

Нейробластомы очень высокого прогностического риска: гистологические, иммунофенотипические и генетические характеристики. Обзор литературы и собственные наблюдения

А.В. Тараканова, А.С. Шарлай, А.Е. Друй, Д.М. Коновалов

ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

Контактные данные: Александра Васильевна Тараканова sequaciou@gmail.com

Отличительной чертой группы периферических нейробластических опухолей является их клиническая гетерогенность, варьирующая от спонтанного регресса опухоли до широко распространенного процесса, который часто устойчив к мультимодальным методам лечения. Несмотря на значительный прогресс в терапии, около 40 % пациентов с нейробластомой высокого риска умирают от рецидива заболевания при полном ответе после 1-й линии терапии. Эти 40 % считаются группой очень высокого риска, требующей интенсификации режимов терапии с момента постановки диагноза. Предметом повышенного научного и практического интереса является поиск гистологических и молекулярных предиктивных признаков этой группы для подбора корректной стратегии лечения.

Ключевые слова: нейробластома, MYC, TERT, ATRX, oct4, амплификация c-тус

Для цитирования: Тараканова А.В., Шарлай А.С., Друй А.Е., Коновалов Д.М. Нейробластомы очень высокого прогностического риска: гистологические, иммунофенотипические и генетические характеристики. Обзор литературы и собственные наблюдения. Российский журнал детской гематологии и онкологии. 2023;10(3):63–9.

Информация об авторах

А.В. Тараканова: врач-патологоанатом отделения патологической анатомии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: sequaciou@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-9496-3136>

А.С. Шарлай: врач-лабораторный генетик отделения патологической анатомии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: sova.vtumane@ya.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5354-7067>

А.Е. Друй: к.м.н., заведующий лабораторией молекулярной онкологии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: alexander.druy@fccho-moscow.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1308-8622>

Д.М. Коновалов: к.м.н., заведующий отделением патологической анатомии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: pathmorf@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7732-8184>

Вклад авторов

А.В. Тараканова: разработка концепции и дизайна статьи, обзор публикаций по теме статьи, подготовка иллюстративного материала, сбор данных, написание текста рукописи

А.С. Шарлай: разработка концепции и дизайна статьи, предоставление иллюстративного материала, сбор данных

А.Е. Друй: научное редактирование статьи

Д.М. Коновалов: разработка концепции и дизайна статьи, сбор данных, научное редактирование статьи

Extremely high prognostic risk group of neuroblastic tumors: histological, immunophenotypic and genetic characteristics. Literature review and own observations

A.V. Tarakanova, A.S. Sharlai, A.E. Druy, D.M. Kononov

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia

Clinical heterogeneity appears to be one of the most characteristic feature of the group of peripheral neuroblastic tumors, ranging from spontaneous tumor regression to a widespread process, often resistant to multimodal therapeutic strategies. Despite significant progress in treatment, about 40 % of patients with high-risk neuroblastoma die from disease recurrence after complete response to first-line therapy. These 40 % are considered a “extremely high” risk group requiring intensification of therapeutic regimens from the time of diagnosis. Histological and molecular predictive features of this group are of high scientific and practical interest for the correct therapy.

Key words: neuroblastoma, MYC, TERT, ATRX, oct4, c-myc amplification

For citation: Tarakanova A.V., Sharlai A.S., Druy A.E., Kononov D.M. Extremely high prognostic risk group of neuroblastic tumors: histological, immunophenotypic and genetic characteristics. Literature review and own observations. Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology. 2023;10(3):63–9.

Information about the authors

A.V. Tarakanova: Pathologist Pathological Anatomical Department at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology, Ministry of Health of Russia, e-mail: sequaciou@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-9496-3136>

A.S. Sharlai: Laboratory Geneticist Pathological Anatomical Department at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology, Ministry of Health of Russia, e-mail: sova.vtumane@ya.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5354-7067>

A.E. Druy: Cand. of Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Molecular Oncology at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, e-mail: alexander.druy@fccho-moscow.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1308-8622>

D.M. Kononov: Cand. of Sci. (Med.), Head of the Pathology Department at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, e-mail: pathmorf@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7732-8184>

Authors' contributions

A.V. Tarakanova: concept development and article design, review of publications on the topic of the article, preparation of illustrative material, data collection, writing the text of the article

A.S. Sharlai: concept development and article design, provision of illustrative material, data collection

A.E. Druy: scientific editing of the article

D.M. Konovalov: concept development and article design, data collection, scientific editing of the article

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / **Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки. / **Funding.** The study was performed without external funding.

Введение

Группа периферических нейробластических опухолей (пНО), включающая нейробластому (НБ), ганглионейробластому и ганглионейрому, представлена наиболее часто встречающимися экстракраниальными опухолями у детей. Отличительной чертой пНО является клиническая гетерогенность, варьирующая от спонтанного регресса опухоли у ~50 % младенцев до широко распространенного процесса, часто устойчивого к мультимодальным методам лечения, таким как химиолучевая терапия, высокодозная химиотерапия с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток и иммунотерапия, на которые приходится до 15 % опухоль-ассоциированной смертности в детском возрасте.

Первая классификация International Neuroblastoma Pathology Classification (INPC) была предложена в 1984 г. командой Shimada et al. [1], она заложила основу риск-стратификации НБ в зависимости от возраста. В дальнейшем в классификацию были интегрированы гистологические критерии, разделившие все пНО на 2 основные прогностические группы: с благоприятными гистологическими (БГ) и с неблагоприятными гистологическими (НГ) характеристиками [2].

Выделение категории НГ, соответствующей клиническим группам промежуточного и высокого риска рецидива, основано на сочетании 3 факторов:

- гистологический подтип (недифференцированная, низкодифференцированная, дифференцирующаяся НБ; нодулярная ганглионейробластома);
- возраст пациента на момент постановки диагноза (до 18 месяцев жизни; от 18 месяцев до 5 лет; старше 5 лет);
- митотико-кариоретический индекс (МКИ) (высокий, промежуточный; любой для недифференцированной НБ).

Пациенты с БГ в подавляющем большинстве случаев имеют отличный прогноз. Группа включила в себя смешанную ганглионейробластому и ганглионейрому независимо от возраста постановки диагноза и МКИ. Также к группе относят низкодифференцированную НБ с низким или промежуточным МКИ, диагностированную в возрасте до 18 месяцев, и дифференцирующуюся НБ с низким МКИ, диагностированную в возрасте до 5 лет. Общая выживаемость этих пациентов составляет более 90 %.

Несмотря на значительный прогресс в результатах лечения, который наблюдался с внедрением в практику дифференцировочной терапии 13-цис-Ретиноевой кислоты (13-цис-РК), а также иммунотерапии пре-

паратами анти-GD2-антител, около 40 % пациентов с НБ высокого риска умирают от рецидива заболевания при полном ответе после 1-й линии терапии. Предметом повышенного научного и практического интереса является поиск гистологических и молекулярных предиктивных признаков этой группы для подбора корректной стратегии лечения.

В 2019 г. N. Ikegaki и H. Shimada предложили выделить из группы НГ 3 подгруппы с крайне НГ характеристиками в зависимости от особенностей их иммунофенотипа и генетического статуса [3]:

- MYC-ассоциированные пНО;
- TERT-ассоциированные пНО;
- ATRX/TP53/ALT-ассоциированные пНО.

Данное разделение стало возможным после открытия фундаментальных механизмов, лежащих в основе патогенеза пНО. В работе S. Ackermann et al. в 2018 г. было показано, что формирование агрессивного фенотипа НБ происходит за счет приобретения клетками репликативной иммортализации путем поддержания длины теломер. Классический (TERT-зависимый) путь восстановления теломерных повторов реализуется через активацию экспрессии гена каталитической субъединицы теломеразы TERT за счет реаранжировок его промотора или гиперэкспрессии транскрипционных факторов семейства MYC, которые являются прямыми активаторами TERT. Альтернативный путь поддержания длины теломер опосредован инактивирующими мутациями в генах белков, участвующих в ремоделировании хроматина, в первую очередь ATRX. Сочетание феномена репликативной иммортализации с абберациями в «классических» сигнальных путях RAS-RAF-MEK и P53 определяет крайне агрессивное клиническое течение НБ [4].

Суррогатными иммуногистохимическими (ИГХ) маркерами данных аномалий являются антитела к рап-MYC-протеинам/комбинации из антител к CMYC и NMyc, TERT и ATRX. Их определение предложено в качестве необходимого шага при первичной диагностике всех пНО с неблагоприятной гистологией.

В данной работе разобраны предпосылки формирования данной морфологической классификации, а также некоторые другие возможные предиктивные факторы, применимые для корректной стратификации рисков рецидива при НБ.

MYC-ассоциированные нейробластомы

Впервые ген MYCN был описан в качестве онкогена в 1984 г. [5, 6]. В настоящий момент показано, что амплификации MYCN составляют до 20 % НБ высо-

кого риска. Амплификация *MYCN* в большинстве случаев прямо связана с гиперэкспрессией протеина *MYCN* в опухолевых клетках по данным ИГХ [7, 8].

С другой стороны, гиперэкспрессия *SMYCN*, обнаруживаемая примерно в 10 % НБ с НГ характеристиками, крайне редко ассоциирована с амплификацией соответствующего гена. К настоящему времени описаны лишь единичные случаи обнаружения амплификации гена *MYC* в пНО. Тем не менее показатели выживаемости пациентов с гиперэкспрессией протеинов *NMYC*, *SMYCN* и при их сочетании идентичны [7].

MYC и *MYCN* являются членами семейства генов *MYC*, которые играют ключевую роль во многих аспектах биологии, включая развитие, дифференцировку, рост и гибель клеток. Активная форма белков семейства *MYC* существует в виде гетеродимеров с их облигатным партнером *MAX*. Димеры *MYC/MAX* связываются со специфическими последовательностями ДНК, называемыми E-box. В геноме существует множество канонических и неканонических последовательностей E-box с различной аффинностью к белкам семейства *MYC*. Результатом этого связывания является индукция транскрипции множества генов путем активации гистоновых ацетилтрансфераз вместе с каркасным белком *TRRAP*. Ацетилирование гистонов вследствие активности белков семейства *MYC* приводит к деспирализации хроматина. Известно, что от белков семейства *MYC* зависит активность ряда генов, участвующих в синтезе рРНК, трансляции белков и митохондриогенезе. Таким образом, клетки с высоким уровнем экспрессии белков семейства *MYC* склонны к гипертрофии клеточного тела и ядрышек [9].

В 2004 г. Tornóczy et al. был описан особый морфологический вариант НБ: крупноклеточная НБ (ККНБ), состоящая из клеток с увеличенными, часто бледными или вакуолизированными ядрами, содержащими от 1 до 4 хорошо заметных ядрышек [10]. В 2013 г. Ikegaki et al. сообщили, что *in vitro* фенотип ККНБ был получен при эпигенетической индукции генов семейства *MYC* в клеточных линиях на монослое и в микросферах. Было также показано, что НБ с фенотипом ККНБ демонстрируют высокие уровни экспрессии белков *NMYC* или *SMYCN*, а также различных маркеров стволовых клеток, таких как *SOX2*, *OCT4*, *NANOG*, *LIN28*, *CXCR4*, *CD133* [11]. Этот феномен делает их схожими с клетками нервного гребня, в которых также выявляются различные паттерны гиперэкспрессии протеинов *SMYCN* и *NMYC* в зависимости от субпопуляций клеток [12] (рис. 1).

В последнее время опубликовано несколько наблюдений в отношении ККНБ, особенностей их иммунофенотипа и генетического статуса. Исследование Matsuno et al. описывает 3 крайне редких случая НБ с амплификацией гена *MYC*, каждая из которых характеризовалась фенотипом ККНБ. При ИГХ-исследовании в случаях № 1 и № 2 была показана интенсивная и диффузная экспрессия белка *SMYCN* при отсутствии реакции с анти-*NMYC*.

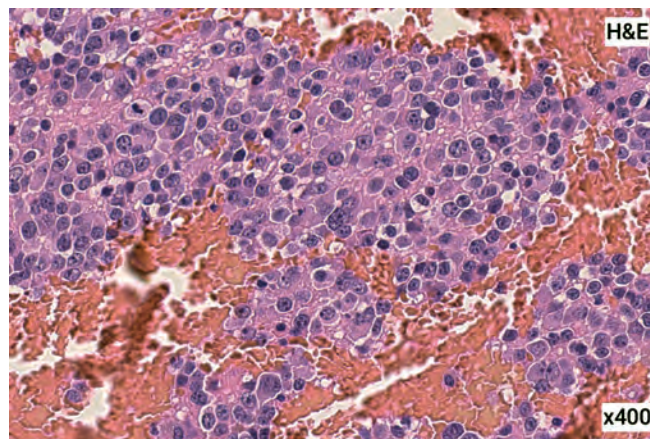


Рис. 1. ККНБ: клетки с увеличенными, часто бледными или вакуолизированными ядрами, содержащими от 1 до 4 хорошо заметных ядрышек, × 400 (случай из архива отделения патологической анатомии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева)

Fig. 1. Neuroblastoma with large-cell phenotype: cells with enlarged, often pale or vacuolated nuclei containing from 1 to 4 conspicuous nucleoli, × 400 (case from Department of Pathological Anatomy at Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology)

Проведение ИГХ-исследования с материалом случая № 3 было технически невозможно. Дальнейшая терапия пациентов проводилась в соответствии с протоколом высокого риска Children's Oncology Group. Ремиссия была достигнута в случаях № 1 и № 3. Тем не менее 2 пациента погибли: в случае № 3 больной умер в результате рецидива заболевания после высокодозной химиотерапии с аутотрансплантацией гемопоэтических стволовых клеток; в случае № 2 — в течение 24 мес от постановки диагноза без достижения ремиссии. На момент написания статьи жив пациент № 1, получавший постконсолидационную анти-GD2-иммунотерапию, с периодом наблюдения 52 мес от постановки диагноза [13].

В исследовании Tornóczy et al. на основании выявления фенотипа ККНБ сравнивались 2 опухоли — с амплификацией гена *MYCN* и без амплификации генов семейства *MYC*. При ИГХ-исследовании ККНБ с амплификацией *MYCN* ожидаемо продемонстрировала яркую и диффузную экспрессию протеина *NMYC*. Клетки ККНБ в случае № 2, имеющие нормальное количество копий генов *MYC* и *MYCN*, оказались ярко и диффузно реактивны к анти-*SMYCN*. В обоих случаях в результате терапии по протоколам высокого риска была достигнута ремиссия, однако пациент № 2 погиб от рецидива заболевания почти через 2 года после постановки диагноза. В случае № 1 больной жив на момент написания статьи и получал постконсолидационную терапию анти-GD2 [14].

С точки зрения морфологии интересным представляется тот факт, что опухоли с гиперэкспрессией протеина *SMYCN* независимо от достоверного обнаружения амплификации гена *MYC* в обоих исследованиях оказались фокально реактивны к *Desmin* (перинуклеарный локус, до 15 % клеток) в отсутствие экспрессии *Myogenin* (рис. 2, 3).

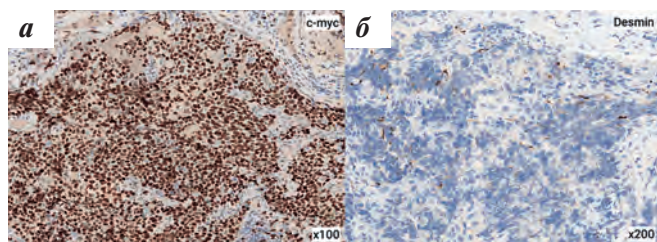


Рис. 2. Коэкспрессия протеинов CMYC и Desmin в недифференцированной НБ с доказанной амплификацией гена MYC (случай из архива отделения патологической анатомии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева): а — яркая ядерная экспрессия протеина CMYC в 100 % клеток, $\times 100$; б — фокальная “dot-like” экспрессия Desmin в перинуклеарном цитоплазматическом локусе, $\times 200$

Fig. 2. Desmin and CMYC protein co-expression in undifferentiated neuroblastoma with MYC gene amplification (case from Department of Pathological Anatomy at Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology): а — intense and diffuse nuclear CMYC expression in 100 % of tumor cells, $\times 100$; б — focal “dot-like” Desmin expression in perineuclear cytoplasmic locus of tumor cells, $\times 200$

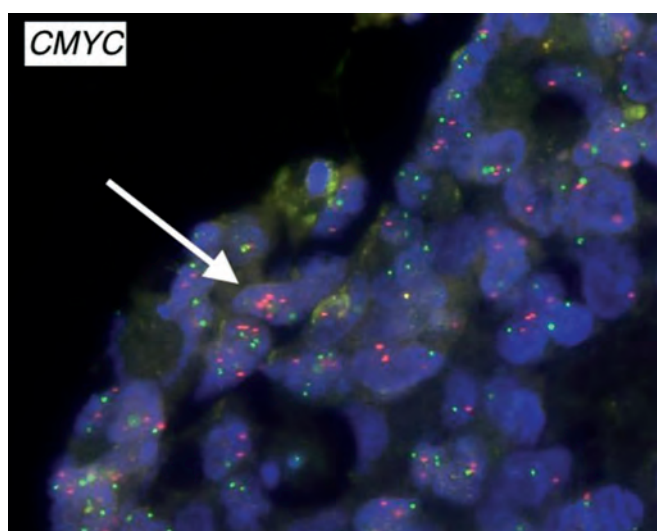


Рис. 3. Микрофотография результата флуоресцентной гибридизации *in situ* с ДНК-зондом к гену CMYC, зонд Metasystems LSP MYC (8q24)/CEN8 (8p11.1-q11.1), $\times 600$. Белый стрелкой указана гетерогенная амплификация гена CMYC (красный сигнал) в отдельных ядрах (случай из архива отделения патологической анатомии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева)

Fig. 3. Micrograph of the FISH result with a DNA probe for CMYC gene, probe Metasystems LSP MYC (8q24)/CEN8 (8p11.1-q11.1), $\times 600$. CMYC gene amplification indicated with white arrow (case from Department of Pathological Anatomy at Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology)

Также при изучении этой подгруппы было обнаружено вовлечение в патогенез эпигенетических механизмов. Перенос энхансера в составе мобильных генетических элементов и очаговая амплификация энхансера были предложены в качестве механизмов активации экспрессии MYC при НБ без амплификации самого гена [7, 11, 15, 16].

В связи с этим в исследовании S.J. Wei et al. в 2020 г. было показано, что после проведения терапии 1-й линии MYCN-амплифицированных НБ 13-дис-РК, которая блокирует активность MYCN, в части случаев появлялась гиперэкспрессия белка CMYC по данным ИГХ без амплификации гена MYC. *In vitro*

«выключение» гена MYC восстанавливало чувствительность данных новообразований к стандартной терапии [17]. Обнаруженное явление было связано с часто выявляемой коэкспрессией маркера стволовых клеток — транскрипционного фактора oct4, имеющего сайт связывания на энхансере MYC (рис. 4).

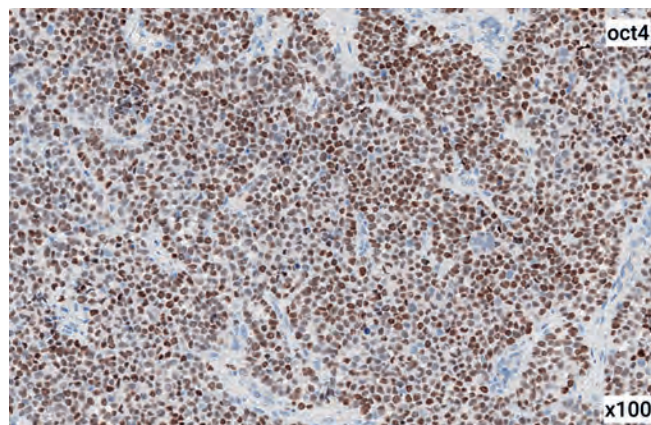


Рис. 4. Яркая ядерная экспрессия oct4 более чем в 90 % клеток при негативном внутреннем контроле на эндотелии сосудов, $\times 100$ (случай из архива отделения патологической анатомии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева)

Fig. 4. Intense nuclear oct4 expression more than in 90 % of tumor cells, negative internal control, $\times 100$ (case from Department of Pathological Anatomy at Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology)

TERT-ассоциированное поддержание длины теломер в клетках нейробластомы

Теломераза представляет собой большой рибонуклеопротеиновый комплекс, ответственный за прогрессивный синтез повторов теломерной ДНК на 3'-концах хромосом, препятствующий потере ДНК в каждом раунде репликации, и тем самым предотвращающий клеточное старение. Функционально теломераза — это обратная транскриптаза, состоящая из каталитической белковой субъединицы, называемой теломеразной обратной транскриптазой (TERT), кодируемой геном TERT у человека, и основного компонента РНК, известного как теломеразная РНК человека (hTR) или компонент hTR.

Поскольку промоторная область данного гена состоит из конденсированного хроматина в большинстве соматических клеток, ген TERT не транскрибируется. Перестройки короткого плеча хромосомы 5 активируют транскрипцию TERT за счет его смещения в деконденсированную область хроматина и транспозиции в 3'-положение от активного энхансера. При этом увеличения числа копий TERT не происходит [18].

Активация теломеразы является характерным признаком многих новообразований и, как было установлено, связана с неблагоприятным прогнозом. В нескольких параллельных массовых исследованиях генома НБ сообщалось об участии перестроек TERT в поддержании теломер за счет аномальной активности теломеразы. При полногеномном секвенировании 108 случаев НБ в исследовании L.J. Valentijn

et al. реаранжировка *TERT* была обнаружена в 23 % случаев и ассоциирована с наличием распространенной агрессивной опухоли. Также было обнаружено, что амплификация гена *MYCN* часто сопровождается гиперэкспрессией *TERT*, что связано с прямым активирующим действием транскрипционного фактора NMYC на промотор *TERT* [19]. В данном случае перестройки промоторной области *TERT* не происходит, а активация носит функциональный характер. Таким образом, НБ с амплификацией *MYCN* и перестройками *TERT* характеризуются общим биологическим феноменом — активацией канонического пути поддержания длины теломер и имеют сходный фенотип. При этом реаранжировки гена *TERT* позволяют объяснить значительную долю агрессивных НБ с нормальным количеством копий *MYCN* [20].

Альтернативный путь поддержания длины теломер (ALT), ассоциированный с инактивацией *ATR*X и мутациями *TP53*

Путь ALT представляет собой независимый от теломеразы механизм, при котором теломерная ДНК реплицируется посредством гомологичной рекомбинации с использованием имеющейся ДНК-матрицы. Этот путь гораздо более распространен в опухолях мезенхимального и нейроэпителиального происхождения. Функции белка p53 включают ингибирование гомологичной рекомбинации, и считается, что потеря функции p53 позволяет активировать путь ALT. Инактивация онкосупрессора p53 вирусным онкопротеином или мутацией в гене *TP53* чрезвычайно распространена в ALT-активированных клеточных линиях [18].

Исследования по иммортализации *in vitro* показали, что делеция *ATR*X часто является ранним событием активации ALT в условиях угрозы выживания клеток. Реэкспрессия *ATR*X в эксперименте ингибирует активацию ALT, что можно считать доказательством того, что *ATR*X является ингибитором ALT. Однако тот факт, что одна инактивация *ATR*X не приводит к индукции восстановления теломер, подразумевает участие других генов или эпигенетических изменений в активации ALT. Учитывая, что нормальной функцией белка *ATR*X в комплексе с DAXX является вставка вариантного гистона H3.3 для поддержания транскрипционно активной обширной области хроматина, утрата функции *ATR*X приводит к изменению транскрипта и дальнейшим эпигенетическим перестройкам, одним из эффектов которых и является активация ALT [21].

В исследовании L.J. Valentijn et al. при полногеномном секвенировании НБ делеции и инактивирующие

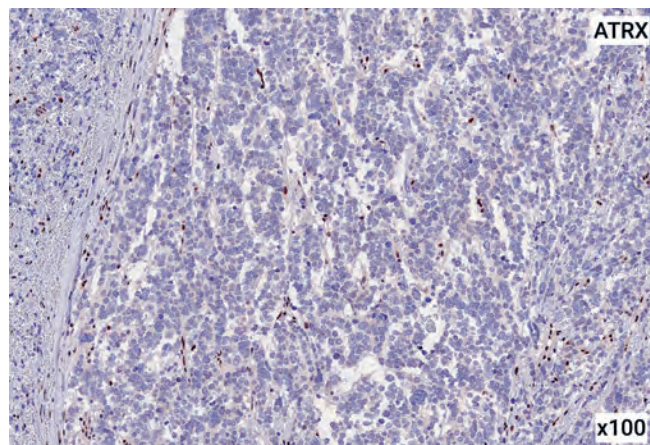


Рис. 5. Тотальная утрата экспрессии *ATR*X в клетках опухоли при сохранном позитивном внутреннем контроле на эндотелии сосудов, $\times 100$ (случай из архива отделения патологической анатомии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева)

Fig. 5. Diffuse loss of *ATR*X expression in tumor cells, positive internal control, $\times 100$ (case from Department of Pathological Anatomy at Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology)

мутации в гене *ATR*X были обнаружены в 11 % случаев, что делает возможным предположить аномалии *ATR*X в качестве независимого предиктивного фактора. Отмечено также, что аномалии *ATR*X, активирующие перестройки *TERT*, и амплификация *MYCN* являются взаимоисключающими молекулярно-генетическими событиями, при этом утрата экспрессии *ATR*X по данным ИГХ наблюдается преимущественно у пациентов с НБ в возрасте старше 5 лет [19] (рис. 5).

Заключение

Каждый из онкогенных механизмов формирования агрессивного фенотипа НБ, представленных в данной классификации, доступен к исследованию с помощью суррогатных маркеров методом ИГХ. Более того, в отношении *MYC*-ассоциированных НБ авторы рекомендуют ИГХ-исследование с использованием антител к протеинам CMYC и NMYC как более чувствительного метода, способного детектировать не только признаки амплификации, но и функциональные изменения статуса данных генов, отражающиеся в гиперэкспрессии соответствующих белков.

Помимо этого, интерес представляет исследование некоторых других маркеров, показавших взаимосвязь с неблагоприятным исходом: белка oct4 как возможного предиктора ранних рецидивов НБ с амплификацией *MYCN* или фокальной экспрессии Desmin при крупноклеточном фенотипе и отсутствии амплификации генов семейства *MYC* (рис. 6).

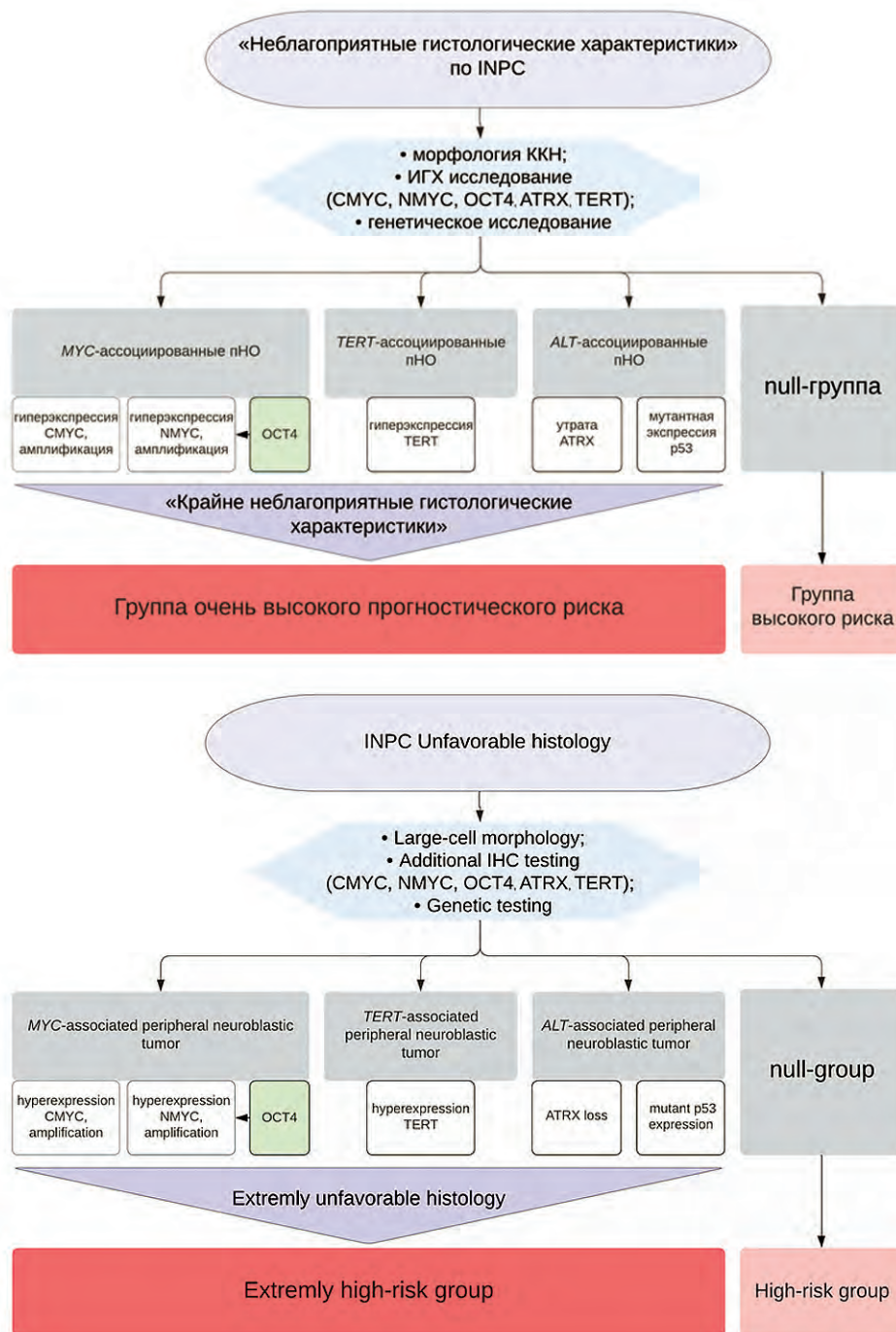


Рис. 6. Алгоритм дополнительного ИГХ-исследования для НБ группы высокого риска рецидива с использованием суррогатных прогностических маркеров

Fig. 6. Additional IHC testing for extremely high risk neuroblastomas using surrogate prognostic markers

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Shimada H., Chatten J., Newton W.A. Jr, Sachs N., Hamoudi A.B., Chiba T., Marsden H.B., Misugi K. Histopathologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtypes of ganglioneuroblastoma and an age-linked classification of neuroblastomas. *J Natl Cancer Inst.* 1984;73(2):405–16. doi: 10.1093/jnci/73.2.405.
- 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., Castleberry R.P. The International Neuroblastoma Pathology Classification (the Shimada system). *Cancer.* 1999;86(2):364–72. doi: 10.1002/(SICI)1097-0142(19990715)86:2<364::AID-CNCR21>3.0.CO;2-7.
- Ikegaki N., Shimada H.; International Neuroblastoma Pathology Committee. Subgrouping of unfavorable histology neuroblastomas with immunohistochemistry toward precision prognosis and therapy stratification. *JCO Precis Oncol.* 2019;3:PO.18.00312. doi: 10.1200/PO.18.00312.
- Ackermann S., Cartolano M., Hero B. A mechanistic classification of clinical phenotypes in neuroblastoma. *Science.* 2018;362(6419):1165–70. doi: 10.1126/science.aat6768.
- Seeger R.C., Brodeur G.M., Sather H. Association of multiple copies of the *N-myc* oncogene with rapid progression of neuroblastomas. *N Engl J Med.* 1985;313(18):1111–6. doi: 10.1056/nejm198510313131802.
- Brodeur G.M., Seeger R.C., Schwab M., Varmus H.E., Bishop J.M. Amplification of *N-myc* in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage. *Science.* 1984;224(4653):1121–4. doi: 10.1126/science.6719137.
- Shimada H., Ikegaki N. Genetic and histopathological heterogeneity of neuroblastoma and precision therapeutic approaches for extremely unfavorable histology subgroups. *Biomolecules.* 2022;12(1):79. doi: 10.3390/biom12010079.
- Wang L.L., Teshiba R., Ikegaki N., Tang X.X., Naranjo A., London W.B., Hogarty M.D., Gastier-Foster J.M., Look A.T., Park J.R., Maris J.M., Cohn S.L., Seeger R.C., Asgharzadeh S., Shimada H. Augmented expression of Myc and/or MYCN protein defines highly aggressive myc-driven neuroblastoma: A Children's Oncology Group study. *Br J Cancer.* 2015;113(1):57–63. doi: 10.1038/bjc.2015.188.
- Niema-Teshiba R., Matsuno R., Wang L.L., Tang X.X., Chiu B., Zeki J., Coburn J., Ornell K., Naranjo A., Van Ryn C. MYC-family protein overexpression and prominent nucleolar formation represent prognostic indicators and potential therapeutic targets for aggressive high-MKI neuroblastomas: A report from the Children's Oncology Group. *Oncotarget.* 2018;9:6416–32. doi: 10.18632/oncotarget.23740.
- Tornoczyk T., Kalman E., Kajtar P.G. Large cell neuroblastoma: a distinct phenotype of neuroblastoma with aggressive clinical behavior. *Cancer.* 2004;100(2):390–7. doi: 10.1002/cncr.20005.
- Ikegaki N., Shimada H., Fox A.M., Regan P.L., Jacobs J.R., Hicks S.L., Rappaport E.F., Tang X.X. Transient treatment with epigenetic modifiers yields stable neuroblastoma stem cells resembling aggressive large-cell neuroblastomas. *Proc Natl Acad Sci. (USA)* 2013;110:6097–102. doi: 10.1073/pnas.1118262110.
- Khudyakov J., Bronner-Fraser M. Comprehensive spatiotemporal analysis of early chick neural crest network genes. *Dev Dyn.* 2009;238(3):716–23. doi: 10.1002/dvdy.21881.
- Matsuno R., Gifford A.J., Fang J., Warren M., Lukeis R.E., Trahair T., Sugimoto T., Marachelian A., Asgharzadeh S., Maris J.M. Rare *MYC*-amplified Neuroblastoma With Large Cell Histology. *Pediatric Dev Pathol.* 2018;21:461–6. doi: 10.1177/1093526617749670.
- Tornóczy T., Kaszás B., Ottóffy G., Hosnyánszki D., Simon R., Hazard F.K., Shimada H. Large cell neuroblastoma – Phenotypical variant of MYC-driven neuroblastoma: Report of 2 cases with different molecular characteristics. *Hum Pathol: Case Reports.* 2021;24:200493. doi.org/10.1016/j.ehpc.2021.200493.
- Fetahu I.S., Taschner-Mandl S. Neuroblastoma and the epigenome. *Cancer Metastasis Rev.* 2021;40:173–89. doi: 10.1007/s10555-020-09946-y.
- Zimmerman M.W., Liu Y., He S., Durbin A.D., Abraham B.J., Easton J., Shao Y., Xu B., Zhu S., Zhang X. MYC Drives a Subset of High-Risk Pediatric Neuroblastomas and Is Activated through Mechanisms Including Enhancer Hijacking and Focal Enhancer Amplification. *Cancer Discov.* 2018;8:320–35. doi: 10.1158/2159-8290.cd-17-0993.
- Wei S.J., Nguyen T.H., Yang I.H. MYC transcription activation mediated by OCT4 as a mechanism of resistance to 13-cisRA-mediated differentiation in neuroblastoma. *Cell Death Dis.* 2020;11:368. doi: 10.1038/s41419-020-2563-4.
- Duan X.-F., Zhao Q. TERT-mediated and ATRX-mediated Telomere Maintenance and Neuroblastoma. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2018;40(1):1–6. doi: 10.1097/MPH.0000000000000840.
- Valentijn L.J., Koster J., Zwijnenburg D.A. TERT rearrangements are frequent in neuroblastoma and identify aggressive tumors. *Nat Genet.* 2015;47:1411–4. doi: 10.1038/ng.3438.
- Peifer M., Hertwig F., Roels F. Telomerase activation by genomic rearrangements in high-risk neuroblastoma. *Nature.* 2015;526:700–4. doi: 10.1038/nature14980.
- Flynn R.L., Cox K.E., Jeitany M. Alternative lengthening of telomeres renders cancer cells hypersensitive to ATR inhibitors. *Science.* 2015;347:273–7. doi: 10.1126/science.1257216.

Статья поступила в редакцию: 21.02.2023. Принята в печать: 06.10.2023.

Article was received by the editorial staff: 21.02.2023. Accepted for publication: 06.10.2023.