



FMUP FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2020/2021

Beatriz Vilela de Carvalho Taveira Pinto
Neuroblastoma: Experiência recente de um centro de
oncologia pediátrica/
Neuroblastoma: Recent experience of a pediatric
oncology centre

Março, 2021

FMUP

Beatriz Vilela de Carvalho Taveira Pinto

Neuroblastoma: Experiência recente de um centro

de oncologia pediátrica

Neuroblastoma: Recent experience of a pediatric

oncology centre

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Cirurgia Pediátrica

Tipologia: Dissertação

Trabalho efetuado sob a Orientação de:

Doutor José Estevão Costa

E sob a Coorientação de:

Dr.^a Maria do Bom Sucesso

Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:

Pediatric Blood & Cancer

MARÇO, 2021

Eu, BEATRIZ VILELA DE CARVALHO TAVEIRA PINTO, abaixo assinado, nº mecanográfico 201504549, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 28 / 03 / 2021

Assinatura conforme cartão de identificação:

Beatriz Taveira Pinto

NOME

BEATRIZ VILELA DE CARVALHO TAVEIRA PINTO

NÚMERO DE ESTUDANTE

201504549

E-MAIL

BEATRIZTAVEIRAPINTO@GMAIL.COM

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

CIRURGIA PEDIÁTRICA

TÍTULO DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA (riscar o que não interessa)

NEUROBLASTOMA: RECENT EXPERIENCE OF A PEDIATRIC ONCOLOGY CENTRE

ORIENTADOR

JOSÉ MANUEL ESTEVÃO DA COSTA

COORIENTADOR (se aplicável)

MARIA DO BOM SUCESSO DOS SANTOS CARDOSO

ASSINALE APENAS UMA DAS OPÇÕES:

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTES TRABALHOS APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.	☐
É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTES TRABALHOS (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.	☐
DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTES TRABALHOS.	☒

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 5/04/2021

Assinatura conforme cartão de identificação: Beatriz Taveira Pinto

DEDICATÓRIA

“Wherever the art of Medicine is loved, there is also a love for Humanity.”

Hipócrates

Aos meus pais e avós que são porto de abrigo e me apoiam em todos os meus sonhos,
Aos meus irmãos, Catarina e Francisco, que me mostram como é bom viver com leveza
e alegria,

Ao meu orientador, Professor Doutor José Estevão Costa, e à minha co-orientadora,
Doutora Maria do Bom Sucesso, por serem exemplos de profissionais que desejo um dia
poder ser,

E a todos os amigos e colegas que me apoiaram ao longo deste projeto,

Um obrigada de coração.

É bonito terminar assim, com este sentimento, o percurso de estudante de Medicina.

Beatriz Taveira Pinto

Neuroblastoma: Experiência recente de um centro de oncologia pediátrica

Neuroblastoma: Recent experience of a pediatric oncology center

Autores:

Professor Doutor José Manuel Estevão-Costa

Assistente Graduado Sênior de Cirurgia Pediátrica, CHUSJ

estevao@med.up.pt

Doutora Maria do Bom-Sucesso dos Santos Cardoso

Médica Especialista em Oncologia Pediátrica, CHUSJ

mbomsucesso@chs.min-saude.pt

Beatriz Vilela de Carvalho Taveira Pinto

Estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Medicina da universidade do Porto

up201504549@up.pt / beatriztaveirapinto@gmail.com

+351 917461717

Contagem de palavras:

Abstract – 250 words. Resumo – 249 palavras. Texto principal – 2674 palavras

Número de tabelas e figuras:

6 tabelas e 6 figuras

Keywords:

Neuroblastoma; Ganglioneuroblastoma intermix; Ganglioneuroblastoma nodular; N-myc; Tumores Neuroblásticos

Abreviações:

TN	Tumor Neuroblástico	GN	Ganglioneuroma
NB	Neuroblastoma	CS	Células de Schwann
GNBim	Ganglioneuroblastoma intermixed	TMS	Tempo médio de sobrevivência
GNBn	Ganglioneuroblastoma nodular		

Abstract

Background and purpose. Neuroblastoma (NB) is the most frequent extracranial solid tumor in pediatric age. It is included in the major group of neuroblastic tumors (NT), as well as ganglioneuromas and ganglioneuroblastomas. NT are distributed along a malignance spectrum, expressing a wide variety of characteristics. This study aimed to characterize a recent series of patients followed in a Pediatric Oncology Centre. **Methods.** Patients diagnosed with NT between the 1st of January 2010 and 31st of December 2020 were selected and evaluated regarding variables such as: demographic data, tumor characteristics, staging, and mortality. The outcome and associations with predictive variables were analyzed accordingly. **Results.** Of the 38 patients included, the median age at diagnosis was 23 [3.25;47.5] months, gender ratio (F:M) was 1.24:1 and the most common clinic presentation was the abdominal mass (28,9%). Abdominal location, stage M, very low risk, and NB were the main characteristics of this population. Age was significantly different among histology types, with a lower age being found in NB ($p=0.001$). Abdominal location was more associated with NB and stage M of NT ($p=0.068$ and $p=0.041$, respectively). Only NB showed disseminated disease ($p=0.003$). Mean global survival time was $100.1 \pm 8,9$ months. MYCN amplification was associated with lower age at diagnosis and it has influenced significantly the outcome, as well as others abnormalities ($p=0.043$ and 0.035 , respectively). **Conclusion.** The wide TN's heterogeneity was confirmed. NB and abdominal presentation were predominant. The outcome appears to be mainly influenced by MYCN amplification and presence of other genetic abnormalities.

Resumo

Fundamento e objetivos. O neuroblastoma (NB) é o tumor sólido extracraniano mais frequente na idade pediátrica. Faz parte dos tumores neuroblásticos (TN), tal como os ganglioneuromas e ganglioneuroblastomas. Os TN dispõem-se num espetro de malignidade e apresentam características tumorais muito diversificadas. O objetivo deste estudo foi caracterizar uma série recente de pacientes seguidos num Centro Oncológico Pediátrico. **Métodos.** Foram seleccionados os casos de TN diagnosticados entre 1 de janeiro de 2010 e 31 de dezembro de 2020, sendo avaliados: dados demográficos, características tumorais, estadiamento e mortalidade, e estudadas a associação entre outcome e possíveis variáveis preditivas.

Resultados. Dos 38 pacientes incluídos, 23 [3,25;47,5] meses foi a mediana da idade ao diagnóstico, o rácio entre sexo feminino e masculino foi 1,24 : 1 e a apresentação clínica mais comum foi a massa abdominal (28,9%). A localização abdominal, o estadio M, o grupo de risco muito baixo e os NB foram as características tumorais mais comuns. A idade foi significativamente diferente nos tipos histológicos, sendo menor nos NB ($p=0,001$). A localização abdominal apresentou-se com maior frequência de NB e de estadio M ($p=0,068$ e $p=0,041$, respetivamente). Apenas os NB apresentaram doença disseminada ($p= 0,003$). O tempo médio de sobrevivência global foi $100,1 \pm 8,9$ meses, sendo significativamente inferior com amplificação n-myc. Esta alteração genética, tal como outras alterações, influenciaram significativamente o outcome ($p=0,043$ e $0,035$, respetivamente). **Conclusão.** Constatou-se a heterogeneidade dos TN. Predominam o tipo histológico NB e localização abdominal. Amplificação n-myc e presença de alterações genéticas influenciaram maioritariamente o outcome.

Introdução

O NB é o tumor sólido extracraniano mais frequente na idade pediátrica, contribuindo para cerca de 15% da mortalidade por cancro pediátrico. É diagnosticado geralmente até aos 5 anos de idade, sendo a maioria esporádicos. Tem origem em células precursoras da linhagem simpaticoadrenérgica que derivam da crista neural[1, 2].

O NB é um TN, tal como os GN, ganglioneuroblastomas intermixed (GNBi) e nodular (GNBn), todos derivados de células embrionárias da crista neural, com graus diferentes de maturação e, consequentemente, de prognóstico. Os GN são tumores benignos, ao contrário dos NB e dos GNB. Diferem na predominância de estroma com células de Schwann (CS), como nos GN, ou na sua reduzida quantidade, como nos NB. Um microambiente mais rico em CS no NB correlaciona-se com maior diferenciação, menor vascularização e prognóstico mais favorável [3, 4, 5].

O NB surge nas glândulas suprarrenais ou gânglios simpáticos para-espinhais, desde a região cervical à pélvica. A sua apresentação clínica varia com a localização e presença de metástases. O diagnóstico e estadiamento baseiam-se em testes laboratoriais, imagiologia, estudo citológico e histopatologia. Para confirmação diagnóstica e definição prognóstica recorre-se à citologia aspirativa e biópsia, identificando o

tipo de tumor, grau de maturação e diferenciação, microambiente, presença de alterações cromossômicas e mutações significativas [6].

Os TN apresentam comportamento heterogêneo, podendo ser encontrados com vários espectros de apresentação clínica, de malignidade e, conseqüentemente, da terapêutica recomendada [2, 3].

O tratamento determina-se recorrendo à estratificação de risco, que depende de vários marcadores preditivos. Esta estratificação tem evoluído nas últimas décadas. Destacam-se atualizações de classificações de risco que evoluem a par com maior precisão no estadiamento. A classificação INRGSS (International Neuroblastoma Risk Group Staging System) é a mais recente, desenvolvida entre 2005-2007, e atualmente em revisão pelo COG (Children's Oncology Group). Este tipo de classificações são determinantes na acuidade diagnóstica e na uniformização do tratamento [6, 7].

O presente estudo tem como objetivo a caracterização de pacientes com tumores neuroblásticos seguidos num centro oncológico pediátrico.

Métodos

Desenho do estudo

Foi realizado um estudo observacional descritivo retrospectivo.

Participantes

O estudo avaliou pacientes com idade inferior de 18 anos, diagnóstico de TN (NB, GN ou GNB), seguidos no Serviço de Oncologia Pediátrica do Centro Hospitalar do São João, diagnosticados entre 1 de janeiro de 2010 e 31 de dezembro de 2020. Os critérios de exclusão foram a idade superior a 18 anos à data do diagnóstico ou quando o mesmo foi estabelecido fora do período do estudo.

Recolha e análise de dados

Os dados obtiveram-se pela plataforma SClinico e foram coletados e analisados a partir do IBM SPSS Statistics 26.0. Os pacientes foram avaliados relativamente às características demográficas (sexo, idade ao diagnóstico, apresentação clínica), características do tumor (localização e tipo histológico). As alterações citogenéticas, estadiamento, grupo de risco, meios complementares de diagnóstico (citologia aspirativa,

biópsia) e tipo de tratamento foram analisados em todos os incluídos, exceto num caso por ausência de dados. A localização tumoral foi dividida em abdominal ou cervicotorácica. Todos aqueles que apresentavam a totalidade ou parte do tumor primário no abdómen foram classificados como TN abdominais e aqueles cuja localização era, exclusivamente, torácica ou cervical classificaram-se como cervicotorácicos. Partindo da evolução das classificações de estadiamento e risco e para proporcionar comparabilidade na informação ao longo do seguimento, foram estabelecidas correspondências, analisando os dados por dois sistemas, INSS e INRG. A variável referente ao tipo de terapêutica instituída foi nominalmente ordenada segundo a implementação temporal de cada terapêutica. Foi realizada uma estatística descritiva para cada variável. As variáveis contínuas são apresentadas como mediana [percentil 25; percentil 75], no caso da idade ao diagnóstico, e como média (desvio padrão), no caso do tempo de seguimento; as variáveis categóricas são expressas como a frequência absoluta (n) e relativa (%). O teste de Fisher foi utilizado na comparação de variáveis categóricas, o teste de Mann-Whitney e o teste de Kruskal-Wallis para análise de variáveis contínuas e as curvas de Kaplan Meier para análise de sobrevivência. A significância estatística foi fixada para valor de p inferior a 5%.

Considerações éticas

Apenas foram analisados os dados referentes às variáveis de estudo. Não foram expressas informações potencialmente sensíveis ou que identificassem doentes ou familiares, para a manutenção da anonimização dos mesmos. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética CHUSJ/FMUP.

Resultados

Dados demográficos

Da amostra inicial de 42 crianças, 4 crianças foram excluídas do estudo, por serem casos diagnosticados antes de 2010.

Os dados demográficos relativos ao sexo, idade e apresentação clínica estão expostos na tabela 1. Os pacientes tinham uma idade mediana de 23 meses com predomínio no sexo feminino e uma apresentação clínica heterogênea. As outras manifestações clínicas que não constam na tabela 1 dizem respeito a: massas

cervical, mediastínica, pélvica ou dorsal, equimose periorbitária, dor abdominal, vômitos e diarreia e através da autópsia.

TABELA 1- Características demográficas (N=38)

Sexo	
Feminino	21 (55,3)
Masculino	17 (44,7)
Rácio F:M	1,24 : 1
Idade, meses	
Mediana	23
[P25; P75]	[3,25 ; 47,5]
Apresentação clínica	
Massa Abdominal	11 (28,9)
Sintomas Constitucionais ¹	6 (15,8)
Sintomas Respiratórios	4 (10,5)
Incidental	4 (10,5)
Outros	13 (34,2)

¹ Febre e/ou anemia

Características tumorais e estadiamento (tabela 2)

A grande maioria dos tumores apresentaram localização abdominal. O NB foi o tipo histológico mais frequente. Os pacientes com tumores cervicotorácicos, com grupo de risco muito baixo, INRG de estadio L1 e os GN apresentaram idades ao diagnóstico mais altas. Contudo, só o grupo histológico apresentou distribuição significativamente diferente, com a grande maioria dos NB a ocorrerem em idade mais baixas.

Localização primária vs tipo histológico (fig. 1) vs estadiamento (fig. 2)

Nos 7 tumores cervicotorácicos verificou-se a presença de todos os tipos histológicas com exceção dos GNBn, com prevalência de GN e NB idênticas; todos apresentavam estadio INRG L1 e L2, com predomínio do primeiro. Nos 31 tumores abdominais todos os tipos histológicos e estadios do INRG foram identificados, sendo os NB e o estadio M os mais comuns, em 77,4% e 48,4%, respetivamente. A localização abdominal tinha uma prevalência substancialmente superior de NB como tipo histológico e do estadio M como estadiamento por INRG ($p=0,068$ e $p=0,041$, respetivamente).

TABELA 2 - Características tumorais vs idade ao diagnóstico

	n, (%)	Mediana, em meses [P25; P75]	Valor de p
Localização			
Cervicotorácica	7 (18,4)	49 [0 ; 124]	0,282
Abdominal	31 (81,6)	20 [4 ; 41]	
Grupo de risco			
Muito baixo	16 (43,2)	40 [2,25 ; 83,75]	0,082
Baixo	4 (10,8)	7,5 [1,75 ; 8,75]	
Intermédio	2 (5,4)	5,5 [0 ; ^b]	
Alto	15 (40,5)	23 [14 ; 41]	
INRG			
L1	14 (37,8)	45,5 [5,75 ; 99,25]	0,155
L2	4 (10,8)	8,5 [2 ; 30,25]	
M	15 (40,8)	23 [14 ; 41]	
MS ^a	4 (10,8)	2 [0,25 ; 3,75]	
Grupos Histológicos			
GN	5 (13,2)	124 [65,5 ; 187]	0,001
GNB im	4 (10,5)	53,5 [37 ; 61]	
GNBn	2 (5,3)	25 [8 ; ^b]	
NB	27 (71,1)	11 [1 ; 24]	
Doença ^c			
Sim	12	23 [1 ; 38,75]	0,545
Não	26	21,5 [6 ; 54,25]	

^a Não foi incluído no cálculo do valor de p | ^b N demasiado pequeno para cálculo de quartis |

^c Doença no final do seguimento

Tipo histológico vs estadiamento INRG (fig. 3)

A distribuição do estadiamento INRG por tipo histológico foi significativamente diferente ($p=0,003$). A maioria dos GN apresentou-se no estadiamento L1. Nenhum dos GNBim e dos GNBn apresentou estadiamento avançado. A maioria dos NB apresentou-se no estadiamento M.

Características citogenéticas e localização (tabela 3)

Enquanto que na localização cervicotorácica apenas um de seis casos que realizou avaliação citogenética apresentou características de pior prognóstico (16,7%), nomeadamente alterações genéticas segmentares, na localização abdominal aquelas estavam presentes em 15 (48,4%) dos casos, a saber: perda do segmento 1p36 em 3 tumores, ganho do segmento 17q em 4 tumores, várias alterações segmentares foram

observadas em 2 tumores e a deleção do segmento 11 q num caso; foi verificada a amplificação n-myc em 9 casos e a diploidia do DNA num caso.

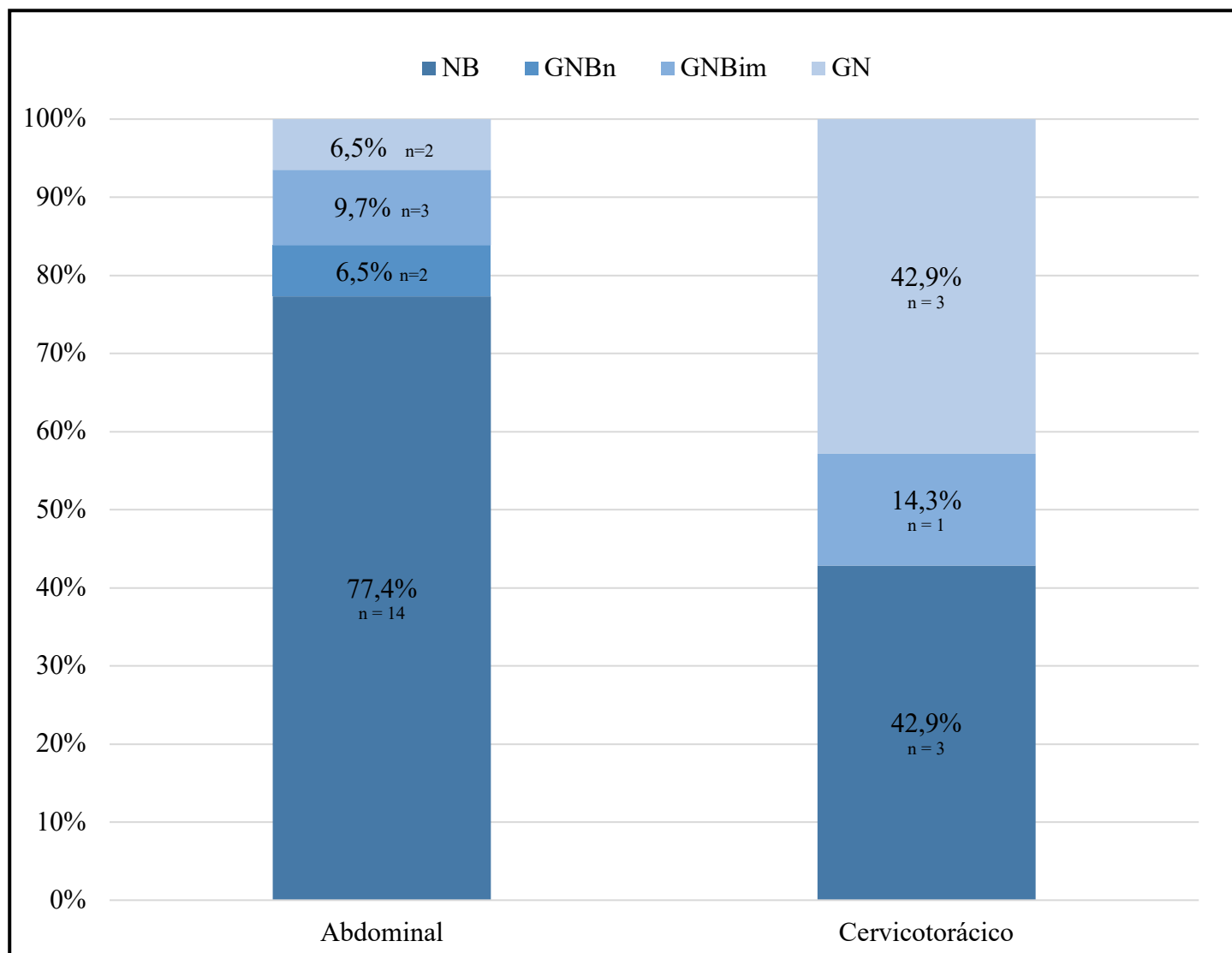


FIGURA 1 – Localização primária vs tipo histológico (p = 0,068)

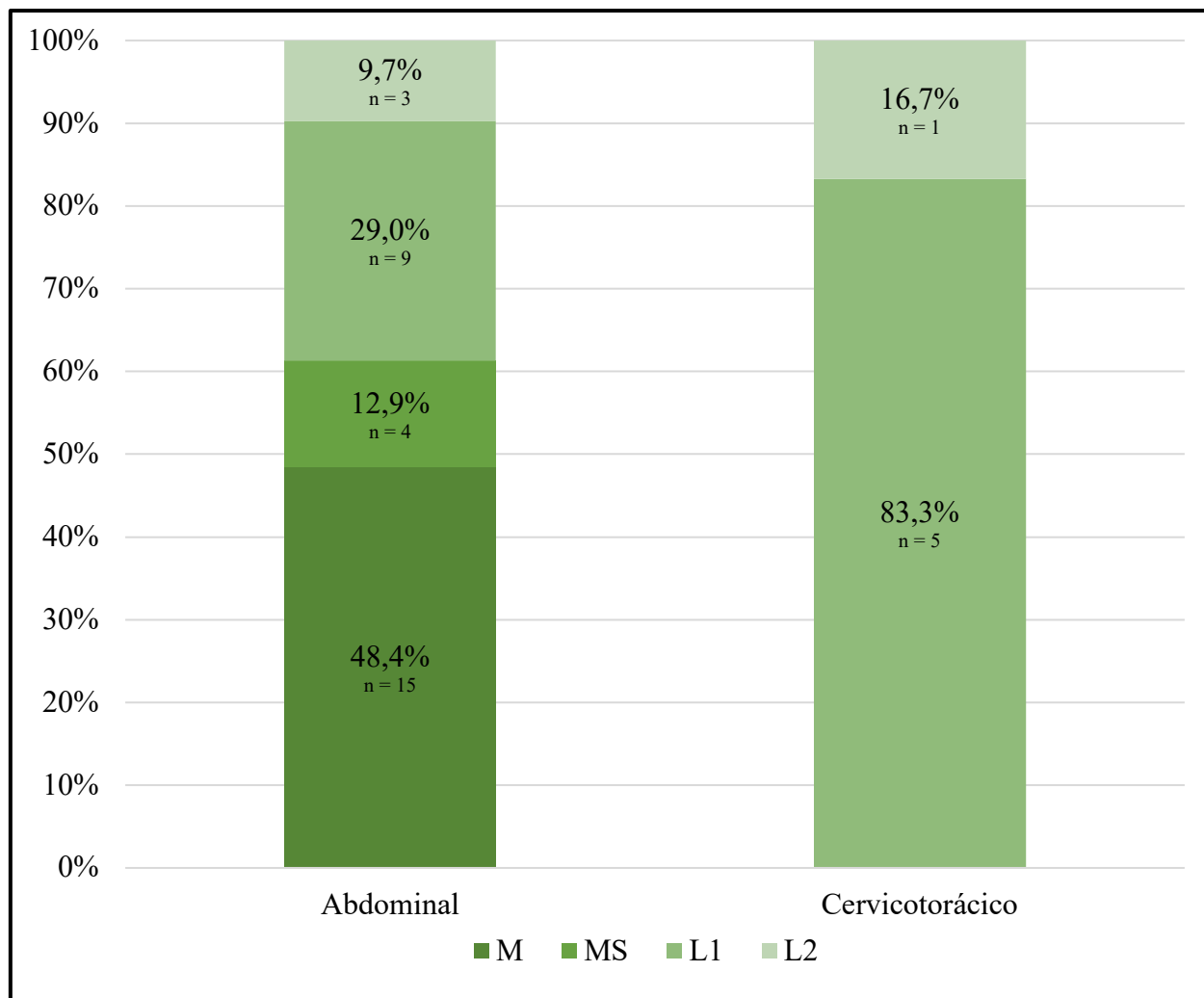


FIGURA 2 – Localização primária vs estadiamento INRG (p = 0,041)

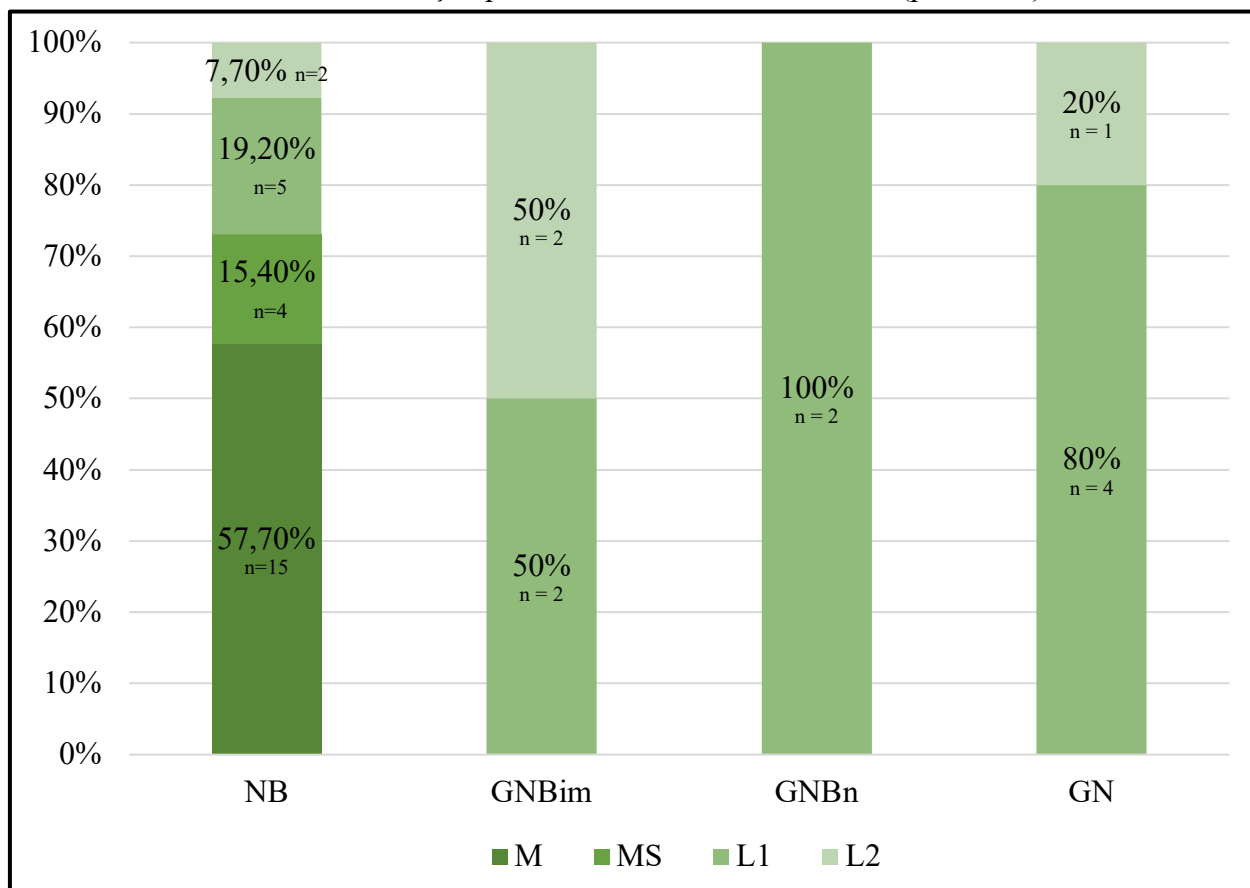


FIGURA 3 -Tipos histológicos vs estadiamento por INRG (p=0,003)

TABELA 3 - Características citogenéticas de pior prognóstico por localização

	Cervicotorácico (n=7)	Abdominal (n=31)
Sim	1 (16,7%)	15 (48,4%)
Não	5 (83,3%)	16 (51,6%)

Diagnóstico por citologia aspirativa vs por exame histológico

25 de 37 crianças (67,6%) realizaram citologia aspirativa, das quais 20 (80%) foram conclusivas. Destas, em 18 (90%) obteve-se um diagnóstico citológico coincidente com o exame histológico ulterior, ou seja, a citologia apresentou uma sensibilidade de 72%.

Modalidades terapêuticas e grupo de risco (tabela 4)

Nos casos pertencentes aos grupos de risco muito baixo, baixo e intermédio, a terapêutica restringiu-se a cirurgia e/ou quimioterapia, ou monitorização. Nos casos de alto risco, as abordagens terapêuticas foram, com a exceção de um caso submetido a QT isolada, multimodais.

Mortalidade

Global. No seguimento de 38 crianças, 30 (78,9%) sobreviveram, a maioria destes casos (70,3%) sem evidência de doença (tabela 4). O tempo médio de sobrevivência (TMS) foi de $100,1 \pm 8,9$ meses (fig. 4).

Por género. 16 das 21 crianças do sexo feminino (23,8%) e 14 das 17 crianças do sexo masculino (17,6%) encontravam-se vivas à data do estudo. O TMS foi superior no sexo masculino relativamente ao sexo feminino, $100,5 \pm 13,8$ meses vs $89,6 \pm 10,6$ meses ($p=0,704$).

Por localização. 6 das 7 crianças com tumor cervicotorácico (85,7%) e 24 das 31 crianças com tumor abdominal (77,4%) sobreviveram (tabela 6). Os pacientes com localização primária a nível abdominal apresentaram menor TMS, comparativamente com a localização cervicotorácica, $97,7$ vs $109,7$ meses (fig. 6).

Por grupo de risco pré-tratamento. Apenas houve registo de mortalidade em pacientes do grupo de alto risco (tabela 5). Nos restantes grupos de risco, 20 de 22 pacientes não apresentava evidência de doença.

Por características tumorais: grupo histológico, amplificação do oncogene n-myc e alterações genéticas (tabela 6, fig. 5). Apenas houve registo de mortalidade em pacientes com NB. Das 9 crianças com amplificação n-myc, 5 sobreviveram (55,4%). Das 22 crianças sem amplificação do gene n-myc, sobreviveram 20 (90,9%). O TMS dos pacientes com amplificação n-myc foi significativamente inferior, à do

grupo sem amplificação (59,4 vs 116,5 meses). Não houve registo de mortalidade em pacientes com ausência de alterações genéticas. Dos 3 pacientes com deleção do segmento 1p36, 1 sobreviveu (33,3%); dos 4 com ganho de 17q; 2 sobreviveram (50%); e, dos 11 com alterações numéricas, 9 sobreviveram (81,8%). A presença de alterações numéricas alterou significativamente a mortalidade ($p=0,043$ e $p=0,035$, respetivamente).

TABELA 4 - Modalidades terapêuticas e grupo de risco

	Muito baixo	Baixo	Intermédio	Alto
QT + ACE + Cirurgia + RT + TM	-	-	-	2 (13,3)
QT + IT + Cirurgia + ACE	-	-	-	1 (6,7)
QT + Cirurgia + ACE + RT + TM	-	-	-	3 (20)
QT + Cirurgia + MIBG + ACE + RT + TM	-	-	-	2 (13,3)
QT + Cirurgia + ACE + MIBG + RT + TM	-	-	-	1 (6,7)
QT + MIBG + Cirurgia + ACE	-	-	-	1 (6,7)
QT + ACE + Cirurgia	-	-	-	1 (6,7)
QT + ACE	-	-	-	1 (6,7)
QT + Cirurgia	1 (6,3)	2 (50)	1 (50)	2 (13,3)
QT	0	0	1 (50)	1 (6,7)
Cirurgia	14 (87,5)	2 (50)	0	0
Monitorização	1 (6,3)	0	0	-

Legenda: QT- quimioterapia; ACE – autotransplante de células estaminais; RT – radioterapia; TM – terapêutica de manutenção

TABELA 5 - Outcome vs grupo de risco

Outcome	Muito baixo n=16	Baixo N=4	Intermédio N=2	Alto N=15	Total N= 37
Falecido	0	0	0	7 (46,7)	7 (18,9)
Vivo, sem doença*	15 (93,8)	4 (100)	1 (50)	6 (40)	26 (70,3)
Vivo, com doença	1 (6,3)	0	1 (50)	2 (13,3)	4 (10,8)

* Assintomático, catecolaminas normais, sem evidência imagiológica do tumor

TABELA 6 - Características tumorais vs mortalidade

	n	Vivo	Falecido	Valor de p*
Localização, n (%)				
Cervicotorácica	7	6 (85,7)	1 (14,3)	0,538
Abdominal	31	24 (77,4)	7 (22,6)	
Grupo histológico, n (%)				
GN	5	5 (100,0)	-	NA ¹
GNBim	4	4 (100,0)	-	
GNBn	2	2 (100,0)	-	
NB	27	19 (70,4)	8 (29,6)	
Amplificação n-myc, n (%)				
Sim	9	5 (55,4)	4 (44,4)	0,043
Não	22	20 (90,9)	2 (9,1)	
Alterações genéticas, n (%)				
Nenhuma	10	10 (100)	-	0,035
Deleção 1p36	3	1 (33,3)	2 (66,7)	
Ganho 17q	4	2 (50,0)	2 (50,0)	
Segmentares	3	3 (100,0)	-	
Numéricas	11	9 (81,8)	2 (18,2)	
*Teste de Fisher ¹ Não aplicável				

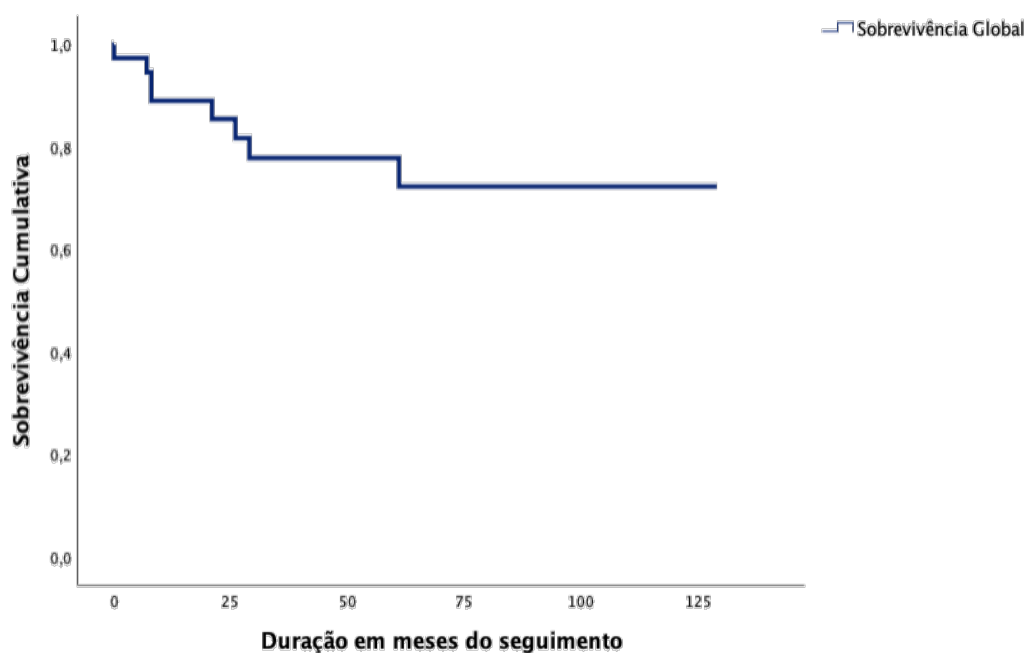
*Teste de Fisher | ¹ Não aplicável

FIGURA 2 - Sobrevivência global (100,1± 8,9 meses).

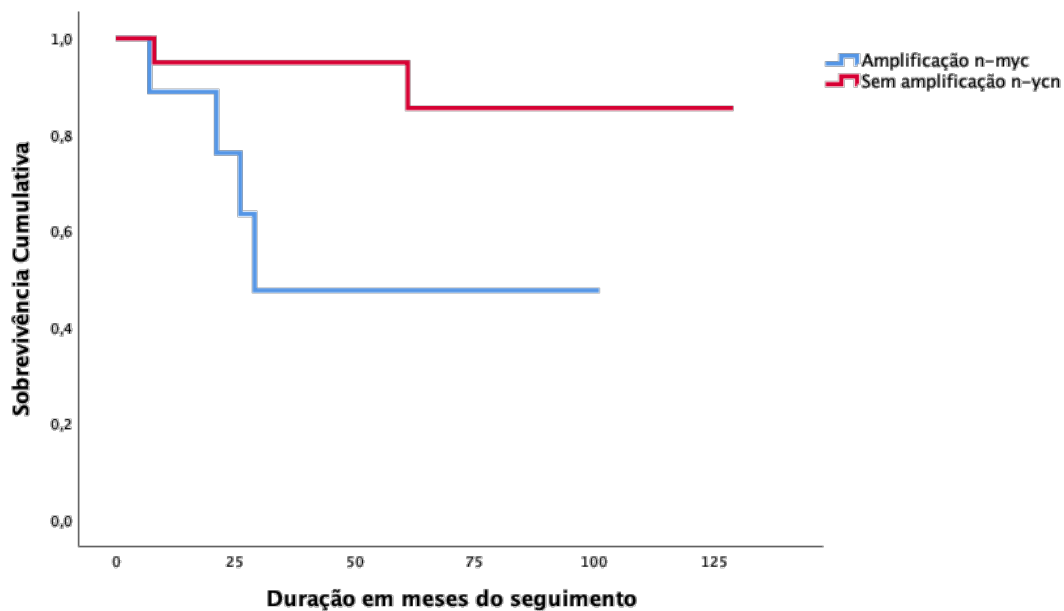


FIGURA 3 - Sobrevivência e amplificação n-myc nos pacientes do estudo. Amplificação n-myc $59,4 \pm 14,8$ meses; sem amplificação $116,5 \pm 8,3$ meses ($p=0,030$).

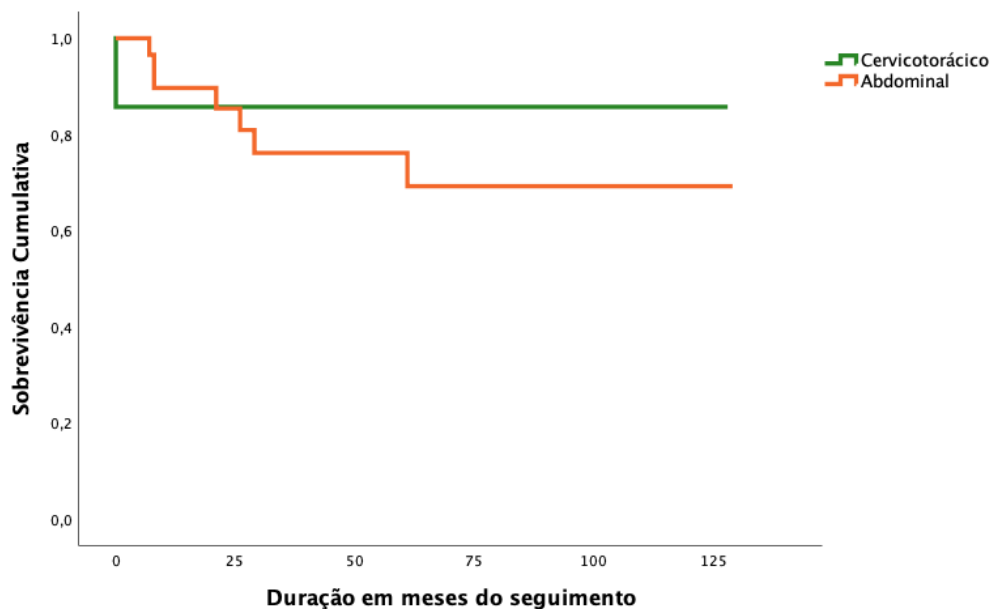


FIGURA 6 - Sobrevivência e localização primária tumoral. Localização abdominal, $97,7 \pm 10,1$ meses, e localização cervicotorácica, $109,7 \pm 16,9$ meses ($p=0,680$).

Discussão

Os tumores neuroblásticos têm sido tema central de vários estudos devido à sua elevada prevalência na área de Oncologia Pediátrica e ao padrão de comportamento tão heterogêneo [6].

Na análise dos dados demográficos, verificou-se uma maior incidência no sexo feminino, com um rácio F:M de 1,24 : 1, valores discordantes de estudos epidemiológicos prévios que indicam maior incidência no sexo masculino (1,1-1,5:1) [8]. Quanto à idade, a população em estudo apresentou uma mediana de idade ao diagnóstico de 23 meses, sendo que 75% das crianças foram diagnosticadas até aos 47,5 meses. Estes dados são coincidentes com um estudo epidemiológico norte-americano em que a média da idade foi de 18-22 meses e a maioria dos casos foram diagnosticados antes dos 5 anos. [9] Em relação à apresentação clínica, destaca-se massa abdominal indolor (28,9%), em concordância com a informação descrita e discutida em estudos epidemiológicos realizados no Egito e no Sudão e a artigos de revisão recentes. Contudo, os tumores neuroblásticos da nossa série de casos apresentaram uma extensa variabilidade de sintomas. Esta diversidade clínica implica uma alta suspeição clínica destes tumores para se obterem diagnósticos e tratamentos mais precoces. A análise das características tumorais quanto à sua localização e grupo histológico foram concordantes com artigos prévios, revelando maior frequência de uma localização primária a nível abdominal e maior incidência de NB comparativamente com outros grupos histológicos [7, 8, 9, 10, 11].

A variável idade ao diagnóstico só destaca efeito significativo para os tipos histológicos, no entanto, verificou-se uma tendência de diagnósticos mais tardios para características descritas na literatura como mais favoráveis, nomeadamente localização cervicotorácica, GN e GNB, estadio L1 e grupo de risco muito baixo. Os NB foram diagnosticados significativamente em idades mais precoces, comparativamente com os outros tumores neuroblásticos [6]. Contudo, aquando do diagnóstico histológico de NB, as idades mais avançadas são consideradas de pior prognóstico, nomeadamente após os 18 meses, tendo presente a possibilidade de regressão espontânea de NB em crianças com idade inferior a 18 meses.

Os TN incluem-se num espectro de malignidade, sendo os GN tumores benignos, mais diferenciados, e os NB tumores mais agressivos e indiferenciados. Estudos prévios referem metastização à idade de diagnóstico em 50% dos pacientes com NB. De igual modo, no presente estudo verificou-se que apenas os

NB se apresentaram com doença disseminada, sendo o estadio M o mais frequente, ao contrário dos GN e GNB com doença localizada como única apresentação, L1 e L2 [6].

A localização poderá ser um fator prognóstico importante pela associação a características com valor prognóstico independente. Assim, os NB encontram-se maioritariamente na localização abdominal, comparativamente à localização cervicotorácica, verificando-se o inverso nos GN que conferem melhor prognóstico aos tumores cervicotorácicos. A nível cervicotorácico encontram-se apenas estadios localizados, estando as doenças disseminadas associadas em absoluto à localização abdominal [6].

O pior prognóstico da localização abdominal atribui-se igualmente à maior frequência de alterações citogenéticas. Assim, aquando do diagnóstico de TN abdominal, existindo maior probabilidade de ser NB, existe maior suspeita clínica de doença metastizada e alterações citogenética de pior prognóstico.

O diagnóstico de TN pode ser realizado através de biópsia cirúrgica, biópsia por agulha ou citologia aspirativa (CA), métodos que têm sido comparados para determinação do mais seguro e custo-eficiente. A cirurgia associa-se a mais complicações, como o adiamento de QT ou eventos deletérios nos casos de NB mais avançados. A histologia obtida por biópsia de agulha ecoguiada poderá causar “efeito de sementeira” e associar-se a amostras insuficientes, embora apresente maior segurança e sensibilidade diagnóstica. A CA tem sido estudada como método de primeira linha pela simples execução, boa sensibilidade diagnóstica e custos reduzidos. Behera et al.(2020) considerara a CA método diagnóstico definitivo e de estratificação patológica, através da análise de características citomorfológicas e imunohistoquímicas por patologistas experientes. De igual modo, o Centro de Oncologia Pediátrica do HSJ colabora com um especialista em Patologia que analisa a qualidade da amostra em tempo real. Assim, no presente estudo, verificou-se que a maioria dos casos (72%) corresponderam ao diagnóstico definitivo por histologia, apoiando a hipótese de eficácia da CA como método de primeira linha no diagnóstico definitivo dos TN [12, 13, 14].

O seguimento de protocolos terapêuticos dependente da classificação de grupo de risco do COG, apresenta como objetivos otimizar taxas de sobrevivência e reduzir exposição terapêutica desnecessária. Assim, os grupos de risco muito baixo, baixo e intermédio apresentam uma terapêutica mais simples que pode consistir apenas em monitorização, cirurgia com ou sem quimioterapia (QT) associada e, em casos específicos, pode ser necessária a radioterapia (RT). Nos tumores de alto risco, o tratamento é mais extenso pela maior

agressividade e presença de características citogenéticas específicas. Divide-se em terapêuticas de: indução com QT e cirurgia; consolidação com terapia mieloablativa em série e autotransplante de células estaminais (ACE); pós-consolidação com RT e terapêutica de manutenção, ou seja, dinutuximab e isotretinoína e, embora já não seja realizado na Europa, alguns casos receberam Il-2/GMCSF. No presente estudo verificou-se uma concordância no seguimento do protocolo por parte dos profissionais do CHSJ, havendo maiores variações nas terapêuticas de alto risco. A imunoterapia foi incluída nos protocolos nos últimos anos. A introdução de MIBG terapêutico foi incluída em alguns casos deste estudo, embora a sua eficácia continue a ser estudada. De igual forma, alterações no gene ALK estão a ser analisadas nos TM alto risco para integração em terapêuticas mais dirigidas com inibidor da ALK [15, 16].

A taxa de mortalidade (TM) global da população em estudo foi 18,9%, sendo 29,6% quando restringida aos NB. As TM apresentadas em estudos prévios são semelhantes, com exceção de Youssef et al que descreve uma TM global de 60,6%, numa população com 142 casos de NB [8]. Estas evidências podem ser justificadas pela correlação entre a mortalidade e investimento na área de saúde do próprio país. Outros estudos prévios descrevem uma taxa de sobrevivência com valores mais elevados ao longo das últimas décadas, pela melhoria no estadiamento e terapêutica. Existem fatores que contribuem para maior mortalidade nos TN e, na avaliação de alguns fatores, verificou-se apenas o falecimento de crianças com alto risco e com NB. Não houve diferenças quanto ao grupo histológico ou localização, não correspondendo aos dados encontrados na literatura e sendo justificado pelo tamanho reduzido da amostra (n=38). Contudo, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas na mortalidade pela presença da amplificação de n-myc e de outras alterações genéticas, especificamente a deleção 1p36. De igual modo, TMS foi significativamente menor na presença de amplificação n-myc. Atendendo ao tamanho da amostra, estas diferenças significativas na mortalidade relativas às alterações citogenéticas demonstram o poder destas variáveis. Ou seja, condicionam pior prognóstico de forma mais relevante do que a própria localização primária tumoral.

O número reduzido de participantes permitiu, maioritariamente, conclusões descritivas, sendo necessária uma amostra maior para determinação da significância estatística. A evolução do conhecimento científico na última década dificultou a recolha retrospectiva de dados, nomeadamente no estadiamento

tumoral. Contudo, a amostra era maioritariamente homogênea na abordagem diagnóstica e terapêuticas aplicadas, permitindo uma análise e comparação dos dados mais fiável.

Conclusão

As características dos TN evidenciaram a variabilidade descrita na literatura, relativamente à apresentação clínica, localização, tipo histológico e terapêuticas. NB, estadio M e localização abdominal foram as características mais frequentes na nossa amostra. A CA apresentou uma elevada sensibilidade diagnóstica. A mortalidade parece ser mais influenciada pela presença da amplificação n-myc ou outras alterações genéticas.

Agradecimentos

Agradeço o apoio, acompanhamento e ensinamentos do meu orientador, Professor Doutor José Estevão da Costa, e da minha co-orientadora, Doutora Maria do Bom Sucesso. Agradeço a ajuda do meu colega José Pedro Barbosa na concretização da análise estatística deste artigo.

Bibliografia

1. Newman EA, Abdessalam S, Aldrink JH, et al. Update on neuroblastoma. *J Pediatr Surg*. 2019;54(3):383-389. doi:10.1016/j.jpedsurg.2018.09.004
2. Kamijo T, Nakagawara A. Molecular and genetic bases of neuroblastoma. *Int J Clin Oncol*. 2012;17(3):190-195. doi:10.1007/s10147-012-0415-7
3. Santos TA, Neuroblastoma: anjo e demónio da Oncologia Pediátrica. 2010.
4. Bunimovich YL, Keskinov AA, Shurin GV, Shurin MR. Schwann cells: a new player in the tumor microenvironment. *Cancer Immunol Immunother*. 2017;66(8):959-968. doi:10.1007/s00262-016-1929-z
5. He WG, Yan Y, Tang W, Cai R, Ren G. Clinical and biological features of neuroblastic tumors: A comparison of neuroblastoma and ganglioneuroblastoma. *Oncotarget*. 2017;8(23):37730-37739. doi:10.18632/oncotarget.17146

6. Tolbert VP, Matthay KK. Neuroblastoma: clinical and biological approach to risk stratification and treatment. *Cell Tissue Res.* 2018;372(2):195-209. doi:10.1007/s00441-018-2821-2
7. Sokol E, Desai AV. The Evolution of Risk Classification for Neuroblastoma. *Children (Basel).* 2019;6(2):27. Published 2019 Feb 11. doi:10.3390/children6020027
8. Al-Tonbary Y, Badr M, Mansour A, et al. Clinico-epidemiology of neuroblastoma in north east Egypt: A 5-year multicenter study. *Oncol Lett.* 2015;10(2):1054-1062. doi:10.3892/ol.2015.3335
9. Yan P, Qi F, Bian L, et al. Comparison of Incidence and Outcomes of Neuroblastoma in Children, Adolescents, and Adults in the United States: A Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program Population Study. *Med Sci Monit.* 2020;26:e927218. Published 2020 Nov 29. doi:10.12659/MSM.927218
10. Elhaj NOY, Nugud FA, Abuagla OA, Mohamedani AA, Haroun HM. Neuroblastoma in Sudan: experience of a single institute. *Sudan J Paediatr.* 2020;20(2):122-125. doi:10.24911/SJP.106-1570515379
11. Ahmed AA, Zhang L, Reddivalla N, Hetherington M. Neuroblastoma in children: Update on clinicopathologic and genetic prognostic factors. *Pediatr Hematol Oncol.* 2017;34(3):165-185. doi:10.1080/08880018.2017.1330375
12. Carvalho JL, Sousa R, Barroca H, Estevão-Costa J, Gil-da-Costa MJ. Fine needle aspiration cytology in Pediatrics. *Medical & Pediatric Oncology.* 2000; 35:320. IF- 2.486
13. Behera G, Chhabra G, Mishra P, Sable M. Pediatric neuroblastic tumors: A critical evaluation of cytomorphological features for risk stratification on aspiration cytology. *Diagn Cytopathol.* 2020;48(5):464-474. doi:10.1002/dc.24389
14. Carvalho JL, Gil-da-Costa MJ, Barroca H, Soares-Oliveira M, Estevão-Costa J. Noninvasive prognostic biological characterization of neuroblastoma. *Medical & Pediatric Oncology.* 2002; 39: 223. IF-2.486
15. PDQ Pediatric Treatment Editorial Board. Neuroblastoma Treatment (PDQ®): Health Professional Version. In: *PDQ Cancer Information Summaries.* Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); December 2, 2020.

16. Ladenstein R, Pötschger U, Valteau-Couanet D, et al. Investigation of the Role of Dinutuximab Beta-Based Immunotherapy in the SIOPEN High-Risk Neuroblastoma 1 Trial (HR-NBL1). *Cancers (Basel)*. 2020;12(2):309. Published 2020 Jan 28. doi:10.3390/cancers12020309

STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of *cross-sectional studies*

PRISMA Statement Checklist of items that should be included in reports of cross sectional studies			Page No
	Item No	Recommendation	
Title and abstract	1	(a) Indicate the study’s design with a commonly used term in the title or the abstract	1
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	1, 2
Introduction			
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	2, 3
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	3
Methods			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	3
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	3
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants	3
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	4
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	4
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	3, 4
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	4
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	4
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	4
		(c) Explain how missing data were addressed	
		(d) If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy	
		(e) Describe any sensitivity analyses	
Results			
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	4
		(b) Give reasons for non-participation at each stage	
		(c) Consider use of a flow diagram	
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	4, 5
		(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	5

Outcome data	15*	Report numbers of outcome events or summary measures	5, 6, 9, 10, 11, 12
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	5, 6, 7, 8, 9
		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	
		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	
Discussion			
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives	13, 14, 15
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	15
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	13, 14, 15
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	15
Other information			
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	

*Give information separately for exposed and unexposed groups.

Note: An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at www.strobe-statement.org.

Submission and Contact Information

Pediatric Blood & Cancer welcomes submitted manuscripts online at: <http://mc.manuscriptcentral.com/pbc>. Authors are encouraged to check for an existing account. If you are submitting for the first time, and you do not have an existing account, then create a new account. Once you have logged in, you will be presented with the Main Menu and a link to your Author Center. Enter your Author Center to submit your manuscript. At the end of a successful submission, a confirmation screen with manuscript number will appear and you will receive an e-mail confirming that the manuscript has been received by the journal. If this does not happen, please check your submission and/or contact the Editorial Office.

Production Office

Jennifer Chinworth

pbcprod@wiley.com

Editorial Office

Michelle Bayman

PBCeditorialoffice@wiley.com

Requirements

All manuscripts submitted to *Pediatric Blood & Cancer* must be submitted solely to this journal, may not have been published in any part or form in another publication of any type, professional or lay, and become upon publication the property of the publisher. Papers that have been previously published as meeting abstracts should include a footnote on the title page indicating the name of the presentation, meeting name and date, and publication site of the abstract. Any material reproduced or adapted from any other published or unpublished source must be duly acknowledged. It is the author's responsibility to obtain permission to reproduce copyrighted material. Upon submission of a manuscript for publication, the author will be requested to sign an agreement transferring copyright to the publisher, who reserves copyright. Material published in this journal may not be reproduced or published elsewhere without the written permission of the publisher and the author. All statements in, or omissions from, published manuscripts are the responsibility of the author who will assist the editor and publisher by reviewing proofs.

No page charges will be levied against authors or their institutions for publication in this journal.

NOTE: *Pediatric Blood & Cancer* employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.

Authorship

All authors should have contributed in a significant manner and be in agreement with all content in a manuscript. The corresponding author will take responsibility for this requirement being met.

Individuals should only be listed as authors if they have participated in both the conception and design of the study and in the data analysis or editing. All authors must explicitly approve the final draft of the paper before it is submitted. Purely technical contributions are not sufficient for authorship, but instead should be included in the acknowledgements. If the submission includes 10 or more authors, the cover letter should include justification for the extensive authorship list and reaffirm that all listed individuals meet the journal's authorship guidelines.

Statements of equal authorship contribution may be included. At least one person's name must precede a group-attributed authorship (e.g., "Tom Jones for the Meningitis Study Group").

Contributions by individuals who made direct contributions to the work but do not meet all criteria should be noted in the Acknowledgements section of the manuscript. Medical writers and industry employees can be contributors. Their roles, affiliations, and potential conflicts of interest should be included in the author list or noted in the Acknowledgments and/or Contributors section concurrent with their contribution to the work submitted. Signed statements from any medical writers or editors declaring that they have been given permission to be named as an author or as a contributor, or in the Acknowledgments section is also required. Failure to acknowledge these contributors can be considered inappropriate, which conflicts with the journal's editorial policy. For questions about authorship criteria, please consult the [ICMJE guidelines](#) and/or contact the Editorial Office prior to submitting.

English

Language

Editing

Wiley suggests that authors from non-English speaking countries have their manuscript reviewed and corrected by a native English speaker or by Wiley's English Language Services (<http://wileyeditingservices.com/en/>) before submission.

Please note that while this service will greatly improve the readability of your paper, it does not guarantee acceptance of your paper by the journal.

DISCLOSURE STATEMENT. All authors must disclose in a statement following Acknowledgments under the title, "Conflict of Interest Statement," any affiliations that they consider to be relevant and important with any organization that to any author's knowledge has a direct interest, particularly a financial interest, in the subject matter discussed. Such affiliations include, but are not limited to, employment by an industrial concern, ownership of stock, membership on a standing advisory council or committee, a seat on the board of directors, or being publicly associated with a company or its products. Other areas of real or perceived conflict of interest would include receiving honoraria or consulting fees or receiving grants or funds from such corporations or individuals representing such corporations. This requirement will apply to every sort of article submitted to the Journal, including original research, reviews, editorials, letters to the editor, and any others, and should be disclosed at the time of submission. The simplest remedy for conflict of interest is disclosure. It will not influence the editorial decision to accept or reject the manuscript. When an article is accepted for publication, the editors will discuss with the authors the manner in which such information is to be presented if additional questions arise.

ELocators

This journal now uses eLocators. For more information, please visit the Author Services eLocator page [here](#).

I. INSTRUCTIONS TO AUTHORS

COVER LETTER. The online submission program requires an author cover letter. Please note that the cover letter should:

- Be addressed to the journal's Editor-in-Chief;
- State what significant, new information the submission provides from that previously published in medical literature;
- Contain the manuscript title and all author names;
- Provide a brief summary of the findings and why they are important and appropriate for PBC;
- State what manuscript classification it fits, i.e., Research Article, Brief Report, etc;
- State that the manuscript has not been submitted elsewhere nor previously published;
- State any conflicts of interest;
- List names of 3 potential reviewers who: a) are experts in the field, b) are not from the authors' institutions, and c) have no other conflicts of interest;
- State who and why any colleagues should not be asked to review, if applicable;
- State that all authors have contributed to the manuscript in significant ways, have reviewed and agreed upon the manuscript content.

FILE ORDER. When uploading the files into the ScholarOne Manuscript Central system, please order the files as follows:

1. Text file -Word file (.doc) should be 8.5 x 11 inches with at least 1 inch margins on all sides
2. Table files - Each table should be uploaded in a separate Word file in numerical order
3. Figure files - Each figure should be uploaded as a separate TIF, EPS, PNG, or PDF file following in numerical order. Do not upload individual panels as separate files (e.g., "Figure 1a.tif" and "Figure 1b.tif").
4. Supporting Information files - Please note that Supporting Information files will be published in the exact format provided at submission. These files must be clearly identified as "Supporting Information" at the top of the first page.
5. For Revised and Resubmitted Manuscripts, Responses to Review Comments should be included in the "View and Respond to Decision Letter" field of the online submission system.

TITLE PAGE

- The complete title of the manuscript;

- The complete affiliations of all authors;
- The name, address, phone, fax and email contact for the corresponding author;
- Word Count for:
 - a) Abstract (if applicable) and
 - b) Main Text (excludes title page, abstract, Conflicts of Interest, Acknowledgments, References, Tables, Figures, and Legends);
- The number of Tables, Figures, and Supporting Information files;
- A short running title (not to exceed 50 characters);
- Three to six keywords to index the content.
- An abbreviations key in a table. This should just be a two-column list, with the abbreviation on the left, and the full term or phrase on the right. ALL abbreviations used in the manuscript should appear in this table. (Though abbreviations that are only used in a Table can simply be defined with footnotes.)
- Papers that have been previously published as meeting abstracts should include a footnote on the title page indicating the name of the presentation, meeting name and date, and publication site of the abstract.

ABSTRACTS

- Abstracts should be included in the online submission form and in the manuscript file.
- Please do not include material in the Abstract that is not described in the main manuscript.
- See Article Types listing for specific formatting guidelines.

MAIN TEXT

- Double spaced with consecutive line numbering
- Font should 12pt in size, Times New Roman or Arial
- Order of elements: Title Page, Abstract, Introduction, Methods, Results, Discussion, Conflict of Interest statement, Acknowledgements, References, Legends
- ETHICS STATEMENT:** If photographs include human subjects, the author must include an Ethics Statement in the main manuscript text, where appropriate. This statement should affirm that informed consent has been properly documented. When possible, any identifiers in the image (such as facial features or patient ID numbers) should be obscured prior to review.
- Use subheadings and paragraph titles whenever possible. Note, however, that the Discussion section should not have separate subsections. Subheadings should not be underlined or be followed by punctuation.
- Numbered or bulleted lists should be used in the manuscript text only when necessary. PBC prefers that lists be rewritten in paragraph form if possible.
- See Journal Style section for further PBC style preferences.

REFERENCES

AMA – American Medical Association

References: All references should be numbered consecutively in order of appearance and should be as complete as possible. In text citations should cite references in consecutive order using Arabic superscript numerals. Sample references follow:

Journal article:

1. King VM, Armstrong DM, Apps R, Trott JR. Numerical aspects of pontine, lateral reticular, and inferior olivary projections to two paravermal cortical zones of the cat cerebellum. *J Comp Neurol* 1998;390:537-551.

Book:

2. Voet D, Voet JG. *Biochemistry*. New York: John Wiley & Sons; 1990. 1223 p.

Please note that journal title abbreviations should conform to the practices of Chemical Abstracts.

For more information about AMA reference style, please see the [New York Medical College Library's FAQs](#) on a variety of reference types, or the official [AMA Manual of Style](#).

--Authors are responsible for the accuracy of references.

The EndNote style file for PBC is no longer updated or supported (<http://authorservices.wiley.com/jendnotes/#p>).

--All references must be cited whether in text, figures or tables.

--Include the complete title of the article and inclusive page numbers.

--Articles accepted for publication and published on-line should be referenced like a journal article, except that the DOI (digital object identifier) and the date of prepublication should supplant the year, volume number, and page numbers. The cited article must be accessible to readers.

--Published abstracts may be cited in the references.

--Unpublished data and personal communications should not be listed as references.

TABLES

--Number tables consecutively with Arabic numerals.

--Do not include multi-part Tables (e.g., Table 1a, 1b, and 1c).

--The table number and title should be placed **above** the table.

Correct Example: TABLE 1 Graph demonstrating results

Incorrect Example: Table 1: Graph Demonstrating Results

--Abbreviations should be in footnotes beneath the table. Abbreviations should be in paragraph form and footnotes should be a vertical list.

--Any bold font in the table needs to be defined with a footnote.

--Tables should be limited to 1-2 pages in a Word file, preferably in portrait orientation. Overly long tables should likely be reformatted as Supporting Information material

FIGURES

--There is no charge to authors for color figures. Please use color for emphasis and clarity, but avoid use of unnecessary and background colors or shading.

--Figures should be numbered using Arabic numerals, i.e., Figure 1, Figure 2, etc., and cited in the manuscript as (Fig. 1), (Figs. 3A and 3B), etc. Do not include a label ("Figure X") in the image itself.

--The figure number and legend should be included in BOTH:

- a) The legend list at the **end** of the manuscript AND
- b) The Description field of the online submission form for that file.

--Figures and text within a figure should not be surrounded by boxed lines. Crop extra white space from around images. Do not include legend text in the figure files.

--Label each panel with a **capital letter in the upper left corner**

--Panels should be labeled as A and B (not A. or A- or A)).

--Presentation of growth charts may be facilitated by utilizing tools such as those listed below:

- a) <http://www.seattlechildrens.org/about/community-benefit/obesity-program/excel-based-clinical-tools-assist-growth-charts/>
- b) <http://www.who.int/childgrowth/software/en/>
- c) <https://itunes.apple.com/us/app/pediatric-growth-charts-by/id617601789?mt=8>

--Upload figures as individual TIF, EPS, or PNG files. High resolution PDF files may also be uploaded.

--Upload composite figures (with multiple panels) as one file. Do not upload separate panel files for a single figure.

--The journal requires a minimum resolution of 300dpi for all figures.

- 1200 DPI/PPI for black and white images, such as line drawings or graphs
- 300 DPI/PPI for picture-only photographs
- 600 DPI/PPI for photographs containing pictures and line elements, i.e., text labels, thin lines, arrows

--Figures must be legible at 100% zoom in the file itself. We recommend that all text in figures be at least 6pt.

--Arrows should be included in radiographs or histology figures to point out areas of interest described in the figure legends below the figures.

--Please ensure that all axes are labeled clearly and in accordance with the journal's requirements for numbering. Place zeroes before decimals. Separate digits with a space, not a comma, to indicate place values beyond thousands. For example: 5034 but 12 345.

--Any axis in a given figure must have a centered label. Note that numbers on the y-axis should be oriented to read left to right. For example:

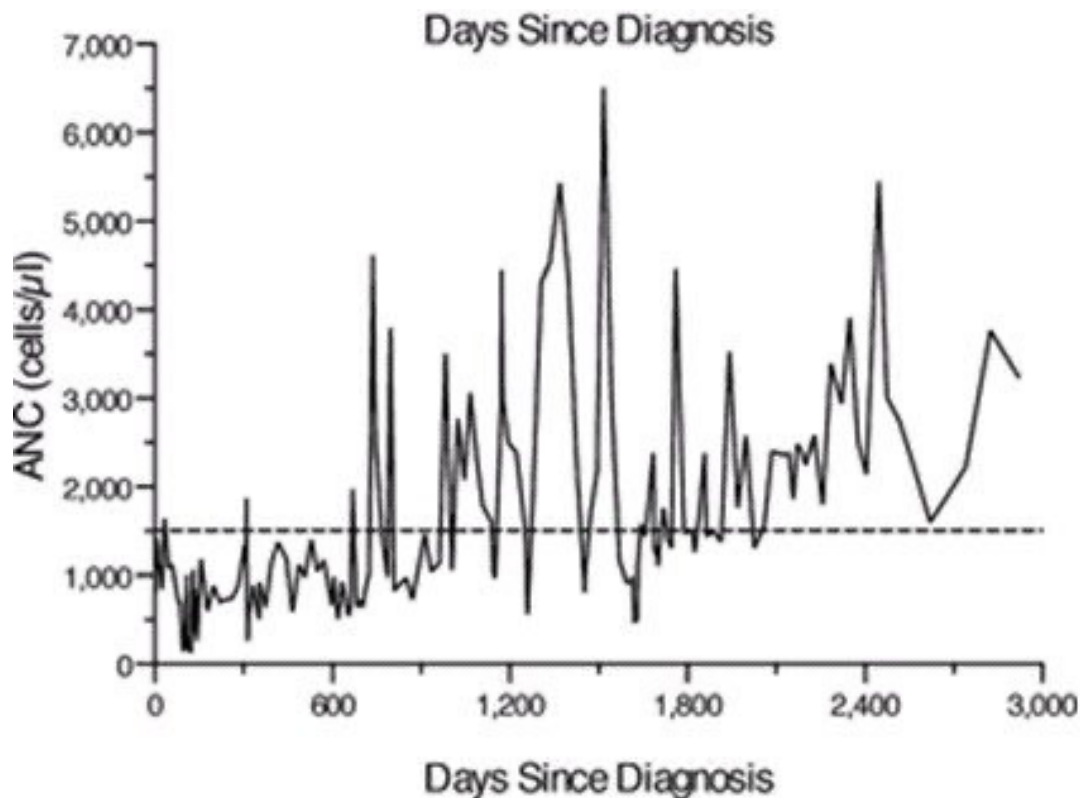


FIGURE 1 Platelet count and absolute neutrophil count (ANC) versus time since diagnosis. Treatment courses are indicated at top with doses as described in Table 1: Vbl, vinblastine; Pred, prednisone; Ritux, rituximab; MP, mercaptopurine. IVIg = short course intravenous immunoglobulin 1 g/kg/day for 2 days, given for immune thrombocytopenia.

Image from: Cooper, S. L., Arceci, R. J., Gamper, C. J., Teachey, D. T. and Schafer, E. S. (2015), Successful Treatment of Recurrent Autoimmune Cytopenias in the Context of Sinus Histiocytosis With Massive Lymphadenopathy Using Sirolimus. Pediatr. Blood Cancer. doi: 10.1002/pbc.25770

SUPPORTING INFORMATION MATERIAL

--Supporting Information will be published as submitted and will not be corrected or checked for scientific content, typographical errors or functionality. The responsibility for scientific accuracy and file functionality remains entirely with the authors. A disclaimer will be displayed to this effect with any Supporting Information published.

--Supporting Information should always be provided in its final format, as it will not be copyedited or changed from its original format. It will not be available for review prior to publication.

--Upload these files as either "Supporting Information for Review" or "Supporting Information NOT for Review," as appropriate.

--For each individually uploaded Supporting Information file, a corresponding legend must be included in the manuscript file.

- Supporting tables or figures should be cited within the text as Supplemental Table S1, S2, etc. and Supplemental Figure S1, S2, etc.. They are readily accessible to readers online.
- Tables may be uploaded as Word or Excel files, in either portrait and landscape orientation. There is no limitation on table length in Supporting Information.

SPECIFIC JOURNAL STYLE GUIDELINES

- Either American or British style is acceptable. *American*: use Merriam-Webster's; *British*: Oxford Shorter Dictionary.
- The statement 'data not shown' is not allowed within the manuscript text as readers cannot evaluate if the data are not shown. Such information should either be included in the manuscript or provided as a Supporting Information for Review file.
- Please do not use slang expressions, such as "On the other hand".
- Avoid statements such as "This is the first study..." and "To our knowledge..." and "this is the largest." These expressions are not meaningful.

>>Name Formatting

- Disease names should be written without apostrophes, as follows: Wilms tumor, Burkitt lymphoma, Hodgkin disease, Ewing sarcoma.
- Abbreviations should be defined on first usage, then using of abbreviation alone is acceptable: e.g., Wilms Tumor (WT), then referred to as WT in subsequent mention, without quotation marks.
- Abbreviations should follow the guidelines in the CBE Style Manual, 5th Edition (available from the Council of Biology Editors, Inc., One Illinois Center, Suite 200, 111 East Wacker Drive, Chicago, IL60601-4298).
- Gene and protein designations should be written in the international style approved by the HUGO Gene Nomenclature Committee at <http://www.genenames.org/guidelines.html>
- Use uncapitalized generic names (e.g., cyclophosphamide) for all drugs and pharmaceutical preparations.
- Trade names (capitalized) for appliances, etc., may be used in the Methods section, and the manufacturers identified by name.
- Use of 'girl' and 'boy' should instead be 'male' and 'female'.

>>Human Subjects

- Please do not refer to patients by their diseases, e.g. "Wilms tumor patients" or "ALL patients." Instead, identify them as "patients with Wilms tumor" and "patients with ALL."
- Patients should be referred to only by subject numbers and not with names, initials, or other potentially identifying characters.
- Manuscripts reporting the results of experimental investigations on human subjects must include a statement to the effect that procedures had received official institutional approval.
- There should be no dates in the text or on radiographs as these are potential patient identifiers.

>>Numbers

- All measurements must be in metric units.
- Decimal numbers should have a zero preceding the decimal point (e.g., 0.95g).
- Decimal points should be periods and not commas.
- Do not begin sentences with a number. For example, it should be “Three patients...” instead of “3 patients...”
- Separate digits with a space, not a comma, to indicate place values beyond thousands. For example: 5034 but 12 345.
- P values should not be zero but refer to a number (e.g., $p < 0.0001$ not $p = 0.0000$).

II. ARTICLE TYPES

Submission Type	Description	Abstract	Word count**	References	Maximum # of Primary Figures and Tables*** (Combined)
Research Articles	Articles should represent original and in-depth studies involving any aspect of clinical or laboratory investigation. Please note that systematic reviews and meta-analyses should be pre-approved and submitted as Reviews.	250 words Structured*	3,500 words	as needed	6
Brief Reports	Brief reports may include descriptions of single or several patients that demonstrate novel findings or add in a significant way to current knowledge. Brief reports may also include novel laboratory observations relating to clinical questions or advances in laboratory methodologies. Brief reports should include the following sections: Introduction, Results (including Methods or Case Descriptions), and Discussion. The Methods may either be presented in a separate section or incorporated into the results, depending on length and complexity.	100 words Unstructured	1,200 words	as needed	2
Critical Reviews	Reviews of important and timely subjects can be invited through the Editorial Board or submitted after a brief introduction to the Editor-in-Chief. Authors should consult the editor prior to submission by e-mailing PBCEditorialoffice@wiley.com . The inquiry should include the authors' names and affiliations, subject matter of the	150 words Unstructured	3,500 words	as needed	6 Illustrations and tables should be used only

	review, and rationale for publication in PB&C. Reviews should focus on the critical aspects of a subject, linking what is known to what areas remain controversial or unanswered. Systematic reviews and meta-analyses must adhere to the guidelines provided by the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses report (PRISMA Statement). Historical accounts of important events relating to pediatric hematology/oncology are also acceptable. Requests for permission to submit manuscripts of greater length should be emailed to the Editor-in-Chief prior to submission.				to provide summaries or a synthesis of ideas and/or data not included in the text.
How Approach	These articles may be submitted only at the invitation of the Editors. These articles, written by authorities in the field, address approaches to diagnosis or treatment of pediatric blood disorders or cancers that lack sufficient high-quality data for a Clinical Practice Guideline and do not have available consensus statements. The articles should incorporate the latest scientific and clinical basis for clinically relevant recommendations by an experienced and respected expert on the disease process, with one or two co-authors if necessary.	100 words Unstructured	3,500 words	as needed	6 Illustrations and tables should be used only to provide summaries or a synthesis of ideas and/or data not included in the text.
Highlights	Highlights are submitted only at the invitation of the Editors. These will summarize findings from one or more recently accepted papers and put them into perspective in terms of past work and future challenges. Controversial areas should be included.	N/A	1,000 words	as needed	A single original figure or table that summarizes the content or text of the paper(s) is encouraged but not required.
Commentaries	Commentaries are usually invited but may be submitted independently after consultation with the Editor-in-Chief. Commentaries should focus on a controversial subject or a timely topic of relevance to the journal's readership.	N/A	1,200 words	as needed	Include only if they highlight or clarify points

	Commentaries will be reviewed and may require changes or be rejected.				made in the text.
Correspondence and Letters	Letters to the Editor should usually be in reference to previously published manuscripts in Pediatric Blood and Cancer. Correspondence relating to important and timely publications or topics from other sources and brief descriptions of interesting laboratory or clinical observations may also be appropriate. Letters to the editor that provide an initial comment on a published article should be titled: "Comment on: [Title of article being commented upon]" The authors may add a subtitle if they wish to make a specific point. The authors' reply should be titled: "Reply to: Comment on: [Title of article being commented upon]"	N/A	500 words	as needed	1 Illustrations or tables should only be included when absolutely necessary.
On Children, Blood, and Cancer	These narratives, topical essays, historical vignettes, poems, and photographic essays will provide personal, artistic interpretations of the experiences of children with cancer or blood disease, or of caring for these children. Submissions may describe difficult, challenging, informative, or uplifting patient encounters or clinical experiences, or may explore other aspects of professional life in pediatric hematology/oncology. Like all work submitted to PBC, submissions should be original, and not previously published or under consideration elsewhere. Poems should be fewer than 50 lines and 400 words.	N/A	1,200 words	as needed	Include only if they highlight or clarify points made in the text. Photo essays may include up to 6 images.
Special Reports	To be submitted only after consultation with the journal's Editor-in-Chief, the report should focus on a subject of current interest to readers and/or importance to the sponsoring societies.	100 words Unstructured	2,500 words	as needed	2
Clinical Practice Guidelines	CPGs should concern important and timely subjects. In 2011, the Institute of Medicine updated its definition of a CPG to reflect essential components of evidence-based guidelines: "CPGs are statements that	100 words Unstructured	4,500 words	as needed	Illustrations, tables, and tools for implemen

	include recommendations intended to optimize patient care that are informed by a systematic review of evidence and an assessment of the benefits and harms of alternative care options.” CPG submissions must receive pre-submission approval from the Editor-in-Chief. CPGs must meet the Institute of Medicine standards for trustworthiness as operationalized by the criteria for inclusion in the National Guideline Clearinghouse (http://www.guideline.gov/about/inclusion-criteria.aspx). Criteria include, but are not limited to, recommendations being based upon a systematic review (the search strategy should be included as an Appendix) and the creation of evidence tables. Use of an approach for recommendation development such as Grades of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation (GRADE) is encouraged. An excellent resource for preparing a CPG can be found at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3928232/. Guideline developers are encouraged to evaluate their own CPG using the Appraisal of Guidelines for Research & Evaluation II tool (http://www.agreetrust.org/agree-ii/).				tation such as clinical care algorithms are encouraged to augment the text.
Supplements	Concise summaries of meetings that have important information to convey to the readers of Pediatric Blood & Cancer are welcomed but consultation with the Editor-in-Chief should occur before submission. Summaries should emphasize the issues discussed at the meeting along with why they are important or controversial. Authors must confirm permission from presenters to include any novel information. More extensive meeting reports with manuscripts from the speakers at the meeting are also welcomed but early consultation with the Editor-in-Chief must take place in order to determine the type and number of manuscripts, expected pages to be published, and the review process, as well as procurement of additional funding if required. <i>Note: "Supplement" article type should only be selected if submitting to a supplement</i>	100 words Unstructured	1,500 words	as needed	Include only if they highlight or clarify points made in the text.

- * Structured headings: (Background, Procedure, Results, and Conclusions)
- ** Word count excludes title page, Abstract, References, Tables, Figures, and Legends
- *** Tables and figures should not simply repeat information in the text. Additional figures and tables can be included as Supporting Information.

MEETING ABSTRACTS

*Abstract text should be 300 words or less. That word count excludes the abstract title, author names and affiliations.

*There should be 4 sections to the abstract: Background/Objectives, Design/Methods, Results, Conclusion. All text should be included in a single paragraph and contain no lists.

*Abstract text should be written in complete sentences and in correct English.

*There should be a period at the end of all sentences.

*Tables and figures (if allowed in the submitting society's instructions), only when critical to the content, may be included and must comply with PBC Author Guideline format.

*Abstract titles should be in all capital letters, e.g., INDUCTION OUTCOMES IN CHILDREN WITH ALL

*Author names should be listed below the abstract title. The first and last names of authors should be written in upper and lower case letters and should be boldface. No degrees of authors should be included.

*Author affiliations should be written in upper and lower case letters, e.g., Tata Memorial Centre

*Geographic location should be indicated by city and country, with state, province, or other subdivision added if necessary for disambiguation, e.g. London, UK; but Portland, OR, USA. Names of cities and countries with 2 words should be written in upper and lower case letters, e.g., Czech Republic, South Africa, Los Angeles, St. Louis. Common abbreviations may be used, e.g. UK, USA.

*Periods should be used in numbers for decimal points, not commas, e.g., $P=0.015$, and numbers beginning with a decimal point should be preceded by a zero.

*Disease names should be written without apostrophes, e.g., Hodgkin lymphoma, Non-Hodgkin lymphoma, Burkitt lymphoma, Ewing sarcoma

*Separate digits with a space, not a comma, to indicate place values beyond thousands. For example: 5034 but 12 345.

*Abbreviations should be defined on first usage, then using of abbreviation alone is acceptable: e.g., Wilms Tumor (WT), then referred to as WT in subsequent mention, no quotation marks, however.

*Abstracts need to be proofread for all spelling and grammatical errors.

*Abstracts that do not satisfy publication instructions will not be published.

CLINICAL TRIALS

- NOTE: Clinical trials can be submitted as *either* a Research Article or a Brief Report. There is not a separate article type for clinical trials.
- Reporting prospectively conducted trials is strongly encouraged and such trials will be prioritized
- Retrospective reporting of clinical data is potentially acceptable for publication. All such manuscripts need to comply with documentation of approval by an institutional ethical review board or equivalent. Retrospective therapeutic studies should be avoided, as they may circumvent necessary informed consent, safety, and monitoring standards.
- All manuscripts reporting clinical trials need to document that the trial or study was approved Institutional Review Board or equivalent.
- All manuscripts reporting clinical trials need to be registered with ‘ClinicalTrials.Gov’ and/or an equivalent site.
- Manuscripts must include NCT numbers in the abstract.

Data Sharing and Data Accessibility

Please review Wiley’s policy [here](#). This journal expects data sharing.

Expects Data Sharing

Pediatric Blood and Cancer recognizes the many benefits of archiving research data. *Pediatric Blood and Cancer* expects you to archive all the data from which your published results are derived in a public repository. The repository that you choose should offer you guaranteed preservation (see the registry of research data repositories at <https://www.re3data.org/>) and should help you make it findable, accessible, interoperable, and re-useable, according to FAIR Data Principles (<https://www.force11.org/group/fairgroup/fairprinciples>).

All accepted manuscripts are required to publish a data availability statement to confirm the presence or absence of shared data. If you have shared data, this statement will describe how the data can be accessed, and include a persistent identifier (e.g., a DOI for the data, or an accession number) from the repository where you shared the data. Authors will be required to confirm adherence to the policy. If you cannot share the data described in your manuscript, for example for legal or ethical reasons, or do not intend to share the data then you must provide the appropriate data availability statement. *Pediatric Blood and Cancer* notes that FAIR data sharing allows for access to shared data under restrictions (e.g., to protect confidential or proprietary information) but notes that the FAIR principles encourage you to share data in ways that are as open as possible (but that can be as closed as necessary).

Sample statements are available [here](#). If published, all statements will be placed in the heading of your manuscript.

NIH	Public	Access	Mandate
For those interested in the Wiley-Blackwell policy on the NIH Public Access Mandate, please visit our policy statement			

Wiley Author Licensing Services (WALS)

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License	OAA
Creative Commons Attribution Non-Commercial License	OAA
Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License	OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

For RCUK and Wellcome Trust authors click on the link below to preview the terms and conditions of this license: