

А.Е. Друй^{1,2,3}, Е.В. Шориков^{1,3}, Г.А. Цаур^{1,3}, А.М. Попов^{1,3}, С.Н. Тупоногов¹,
Л.И. Савельев^{1,2,3}, С.В. Цвиренко^{1,2}, Л.Г. Фечина^{1,3}

Прогностическое значение определения поражения костного мозга у пациентов с нейробластомой на основании экспрессии генов *RHOX2B* и *TH*

¹ ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница №1»,

² ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет»,

³ ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

Метастатическое поражение костного мозга (КМ) клетками нейробластомы, выявляемое морфологическими методами, ухудшает прогноз заболевания. Для обнаружения малого количества опухолевых клеток в КМ предложены различные молекулярно-генетические методики, иммуноцитохимия и проточная цитометрия, которые обладают высокой чувствительностью. При этом прогностическое значение инфильтрации КМ опухолевыми клетками на субмикроскопическом уровне остается невыясненным. В настоящей работе в качестве маркера поражения КМ клетками нейробластомы была выбрана экспрессия генов *RHOX2B* и/или *TH*. Оценка производилась в 411 образцах КМ 75 больных нейробластомой (263 были получены при первичной диагностике, 80 — в процессе лечения и в 68 образцах КМ — перед процедурой афереза аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (АГСК)). Для определения прогностической значимости выявления экспрессии генов *RHOX2B* и/или *TH* в КМ рассчитывались показатели пятилетней (в ряде случаев четырехлетней) общей (ОВ), бессобытийной (БСВ) выживаемости и выживаемости без прогрессии опухоли (ВБП).

24 пациента (32,0%) на момент первичной диагностики нейробластомы имели экспрессию генов *RHOX2B* и/или *TH* в КМ. При этом БСВ составила $0,49 \pm 0,12$, ОВ — $0,57 \pm 0,12$, ВБП — $0,54 \pm 0,12$, что достоверно отличалось в худшую сторону от случаев с отсутствием экспрессии. В случае наличия экспрессии опухоль-ассоциированных генов в КМ тенденция к снижению выживаемости была зафиксирована и после окончания индукционной химиотерапии, а также перед проведением афереза АГСК.

Ключевые слова: нейробластома, поражение костного мозга, гены *RHOX2B*, *TH*, выживаемость

Метастазирование нейробластомы — одной из наиболее распространенных опухолей детского возраста, происходит путем гематогенной и лимфогенной диссеминации опухолевых клеток в лимфатические узлы, костный мозг (КМ), кости скелета, печень, кожу, головной мозг. При этом наличие диссеминированной опухоли значительно ухудшает прогноз заболевания [9,12]. КМ является одним из наиболее доступных для исследования объектов отдаленного метастазирования нейробластомы. В настоящее время для выявления поражения КМ наиболее широко применяется цитологическое и гистологическое исследование аспиратов и трепанобиоптатов КМ. В рутинной практике чувствительность методов, основанных на микроскопии, редко превышает 1×10^{-2} [3,7]. Поэтому во многих случаях необходимо использование более чувствительных технологий, таких как иммуноцитологическое исследование препаратов КМ, проточная цитометрия, различные варианты полимеразной цепной реакции (ПЦР). Аналитическая чувствительность при применении данных методик достигает 1×10^{-4} – 1×10^{-5} [6,7]. Использование высокочувствительных методов для диагностики поражения КМ при нейробластоме позволяет выявить опухолевые клетки в чрезвычайно низких количествах, однако, клиническая значимость подобного методического усовершенствования остается предметом дискуссий [6,13,15].

Одним из вариантов выявления поражения КМ с помощью ПЦР является обнаружение транскриптов генов, специфичных для клеток нейроэктодермальной природы [4,6,15]. Ранее нами было показано, что определение экспрессии генов *RHOX2B* и *TH* обладает оптимальными показателями критериев диагностической информативности, а общая диагностическая эффективность теста достигала 0,985 [1]. Цель настоящего исследования — оценить прогностическое значение инициального поражения КМ и наличия минимальной остаточной болезни

(МОБ) у пациентов с нейробластомой, выявляемых на основании экспрессии опухоль-ассоциированных генов.

Материал и методика

Исследование проводилось в отделе детской онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы №1 (г. Екатеринбург) в период с сентября 2005 по февраль 2013 года. В исследование включено 75 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом, включая 63 случая нейробластомы, 7 — ганглионейробластомы и 5 — ганглионевромы. Медиана возраста — 11,2 месяца (диапазон 1 неделя — 15 лет). У 34,7% (26 пациентов) была выявлена I стадия заболевания, у 5,3% (4) — II стадия, у 22,7% (17) — III стадия, у 26,7% (20) — IV стадия, 10,6% (8) — стадия IVS. Амплификация гена *MYCN* была выявлена у 14 больных. Все пациенты получали риск-адаптированную терапию по протоколу NB2004. Анализ экспрессии генов *RHOX2B* и *TH* в 411 образцах КМ осуществлялся с помощью ПЦР в режиме реального времени по методике, описанной ранее [1]. Выявляемая экспрессия гена *RHOX2B* и/или экспрессия гена *TH*, превосходящая пороговый уровень, была принята в качестве критерия наличия поражения КМ на момент первичной диагностики нейробластомы, а также персистенции опухолевых клеток в процессе терапии (наличия МОБ). Обнаружение экспрессии генов, как минимум в одном образце КМ позволяло относить данного пациента в группу больных, с инфильтрацией КМ клетками нейробластомы.

Определение прогностической значимости выявления поражения КМ и наличия МОБ с помощью молекулярных маркеров основывалось на анализе показателей 5-летней (в некоторых группах 4-летней) общей (ОВ), бессобытийной (БСВ) выживаемости и выживаемости без прогрессии или рецидива опухоли (ВБП). Для оценки прогностической значимости поражения КМ анализировались образцы, полученные на момент первичной диагностики опухоли ($n=263$). В случае если образцы, полученные при первичной диагностике, отсутствовали, а в образцах, полученных в процессе лечения, выявлялась экспрессия *RHOX2B* и/или *TH*, то пациент расценивался как имеющий поражение КМ. Если образцы, полученные в процессе лечения, были негативны, пациент исключался из исследования. Для оценки прогностической значимости наличия МОБ анализировались образцы КМ, полученные в процессе (после каждого четного блока химиотерапии, $n=80$) и после окончания индукционной терапии (6 блоков химиотерапии, $n=56$), а также перед аферезом аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (АГСК) ($n=68$) у пациентов, имеющих поражение КМ при первичной диагностике. Кроме того,

были исследованы лейкоцитарные продукты ($n=17$) после процедуры заготовки АГСК. В 13 из 17 случаев проводилась CD34+ иммуномагнитная селекция.

Выживаемость пациентов оценивалась по кривым Каплана-Майера, для сравнения кривых использовался непараметрический критерий log-rank. Медиана времени наблюдения составила 2,05 года (диапазон от 0,12 до 13,06 лет). Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы «STATISTICA 8.0».

Результаты и обсуждение

Среди 75 пациентов, включенных в исследование прогностической значимости поражения КМ, у 24 (32,0%) на момент первичной диагностики опухоли была зафиксирована экспрессия генов *RHOX2B* и/или *TH*. Из них в одном случае была выявлена экспрессия только *RHOX2B*, тогда как в остальных экспрессировались оба гена. При этом, у 23 пациентов морфологическим вариантом опухоли являлась нейробластома, у 1 — ганглионейробластома. 12 больных были младше 12 мес. Распределение по стадиям было следующим: стадия I — 2 пациента, стадия III — 3, стадия IV — 15, стадия IVS — 4 больных. Наличие поражения КМ, выявленное на основании экспрессии генов *RHOX2B* и *TH*, показало прогностическую значимость в отношении БСВ, ОВ и ВБП пациентов. В том случае, если хотя бы в одном образце КМ, полученном на момент первичной диагностики нейробластомы, определялась экспрессия генов *RHOX2B* и/или *TH*, БСВ составила $0,49 \pm 0,12$, ОВ — $0,57 \pm 0,12$, ВБП — $0,54 \pm 0,12$. При отсутствии экспрессии эти показатели были выше — $0,75 \pm 0,07$, $0,80 \pm 0,07$ и $0,77 \pm 0,07$, соответственно, $p=0,014$, $p=0,029$ и $p=0,033$ (рис. 1).

Негативное прогностическое значение выявления экспрессии генов *RHOX2B* и *TH* в КМ при первичной диагностике нейробластомы сохраняется в группах пациентов с нормальным количеством копий гена *MYCN* и в возрасте младше 12 мес. В первом случае при наличии экспрессии опухоль-ассоциированных генов по-

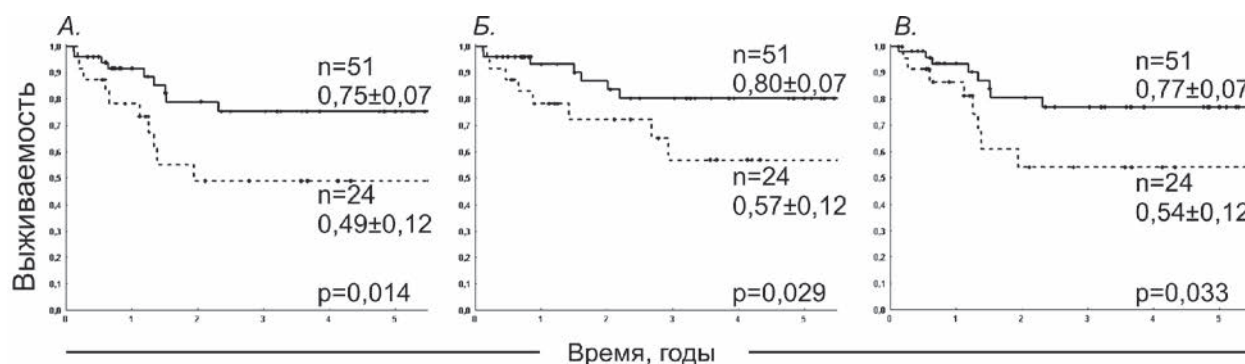


Рисунок 1. БСВ (А), ОВ (Б) и ВБП (В) пациентов с наличием экспрессии генов *RHOX2B* и/или *TH* в КМ на момент первичной диагностики (штриховая кривая) и при отсутствии экспрессии данных генов (сплошная кривая)

Примечание: расшифровку сокращений см. в тексте

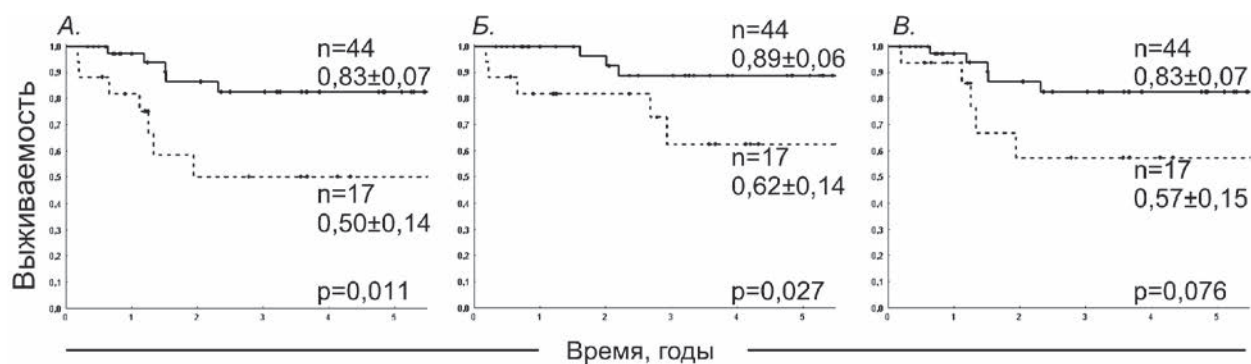


Рисунок 2. БСВ (А), ОВ (Б) и ВБП (В) больных нейробластомой без амплификации гена *MYCN* с наличием экспрессии генов *PHOX2B* и/или *TH* в КМ на момент первичной диагностики (штриховая кривая) и при отсутствии экспрессии данных генов (сплошная кривая)

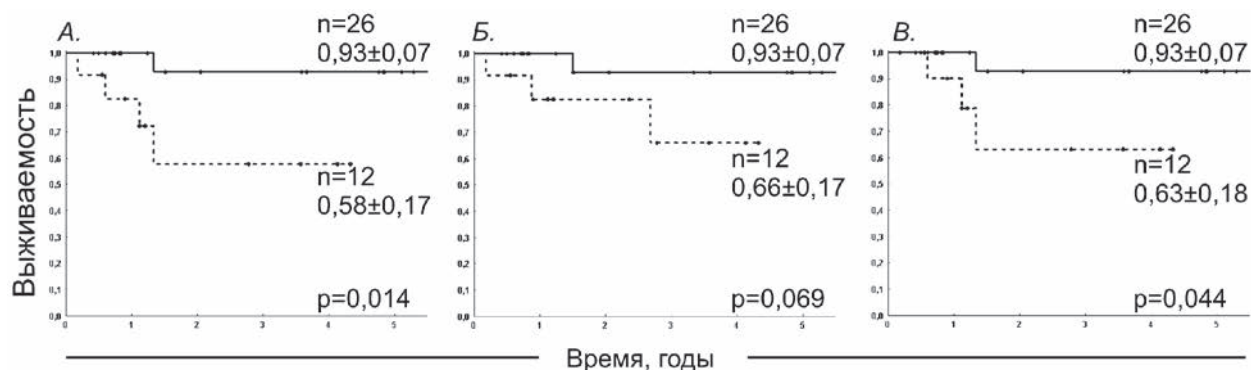


Рисунок 3. БСВ (А), ОВ (Б) и ВБП (В) больных нейробластомой в возрасте младше 12 месяцев с наличием экспрессии генов *PHOX2B* и/или *TH* в КМ на момент первичной диагностики (штриховая кривая) и при отсутствии экспрессии данных генов (сплошная кривая)

казатели БСВ, ОВ и ВБП составили $0,50 \pm 0,14$, $0,62 \pm 0,14$ и $0,57 \pm 0,15$, а при отсутствии поражения КМ, выявленного молекулярным методом, — $0,83 \pm 0,07$, $0,89 \pm 0,06$ и $0,83 \pm 0,07$ соответственно, $p=0,011$, $p=0,027$ и $p=0,076$ (рис. 2). Во втором случае при выявлении экспрессии *PHOX2B* и/или *TH* в КМ БСВ составляла $0,58 \pm 0,17$, ОВ — $0,66 \pm 0,17$, ВБП — $0,63 \pm 0,18$; если же экспрессия анализируемых генов выявлялась, все показатели выживаемости составили $0,93 \pm 0,07$, $p=0,014$, $p=0,069$ и $p=0,044$ (рис.3).

Из 24 пациентов, у которых на момент первичной диагностики нейробластомы в КМ была выявлена экспрессия генов *PHOX2B* и/или *TH*, у 13 она сохранялась в процессе лечения (по-

сле 2-го, 4-го или 6-го блока химиотерапии), а у 6 — после окончания индукционной терапии (после 6-го блока). У 4 больных не было взято образцов КМ в процессе лечения, поскольку они не подходили под критерии группы высокого риска протокола NB2004 и не получали соответствующей терапии. Данные о наличии МОБ после индукционной химиотерапии 6 пациентов также отсутствовали. Указанные пациенты не вошли в исследование прогностической значимости выявления остаточных опухолевых клеток в процессе лечения.

При анализе прогностической значимости выявления экспрессии генов *PHOX2B* и *TH* в ходе терапии не было показано его влияния на

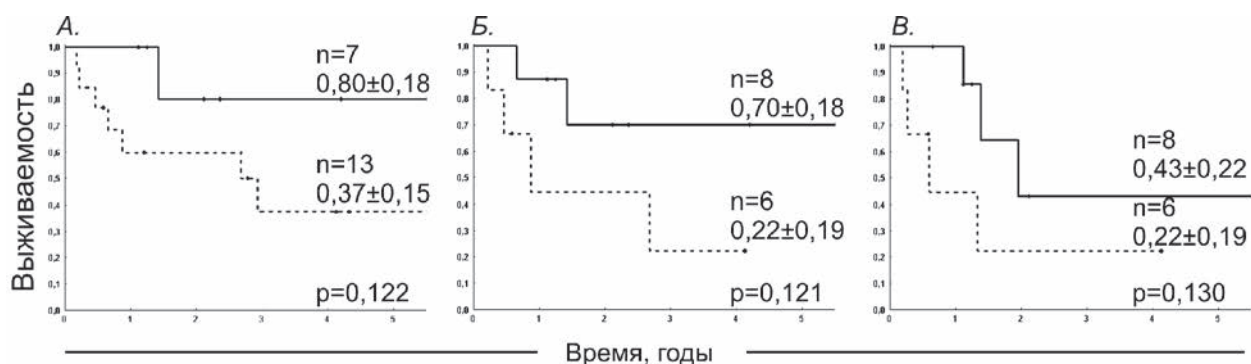


Рисунок 4. ОВ пациентов с наличием экспрессии генов *PHOX2B* и/или *TH* в КМ в процессе лечения (А) и ОВ (Б) и ВБП (В) больных с наличием экспрессии генов *PHOX2B* и/или *TH* в КМ после окончания индукционной химиотерапии (штриховая кривая) и при отсутствии экспрессии исследованных генов (сплошная кривая)

БСВ пациентов. БСВ составила $0,37 \pm 0,15$ при наличии экспрессии и $0,43 \pm 0,22$ при ее отсутствии, $p=0,386$. В то же время, была выявлена тенденция к снижению ОВ при выявлении мРНК генов *RHOX2B* и *TH* в КМ в процессе лечения – $0,37 \pm 0,15$ по сравнению с $0,80 \pm 0,18$ при отсутствии экспрессии, $p=0,122$ (рис. 4 А).

Анализ экспрессии генов *RHOX2B* и *TH* в КМ после окончания индукционной химиотерапии выявил связь с тенденцией к снижению ОВ и ВБП. При наличии экспрессии генов ОВ составила $0,22 \pm 0,19$, при ее отсутствии – $0,70 \pm 0,18$, $p=0,121$ (рис. 4 Б), ВБП достигла $0,22 \pm 0,19$ и $0,43 \pm 0,22$, соответственно, $p=0,130$ (рисунок 4, В.). Выявление мРНК опухоль-ассоциированных генов в КМ после индукционной терапии в связи с БСВ продемонстрировало $0,22 \pm 0,19$ и $0,38 \pm 0,20$, $p=0,206$.

Экспрессия генов *RHOX2B* и *TH* исследовалась также в 17 образцах АГСК для оценки возможности выявления их контаминации опухолевыми клетками. При этом экспрессия не была выявлена ни в одном случае, в том числе, при наличии экспрессии *RHOX2B* и *TH* в КМ перед проведением процедуры лейкафереза (3 пациента) и при отсутствии *CD34+* селекции (4 пациента) (рис. 5). Вместе с этим, выявление экспрессии *RHOX2B* и *TH* в КМ перед проведением лейкафереза оказалось связанным с негативными последствиями в отношении как БСВ, так и ОВ, которые в этом случае свидетельствовали о

гибели всех пациентов. При отсутствии экспрессии исследованных генов показатели БСВ и ОВ достигли $0,59 \pm 0,14$ и $0,75 \pm 0,13$, соответственно, $p=0,021$ и $p=0,016$ (рис. 6 А,Б).

В начале настоящей статьи отмечалось, что при оценке диагностической эффективности молекулярных маркеров поражения КМ было выявлено, что определение экспрессии генов *RHOX2B* и *TH* обладает наиболее высокими показателями, а в случае сочетания при диагностической панели позволяет выявлять поражение КМ в случаях сниженной экспрессии даже одного из них [1]. Это и послужило причиной выбора обоих маркеров для оценки поражения КМ.

В различных исследованиях было показано, что наличие метастазов нейробластомы в КМ, выявляемое на момент инициальной диагностики, имеет негативное прогностическое значение [8,14]. Существенно, что количество опухолевых клеток, инфильтрирующих КМ, значения не имеет, важен лишь факт наличия диссеминированной опухоли, выявляемой на субмикроскопическом уровне [16]. В настоящем исследовании были получены результаты, свидетельствующие о снижении показателей БСВ, ОВ и ВБП при наличии поражения КМ, выявленного на основании экспрессии опухоль-ассоциированных генов *RHOX2B* и *TH*. Эта зависимость сохранялась в группе больных с нормальным количеством копий гена *MYCN* и среди пациентов в возрасте

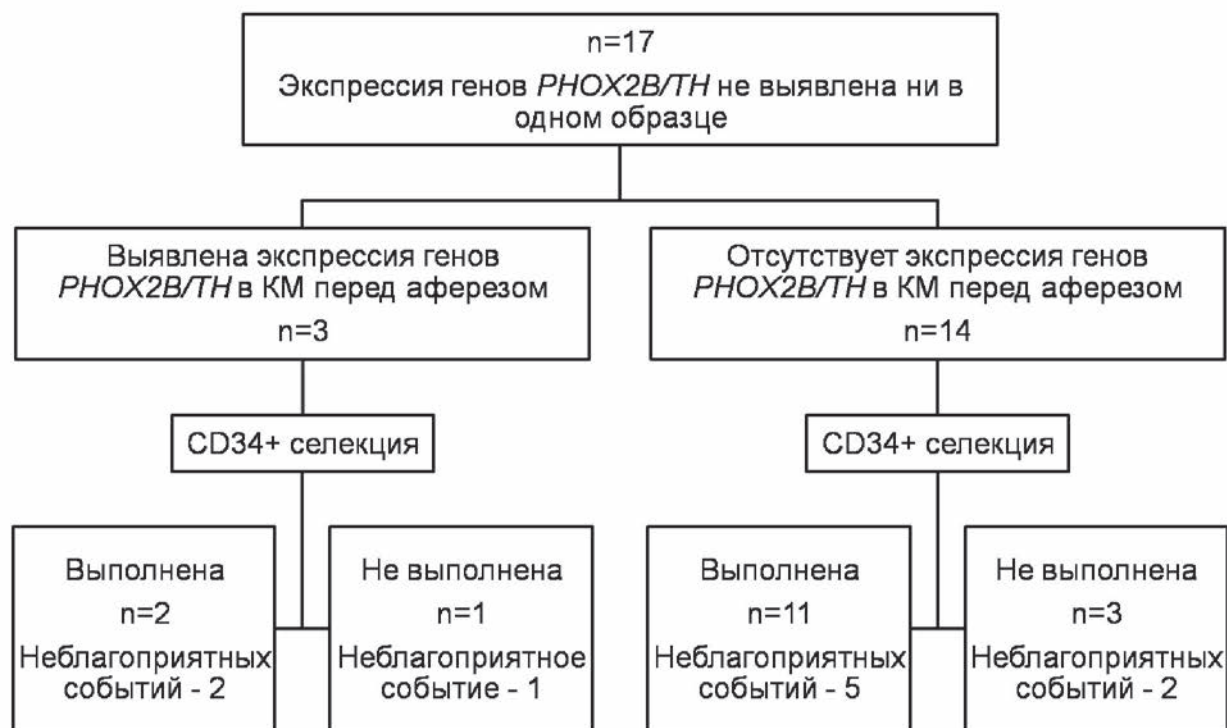


Рисунок 5. Ретроспективная оценка экспрессии генов *RHOX2B* и *TH* в препаратах АГСК и в образцах КМ перед проведением процедуры лейкафереза

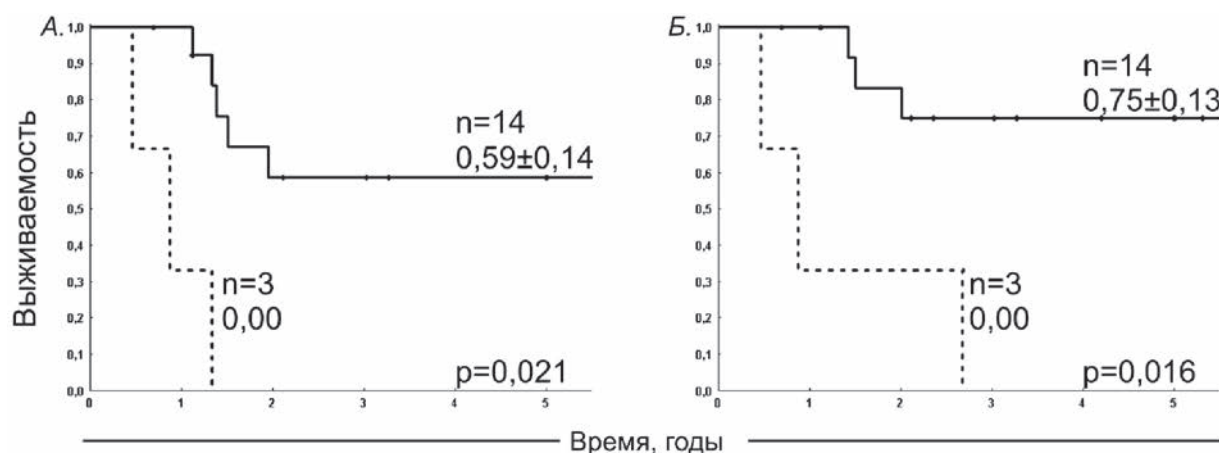


Рисунок 6. БСВ (А) и ОБ (Б) пациентов с наличием экспрессии генов *PHOX2B* и/или *TH* в КМ перед проведением лейкофереза (штриховая кривая) и при отсутствии экспрессии данных генов (сплошная кривая)

младше 12 мес., имеющих более благоприятный прогноз. Тем не менее, значение поражения КМ у пациентов с локализованной нейробластомой остается неясным. Среди пациентов с выявленной экспрессией генов *PHOX2B* и *TH* в КМ двое имели стадию I, трое – стадию III. Оба больных с I стадией и один с III попали в группу наблюдения и не получали химиотерапию. Неблагоприятных событий у них зафиксировано не было (время наблюдения составило 11, 43 и 7 месяцев, соответственно). Двое пациентов со стадией III имели амплификацию гена *MYCN* и были включены в группу высокого риска. Один из них не ответил на индукционную терапию, второй получил трансплантацию АГСК и сейчас находится в полной продолжающейся ремиссии (25 мес.).

Ранее в ряде исследований было показано, что отсутствие МОБ, или санация КМ от опухолевых клеток, на момент окончания индукционной химиотерапии связана с благоприятным прогнозом [10,12,16]. В настоящей работе пациенты, сохраняющие экспрессию опухоль-ассоциированных генов в КМ в процессе терапии, имели тенденцию к снижению ОБ, однако различия не достигали статистической значимости. В группе больных, сохраняющих МОБ после проведения индукционной химиотерапии, ОБ и ВБП имели более низкие значения, но и здесь различия не достигли уровня статистической достоверности. В то же время, наличие экспрессии генов *PHOX2B* и/или *TH* в КМ перед проведением процедуры лейкофереза значимо коррелировало со снижением показателей выживаемости пациентов после проведения высокодозной химиотерапии и трансплантации АГСК.

Большинство исследователей сходятся во мнении, что перенос опухолевых клеток при проведении трансплантации АГСК сопряжен с увеличением риска развития рецидива опухоли. Высокочувствительные методы обнаруже-

ния остаточных опухолевых клеток позволяют выявить контаминацию препарата АГСК клетками нейробластомы и избежать их реинфузии [2,5,12]. С этой целью было предложено применять выявление транскрипта гена *TH* [2,5] или GD2-позитивных клеток методом иммуноцитологии [11]. В настоящем исследовании экспрессия генов *PHOX2B* и *TH* в препаратах АГСК не была выявлена даже при наличии транскриптов в КМ перед аферезом АГСК и при отсутствии CD34+ селекции, а также при сочетании двух этих факторов у одного пациента.

Выводы

1. Обнаружение экспрессии генов *PHOX2B* и/или *TH* в КМ при первичной диагностике нейробластомы сочетается со снижением показателей выживаемости пациентов.
2. Негативное прогностическое значение экспрессии *PHOX2B* и *TH* в КМ на момент инициальной диагностики сохраняется в группах пациентов без амплификации гена *MYCN* и в возрасте младше 12 мес.
3. Наличие экспрессии генов *PHOX2B* и *TH* в КМ перед проведением афереза АГСК связано с увеличением частоты посттрансплантационных рецидивов опухоли, несмотря на отсутствие экспрессии в аутооттрансплантатах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Друй А.Е., Цаур Г.А., Попов А.М. и др. Исследование возможности определения экспрессии генов *TH*, *ELAVL4* и *GD2* для оценки поражения костного мозга у пациентов с нейробластомой // *Вопр. онкол.* – 2012. – № 4. – С. 514-520.
2. Avigad S., Feinberg-Gorenshtein G., Luria D. et al. Minimal residual disease in peripheral blood stem cell harvests from high-risk neuroblastoma patients // *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* – 2009. – Vol. 31. – P. 22-26.
3. Brodeur G.M., Pritchard J., Berthold F. et al. Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis,

- staging, and response to treatment // J. Clin. Oncol. – 1993. – Vol. 11. – P. 1466-1477.
4. Burchill S.A., Bradbury F.M., Smith B.M. et al. Neuroblastoma cell detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) for tyrosine hydroxylase mRNA // Int. J. Cancer. – 1994. – Vol. 57. – P. 671-675.
5. Burchill S.A., Kinsey S.E., Picton S. et al. Minimal residual disease at the time of peripheral blood stem cell harvest in patients with advanced neuroblastoma // Med. Pediatr. Oncol. – 2001. – Vol. 36. – P. 213-219.
6. Cheung, I.Y. Detection of microscopic neuroblastoma in marrow by histology, immunocytology, and reverse transcription-PCR of multiple molecular markers / I.Y. Cheung, D. Barber, N.K. Cheung // Clin. Cancer Res. – 1998. – Vol. 4. – P. 2801-2805.
7. Cheung I.Y., Cheung N.K.V. Quantification of marrow disease in neuroblastoma by real-time reverse transcription-PCR // Clin. Cancer Res. – 2001. – Vol. 7. – P. 1698-1705.
8. Corrias M.V., Parodi S., Haupt R. et al. Detection of GD2-positive cells in bone marrow samples and survival of patients with localised neuroblastoma // Br. J. Cancer. – 2008. – Vol. 2. – P. 263-269.
9. Cotterill S.J., Pearson A.D.J., Pritchard J. et al. Cotterill, S.J. Clinical prognostic factors in 1277 patients with neuroblastoma: results of the European Neuroblastoma Study Group 'Survey' 1982-1992 // Eur. J. Cancer. – 2000. – Vol. 36. – P. 901-908.
10. Fukuda M., Miyajima Y., Miyashita Y., Horibe K. Disease outcome may be predicted by molecular detection of minimal residual disease in bone marrow in advanced neuroblastoma: a pilot study // J. Pediatr. Hematol. Oncol. – 2001. – Vol. 1. – P. 10-13.
11. Handgretinger R., Leung W., Ihm K. et al. Tumour cell contamination of autologous stem cells grafts in high-risk neuroblastoma: the good news? // Br. J. Cancer. – 2003. – Vol. 12. – P. 1874-1877.
12. Hartmann O., Valteau-Couanet D., Vassal G. et al. Prognostic factors in metastatic neuroblastoma in patients over 1 year of age treated with high-dose chemotherapy a stem cell transplantation: a multivariate analysis in 218 patients treated in a single institution // Bone Marrow Transplant. – 1999. – Vol. 23. – P. 789-795.
13. Schumacher-Kuckelkorn R., Hero B., Ernestus K., Berthold F. Lacking immunocytological GD2 expression in neuroblastoma: report of 3 cases // Pediatr. Blood Cancer. – 2005. – Vol. 45. – P. 195-201.
14. Shono K., Tajiri T., Fujii Y., Suita S. Clinical implications of minimal disease in the bone marrow and peripheral blood in neuroblastoma // J. Pediatr. Surg. – 2000. – Vol. 35. – P. 1415-1420.
15. Stutterheim J., Gerritsen A., Zappeij-Kannegieter L. et al. PHOX2B is a novel and specific marker for minimal residual disease testing in // J. Clin. Oncol. – 2008. – Vol. 26. – P. 5443-5449.
16. Stutterheim J., Zappeij-Kannegieter L., Versteeg R. et al. The prognostic value of fast molecular response of marrow disease in patients aged over 1 year with stage 4 neuroblastoma // Eur. J. Cancer. – 2011. – Vol. 47. – P. 1193-1202.
17. Tchirkov A., Paillard C., Halle P. et al. Significance of molecular quantification of minimal residual disease in metastatic neuroblastoma // J. Hematother. Stem Cell Res. – 2003. – Vol. 12. – P. 435-442.

A.E. Drui^{1,2,3}, E.V. Shorikov^{1,3}, G.A. Tsaur^{1,3},

A.M. Popov^{1,3}, S.N. Tuponogov¹,

L.I. Saveliev^{1,2,3}, S.V. Tsvirenko^{1,2}, L.G. Fechina^{1,3}

Prognostic value of the determination of bone marrow lesion in patients with neuroblastoma based on the gene PHOX2B and TH expression

¹Regional Children's Clinical Hospital № 1

²Ural State Medical University

³Institute of Medical Cell Technologies
Ekaterinburg

Bone marrow (BM) involvement in neuroblastoma patients is commonly detected by cytomorphology and associated with poor outcome. Molecular techniques, flow cytometry and immunocytochemistry were offered to detect low number of tumor cells in BM due to high value of analytical sensitivity, while prognostic significance of results, obtained with these methods is unclear. *PHOX2B* and/or *TH* genes expression was selected as molecular marker of BM involvement. It was determined in 411 BM samples obtained from 75 neuroblastoma patients. 263 BM samples were taken at the time of primary diagnosis, 80 during treatment and 68 before autologous stem cells (ASC) apheresis. Prognostic significance of BM involvement was defined using 5-year (in some groups 4-year) overall (OS), event free (EFS) and progression free (PFS) survival. 24 patients (32.0%) were positive for *PHOX2B* and/or *TH* expression in the BM at the time of primary diagnosis. They had decreased survival rates: EFS achieved 0.49 ± 0.12 , OS – 0.57 ± 0.12 , PFS – 0.54 ± 0.12 , comparing with 0.75 ± 0.07 , 0.80 ± 0.07 and 0.77 ± 0.07 , respectively, in patients with negative BM, $p=0.014$, $p=0.029$ and $p=0.033$. The trend to decreased OS and PFS was detected in case of minimal residual disease presence at the end of the induction chemotherapy (OS and PFS both are 0.22 ± 0.19 vs. 0.70 ± 0.18 and 0.43 ± 0.22 , correspondingly, $p=0.121$, $p=0.130$). Detection of *PHOX2B* and/or *TH* genes expression in the BM before ASC harvesting led to significant decreasing of EFS and OS (0.00 vs. 0.59 ± 0.14 and 0.75 ± 0.13 , respectively, $p=0.021$ and $p=0.016$).

Key words: neuroblastoma, bone marrow involvement, *PHOX2B*, *TH*, survival

Поступила в редакцию 29.01.2014 г.