



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

2009/2010

Telma Amorim Pereira dos Santos  
Neuroblastoma: anjo e demónio  
da Oncologia Pediátrica

Abril, 2010

# FMUP



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

Telma Amorim Pereira dos Santos  
**Neuroblastoma: anjo e demónio**  
da Oncologia Pediátrica

**Mestrado Integrado em Medicina**

**Área: Pediatria**

**Trabalho efectuado sobre a Orientação de:**  
**Prof. Doutor Alberto António Moreira Caldas Afonso**

Revista: Arquivos de Medicina

Abril, 2010

**FMUP**



**Nome:** Telma Amorim Pereira dos Santos

**Endereço electrónico:** m04070@med.up.pt

**Título da Monografia:** Neuroblastoma: anjo e demónio da Oncologia Pediátrica

**Nome completo do Orientador:** Alberto António Moreira Caldas Afonso

**Nome completo do Co-Orientador:** Geneviève Laureys

**Ano de conclusão:** 2010

**Designação da área do projecto de opção:** Pediatria

É autorizada a reprodução integral desta Monografia apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 15/4/2010.

Assinatura: *Telma Amorim Pereira dos Santos*

Eu, Telma Amorim Pereira dos Santos, abaixo assinado, nº mecanográfico 040801070, aluno do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter actuado com absoluta integridade na elaboração deste projecto de opção.

Neste sentido, confirmo que NÃO incorri em plágio (acto 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, 15/4/2010.

Assinatura: *Telma Amorim Pereira dos Santos*

## **Neuroblastoma, anjo e demónio da Oncologia Pediátrica.**

Telma Amorim Pereira dos Santos

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Qualquer correspondência deverá ser enviada para:

Telma Amorim Pereira dos Santos

Rua do Pinheiro n° 38, Fiães.

Contactos: +351-964663676; [m04070@med.up.pt](mailto:m04070@med.up.pt)

Agradecimentos:

Ao Sr. Prof. Doutor Caldas Afonso, meu orientador.

À Sra. Dra. Maria do Bom Sucesso, pelo apoio precioso que me deu.

À Sra. Prof. Doutora Geneviève Laureys, pela inspiração quanto ao tema deste trabalho e pela ajuda durante o meu estágio em terras flamengas.

Contagem de palavras:

Resumo: 245 palavras. Abstract: 211 words. Texto principal: 4930 palavras.

## **Neuroblastoma, anjo e demónio da Oncologia Pediátrica.**

Resumo:

O neuroblastoma é a quarta neoplasia maligna pediátrica mais frequente em Portugal depois das leucemias, tumores do sistema nervoso central e linfomas. A grande maioria dos diagnósticos ocorre até aos 5 anos de idade, sendo neste grupo etário a neoplasia maligna mais frequente.

O neuroblastoma tem um comportamento *sui generis* pois pode regredir espontaneamente, diferenciar-se tornando-se benigno, ou, em cerca de metade dos casos, metastizar com má resposta aos tratamentos disponíveis. Esta disparidade do comportamento clínico e do prognóstico relaciona-se com a idade e estadió aquando do diagnóstico, com determinadas características histológicas e com alterações genéticas do tumor, das quais a amplificação do oncogene N-myc é a mais estudada.

A apresentação clínica, extremamente variável, reflecte as possíveis localizações do tumor primário dentro do sistema nervoso simpático (o principal órgão afectado é a glândula supra-renal), a existência de metástases e a possibilidade de síndromes paraneoplásicas.

Qualquer criança com suspeita de neuroblastoma deve ser referenciada precocemente a um centro oncológico pediátrico. Após o diagnóstico preconiza-se uma avaliação do risco em cada caso, para atribuição do tratamento mais eficaz. Este é baseado nos resultados da investigação de grupos cooperativos internacionais: nos doentes considerados de baixo risco, geralmente lactentes com doença local ou loco-regional, a cirurgia apenas pode ser suficiente. Ao contrário, nos casos considerados de elevado risco, sobretudo crianças mais velhas com doença metastática, o tratamento agressivo com esquemas de quimioterapia e radioterapia, auto-transplante de células estaminais e imunoterapia ainda não é eficaz numa grande parte dos casos.

Palavras-chave: Neuroblastoma, Ganglioneuroma, Ganglioneuroblastoma, Tumor neuroepitelial, N-myc.

## **Neuroblastoma: angel and demon in Paediatric Oncology.**

### **Abstract:**

Neuroblastoma is the fourth most frequent paediatric cancer in Portugal after leukemia, central nervous system tumours and lymphoma. Most of the diagnoses occur in the first 5 years. In this age group neuroblastoma is the most frequent cancer.

Neuroblastoma has an enigmatic behaviour because it may spontaneously regress, differentiate into benign ganglioneuroma or, in about half the cases, metastize with a bad outcome. The disparity of behaviour and prognosis correlates with age and stage at diagnosis, with tumour pathology and with several genetic features of the tumour, of which myc-N oncogene amplification is the best recognized.

Clinical presentation is extremely variable, reflecting the possible locations of the primary tumour along the sympathetic nervous system (the most frequent primary site is the adrenal), the presence of metastases and paraneoplastic syndromes.

Any suspected case of neuroblastoma must be delivered to a Paediatric Oncology centre. Once diagnosis is established must risk be assessed for treatment purpose. Treatment is based on the results from studies brought about by international cooperative groups: for low-risk patients, frequently infants with local or loco regional disease, surgery alone might be enough. Conversely, for high-risk patients (frequently children with disseminated disease) treatment with high-dose chemotherapy, radiotherapy, stem cell transplantation and immunotherapy is still ineffective in a great number of cases.

Keywords: Neuroblastoma, Ganglioneuroma, Ganglioneuroblastoma, Neuroepithelial tumour, myc-N.

## Introdução.

O cancro pediátrico é um acontecimento pouco frequente, contudo representa um peso importante em termos de morbilidade e mortalidade. Na página oficial do Grupo Europeu de Investigação do Neuroblastoma, da Sociedade Internacional de Oncologia Pediátrica (SIOPEN), pode ler-se: “Nos países desenvolvidos, o neuroblastoma é, após o acidente doméstico, a segunda causa de mortalidade nas crianças” [1].

A escolha deste tema surgiu na sequência de um estágio por mim realizado no Serviço de Hemato-Oncologia Pediátrica do Hospital Universitário de Gent, Bélgica, no qual contactei pela primeira vez com a dura realidade destas crianças e famílias. O objectivo deste trabalho é rever a epidemiologia, aspectos clínicos, critérios de diagnóstico e estadiamento do neuroblastoma, sua oncogénese com realce nas alterações genéticas e por fim o seu tratamento e prognóstico.

## Conceito de neuroblastoma e história natural da doença.

O neuroblastoma é uma neoplasia maligna neuroepitelial com origem em células embrionárias precursoras do sistema nervoso simpático e que se desenvolve durante o crescimento fetal ou nos primeiros anos de vida. Pertence a um grupo de tumores com origem comum, reconhecido por James Homer Wright [2]: os tumores neuroblásticos.

Os tumores neuroblásticos, historicamente classificados em neuroblastomas (comportamento maligno), ganglioneuroblastomas (comportamento intermédio) e ganglioneuromas (comportamento benigno), numa sequência que reflecte um crescendo de maturação do tecido nervoso simpático, são actualmente divididos em quatro categorias de acordo com os critérios do International Neuroblastoma Pathology Committee (figura 1) [3]. Essas categorias são: **neuroblastoma** (tumor pobre em estroma de Schwann); **ganglioneuroblastoma, *intermixed*** (tumor rico em estroma de Schwann); **ganglioneuroma** (tumor com predomínio do estroma de Schwann); e **ganglioneuroblastoma nodular** (tumor composto: uma parte tipo neuroblastoma e outra tipo ganglioneuroma/ ganglioneuroblastoma *intermixed*). Cada categoria engloba vários subtipos, de acordo com o grau de diferenciação celular [3].

A distinção histopatológica detalhada é complexa e ultrapassa o âmbito desta monografia. De forma muito resumida, o neuroblastoma consiste num tecido nervoso simpático numa fase primitiva de diferenciação, ou seja, é composto essencialmente por neuroblastos imaturos (células pequenas de tamanho uniforme com núcleo denso e hiper cromático e pouco citoplasma – “pequenas, redondas e azuis”) que formam grupos rodeados por delicados septos fibro-vasculares de sustentação [3]. O ganglioneuroma consiste num tecido diferenciado, constituído por células ganglionares adultas dispostas num estroma maduro com células de Schwann [3]. Os ganglioneuroblastomas (*intermixed* e nodular) apresentam componentes tanto do neuroblastoma como do ganglioneuroma. Note-se que o desenvolvimento de estroma no seio de um tumor neuroblástico parece ter repercussões positivas na diferenciação [4], tal como acontece no desenvolvimento nervoso normal [5]: neste, os neuroblastos produzem moléculas que recrutam células de Schwann que, por sua vez, produzem factores anti-proliferativos e indutores da diferenciação dos neuroblastos até células ganglionares maduras.

Apelidado de “enfant terrible entre as neoplasias pediátricas” [6] e descrito como “enigmático” e “imprevisível” [7], o neuroblastoma apresenta características inigualáveis e aspectos clínicos intrigantes e,

simultaneamente, fascinantes. Isto porque o curso da doença em cada criança é incrivelmente variável: o tumor pode regredir espontaneamente, sofrer maturação tornando-se benigno ou, pelo contrário, progredir rapidamente levando à morte, mesmo com as mais recentes armas terapêuticas. Este é um dos motivos pelos quais o neuroblastoma tem fascinado mas também frustrado clínicos e investigadores por todo o mundo.

Como explicar que a mesma doença assuma formas tão diversas?

Beckwith e Perrin [8] depreveram lesões microscópicas da supra-renal com aspecto semelhantes ao neuroblastoma nas autópsias de lactentes falecidos por outras causas, às quais chamaram “neuroblastomas in situ”. A incidência desta lesão era 50 vezes superior à incidência do neuroblastoma supra-renal diagnosticado na população pediátrica em geral, sugerindo assim que a maioria delas deveria evoluir favoravelmente, não chegando a ser diagnosticadas. Também há relato de casos de doentes com massas cujo resultado de biópsia foi neuroblastoma e, quando o tumor foi ressecado mais tarde, já não era um neuroblastoma mas um ganglioneuroma [9]. A regressão espontânea é um fenómeno notável, com uma frequência incomparável a qualquer outra neoplasia humana, podendo ser explicada pela ocorrência intratumoral de apoptose (um evento comum durante o normal desenvolvimento do sistema nervoso), como consequência de aporte insuficiente de factores neurotróficos [10]. Estima-se que cerca de 10% dos neuroblastomas podem regredir sem tratamento, até mesmo neuroblastomas metastáticos (caracteristicamente numa forma especial de metastização denominada 4S, que será explicada nas manifestações clínicas); a maturação é um acontecimento muito menos frequente e, como mencionado anteriormente, poderá relacionar-se com interacções entre os neuroblastos e células de Schwann [4].

Por outro lado, cerca de 50% dos neuroblastomas diagnosticados (sobretudo casos de doença disseminada) evoluirão de forma muito agressiva. Ao contrário dos tumores que sofrem maturação ou regressão, estes estão associados a factores clínicos, histopatológicos e genéticos de mau prognóstico. A genética do neuroblastoma e os indicadores de prognóstico serão abordados adiante.

## Epidemiologia, etiologia e aspectos clínicos.

Em Portugal, o neuroblastoma é a quarta neoplasia pediátrica mais frequente (depois das leucemias, tumores do sistema nervoso central e linfomas) [11], à semelhança dos dados internacionais [12]. Contudo até aos 5 anos de idade é o tumor pediátrico mais frequente [1]. De facto o pico de incidência ocorre durante o primeiro ano de vida, descendo para metade após o segundo ano e raramente afectando crianças após os 10 anos de idade [13]. Em Portugal e na Europa, a incidência anual ronda os 10-15 casos por milhão de crianças até aos 15 anos, sem variação por género [11, 13].

Os factores etiológicos são desconhecidos devido à baixa prevalência da doença. O papel das exposições maternas durante a gravidez, nomeadamente tabaco, álcool, drogas e medicamentos, doenças crónicas ou infecciosas e uso de suplementos vitamínicos, não foi inequivocamente demonstrado pelos estudos realizados [14].

A esmagadora maioria dos neuroblastomas ocorre de forma esporádica mas cerca de 1% dos casos são hereditários, segundo um padrão autossómico dominante com penetrância incompleta [12, 15]. Estes apresentam características distintivas: surgimento mais precoce, múltiplos tumores primários e bom prognóstico [15]. Em 5% dos casos verifica-se uma associação com doenças congénitas, nomeadamente doença de von Recklinghausen, neurofibromatose tipo 1, doença de Hirschsprung e outras neurocristopatias, sugerindo um fundo genético comum [12, 15]. Os genes envolvidos serão discutidos adiante.

A clínica do neuroblastoma, extremamente rica, é reflexo das possíveis localizações do tumor primário, extensão da doença a nível local, regional ou metastático e da possibilidade de ocorrerem síndromes paraneoplásicas.

As células simpaticoadrenérgicas têm origem embriológica na crista neural, sofrendo um processo de migração e constituindo os gânglios simpáticos paravertebrais e pré-aórticos, a medula das supra-renais e os paragânglios simpáticos. Assim se compreende que o tumor possa surgir em qualquer parte ao longo do sistema nervoso periférico simpático: no abdómen, no tórax, no pescoço, na pelve. A maioria dos neuroblastomas tem origem no abdómen (65%), sendo mais de metade destes em localização supra-renal [12]. A localização está relacionada com a idade: as crianças têm mais vezes tumores supra-renais comparativamente com os lactentes, ao contrário do que acontece nos neuroblastomas torácicos ou cervicais. Em 1% dos casos o tumor primário é oculto [12].

O neuroblastoma metastiza por via linfática e hematogénea (para a medula óssea, osso, fígado, pele e raramente pulmão e cérebro), em 50% dos casos já por altura do diagnóstico [12]. Se houver metastização ganglionar fora da cavidade de origem do tumor considera-se doença disseminada.

O neuroblastoma manifesta-se frequentemente em fases avançadas, surgindo sintomatologia apenas quando o tumor se torna volumoso ou quando se desenvolvem metástases. Os sintomas precoces, se presentes, são bastante inespecíficos e facilmente atribuíveis a outras causas. Qualquer criança com suspeita de neuroblastoma deve ser enviada precocemente para um centro Oncológico Pediátrico.

O **Nb intrabdominal** pode ser detectado incidentalmente, durante consultas por outros motivos, ou mesmo antes do nascimento, numa ecografia de rotina. As crianças podem queixar-se de desconforto abdominal. Se a massa for volumosa poderá provocar sintomas compressivos como retenção urinária, obstipação ou oclusão intestinal, edema escrotal e dos membros inferiores ou hipertensão renovascular. Tumores volumosos podem sangrar, provocando distensão abdominal, que também pode estar associada ao envolvimento hepático secundário.

O **neuroblastoma torácico** apresenta-se muitas vezes como uma massa detectada por acaso num exame radiológico. Pode, se volumoso, estar na origem dum síndrome da veia cava superior.

O **neuroblastoma cervical** surge comumente sob a forma de uma massa. A metastização ganglionar cervical pode confundir-se inicialmente com uma linfadenopatia inflamatória. A síndrome de Horner por compromisso da inervação simpática superior também é característica.

Os **neuroblastomas com localização para-vertebral** podem estender-se aos buracos de conjugação e provocar compressão medular (com paraplegia progressiva e disfunção miccional e defecatória). Esta situação, denominada síndrome de Dumbbell, é uma urgência oncológica.

A sintomatologia relacionada com a presença de **metástases** é muito rica; frequentemente as crianças apresentam um aspecto visivelmente doente, com sintomas constitucionais que incluem má evolução ponderal, febre ou irritabilidade. As metástases da medula óssea podem originar um quadro semelhante a uma leucemia. As metástases ósseas podem provocar redução da actividade, claudicação e a criança poderá queixar-se de dor óssea ou articular, muitas vezes confundida com artrite. Um achado muito característico do neuroblastoma é o envolvimento peri-orbitário pelo tumor, que leva a um aspecto chamado “olhos de *raccoon*” devido à equimose e tumefacção dos tecidos em volta dos olhos. O envolvimento hepático pode provocar distensão abdominal e edema das extremidades. O envolvimento da pele é quase exclusivo de um

tipo especial de neuroblastoma: a doença 4S (4 de metastização e S pelas características “special”) [16]. Trata-se de uma entidade que afecta lactentes e se manifesta sob a forma de tumor primário pouco volumoso e bem delimitado, acompanhado de metastização para o fígado, medula óssea e/ou pele (nódulos subcutâneos indolores e de cor azulada, descritos como “*blueberry muffin*”). É especial porque, não obstante a metastização, a doença pode regridir espontaneamente sem tratamento [17], sendo o prognóstico muito favorável; contudo deve-se ter em atenção que, nos lactentes com poucos meses, a progressiva hepatomegalia decorrente da metastização pode comprometer a respiração, sendo necessário tratamento urgente.

Os **síndromes paraneoplásicas** nos doentes com neuroblastoma são acontecimentos raros mas altamente sugestivos. O síndrome de opsomioclonus-ataxia [18] é caracterizado por movimentos involuntários dos membros e do tronco, com movimentos oculares conjugados rápidos. Esta situação parece ser provocada por uma reacção cruzada dos anticorpos anti-tumorais contra os neurónios cerebelosos, por mimetismo molecular. Normalmente os doentes com este síndrome têm tumores localizados e o prognóstico de sobrevivência é favorável, mas uma vez estabelecidas lesões nervosas irreversíveis podem resultar sequelas importantes (por exemplo: atraso cognitivo). Alguns neuroblastomas podem secretar peptídeo intestinal vasoactivo (VIP), provocando uma diarreia grave com desidratação e hipocaliémia [19]. São normalmente tumores com alguma diferenciação, sendo o prognóstico favorável após ressecção cirúrgica [20]. Um quadro devido ao excesso de catecolaminas circulantes (paroxismos de hipertensão, flushing e hipersudorese) é raro pois as aminas secretadas pelos neuroblastomas são sobretudo a dopamina e os metabolitos ácido vanilmandélico (VMA) e ácido homovanílico (HVA); a adrenalina e noradrenalina são muito menos frequentes, ao contrário do que acontece nos feocromocitomas.

No exame objectivo a observação do abdómen é de especial importância, devendo caracterizar-se quaisquer massas e pesquisar a presença de hepatomegalia. É importante pesquisar possíveis adenopatias nas diversas cadeias ganglionares. No exame ocular, procurar sinais compatíveis com síndrome de Horner e proptose. É importante um exame neurológico detalhado para despistar compressão medular.

Devido à variedade de apresentações clínicas, o neuroblastoma pode mimetizar diversas condições neoplásicas e não-neoplásicas. Por exemplo, uma metastização óssea múltipla pode confundir-se com osteomielite ou artrite, o síndrome resultante da secreção de VIP pode lembrar uma colite infecciosa, entre outros.

## Investigação diagnóstica e estadiamento.

Na suspeita clínica de neuroblastoma após colheita da anamnese e realização do exame físico, recomenda-se a realização de alguns exames subsidiários. Analiticamente pode-se observar uma elevação da dopamina sérica e dos metabolitos urinários HVA e VMA, devendo sua pesquisa ser realizada na urina de 24 horas sempre que se suspeita de neuroblastoma [21]. A sensibilidade e especificidade deste teste são elevadas [22], para além da sua importância na monitorização da resposta ao tratamento e na detecção de recidivas. No entanto uma pequena parte dos tumores poderá não secretar aminas. Há outros marcadores séricos que podem estar elevados, nomeadamente a desidrogenase láctica, ferritina, cromogranina e enolase neuro-específica; são contudo marcadores muito inespecíficos e menos úteis [12].

Radiologicamente, a TC ou a RM são as técnicas mais adequadas para avaliação de tumores primários abdominais, pélvicos, cervicais e mediastínicos (tabela 1). A RM é superior nos tumores paravertebrais [21]. A cintilografia de corpo inteiro com metaiodobenzilguanidina com iodo 123 ( $^{123}\text{I}$ -MIBG) permite avaliar a distribuição da neoplasia (tumor primário e metástases), salvaguardando que até 10% dos neuroblastomas não captam MIBG [23]. Nestes casos este exame será falsamente negativo.

Para confirmar o diagnóstico de neuroblastoma é necessária evidência histológica da natureza neural do tumor. Nos tumores ressecáveis procede-se à exérese cirúrgica; contudo nas crianças com doença irressecável que vão fazer tratamento neo-adjuvante pode-se fazer o diagnóstico com base numa biópsia core-needle do tumor primário. As biópsias aspirativas não fornecem material para análise histológica, reservando-se aos casos em que não seja possível obter outro tipo de biópsia [21]. Se houver invasão da medula óssea, o diagnóstico pode ser feito com base na biópsia desta, na presença de elevação dos metabolitos urinários [21]. As técnicas imunohistoquímicas são preciosas, particularmente nos casos de neuroblastoma indiferenciado. Este assemelha-se com outros tumores de células pequenas redondas e azuis da infância – rabdomiossarcoma primitivo, PNET/Sarcoma de Ewing, tumor de Wilms do tipo blastematoso, leucemia megacarioblástica – sendo a favor do diagnóstico a positividade “para” marcadores neurais (como enolase neuro-específica, cromogranina A ou sinaptofisina) e a negatividade “para” marcadores típicos dos outros tumores. A microscopia electrónica é uma ferramenta raramente necessária.

Aquando do diagnóstico é mandatório avaliar se existe envolvimento metastático dos órgãos mais comumente afectados (medula óssea, osso, fígado) utilizando os exames recomendados (tabela 1).

O sistema de estadiamento utilizado internacionalmente é o *International Neuroblastoma Staging System* (INSS; tabela 2). Criado em 1988 com base em sistemas anteriores [24-25] e revisto em 1993 [21], é um sistema de estadiamento cirúrgico, uma vez que classicamente a primeira opção no tratamento do neuroblastoma é a ressecção, quando possível. A proporção de doentes com doença local, regional e metastática varia com a idade, seguindo-se a proporção de lactentes *versus* crianças em cada estadio INSS: 26% *versus* 12% (estadio 1), 22% *versus* 12% (estadio 2), 14% *versus* 16% (estadio 3) e 20% *versus* 59% (estadio 4) [12].

## Conhecimento actual sobre oncogénese dos tumores neuroblásticos.

A génese do neuroblastoma tem sido largamente investigada nas últimas décadas, contudo pouco se sabe sobre que genes levam à interrupção da normal diferenciação dos neuroblastos, sua transformação maligna e à progressão neoplásica [26].

No que concerne aos casos hereditários, foram identificados dois genes responsáveis pela predisposição familiar: Phox2B [27] e Alk [28]. Mutações germinativas inactivantes do Phox2B, um gene regulador do neurodesenvolvimento, foram encontradas nos casos de neuroblastoma associados com neurocristopatias, enquanto que as mutações germinativas activantes do oncogene Alk, um receptor transmembranar tirosina-cínase com expressão restrita ao tecido nervoso em desenvolvimento, explicam a maior parte dos restantes casos de neuroblastoma hereditário.

Também foram encontradas alterações genéticas nos neuroblastomas esporádicos, contudo falta conhecer de que forma elas estão orquestradas na oncogénese.

Quanto à ploidia das células neoplásicas, constatou-se que uma parte dos tumores apresentava um conteúdo em DNA quase-diplóide/quase-tetraplóide, e a outra parte um conteúdo hiperdiplóide/quase-triplóide [29]. Os primeiros correspondiam geralmente a tumores mais agressivos que os segundos [30], e uma possível explicação para esta associação seria que os tumores quase-triplóides, tendo um defeito fundamental na mitose, ganham ou perdem cromossomas completos, enquanto que os tumores quase-diplóides, tendo um defeito fundamental na estabilidade do genoma, apresentam elevada incidência de rearranjos cromossómicos estruturais que podem alterar a expressão de genes importantes na estabilidade celular, resultando num comportamento agressivo [31].

Em 1983 foi descoberto um gene muitas vezes amplificado nas células de neuroblastoma: o oncogene N-myc (N de neuroblastoma; localizado no braço curto do cromossoma 2) [32]. Este codifica um factor de transcrição que, uma vez no núcleo, provoca um atraso da diferenciação celular e promove a replicação e a apoptose (com balanço final favorecendo a replicação). Em cerca de 20% a 25% dos neuroblastomas observa-se amplificação do N-myc (a-Nmyc), com conseqüente activação. A expressão desregulada do gene foi testada em ratinhos, que acabaram por desenvolver neuroblastomas [33], comprovando o seu envolvimento na oncogénese. A a-Nmyc associa-se com mau prognóstico [34], assunto que será retomado adiante. Outro achado interessante é que se verifica expressão aumentada dos genes-alvo

do N-myc em neuroblastomas que não têm amplificação, indicando que vias intra-celulares comuns deverão estar alteradas nos tumores agressivos [26].

Foram detectadas perdas alélicas em várias zonas do genoma das células neoplásicas, nomeadamente no braço curto do cromossoma 1 [35] (até 35% dos tumores primários), no braço longo do cromossoma 11 [36] (até 45% dos primários), no braço curto do cromossoma 3 [37], entre outras. Ainda não foram identificados os genes envolvidos, existindo múltiplos genes candidatos. As deleções em 1p associam-se com a a-Nmyc em muitos neuroblastomas, ao contrário das deleções em 11q e em 3p, geralmente ausentes nos tumores com a-Nmyc. A técnica de “chromosomal comparative genomic hybridisation” (CGH) pode ser utilizada para uma mais fácil detecção de várias anomalias cromossómicas estruturais em amostras de tecido tumoral e determinação do prognóstico nos tumores sem a-Nmyc [38].

O ganho de material genético do cromossoma 17 é uma alteração observada frequente, ocorrendo em até 80% dos neuroblastomas primários e resulta muitas vezes de translocações não-balanceadas entre 17q e 1p/11q [39]. Os tumores quase-triplóides frequentemente têm ganho de um cromossoma 17 completo, enquanto os quase-diplóides têm ganho não-balanceado de 17q. Esta alteração genética está associada a pior prognóstico, ao contrário da primeira, contudo desconhece-se de que forma o material nesta região do genoma contribui na oncogénese.

É provável que as vias celulares acopladas aos receptores das neurotrofinas sejam outra peça no puzzle da oncogénese [40]. Os neuroblastos podem expressar na sua superfície diferentes receptores para neurotrofinas (Trk). A activação dos receptores TrkA e TrkC promove a diferenciação neuroblástica enquanto a inactivação promove apoptose. Já a activação de TrkB parece resultar num aumento do ritmo de replicação. Estes factos poderão ajudar a compreender porque é que alguns neuroblastomas maturam em ganglioneuromas/ganglioneuroblastomas: as células de Schwann recrutadas pelos neuroblastos produziram neurotrofinas activadoras de TrkA, estimulando a diferenciação dos primeiros; outros regredem espontaneamente: devido a privação de neurotrofinas e consequente apoptose; e outros evoluem com agressividade: os neuroblastos com receptores do tipo TrkB produziram neurotrofinas que actuariam de forma autócrina/parácrina, proliferando descontroladamente.

Um modelo de classificação do neuroblastoma [12], reunindo os conhecimentos sobre a genética desta doença, considera três tipos genéticos: o tipo 1 inclui tumores que apresentam anomalias cromossómicas numéricas (portanto sem defeitos estruturais como por exemplo a a-Nmyc) e expressão

elevada de Trk (sobretudo TrkA). São tumores com bom prognóstico (sobrevivência de 95%), predominantemente em estadios localizados ou então 4S, que surgem em lactentes. Os tipos 2A e 2B compreendem tumores com prognóstico desfavorável (sobrevivência de 50% e 25%, respectivamente), em estadios avançados, que surgem depois do primeiro ano de vida, apresentam baixa expressão de Trk e possuem anomalias cromossômicas estruturais (perda alélica em 11q, ganho extra de 17q mas sem a-Nmyc – tipo 2A; a-Nmyc, deleção em 1p e ganho de 17q – tipo 2B).

Os avanços na descoberta da enigmática genética do neuroblastoma apesar de ainda não permitirem compreender a patogénese, poderão ser utilizados no desenvolvimento de fármacos mais selectivos e eficazes, para além de terem importância na determinação do prognóstico, como será referido adiante.

## Determinação do prognóstico e racionalização terapêutica.

Os grupos cooperativos internacionais de oncologia pediátrica adoptaram o conceito da “risk-related therapy”, preconizando um tratamento personalizado de acordo com o prognóstico individual de cada caso. Os sistemas de estratificação de risco mais usados são o sistema americano (Children’s Oncology Group) e o europeu (SIOPEN) e diferem na medida em que combinam diferentes variáveis prognósticas. Têm sido concentrados esforços na construção de um sistema de estratificação único para facilitar a comparação dos resultados dos ensaios clínicos internacionais. Neste contexto surgiu o *International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system* (tabela 3) [41]. Segue-se uma breve descrição das variáveis prognósticas consideradas mais importantes nesta classificação.

### *Idade*

A idade ao diagnóstico é reconhecida como factor independente de prognóstico desde longa data [42]: as metástases ao diagnóstico são mais frequentes nas crianças que nos lactentes, e nestes quando surgem, frequentemente assumem um padrão 4S com bom prognóstico; além disso os fenómenos de regressão e maturação tumoral são muito mais frequentes nos lactentes. Aliás, foi implementado em alguns países, sobretudo no Japão, um rastreio para lactentes consistindo no doseamento de VMA/HVA urinários que actualmente não está recomendado pois os tumores detectados eram quase todos biologicamente favoráveis, ou seja, estava-se a sobrediagnosticar tumores que poderiam regredir sem tratamento; por outro lado a prevalência e mortalidade nas crianças com mais de 1 ano não se alterou, ou seja, não foi um rastreio eficaz nos casos mais complicados [43-44].

Classicamente estabelece-se como ponto de *cut-off* os 12 meses de idade, que tem tendência a ser alterado para os 18 meses de acordo com estudos actuais [45]. Idades inferiores ao *cut-off* relacionam-se com bom prognóstico e superiores com mau prognóstico.

### *Estadiamento*

A par da idade, o estadiamento da doença de acordo com o INSS é um factor prognóstico unanimemente reconhecido pelos grupos cooperativos internacionais. Contudo este sistema baseia-se no tipo de ressecção conseguida, sendo portanto variável com a técnica do cirurgião. Por este motivo foi recentemente proposto o

*INRG Staging System* [46], um sistema de estadiamento pré-cirúrgico, com o objectivo de uniformizar o estadiamento a aplicar na classificação do INRG (tabela 3). O *INRG Staging System* foi desenvolvido a partir de factores de risco imagiológicos definidos pela SIOPEN [47], que são parâmetros imagiológicos que permitem prever se o tumor será ou não excisado na sua totalidade e sem complicações cirúrgicas. Este sistema poderá vir a ser usado num futuro próximo.

#### *Características histopatológicas do tumor*

A classificação de Shimada [48] foi pioneira a enfatizar a importância das características histopatológicas do tumor no prognóstico. Esta classificação foi posteriormente adaptada e renomeada *International Neuroblastoma Pathology Classification* [7]: são factores de bom prognóstico um elevado grau de diferenciação dos neuroblastos, presença de estroma desenvolvido com células de Schwann e baixo índice de mitoses e cariorrexis (baixo *turn-over*). O oposto relaciona-se com mau prognóstico. Esta classificação tem ainda em conta a idade que, por si só, é factor independente na maioria das classificações de estratificação de risco. Este pormenor complica o seu uso, sendo os factores histopatológicos valorizados individualmente (o INRG valoriza a categoria histológica/quantidade de estroma e o grau de diferenciação celular).

#### *Alterações genéticas*

As alterações genéticas usadas por cada grupo cooperativo na determinação do risco variam. A *a-Nmyc* é consensualmente aceite, portanto aquando do diagnóstico é essencial avaliar a sua presença; a técnica mais utilizada é a hibridização *in situ* com fluorescência em interfase, que permite encontrar múltiplas cópias do gene (desde dezenas a centenas), sob a forma de *double-minutes* e/ou *homogeneous staining regions*. Num estudo recente integrado no INRG foram avaliados quais os marcadores genéticos mais relevantes no prognóstico, tendo-se concluído que é importante uma avaliação da *a-Nmyc*, da deleção de 11q (detectável por CGH) e da ploidia tumoral (determinada por citometria de fluxo) no material de biópsia [49].

#### *Marcadores séricos*

Actualmente nenhum dos marcadores tumorais conhecidos é utilizado na classificação do INRG.

## Tratamento “relacionado com o risco” do neuroblastoma.

As opções terapêuticas no tratamento do neuroblastoma incluem a observação apertada sem tratamento, a cirurgia, a quimioterapia (QT), a radioterapia (RT) e a imunoterapia. O plano terapêutico deverá ser escolhido de acordo com o grupo de risco a que o doente pertence. Os protocolos utilizados pelos diferentes grupos cooperativos têm variações, sobretudo para os doentes de elevado risco (pelo facto de ainda não estarem disponíveis tratamentos muito eficazes), mas a tendência é que se venham a esbater.

A cirurgia foi desde sempre considerada a primeira opção terapêutica, quando exequível. Através da ressecção obtém-se tecido para estudo histopatológico e biológico e é feito o estadiamento de acordo com o INSS. Nos tumores classificados como de **baixo-risco**, a cirurgia do tumor primário é adequada; considera-se no entanto existir casos em que será benéfico tomar uma atitude expectante, seguindo o doente de perto sem qualquer tipo de tratamento. Esta abordagem foi inicialmente estudada nos casos de doença 4S biologicamente favorável [17], uma vez que estes tumores apresentam elevada probabilidade de regressão espontânea. Apesar de arriscada, esta abordagem está a ser cada vez melhor estudada e poderá alargar-se a outros casos de baixo risco.

O estudo LNESG1 [50] concluiu que a cirurgia sem qualquer tratamento posterior é suficiente para os tumores localizados sem a-Nmyc e permitiu homogeneizar a abordagem cirúrgica por forma a diminuir as suas complicações (por exemplo hemorragia, necessidade de nefrectomia por contiguidade tumoral, síndrome de Horner iatrogénico). Para tal, foram definidos os factores de risco cirúrgico já mencionados [47]; na presença destes aconselha-se tratamento neoadjuvante antes de tentar operar. Os tumores completamente ressecados (estadio 1) raramente recidivam. Mesmo com ressecções incompletas (estadio 2) a evolução é favorável e a QT adjuvante parece não ter grande benefício relativamente aos riscos que comporta.

Os tumores localizados com a-Nmyc são raros, mas constituem um desafio uma vez que continua a não ser consensual qual a melhor forma de os tratar. Na Europa é adoptada a estratégia de baixo-risco para tumores em estadio 1 e a estratégia de alto risco nos casos de estadio 2 [47].

A QT constitui o pilar do tratamento nos casos de neoplasias localmente avançadas ou metastizadas. Os agentes mais eficazes são os alquilantes (ciclofosfamida), os derivados da platina (cisplatina), as antraciclinas (doxorrubicina) e os inibidores da topoisomerase II (etoposido). O neuroblastoma é radiosensível, contudo o papel da RT é cada vez mais limitado, pelos potenciais efeitos nefastos na criança. A RT continua a ser importante nos casos de alto risco (após realização de QT) para controlo do tumor residual. Também nos casos de insuficiência respiratória devido a metastização hepática difusa em lactentes e nos doentes com compressão medular se outras opções terapêuticas não produziram resultados e ainda no tratamento paliativo da dor.

O tratamento dos casos de **risco intermédio** consiste num regime quimioterápico de moderada intensidade, cuja duração ideal ainda não é consensual. Deve recorrer-se à cirurgia após o tratamento neoadjuvante para ressecção do tumor residual. A RT poderá ser necessária nos casos em que a doença progride ou continua irremediável após QT.

Cerca de metade dos casos diagnosticados correspondem a doença de **alto-risco**, cuja sobrevida global se estima em menos de 40% [12] pois as taxas de sucesso do tratamento não têm melhorado muito nos últimos anos. A aquisição de resistência aos fármacos anti-neoplásicos disponíveis é o principal responsável pela falência do tratamento, uma vez que na maioria dos casos há uma resposta inicial positiva.

Actualmente preconiza-se uma abordagem em três fases, que consistem na indução, consolidação e tratamento da doença residual mínima.

A indução consiste num regime agressivo de poliquimioterapia para reduzir o tamanho do tumor e metástases. Os estudos europeus [51] demonstraram maior eficácia quando se administra doses rápidas de quimioterapia e se alterna os agentes usados entre ciclos. A fase de indução é muito importante, existindo relação positiva entre uma boa resposta à indução e maior sobrevivência livre de doença [52]. Se persistir tumor residual este deve ser ressecado (cirurgia *second-look*).

Na fase de consolidação o tratamento que demonstrou maior eficácia consiste em quimioterapia mieloablativa (associada ou sem RT), importante para eliminar clones tumorais residuais da medula óssea, seguida de transplante autólogo de células estaminais hematopoiéticas [53]. A ablação da medula óssea é conseguida usando agentes como o busulfano e melfalano, na Europa [53]. A mieloablação recorrendo a irradiação corporal total é actualmente menos utilizada.

Na fase de erradicação da doença residual microscópica o uso de derivados do ácido retinóico [54], recentemente aclopado à imunoterapia [55] revelou-se mais eficaz que os regimes testados anteriormente. Os retinóides estimulam a diferenciação tumoral e a apoptose/necrose. A imunoterapia consiste na activação de uma resposta imunológica contra as células neoplásicas usando anticorpos quiméricos anti-Gangliosídeo D2 (que é expresso selectivamente na superfície dos neuroblastos) associados a citocinas que promovem a citotoxicidade celular dependente de anticorpos (interleucina 2 e factor estimulador das colónias de granulócitos/macrófagos: GM-CSF), estratégia que mostrou uma vantagem de 20% na sobrevivência dos doentes de alto risco [55]. Este regime, sem GM-CSF (actualmente indisponível na Europa) está a ser testado no protocolo HR-NBL1, em curso.

A **avaliação da resposta ao tratamento**, de acordo com os *International Neuroblastoma Response Criteria* [21], é recomendada antes e após qualquer cirurgia, no final da indução, após transplante de células estaminais, no final do tratamento e sempre que a clínica o sugerir. As curvas de sobrevivência do neuroblastoma encontram-se na figura 2.

O tratamento dos **neuroblastomas recidivantes** nos casos de baixo e intermédio risco é geralmente eficaz com nova cirurgia no caso das recidivas locais e com QT em doses semelhantes ao grupo de alto risco no caso de recorrência metastática (que é rara). Contudo, para os tumores de alto risco que recidivam ou são primariamente refractários, não existem actualmente opções terapêuticas eficazes. Correntemente em estudo estão diferentes agentes quimioterápicos para a fase de indução (por exemplo topotecano, irinotecano, temozolamida) [56]. O tratamento com MIBG com iodo 131 (<sup>131</sup>I-MIBG) constitui uma forma de RT dirigida, portanto com menos efeitos laterais, ainda em estudo [57]. O papel dos agentes anti-angiogénicos, de outros retinóides como o fenretinide, dos inibidores do gene Alk, das vacinas contra os moléculas expressas selectivamente pelas células tumorais (por exemplo, vacina indutora de resposta imune contra células que sobreexpressam o Myc) [56] e dos inibidores da MDM2 (regulador negativo da p53) [58], estão em investigação.

As possíveis **complicações** do tratamento são as complicações cirúrgicas já mencionadas e os efeitos nefastos clássicos dos agentes citotóxicos e das radiações, como por exemplo infertilidade e surgimento de segundas neoplasias, que, por poderem aparecer tardiamente, deverão ser monitorizados nas consultas de seguimento.

## Conclusão.

O neuroblastoma continua a ser uma importante causa de mortalidade na área da oncologia pediátrica, nomeadamente nos casos de alto risco. As duas faces do neuroblastoma fazem dele uma doença cientificamente empolgante. O seu comportamento ora benigno, a ponto de se optar por deixar a doença seguir o seu curso sem tratar, contrasta com a agressividade com que pode matar. Espera-se que num futuro próximo os conhecimentos nesta área venham permitir transformar os “neuroblastomas demónios” todos em anjos...

## Bibliografia.

- [1] Oncology, I.S.o.P. *International Society of Paediatric Oncology European Neuroblastoma Research Network* 2010 [cited 2010 1/3/2010]; Available from: <https://www.siopen-r-net.org/>.
- [2] Wright, J.H., *Neurocytoma or neuroblastoma, a kind of tumor not generally recognized*. J Exp Med, 1910. **12**(4): p. 556-561.
- [3] Shimada, H., et al., *Terminology and morphologic criteria of neuroblastic tumors: recommendations by the International Neuroblastoma Pathology Committee*. Cancer, 1999. **86**(2): p. 349-63.
- [4] Ambros, I.M., et al., *Role of ploidy, chromosome 1p, and Schwann cells in the maturation of neuroblastoma*. N Engl J Med, 1996. **334**(23): p. 1505-11.
- [5] Reynolds, M.L. and C.J. Woolf, *Reciprocal Schwann cell-axon interactions*. Curr Opin Neurobiol, 1993. **3**(5): p. 683-93.
- [6] Laureys, G., *The neuroblastoma, "enfant terrible" among pediatric tumors*. Verh K Acad Geneeskd Belg, 2003. **65**(1): p. 5-23.
- [7] Shimada, H., et al., *The International Neuroblastoma Pathology Classification (the Shimada system)*. Cancer, 1999. **86**(2): p. 364-72.
- [8] Beckwith, J.B. and E.V. Perrin, *In situ neuroblastomas: a contribution to the natural history of neural crest tumors*. Am J Pathol, 1963. **43**: p. 1089-104.
- [9] Cushing, H. and S.B. Wolbach, *The Transformation of a Malignant Paravertebral Sympathicoblastoma into a Benign Ganglioneuroma*. Am J Pathol, 1927. **3**(3): p. 203-216 7.
- [10] Schwab, M., et al., *Neuroblastoma: biology and molecular and chromosomal pathology*. Lancet Oncol, 2003. **4**(8): p. 472-80.
- [11] Norton, L., Bento, M.J. *Epidemiologia do cancro pediátrico*. 2006 [cited 2010 30-3-2010]; Available from: [http://www.oncologiapediatrica.org/index.php?/site/ver\\_artigo/200](http://www.oncologiapediatrica.org/index.php?/site/ver_artigo/200).
- [12] Brodeur, G.M. and J. Marris, *Neuroblastoma*, in *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, D.P. Philip Pizzo, Editor. 2005, Lippincott Williams & Wilkins. p. 933 - 970.
- [13] Heck, J.E., et al., *The epidemiology of neuroblastoma: a review*. Paediatr Perinat Epidemiol, 2009. **23**(2): p. 125-43.
- [14] Ferris i Tortajada, J., et al., *Risk factors for neuroblastoma*. An Pediatr (Barc), 2005. **63**(1): p. 50-60.

- [15] Tonini, G.P., et al., *Familial neuroblastoma: a complex heritable disease*. *Cancer Lett*, 2003. **197**(1-2): p. 41-5.
- [16] D'Angio, G.J., A.E. Evans, and C.E. Koop, *Special pattern of widespread neuroblastoma with a favourable prognosis*. *Lancet*, 1971. **1**(7708): p. 1046-9.
- [17] Nickerson, H.J., K.K. Matthay, and R.C. Seeger, *Favorable biology and outcome of stage IV-S neuroblastoma with supportive care or minimal therapy: a Children's Cancer Group study*. *J Clin Oncol*, 2000. **18**: p. 477-486.
- [18] Gambini, C., et al., *Neuroblastic tumors associated with opsoclonus-myoclonus syndrome: histological, immunohistochemical and molecular features of 15 Italian cases*. *Virchows Arch*, 2003. **442**(6): p. 555-62.
- [19] Kaplan, S., C. Holbrook, and H. McDaniel, *Vasoactive intestinal peptide secreting tumors of childhood*. *Am J Dis Child*, 1980. **134**: p. 21-24.
- [20] Qualman, S.J., M.S. O D'oriso, and D.J. Fleshman, *Neuroblastoma. Correlation of neuropeptide expression in tumor tissue with other prognostic factors*. *Cancer*, 1992. **70**: p. 2005-2012.
- [21] Brodeur, G.M., et al., *Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment*. *J Clin Oncol*, 1993. **11**(8): p. 1466-77.
- [22] Monsaingeon, M., et al., *Comparative values of catecholamines and metabolites for the diagnosis of neuroblastoma*. *Eur J Pediatr*, 2003. **162**: p. 397-402.
- [23] Carlin, S., et al., *Development of a realtime polymerase chain reaction assay for prediction of the uptake of meta-[(131)I]iodobenzylguanidine by neuroblastoma tumors*. *Clin Cancer Res*, 2003. **9**: p. 3338-3344.
- [24] Evans, A.E., G.J. D'Angio, and J. Randolph, *A proposed staging for children with neuroblastoma*. *Children's cancer study group A. Cancer*, 1971. **27**(2): p. 374-8.
- [25] Hayes, F.A., et al., *Surgicalpathologic staging of neuroblastoma: prognostic significance of regional lymph node metastases*. *J Pediatr*, 1983. **102**: p. 59-62.
- [26] Van Roy, N., et al., *The emerging molecular pathogenesis of neuroblastoma: implications for improved risk assessment and targeted therapy*. *Genome Med*, 2009. **1**(7): p. 74.
- [27] Bourdeaut, F., et al., *Germline mutations of the paired-like homeobox 2B (PHOX2B) gene in neuroblastoma*. *Cancer Lett*, 2005. **228**(1-2): p. 51-8.

- [28] Mosse, Y.P., et al., *Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene*. Nature, 2008. **455**(7215): p. 930-5.
- [29] Brodeur, G.M., et al., *Cytogenetic features of human neuroblastomas and cell lines*. Cancer Res, 1981. **41**(11 Pt 1): p. 4678-86.
- [30] Look, A.T., *Cellular DNA content as a predictor of response to chemotherapy in infants with unresectable neuroblastoma*. N Engl J Med, 1984. **311**(4): p. 231- 235.
- [31] Kaneko, Y. and A.G. Knudson, *Mechanism and relevance of ploidy in neuroblastoma*. Genes Chromosomes Cancer, 2000. **29**(2): p. 89-95.
- [32] Schwab, M., et al., *Amplified DNA with limited homology to myc cellular oncogene is shared by human neuroblastoma cell lines and a neuroblastoma tumour*. Nature, 1983. **305**(5931): p. 245-8.
- [33] Weiss, W.A., et al., *Targeted expression of MYCN causes neuroblastoma in transgenic mice*. EMBO J, 1997. **16**(11): p. 2985-95.
- [34] Seeger, R.C., et al., *Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastomas*. N Engl J Med, 1985. **313**(18): p. 1111-6.
- [35] White, P.S., et al., *A region of consistent deletion in neuroblastoma maps within human chromosome 1p36.2-36.3*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(12): p. 5520-4.
- [36] Guo, C., et al., *Allelic deletion at 11q23 is common in MYCN single copy neuroblastomas*. Oncogene, 1999. **18**(35): p. 4948-57.
- [37] Hallstenson, K., et al., *Representational difference analysis and loss of heterozygosity studies detect 3p deletions in neuroblastoma*. Eur J Cancer, 1997. **33**(12): p. 1966-70.
- [38] Schleiermacher, G., et al., *Chromosomal CGH identifies patients with a higher risk of relapse in neuroblastoma without MYCN amplification*. Br J Cancer, 2007. **97**(2): p. 238-46.
- [39] Van Roy, N., et al., *Analysis of 1;17 translocation breakpoints in neuroblastoma: implications for mapping of neuroblastoma genes*. Eur J Cancer, 1997. **33**(12): p. 1974-8.
- [40] Nakagawara, A. and G.M. Brodeur, *Role of neurotrophins and their receptors in human neuroblastomas: a primary culture study*. Eur J Cancer, 1997. **33**(12): p. 2050-3.
- [41] Cohn, S.L., et al., *The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG Task Force report*. J Clin Oncol, 2009. **27**(2): p. 289-97.

- [42] Breslow, N. and B. McCann, *Statistical estimation of prognosis for children with neuroblastoma*. Cancer Res, 1971. **31**(12): p. 2098-103.
- [43] Woods, W.G., R.N. Gao, and J.J. Shuster, *Screening of infants and mortality due to neuroblastoma*. N Engl J Med, 2002. **346**: p. 1041-1046.
- [44] Yamamoto, K., S. Ohta, and E. Ito, *Marginal decrease in mortality and marked increase in incidence as a result of neuroblastoma screening at six months of age: cohort study in seven prefectures in Japan*. J Clin Oncol, 2002. **20**: p. 1209-1214.
- [45] London, W.B., et al., *Evidence for an age cutoff greater than 365 days for neuroblastoma risk group stratification in the Children's Oncology Group*. J Clin Oncol, 2005. **23**(27): p. 6459-65.
- [46] Monclair, T., et al., *The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) staging system: an INRG Task Force report*. J Clin Oncol, 2009. **27**(2): p. 298-303.
- [47] Cecchetto, G., et al., *Surgical risk factors in primary surgery for localized neuroblastoma: the LNESG1 study of the European International Society of Pediatric Oncology Neuroblastoma Group*. J Clin Oncol, 2005. **23**(33): p. 8483-9.
- [48] Shimada, H., et al., *Histopathologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtypes of ganglioneuroblastoma and an age-linked classification of neuroblastomas*. J Natl Cancer Inst, 1984. **73**(2): p. 405-16.
- [49] Ambros, P.F., et al., *International consensus for neuroblastoma molecular diagnostics: report from the International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Biology Committee*. Br J Cancer, 2009. **100**(9): p. 1471-82.
- [50] De Bernardi, B., et al., *Treatment of localised resectable neuroblastoma. Results of the LNESG1 study by the SIOP Europe Neuroblastoma Group*. Br J Cancer, 2008. **99**(7): p. 1027-33.
- [51] Pearson, A.D., et al., *High-dose rapid and standard induction chemotherapy for patients aged over 1 year with stage 4 neuroblastoma: a randomised trial*. Lancet Oncol, 2008. **9**(3): p. 247-56.
- [52] Cheung, N.V. and G. Heller, *Chemotherapy dose intensity correlates strongly with response, median survival, and median progression-free survival in metastatic neuroblastoma*. J Clin Oncol, 1991. **9**: p. 1050-1058.
- [53] Pinkerton, C.R., *ENSG 1 - randomised study of high-dose melphalan in neuroblastoma*. Bone Marrow Transplant, 1991. **7**: p. 112-113.

- [54] Matthay, K.K., et al., *Long-term results for children with high-risk neuroblastoma treated on a randomized trial of myeloablative therapy followed by 13-cis-retinoic acid: a children's oncology group study*. J Clin Oncol, 2009. **27**(7): p. 1007-13.
- [55] Gilman, A.L., et al., *Phase I study of ch14.18 with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-2 in children with neuroblastoma after autologous bone marrow transplantation or stem-cell rescue: a report from the Children's Oncology Group*. J Clin Oncol, 2009. **27**(1): p. 85-91.
- [56] Wagner, L.M. and M.K. Danks, *New therapeutic targets for the treatment of high-risk neuroblastoma*. J Cell Biochem, 2009. **107**(1): p. 46-57.
- [57] Schmidt, M., et al., *Is there a benefit of 131 I-MIBG therapy in the treatment of children with stage 4 neuroblastoma? A retrospective evaluation of The German Neuroblastoma Trial NB97 and implications for The German Neuroblastoma Trial NB2004*. Nuklearmedizin, 2006. **45**(4): p. 145-51.
- [58] Van Maerken, T., et al., *Antitumor activity of the selective MDM2 antagonist nutlin-3 against chemoresistant neuroblastoma with wild-type p53*. J Natl Cancer Inst, 2009. **101**(22): p. 1562-74.

Tabelas.

Tabela 1 – Métodos recomendados para avaliação da extensão da doença. Adaptado de [21].

| Local                      | Exames recomendados  |
|----------------------------|--|
| <b>Tumor primário</b>      | TC e/ou RM com medições a 3D.<br>Cintilografia com <sup>123</sup> I-MIBG.  |
| <b>Metástases</b>          | Cintilografia com <sup>123</sup> I-MIBG.   |
| <b>Medula óssea</b>        | Biópsias aspirativas e core-needle da medula óssea (em ambas as cristas ilíacas) são necessárias para exclusão de metastização.  |
| <b>Ossos</b>               | Cintilografia com <sup>123</sup> I-MIBG. Cintilografia com tecnécio se <sup>123</sup> I-MIBG negativo ou indisponível. Recomenda-se radiografia das lesões detectadas no cintilograma. |
| <b>Gânglios linfáticos</b> | Exame físico (gânglios palpáveis) e confirmação histológica. TC com medições a 3D (gânglios não palpáveis).  |
| <b>Abdômen/fígado</b>      | TC e/ou RM com medições a 3D.  |
| <b>Tórax</b>               | Rx tórax (face e perfil).<br>TC/RM se o Rx for positivo ou se houver massa abdominal com extensão ao tórax.  |

Tabela 2 – Estadiamento do neuroblastoma: o International Neuroblastoma Staging System (INSS).

Adaptado de [21].

| <b>Estadio INSS</b> | <b>Descrição</b>   |
|---------------------|--|
| <b>1</b>            | Tumor localizado, do qual é possível efectuar ressecção completa com ou sem doença residual microscópica.<br>Gânglios linfáticos ipsilaterais histologicamente negativos (salvo se acoplados ao tumor primário, em que podem ser positivos).   |
| <b>2 A</b>          | Tumor localizado, do qual é impossível efectuar ressecção completa.<br>Gânglios linfáticos ipsilaterais e contralaterais histologicamente negativos.   |
| <b>2 B</b>          | Tumor localizado, do qual é possível efectuar excisão completa ou incompleta.<br>Gânglios linfáticos ipsilaterais histologicamente positivos e gânglios contralaterais negativos.  |
| <b>3</b>            | Tumor irressecável unilateral com infiltração na linha média, com ou sem envolvimento ganglionar. Ou...<br>Tumor localizado unilateral com gânglios linfáticos contralaterais. Ou...<br>Tumor da linha média com extensão bilateral (por infiltração do tumor ou por envolvimento ganglionar). |
| <b>4</b>            | Tumor primário com metástases em gânglios linfáticos distantes, osso, medula óssea, fígado, pele ou outros órgãos.   |
| <b>4 S</b>          | Tumor primário localizado, como definido nos estadios 1, 2A e 2B, com metástases restritas à pele, fígado e/ou medula óssea (<10% de células neoplásicas) em lactentes (idade < 1 ano).  |

Tabela 3 – Esquema de classificação pré-tratamento do International Neuroblastoma Risk Group

Adaptado de [41].

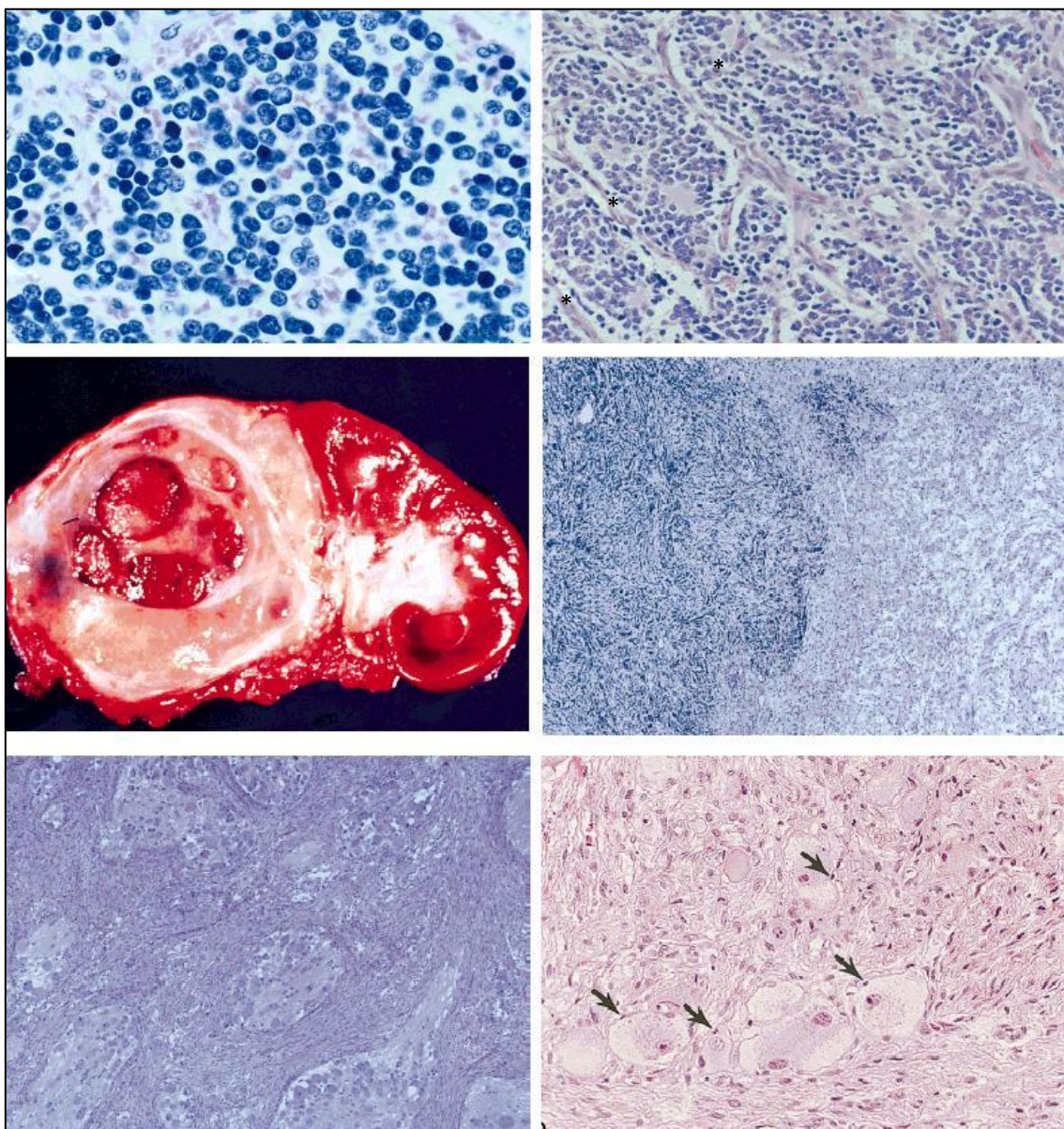
| Estadio INRG* | Idade (meses) | Categoria Histológica   | Grau de diferenciação                | N-myc           | Aberração de 11q | Ploidia       | Grupo de Risco Pré-Tratamento |
|---------------|---------------|---|--------------------------------------|-----------------|------------------|---------------|-------------------------------|
| <b>L1/L2</b>  |               | Ganglioneuroma em maturação;<br>Ganglioneuroblastoma <i>intermixed</i>                  |                                      |                 |                  |               | A (Muito baixo)               |
| <b>L1</b>     |               | Qualquer, excepto Ganglioneuroma em maturação ou Ganglioneuroblastoma <i>intermixed</i> |                                      | Não Amplificado |                  |               | B (Muito baixo)               |
|               |               |   |                                      | Amplificado     |                  |               | K (Alto)                      |
| <b>L2</b>     | < 18          | Qualquer, excepto Ganglioneuroma em maturação ou Ganglioneuroblastoma <i>intermixed</i> |                                      | Não Amplificado | Não              |               | D (Baixo)                     |
|               |               |   |                                      |                 | Sim              |               | G (Intermédio)                |
|               | ≥ 18          | Ganglioneuroblastoma nodular;<br>Neuroblastoma  | Em diferenciação                     | Não Amplificado | Não              | Sim           | E (Baixo)                     |
|               |               |   | Pouco diferenciado ou indiferenciado | Não Amplificado |                  |               | H (Intermédio)                |
|               |               |   | Amplificado                          |                 |                  | N (Alto)      |                               |
| <b>M</b>      | < 18          |   |                                      | Não Amplificado |                  | Hiperdiplóide | F (Baixo)                     |
|               | < 12          |   |                                      | Não Amplificado |                  | Diplóide      | I (Intermédio)                |
|               | 12 a 18       |   |                                      | Não Amplificado |                  | Diplóide      | J (Intermédio)                |
|               | < 18          |   |                                      | Amplificado     |                  |               | O (Alto)                      |
|               | ≥ 18          |   |                                      |                 |                  |               | P (Alto)                      |
| <b>MS</b>     | < 18          |   |                                      | Não Amplificado | Não              |               | C (Muito baixo)               |
|               |               |   |                                      | Amplificado     | Sim              |               | Q (Alto)                      |
|               |               |   |                                      |                 |                  |               | R (Alto)                      |

Campos não preenchidos: “qualquer”.

\*Estadio INRG: L1 – tumor localizado confinado a uma cavidade corporal e sem factores de risco definidos imagiologicamente; L2 – tumor locorregional com um ou mais factores de risco definidos imagiologicamente; M – doença disseminada, exceptuando MS; MS – doença disseminada confinada à pele, fígado e/ou medula óssea em criança com menos de 18 meses.

Figuras.

Figura 1 – Aspecto macroscópico e microscópico dos tumores neuroblásticos. Adaptado de [3].



Legenda: Em cima à esquerda, um neuroblastoma (tumor pobre em estroma de Schwann) indiferenciado. É constituído por neuroblastos indiferenciados e não é detectável neurópilo entre os corpos celulares dos neuroblastos. Ampliação: 200x.

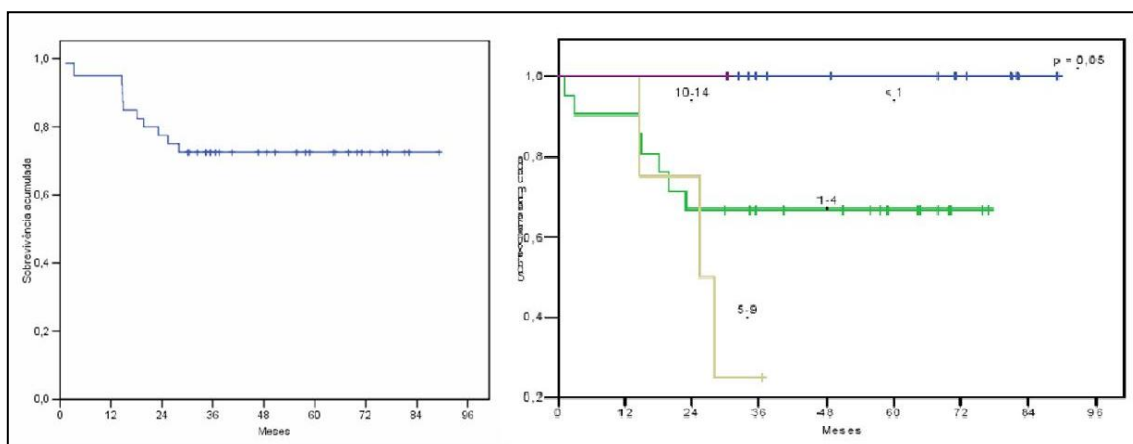
Em cima à direita, um neuroblastoma pouco diferenciado. É constituído por neuroblastos indiferenciados com neurópilo detectável (\*). Ampliação: 100x.

No meio à esquerda, o aspecto macroscópico de um ganglioneuroblastoma nodular (tumor composto por áreas ricas em estroma/predomínio de estroma e áreas pobres em estroma). São visíveis áreas hemorrágicas correspondentes ao tecido pobre em estroma; no meio à direita, aspecto histológico de um ganglioneuroblastoma nodular: no lado direito existe uma área pobre em estroma, que se insinua e infiltra a área com predomínio de estroma, na parte esquerda da imagem. Ampliação: 40x.

Em baixo à esquerda, um ganglioneuroblastoma, *intermixed* (tumor rico em estroma). Ampliação: 40x.

Em baixo à direita, um ganglioneuroma (tumor com predomínio de estroma) maduro. São visíveis células ganglionares totalmente diferenciadas (setas) envolvidas individualmente por estroma de Schwann. Ampliação: 200x.

Figura 2 – Curvas de sobrevivência do neuroblastoma em Portugal, região Norte [11].



Legenda: Curvas de sobrevivência global (à esquerda) e por grupo etário (à direita; a azul menos de 1 ano de idade, a verde dos 1 aos 4 anos, a cinzento dos 5 aos 9 anos e a roxo dos 10 aos 14 anos).