόγνωσης των ασθενών αποκλειστικά αυτής της υποομάδας προτείνεται η χρήση των δύο μοριακών δεικτών *GLI2* και 14q, για την ανίχνευση των οποίων προτείνεται η μέθοδος FISH, σε συνδυασμό με την ύπαρξη μετάστασης. Οι δείκτες αυτοί δεν έχουν προγνωστική αξία για τις άλλες υποομάδες μυελοβλαστώματος. Στις εικόνες φαίνεται προτεινόμενος αλγόριθμος ταξινόμησης των ασθενών (Shih et al 2014).



**Εικόνα 20:** Εκτίμηση κινδύνου για τους ασθενείς με μυελοβλάστωμα τύπου SHH χρησιμοποιώντας κλινικούς και μοριακούς δείκτες πρόγνωσης M+: μετάσταση, M0: χωρίς μετάσταση Shih et al 2014.

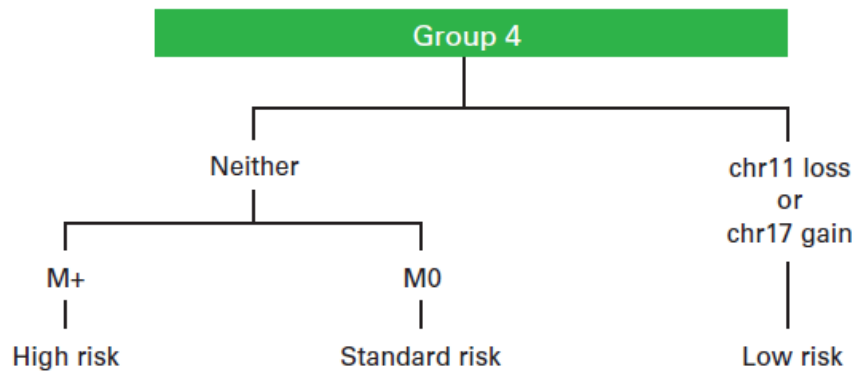
Για την ομάδα 3 η γονιδιακή ενίσχυση του *MYC* και το ισοχρωμόσωμα 17q σχετίζονται με μειωμένη επιβίωση ενώ, η απώλεια του 8q και η προσθήκη του 1q είναι δείκτες καλής πρόγνωσης. Τελικά η παρουσία μετάστασης σε συνδυασμό με την ενίσχυση του *MYC* και το ισοχρωμόσωμα 17q μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για την εκτίμηση του κινδύνου. Η παρουσία τους υποδηλώνει αυξημένο κίνδυνο ενώ, η απουσία τους ενδιάμεσο. Και σε αυτή την περίπτωση, οι δείκτες δεν έχουν προγνωστική αξία για τις υπόλοιπες ομάδες. Για την ανίχνευση των δεικτών προτείνεται FISH (Shih et al 2014).



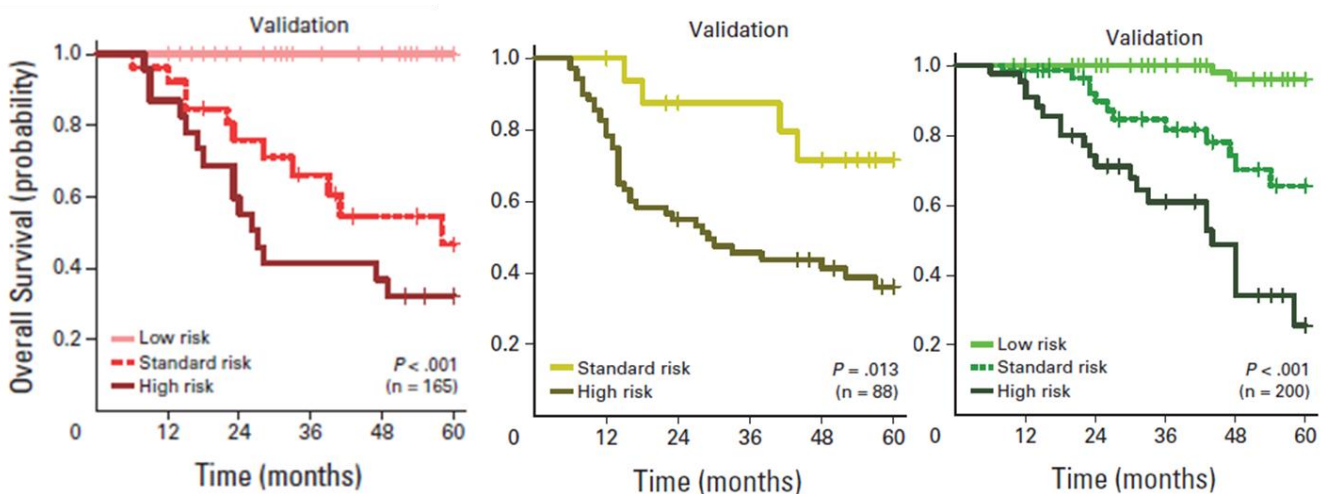
**Εικόνα 21:** Εκτίμηση κινδύνου για τους ασθενείς με μυελοβλάστωμα της ομάδας 3 χρησιμοποιώντας κλινικούς και μοριακούς δείκτες πρόγνωσης M+: μετάσταση, M0: χωρίς μετάσταση Shih et al 2014.

Στην υποομάδα 4 δεν έχουν βρεθεί δείκτες που να σχετίζονται με κακή πρόγνωση. Στους ασθενείς της υποομάδας αυτής, παρατηρούνται αυξημένα ποσοστά επιβίωσης όταν φέρουν έλλειμμα του χρωμοσώματος 11 ή προσθήκη του 17 σε συνδυασμό με έλλειμμα του 10p. Τελικά δείχθηκε ότι η μετάσταση αποτελεί δείκτη υψηλού κινδύνου μόνο όταν δεν ανιχνεύονται έλλειμμα του χρωμοσώματος 11 ή προσθήκη του 17. Ασθενείς είτε με έλλειμμα του χρωμοσώματος 11, είτε με προσθήκη του 17, ακόμα και παρουσία μετάστασης παρουσιάζουν εξαιρετικά ποσοστά

επιβίωσης. Για την ανίχνευση της προσθήκης του 17 και του ελλείμματος του 11 που ενδείκνυνται ως δείκτες για τον ακριβή υπολογισμό του κινδύνου προτείνεται και σε αυτή την περίπτωση FISH. Σημειώνεται ότι δεν έχουν προγνωστική αξία για τις υπόλοιπες ομάδες (Shih et al 2014).



**Εικόνα 22:** Εκτίμηση κινδύνου για τους ασθενείς με μυελοβλάστωμα της ομάδας 4 χρησιμοποιώντας κλινικούς και μοριακούς δείκτες πρόγνωσης M+: μετάσταση, M0: χωρίς μετάσταση Shih et al 2014.



**Εικόνα 23:** Καμπύλες επιβίωσης για τις υποομάδες SHH, 3 και 4 αντίστοιχα Shih et al 2014.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τις τέσσερις υποομάδες του μυελοβλαστώματος οι ασθενείς της υποομάδας WNT χαίρουν της καλύτερης πρόγνωσης με την επιβίωσή τους να είναι πάνω από 90%, ακολουθούν οι ασθενείς της υποομάδας SHH και 4, ενώ την χειρότερη πρόγνωση έχουν οι ασθενείς της υποομάδας 3. Παρακάτω αναφέρονται στοιχεία αναλυτικά για κάθε υποομάδα.

### Υποομάδα Wingless (Wnt)

Η υποομάδα αυτή είναι η λιγότερο συχνά απαντώμενη από τις τέσσερις. Συνιστά το 10-15% των περιπτώσεων μυελοβλαστώματος. Συναντάται σε όλες τις ηλικίες, αλλά συνήθως σε παιδιά ηλικίας 6-12 ετών με λίγο αυξημένη προδιάθεση στα θήλαα (El Doussoukiet al, 2019). Η εμφάνιση μυελοβλαστώματος αυτής της υποομάδας σε ηλικίες μικρότερες των 6 ετών είναι εξαιρετικά σπάνια.

Πήρε το όνομα της λόγω της αυξημένης ενεργοποίησης του μονοπατιού Wnt. Οι πρωτεΐνες Wnt είναι μια οικογένεια υποδοχέων αυξητικών παραγόντων που συμμετέχουν στην εμβρυογένεση και στη κοντινή διακυτταρική επικοινωνία (Kool et al, 2008, Pai et al, 2017). Το μονοπάτι Wnt/ $\beta$ -κατενίνης είναι βαθιά συντηρημένο και ρυθμίζει σημαντικές κυτταρικές λειτουργίες όπως είναι ο πολλαπλασιασμός, η μετανάστευση, η γενετική σταθερότητα, η απόπτωση και η κυτταρική ανανέωση. Ανωμαλίες σε αυτό το μονοπάτι που έχουν σαν αποτέλεσμα την υπερενεργοποίησή του οδηγούν σε αύξηση της μεταγραφής ορισμένων γονιδίων και εμπλέκονται στη παθογένεια πολλών καρκίνων, όπως το μελάνωμα και ο καρκίνος του μαστού (Pai et al, 2017).

Η συντριπτική πλειοψηφία των όγκων Wnt ανήκουν στο κλασικό τύπο ιστολογίας, σπανίως στον LCA τύπο (επίσης καλή πρόγνωση μέσα στο γκρουπ) και ποτέ δεσμοπλαστικά ή κονδυλώδες. Μετάσταση παρατηρείται σε ποσοστό λιγότερο από 10% στις διαγνωσθέντες περιπτώσεις (Ellison et al, 2011, Cho et al, 2011, Northcott et al, 2011, Taylore et al, 2012).

Είναι η υποομάδα με την καλύτερη πρόγνωση καθώς το ποσοστό μακροχρόνιας επιβίωσης ασθενών με μυελοβλάστωμα Wnt υπερβαίνει το 90% (Ellison et al, 2011). Με τους θανόντες ασθενείς να υποκύπτουν λόγω επιπλοκών της θεραπείας ή δευτερογενή νεοπλάσματα, παρά σε επανεμφάνιση του μυελοβλαστώματος (Ellison et al, 2011). Λόγω αυτού, εικάζεται ότι πιθανόν οι ασθενείς που ανήκουν σε αυτή την υποομάδα λαμβάνουν περισσότερη θεραπεία από ότι χρειάζονται και γίνονται μελέτες όπου ερευνάται η πιθανή μείωση της σε αυτούς (Taylor et al, 2010).

Εκτός της  $\beta$ -κατενίνης, έχουν ταυτοποιηθεί και άλλες σωματικές μεταλλάξεις μέσω αλληλούχισης ολόκληρου του γονιδιώματος των καρκινικών κυττάρων στην συγκεκριμένη υποομάδα. Ορισμένες από αυτές

που εμφανίζονταν πιο συχνά είναι στα εξής γονίδια: *DDX3X* (ελικάση RNA που ρυθμίζει τον διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων και την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου), *SMARCA4* (αναδιαμορφωτής της χρωματίνης), *TP53* (ογκοκατασταλτικό γονίδιο που συμμετέχει στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου) και *KMT2D* (μεθυλοτρανφεράση) σε ποσοστό 50, 26, 15 και 12% αντίστοιχα. Δεν παρατηρούνται όμως αποκλειστικά στη συγκεκριμένη υποομάδα αλλά και σε ορισμένους όγκους άλλων υποομάδων όπως SHH και της ομάδας 3. Η μονοσωμία 6 συναντάται στο 80–85% των μυελοβλαστωμάτων Wnt (Clifford et al, 2006, Ellison et al, 2011). Είναι μια σημαντική χρωμοσωμική ανωμαλία για τους όγκους Wnt που σπάνια παρατηρείται στις άλλες υποομάδες (El Doussouki et al, 2019). Η συσχέτισή της έγινε εξαιτίας της μειωμένης έκφρασης που παρουσιάζουν ορισμένα γονίδια (*CDKAL1*, *RAB32*, *DPH1*, *RPS6KB1* και *SASH1*) του χρωμοσώματος 6 στους όγκους αυτού του τύπου (Thompson et al, 2006).

Σημειώνεται ότι οι μέθοδοι ανίχνευσης εφαρμόζονται σε κύτταρα καρκινικού ιστού που έχει συλλεχθεί με βιοψία, όσον αφορά την τεχνική FISH, ο ιστός μονιμοποιείται σε παραφίνη.

Πρόσφατες έρευνες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η υποομάδα Wnt μπορεί να διαιρεθεί περαιτέρω σε δύο τουλάχιστον υπότυπους: WNT α (70%) όπου οι ασθενείς είναι παιδιά στην πλειοψηφία τους με μονοσωμία 6 και WNT β (30%) που περιλαμβάνει κυρίως ενήλικες χωρίς μονοσωμία 6 (Cavalli et al, 2017).

### **Υποομάδα Sonic Hedgehog (SHH)**

Τα μυελοβλαστώματα του τύπου SHH συνιστούν το 28–30% των περιπτώσεων. Επηρεάζουν παιδιά μικρότερα των 4 ετών και ενήλικες μεγαλύτερους των 16 ετών. Μετάσταση κατά τη διάγνωση παρατηρείται στο 15-20% των ασθενών. Ο ιστολογικός τύπος που παρατηρείται συχνότερα, σε ποσοστό 30%, και αποκλειστικά στο μυελοβλάστωμα αυτού του τύπου είναι το δεσμοπλαστικό/κονδυλώδες. Συναντώνται επίσης και μυελοβλαστώματα κλασικού και μεγαλοκυτταρικού ιστολογικού τύπου (El Doussouki et al, 2019). Οι όγκοι αυτής της υποομάδας είναι θετικοί σε ανοσοϊστοχημικούς δείκτες όπως είναι οι πρωτεΐνες φιλαμίνη Α, YAP1 και GAB1(ασθενές σήμα) (Ellison et al, 2011).

Η υποομάδα αυτή πήρε το όνομά της από το σηματοδοτικό μονοπάτι sonic hedgehog, που ρυθμίζει σημαντικές διαδικασίες της ανάπτυξης (Taylor et al, 2012, Choudhry et al, 2014). Τα μυελοβλαστώματα SHH εμφανίζονται συνήθως στα ημισφαίρια του εγκεφάλου, αν και έχουν παρατηρηθεί και στο μέσον του (Liu et al, 2012, Gibson et al, 2010).

Μεταλλάξεις της γαμετικής σειράς στο γονίδιο του *PTCH1* του υποδοχέα της SHH και στο γονίδιο της πρωτεΐνης *SUFU*, πρωτεΐνες οι οποίες βρίσκονται στο μονοπάτι SHH, σχετίστηκαν αρχικά με το μυελοβλάστωμα λόγω της

αυξημένης προδιάθεσης των ασθενών με σύνδρομο Gorlin για την ανάπτυξη της συγκεκριμένης κακοήθειας (Fujii και Miyashita 2014). Μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας των γονιδίων *PTCH1* και *SUFU* έχουν σαν αποτέλεσμα την περικοπή των πρωτεϊνών, έτσι στη δεν μπορούν να καταστείλουν την ενεργοποίηση του μονοπατιού Shh οδηγώντας σε ογκογένεση (Smith et al, 2014).

Οι γαμετικές μεταλλάξεις των *PTCH1* και *SUFU* παρατηρούνται σε ένα μικρό ποσοστό των μυελοβλαστωμάτων, σωματικές μεταλλάξεις σε αυτά τα γονίδια έχουν παρατηρηθεί (το *PTCH1* σε ποσοστό 28%) και στο σποραδικό Shh μυελοβλάστωμα μαζί με μεταλλάξεις στα εξής γονίδια, τα οποία χαρακτηρίζονται ως γονίδια οδηγοί της ογκογένεσης : *TP53* (13,6–21%, σχεδόν αποκλειστικά σε ασθενείς 5-18 ετών), *KMT2D* (12,9%), *DDX3X* (11,7%), ενίσχυση του *MYCN* (8,2%), *BCOR* (8%), *LDB1* (6,9%), *TCF4* (5,5%) και ενίσχυση του *GLI2* (5.2%) (Millard και De Braganca, 2016). Η ανωμαλία στο *MYCN* σχετίζεται σχεδόν αποκλειστικά με έλλειμμα της περιοχής q του χρωμοσώματος 9, όπου βρίσκεται το γονίδιο *PTCH1*(9q22). Μεταλλάξεις στον υποκινητή της TERT (telomerase reverse transcriptase) ανιχνεύονται συχνά στους ενήλικες με μυελοβλάστωμα SHH (Lindsey et al, 2014).

Μετά από αναλύσεις SHH μυελοβλαστωμάτων αποδείχτηκε ότι η συγκεκριμένη υποομάδα μπορεί να διαχωριστεί περαιτέρω, σε τέσσερις υπότυπους (SHH-α, β, γ και δ) με διαφορετικές αριθμητικές ανωμαλίες, ενεργοποιημένα μονοπάτια και κλινική έκβαση (Cavalli et al, 2017). Ο υπότυπος SHH-α επηρεάζει παιδιά ηλικίας 3-18 ετών και χαρακτηρίζεται από την χειρότερη πρόγνωση ανάμεσα στους τέσσερις υποτύπους της υποομάδας SHH. Παρουσιάζει ιστολογία τύπου LCA ή ND (κονδυλώδες) και είναι εμπλουτισμένος σε ενισχύσεις των γονιδίων *MYCN*, *GLI2* και *YAP*, μεταλλάξεις του *TP53* (σημαντική προγνωστική αξία για τον υπότυπο αυτό σε σύγκριση με τους υπόλοιπους τρεις και την υποομάδα Wnt) και αριθμητικές ανωμαλίες όπως ελλείμματα του 9q, 10q και 17p. Οι μεταλλάξεις στο *TP53* σχετίζονται με το σύνδρομο Li-Fraumeni και είναι δείκτης πολύ κακής πρόγνωσης για τον υπότυπο SHH-α. Σημειώνεται επίσης ότι στο 70% των περιπτώσεων παρατηρείται μετάσταση τη στιγμή της διάγνωσης και συνεπώς, ως υπότυπος χαρακτηρίζεται από κακή πρόγνωση (El Doussouki et al, 2019).

Το νεογνικό SHH μυελοβλάστωμα που επηρεάζει άτομα μικρότερα των τριών ετών και κατατάσσεται στους υποτύπους β και γ. Το 25% των μυελοβλαστωμάτων υποτύπου SHH-β φέρουν ελλείμματα του γονιδίου *PTEN* και πολλαπλές γονιδιακές ενισχύσεις. Το ένα τρίτο των ασθενών SHH-β παρουσιάζουν μετάσταση κατά τη διάγνωση, γεγονός που δικαιολογεί την κακή πρόγνωση που χαρακτηρίζει αυτόν τον υπότυπο (πενταετής επιβίωση: 67%). Αντιθέτως οι ασθενείς με μυελοβλάστωμα SHH-γ χαίρουν καλύτερης πρόγνωσης με την πενταετή επιβίωσή τους να

ανέρχεται στο 88%, έχουν ισορροπημένο γονιδίωμα χωρίς γονιδιακές ενισχύσεις που να εμφανίζονται συχνά. Οι ιστολογικοί τύποι που συναντώνται είναι οι ND και MBEN, σημειώνεται ότι σχεδόν όλα τα μυελοβλαστώματα τύπου MBEN ανήκουν στον υπότυπο SHH-γ. Ο υπότυπος SHH-δ περιλαμβάνει ως επί το πλείστον ενήλικες με ευνοϊκότερη πρόγνωση (88,5% πενταετής επιβίωση), με ποσοστό λιγότερο από το 10% των περιπτώσεων να παρουσιάζουν μετάσταση κατά τη διάγνωση. Ο υπότυπος αυτός είναι εμπλουτισμένος σε μεταλλάξεις του υποκινητή της TERT και ιστολογία τύπου ND (Robinson et al, 2018).

### **Υποομάδα 3**

Τα μυελοβλαστώματα της υποομάδας αυτής αποτελούν το 25-28% των περιπτώσεων και χαρακτηρίζονται από την ενεργοποίηση GABAεργικών μονοπατιών, την έκφραση του πρωτοογκογονιδίου *MYC*, γονιδίων φωτοϋποδοχέων και γονιδίων που εκφράζονται κατά την ανάπτυξη του αμφιβληστροειδή (Gajjar et al, 2015, Gajjar et al, 2014, Cho et al, 2011, Kool et al, 2008, Tayloret al, 2012).

Παρατηρείται συχνότερα σε άρρενα άτομα με το λόγο άρρενων προς θήλεα να είναι ίσος με 2:1 (El Doussouki et al, 2019). Είναι η υποομάδα με τη χειρότερη πρόγνωση με την πενταετή επιβίωση να ανέρχεται γύρω στο 50% (Khatua et al 2018). Δύο ιστολογικοί τύποι έχουν αναφερθεί σε αυτή την υποομάδα, ο κλασικός και ο LCA. Η μετάσταση κατά την διάγνωση είναι σύνηθες φαινόμενο που παρατηρείται στο 45% των ασθενών (Gajjar et al, 2014). Η πλειοψηφία των ασθενών μετά από επανεμφάνιση της νόσου εμφανίζουν μετάσταση ενώ το αρχικό σημείο εντόπισης του όγκου είναι απαλλαγμένο από αυτόν (Ramaswamy et al, 2013). Τα προτεινόμενα κύτταρα προέλευσης των μυελοβλαστωμάτων αυτής της υποομάδας είναι πρόδρομα κοκιοκύτταρα της παρεγκεφαλίδας (Perreault et al, 2014).

Έχει παρατηρηθεί ότι καρκινικά κύτταρα των μυελοβλαστωμάτων της υποομάδας 3 είναι θετικά στην ανοσοϊστοχημική χρώση για β-κατενίνη αλλά όχι για GAB1 και YAP1 στα οποία είναι θετικά τα μυελοβλαστώματα Wnt (Ellison et al, 2011). Έχει προταθεί επίσης η χρώση για τον υποδοχέα του νατριουρικού πεπτιδίου από τους Eberhart et al το 2004 και τους Northcott et al το 2011. Οι συχνότερα εμφανιζόμενες μεταλλάξεις στο μυελοβλάστωμα αυτού του τύπου είναι ενίσχυση των γονιδίων *MYC* και *OTX2*, οι οποίες είναι αποκλειστικές για την συγκεκριμένη ομάδα και συναντώνται σε ποσοστό 16–20% και 7,7% αντίστοιχα (Gajjar et al, 2014, Kool et al 2012). Ενίσχυση του *MYCN* παρατηρείται στο 5% των περιπτώσεων (El Doussouki et al, 2019).

Δομικές ανωμαλίες όπως ελλείμματα, διπλασιασμοί και αναστροφές, τοποθετούν τα προογκογονίδια *GFI1* και *GFI1B* σε περιοχή που ελέγχουν ενεργοί ενισχυτές οδηγώντας σε ανωμαλίες στην ενεργοποίησή τους στο



41% των περιπτώσεων (El Doussouki et al, 2019). Το γονίδιο στο οποίο ανιχνεύονται οι περισσότερες μεταλλάξεις, το 11% αυτών, στα μυελοβλαστώματα της ομάδας 3 είναι το *SMARCA4*, κωδικοποιεί για έναν αναδιαμορφωτή της χρωματίνης (El Doussouki et al, 2019). Έχει επίσης καταγραφεί σημαντική αύξηση της έκφρασης γονιδίων που συμμετέχουν στα μονοπάτια τύπου Notch και TGF-β (El Doussouki et al, 2019).

Στα μυελοβλαστώματα αυτής της υποομάδας έχει παρατηρηθεί ιδιαίτερα μικρός αριθμός αλλαγών ενός νουκλεοτιδίου αλλά πολλές δομικές και αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Για αυτό το λόγο χαρακτηρίζονται ως όγκοι με ασταθή γονιδιώματα. Ισοχρωμόσωμα 17q υπάρχει στο 25% των μυελοβλαστωμάτων της ομάδας και χαρακτηρίζεται από κακή πρόγνωση ειδικά όταν συνδυάζεται με ενίσχυση του *MYC* (Archeret al, 2017). Άλλες δομικές ανωμαλίες που έχουν ανιχνευτεί σε αυτή την υποομάδα είναι η προσθήκη της περιοχής q του χρωμοσώματος 1, έλλειμμα του 5q, 10q και 16q (El Doussouki et al, 2019, Northcott et al, 2012). Η γονιδιακή ενίσχυση του *MYC* απαντάται στο 20% των περιπτώσεων αυτού του τύπου. Στους όγκους αυτούς συχνά συμπεριλαμβάνεται ενίσχυση του *PVT1* ενός lncRNA που σταθεροποιεί την πρωτεΐνη του *MYC* (El Doussouki et al, 2019, Wang et al, 2018).

Για την ταυτοποίηση της υποομάδας 3 προτείνεται έλεγχος της μεθυλίωσης (προφίλ μεθυλίωσης) ολόκληρου του γονιδιώματος, η χρήση μικροσυστοιχιών ή συγκεκριμένων πάνελ για την ανίχνευση δομικών ανωμαλιών (Northcott et al, 2012).

Τα μυελοβλαστώματα της υποομάδας 3 μπορούν να διαιρεθούν περαιτέρω στους εξής υπότυπους: G3-α (46,5%), G3-β (25,7%), G3-γ (27,8%) με διαφορετικά ενεργοποιημένα μονοπάτια, δομικές ανωμαλίες και κλινικά αποτελέσματα (Cavalli et al, 2017). Τον υπότυπο G3-α απαρτίζουν νεογνά και παιδιά έως 10 ετών, με το 60% των νεογνών της υποομάδας 3 να ανήκουν σε αυτόν τον υπότυπο. Μετάσταση έχει παρουσιαστεί στο 43,4% κατά τη διάγνωση και το ποσοστό της πενταετούς επιβίωσης ανέρχεται στο 66,2%. Οι δομικές ανωμαλίες που παρατηρούνται συχνά σε αυτό τον υπότυπο περιλαμβάνουν έλλειμμα των χρωμοσωμάτων 8, 10, 11, διπλασιασμό του χρωμοσώματος 7 και το ισοχρωμόσωμα 17q. Ενίσχυση του *MYC* συμβαίνει στο 7,1% των περιπτώσεων. Στον υπότυπο G3-β κατατάσσονται μεγαλύτερα παιδιά, σε αυτή την περίπτωση μετάσταση εμφανίζεται λιγότερο συχνά, στο 20% των περιπτώσεων. Είναι επίσης εμπλουτισμένος ως προς τον διπλασιασμό του γονιδίου *OTX1* και στο έλλειμμα του *DDX31* στο χρωμόσωμα 9 και αυξημένη έκφραση του *GFI1/1B*. Η πενταετής επιβίωση ανέρχεται στο 55,8% (Cavalliet al, 2017). Ο υπότυπος G3-γ χαρακτηρίζεται από την χειρότερη πρόγνωση από τους τρεις με την πενταετή επιβίωση να είναι ίση με 41,9% και το ποσοστό των ασθενών με μετάσταση κατά τη διάγνωση να αγγίζει το 40%. Σε αυτό το γκρουπ κατατάσσονται ασθενείς της ίδιας ηλικιακής ομάδας με το G3-α.

Στο 25% των ασθενών ανιχνεύεται ισοχρωμόσωμα 17q και στο 20,8% ενίσχυση του *MYC* (Cavalliet al, 2017).

#### **Υποομάδα 4**

Η υποομάδα 4 είναι η πιο συχνά εμφανιζόμενη και αποτελεί το 40-45% των περιπτώσεων μυελοβλαστώματος. Συναντάται συχνότερα σε άρρενα άτομα και σπάνια σε νεογνά, τα οποία έχουν φτωχή πρόγνωση, με μέσο όρο ηλικίας ασθενών τα 9 χρόνια (συχνότερα εμφανιζόμενο σε άτομα 3 με 16 ετών) (Ramaswamy et al, 2014, Shih et al, 2014). Τα μυελοβλαστώματα αυτού του τύπου είναι κλασικής ιστολογίας και λιγότερο συχνά LCA (Kool et al, 2012).

Χαρακτηρίζονται από προφίλ έκφρασης που παρομοιάζει γλουταμινεργικούς νευρώνες (Tayloret al, 2012). Παρουσιάζουν συχνά μετάσταση κατά τη διάγνωση σε ποσοστό 40% και έχουν ενδιάμεση πρόγνωση γύρω στο 75%. Οι περισσότεροι όγκοι φέρουν το ισοχρωμόσωμα 17q αλλά σε αυτή την υποομάδα δεν φαίνεται να έχει προγνωστική αξία (Wang et al, 2018). Ορισμένες κοινές μοριακές διαταραχές που συναντώνται σε αυτή την ομάδα είναι μεταλλάξεις απενεργοποίησης της απακετυλάσης των ιστονών *KDM6A* (10% των όγκων), διπλασιασμός του γονιδίου που κωδικοποιεί για την συνουκλειΐνη *a* και ενίσχυση των γονιδίων *MYCN* (10% των όγκων) και *CDK6* (5% των όγκων). Η μεταφορά του γονιδίου *PRDM6* εξαιτίας των χρωμοσωμικών αναδιατάξεων σε περιοχές ενισχυτών φαίνεται να είναι σχετικά συχνή. Παρόλα αυτά, οι όγκοι της υποομάδας αυτής χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη αριθμητικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών όπως το ισοχρωμόσωμα 17q, απώλεια του 17p, του X χρωμοσώματος στα θήλεα και του χρωμοσώματος 11. Το έλλειμμα του χρωμοσώματος 11 είναι θετικός προγνωστικός δείκτης.

Τα μυελοβλαστώματα αυτής της υποομάδας διαχωρίζονται σε τρεις υποτύπους G4-α (30%), G4-β (33,4%) και G4-γ (36,6%). Ο υπότυπος G4-α βρίσκεται εμπλουτισμένος σε ενίσχυση των γονιδίων *MYCN* (16.7%) και *CDKNA*, έλλειμμα του 8p και προσθήκη του 7q. Η ενίσχυση του *MYCN* σε αυτό τον υπότυπο δεν έχει συσχετιστεί με φτωχότερη πρόγνωση όπως στην υποομάδα SHH (Gajjar et al, 2015). Στον υπότυπο G4-β συναντώνται συχνά διπλασιασμοί της συνουκλειΐνης-α και στον G4-γ έλλειμμα του 8p, προσθήκη του 7q και ενίσχυση του *CDKNA* (Gajjar et al, 2015).

Σε γενικές γραμμές οι ασθενείς που κατατάσσονται σε αυτή την κατηγορία και παρουσιάζουν συχνά μετάσταση κατά τη διάγνωση έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο επανεμφάνισης της νόσου, εκτός αν φέρουν προσθήκη του χρωμοσώματος 17 ή έλλειμμα του 11 (Gajjar et al, 2015). Για την ταυτοποίηση της υποομάδας 4 όπως και για την υποομάδα 3 προτείνεται έλεγχος της μεθυλίωσης (προφίλ μεθυλίωσης) ολόκληρου του

γονιδιώματος, η χρήση μικροσυστοιχιών ή συγκεκριμένων πάνελ (Northcott et al, 2012).

## **Θεραπεία**

Λόγω της φύσης των συμπτωμάτων, το μυελοβλάστωμα αργεί να διαγνωστεί, με αποτέλεσμα ο όγκος να έχει μεγαλώσει αρκετά ή και να υπάρχει ήδη μετάσταση (30% των περιπτώσεων) (Fouladi et al, 1999). Το σύνηθες θεραπευτικό πρωτόκολλο θεραπείας του μυελοβλαστώματος περιλαμβάνει χειρουργική αφαίρεση του όγκου, ακολουθούμενη από ακτινοθεραπεία στο κρανίο και την σπονδυλική στήλη και χημειοθεραπεία. Παρά την πολυδιάστατη αυτή προσέγγιση το 30% των ασθενών θα καταλήξει από την ασθένεια. Οι επιζήσαντες υποφέρουν από σοβαρές μακροπρόθεσμες παρενέργειες της θεραπείας όπως είναι νευρολογικά προβλήματα, ενδοκρινικές διαταραχές και δευτερογενείς καρκίνοι. Οι περισσότεροι ασθενείς προς το παρόν λαμβάνουν παρόμοια θεραπεία με τις δόσεις της ακτινοβολίας και της χημικοθεραπείας να τροποποιούνται αναλόγως με την κατηγοριοποίηση του όγκου σε υψηλού, ενδιάμεσου ή χαμηλού κινδύνου. Με την αναγνώριση των μοριακών υποομάδων και τη ακριβή εκτίμηση του κινδύνου, είναι πιθανόν να οι μελλοντικές θεραπείες να είναι ειδικές για τα χαρακτηριστικά κάθε ασθενή, πιο αποτελεσματικές και με λιγότερες παρενέργειες (Wang et al, 2018).

Για τους ασθενείς κάτω από 3 ετών η χημειοθεραπεία είναι η μόνη θεραπεία που χορηγείται μέχρι να φτάσουν σε ηλικία που η ακτινοθεραπεία μπορεί να γίνει ανεκτή. Μέχρι πρόσφατα τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα που χρησιμοποιούνταν είναι κυτταροτοξικοί παράγοντες που παρεμβαίνουν στη σύνθεση του DNA ή στην αντιγραφή, σκοτώνοντας έτσι τα κύτταρα που πολλαπλασιάζονται. Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για το μυελοβλάστωμα είναι η βινκριστίνη (αναδιαμορφωτής των μικροσωλινίσκων), η σις πλατίνη, η καρβοπλατίνη και η κυκλοφωσφαμίδη (αλκυλιωτικός παράγοντας) (Martin et al, 2014, Packer και Vezina, 2008). Η χημειοθεραπεία έχει επίσης σοβαρές παρενέργειες όπως αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης, ασθένειες των νεφρών, ενδοκρινοπάθειες και νευρογνωστικά προβλήματα (Crawford et al, 2007, Martin et al, 2014). Τα σκευάσματα που χρησιμοποιούνται διαφέρουν αναλόγως την ηλικία και παράγοντες κινδύνου όπως η ιστολογία, το εύρος της εκτομής του όγκου και η ύπαρξη μετάστασης.

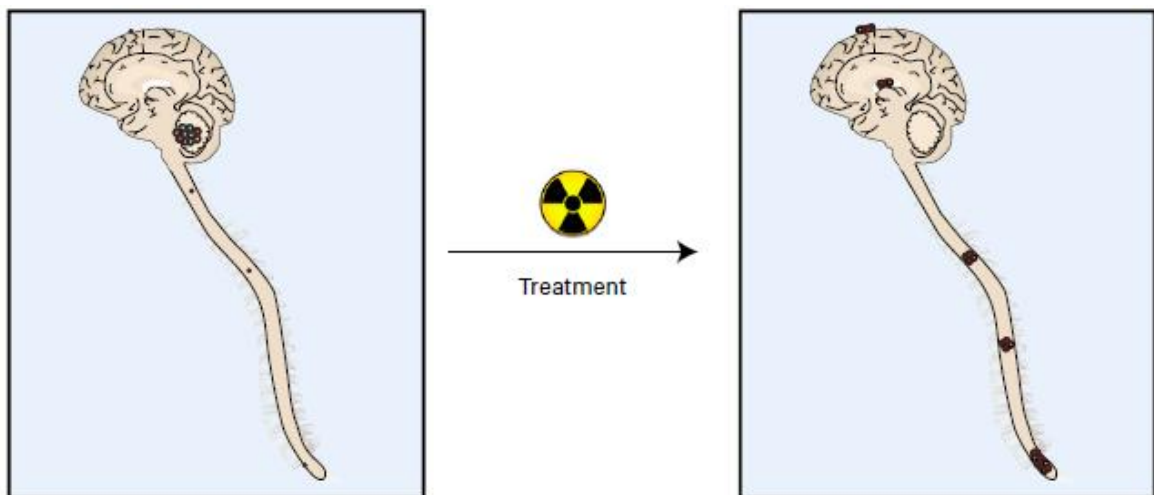
Αφού ο ασθενής θεραπευτεί προτείνεται παρακολούθηση ανά τρεις μήνες τον πρώτο χρόνο μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας, ανά τρεις ή τέσσερις τον δεύτερο χρόνο, ανά έξι μήνες τον τρίτο και στη συνέχεια ανά έτος. Έχει παρατηρηθεί ότι η επανεμφάνιση της νόσου που ανιχνεύεται στον προληπτικό έλεγχο έχει καλύτερη πρόγνωση από την ανίχνευσή της μετά την έναρξη των συμπτωμάτων (Saunders et al, 2003).

## Εξατομικευμένη θεραπεία

Όσο αυξάνονται οι γνώσεις στο της μοριακής βάσης του μυελοβλαστώματος, θα γίνει δυνατή η ταυτοποίηση γονιδίων που διαδραματίζουν κύριο ρόλο στη παθογένεια του μυελοβλαστώματος καθώς και η ειδική στόχευσή τους χωρίς να επηρεάζονται τα υγιή κύτταρα. Οι θεραπείες θα είναι ειδικές για κάθε υποομάδα, λόγω των διαφορετικών ανωμαλιών που παρατηρούνται σε κάθε μία. Κλινικές έρευνες βρίσκονται σε εξέλιξη για την αξιολόγηση στοχευμένων θεραπειών οι οποίες βρίσκονται όμως βρίσκονται σε προ-κλινικό στάδιο. Μέχρι στιγμής δεν έχει βρεθεί κάτι που να χρησιμοποιείται στην κλινική πρακτική.

## Επανεμφάνιση-Υποτροπή

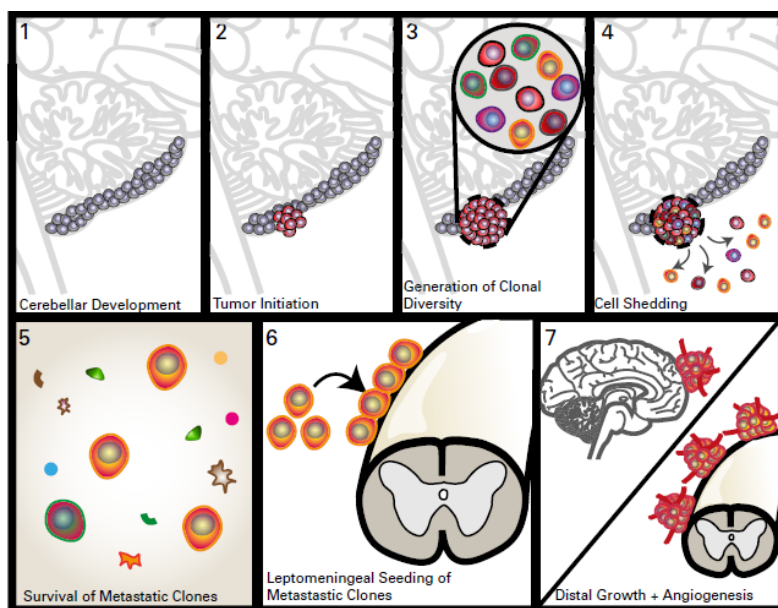
Το υποτροπιάζον (recurrent) μυελοβλάστωμα είναι συνήθως θανατηφόρο, με την διετή επιβίωση να ανέρχεται στο 9% (Zeltzer et al, 1999). Οι μηχανισμοί με τους οποίους ορισμένα καρκινικά κύτταρα ξεφεύγουν της θεραπείας δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Το πρότυπο της επανεμφάνισης διαφέρει αναλόγως την υποομάδα. Οι όγκοι της υποομάδας 4 επανεμφανίζονται αργότερα από τους όγκους των υποομάδων SHH και 3. Οι όγκοι SHH επανεμφανίζονται κυρίως τοπικά ενώ των υποομάδων 3 και 4 σχεδόν αποκλειστικά με μετάσταση σε σημεία μακριά από την αρχική τοποθεσία του όγκου συνήθως να είναι καθαρή χωρίς ενδείξεις καρκίνου (Ramaswamy et al, 2013).



**Εικόνα 24: Αντίσταση στη θεραπεία επανεμφανιζόμενου μυελοβλαστώματος ομάδας 3 και 4 προσαρμοσμένη από Ramaswamy και Taylor 2017.**

Οι όγκοι WNT σπανίως υποτροπιάζουν είτε στο αρχικό σημείο είτε σε άλλα σημεία του κεντρικού νευρικού. Παρόλο που η μοριακή υποομάδα δεν αλλάζει κατά την υποτροπή, ανιχνεύονται νέες σωματικές μεταλλάξεις και χρωμοσωμικές ανωμαλίες (TP53, MYC). Οι ασθενείς των ομάδων 3 και 4 καταλήγουν σχεδόν αποκλειστικά λόγω μετάστασης, γεγονός που δείχνει ότι η θεραπεία ευνοεί την επιβίωση ορισμένων κυτταρικών κλώνων με

ορισμένα χαρακτηριστικά που αφορούν την αντίσταση στη θεραπεία και τη μετάσταση. Αυτοί οι κλώνοι τελικά οδηγούν στην επανεμφάνιση του μυελοβλαστώματος τρόπο που περιγράφεται στην εικόνα 25 (Ramaswamy και Taylor 2017).



**Εικόνα 25: Θετική επιλογή του μεταστατικού κλώνου προσαρμοσμένη από Ramaswamy και Taylor 2017.**

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Οι γενετικοί βιοδείκτες είναι μια ακριβής και αξιόπιστη μέθοδος εκτίμησης του κινδύνου των ασθενών. Παρέχουν άμεσα και έγκαιρα στοιχεία για την αντιμετώπιση του νευροβλαστώματος και του μυελοβλαστώματος. Είναι μάλιστα απαραίτητοι για την κατηγοριοποίησή τους σε ομάδες έτσι ώστε η θεραπεία να προσαρμόζεται στις ανάγκες του κάθε ασθενή. Με αυτό τον τρόπο μπορούν να ελαχιστοποιηθούν ή και να αποφευχθούν οι παρενέργειες της θεραπείας στους ασθενείς χαμηλού και ενδιάμεσου κινδύνου, και να εντατικοποιηθεί στους ασθενείς υψηλού, με σκοπό την αύξηση της πιθανότητας επιβίωσης τους. Επίσης καθιστούν δυνατή την επιλογή κατάλληλης εξατομικευμένης θεραπείας όπου παρέχεται. Ωστόσο κρίνεται απαραίτητη η ταυτοποίηση τους σε πιστοποιημένα εργαστήρια με σκοπό την περαιτέρω αύξηση της αξιοπιστίας και σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Πιο συγκεκριμένα, για το νευροβλάστωμα οι γενετικοί βιοδείκτες με την μεγαλύτερη κλινική σημασία, σύμφωνα με το consensus είναι η ενίσχυση του *MYCN*, το έλλειμμα 11q23 και η πλοειδία (Ambros et al 2009). Για το μυελοβλάστωμα οι μεταλλάξεις στο γονίδιο της β-κατενίνης, η μονοσωμία 6, οι μεταλλάξεις των γονιδίων *PTCH*, *SMO*, *SUFU*, η ενίσχυση των *MYC*, *MYCN* και *GLI2*, το ισοχρωμόσωμα 17q, τα

ελλείμματα 14q και του χρωμοσώματος 11 και η προσθήκη του χρωμοσώματος 17 αποτελούν σημαντικούς γενετικούς βιοδείκτες για την εκτίμηση κινδύνου των ασθενών και την κατηγοριοποίησή τους σύμφωνα με το consensus (Taylor et al 2012).

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Albiñn, A., Johnsen, J.I. and Henriksson, M.A. (2010). MYC in oncogenesis and as a target for cancer therapies. *Advances in cancer research*, [online] 107(107), pp.163–224. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20399964> [Accessed 12 Jan. 2020].
2. Ambros, I.M., Zellner, A., Roald, B., Amann, G., Ladenstein, R., Printz, D., Gadner, H. and Ambros, P.F. (1996). Role of Ploidy, Chromosome 1p, and Schwann Cells in the Maturation of Neuroblastoma. *New England Journal of Medicine*, 334(23), pp.1505–1511.
3. Ambros, P., Ambros, I., Brodeur, G., Haber, M., Khan, J., Nakagawara, A., Schleiermacher, G., Speleman, F., Spitz, R., London, W., Cohn, S., Pearson, A. and Maris, J. (2009). International consensus for neuroblastoma molecular diagnostics: Report from the international neuroblastoma risk grouping (INRG) Biology committee. *Klinische Pädiatrie*, 221(03).
4. Archer, T.C., Mahoney, E.L. and Pomeroy, S.L. (2017). Medulloblastoma: Molecular Classification-Based Personal Therapeutics. *Neurotherapeutics*, 14(2), pp.265–273.
5. Attiyeh, E.F., London, W.B., Mossé, Y.P., Wang, Q., Winter, C., Khazi, D., McGrady, P.W., Seeger, R.C., Look, A.T., Shimada, H., Brodeur, G.M., Cohn, S.L., Matthay, K.K. and Maris, J.M. (2005). Chromosome 1p and 11q Deletions and Outcome in Neuroblastoma. *New England Journal of Medicine*, 353(21), pp.2243–2253.
6. Bachetti, T., Di Paolo, D., Di Lascio, S., Mirisola, V., Brignole, C., Bellotti, M., Caffa, I., Ferraris, C., Fiore, M., Fornasari, D., Chiarle, R., Borghini, S., Pfeffer, U., Ponzoni, M., Ceccherini, I. and Perri, P. (2010). PHOX2B-Mediated Regulation of ALK Expression: In Vitro Identification of a Functional Relationship between Two Genes Involved in Neuroblastoma. *PLoS ONE*, 5(10), p.e13108.
7. Bagatell, R., Norris, R., Ingle, A.M., Ahern, C., Voss, S., Fox, E., Little, A.R., Weigel, B.J., Adamson, P.C. and Blaney, S. (2013). Phase 1 trial of temsirolimus in combination with irinotecan and temozolomide in children, adolescents and young adults with relapsed or refractory solid tumors: A children’s oncology group study. *Pediatric Blood & Cancer*, 61(5), pp.833–839.
8. Bagca, B.G. and Avci, C.B. (2017). Molecular Approach to Neuroblastoma. *Neuroblastoma - Current State and Recent Updates*. [online] Available at: <https://www.intechopen.com/books/neuroblastoma-current-state-and-recent-updates/molecular-approach-to-neuroblastoma> [Accessed 12 Jan. 2020].
9. Baker, D.L., Schmidt, M.L., Cohn, S.L., Maris, J.M., London, W.B., Buxton, A.,

- Stram, D., Castleberry, R.P., Shimada, H., Sandler, A., Shamberger, R.C., Look, A.T., Reynolds, C.P., Seeger, R.C. and Matthay, K.K. (2010). Outcome after Reduced Chemotherapy for Intermediate-Risk Neuroblastoma. *New England Journal of Medicine*, 363(14), pp.1313–1323.
10. Barr, E. and Applebaum, M. (2018). Genetic Predisposition to Neuroblastoma. *Children*, 5(9), p.119.
  11. Barone, G., Anderson, J., Pearson, A.D.J., Petrie, K. and Chesler, L. (2013). New Strategies in Neuroblastoma: Therapeutic Targeting of MYCN and ALK. *Clinical Cancer Research*, 19(21), pp.5814–5821.
  12. Bayliss, R., Burgess, S.G., Leen, E. and Richards, M.W. (2017). A moving target: structure and disorder in pursuit of Myc inhibitors. *Biochemical Society Transactions*, 45(3), pp.709–717.
  13. Beck, B. and Blanpain, C. (2013). Unravelling cancer stem cell potential. *Nature Reviews Cancer*, 13(10), pp.727–738.
  14. Bénard, J., Raguénez, G., Kauffmann, A., Valent, A., Ripoche, H., Joulin, V., Job, B., Danglot, G., Cantais, S., Robert, T., Terrier-Lacombe, M.-J., Chassevent, A., Koscielny, S., Fischer, M., Berthold, F., Lipinski, M., Tursz, T., Dessen, P., Lazar, V. and Valteau-Couanet, D. (2008). MYCN-non-amplified metastatic neuroblastoma with good prognosis and spontaneous regression: A molecular portrait of stage 4S. *Molecular Oncology*, 2(3), pp.261–271.
  15. Berlanga, P., Cañete, A. and Castel, V. (2017). Advances in emerging drugs for the treatment of neuroblastoma. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 22(1), pp.63–75.
  16. Berry, T., Luther, W., Bhatnagar, N., Jamin, Y., Poon, E., Sanda, T., Pei, D., Sharma, B., Vetharoy, W.R., Hallsworth, A., Ahmad, Z., Barker, K., Moreau, L., Webber, H., Wang, W., Liu, Q., Perez-Atayde, A., Rodig, S., Cheung, N.-K., Raynaud, F., Hallberg, B., Robinson, S.P.,
  17. Bosse, K.R. and Maris, J.M. (2015). Advances in the translational genomics of neuroblastoma: From improving risk stratification and revealing novel biology to identifying actionable genomic alterations. *Cancer*, 122(1), pp.20–33.
  18. Bown, N. (2001). Neuroblastoma tumour genetics: clinical and biological aspects. *Journal of Clinical Pathology*, 54(12), pp.897–910.
  19. Gray, N.S., Pearson, A.D.J., Eccles, S.A., Chesler, L. and George, R.E. (2012). The ALKF1174L Mutation Potentiates the Oncogenic Activity of MYCN in Neuroblastoma. *Cancer Cell*, 22(1), pp.117–130.



20. Betters, E., Liu, Y., Kjaeldgaard, A., Sundström, E. and García-Castro, M.I. (2010). Analysis of early human neural crest development. *Developmental Biology*, 344(2), pp.578–592.
21. Blackburn, E.H. (2010). Telomeres and Telomerase: The Means to the End (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition*, 49(41), pp.7405–7421.
22. Boeva, V., Jouannet, S., Daveau, R., Combaret, V., Pierre-Eugène, C., Cazes, A., Louis-Brennetot, C., Schleiermacher, G., Ferrand, S., Pierron, G., Lermine, A., Frio, T.R., Raynal, V., Vassal, G., Barillot, E., Delattre, O. and Janoueix-Lerosey, I. (2013). Breakpoint Features of Genomic Rearrangements in Neuroblastoma with Unbalanced Translocations and Chromothripsis. *PLoS ONE*, 8(8), p.e72182.
23. Bonvini, P., Nguyen, P., Trepel, J. and Neckers, L.M. (1998). In vivo degradation of N-myc in neuroblastoma cells is mediated by the 26S proteasome. *Oncogene*, 16(9), pp.1131–1139.
24. Bosse, K.R., Diskin, S.J., Cole, K.A., Wood, A.C., Schnepp, R.W., Norris, G., Nguyen, L.B., Jagannathan, J., Laquaglia, M., Winter, C., Diamond, M., Hou, C., Attiyeh, E.F., Mosse, Y.P., Pineros, V., Dizin, E., Zhang, Y., Asgharzadeh, S., Seeger, R.C., Capasso, M., Pawel, B.R., Devoto, M., Hakonarson, H., Rappaport, E.F., Irminger-Finger, I. and Maris, J.M. (2012). Common Variation at BARD1 Results in the Expression of an Oncogenic Isoform That Influences Neuroblastoma Susceptibility and Oncogenicity. *Cancer Research*, 72(8), pp.2068–2078.
25. Bower, K., Napier, C.E., Cole, S.L., Dagg, R.A., Lau, L.M.S., Duncan, E.L., Moy, E.L. and Reddel, R.R. (2012). Loss of Wild-Type ATRX Expression in Somatic Cell Hybrids Segregates with Activation of Alternative Lengthening of Telomeres. *PLoS ONE*, 7(11), p.e50062.
26. Bown, N., astowska, M., Cotterill, S., O'Neill, S., Ellershaw, C., Roberts, P. and Lewis, I. (2001). 17q gain in neuroblastoma predicts adverse clinical outcome. *Medical and Pediatric Oncology*, 36(1), pp.14–19.
27. Bown, N., Cotterill, S., Łastowska, M., O'Neill, S., Pearson, A.D.J., Plantaz, D., Meddeb, M., Danglot, G., Brinkschmidt, C., Christiansen, H., Laureys, G., Nicholson, J., Bernheim, A., Betts, D.R., Vandesompele, J., Van Roy, N. and Speleman, F. (1999). Gain of Chromosome Arm 17q and Adverse Outcome in Patients with Neuroblastoma. *New England Journal of Medicine*, 340(25), pp.1954–1961.
28. Bresler, S.C., Weiser, D.A., Huwe, P.J., Park, J.H., Krytska, K., Ryles, H., Laudenslager, M., Rappaport, E.F., Wood, A.C., McGrady, P.W., Hogarty, M.D., London, W.B., Radhakrishnan, R., Lemmon, M.A. and Mossé, Y.P. (2014). ALK Mutations Confer Differential Oncogenic Activation and Sensitivity to ALK Inhibition

- Therapy in Neuroblastoma. *Cancer Cell*, [online] 26(5), pp.682–694. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4269829/> [Accessed 30 Jun. 2019].
29. Bressler, J.P., Grotendorst, G.R., Levitov, C. and Hjelmeland, L.M. (1985). Chemotaxis of rat brain astrocytes to platelet derived growth factor. *Brain Research*, 344(2), pp.249–254.
  30. Brodeur, G., Seeger, R., Schwab, M., Varmus, H. and Bishop, J. (1984). Amplification of N-myc in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage. *Science*, 224(4653), pp.1121–1124.
  31. Brodeur, G.M. (2003). Neuroblastoma: biological insights into a clinical enigma. *Nature Reviews Cancer*, 3(3), pp.203–216.
  32. Brodeur, G.M., Pritchard, J., Berthold, F., Carlsen, N.L., Castel, V., Castelberry, R.P., De Bernardi, B., Evans, A.E., Favrot, M. and Hedborg, F. (1993). Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. *Journal of Clinical Oncology*, 11(8), pp.1466–1477.
  33. Brodeur, G.M. (2018). Spontaneous regression of neuroblastoma. *Cell and Tissue Research*, 372(2), pp.277–286.
  34. Brodeur, G.M. and Bagatell, R. (2014). Mechanisms of neuroblastoma regression. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 11(12), pp.704–713.
  35. Burkhardt, C.A., Cheng, A.J., Madafiglio, J., Kavallaris, M., Mili, M., Marshall, G.M., Weiss, W.A., Khachigian, L.M., Norris, M.D. and Haber, M. (2003). Effects of MYCN Antisense Oligonucleotide Administration on Tumorigenesis in a Murine Model of Neuroblastoma. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 95(18), pp.1394–1403.
  36. Capasso, M., Devoto, M., Hou, C., Asgharzadeh, S., Glessner, J.T., Attiyeh, E.F., Mosse, Y.P., Kim, C., Diskin, S.J., Cole, K.A., Bosse, K., Diamond, M., Laudenslager, M., Winter, C., Bradfield, J.P., Scott, R.H., Jagannathan, J., Garris, M., McConville, C., London, W.B., Seeger, R.C., Grant, S.F.A., Li, H., Rahman, N., Rappaport, E., Hakonarson, H. and Maris, J.M. (2009). Common variations in BARD1 influence susceptibility to high-risk neuroblastoma. *Nature Genetics*, 41(6), pp.718–723.
  37. Caren, H., Kryh, H., Nethander, M., Sjoberg, R.-M., Trager, C., Nilsson, S., Abrahamsson, J., Kogner, P. and Martinsson, T. (2010). High-risk neuroblastoma tumors with 11q-deletion display a poor prognostic, chromosome instability phenotype with later onset. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(9), pp.4323–4328.

38. Cheung, N.-K.V. and Dyer, M.A. (2013). Neuroblastoma: developmental biology, cancer genomics and immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 13(6), pp.397–411.
39. Choudhry, Z., Rikani, A.A., Choudhry, A.M., Tariq, S., Zakaria, F., Asghar, M.W., Sarfraz, M.K., Haider, K., Shafiq, A.A. and Mobassarrah, N.J. (2014). Sonic hedgehog signalling pathway: a complex network. *Annals of Neurosciences*, 21(1).
40. Cohn, S.L., Pearson, A.D.J., London, W.B., Monclair, T., Ambros, P.F., Brodeur, G.M., Faldum, A., Hero, B., Iehara, T., Machin, D., Mosseri, V., Simon, T., Garaventa, A., Castel, V. and Matthay, K.K. (2009). The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Classification System: An INRG Task Force Report. *Journal of Clinical Oncology*, [online] 27(2), pp.289–297. Available at: <https://moh-it.pure.elsevier.com/en/publications/the-international-neuroblastoma-risk-group-inrg-classification-sy>.
41. Cox, M.C., Kusters, J.M., Gidding, C.E., Schieving, J.H., van Lindert, E.J., Kaanders, J.H. and Janssens, G.O. (2015). Acute toxicity profile of craniospinal irradiation with intensity-modulated radiation therapy in children with medulloblastoma: A prospective analysis. *Radiation Oncology*, 10(1).
42. Curran, E.K., Sainani, K.L., Le, G.M., Propp, J.M. and Fisher, P.G. (2009). Gender affects survival for medulloblastoma only in older children and adults: A study from the surveillance epidemiology and end results registry. *Pediatric Blood & Cancer*, 52(1), pp.60–64.
43. Caron, H., van Sluis, P., de Kraker, J., Bökkerink, J., Egeler, M., Laureys, G., Slater, R., Westerveld, A., Voûte, P.A. and Versteeg, R. (1996). Allelic Loss of Chromosome 1p as a Predictor of Unfavorable Outcome in Patients with Neuroblastoma. *New England Journal of Medicine*, 334(4), pp.225–230.
44. Carpenter, E.L. and Mossé, Y.P. (2012). Targeting ALK in neuroblastoma—preclinical and clinical advancements. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 9(7), pp.391–399.
45. Cascon, A. and Robledo, M. (2012). MAX and MYC: A Heritable Breakup. *Cancer Research*, 72(13), pp.3119–3124.
46. Cavalli, F.M.G., Remke, M., Rampasek, L., Peacock, J., Shih, D.J.H., Luu, B., Garzia, L., Torchia, J., Nor, C., Morrissy, A.S., Agnihotri, S., Thompson, Y.Y., Kuzan-Fischer, C.M., Farooq, H., Isaev, K., Daniels, C., Cho, B.-K., Kim, S.-K., Wang, K.-C., Lee, J.Y., Grajkowska, W.A., Perek-Polnik, M., Vasiljevic, A., Faure-Conter, C., Jouvett, A., Giannini, C., Nageswara Rao, A.A., Li, K.K.W., Ng, H.-K., Eberhart, C.G., Pollack, I.F., Hamilton, R.L., Gillespie, G.Y., Olson, J.M., Leary, S., Weiss, W.A., Lach, B., Chambless, L.B., Thompson, R.C., Cooper, M.K., Vibhakar, R., Hauser, P., van Veelen, M.-L.C., Kros, J.M., French, P.J., Ra, Y.S., Kumabe, T.,

- López-Aguilar, E., Zitterbart, K., Sterba, J., Finocchiaro, G., Massimino, M., Van Meir, E.G., Osuka, S., Shofuda, T., Klekner, A., Zollo, M., Leonard, J.R., Rubin, J.B., Jabado, N., Albrecht, S., Mora, J., Van Meter, T.E., Jung, S., Moore, A.S., Hallahan, A.R., Chan, J.A., Tirapelli, D.P.C., Carlotti, C.G., Fouladi, M., Pimentel, J., Faria, C.C., Saad, A.G., Massimi, L., Liao, L.M., Wheeler, H., Nakamura, H., Elbabaa, S.K., Perezpeña-Diazconti, M., Chico Ponce de León, F., Robinson, S., Zapotocky, M., Lassaletta, A., Huang, A., Hawkins, C.E., Tabori, U., Bouffet, E., Bartels, U., Dirks, P.B., Rutka, J.T., Bader, G.D., Reimand, J., Goldenberg, A., Ramaswamy, V. and Taylor, M.D. (2017). Intertumoral Heterogeneity within Medulloblastoma Subgroups. *Cancer Cell*, 31(6), pp.737-754.e6.
47. Cavalli, F.M.G., Remke, M., Reimand, J., Rampasek, L., Goldenberg, A., Taylor, M. and Ramaswamy, V. (2016). MB-87INTEGRATED GENOMICS REVEALS NOVEL SUBTYPES OF MEDULLOBLASTOMA SUBGROUPS. *Neuro-Oncology*, 18(suppl 3), p.iii116.5-iii117.
48. Cazes, A., Louis-Brennetot, C., Mazot, P., Dingli, F., Lombard, B., Boeva, V., Daveau, R., Cappo, J., Combaret, V., Schleiermacher, G., Jouannet, S., Ferrand, S., Pierron, G., Barillot, E., Loew, D., Vigny, M., Delattre, O. and Janoueix-Lerosey, I. (2012). Characterization of Rearrangements Involving the ALK Gene Reveals a Novel Truncated Form Associated with Tumor Aggressiveness in Neuroblastoma. *Cancer Research*, 73(1), pp.195–204.
49. Chanthery, Y.H., Gustafson, W.C., Itsara, M., Persson, A., Hackett, C.S., Grimmer, M., Charron, E., Yakovenko, S., Kim, G., Matthay, K.K. and Weiss, W.A. (2012). Paracrine Signaling Through MYCN Enhances Tumor-Vascular Interactions in Neuroblastoma. *Science Translational Medicine*, 4(115), pp.115ra3-115ra3.
50. Chen, Y., Takita, J., Choi, Y.L., Kato, M., Ohira, M., Sanada, M., Wang, L., Soda, M., Kikuchi, A., Igarashi, T., Nakagawara, A., Hayashi, Y., Mano, H. and Ogawa, S. (2008). Oncogenic mutations of ALK kinase in neuroblastoma. *Nature*, 455(7215), pp.971–974.
51. Chen, Z., Lin, Y., Barbieri, E., Burlingame, S., Hicks, J., Ludwig, A. and Shohet, J.M. (2009). Mdm2 Deficiency Suppresses MYCN-Driven Neuroblastoma Tumorigenesis In Vivo. *Neoplasia*, 11(8), pp.753–762.
52. Chesler, L., Schlieve, C., Goldenberg, D.D., Kenney, A., Kim, G., McMillan, A., Matthay, K.K., Rowitch, D. and Weiss, W.A. (2006). Inhibition of Phosphatidylinositol 3-Kinase Destabilizes Mycn Protein and Blocks Malignant Progression in Neuroblastoma. *Cancer Research*, 66(16), pp.8139–8146.
53. Cheung, N.-K.V. (2012). Association of Age at Diagnosis and Genetic Mutations in Patients With Neuroblastoma. *JAMA*, 307(10), p.1062.

54. Cho, Y.-J., Tsherniak, A., Tamayo, P., Santagata, S., Ligon, A., Greulich, H., Berhoukim, R., Amani, V., Goumnerova, L., Eberhart, C.G., Lau, C.C., Olson, J.M., Gilbertson, R.J., Gajjar, A., Delattre, O., Kool, M., Ligon, K., Meyerson, M., Mesirov, J.P. and Pomeroy, S.L. (2011). Integrative Genomic Analysis of Medulloblastoma Identifies a Molecular Subgroup That Drives Poor Clinical Outcome. *Journal of Clinical Oncology*, 29(11), pp.1424–1430.
55. Clifford, S.C., Lusher, M.E., Lindsey, J.C., Langdon, J.A., Gilbertson, R.J., Straughton, D. and Ellison, D.W. (2006). Wnt/Wingless Pathway Activation and Chromosome 6 Loss Characterise a Distinct Molecular Sub-Group of Medulloblastomas Associated with a Favourable Prognosis. *Cell Cycle*, 5(22), pp.2666–2670.
56. Coco, S., Theissen, J., Scaruffi, P., Stigliani, S., Moretti, S., Oberthuer, A., Valdora, F., Fischer, M., Gallo, F., Hero, B., Bonassi, S., Berthold, F. and Tonini, G.P. (2012). Age-dependent accumulation of genomic aberrations and deregulation of cell cycle and telomerase genes in metastatic neuroblastoma. *International Journal of Cancer*, 131(7), pp.1591–1600.
57. Conte, M., Parodi, S., De Bernardi, B., Milanaccio, C., Mazzocco, K., Angelini, P., Viscardi, E., Di Cataldo, A., Luksch, R. and Haupt, R. (2006). Neuroblastoma in adolescents. *Cancer*, 106(6), pp.1409–1417.
58. Crawford, J.R., MacDonald, T.J. and Packer, R.J. (2007). Medulloblastoma in childhood: new biological advances. *The Lancet Neurology*, 6(12), pp.1073–1085.
59. Curran, E.K., Sainani, K.L., Le, G.M., Propp, J.M. and Fisher, P.G. (2009). Gender affects survival for medulloblastoma only in older children and adults: A study from the surveillance epidemiology and end results registry. *Pediatric Blood & Cancer*, 52(1), pp.60–64.
60. Daneman, R., Agalliu, D., Zhou, L., Kuhnert, F., Kuo, C.J. and Barres, B.A. (2009). Wnt/beta-catenin signaling is required for CNS, but not non-CNS, angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(2), pp.641–646.
61. Darnell, R.B. and Posner, J.B. (2003). Paraneoplastic Syndromes Involving the Nervous System. *New England Journal of Medicine*, 349(16), pp.1543–1554.
62. Davis, J.B. (1990). Platelet-derived growth factors and fibroblast growth factors are mitogens for rat Schwann cells. *The Journal of Cell Biology*, 110(4), pp.1353–1360.
63. National Cancer Institute. (2019). *Childhood Medulloblastoma and Other Central Nervous System Embryonal Tumors Treatment (PDQ®)–Health Professional Version*. [online] Available at: <https://www.cancer.gov/types/brain/hp/child-cns->

64. De Bernardi, B., Mosseri, V., Rubie, H., Castel, V., Foot, A., Ladenstein, R., Laureys, G., Beck-Popovic, M., de Lacerda, A.F., Pearson, A.D.J., De Kraker, J., Ambros, P.F., de Rycke, Y., Conte, M., Bruzzi, P. and Michon, J. (2008). Treatment of localised resectable neuroblastoma. Results of the LNESG1 study by the SIOP Europe Neuroblastoma Group. *British Journal of Cancer*, [online] 99(7), pp.1027–1033. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2567095/> [Accessed 12 Jan. 2020].
65. Decock, A., Ongenaert, M., Vandesompele, J. and Speleman, F. (2011). Neuroblastoma epigenetics: From candidate gene approaches to genome-wide screenings. *Epigenetics*, 6(8), pp.962–970.
66. Defferrari, R., Mazzocco, K., Ambros, I.M., Ambros, P.F., Bedwell, C., Beiske, K., Bénard, J., Berbegall, A.P., Bown, N., Combaret, V., Couturier, J., Erminio, G., Gambini, C., Garaventa, A., Gross, N., Haupt, R., Kohler, J., Jeison, M., Lunec, J., Marques, B., Martinsson, T., Noguera, R., Parodi, S., Schleiermacher, G., Tweddle, D.A., Valent, A., Van Roy, N., Vicha, A., Villamon, E. and Tonini, G.P. (2014). Influence of segmental chromosome abnormalities on survival in children over the age of 12 months with unresectable localised peripheral neuroblastic tumours without MYCN amplification. *British Journal of Cancer*, 112(2), pp.290–295.
67. Denecker, G., Vandamme, N., Akay, Ö., Koludrovic, D., Taminau, J., Lemeire, K., Gheldof, A., De Craene, B., Van Gele, M., Brochez, L., Udupi, G.M., Rafferty, M., Balint, B., Gallagher, W.M., Ghanem, G., Huylebroeck, D., Haigh, J., van den Oord, J., Larue, L., Davidson, I., Marine, J.-C. and Berx, G. (2014). Identification of a ZEB2-MITF-ZEB1 transcriptional network that controls melanogenesis and melanoma progression. *Cell Death & Differentiation*, 21(8), pp.1250–1261.
68. Diskin, S.J., Capasso, M., Diamond, M., Oldridge, D.A., Conkrite, K., Bosse, K.R., Russell, M.R., Iolascon, A., Hakonarson, H., Devoto, M. and Maris, J.M. (2014). Rare Variants in TP53 and Susceptibility to Neuroblastoma. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 106(4).
69. Doussouki, M.E., Gajjar, A. and Chamdine, O. (2019). Molecular genetics of medulloblastoma in children: diagnostic, therapeutic and prognostic implications. *Future Neurology*, 14(1), p.FNL8
70. Eleveld, T.F., Oldridge, D.A., Bernard, V., Koster, J., Daage, L.C., Diskin, S.J., Schild, L., Bentahar, N.B., Bellini, A., Chicard, M., Lapouble, E., Combaret, V., Legoix-Né, P., Michon, J., Pugh, T.J., Hart, L.S., Rader, J., Attiyeh, E.F., Wei, J.S., Zhang, S., Naranjo, A., Gastier-Foster, J.M., Hogarty, M.D., Asgharzadeh, S., Smith, M.A., Guidry Auvil, J.M., Watkins, T.B.K., Zwijnenburg, D.A., Ebus, M.E.,

- van Sluis, P., Hakkert, A., van Wezel, E., van der Schoot, C.E., Westerhout, E.M., Schulte, J.H., Tytgat, G.A., Dolman, M.E.M., Janoueix-Lerosey, I., Gerhard, D.S., Caron, H.N., Delattre, O., Khan, J., Versteeg, R., Schleiermacher, G., Molenaar, J.J. and Maris, J.M. (2015). Relapsed neuroblastomas show frequent RAS-MAPK pathway mutations. *Nature Genetics*, 47(8), pp.864–871.
71. Eberhart, C.G., Kratz, J., Wang, Y., Summers, K., Stearns, D., Cohen, K., Dang, C.V. and Burger, P.C. (2004). Histopathological and Molecular Prognostic Markers in Medulloblastoma. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 63(5), pp.441–449.
72. Ellison, D.W., Kocak, M., Dalton, J., Megahed, H., Lusher, M.E., Ryan, S.L., Zhao, W., Nicholson, S.L., Taylor, R.E., Bailey, S. and Clifford, S.C. (2011). Definition of Disease-Risk Stratification Groups in Childhood Medulloblastoma Using Combined Clinical, Pathologic, and Molecular Variables. *Journal of Clinical Oncology*, 29(11), pp.1400–1407.
73. Ellison, D.W., Dalton, J., Kocak, M., Nicholson, S.L., Fraga, C., Neale, G., Kenney, A.M., Brat, D.J., Perry, A., Yong, W.H., Taylor, R.E., Bailey, S., Clifford, S.C. and Gilbertson, R.J. (2011a). Medulloblastoma: clinicopathological correlates of SHH, WNT, and non-SHH/WNT molecular subgroups. *Acta Neuropathologica*, 121(3), pp.381–396.
74. Ellison, D.W., Kocak, M., Dalton, J., Megahed, H., Lusher, M.E., Ryan, S.L., Zhao, W., Nicholson, S.L., Taylor, R.E., Bailey, S. and Clifford, S.C. (2011b). Definition of Disease-Risk Stratification Groups in Childhood Medulloblastoma Using Combined Clinical, Pathologic, and Molecular Variables. *Journal of Clinical Oncology*, 29(11), pp.1400–1407.
75. Evans, A.E., Silber, J.H., Shpilsky, A. and D'Angio, G.J. (1996). Successful management of low-stage neuroblastoma without adjuvant therapies: a comparison of two decades, 1972 through 1981 and 1982 through 1992, in a single institution. *Journal of Clinical Oncology*, 14(9), pp.2504–2510.
76. Faisal, A., Vaughan, L., Bavetsias, V., Sun, C., Atrash, B., Avery, S., Jamin, Y., Robinson, S.P., Workman, P., Blagg, J., Raynaud, F.I., Eccles, S.A., Chesler, L. and Linardopoulos, S. (2011). The Aurora Kinase Inhibitor CCT137690 Downregulates MYCN and Sensitizes MYCN-Amplified Neuroblastoma In Vivo. *Molecular Cancer Therapeutics*, 10(11), pp.2115–2123.
77. Fossati, P., Ricardi, U. and Orecchia, R. (2009). Pediatric medulloblastoma: Toxicity of current treatment and potential role of protontherapy. *Cancer Treatment Reviews*, 35(1), pp.79–96.

78. Fouladi, M., Gajjar, A., Boyett, J.M., Walter, A.W., Thompson, S.J., Merchant, T.E., Jenkins, J.J., Langston, J.W., Liu, A., Kun, L.E. and Heideman, R.L. (1999). Comparison of CSF Cytology and Spinal Magnetic Resonance Imaging in the Detection of Leptomeningeal Disease in Pediatric Medulloblastoma or Primitive Neuroectodermal Tumor. *Journal of Clinical Oncology*, 17(10), pp.3234–3237.
79. Fransson, S., Hansson, M., Ruuth, K., Djos, A., Berbegall, A., Javanmardi, N., Abrahamsson, J., Palmer, R.H., Noguera, R., Hallberg, B., Kogner, P. and Martinsson, T. (2014). Intragenic anaplastic lymphoma kinase (ALK) rearrangements: Translocations as a novel mechanism of ALK activation in neuroblastoma tumors. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 54(2), pp.99–109.
80. Fredlund, E., Ringner, M., Maris, J.M. and Pahlman, S. (2008). High Myc pathway activity and low stage of neuronal differentiation associate with poor outcome in neuroblastoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(37), pp.14094–14099.
81. Fujii, K. and Miyashita, T. (2014). Gorlin syndrome (nevoid basal cell carcinoma syndrome): Update and literature review. *Pediatrics International*, [online] 56(5), pp.667–674. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ped.12461> [Accessed 13 Jul. 2019].
82. Gajjar, A., Bowers, D.C., Karajannis, M.A., Leary, S., Witt, H. and Gottardo, N.G. (2015). Pediatric Brain Tumors: Innovative Genomic Information Is Transforming the Diagnostic and Clinical Landscape. *Journal of Clinical Oncology*, 33(27), pp.2986–2998.
83. Gajjar, A.J. and Robinson, G.W. (2014). Medulloblastoma—translating discoveries from the bench to the bedside. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 11(12), pp.714–722.
84. Gibson, P., Tong, Y., Robinson, G., Thompson, M.C., Curre, D.S., Eden, C., Kranenburg, T.A., Hogg, T., Poppleton, H., Martin, J., Finkelstein, D., Pounds, S., Weiss, A., Patay, Z., Scoggins, M., Ogg, R., Pei, Y., Yang, Z.-J., Brun, S., Lee, Y., Zindy, F., Lindsey, J.C., Taketo, M.M., Boop, F.A., Sanford, R.A., Gajjar, A., Clifford, S.C., Roussel, M.F., McKinnon, P.J., Gutmann, D.H., Ellison, D.W., Wechsler-Reya, R. and Gilbertson, R.J. (2010). Subtypes of medulloblastoma have distinct developmental origins. *Nature*, 468(7327), pp.1095–1099.
85. Greengard, E. (2018). Molecularly Targeted Therapy for Neuroblastoma. *Children*, 5(10), p.142.
86. George, R.E., London, W.B., Cohn, S.L., Maris, J.M., Kretschmar, C., Diller, L., Brodeur, G.M., Castleberry, R.P. and Look, A.T. (2005). Hyperdiploidy Plus



Nonamplified MYCN Confers a Favorable Prognosis in Children 12 to 18 Months Old With Disseminated Neuroblastoma: A Pediatric Oncology Group Study. *Journal of Clinical Oncology*, 23(27), pp.6466–6473.

87. Goker Bagca, Bakiye & Biray Avcı, Çığır. (2017). Molecular Approach to Neuroblastoma. 10.5772/intechopen.69374.
88. Goto, S., Umehara, S., Gerbing, R.B., Stram, D.O., Brodeur, G.M., Seeger, R.C., Lukens, J.N., Matthay, K.K. and Shimada, H. (2001). Histopathology (International Neuroblastoma Pathology Classification) and MYCN status in patients with peripheral neuroblastic tumors. *Cancer*, 92(10), pp.2699–2708.
89. Grimmer, M.R. and Weiss, W.A. (2006). Childhood tumors of the nervous system as disorders of normal development. *Current Opinion in Pediatrics*, 18(6), pp.634–638.
90. Gurney, J.G., Ross, J.A., Wall, D.A., Bleyer, W.A., Severson, R.K. and Robison, L.L. (1997). Infant Cancer in the U.S. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 19(5), pp.428–432.
91. Hall, B.K. (2000). The neural crest as a fourth germ layer and vertebrates as quadroblastic not triploblastic. *Evolution and Development*, 2(1), pp.3–5.
92. Hanahan, D. and Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), pp.646–674.
93. Heaphy, C.M., de Wilde, R.F., Jiao, Y., Klein, A.P., Edil, B.H., Shi, C., Bettegowda, C., Rodriguez, F.J., Eberhart, C.G., Hebbar, S., Offerhaus, G.J., McLendon, R., Rasheed, B.A., He, Y., Yan, H., Bigner, D.D., Oba-Shinjo, S.M., Marie, S.K.N., Riggins, G.J., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., Hruban, R.H., Maitra, A., Papadopoulos, N. and Meeker, A.K. (2011). Altered Telomeres in Tumors with ATRX and DAXX Mutations. *Science*, [online] 333(6041), pp.425–425. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3174141/> [Accessed 31 Jul. 2019].
94. Heck, J.E., Ritz, B., Hung, R.J., Hashibe, M. and Boffetta, P. (2009). The epidemiology of neuroblastoma: a review. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 23(2), pp.125–143.
95. Henderson, T.O., Bhatia, S., Pinto, N., London, W.B., McGrady, P., Crotty, C., Sun, C.-L. and Cohn, S.L. (2011). Racial and Ethnic Disparities in Risk and Survival in Children With Neuroblastoma: A Children’s Oncology Group Study. *Journal of Clinical Oncology*, 29(1), pp.76–82.
96. Hernandez-Lagunas, L., Powell, D.R., Law, J., Grant, K.A. and Artinger, K.B. (2011). prdm1a and olig4 act downstream of Notch signaling to regulate cell fate

- at the neural plate border. *Developmental Biology*, 356(2), pp.496–505.
97. Hero, B., Simon, T., Spitz, R., Ernestus, K., Gnekow, A.K., Scheel-Walter, H.-G., Schwabe, D., Schilling, F.H., Benz-Bohm, G. and Berthold, F. (2008). Localized Infant Neuroblastomas Often Show Spontaneous Regression: Results of the Prospective Trials NB95-S and NB97. *Journal of Clinical Oncology*, 26(9), pp.1504–1510.
  98. Hiyama, E., Hiyama, K., Yokoyama, T., Matsuura, Y., Piatyszek, M.A. and Shay, J.W. (1995). Correlating telomerase activity levels with human neuroblastoma outcomes. *Nature Medicine*, 1(3), pp.249–255.
  99. Howk, C.L., Voller, Z., Beck, B.B. and Dai, D. (2013). Genetic Diversity in Normal Cell Populations is the Earliest Stage of Oncogenesis Leading to Intra-Tumor Heterogeneity. *Frontiers in Oncology*, 3(61).
  100. Hsu, D.M., Agarwal, S., Benham, A., Coarfa, C., Trahan, D.N., Chen, Z., Stowers, P.N., Courtney, A.N., Lakoma, A., Barbieri, E., Metelitsa, L.S., Gunaratne, P., Kim, E.S. and Shohet, J.M. (2013). G-CSF Receptor Positive Neuroblastoma Subpopulations Are Enriched in Chemotherapy-Resistant or Relapsed Tumors and Are Highly Tumorigenic. *Cancer Research*, 73(13), pp.4134–4146.
  101. Huang, M. and Weiss, W.A. (2013). Neuroblastoma and MYCN. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(10), pp.a014415–a014415.
  102. Huber, D., Voith von Voithenberg, L. and Kaigala, G.V. (2018). Fluorescence in situ hybridization (FISH): History, limitations and what to expect from micro-scale FISH? *Micro and Nano Engineering*, 1, pp.15–24.
  103. Ishola, T.A. and Chung, D.H. (2007). Neuroblastoma. *Surgical Oncology*, 16(3), pp.149–156.
  104. Janoueix-Lerosey, I., Lequin, D., Brugières, L., Ribeiro, A., de Pontual, L., Combaret, V., Raynal, V., Puisieux, A., Schleiermacher, G., Pierron, G., Valteau-Couanet, D., Frebourg, T., Michon, J., Lyonnet, S., Amiel, J. and Delattre, O. (2008). Somatic and germline activating mutations of the ALK kinase receptor in neuroblastoma. *Nature*, 455(7215), pp.967–970.
  105. Jennings, R.W., LaQuaglia, M.P., Leong, K., Hardy Hendren, W. and Scott Adzick, N. (1993). Fet al neuroblastoma: Prenatal diagnosis and natural history. *Journal of Pediatric Surgery*, 28(9), pp.1168–1174.
  106. Johnsen, J.I., Dyberg, C., Fransson, S. and Wickström, M. (2018). Molecular mechanisms and therapeutic targets in neuroblastoma. *Pharmacological Research*, 131, pp.164–176.

107. Kalcheim, C. and Le Douarin, N.M. (1986). Requirement of a neural tube signal for the differentiation of neural crest cells into dorsal root ganglia. *Developmental Biology*, 116(2), pp.451–466.
108. Kang, J.-H., Rychahou, P.G., Ishola, T.A., Qiao, J., Evers, B.M. and Chung, D.H. (2006). MYCN silencing induces differentiation and apoptosis in human neuroblastoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 351(1), pp.192–197.
109. Khatua, S., Song, A., Sridhar, D.C. and Mack, S.C. (2018). Childhood Medulloblastoma: Current Therapies, Emerging Molecular Landscape and Newer Therapeutic Insights. *Current Neuropharmacology*, 16(7), pp.1045–1058.
110. Kline, C.N., Packer, R.J., Hwang, E.I., Raleigh, D.R., Braunstein, S., Raffel, C., Bandopadhyay, P., Solomon, D.A., Aboian, M., Cha, S. and Mueller, S. (2017). Case-based review: pediatric medulloblastoma. *Neuro-Oncology Practice*, [online] 4(3), pp.138–150. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5909805/> [Accessed 13 Jan. 2020].
111. Kelleher, F.C. and McDermott, R. (2010). The emerging pathogenic and therapeutic importance of the anaplastic lymphoma kinase gene. *European Journal of Cancer*, 46(13), pp.2357–2368.
112. Khoo, K.H., Verma, C.S. and Lane, D.P. (2014). Drugging the p53 pathway: understanding the route to clinical efficacy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(3), pp.217–236.
113. Kim, E. and Shohet, J. (2009). Targeted Molecular Therapy for Neuroblastoma: The ARF/MDM2/p53 Axis. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 101(22), pp.1527–1529.
114. Kool, M., Korshunov, A., Remke, M., Jones, D.T.W., Schlanstein, M., Northcott, P.A., Cho, Y.-J., Koster, J., Schouten-van Meeteren, A., van Vuurden, D., Clifford, S.C., Pietsch, T., von Bueren, A.O., Rutkowski, S., McCabe, M., Collins, V.P., Bäcklund, M.L., Haberler, C., Bourdeaut, F., Delattre, O., Doz, F., Ellison, D.W., Gilbertson, R.J., Pomeroy, S.L., Taylor, M.D., Lichter, P. and Pfister, S.M. (2012). Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. *Acta Neuropathologica*, [online] 123(4), pp.473–484. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3306778/> [Accessed 21 Jun. 2019].
115. Kool, M., Koster, J., Bunt, J., Hasselt, N.E., Lakeman, A., van Sluis, P., Troost, D., Meeteren, N.S., Caron, H.N., Cloos, J., Mršić, A., Ylstra, B.,

- Grajkowska, W., Hartmann, W., Pietsch, T., Ellison, D., Clifford, S.C. and Versteeg, R. (2008). Integrated Genomics Identifies Five Medulloblastoma Subtypes with Distinct Genetic Profiles, Pathway Signatures and Clinicopathological Features. *PLoS ONE*, 3(8), p.e3088.
116. Kurihara, S., Hiyama, E., Onitake, Y., Yamaoka, E. and Hiyama, K. (2014). Clinical features of ATRX or DAXX mutated neuroblastoma. *Journal of Pediatric Surgery*, 49(12), pp.1835–1838.
117. Kushner, B.H. (2004). Neuroblastoma: a disease requiring a multitude of imaging studies. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, [online] 45(7), pp.1172–88. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15235064> [Accessed 12 Jan. 2020].
118. Kushner, B.H., Kramer, K., LaQuaglia, M.P., Modak, S. and Cheung, N.-K.V. (2003). Neuroblastoma in adolescents and adults: The Memorial Sloan-Kettering experience. *Medical and Pediatric Oncology*, 41(6), pp.508–515.
119. Ladenstein, R., Pötschger, U., Pearson, A.D.J., Brock, P., Luksch, R., Castel, V., Yaniv, I., Papadakis, V., Laureys, G., Malis, J., Balwiercz, W., Ruud, E., Kogner, P., Schroeder, H., de Lacerda, A.F., Beck-Popovic, M., Bician, P., Garami, M., Trahair, T., Canete, A., Ambros, P.F., Holmes, K., Gaze, M., Schreier, G., Garaventa, A., Vassal, G., Michon, J. and Valteau-Couanet, D. (2017). Busulfan and melphalan versus carboplatin, etoposide, and melphalan as high-dose chemotherapy for high-risk neuroblastoma (HR-NBL1/SIOPEN): an international, randomised, multi-arm, open-label, phase 3 trial. *The Lancet. Oncology*, [online] 18(4), pp.500–514. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28259608> [Accessed 12 Jan. 2020].
120. Ladenstein, R., Weixler, S., Baykan, B., Bleeke, M., Kunert, R., Katinger, D., Pribill, I., Glander, P., Bauer, S., Pistoia, V., Michon, J., Garaventa, A. and Lode, H.N. (2013). Ch14.18 antibody produced in CHO cells in relapsed or refractory Stage 4 neuroblastoma patients. *mAbs*, [online] 5(5), pp.801–809. Available at: <http://europepmc.org/articles/PMC3851232> [Accessed 29 Mar. 2019].
121. Latorre, V., Diskin, S.J., Diamond, M.A., Zhang, H., Hakonarson, H., Maris, J.M. and Devoto, M. (2012). Replication of Neuroblastoma SNP Association at the BARD1 Locus in African-Americans. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 21(4), pp.658–663.
122. 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. and Cohn, S.L. (2005). Evidence for an Age Cutoff Greater Than 365 Days for Neuroblastoma Risk Group Stratification in the Children’s Oncology Group. *Journal of Clinical Oncology*,

- 23(27), pp.6459–6465.
123. London, W.B., Matthay, K.K., Ambros, P.F., Monclair, T., Pearson, A.D., Cohn, S.L. and Castel, V. (2010). Clinical and biological features predictive of survival after relapse of neuroblastoma: A study from the International Neuroblastoma (NB) Risk Group (INRG) Database. *Journal of Clinical Oncology*, 28(15\_suppl), pp.9518–9518.
  124. Louis, D.N., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Cavenee, W.K., Burger, P.C., Jouvet, A., Scheithauer, B.W. and Kleihues, P. (2007). The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathologica*, 114(2), pp.97–109.
  125. Louis, D.N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W.K., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Kleihues, P. and Ellison, D.W. (2016). The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathologica*, 131(6), pp.803–820.
  126. Lindsey, J.C., Schwalbe, E.C., Potluri, S., Bailey, S., Williamson, D. and Clifford, S.C. (2013). TERT promoter mutation and aberrant hypermethylation are associated with elevated expression in medulloblastoma and characterise the majority of non-infant SHH subgroup tumours. *Acta Neuropathologica*, 127(2), pp.307–309.
  127. Liu, C. and Zong, H. (2012). Developmental origins of brain tumors. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(5), pp.844–849.
  128. Louis, C.U. and Shohet, J.M. (2015). Neuroblastoma: Molecular Pathogenesis and Therapy. *Annual Review of Medicine*, 66(1), pp.49–63.
  129. Lundberg, G., Sehic, D., Lämsberg, J.-K., Øra, I., Frigyesi, A., Castel, V., Navarro, S., Piqueras, M., Martinsson, T., Noguera, R. and Gisselsson, D. (2011). Alternative lengthening of telomeres-An enhanced chromosomal instability in aggressive non-MYCN amplified and telomere elongated neuroblastomas. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 50(4), pp.250–62.
  130. Lüscher, B. and Larsson, L.-G. (1999). The basic region/helix – loop – helix/leucine zipper domain of Myc proto-oncoproteins: Function and regulation. *Oncogene*, 18(19), pp.2955–2966.
  131. Maris, J.M. (2005). The biologic basis for neuroblastoma heterogeneity and risk stratification. *Current Opinion in Pediatrics*, 17(1), pp.7–13.
  132. Maris, J.M. (2010). Recent Advances in Neuroblastoma. *New England*

*Journal of Medicine*, 362(23), pp.2202–2211.

133. Maris, J.M., Morton, C.L., Gorlick, R., Kolb, E.A., Lock, R., Carol, H., Keir, S.T., Reynolds, C.P., Kang, M.H., Wu, J., Smith, M.A. and Houghton, P.J. (2010). Initial testing of the aurora kinase a inhibitor MLN8237 by the Pediatric Preclinical Testing Program (PPTP). *Pediatric Blood & Cancer*, 55(1), pp.26–34.
134. Martin, A.M., Raabe, E., Eberhart, C. and Cohen, K.J. (2014). Management of Pediatric and Adult Patients with Medulloblastoma. *Current Treatment Options in Oncology*, 15(4), pp.581–594.
135. Matthay, K.K., Maris, J.M., Schleiermacher, G., Nakagawara, A., Mackall, C.L., Diller, L. and Weiss, W.A. (2016). Neuroblastoma. *Nature Reviews Disease Primers*, 2(1).
136. Millard, N.E. and De Braganca, K.C. (2016). Medulloblastoma. *Journal of Child Neurology*, 31(12), pp.1341–1353.
137. Marusyk, A., Almendro, V. and Polyak, K. (2012). Intra-tumour heterogeneity: a looking glass for cancer? *Nature Reviews Cancer*, 12(5), pp.323–334.
138. Mayanil, C.S. (2013). Transcriptional and Epigenetic Regulation of Neural Crest Induction during Neurulation. *Developmental Neuroscience*, 35(5), pp.361–372.
139. Mazzocco, K., Defferrari, R., Sementa, A.R., Garaventa, A., Longo, L., De Mariano, M., Esposito, M.R., Negri, F., Ircolò, D., Viscardi, E., Luksch, R., D'Angelo, P., Prete, A., Castellano, A., Massirio, P., Erminio, G., Gigliotti, A.R., Tonini, G.P. and Conte, M. (2015). Genetic abnormalities in adolescents and young adults with neuroblastoma: A report from the Italian Neuroblastoma Group. *Pediatric Blood & Cancer*, 62(10), pp.1725–1732.
140. McKean-Cowdin, R., Razavi, P., Barrington-Trimis, J., Baldwin, R.T., Asgharzadeh, S., Cockburn, M., Tihan, T. and Preston-Martin, S. (2013). Trends in childhood brain tumor incidence, 1973–2009. *Journal of Neuro-Oncology*, 115(2), pp.153–160.
141. Merchant, T.E., Kiehna, E.N., Li, C., Shukla, H., Sengupta, S., Xiong, X., Gajjar, A. and Mulhern, R.K. (2006). Modeling radiation dosimetry to predict cognitive outcomes in pediatric patients with CNS embryonal tumors including medulloblastoma. *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics\*Physics*, 65(1), pp.210–221.
142. Mestdagh, P., Fredlund, E., Pattyn, F., Rihani, A., Van Maerken, T.,

- Vermeulen, J., Kumps, C., Menten, B., De Preter, K., Schramm, A., Schulte, J., Noguera, R., Schleiermacher, G., Janoueix-Lerosey, I., Laureys, G., Powel, R., Nittner, D., Marine, J.-C., Ringnér, M., Speleman, F. and Vandesompele, J. (2010). An integrative genomics screen uncovers ncRNA T-UCR functions in neuroblastoma tumours. *Oncogene*, 29(24), pp.3583–3592.
143. Modak, S. and Cheung, N.-K.V. (2010). Neuroblastoma: Therapeutic strategies for a clinical enigma. *Cancer Treatment Reviews*, 36(4), pp.307–317.
144. Molenaar, J.J., Koster, J., Zwijnenburg, D.A., van Sluis, P., Valentijn, L.J., van der Ploeg, I., Hamdi, M., van Nes, J., Westerman, B.A., van Arkel, J., Ebus, M.E., Haneveld, F., Lakeman, A., Schild, L., Molenaar, P., Stroeken, P., van Noesel, M.M., Øra, I., Santo, E.E., Caron, H.N., Westerhout, E.M. and Versteeg, R. (2012). Sequencing of neuroblastoma identifies chromothripsis and defects in neuritogenesis genes. *Nature*, 483(7391), pp.589–593.
145. Morales La Madrid, A., Nall, M.B., Ouyang, K., Minor, A., Raca, G., Kent, P., Miller, I., Schleiermacher, G., Janoueix-Lerosey, I. and Cohn, S.L. (2012). Two cases of localized neuroblastoma with multiple segmental chromosomal alterations and metastatic progression. *Pediatric Blood & Cancer*, 60(2), pp.332–335.
146. Mossé, Y.P., Deyell, R.J., Berthold, F., Nagakawara, A., Ambros, P.F., Monclair, T., Cohn, S.L., Pearson, A.D., London, W.B. and Matthay, K.K. (2013a). Neuroblastoma in older children, adolescents and young adults: A report from the International Neuroblastoma Risk Group project. *Pediatric Blood & Cancer*, 61(4), pp.627–635.
147. Mosse, Y.P., Laudenslager, M., Khazi, D., Carlisle, A.J., Winter, C.L., Rappaport, E. and Maris, J.M. (2004). Germline PHOX2B Mutation in Hereditary Neuroblastoma. *The American Journal of Human Genetics*, 75(4), pp.727–730.
148. Mossé, Y.P., Laudenslager, M., Longo, L., Cole, K.A., Wood, A., Attiyeh, E.F., Laquaglia, M.J., Sennett, R., Lynch, J.E., Perri, P., Laureys, G., Speleman, F., Kim, C., Hou, C., Hakonarson, H., Torkamani, A., Schork, N.J., Brodeur, G.M., Tonini, G.P., Rappaport, E., Devoto, M. and Maris, J.M. (2008). Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. *Nature*, 455(7215), pp.930–935.
149. Mossé, Y.P., Lim, M.S., Voss, S.D., Wilner, K., Ruffner, K., Laliberte, J., Rolland, D., Balis, F.M., Maris, J.M., Weigel, B.J., Ingle, A.M., Ahern, C., Adamson, P.C. and Blaney, S.M. (2013b). Safety and activity of crizotinib for paediatric patients with refractory solid tumours or anaplastic large-cell lymphoma: a Children's Oncology Group phase 1 consortium study. *The Lancet Oncology*, 14(6), pp.472–480.

150. Motegi, A. (2004). ALK receptor tyrosine kinase promotes cell growth and neurite outgrowth. *Journal of Cell Science*, 117(15), pp.3319–3329.
151. Müller, I., Larsson, K., Frenzel, A., Oliynyk, G., Zirath, H., Prochownik, E.V., Westwood, N.J. and Henriksson, M.A. (2014). Targeting of the MYCN Protein with Small Molecule c-MYC Inhibitors. *PLoS ONE*, 9(5), p.e97285.
152. Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. and Erlich, H. (1986). Specific Enzymatic Amplification of DNA In Vitro: The Polymerase Chain Reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51(0), pp.263–273
153. National Cancer Institute. (2019). *Neuroblastoma—Health Professional Version*. [online] Available at: <https://www.cancer.gov/types/neuroblastoma/hp> [Accessed 13 Jan. 2020].
154. Northcott, P.A., Dubuc, A.M., Pfister, S. and Taylor, M.D. (2012a). Molecular subgroups of medulloblastoma. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 12(7), pp.871–884.
155. Northcott, P.A., Jones, D.T.W., Kool, M., Robinson, G.W., Gilbertson, R.J., Cho, Y.-J., Pomeroy, S.L., Korshunov, A., Lichter, P., Taylor, M.D. and Pfister, S.M. (2012b). Medulloblastomics: the end of the beginning. *Nature Reviews Cancer*, 12(12), pp.818–834.
156. Packer, R.J. and Vezina, G. (2008). Management of and Prognosis With Medulloblastoma. *Archives of Neurology*, 65(11), p.1419.
157. Nigg, E.A. (2001). Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2(1), pp.21–32.
158. Nordlund, M., Hong, D., Fei, X. and Ratner, N. (1992). Schwann cells and cells in the oligodendrocyte lineage proliferate in response to a 50,000 dalton membrane-associated mitogen present in developing brain. *Glia*, 5(3), pp.182–192.
159. Northcott, P.A., Korshunov, A., Witt, H., Hielscher, T., Eberhart, C.G., Mack, S., Bouffet, E., Clifford, S.C., Hawkins, C.E., French, P., Rutka, J.T., Pfister, S. and Taylor, M.D. (2011a). Medulloblastoma Comprises Four Distinct Molecular Variants. *Journal of Clinical Oncology*, 29(11), pp.1408–1414.
160. Northcott, P.A., Shih, D.J.H., Remke, M., Cho, Y.-J., Kool, M., Hawkins, C., Eberhart, C.G., Dubuc, A., Guettouche, T., Cardentey, Y., Bouffet, E., Pomeroy, S.L., Marra, M., Malkin, D., Rutka, J.T., Korshunov, A., Pfister, S. and Taylor, M.D. (2011b). Rapid, reliable, and reproducible molecular sub-grouping of clinical medulloblastoma samples. *Acta Neuropathologica*, 123(4), pp.615–626.



161. Nuchtern, J.G., London, W.B., Barnewolt, C.E., Naranjo, A., McGrady, P.W., Geiger, J.D., Diller, L., Schmidt, M.L., Maris, J.M., Cohn, S.L. and Shamberger, R.C. (2012). A Prospective Study of Expectant Observation as Primary Therapy for Neuroblastoma in Young Infants. *Annals of Surgery*, 256(4), pp.573–580.
162. Oldridge, D.A., Wood, A.C., Weichert-Leahey, N., Crimmins, I., Sussman, R., Winter, C., McDaniel, L.D., Diamond, M., Hart, L.S., Zhu, S., Durbin, A.D., Abraham, B.J., Anders, L., Tian, L., Zhang, S., Wei, J.S., Khan, J., Bramlett, K., Rahman, N., Capasso, M., Iolascon, A., Gerhard, D.S., Guidry Auvil, J.M., Young, R.A., Hakonarson, H., Diskin, S.J., Thomas Look, A. and Maris, J.M. (2015). Genetic predisposition to neuroblastoma mediated by a LMO1 super-enhancer polymorphism. *Nature*, 528(7582), pp.418–421.
163. Onitake, Y., Hiyama, E., Kamei, N., Yamaoka, H., Sueda, T. and Hiyama, K. (2009). Telomere biology in neuroblastoma: telomere binding proteins and alternative strengthening of telomeres. *Journal of Pediatric Surgery*, 44(12), pp.2258–2266.
164. Ostrom, Q.T., Gittleman, H., Fulop, J., Liu, M., Blanda, R., Kromer, C., Wolinsky, Y., Kruchko, C. and Barnholtz-Sloan, J.S. (2015). CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. *Neuro-Oncology*, 17(suppl 4), pp.iv1–iv62.
165. Otto, T., Horn, S., Brockmann, M., Eilers, U., Schüttrumpf, L., Popov, N., Kenney, A.M., Schulte, J.H., Beijersbergen, R., Christiansen, H., Berwanger, B. and Eilers, M. (2009). Stabilization of N-Myc Is a Critical Function of Aurora A in Human Neuroblastoma. *Cancer Cell*, 15(1), pp.67–78.
166. Padovan-Merhar, O.M., Raman, P., Ostrovnaya, I., Kalletta, K., Rubnitz, K.R., Sanford, E.M., Ali, S.M., Miller, V.A., Mossé, Y.P., Granger, M.P., Weiss, B., Maris, J.M. and Modak, S. (2016). Enrichment of Targetable Mutations in the Relapsed Neuroblastoma Genome. *PLOS Genetics*, 12(12), p.e1006501.
167. Pai, S.G., Carneiro, B.A., Mota, J.M., Costa, R., Leite, C.A., Barroso-Sousa, R., Kaplan, J.B., Chae, Y.K. and Giles, F.J. (2017). Wnt/beta-catenin pathway: modulating anticancer immune response. *Journal of Hematology & Oncology*, 10(1).
168. Park, J.R., Eggert, A. and Caron, H. (2010). Neuroblastoma: Biology, Prognosis, and Treatment. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 24(1), pp.65–86.
169. Park, S.J., Jo, D.S., Shin, J.H., Kim, E.S., Jo, Y.K., Choi, E.S., Seo, H.M., Kim, S.H., Hwang, J.J., Jo, D.-G., Koh, J.-Y. and Cho, D.-H. (2014). Suppression of

Cpn10 Increases Mitochondrial Fission and Dysfunction in Neuroblastoma Cells.  
*PLoS ONE*, 9(11), p.e112130.

170. Pearson, A.D., Pinkerton, C.R., Lewis, I.J., Imeson, J., Ellershaw, C. and Machin, D. (2008). High-dose rapid and standard induction chemotherapy for patients aged over 1 year with stage 4 neuroblastoma: a randomised trial. *The Lancet Oncology*, 9(3), pp.247–256.
171. Peifer, M., Hertwig, F., Roels, F., Dreidax, D., Gartlgruber, M., Menon, R., Krämer, A., Roncaioli, J.L., Sand, F., Heuckmann, J.M., Ikram, F., Schmidt, R., Ackermann, S., Engesser, A., Kahlert, Y., Vogel, W., Altmüller, J., Nürnberg, P., Thierry-Mieg, J., Thierry-Mieg, D., Mariappan, A., Heynck, S., Mariotti, E., Henrich, K.-O., Gloeckner, C., Bosco, G., Leuschner, I., Schweiger, M.R., Savelyeva, L., Watkins, S.C., Shao, C., Bell, E., Höfer, T., Achter, V., Lang, U., Theissen, J., Volland, R., Saadati, M., Eggert, A., de Wilde, B., Berthold, F., Peng, Z., Zhao, C., Shi, L., Ortmann, M., Büttner, R., Perner, S., Hero, B., Schramm, A., Schulte, J.H., Herrmann, C., O’Sullivan, R.J., Westermann, F., Thomas, R.K. and Fischer, M. (2015). Telomerase activation by genomic rearrangements in high-risk neuroblastoma. *Nature*, 526(7575), pp.700–704.
172. Perreault, S., Ramaswamy, V., Achrol, A.S., Chao, K., Liu, T.T., Shih, D., Remke, M., Schubert, S., Bouffet, E., Fisher, P.G., Partap, S., Vogel, H., Taylor, M.D., Cho, Y.J. and Yeom, K.W. (2014). MRI Surrogates for Molecular Subgroups of Medulloblastoma. *American Journal of Neuroradiology*, 35(7), pp.1263–1269.
173. Pietsch, T., Schmidt, R., Remke, M., Korshunov, A., Hovestadt, V., Jones, D.T.W., Felsberg, J., Kaulich, K., Goschzik, T., Kool, M., Northcott, P.A., von Hoff, K., von Bueren, A.O., Friedrich, C., Mynarek, M., Skladny, H., Fleischhack, G., Taylor, M.D., Cremer, F., Lichter, P., Faldum, A., Reifenberger, G., Rutkowski, S. and Pfister, S.M. (2014). Prognostic significance of clinical, histopathological, and molecular characteristics of medulloblastomas in the prospective HIT2000 multicenter clinical trial cohort. *Acta Neuropathologica*, 128(1), pp.137–149.
174. de Pontual, L., Kettaneh, D., Gordon, C.T., Oufadem, M., Boddaert, N., Lees, M., Balu, L., Lachassinne, E., Petros, A., Mollet, J., Wilson, L.C., Munnich, A., Brugière, L., Delattre, O., Vekemans, M., Etchevers, H., Lyonnet, S., Janoueix-Lerosey, I. and Amiel, J. (2011). Germline gain-of-function mutations of ALK disrupt central nervous system development. *Human Mutation*, 32(3), pp.272–276.
175. Poremba, C., Scheel, C., Hero, B., Christiansen, H., Schaefer, K.-L., Nakayama, J., Berthold, F., Juergens, H., Boecker, W. and Dockhorn-Dworniczak, B. (2000). Telomerase Activity and Telomerase Subunits Gene Expression Patterns in Neuroblastoma: A Molecular and Immunohistochemical Study Establishing

Prognostic Tools for Fresh-Frozen and Paraffin-Embedded Tissues. *Journal of Clinical Oncology*, 18(13), pp.2582–2592.

176. Powell, D.R., Hernandez-Lagunas, L., LaMonica, K. and Artinger, K.B. (2013). Prdm1a directly activates foxd3 and tfap2a during zebrafish neural crest specification. *Development*, 140(16), pp.3445–3455.
177. Prasad, M.S., Sauka-Spengler, T. and LaBonne, C. (2012). Induction of the neural crest state: Control of stem cell attributes by gene regulatory, post-transcriptional and epigenetic interactions. *Developmental Biology*, 366(1), pp.10–21.
178. Pugh, T.J., Morozova, O., Attiyeh, E.F., Asgharzadeh, S., Wei, J.S., Auclair, D., Carter, S.L., Cibulskis, K., Hanna, M., Kiezun, A., Kim, J., Lawrence, M.S., Lichtenstein, L., McKenna, A., Peadarallu, C.S., Ramos, A.H., Shefler, E., Sivachenko, A., Sougnez, C., Stewart, C., Ally, A., Birol, I., Chiu, R., Corbett, R.D., Hirst, M., Jackman, S.D., Kamoh, B., Khodabakshi, A.H., Krzywinski, M., Lo, A., Moore, R.A., Mungall, K.L., Qian, J., Tam, A., Thiessen, N., Zhao, Y., Cole, K.A., Diamond, M., Diskin, S.J., Mosse, Y.P., Wood, A.C., Ji, L., Sposto, R., Badgett, T., London, W.B., Moyer, Y., Gastier-Foster, J.M., Smith, M.A., Guidry Auvil, J.M., Gerhard, D.S., Hogarty, M.D., Jones, S.J.M., Lander, E.S., Gabriel, S.B., Getz, G., Seeger, R.C., Khan, J., Marra, M.A., Meyerson, M. and Maris, J.M. (2013). The genetic landscape of high-risk neuroblastoma. *Nature genetics*, [online] 45(3), pp.279–84. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23334666> [Accessed 12 Jan. 2020].
179. Puissant, A., Frumm, S.M., Alexe, G., Bassil, C.F., Qi, J., Chanthery, Y.H., Nekritz, E.A., Zeid, R., Gustafson, W.C., Greninger, P., Garnett, M.J., McDermott, U., Benes, C.H., Kung, A.L., Weiss, W.A., Bradner, J.E. and Stegmaier, K. (2013). Targeting MYCN in Neuroblastoma by BET Bromodomain Inhibition. *Cancer Discovery*, 3(3), pp.308–323.
180. Raabe, E.H., Laudenslager, M., Winter, C., Wasserman, N., Cole, K., LaQuaglia, M., Maris, D.J., Mosse, Y.P. and Maris, J.M. (2007). Prevalence and functional consequence of PHOX2B mutations in neuroblastoma. *Oncogene*, 27(4), pp.469–476.
181. Ramaswamy, V. (2018). Differential patterns of metastatic dissemination across medulloblastoma subgroups. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*, 21(3), p.336.
182. Ramaswamy, V., Remke, M., Bouffet, E., Bailey, S., Clifford, S.C., Doz, F., Kool, M., Dufour, C., Vassal, G., Milde, T., Witt, O., von Hoff, K., Pietsch, T., Northcott, P.A., Gajjar, A., Robinson, G.W., Padovani, L., André, N., Massimino,

- M., Pizer, B., Packer, R., Rutkowski, S., Pfister, S.M., Taylor, M.D. and Pomeroy, S.L. (2016). Risk stratification of childhood medulloblastoma in the molecular era: the current consensus. *Acta Neuropathologica*, 131(6), pp.821–831.
183. Ramaswamy, V., Remke, M., Bouffet, E., Faria, C.C., Perreault, S., Cho, Y.-J., Shih, D.J., Luu, B., Dubuc, A.M., Northcott, P.A., Schüller, U., Gururangan, S., McLendon, R., Bigner, D., Fouladi, M., Ligon, K.L., Pomeroy, S.L., Dunn, S., Triscott, J., Jabado, N., Fontebasso, A., Jones, D.T.W., Kool, M., Karajannis, M.A., Gardner, S.L., Zagzag, D., Nunes, S., Pimentel, J., Mora, J., Lipp, E., Walter, A.W., Ryzhova, M., Zheludkova, O., Kumirova, E., Alshami, J., Croul, S.E., Rutka, J.T., Hawkins, C., Tabori, U., Codispoti, K.-E.T., Packer, R.J., Pfister, S.M., Korshunov, A. and Taylor, M.D. (2013). Recurrence patterns across medulloblastoma subgroups: an integrated clinical and molecular analysis. *The Lancet Oncology*, 14(12), pp.1200–1207.
184. Ramaswamy, V., Remke, M., Shih, D., Wang, X., Northcott, P.A., Faria, C.C., Raybaud, C., Tabori, U., Hawkins, C., Rutka, J., Taylor, M.D. and Bouffet, E. (2014). Duration of the pre-diagnostic interval in medulloblastoma is subgroup dependent. *Pediatric Blood & Cancer*, 61(7), pp.1190–1194.
185. Ramaswamy, V. and Taylor, M.D. (2017). Medulloblastoma: From Myth to Molecular. *Journal of Clinical Oncology*, 35(21), pp.2355–2363.
186. Ratner, N., Hong, D.M., Lieberman, M.A., Bunge, R.P. and Glaser, L. (1988). The neuronal cell-surface molecule mitogenic for Schwann cells is a heparin-binding protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(18), pp.6992–6996.
187. Ribeiro, D., Klarqvist, M.D.R., Westermark, U.K., Oliynyk, G., Dzieran, J., Kock, A., Savatier Banares, C., Hertwig, F., Johnsen, J.I., Fischer, M., Kogner, P., Lovén, J. and Arsenian Henriksson, M. (2016). Regulation of Nuclear Hormone Receptors by MYCN-Driven miRNAs Impacts Neural Differentiation and Survival in Neuroblastoma Patients. *Cell reports*, [online] 16(4), pp.979–993. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27396325> [Accessed 12 Jan. 2020].
188. Richards, M.W., Burgess, S.G., Poon, E., Carstensen, A., Eilers, M., Chesler, L. and Bayliss, R. (2016). Structural basis of N-Myc binding by Aurora-A and its destabilization by kinase inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(48), pp.13726–13731.
189. Ridley, A.J. (1989). Transforming growth factors-beta 1 and beta 2 are mitogens for rat Schwann cells. *The Journal of Cell Biology*, 109(6), pp.3419–3424.
190. Robinson, G.W., Rudneva, V.A., Buchhalter, I., Billups, C.A., Waszak, S.M.,

- Smith, K.S., Bowers, D.C., Bendel, A., Fisher, P.G., Partap, S., Crawford, J.R., Hassall, T., Indelicato, D.J., Boop, F., Klimo, P., Sabin, N.D., Patay, Z., Merchant, T.E., Stewart, C.F., Orr, B.A., Korbel, J.O., Jones, D.T.W., Sharma, T., Lichter, P., Kool, M., Korshunov, A., Pfister, S.M., Gilbertson, R.J., Sanders, R.P., Onar-Thomas, A., Ellison, D.W., Gajjar, A. and Northcott, P.A. (2018). Risk-adapted therapy for young children with medulloblastoma (SJYC07): therapeutic and molecular outcomes from a multicentre, phase 2 trial. *The Lancet Oncology*, 19(6), pp.768–784.
191. Rogers, C.D., Saxena, A. and Bronner, M.E. (2013). Sip1 mediates an E-cadherin-to-N-cadherin switch during cranial neural crest EMT. *The Journal of Cell Biology*, 203(5), pp.835–847.
192. Rutkowski, S., Gerber, N.U., von Hoff, K., Gnekow, A., Bode, U., Graf, N., Berthold, F., Henze, G., Wolff, J.E.A., Warmuth-Metz, M., Soerensen, N., Emser, A., Ottensmeier, H., Deinlein, F., Schlegel, P.-G., Kortmann, R.-D., Pietsch, T. and Kuehl, J. (2009). Treatment of early childhood medulloblastoma by postoperative chemotherapy and deferred radiotherapy. *Neuro-Oncology*, 11(2), pp.201–210.
193. Rutkowski, S., von Hoff, K., Emser, A., Zwiener, I., Pietsch, T., Figarella-Branger, D., Giangaspero, F., Ellison, D.W., Garre, M.-L., Biassoni, V., Grundy, R.G., Finlay, J.L., Dhall, G., Raquin, M.-A. and Grill, J. (2010). Survival and Prognostic Factors of Early Childhood Medulloblastoma: An International Meta-Analysis. *Journal of Clinical Oncology*, 28(33), pp.4961–4968.
194. Sausen, M., Leary, R.J., Jones, S., Wu, J., Reynolds, C.P., Liu, X., Blackford, A., Parmigiani, G., Diaz, L.A., Papadopoulos, N., Vogelstein, B., Kinzler, K.W., Velculescu, V.E. and Hogarty, M.D. (2012). Integrated genomic analyses identify ARID1A and ARID1B alterations in the childhood cancer neuroblastoma. *Nature Genetics*, 45(1), pp.12–17.
195. Schilling, F.H., Spix, C., Berthold, F., Erttmann, R., Fehse, N., Hero, B., Klein, G., Sander, J., Schwarz, K., Treuner, J., Zorn, U. and Michaelis, J. (2002). Neuroblastoma Screening at One Year of Age. *New England Journal of Medicine*, 346(14), pp.1047–1053.
196. Schleiermacher, G., Janoueix-Lerosey, I., Ribeiro, A., Klijanienko, J., Couturier, J., Pierron, G., Mosseri, V., Valent, A., Auger, N., Plantaz, D., Rubie, H., Valteau-Couanet, D., Bourdeaut, F., Combaret, V., Bergeron, C., Michon, J. and Delattre, O. (2010). Accumulation of Segmental Alterations Determines Progression in Neuroblastoma. *Journal of Clinical Oncology*, 28(19), pp.3122–3130.
197. Schmidt, M.L., Lal, A., Seeger, R.C., Maris, J.M., Shimada, H., O’Leary, M.,

- Gerbing, R.B. and Matthay, K.K. (2005). 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*, 23(27), pp.6474–6480.
198. Schmidt, M.L., Lukens, J.N., Seeger, R.C., Brodeur, G.M., Shimada, H., Gerbing, R.B., Stram, D.O., Perez, C., Haase, G.M. and Matthay, K.K. (2000). Biologic Factors Determine Prognosis in Infants With Stage IV Neuroblastoma: A Prospective Children's Cancer Group Study. *Journal of Clinical Oncology*, 18(6), pp.1260–1268.
199. Schönherr, C., Yang, H.-L., Vigny, M., Palmer, R.H. and Hallberg, B. (2010). Anaplastic lymphoma kinase activates the small GTPase Rap1 via the Rap1-specific GEF C3G in both neuroblastoma and PC12 cells. *Oncogene*, 29(19), pp.2817–2830.
200. Schulte, J.H., Bachmann, H.S., Brockmeyer, B., DePreter, K., Oberthur, A., Ackermann, S., Kahlert, Y., Pajtler, K., Theissen, J., Westermann, F., Vandesompele, J., Speleman, F., Berthold, F., Eggert, A., Brors, B., Hero, B., Schramm, A. and Fischer, M. (2011). High ALK Receptor Tyrosine Kinase Expression Supersedes ALK Mutation as a Determining Factor of an Unfavorable Phenotype in Primary Neuroblastoma. *Clinical Cancer Research*, 17(15), pp.5082–5092.
201. Schwalbe, E.C., Lindsey, J.C., Nakjang, S., Crosier, S., Smith, A.J., Hicks, D., Rafiee, G., Hill, R.M., Iliasova, A., Stone, T., Pizer, B., Michalski, A., Joshi, A., Wharton, S.B., Jacques, T.S., Bailey, S., Williamson, D. and Clifford, S.C. (2017). Novel molecular subgroups for clinical classification and outcome prediction in childhood medulloblastoma: a cohort study. *The Lancet Oncology*, 18(7), pp.958–971.
202. Shih, D.J.H., Northcott, P.A., Remke, M., Korshunov, A., Ramaswamy, V., Kool, M., Luu, B., Yao, Y., Wang, X., Dubuc, A.M., Garzia, L., Peacock, J., Mack, S.C., Wu, X., Rolider, A., Morrissy, A.S., Cavalli, F.M.G., Jones, D.T.W., Zitterbart, K., Faria, C.C., Schüller, U., Kren, L., Kumabe, T., Tominaga, T., Shin Ra, Y., Garami, M., Hauser, P., Chan, J.A., Robinson, S., Bognár, L., Klekner, A., Saad, A.G., Liao, L.M., Albrecht, S., Fontebasso, A., Cinalli, G., De Antonellis, P., Zollo, M., Cooper, M.K., Thompson, R.C., Bailey, S., Lindsey, J.C., Di Rocco, C., Massimi, L., Michiels, E.M.C., Scherer, S.W., Phillips, J.J., Gupta, N., Fan, X., Muraszko, K.M., Vibhakar, R., Eberhart, C.G., Fouladi, M., Lach, B., Jung, S., Wechsler-Reya, R.J., Fèvre-Montange, M., Jouvét, A., Jabado, N., Pollack, I.F., Weiss, W.A., Lee, J.-Y., Cho, B.-K., Kim, S.-K., Wang, K.-C., Leonard, J.R., Rubin, J.B., de Torres, C., Lavarino, C., Mora, J., Cho, Y.-J., Tabori, U., Olson, J.M., Gajjar, A., Packer, R.J., Rutkowski, S., Pomeroy, S.L., French, P.J., Kloosterhof, N.K., Kros, J.M., Van Meir, E.G., Clifford, S.C., Bourdeaut, F., Delattre, O., Doz, F.F., Hawkins, C.E., Malkin,

- D., Grajkowska, W.A., Perek-Polnik, M., Bouffet, E., Rutka, J.T., Pfister, S.M. and Taylor, M.D. (2014). Cytogenetic Prognostication Within Medulloblastoma Subgroups. *Journal of Clinical Oncology*, [online] 32(9), pp.886–896. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3948094/> [Accessed 31 Oct. 2019].
203. SEER. (2012). *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2009 - Previous Version - SEER Cancer Statistics Review*. [online] Available at: [https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975\\_2009\\_pops09/](https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2009_pops09/) [Accessed 12 Jan. 2020].
204. Shi, J. and Vakoc, C.R. (2014). The Mechanisms behind the Therapeutic Activity of BET Bromodomain Inhibition. *Molecular Cell*, 54(5), pp.728–736.
205. Shimada, H., Ambros, I.M., Dehner, L.P., Hata, J., Joshi, V.V., Roald, B., Stram, D.O., Gerbing, R.B., Lukens, J.N., Matthay, K.K. and Castleberry, R.P. (1999). The International Neuroblastoma Pathology Classification (the Shimada system). *Cancer*, 86(2), pp.364–372.
206. Shtukmaster, S., Schier, M., Huber, K., Krispin, S., Kalcheim, C. and Unsicker, K. (2013). Sympathetic neurons and chromaffin cells share a common progenitor in the neural crest in vivo. *Neural Development*, 8(1), p.12.
207. Sjostrom, S.K., Finn, G., Hahn, W.C., Rowitch, D.H. and Kenney, A.M. (2005). The Cdk1 Complex Plays a Prime Role in Regulating N-Myc Phosphorylation and Turnover in Neural Precursors. *Developmental Cell*, 9(3), pp.327–338.
208. Smith, M.J., Beetz, C., Williams, S.G., Bhaskar, S.S., O’Sullivan, J., Anderson, B., Daly, S.B., Urquhart, J.E., Bholah, Z., Oudit, D., Cheesman, E., Kelsey, A., McCabe, M.G., Newman, W.G. and Evans, D.G.R. (2014). Germline Mutations in SUFU Cause Gorlin Syndrome–Associated Childhood Medulloblastoma and Redefine the Risk Associated With PTCH1 Mutations. *Journal of Clinical Oncology*, 32(36), pp.4155–4161.
209. Souttou, B., Carvalho, N.B.-D., Raulais, D. and Vigny, M. (2000). Activation of Anaplastic Lymphoma Kinase Receptor Tyrosine Kinase Induces Neuronal Differentiation through the Mitogen-activated Protein Kinase Pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 276(12), pp.9526–9531.
210. Spitz, R. (2006). Loss in Chromosome 11q Identifies Tumors with Increased Risk for Metastatic Relapses in Localized and 4S Neuroblastoma. *Clinical Cancer Research*, 12(11), pp.3368–3373.
211. Stallings, R.L., Foley, N.H., Bryan, K., Buckley, P.G. and Bray, I. (2010). Therapeutic targeting of miRNAs in neuroblastoma. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 14(9), pp.951–962.

212. Stearns, D., Chaudhry, A., Abel, T.W., Burger, P.C., Dang, C.V. and Eberhart, C.G. (2006). c-Myc Overexpression Causes Anaplasia in Medulloblastoma. *Cancer Research*, 66(2), pp.673–681.
213. Strobl-Mazzulla, P.H. and Bronner, M.E. (2012). Epithelial to mesenchymal transition: New and old insights from the classical neural crest model. *Seminars in Cancer Biology*, 22(5–6), pp.411–416.
214. Strother, D.R., London, W.B., Schmidt, M.L., Brodeur, G.M., Shimada, H., Thorner, P., Collins, M.H., Tagge, E., Adkins, S., Reynolds, C.P., Murray, K., Lavey, R.S., Matthay, K.K., Castleberry, R., Maris, J.M. and Cohn, S.L. (2012). Outcome After Surgery Alone or With Restricted Use of Chemotherapy for Patients With Low-Risk Neuroblastoma: Results of Children’s Oncology Group Study P9641. *Journal of Clinical Oncology*, 30(15), pp.1842–1848.
215. Suresh, T.N., Santosh, V., Yasha, T.C., Anandh, B., Mohanty, A., Indiradevi, B., Sampath, S. and Shankar, S.K. (2004). Medulloblastoma with extensive nodularity: a variant occurring in the very young? clinicopathological and immunohistochemical study of four cases. *Child’s Nervous System*, 20(1), pp.55–60.
216. Suzuki, M., Kushner, B.H., Kramer, K., Basu, E.M., Roberts, S.S., Hammond, W.J., LaQuaglia, M.P., Wolden, S.L., Cheung, N.-K.V. and Modak, S. (2018). Treatment and outcome of adult-onset neuroblastoma. *International Journal of Cancer*, 143(5), pp.1249–1258.
217. Takahashi, Y., Sipp, D. and Enomoto, H. (2013). Tissue Interactions in Neural Crest Cell Development and Disease. *Science*, 341(6148), pp.860–863.
218. Taylor, M.D., Northcott, P.A., Korshunov, A., Remke, M., Cho, Y.-J., Clifford, S.C., Eberhart, C.G., Parsons, D.W., Rutkowski, S., Gajjar, A., Ellison, D.W., Lichter, P., Gilbertson, R.J., Pomeroy, S.L., Kool, M. and Pfister, S.M. (2012). Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta neuropathologica*, [online] 123(4), pp.465–72.
219. Thompson, M.C., Fuller, C., Hogg, T.L., Dalton, J., Finkelstein, D., Lau, C.C., Chintagumpala, M., Adesina, A., Ashley, D.M., Kellie, S.J., Taylor, M.D., Curran, T., Gajjar, A. and Gilbertson, R.J. (2006). Genomics Identifies Medulloblastoma Subgroups That Are Enriched for Specific Genetic Alterations. *Journal of Clinical Oncology*, 24(12), pp.1924–1931.
220. Trochet, D., Bourdeaut, F., Janoueix-Lerosey, I., Deville, A., de Pontual, L., Schleiermacher, G., Coze, C., Philip, N., Frébourg, T., Munnich, A., Lyonnet, S., Delattre, O. and Amiel, J. (2004). Germline Mutations of the Paired-Like Homeobox 2B (PHOX2B) Gene in Neuroblastoma. *The American Journal of Human*



*Genetics*, 74(4), pp.761–764.

221. Trochet, D., Hong, S.J., Lim, J.K., Brunet, J.-F., Munnich, A., Kim, K.-S., Lyonnet, S., Goridis, C. and Amiel, J. (2005). Molecular consequences of PHOX2B missense, frameshift and alanine expansion mutations leading to autonomic dysfunction. *Human Molecular Genetics*, 14(23), pp.3697–3708.
222. Valentijn, L.J., Koster, J., Zwijnenburg, D.A., Hasselt, N.E., van Sluis, P., Volckmann, R., van Noesel, M.M., George, R.E., Tytgat, G.A.M., Molenaar, J.J. and Versteeg, R. (2015). TERT rearrangements are frequent in neuroblastoma and identify aggressive tumors. *Nature Genetics*, 47(12), pp.1411–1414.
223. Van Roy, N., De Preter, K., Hoebeeck, J., Van Maerken, T., Pattyn, F., Mestdagh, P., Vermeulen, J., Vandesompele, J. and Speleman, F. (2009). The emerging molecular pathogenesis of neuroblastoma: implications for improved risk assessment and targeted therapy. *Genome Medicine*, 1(7), p.74.
224. Van Arendonk, K. and Chung, D. (2019). Neuroblastoma: Tumor Biology and Its Implications for Staging and Treatment. *Children*, 6(1), p.12.
225. Vézina, L.-G. (2008). Imaging of Central Nervous System Tumors in Children: Advances and Limitations. *Journal of Child Neurology*, 23(10), pp.1128–1135.
226. Vandesompele, J., Baudis, M., De Preter, K., Van Roy, N., Ambros, P., Bown, N., Brinkschmidt, C., Christiansen, H., Combaret, V., Łastowska, M., Nicholson, J., O'Meara, A., Plantaz, D., Stallings, R., Brichard, B., Van den Broecke, C., De Bie, S., De Paepe, A., Laureys, G. and Speleman, F. (2005). Unequivocal Delineation of Clinicogenetic Subgroups and Development of a New Model for Improved Outcome Prediction in Neuroblastoma. *Journal of Clinical Oncology*, 23(10), pp.2280–2299.
227. Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V.E., Zhou, S., Diaz, L.A. and Kinzler, K.W. (2013). Cancer Genome Landscapes. *Science*, [online] 339(6127), pp.1546–1558. Available at: <http://science.sciencemag.org/content/339/6127/1546>.
228. Wang, K., Diskin, S.J., Zhang, H., Attiyeh, E.F., Winter, C., Hou, C., Schnepf, R.W., Diamond, M., Bosse, K., Mayes, P.A., Glessner, J., Kim, C., Frackelton, E., Garris, M., Wang, Q., Glaberson, W., Chiavacci, R., Le Nguyen, Jagannathan, J., Saeki, N., Sasaki, H., Grant, S.F.A., Iolascon, A., Mosse, Y.P., Cole, K.A., Li, H., Devoto, M., McGrady, P.W., London, W.B., Capasso, M., Rahman, N., Hakonarson, H. and Maris, J.M. (2010). Integrative genomics identifies LMO1 as a neuroblastoma oncogene. *Nature*, 469(7329), pp.216–220.

229. Wang, P., Greiner, T.C., Lushnikova, T. and Eischen, C.M. (2006). Decreased Mdm2 expression inhibits tumor development induced by loss of ARF. *Oncogene*, 25(26), pp.3708–3718.
230. Wang, J., Garancher, A., Ramaswamy, V. and Wechsler-Reya, R.J. (2018). Medulloblastoma: From Molecular Subgroups to Molecular Targeted Therapies. *Annual Review of Neuroscience*, 41(1), pp.207–232.
231. Ward, E., DeSantis, C., Robbins, A., Kohler, B. and Jemal, A. (2014). Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 64(2), pp.83–103.
232. Weinmaster, G. and Lemke, G. (1990). Cell-specific cyclic AMP-mediated induction of the PDGF receptor. *The EMBO Journal*, 9(3), pp.915–920.
233. Weiss, W.A. (1997). Targeted expression of MYCN causes neuroblastoma in transgenic mice. *The EMBO Journal*, 16(11), pp.2985–2995.
234. Wellstein, A. (2012). ALK receptor activation, ligands and therapeutic targeting in glioblastoma and in other cancers. *Frontiers in Oncology*, 2(192).
235. Wenzel, A. and Schwab, M. (1995). The mycn/max protein complex in neuroblastoma. Short review. *European Journal of Cancer*, 31(4), pp.516–519.
236. White, P.S., Thompson, P.M., Seifried, B.A., Sulman, E.P., Jensen, S.J., Guo, C., Maris, J.M., Hogarty, M.D., Allen, C., Biegel, J.A., Matise, T.C., Gregory, S.G., Reynolds, C.P. and Brodeur, G.M. (2001). Detailed molecular analysis of 1p36 in neuroblastoma. *Medical and Pediatric Oncology*, 36(1), pp.37–41.
237. Wilkie, A.O.M. (2011). New germline syndrome with brainstem abnormalities and neuroblastoma, caused by ALK mutation. *Human Mutation*, 32(3), pp.v–v.
238. Woods, W.G., Gao, R.-N., Shuster, J.J., Robison, L.L., Bernstein, M., Weitzman, S., Bunin, G., Levy, I., Brossard, J., Dougherty, G., Tuchman, M. and Lemieux, B. (2002). Screening of Infants and Mortality Due to Neuroblastoma. *New England Journal of Medicine*, 346(14), pp.1041–1046.
239. Xu, D.-Q., Toyoda, H., Yuan, X.-J., Qi, L., Chelakkot, V.S., Morimoto, M., Hanaki, R., Kihira, K., Hori, H., Komada, Y. and Hirayama, M. (2018). Anti-tumor effect of AZD8055 against neuroblastoma cells in vitro and in vivo. *Experimental Cell Research*, 365(2), pp.177–184.
240. Zage, P. (2018). Novel Therapies for Relapsed and Refractory Neuroblastoma. *Children*, 5(11), p.148.

241. Zhu, S., Lee, J.-S., Guo, F., Shin, J., Perez-Atayde, A.R., Kutok, J.L., Rodig, S.J., Neuberg, D.S., Helman, D., Feng, H., Stewart, R.A., Wang, W., George, R.E., Kanki, J.P. and Look, A.T. (2012). Activated ALK Collaborates with MYCN in Neuroblastoma Pathogenesis. *Cancer Cell*, 21(3), pp.362–373.
242. Zirath, H., Frenzel, A., Oliynyk, G., Segerstrom, L., Westermark, U.K., Larsson, K., Munksgaard Persson, M., Hultenby, K., Lehtio, J., Einvik, C., Pahlman, S., Kogner, P., Jakobsson, P.-J. and Arsenian Henriksson, M. (2013). MYC inhibition induces metabolic changes leading to accumulation of lipid droplets in tumor cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, [online] 110(25), pp.10258–10263. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3690852/> [Accessed 26 Nov. 2019].
243. Zvereva, M.I., Shcherbakova, D.M. and Dontsova, O.A. (2010). Telomerase: Structure, functions, and activity regulation. *Biochemistry (Moscow)*, [online] 75(13), pp.1563–1583. Available at: [http://protein.bio.msu.ru/biokhimiya/contents/v75/pdf/bcm\\_1563.pdf](http://protein.bio.msu.ru/biokhimiya/contents/v75/pdf/bcm_1563.pdf) [Accessed 15 Sep. 2019].