

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ В.А.Ходжаев

16.03.2011 г.

Регистрационный № 176-1110

**МЕТОД ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОБЛАСТОМЫ У ДЕТЕЙ  
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТРАНСПЛАНТАЦИИ  
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии»

АВТОРЫ: канд. мед. наук Пролесковская И.В., канд. мед. наук, доц. Савва Н.Н., канд. биол. наук Савицкий В.П., канд. биол. наук Кустанович А.М., канд. мед. наук, доц. Качан Г.Л., Волочник Е.В., Ступникова Т.В., д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАНБ Алейникова О.В.

Минск 2010

Инструкция на метод разработана с целью усовершенствования диагностики и лечения больных с нейробластомой, разработаны показания к проведению аутотрансплантации костного мозга и протокол ее проведения. Область применения — онкология. Уровень внедрения — республиканский.

Инструкция может быть использована онкологами и педиатрами.

### **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Нейробластома у детей и подростков, а также молодых взрослых до 21 года.

**ПРОТИВОПОКАЗАНИЙ К ПРИМЕНЕНИЮ** нет.

### **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, МАТЕРИАЛОВ И РЕАКТИВОВ**

Оборудование и реагенты, необходимые для проведения лабораторно-клинических исследований (гематологические, биохимические, морфологические, серологические, иммунофенотипирование, молекулярно-биологические, цитогенетические, лучевая и функциональная диагностика и др. методы (Приложение 1).

### **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА**

Нейробластома развивается из примитивных симпатических нейробластов и является типичной опухолью детского возраста. Она встречается в 7–10% всех злокачественных новообразований у детей. Это самая частая солидная опухоль экстракраниальной локализации у детей до 5 лет. Ежегодно регистрируют 6–8 случаев на 1 млн детского населения при среднем возрасте пациентов 2 года. В 72% случаев нейробластома локализуется в забрюшинном пространстве (в мозговом слое надпочечников и симпатических ганглиях), в 22% — в заднем средостении, реже — в шейной и пресакральной областях.

Возраст и стадия заболевания на момент постановки диагноза традиционно являются наиболее важными факторами, определяющими исход заболевания. Наряду с высокозлокачественной подгруппой нейробластомы, существует подгруппа благоприятного прогноза (1, 2 и 4S стадии). Различия между ними столь велики, что кажется – это два разных заболевания. Основной проблемой является лечение пациентов высокой группы риска, которые имеют неблагоприятный исход, несмотря на очень интенсивную терапию. Прогноз при нейробластоме в первую очередь определяется возрастом пациента и стадией болезни, причем ранний возраст является благоприятным фактором. Лица с локализованной нейробластомой (I–II стадии) выживают в 92% случаев, при III стадии заболевания шансы на выживание ухудшаются до 50%, 5–9-летняя выживаемость пациентов с метастатической болезнью составляет всего лишь 11%. Применение высокодозной полихимиотерапии в сочетании с трансплантацией костного мозга улучшает показатели 2–5-летней безрецидивной выживаемости детей с IV стадией нейробластомы до 30–50%.

## Диагностика нейробластомы

### *Анамнез и клинический статус*

В анамнезе следует обратить внимание на бледность, потливость, потерю веса, диарею, раздражительность, приступы одышки, кашель, лихорадку, кризы повышения артериального давления, тахикардию, сухость кожи, эмоциональную лабильность, параличи конечностей, нарушение функции тазовых органов и продолжительность данных симптомов.

### *Лабораторные методы исследования*

- Полный анализ крови (чаще рост СОЭ, при метастатической форме могут быть анемия, тромбоцитопения).
- Биохимический анализ крови (электролиты; печеночные тесты (АЛТ, АСТ, ГГТ, билирубин), функция почек (креатинин, мочевины, мочевиная кислота).
- Свертывание: протромбиновое время, АПТВ, фибриноген, АТ III, Д-димеры.
- Нейробластома встречается в основном у маленьких пациентов и детей с пороками развития поражает чаще. Поэтому если имеются неустановленной этиологии морфологические аномалии развития, то необходимо исследование кариотипа.

### *Опухолевые маркеры*

*Лактатдегидрогеназа (ЛДГ).* Результат зависит от возраста пациента.

*Ферритин.* Результат зависит от возраста пациента и от теста, с помощью которого определяется показатель.

*Нейронспецифическая энолаза. (НСЕ).* На уровень НСЕ влияет гемолиз и разрушение при комнатной температуре. Поэтому негемолизованный проба крови должна быть исследована в течение 2–6 ч в лаборатории. Если проба отсылается в другую лабораторию, пожалуйста, отделите сыворотку и посылайте только сыворотку. Результат также зависит от возраста пациента и от теста, с помощью которого проводится исследование.

Для всех онкомаркеров характерно увеличение уровня для нейробластомы более специфичным показателем является НСЕ.

*Метаболиты катехоламинов.* Ванillinминдаликовая (ВМК) и гомованиликовая (ГВК) кислоты в сыворотке крови и моче. Собирать мочу нет необходимости, когда результат нормализуется по концентрации креатинина в моче. Определение «норма» либо «увеличение» в соответствии с нормами лаборатории должны быть документированы в описании данного случая для каждого онкомаркера. Специфично для опухоли увеличение, равное 3-м средним нормам (характерных для данного возраста, измеренных в ммоль на ммоль креатинина).

### *Визуализирующие исследования, необходимые при постановке диагноза*

#### *Ультразвуковое исследование (УЗИ)*

УЗИ вовлеченных областей обязательно, исключая случаи, когда только анатомические причины не позволяют его выполнить (внутригрудная нейробластома). Размеры кожных проявлений и поражение мягких тканей метастазами должны быть документированы ультразвуковым исследованием.

*Стандартное УЗИ* требуется как один из основных методов у всех детей. Оно должно включать исследование шеи, брюшной полости, особенно печень (маленькие метастазы могут быть пропущены, если используется высокочастотный проводник), забрюшинное пространство и головной мозг (если роднички еще открыты).

#### *Рентгенография*

Рентгенография грудной клетки, но не другое стандартное рентгеновское обследование требуется при первичном стадировании.

В некоторых случаях внутригрудная нейробластома может быть определена с помощью рентгенограммы грудной клетки при наличии легочных симптомов. Так как УЗИ грудной клетки невозможно из-за заполнения воздухом легких, наблюдение за пациентами с внутригрудной нейробластомой включает в себя стандартную рентгенографию грудной клетки вместо УЗИ.

Поражения костей метастазами могут быть видны на рентгенограммах, но костные сканы дают информацию обо всем скелете. Поэтому рентгенография костей рекомендуется только для документации и наблюдения за скелетными поражениями, являющимися критическими для костной системы.

#### *МРТ/КТ пораженных областей*

МРТ/КТ первичной опухоли требуется при первичной диагностике.

Если нейробластома обнаруживается в паравертебральной области, требуется спинальное МРТ для документирования или подтверждения интрафораминального или интраспинального поражения, даже если у пациента нет неврологических проявлений. Компьютерная томография не подходит, так как небольшие интраспинальные опухолевые массы могут быть пропущены. Для всех пациентов с IV стадией болезни, невзирая на результаты МИБГ сканирования, МРТ/КТ черепа необходима для подтверждения либо исключения интракраниального и интраорбитального поражения.

- Радиоизотопная сцинтиграфия предпочтительнее с  $^{123}\text{I}$  метаиодбензилгуагином (МИБГ).

- Tc (MDP) сцинтиграфия, если МИБГ нет в наличии.

**Морфологическое исследование является обязательным и лежит в основе верификации диагноза**

#### *Гистология*

Гистология опухоли и ее молекулярно-генетическое исследование — критические пункты для стратификации локализованных форм болезни, стадии 4S, и стадии IV у детей до 1-го года. Поэтому биопсия опухоли всегда требуется при локализованных формах болезни.

При IV стадии болезни статус N-MYC и хромосомы 1p могут быть получены из костного мозга, если его поражение составляет больше 60% опухолевых клеток. Определение других параметров (т.е. опухолюассоциированных антигенов) невозможно при использовании проб

костного мозга. Поэтому открытая биопсия для получения опухолевой ткани решительно необходима даже при IV стадии болезни.

Обработка и разделение опухолевой ткани должно быть выполнено местным патологом. Опухолевый материал должен быть доставлен из операционной в отделение для гистологического исследования немедленно и обработан в течение 30 мин для того чтобы избежать РНК деградации. Местный патолог решает, какую часть опухоли можно заморозить без ущерба для диагностики. Если возможно, он должен собрать материал как минимум из 2-х макроскопически различных областей (если они присутствуют).

В дополнение периферическая кровь должна быть собрана для выполнения молекулярного анализа.

Оставшаяся после заморозки ткань фиксируется в буферном 4% формалине для диагностической гистологии. Должны быть собраны множественные блоки из макроскопически различных областей, особенно опухолевые узлы. Некроз и регрессирующая опухолевая ткань должна быть собрана в соответствии с отношением их объема к объему всей опухоли, чтобы позволить правильно установить степень регрессии.

Местный патолог должен классифицировать согласно INPC (International Neuroblastoma Pathology Committee), включая митоз-кареорекесис индекс. Обязательно должны быть оценены: степень регрессии и дифференцировки и вовлеченность краев резекции. После химиотерапии опухоль должна быть классифицирована с указанием постхимиотерапевтических изменений.

#### *Исследование костного мозга*

Поражение костного мозга при нейробластоме фокальное. Поэтому одна костномозговая пункция не приемлема. Костномозговые аспираты как минимум из 4 различных точек необходимы. Если аспираты получились нерепрезентативными, то два аспирата и две трепанобиопсии или 4 трепанобиопсии могут использоваться вместо них.

Костный мозг для всех пациентов в NB 2004 m должен исследоваться с помощью световой микроскопии и для диагностики минимальной метастатической болезни методами иммунофенотипирования и ПЦР. Если поражение костного мозга превышает 60%, молекулярный анализ может быть выполнен из костномозгового аспирата.

#### **Генетические маркеры: N-тус и 1p статус**

Обычно принадлежность к группе риска идентифицируется так: присутствие N-тус амплификации, делеции 1p, дисбаланс 1p, или 1p потеря гетерозиготности. Отсутствие N-тус амплификации, делеции 1p или дисбаланса 1p, 1p гетерозиготность — это индикаторы нормального риска.

Для терапевтической стратификации статус по N-тус онкогену и статус по дистальной части хромосомы 1p (1p36), плоидности опухоли используется технология FISH.

*Дополнительно:* консультация нейрохирурга и невропатолога при прорастании опухоли в позвоночный канал и/или при неврологических расстройствах.

**Диагноз нейробластомы вероятен, ребенок до 3-месячного возраста в хорошем клиническом состоянии**

Новорожденные или дети раннего возраста имеют хороший прогноз даже без лечения. Надпочечниковые массы, видимые при выполнении стандартного УЗИ, у ребенка с хорошим клиническим статусом могут быть как нейробластомой, так и надпочечниковым кровоизлиянием. В данном случае первичное стадирование может разделяться на два шага.

***Обследования необходимые безотлагательно для всех детей до 3-х мес.***

Обследования, которые необходимо сделать всем детям до 3-х мес. включают:

- Клинический статус, особенное внимание кожным покровам.
- Полный анализ крови, электролиты, функция печени (АЛТ, АСТ, ГГТ), функция почек (креатинин, мочевины, мочевая кислота) и свертывание.
- Опухолевые маркеры: ЛДГ, ферритин, НСЕ, уровень в моче катехоламинов (ВМК, ГВК).
- УЗИ шеи, брюшной полости (особенно печени), таза и головного мозга.

***Обследования необходимые при персистенции опухоли в возрасте более 3-х мес.***

Другие исследования могут быть отложены, если ребенок в хорошем клиническом состоянии, но должны быть выполнены у больных в возрасте более 3-х мес. и перед какой-либо противоопухолевой терапией:

- МРТ/КТ вовлеченных областей.
- Исследование костного мозга из 4-х различных точек.
- Биопсия опухоли для гистологии и молекулярно-генетические исследования.

**Стадирование выполняется в соответствии с Международной классификацией INSS**

**Стадия 1** Локализованная опухоль с полным макроскопическим удалением, с микроскопической резидуальной болезнью или без нее, представленная ипсилатеральными лимфоузлами свободными от опухоли микроскопически (лимфоузлы прилежащие и удаленные с первичной опухолью могут быть позитивными).

Широко удаленная центрально расположенная опухоль без ипсилатеральных (с — стадия 2А) или контралатеральных (с — стадия 2В) пораженных лимфоузлов считается 1 стадией.

**Стадия 2А** Локализованная опухоль с неполным макроскопическим удалением, представленная ипсилатеральными не спаянными лимфоузлами, отрицательными в отношении опухолевых

клеток микроскопически.

**Стадия 2В** Локализованная опухоль с полным макроскопическим удалением или без него, с ипсилатеральными не спаянными лимфоузлами, позитивными в отношении опухоли. Увеличенные контралатеральные лимфоузлы должны быть негативны микроскопически.

**Стадия 3** Не удаленная односторонняя опухоль, инфильтрирующая через срединную линию\*, с вовлечением регионарных лимфоузлов или без него, или локализованная односторонняя опухоль с пораженными контралатеральными регионарными лимфоузлами, или расположенная посередине опухоль с билатеральным распространением путем инфильтрации или поражением лимфоузлов.

\* Средняя линия определяется как позвоночный столб. Опухоль берет начало на одной стороне и пересекает среднюю линию, инфильтрируя, или за пределы другой стороны позвоночного столба.

**Стадия 4** Любая первичная опухоль с диссеминацией в отдаленные лимфоузлы, кости, костный мозг, печень или другие органы (исключая определенную как стадия 4S).

**Стадия 4S** Локализованная первичная опухоль (определенная как стадия 1, 2А или 2В) с диссеминацией, ограниченной печенью, кожей, и/или КМ<sup>#</sup> (ограниченная возрастом до 1 года).

<sup>#</sup> Поражение костного мозга при 4S стадии должно быть минимальным, т.е. менее 10% ядерных клеток в биопсии костного мозга или качественная оценка ядродержащих клеток в КМ аспирате. Более интенсивное поражение КМ должно считаться 4 стадией. МИБГ сканирование должно быть отрицательным в КМ при 4S стадии.

Мультифокальная первичная опухоль (т.е. билатеральная надпочечниковая первичная опухоль) должна стадироваться в соответствии с наибольшим распространением болезни, как определено выше, и следовать с сабскриптом «М» (т.е. стадия 3 м).

### **Алгоритм принятия терапевтического решения**

Алгоритм принятия терапевтического решения зависит от того, к какой группе риска относится данный пациент.

К группе наблюдения относятся пациенты:

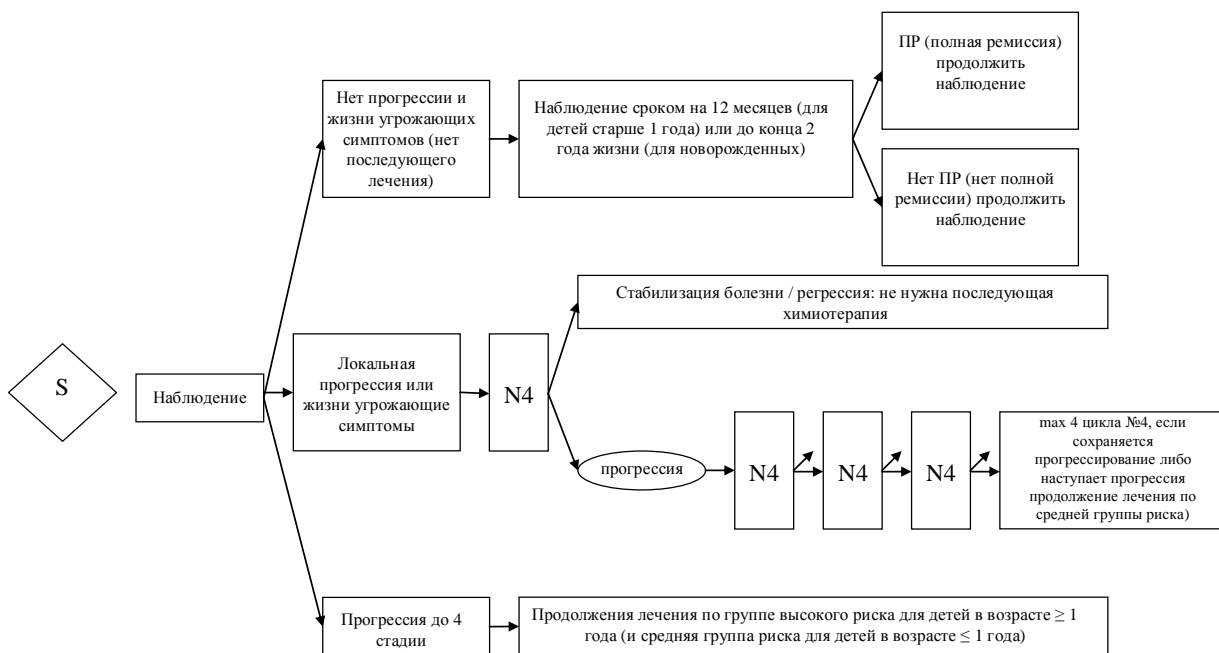
Стадия 1, возраст 0–21 год, без N-тус амплификации;

Стадия 2, возраст 0–21 год, без N-тус амплификации, без делеции 1р;

Стадия 3, возраст 0–2 года, без N-тус амплификации, без делеции 1р;

Стадия 4s, возраст 0–1 год, без N-тус амплификации.

Алгоритм принятия терапевтического решения в этой группе показан на рис. 1.



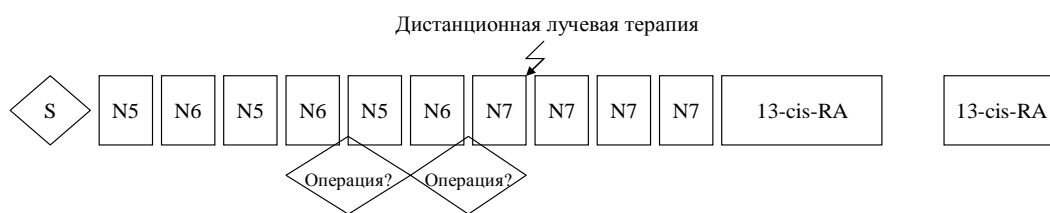
*S* — биопсия опухоли либо полное удаление, если возможно без риска калечащей операции для ребенка. *N4* — блоки полихимиотерапии

Рис. 1. Алгоритм принятия терапевтического решения в группе наблюдения

К группе промежуточного риска относятся пациенты:

- Стадия 3, возраст  $\geq 2$  года, без N-тус амплификации;
- Стадия 3, возраст 0–21 год, есть делеция 1p, без N-тус амплификации;
- Стадия 2, возраст 0–21 год, есть делеция 1p, без N-тус амплификации;
- Стадия 4, возраст до 1 года, без N-тус амплификации.

Алгоритм принятия терапевтического решения в этой группе показан на рис. 2.



N5, N6, N7- блоки полихимиотерапии  
13 cis- RA- блоки с 13 цис ретиноевой кислотой

*S* — биопсия опухоли либо полное удаление, если возможно без риска калечащей операции для ребенка

Рис. 2. Алгоритм принятия терапевтического решения в группе промежуточного риска

К группе высокого риска относятся пациенты:



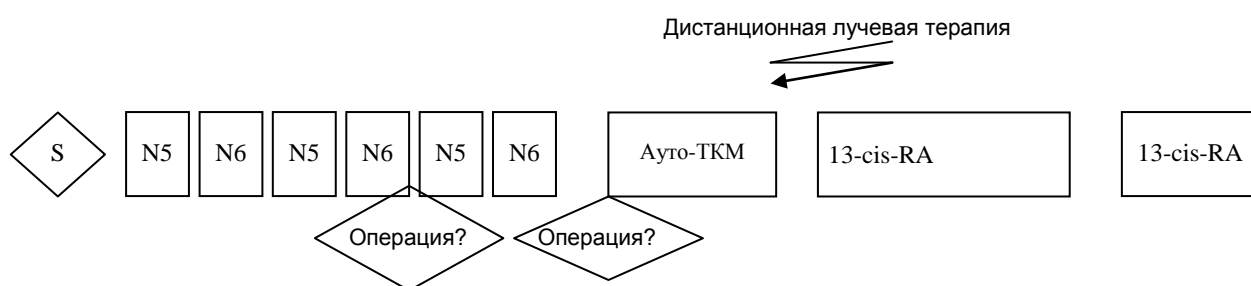
Стадия 4, возраст от 1 до 21 года;

Любая стадия от 0 до 21 года с N-тус амплификацией в опухоли.

Для пациентов этой группы риска в первой линии лечения обязательна высокодозная полихимиотерапия с выполнением затем аутотрансплантации костного мозга.

В качестве аутотрансплантата предпочтительно использовать ПСК. При 4 стадии нейробластомы поражение костного мозга встречается в 87% случаев и костей в 66% случаев. Мобилизация стволовой клетки возможна только тогда, когда есть подтверждение ответа первоначального поражения костного мозга на лечение. Поэтому оценка состояния костного мозга должна повторяться перед очередным циклом терапии. Как только костный мозг очистится от клеток нейробластомы, забор стволовой клетки должен быть назначен после последующего цикла химиотерапии. При отсутствии морфологического поражения костного мозга забор ПСК осуществляют не ранее чем после 2 блока ПХТ.

Минимально допустимая клеточность трансплантата по CD34+ на 1 кг веса пациента  $2 \times 10^6$  клеток.



*S* — биопсия опухоли; *N5, N6, N7* — блоки полихимиотерапии;  
*13-cis-RA* — блоки с 13 цисретиноевой кислотой

Рис. 3. Алгоритм принятия терапевтического решения для группы высоко риска

### Критерии ответа на лечение у пациентов с нейробластомой

Таблица 1

Ответ	Критерии ответа у пациентов с нейробластомой	
	Первичная опухоль	Метастатические области <sup>##</sup>
ПО	Нет опухоли	Нет опухоли, катехоламины в норме
ОХЧО	Уменьшение на 90–99%	Нет опухоли, выявляются остаточные изменения костей Тс <sup>99</sup>
ЧО	Уменьшение >50%	Все измеряемые места уменьшаются >50%. Кости и КМ: число позитивных мест уменьшено >50%, не более 1 позитивного места в КМ выявляется <sup>#</sup>
СО	Нет новых повреждений; уменьшение некоторых измеряемых повреждений (первичных или метастатических) более 50%, с менее 50% уменьшением в каких-либо других; менее 25% увеличение некоторых существующих повреждений	

- НО Нет новых повреждений; менее 50% уменьшения, но менее 25% увеличение в некоторых существующих повреждениях
- ПБ Любые новые повреждения; увеличение в некоторых измеренных повреждениях более 25%; до этого чистый костный мозг повреждается опухолью.

### Примечания

- ПО Полный ответ
- ОХЧО Очень хороший частичный ответ
- ЧО Частичный ответ
- СО Смешанный ответ
- НО Нет ответа
- ПБ Прогрессирование заболевания

# Один позитивный аспират КМ или биопсия позволительны для частичного ответа, если это репрезентативное снижение в числе позитивных мест на момент диагностики.

### Наблюдение за пациентами, закончившими лечение

Зависит от группы риска и наличия остаточной опухоли в организме ребенка.

#### Группа наблюдения

Для этой группы правомочно наблюдение после операционного стадирования. Оно включает: клиническое обследование, опухолевые маркеры и визуализирующие методы (табл. 2, 3). Определение только опухолевых маркеров позволяет выявить 25–50% рецидивов либо прогрессирования заболевания; большое количество событий можно диагностировать с помощью клинического обследования и визуализирующих методов.

Таблица 2

Рекомендуемые во время наблюдения методы обследования в группе наблюдения без остаточной опухоли после операции и после операционного стадирования

	1 год	2-5 год	После 5 лет
Клиническое обследование Катехоламины мочи УЗИ/Р грудной клетки*	Каждые 6 недель	Каждые 3 мес.	Каждые 6–12 мес.
ЛДГ и НСЕ	Венозная проба крови берется при выполнении МРТ/КТ или сцинтиграфии		
МРТ**/КТ	3 мес. после операции. Соответственно только если УЗИ или рентгенограмма дают неясные результаты		
Сцинтиграфия	Только если УЗИ или рентгенограмма дают неясные результаты		

\* Для внутригрудных опухолей не применяется УЗИ, поэтому необходимо выполнение рентгенограммы грудной клетки.

\*\* Более частая МРТ выполняется в присутствии интраспинальной/интрафораминальной остаточной опухоли.

Конечно, в случае появления каких либо неясных симптомов или патологических результатов, обследования во время наблюдения повторяются в более короткие интервалы либо должны включать полное рестадирование (МРТ/КТ, сцинтиграфия или исследование костного мозга) для исключения либо идентификации возврата болезни или обусловленных лечением поздних побочных эффектов.

Таблица 3

Рекомендуемые во время наблюдения обследования в группе наблюдения с остаточной опухолью после операции и операционного стадирования

	1 год	2–5 год	После 5 лет
Клиническое обследование Катехоламины мочи УЗИ/Р грудной клетки*	Каждые 6 недель	Каждые 3 мес.	Каждые 6–12 мес.
ЛДГ и НСЕ	Венозная проба крови берется при выполнении МРТ или сцинтиграфии		
МРТ**/КТ	Каждые 6 мес., если первично четко видно на УЗИ, иначе каждые 3 мес.	Каждые 12 мес.	Если все нормально стандартно не используется
Сцинтиграфия	Каждые 6 мес. до нормализации, затем нестандартно		

\* Для внутригрудных опухолей не применяется УЗИ, поэтому необходимо выполнение рентгенограммы грудной клетки.

\*\* Более частая МРТ выполняется в присутствии интраспинальной/интрафораминальной остаточной опухоли.

### ***Средняя и высокая группы риска***

Наблюдение после окончания терапевтического плана с проведением рестадирования для определения ответа на лечение.

Это рестадирование должно включать:

- Клинический статус
- Полный анализ крови
- Электролиты, функцию печени (АЛТ, АСТ, ГГТ), функцию почек (креатинин и мочевина) и свертывание.
- Опухолевые маркеры: ЛДГ, ферритин, НСЕ, катехоламины в моче (крови) ВМК и ГВК.
- МРТ/КТ вовлеченных областей
- Исследование костного мозга из разных 4-х точек, если последний результат патологический или предполагается рецидив.

С целью выявления поздних токсических эффектов важным является наблюдение и после 5 лет, после окончания комплексного лечения. Эти явления могут отмечаться в системе слуха, возникают поражения почек, вторичные опухоли и др. Исходя из вышеизложенного, строго рекомендуется наблюдение за пациентами в онкологических педиатрических клиниках.

Таблица 4. Рекомендуемые обследования для наблюдения за пациентами средней и высокой группы риска

	1 год	2-5 год	После 5 лет
Клиническое обследование Катехоламины мочи Узи / R- грудной клетки*	Каждые 6 недель	Каждые 3 месяца	Каждые 6-12 месяцев
ЛДГ и НСЕ	С каждой венозной пробой крови при выполнении МРТ или сцинтиграфии		
МРТ**/КТ	Каждые 3 месяца	Каждые 6 месяцев, если предыдущее обследование дало патологический результат	
Сцинтиграфия	Каждые 6 месяцев до нормализации, затем не стандартно		
Костный мозг из 4 точек	Каждые 6 месяцев до нормализации, затем не стандартно		
Экг/Эхо –кг Аудиометрия Почечные тесты TSH, FT3, ET4, График роста Оценка пубертата	В конце каждого года		Каждые 2 года

\* Для внутригрудных опухолей не применяется УЗИ, поэтому необходимо выполнение рентгенограммы грудной клетки.

\*\* Более частая МРТ выполняется в присутствии интраспинальной/интрафораминальной остаточной опухоли.