

Gaceta Médica de México

Volumen
Volume **139**

Número
Number **3**

Mayo-Junio
May-June **2003**

Artículo:

Neuroblastoma: factores pronósticos y sobrevida. Experiencia en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI y revisión de la literatura

Derechos reservados, Copyright © 2003:
Academia Nacional de Medicina de México, A.C.

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Medigraphic.com

Neuroblastoma: factores pronósticos y sobrevida. Experiencia en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI y revisión de la literatura

Enrique López-Aguilar,* Fernando Cerecedo-Díaz,* Hugo Rivera-Márquez,* Martha Valdés-Sánchez,* Ana Carolina Sepúlveda-Vildósola,** Sandra Delgado Huerta,* Herlinda Vera-Hermosillo,*** José Raúl Vázquez-Langle,**** Volkmar Wanzke del Angel*

Recepción versión modificada 01 de abril del 2002; aceptación 08 de abril del 2002

Resumen

El neuroblastoma (NB) se ha reportado como el tumor sólido extracranal más frecuente en pediatría. En México, ocupa el 8º lugar. El objetivo del presente trabajo es dar a conocer la experiencia en el Hospital de Pediatría, CMN, Siglo XXI y compararla con la reportada en la literatura. Se incluyeron los pacientes que ingresaron al hospital durante un período de 5 años sin tratamiento previo. A los estadios I, II, IVs se les administró quimioterapia con ciclofosfamida y epirubicina. A los estadios III y IV, el mismo esquema alternado con cisplatino, ifosfamida y etopósido durante 12 meses así como dosis masivas de 131-MIBG y manejo quirúrgico del residual cuando fue posible. Se incluyeron 30 pacientes, 25 con presentación inicial en abdomen. Cinco en estadio temprano y 20 (70%) en estadio avanzado con una sobrevida global de 100% y 27% a 5 años, respectivamente. Por edad 40% fueron menores de 12 meses y 60% mayores con una sobrevida de 100% y 27% en el mismo período; y por histología 91% para los diferenciados y 23% para los indiferenciados. El esquema de manejo empleado es efectivo pero no mejor que el reportado por la literatura, donde se reportan los beneficios de la inmunoterapia y el trasplante. Sin embargo se considera que los factores pronósticos más importantes siguen siendo los clínicos y los histológicos.

Summary

Neuroblastoma (NB) is the most frequent extracranial solid tumor in children according to the literature. In Mexico it is less frequent, falling to 8th place. Our objective was to analyze our experience and compare it with the one reported in other countries. We included all patients admitted to our hospital during the previous five years and who had not received any treatment. Patients with stages I, II, and IV received cyclophosphamide and epirubicin. Patients with stages III and IV received the same chemotherapy alternating with cisplatin, ifosfamide and etoposide during 12 months as well as massive doses of 131-MIBG and surgical ablation of the remaining tumor when possible. We included 30 patients, 25 with initial presentation in the abdomen. Five were in early stages and 20 (70%) were advanced with an overall survival of 100% and 27% at 5 years respectively. When analyzed by age, 40% were 12 months of age and 60% older, with survival of 100% and 27% in the same period, respectively. According to histology there was 91% survival for differentiated and 23% for undifferentiated tumors. The therapeutic regimen reported is effective but not better than that reported by other authors, in which some benefits are seen with use of transplant and immunotherapy. The most important prognostic factors are still considered to be age, stage and histology.

Palabras clave: Neuroblastoma, pronóstico, tratamiento.

Key words: Neuroblastoma, prognosis, treatment.

* Servicio de Oncología.

** Servicio de Pediatría Médica.

*** Servicio de Medicina Nuclear.

**** Servicio de Cirugía. Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Instituto Mexicano del Seguro Social. Av. Cuauhtémoc 330, col. Doctores, CP 06720. México, D.F.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Enrique López Aguilar. Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Instituto Mexicano del Seguro Social. Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, CP 06720. México, D.F.

Introducción

El neuroblastoma (NB), se ha reportado como el tumor sólido extracranal más frecuente en pediatría.¹ En México, su presentación es menos frecuente, ocupa el 8º lugar, pero el 4º sitio en mortalidad causada por las diferentes neoplasias malignas.² En el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, en un estudio prospectivo realizado de 1996 a 2000, se encontró que se presenta en el 4.8% de las neoplasias malignas (30/610) casos diagnosticados.³

El NB, se presenta en el 80% de los casos en menores de 4 años y en el 36% en menores de 12 meses. Un factor pronóstico importante es la edad de presentación. Es el único tumor maligno del cual se han reportado casos aislados de maduración espontánea aunque en México no se han observado dichos casos. Las manifestaciones clínicas dependen del sitio del tumor primario que puede originarse en cualquier lugar donde exista tejido ganglionar simpático. El más común es el abdomen en especial en glándulas suprarrenales aparece en el 40% y en ganglios paravertebrales el 25% de los casos.⁴

Se ha sugerido que la presentación en menores de 1 año parece tener un mejor pronóstico, existe correlación con estadios iniciales de la enfermedad hasta en un 40% de los casos con una sobrevida de hasta el 80%.⁵⁻⁷

En cuanto a la etiología, ésta es desconocida. Se han asociado neurofibromatosis tipo 1, Hirschsprung y el síndrome de opsoclonos mioclonos con la presentación del NB. Las exposiciones ambientales y su distribución geográfica juegan un papel importante. Alteraciones cromosómicas como la delección del brazo corto del cromosoma 1 y la amplificación del oncogen n-myc se han asociado con un peor pronóstico de la enfermedad.⁸⁻¹¹

El objetivo del presente trabajo es presentar la experiencia de 5 años en un hospital de tercer nivel de atención, una patología de la que se ha sugerido que diversos factores pueden impactar la sobrevida de los pacientes.

Material y métodos

El presente es un estudio prospectivo realizado entre el 1º de enero de 1996 y el 1º de enero del 2001 en el cual se incluyeron todos aquellos pacientes menores de 16 años ingresados a nuestro hospital y diagnosticados en el Servicio de Patología de la unidad como NB.

El diagnóstico fue realizado por cualquiera de las siguientes dos condiciones: 1) por estudio histopatológico de tejido obtenido ya sea mediante biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF) o a cielo abierto; 2) o bien un análisis de médula ósea que presente células inequívocas de NB con incremento de las catecolaminas urinarias (ácido vanilmandélico y homovanilmandélico 3 desviaciones estándar arriba de sus valores

normales). Esto, de acuerdo con los criterios internacionales para el diagnóstico de NB.¹²

Todos los pacientes fueron estadiificados de acuerdo a la clasificación de Evans¹³:

Estadio I: Tumor confinado al órgano o estructura que le origina.

Estadio II: Tumor que invade estructuras adyacentes al tejido u órgano que le origina pero sin extenderse más allá de la línea media.

Estadio III: Tumor cuya extensión rebasa la línea media.

Estadio IV: Tumor con presencia de metástasis a otros órganos.

Estadio IV: Enfermedad en lactantes, que corresponde sea un estadio I o II pero con metástasis a hígado, piel o médula ósea.

Se realizaron estudios de extensión a todos los pacientes al momento del diagnóstico incluyendo gammagrama con 131-metiodobenzilguanidina, determinación de catecolaminas urinarias, tomografía axial computarizada toracoabdominal además de estudios de laboratorio incluyendo biometría hemática completa, química sanguínea y pruebas de funcionamiento hepático a todos los pacientes. Estos últimos estudios se repitieron previo a cada curso de quimioterapia. Igualmente al momento del diagnóstico se estableció el grado de diferenciación del tumor mediante estudio histopatológico.

Se determinó igualmente al momento del diagnóstico la edad, sexo y localización del tumor primario.

El manejo de quimioterapia administrado a todos los pacientes fue el siguiente:

Para los estadios I, II, IVs: ciclofosfamida a 150 mg/m²S.C. los días 1 a 7 de cada curso + epirrubicina a 60 mg/m²S.C. día 8. Cada curso se administró cada 21 días durante 6 meses.

Para los estadios III y IV: El mismo esquema anterior pero alternando con cisplatino (50 mg/m²S.C. los días 1, 2, 3) + ifosfamida (2 g/m²S.C. los días 1, 2, 3) + etopósido (100 mg/m²S.C. los días 1, 2, 3) + MESNA (600 mg/m²S.C. cada 6 h los días 1, 2, 3) cada 3 semanas por un total de 12 meses. Para este grupo de pacientes se administraron después de 6 ciclos de quimioterapia, dosis terapéuticas de 131-metiodo benzilguanidina (150 milicuries). Igualmente se realizó valoración para manejo quirúrgico y resección de residual tumoral posterior a los 6 primeros cursos.

Se determinó la sobrevida global y libre de enfermedad para todos los pacientes de acuerdo al método actuarial,¹⁴ así como también en forma desglosada para menores y mayores de 12 meses, por estadio clínico de la enfermedad y de acuerdo al grado de diferenciación, realizándose pruebas de logaritmo del rango ("logrank") para comparar las distribuciones de supervivencia.¹⁵

Resultados

Se incluyeron un total de 30 pacientes, de los cuales 16 eran del sexo masculino y 14 del femenino para una relación M:F de 1.1:1 sin encontrarse diferencia significativa. El rango de edad fluctuó entre 1 mes y 13 años de edad con una media de 3.3 años.

12 pacientes (40%) fueron menores de 1 año de edad y 18 pacientes (60%) fueron mayores.

De los 30 pacientes, 25 (83%) tuvieron presentación inicial en abdomen: 18 en suprarrenales y 7 (23%) en cadenas paravertebrales tres (10%) en mediastino y 2 (6%) con sitio de primario desconocido. Un paciente se presentó con síndrome de opsoclonos-mioclonos asociado que tenía el tumor primario diferenciado en suprarrenal derecha, y fue catalogado como estadio II.

En estadio I no se diagnosticaron pacientes. Hubo 6 (20%) en estadio II, 21 (70%) con estadio avanzado de la enfermedad (III ó IV). Tres pacientes fueron considerados como IVs.

Con respecto a su histología, se intentó utilizar la clasificación de Shimada, la cual toma en cuenta la edad del paciente, la presencia de estroma rico o estroma pobre, el grado de diferenciación y el índice mitótico. Este último punto no pudo determinarse en los especímenes histopatológicos de los pacientes estudiados, por lo cual no pudimos utilizar dicha clasificación en forma estricta. Sin embargo (57%), fueron desfavorables por ser indiferenciados y con estroma pobre mientras que los restantes eran tumores más diferenciados y con estroma rico. Cuatro pacientes fueron diagnosticados mediante aspirado de medula ósea con presencia de células inequívocas de neuroblastoma y con elevación de catecolaminas urinarias, los restantes fueron diagnosticados mediante estudio histopatológico de espécimen obtenido mediante biopsia por aspiración con aguja fina. En ningún caso se logró de entrada la resección completa de la tumoración.

Durante el período de estudio hubo un total de 14 defunciones, todos ellos por progresión de la enfermedad sin respuesta al esquema de tratamiento establecido, o por recaídas a otros sitios sin respuesta a esquemas de tratamiento alternos.

Se presentaron 8 recaídas, de las cuales 3 fueron a cerebro, 1 a hueso, 1 a órbita, 1 al primario y 2 a médula ósea, llamando la atención que estos últimos fueron rescatados con esquema de quimioterapia con ifosfamida, carboplatino y etopósido cada 3 semanas durante 12 meses, mientras que los restantes fueron defunciones.

La sobrevida global a 5 años fue de 53% y la libre de enfermedad de 40% en el mismo período (Figura 1). Por estadios, el I, II y el IVs tuvieron una sobrevida de 100% mientras que los estadios avanzados III y IV de sólo 27% a 5 años ($p=0.05$) (Figura 2).

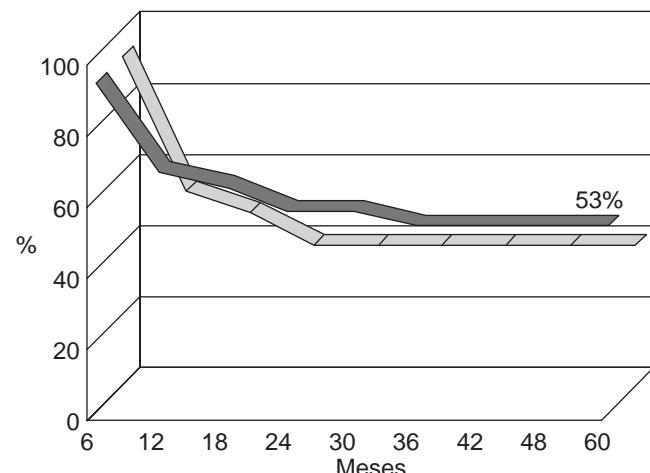


Figura 1. Sobrevida global y libre de enfermedad.

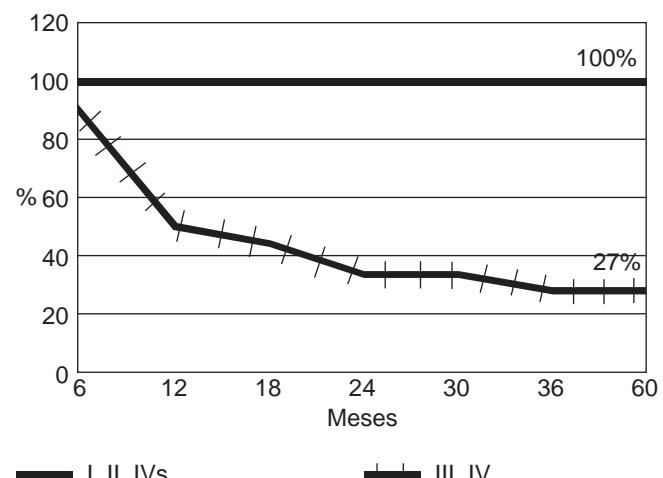


Figura 2. Sobrevida global por estadios clínicos.

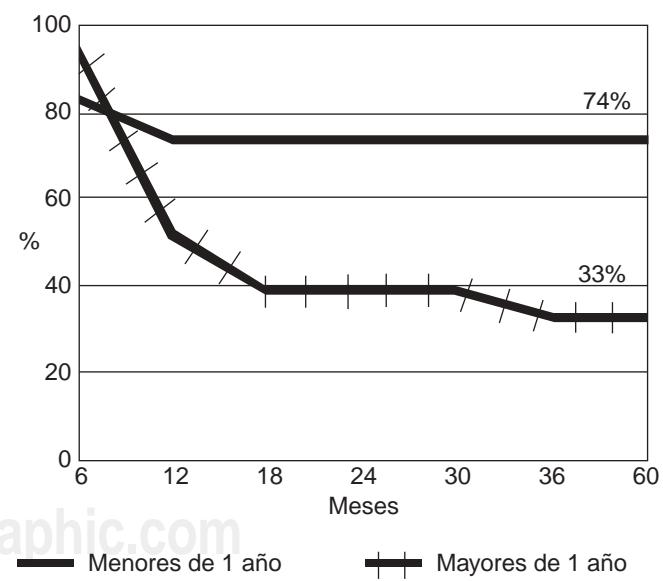


Figura 3. Sobrevida global por grupos de edad.

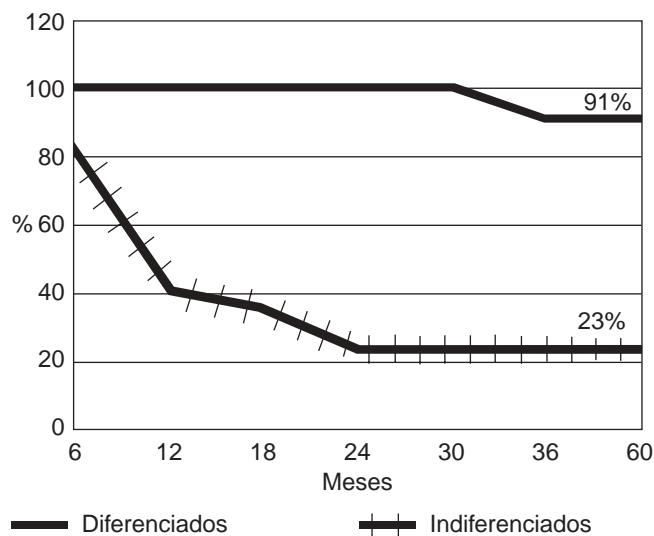


Figura 4. Sobrevida global por histología.

Por edad, sobrevivieron a 5 años el 74% de los menores de 1 año y el 33% de los mayores ($p=0.05$) (Figura 3). Y por histología sobrevivieron a 5 años 91% de los diferenciados y 23% de los indiferenciados (Figura 4).

Discusión

Es bien conocido que la edad y el estadio clínico son los mayores factores pronósticos en el paciente con neuroblastoma, situación que se corrobora en nuestros resultados. En la enfermedad localizada, la cirugía con resección completa de la tumoración se considera suficiente para el tratamiento de estos pacientes porque se ha reportado que se obtiene una alta sobrevida.^{16,17} Por otro lado, la sobrevida de los pacientes con tumor irresecable es usualmente mala, a menos que en una segunda cirugía se logre resecar totalmente la tumoración residual, en estos casos es de gran importancia la quimioterapia empleada después de la cirugía. Se han realizado varios protocolos de manejo para mejorar la sobrevida en estos pacientes, jugando un rol importante la quimioterapia neoadyuvante utilizada en los casos de grandes tumores que sólo fueron biopsiados, ó bien con enfermedad metastásica masiva.^{18,19}

Por lo anterior, se ha insistido en que la mejoría en la sobrevida de estos pacientes, con estadio avanzado de la enfermedad debe darse sobre la base de esquemas de quimioterapia con un máximo rango de respuesta inicial, y para lograr esto la quimioterapia de inducción debe lograr una rápida citorreducción mediante la utilización alterna y secuenciada de drogas que no produzcan resistencia cruzada. El esquema original OPEC (vincristina, cisplatino, etopósido y ciclofosfamida diseñado en la década de los 80 es el que ha logrado los

mejores resultados, obteniendo hasta 71% de respuesta objetiva en pacientes con estadio IV de la enfermedad.²⁰ Más recientemente las dosis de cisplatino fueron reducidas con el ánimo de disminuir la nefrotoxicidad encontrada, y entonces el carboplatino fue introducido para alternar con el cisplatino (OPEC/OJEC), encontrándose que el carboplatino era un agente activo contra el NB probablemente porque rompía la resistencia cruzada con el cisplatino se observó que algunos tumores eran sensibles al primero y resistentes al segundo. En este estudio se encontró una sobrevida a 2 años para este grupo de pacientes con estadio avanzado de la enfermedad y mayores de 1 año de 46%, sin embargo la toxicidad encontrada fue alta, sobre todo por el mayor número de pacientes que desarrollaron neutropenia y sepsis, así como episodios de sangrados y mayor requerimiento de transfusiones de hemoderivados.²¹ Pero independientemente de la toxicidad, los resultados obtenidos son mejores que los que nosotros encontramos para este grupo de pacientes que fue de 33% a 5 años tratados con el esquema secuencial utilizado no obstante nosotros creemos que dichos electos secundarios encontrados en el mencionado estudio deben considerarse para los siguientes protocolos que deberán desarrollarse en nuestra población para mejorar dicha sobrevida, tratando de aminorar la toxicidad, probablemente recatando en forma temprana a los pacientes con factores estimulantes de colonias de granulocitos e iniciando manejos antimicrobianos oportunos.

Existen también múltiples reportes del beneficio del trasplante autólogo de médula ósea para este grupo de pacientes. Al momento actual nosotros no contamos con la tecnología necesaria para realizar una buena "purga" de células madre hematopoyéticas contaminadas con células de neuroblastoma para poder ofrecer mayores posibilidades de éxito en trasplante autólogo de médula ósea en pacientes con enfermedad avanzada.

También se ha estudiado el rol de la inmunoterapia en el paciente con NB. En México no se cuenta aún con la tecnología para llevar a cabo estudios de pacientes tratados con inmunoterapia pasiva como se ha realizado con éxito en la Universidad de Alabama por el Dr. Yu,²² o como recientemente también ha realizado Kushner, tratando con buenos resultados a 16 de estos pacientes utilizando anticuerpos monoclonales anti-GD2, encontrando inclusive respuestas completas en 10 de 13 pacientes con recidiva a médula ósea.²³

Sin duda el tratamiento del NB ha sufrido diversos cambios y estrategias en el manejo en la última década con el ánimo de obtener una mejor sobrevida, misma que los pacientes con estadios avanzados de la enfermedad no han logrado. Para lo anterior se han llevado a cabo trasplantes de médula ósea, inmunoterapia y diversas formas y modalidades de tratamiento quimioterápico. En

nuestra realidad, nosotros hemos logrado con éxito los tratamientos combinados con cirugía, medicina nuclear con metaiodobenzilguanidina y la administración de agentes combinados. No obstante la sobrevida para los subgrupos de pacientes con estadio avanzado de la enfermedad, así como para aquéllos mayores de 12 meses y los que tenían por histología un tumor indiferenciado, sigue siendo muy mala, acorde a lo reportado por la literatura universal, debiendo intentarse nuevas estrategias con los recursos materiales con los que se cuentan para obtener mejores resultados, por lo que deberán incorporarse al tratamiento nuevas drogas ya probadas en este tipo de pacientes como es el caso del topotecán que ha mostrado su utilidad, pero que deberá seguirse estudiando en un mayor número de pacientes con NB para probar su beneficio.²⁴

Nosotros creemos que los nuevos protocolos de quimioterapia deben desarrollarse sobre las siguientes bases: a) La experiencia previa de los resultados obtenidos en protocolos utilizando esquemas de drogas secuenciales y sin resistencia cruzada; b) Los resultados del análisis retrospectivo obtenido posterior al empleo de dosis intensivas de ciclofosfamida doxorubicina, epipodofilotoxinas y platino durante las primeras 21 semanas posteriores al diagnóstico, conllevando mejores resultados;²⁵ c) De acuerdo a la hipótesis de Goldie-Coldman, desarrollando protocolos que produzcan una rápida citorreducción empleando combinaciones de agentes quimioterápicos sin resistencia cruzada, disminuyendo el riesgo de resistencia tumoral a drogas y el consecuente riesgo de recidivas²⁶ y d) Incorporando nuevos agentes efectivos contra líneas celulares de NB.

Por último, debe mencionarse como otro factor pronóstico muy importante a los marcadores genéticos, tanto a la hiperdiploidía a la cual se le ha asociado con estadios tempranos de la enfermedad, como a la delección del brazo corto del cromosoma 1, que es una manifestación citogenética de la presencia de la amplificación del oncogén n-Myc del cual ya se ha demostrado en múltiples publicaciones su presencia en estadios avanzados de NB con comportamiento muy agresivo.²⁷⁻²⁹

Recientemente George y col. reportan la experiencia de 231 pacientes con NB en los cuales se determinó la presencia de amplificación del oncogén N-myc en 128, encontrando que en el 83% de los casos se correlacionaba con histología desfavorable de la enfermedad según los criterios de Shimada³⁰

Recientemente se estudia el comportamiento heterogéneo del oncogén n-Myc como marcador genético ya que se ha encontrado también presente en focos microscópicos de pacientes con enfermedad localizada, lo cual apoyaría la evidencia de que el NB puede ser genéticamente una enfermedad heterogénea.³¹ A este respecto también se ha reportado la asociación con

buen pronóstico en los casos de NB con presencia de síndromes asociados como es el caso del opsoclonos mioclonos. En la revisión realizada por Rudnick, se encontró que la sobrevida obtenida en 21 pacientes con esta asociación fue de 90% vs 58% de los pacientes que no la presentaban.³²

Nosotros concluimos que los factores pronósticos clínicos e histológicos mencionados en el presente artículo siguen siendo de mayor impacto en estos pacientes. Independientemente de que mucho debe seguirse estudiando para conocer más sobre este tumor en nuestro país podemos concluir que estos factores deben ser los que normen el tratamiento a seguir en este tipo de pacientes, y que debe ahondarse más en nuevas estrategias terapéuticas para mejorar la sobrevida en estos pacientes con factores pronósticos adversos como estadios avanzados de la enfermedad, que son los que con mayor frecuencia se observan en nuestra población.

Referencias

1. Brodeur GM. Neuroblastoma and other peripheral neuroectodermal tumors. In: Fernbach DJ, Vietti TJ (eds): Clinical Pediatric Oncology, 4th. ed, p337. St Louis, Mosby Year book,1991.
2. Fajardo CA, Mejía AM, Juárez OS, Rondón ME, Martínez GC. El cáncer, un problema de salud que se incrementa en el niño. Bol Med Hosp Infant Mex 2001;58:721-741.
3. Fajardo JA, Mendoza SH, Valdez ME, Mejía AM. Frecuencia de neoplasias malignas en niños atendidos en hospitales del DF. Bol Med Hosp Inf Mex 1996;53:57-66.
4. Jerev B, Bretsky SS, Vogel R. Age and prognosis in neuroblastoma. Am J Pediatr Hematol Oncol 1984;6:233-138.
5. Evans AE, Dänwio CJ, Propert K, Anderson J. Prognostic factors in neuroblastoma. Cancer 1927;59:1853-9.
6. Breslow N, McCann B. Statistical estimation of prognosis for children with neuroblastoma. Cancer Res 1971;31:2092-2103.
7. Siegel SE, Laug WE. Initial urinary catecholamine metabolites and prognosis in neuroblastoma. Pediatrics 1978; 62:77-87.
8. Hogarty M, Maris J, White PS. Analysis of genomic imprinting at 1p35-36 in neuroblastoma. Med Pediatr Oncol 2001; 36:52-55.
9. Relationship between histopathological Features, MYCN Amplification and prognosis: A WPCCSC study. Med Pediatr Oncol 2001;36:169-176.
10. Katzenstein HM, Salwen HR, Nguyen NN. Antiangiogenic therapy inhibits human neuroblastoma Growth. Med Pediatr Oncol 2001;36:190-193.
11. Ladenstein R, Ambros IM, Potschger U, Amann G. Prognostic significance of DNA Di-Tetraploidy in neuroblastoma. Med Pediatr Oncol 2001;35:83-92.
12. Brodeur GM, Seeger RC, Barret A. International criteria for diagnosis in patients with neuroblastoma. J Clinical Oncol 1922;6:1874.
13. Evans AE, Dängio GJ, Randolph H. A proposed staging for childrens with neuroblastoma. Cancer 1971;27:374-372.

14. **Dawson DL, Trapp RG.** Bioestadística médica. En: métodos para analizar datos de supervivencia. 1990:215-25. Ed. Appleton and Lange.
15. **Sackett DL, Haynes BH.** Epidemiología clínica. Ed Panamericana 1994;255-275.
16. **Evans AE, Albo V, Dängio GJ.** Factors Influencing survival of childrens with non metastatic neuroblastoma. *Cancer* 1976;32:661-666.
17. **Le Tourneau JN, Bernard JL, Hendren WH, Carcassonne M.** Evaluation of the role of surgery in 130 patients with neuroblastoma. *J Pediatr Surg* 1985;20:244-240.
18. **Haase GM, Wong KY, De Lorimier AM.** Improvement in survival after excision of primary tumour in Stage III neuroblastoma. *J Pediatr Surg* 1989;24:194-200.
19. **Rubie H, Plantaz D, Coze C, Michon J.** Localized and unresectable neuroblastoma in infants: Excellent outcome with primary chemotherapy. *Med Pediatr Oncol* 2001; 36:247-250.
20. **Shafford E, Rogers DW, Pitchard J.** Advanced neuroblastoma: improved response using a multidrug regimen (OPEC) including sequential cisplatin and etoposido. *J Clin Oncol* 1984;2:742-747.
21. **Deborah AT, Pinkerton CR, Lewis IJ, Ellershaw C.** OPEC/OJEC for stage IV neuroblastoma in children over one year of age. *Med Pediatr Oncol*. 2001;36:239-242.
22. **Yu LA, Eskenazi D, Strother R.** A pilot study of anti-idiotype monoclonal antibody as tumor vaccine in patients with high risk neuroblastoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001;20. Abstract 1470.
23. **Kushner BH, Kramer M.** Phase II trial of 3F8 monoclonal antibody and granulocite-macrophage colony stimulating factors for neuroblastoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001;20. Abstract 1471.
24. **Kushner, Kramer K, Meyers PA, Wollner N.** Pilot study of Topotecan and high dose cyclophosphamide for resistant pediatric solid tumors. *Med Pediatr Oncol* 2000; 35:468-474.
25. **Cheung NK, Heller G.** Chemotherapy doses intensity correlates strongly with response, median survival and median progression free survival in metastatic neuroblastoma. *J Clin Oncol* 1991;9:1050-1052.
26. **Goldie JH, Coldman AH.** The somatic mutation theory of drug resistance: The "Goldie-Coldman" hypothesis revisited In: DeVita HP, editor. *Cancer. Principles and practices of Oncology* (3rd. Ed, Vol.3). Philadelphia.PA: J.B. Lippincott;1989. P1-22.
27. **Shimada H, Stram DO, Chatten J, et al.** Identifications of subsets of neuroblastoma by combined histopathologic and N-myc analysis. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1470-1476.
28. **Garvin J, Bendit I, Nisen PD.** N-myc oncogene expression and amplification in metastatic lesions of stage IV-s Neuroblastoma. *Cancer* 1990;65:2572-2575
29. **Tonini GP, Boni P, Pession A.** MYCN oncogene amplification in neuroblastoma is associated with worse prognosis. *J Clin Oncol* 1997;15:85-93.
30. **George RE, Variend E, Cullinane.** Relationship between histopathological features, MYCN amplification and prognosis. *Med Pediatr Oncol* 2001;36:169-176.
31. **Ambros PF, Ambros IM, Kerbl R, Luegmayr A, rumpler S.** Intratumoral Heterogeneity of 1p deletions and MYCN amplification in neuroblastomas. *Med Pediatr Oncol* 2001;36:1-4.
32. **Rudnick E, Khakoo Y, Antunes N, Seeger R, Brodeur G.** Opsoclonos-myoclonus-ataxia syndrome in neuroblastoma: A report from the Children Cancer Group Study. *Med Pediatr Oncol* 2001;36:612-622.