

## Índice

<b>I- RESUMO</b> .....	<b>ii</b>
<b>II- ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>III- ABREVIATURAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>IV- INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>V- OBJECTIVOS</b> .....	<b>21</b>
<b>VI- MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
<b>VII- RESULTADOS</b> .....	<b>27</b>
<b>VIII- DISCUSSÃO E CONCLUSÕES</b> .....	<b>58</b>
<b>IX- BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>69</b>
<b>X- AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>77</b>

## **I-RESUMO**

---

O Linfoma de Hodgkin Clássico (LHC) é uma neoplasia caracterizada pela presença de células clonais malignas, designadas de Células de Hodgkin e de Reed-Sternberg, com origem maioritariamente em células B, dispersas num fundo heterogéneo de células inflamatórias não neoplásicas. Representa cerca de 95% de todos os Linfoma de Hodgkin. Compreende 4 subtipos: Esclerose Nodular, Celularidade Mista, Rico em Linfócitos e Depleção Linfocitária.

As estratégias terapêuticas actuais conferem mais de 80% de probabilidade de cura nos doentes com LHC. No entanto, aproximadamente 20% dos doentes são primariamente refractários, apresentando má resposta às terapêuticas de segunda linha e sobrevivências globais baixas, e 20-40% recidivam após terapêutica de primeira linha. Várias variáveis clínicas, laboratoriais e biológicas têm sido utilizadas como factores de prognóstico para estratificação dos doentes em grupos de risco, com o objectivo de individualizar a terapêutica, reduzir a incidência de recidivas e de doença refractária, e de minimizar a toxicidade sem comprometer o controlo da doença.

Com este trabalho pretendeu-se realizar a caracterização epidemiológica, clínica e laboratorial dos doentes com LHC diagnosticados e tratados consecutivamente nos Hospitais da Universidade de Coimbra nos últimos 20 anos, e avaliar a eficácia das terapêuticas instituídas para melhor compreender a sua evolução.

Para o efeito realizou-se um estudo retrospectivo que englobou 276 doentes com LHC, diagnosticadas no período de 1 de Janeiro de 1990 a 31 de Dezembro de 2009. Foram pesquisadas múltiplas variáveis: demográficas, clínicas, laboratoriais, histológicas, terapêutica e resposta obtida, toxicidade tardia e morte. Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando o programa PASW (SPSS®) v.18.0.

Dos 279 doentes, a maioria era do sexo masculino (55,4%; n=153), com idade mediana de 29 anos (mínimo: 12 anos; máximo: 80 anos), com um pico de incidência na 2ª década de vida.

A Esclerose Nodular foi o subtipo histológico mais frequente (76,5%; n=211), seguido da Celularidade Mista (11,2%, n=31), da Depleção Linfocitária (6,5%; n=18) e do Rico em Linfócitos (5,8%; n=16). Observou-se que os subtipos histológicos apresentavam distribuição variável de acordo com a década do diagnóstico, o grupo etário e o sexo. Na 2ª década de diagnóstico, salienta-se a redução da frequência dos subtipos histológicos, com exceção da Esclerose Nodular, a maior frequência do Rico em Linfócitos no sexo masculino (*ratio* masculino/feminino: 4,3/1), que apresenta distribuição etária bimodal, e o subtipo Depleção Linfocitária em que a mediana de idade foi mais elevada (40,5 anos).

Além disso, os nossos resultados mostram que dos 275 doentes avaliáveis, 61,1% estavam no estágio clínico I e II e 38,9% no estágio III e IV, 56,7% tinham sintomas B, 21,8% tinham doença *bulky*, 5,8% envolvimento esplênico e 2,2% doença extranodal, à data do diagnóstico. Relativamente à distribuição por grupos de prognóstico do *German Hodgkin Lymphoma Study Group (GHSB)*, observámos que 15,6% dos doentes estavam no estágio inicial favorável, 35,2% no estágio intermédio, e 50,2% se encontravam no estágio avançado.

A análise dos resultados evidenciou que o tipo de terapêutica utilizada foi a radioterapia isolada em 11 doentes (4%), apenas quimioterapia em 149 doentes (54,6%), enquanto que 113 doentes (41,4%) fizeram quimioterapia combinada com radioterapia. A quimioterapia combinada com radioterapia foi usada predominantemente nos estádios clínicos I e II, enquanto que os doentes nos estádios III e IV fizeram maioritariamente apenas quimioterapia. Os regimes de quimioterapia mais usados foram o ABVD (Adriamicina, Bleomicina, Vimblastina, Dacarbazina), associados ou não a radioterapia (58,9% dos casos), seguido dos regimes híbridos (esquemas terapêuticos que combinam o ABVD e o MOPP) associados ou não a radioterapia em 19,3%, e em apenas 7,3% dos doentes foi utilizado o esquema MOPP (Mecloroetamina, Vincristina, Procarbazina, Prednisolona) sem ou com radioterapia associada.



A taxa de resposta global (TRG) dos 259 doentes avaliáveis foi de 84,2%. A taxa de resposta completa (RC) foi de 77,6%, enquanto 15,9% dos doentes apresentaram doença estável (DE) ou progressiva (DP). Verificou-se aumento da taxa de RC da 1ª para a 2ª década, de 73,3% para 82,3%, com redução da taxa de DE e DP, mas sem significado estatístico ( $p=0,349$ ). Esta melhoria sugere ser secundária à alteração da estratégia terapêutica que observámos entre as 2 décadas. Os doentes com DE e DP eram maioritariamente do sexo feminino (51,2%), dos estádios III e IV (63,4%), 78% tinham sintomas B e 82,9% pertenciam ao estágio avançado de acordo com o IPS (*International Prognostic Score*). Dos 259 doentes do nosso estudo avaliáveis, 32 recidivaram, sendo a maioria do sexo masculino (59,4%), com uma mediana de idades de 36 anos (mínimo: 12 anos; máximo: 77 anos). Além disso, ao diagnóstico 59,4% destes doentes estavam nos estádios I e II, 50% tinham sintomas B e 50% do estágio avançado. Metade dos doentes recidivou em menos de 12 meses após RC.

Identificaram-se 14 casos de neoplasias secundárias em média 67,6 meses ( $DP\pm 52,5$  meses) após o diagnóstico de LHC, sendo a maioria de origem hematológica (8 casos). A principal causa de morte foi a progressão da doença em 41 doentes.

Por outro lado, apesar da heterogeneidade das terapêuticas efectuada, a Sobrevivência Global (SG) e a Sobrevivência Livre de Progressão (SLP) aos 5 anos foram de 84,6% e 68,1%, respectivamente. Estes resultados são globalmente inferiores aos descritas na maioria de outros estudos publicados, provavelmente devido à diversidade da população estudada e das terapêuticas efectuadas. No entanto, os grupos de prognóstico do GHSG e a quimioterapia combinada com radioterapia mostraram influenciar significativamente a SG e a SLP

Assim, a utilização sistemática de uma estratégia terapêutica dirigida por grupos de prognóstico é fundamental para a melhoria do *outcome* dos doentes com LHC.

Palavras-chave: Linfoma de Hodgkin Clássico, prognóstico, terapêutica, sobrevivência global, sobrevivência livre de progressão

***II-ABSTRACT***

---

Classical Hodgkin Lymphoma (CHL) is a neoplasia composed by clonal malignant cells designated Hodgkin and Reed-Sternberg cells, mainly of B cell origin, dispersed in a heterogeneous background of inflammatory non neoplastic cells. It represents 95% of all Hodgkin Lymphomas. It comprehends 4 subtypes: Nodular Sclerosis, Mixed Cellularity, Lymphocyte-Rich and Lymphocyte-Depleted.

The actual therapeutic strategies provide more than 80% of probability of cure in CHL patients. Almost 20% of the patients are primarily refractory, with bad response to second line therapies and low overall survival, and 20-40% relapses after first line treatment. Several clinical, laboratory and biological variables have been used as prognostic factors to stratify patients in risk groups, with the objective of individualizing the treatment, reducing the incidence of relapses and refractory disease, and to minimize toxicity without compromising the disease control

Our aim was to do the epidemiological, clinical and laboratorial characterization of CHL patients diagnosed and treated consecutively in Hospitais da Universidade de Coimbra in the last 20 years, evaluating the efficacy of the treatments, to better understand their outcome.

This was a retrospective study of 276 patients with CHL, diagnosed between the 1<sup>st</sup> of January of 1990 and the 31<sup>st</sup> of December of 2009. Several variables were analyzed: demographical, clinical, laboratorial, histological, therapeutic and the responses attained, late toxicity and death. All results were analyzed with the PASW (SPSS®) v.18.0 program.

A total of 279 patients were analyzed, mostly male (55,4%; n=153), with a median age of 29 years (range::12-80 years), with a peak of incidence in the second decade of life. The nodular Sclerosis was the most frequent histological subtype (76,5%; n=211), followed by Mixed Cellularity (11,2%, n=31), Lymphocyte-Depleted (6,5%; n=18) and Lymphocyte-Rich (5,8%; n=16). The histological subtypes showed a different distribution according to the decade of

diagnosis, by age group and sex. It was notorious the reduction of non Nodular Sclerosis histological subtypes in the second decade of diagnosis, the higher frequency of Lymphocyte-Rich in males (*ratio* male/female: 4,3/1), that had a bimodal age distribution, and that Lymphocyte-Depleted had a higher median age of 40,5 years.

Our results also showed that of the 275 evaluable patients, 61,1% had stage I and II de Ann Arbor and 38,9% had stage III e IV, 56,7% had B symptoms, 21,8% had *bulky* disease, 5,8% spleen involvement e 2,2% extranodal disease at the time of diagnosis. Concerning the distribution by prognostic group of the *German Hodgkin Lymphoma Study Group (GSGH)*, we observed that 15,6% had early favorable stage, 35,2% had early unfavorable stage e 50,2% had advanced stage.

The results analysis showed that the treatment modality was radiotherapy alone in 11 patients (4%), chemotherapy alone in 149 patients (54, 6%) and combined modality (chemotherapy plus radiotherapy) in 113 (41,4%) patients. Combined modality was used mostly in stage I and II, and chemotherapy alone mainly in stage III and IV. The most frequently used chemotherapy regimens were ABVD (Adriamycin, Bleomycin, Vimblastine, Dacarbazine), with or without radiotherapy (58,9% of the cases), followed by the hybrid regimens (therapeutic regimens that combine ABVD and MOPP) with or without radiotherapy in 19,3%, and MOPP (Mechloroethamin, Vincristine, Procarbazine, Prednisone) with or without radiotherapy in only 7,3%.of the patients.

The overall response rate of 259 evaluable patients was 84,2%. The complete response rate (CR) was 77,6% of and 15,9% of patients with stable (SD) or progressive disease (PD). We noticed an increase of the CR rate in the second decade from 73,3% to 82,3%, associated with the reduction of SD and PD, but without statistical significance ( $p=0,349$ ). This improvement suggests that is secondary to the change in the therapeutic strategy that we observed between

the two decades. Most patients with SD and PD were female (51,2%), 63,4% had stage III and IV, 78% had B symptoms and 82,9% had advanced stage by the IPS (International Prognostic Score). Of the 259 evaluable patients, 32 patients relapsed, mostly males (59,4%), with a median age of 36 years (range: 12 - 77 years), 59,4% had stage I e II at diagnosis, 50% had B symptoms e 50% had advanced stage by the IPS. Half of the patients relapsed less than 12 months after CR.

We have identified 14 cases of secondary neoplasias on average 67,6 months (SD±52,5 months) after diagnosis, mainly of hematological origin (8 cases).The main cause of death was progressive disease in 41 patients.

Despite the heterogeneity of the therapies used, the overall (OS) and the progression free survival (PFS) at 5 years were 84,6% e 68,1%, respectively. These results are generally inferior to those published in most other studies, probably due to the diversity of the population studied and treatments carried out. However, the GHSG prognostic groups and the combined modality influenced significantly the OS and the PFS. The systematic use of risk adapted therapeutic strategy is essential to improve the outcome of CHL patients.

Key-words: Classical Hodgkin Lymphoma, prognosis, treatment, overall survival, progression free survival

### ***III-ABREVIATURAS***

---

ABVD- Adriamicina, Bleomicina, Vimblastina, Dacarbazina

AREB- Anemia Refractária com Excesso de Blastos

BEACOPP- Bleomicina, Etoposídeo, Adriamicina, Ciclofosfamida, Vincristina, Procarbazina, Prednisolona

CM- Celularidade Mista

DL- Depleção Linfocitária

DP- Desvio Padrão

EBV- Vírus de Epstein Barr

EN- Esclerose Nodular

EORTC- *European Organization for Research and Treatment of Cancer*

EUROCARE- *European cancer registry-based study on survival and care of cancer patients*

GHSG- *German Hodgkin Lymphoma Study Group*

HRS- Células de Hodgkin e Reed-Sternberg

HUC- Hospitais da Universidade de Coimbra, EPE

IL1-RA- *Interleukin 1 receptor antagonist*

IL-6- Interleucina 6

IPS- *International Prognostic Score*

LHC- Linfoma de Hodgkin Clássico

LMA- Leucemia Mieloblástica Aguda

LMMC- Leucemia Mielomonocítica Crónica

LMP1- *Latent Membrane Protein 1*

LNH- Linfoma Não Hodgkin

MOPP- Mecloroetamina, Vincristina, Procarbazina, Prednisolona

RC- Remissão Completa

RL- Rico em Linfócitos

RT- Radioterapia

SG- Sobrevivência Global



SLP- Sobrevivência Livre de Progressão

SEER- Surveillance, Epidemiology and End Results

SMD- Síndromes Mielodisplásicas

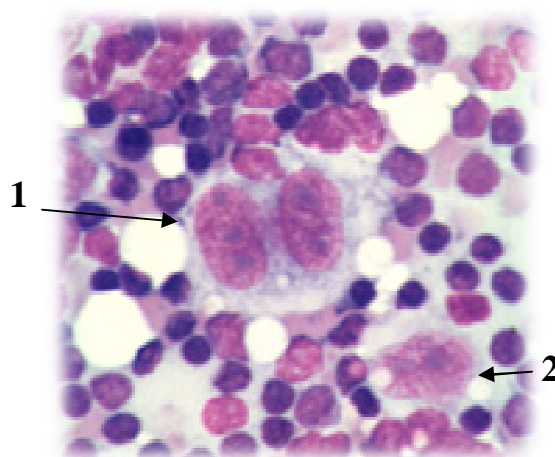
TiA1- *T-cell restricted intracellular antigen-1*

TRG- Taxa de Resposta Global

## **IV-INTRODUÇÃO**

---

O Linfoma de Hodgkin (LH), descrito pela primeira vez por Thomas Hodgkin e Samuel Wilks no século XIX, é uma neoplasia rara constituída por pequeno número de grandes células neoplásicas mononucleadas e multinucleadas, designadas por células de Hodgkin e Reed-Sternberg (HRS) (fig.1), respectivamente, com origem maioritariamente em células B, e distribuídas num fundo de abundantes células não-neoplásicas inflamatórias e acessórias (Stein H, 2008).

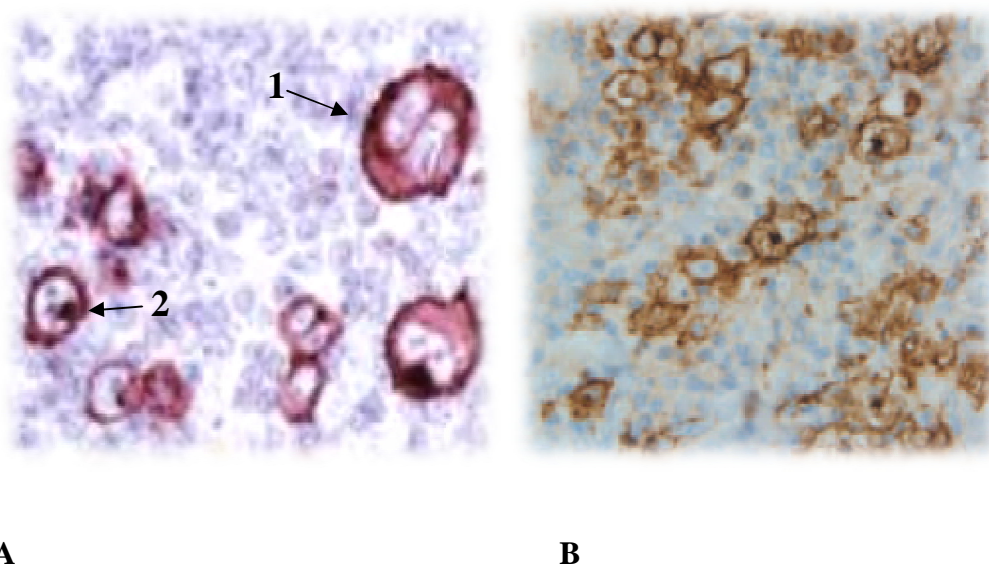


**Fig 1: Linfoma de Hodgkin Clássico. Visualizam-se células multinucleadas de Reed-Sternberg (1) e células mononucleadas de Hodgkin (2).** (Adaptado de Bain BJ, 1999)

O Linfoma de Hodgkin representa cerca de 10% de todos os linfomas (Ries LA *et al*, 1997), apresentando uma incidência baixa e relativamente estável, com um ligeiro predomínio no sexo masculino e uma distribuição etária em curva bimodal (Glaser SL *et al*, 2010). Compreende duas entidades clínicas e anatomopatológicas distintas: o Linfoma de Hodgkin Clássico (LHC) e o Linfoma de Hodgkin de Predomínio Linfocítico Nodular (LHPLN), sendo que esta última representa apenas cerca de 5% de todos os Linfomas de Hodgkin.

No LHC distinguem-se quatro subtipos: a Esclerose Nodular (EN), a Celularidade Mista (CM), o Rico em Linfócitos (RL) e a Depleção Linfocitária (DL). Estes diferem nas

características clínicas, embora o imunofenótipo das células tumorais seja idêntico. As células HRS parecem ser derivadas das células B do centro germinativo ou pós-centro germinativo, perdendo contudo as características imunofenotípicas das células do centro germinativo, como a proteína BCL-6 (Falini B *et al*, 1996). Assim, estas células expressam tipicamente o CD30 e em 85% dos casos o CD15, mas não expressam os marcadores típicos de células B, como o CD19, o CD20, e o CD79a (fig.2). No entanto, cerca de 33% dos casos de LHC expressam o CD20, o qual tem sido referido nalguns estudos como marcador de prognóstico adverso (Portlock CS *et al*, 2004).



**Fig 2: Linfoma de Hodgkin Clássico. A- Visualizam-se células multinucleadas de Reed-Sternberg (1) e células mononucleadas de Hodgkin (2) a expressar selectivamente o CD30; B- Expressão de CD15 a nível membranar e paranuclear em células HRS**  
(Adaptado de Stein H, 2008; Yung L, Linch D, 2005)

Vários factores foram associados a maior risco de desenvolvimento do Linfoma de Hodgkin, nomeadamente história prévia de infecção pelo vírus de Epstein Barr (EBV), imunodeficiência associada à transplantação de órgãos sólidos ou de progenitores

hematopoiéticos, ao uso de fármacos imunossupressores e à infecção VIH, e a antecedentes de doenças autoimunes, como a artrite reumatóide ou o lúpus eritematoso sistémico (Diehl V et al, 2005; Stein H, 2008; Kristinsson SY et al, 2009).

O estadiamento clínico, isto é, a avaliação da extensão da doença, é estabelecido pelo sistema de estadiamento de Cotswolds modificado da classificação de Ann Arbor, e que é constituído por 4 estádios (tabela I).

**Tabela I: Estadiamento de Ann Arbor (modificação de Cotswolds)**

<b>Estádio</b>	<b>Descrição</b>
<b>Estádio I</b>	Envolvimento de uma única região ganglionar, de uma estrutura linfóide (ex: Baço, Timo, Anel de Waldeyer), ou de um único local extralinfático (IE)
<b>Estádio II</b>	Envolvimento de 2 ou mais regiões ganglionares do mesmo lado do diafragma; envolvimento localizado de um único órgão ou local extranodal contíguo à região ganglionar do mesmo lado do diafragma (IIE)
<b>Estádio III</b>	Envolvimento de regiões ganglionares de ambos os lados do diafragma, que pode ser associado a envolvimento esplénico (IIIS) ou a envolvimento localizado contíguo de um único órgão ou local extranodal (IIIE)
<b>Estádio IV</b>	Envolvimento difuso ou disseminado de 1 ou mais órgãos extranodais, com ou sem envolvimento ganglionar associado.
<b>Designações aplicáveis a qualquer estádio</b>	
<b>A</b>	Sem sintomas
<b>B</b>	Sudorese nocturna, emagrecimento inexplicável superior a 10% do peso corporal nos 6 meses precedentes, febre (temperatura >38°C),
<b>X</b>	Doença volumosa ou <i>Bulky</i> (aumento superior a 1/3 do diâmetro do mediastino ou a presença de uma massa nodal com diâmetro máximo superior a 10cm)
<b>E</b>	Envolvimento localizado de um único local extranodal contíguo ou proximal à região ganglionar

(Adaptado de Diehl V *et al*, 2004)

O estágio clínico e a presença de factores de prognóstico adverso, permitem estratificar os doentes com LHC em três grupos de risco segundo o *German Hodgkin Lymphoma Study Group* (GHSg): estágio inicial favorável, estágio inicial desfavorável (ou intermédio) e estágio avançado (tabela II), e prever a sua evolução.

**Tabela II: Grupos de risco do *German Hodgkin Lymphoma Study Group***

<b>Grupos de risco</b>	<b>Factores de risco</b>
<b>Estádio Inicial Favorável</b>	Estádio clínico I/II sem FR
<b>Estádio Inicial Desfavorável Ou Intermédio</b>	Estádio clínico IA ou B/II A com FR $\geq 1$ ; Estádio clínico IIB com FR 3 e/ou 4, sem FR 1 e/ou 2
<b>Estádio Avançado</b>	Estádio clínico IIB com FR 1 e/ou 2 Estádio clínico III-IV

FR: factores de risco: 1-massa mediastínica volumosa (razão entre o maior diâmetro de uma massa mediastínica e o diâmetro máximo intratorácico  $>0.33$ ); 2-doença extra-nodal; 3-velocidade de sedimentação elevada (velocidade de sedimentação:  $\geq 50$  mm sem sintomas B ou  $\geq 30$  mm com sintomas B); 4-regiões ganglionares envolvidas  $\geq 3$ . (Adaptado de: Diehl V. *et al*, 2003)

Para os estádios avançados foi desenvolvido um *score* prognóstico pelo *International Prognostic Factor Project* (Hasenclever D, Diehl V, 1998) com o objectivo de identificar os doentes que podem beneficiar de uma estratégia terapêutica individualizada, já que permite prever as taxas de Sobrevivência Livre de Progressão (SLP) aos 5 anos e a Sobrevivência Global (SG). O *International Prognostic Score* (IPS) baseia-se em 7 factores que

demonstraram ter um efeito prognóstico independente semelhante (Tabela III). A presença de 3 ou mais factores de prognóstico estão associados a uma SLP de 55% e a uma SG esperada de 70% aos 5 anos.

**Tabela III: *International Prognostic Score***

<b>Factores de Prognóstico</b>	Albumina sérica < 4g/dL
	Hemoglobina < 10,5 g/dL
	Sexo Masculino
	Estádio Clínico IV
	Idade ≥ 45 anos
	Contagem Leucocitária ≥ 15000/μL
	Contagem Linfocitária < 600/μL ou <8% da contagem leucocitária

(Adaptado de: Hasenclever D, Diehl V, 1998)

Outros factores foram associados a mau prognóstico, nomeadamente o aumento da desidrogenase láctica sérica, a infecção latente pelo EBV nas células tumorais, os níveis circulantes elevados de CD30, IL1-RA e IL-6, a infiltração tecidular por macrófagos, eosinófilos e mastócitos, e a expressão de BCL-2 e IL-6 nas células de Reed-Sternberg (Canioni D *et al* 2009; Steidl C *et al* 2010).

Nos últimos 50 anos foram desenvolvidos múltiplos esquemas terapêuticos, transformando o LHC numa doença potencialmente curável (Diehl V *et al*, 2005). A

estratificação em grupos de risco tem como objectivo adequar a intensidade da terapêutica ao risco de recidiva, não esquecendo a toxicidade tardia potencial

Actualmente, a terapêutica *standard* do estágio inicial favorável, como ficou demonstrado no ensaio HD 10 do GHSG (Engert A *et al*, 2010) é a associação de 2 ciclos ABVD (Adriamicina, Bleomicina, Vimblastina, Dacarbazina) a radioterapia (RT) de campo envolvido (20 GY). No estágio intermédio recomendam-se 4 ciclos ABVD seguido de RT de campo envolvido (36 a 40 GY), como ficou estabelecido nos ensaios HD 8 do GHSG e H8U da EORTC (*European Organization for Research and Treatment of Cancer*) (Richardson SE *et al*, 2011).

Nos estádios avançados os regimes como o MOPP (Mecloroetamina, Vincristina, Procarbazina, Prednisolona), MOPP-like ou regimes híbridos MOPP/ABV; MOPP/ABVD híbrido ou alternado) não são recomendados (Brusamolino E *et al*, 2009). O regime ABVD tem melhores resultados do que o esquema MOPP (SG: 75% vs 66%), tendo uma eficácia semelhante aos regimes híbridos nas taxas de remissão completa (RC) (76% vs 80%), na SLP aos 5 anos (63% vs 66%) e na SG aos 5 anos (82 vs 81%) (Duggan DB, 2003); e é menos tóxico com menor incidência de esterilidade, de Síndromes Mielodisplásicas (SMD) e Leucemias Mieloblásticas Agudas (LMA) secundárias. Assim, o *standard of care* é 6 a 8 ciclos ABVD. Os resultados de ensaios com regimes mais intensivos, como o BEACOPP escalonado (Bleomicina, Etoposideo, Adriamicina, Ciclofosfamida, Vincristina, Procarbazina, Prednisolona), com impacto muito significativo na SLP e SG (82% e 86% aos 10 anos) questionam o papel do ABVD na terapêutica do LHC estágio avançado, apesar da toxicidade imediata e tardia ser superior (Engert A *et al*, 2009).



## **V-OBJECTIVOS**

---

Com este trabalho pretendemos avaliar as características epidemiológicas, clínicas e patológicas, bem como o resultado da terapêutica de primeira linha instituída aos doentes com Linfoma de Hodgkin Clássico tratados nos Hospitais da Universidade de Coimbra nos últimos 20 anos, e a sua evolução.

## **VI-MATERIAIS E MÉTODOS**

---

### **VI.1-População em estudo**

Neste estudo retrospectivo foram incluídos, anonimamente, os dados clínicos, laboratoriais e terapêuticos de todos os doentes com diagnóstico de LHC comprovado histologicamente, e tratados no Serviço de Hematologia Clínica dos HUC no período de 1 de Janeiro de 1990 a 31 de Dezembro de 2009. Foram excluídos os doentes que realizaram terapêuticas de primeira linha noutras instituições hospitalares, que foram referenciados para o serviço de Hematologia para tratamento de segunda linha e/ou autotransplante de células progenitoras hematopoiéticas periféricas, bem como os doentes com infecção pelo VIH. Os dados foram analisados globalmente, e posteriormente divididos em 2 décadas, de 1990 a 1999 e de 2000 a 2009.

### **VI.2-Recolha de dados**

Com base nos registos informáticos dos HUC foi possível identificar e definir a amostra a estudar. Posteriormente foi efectuada a recolha de dados demográficos, clínicos, anatomopatológicos, laboratoriais e terapêuticos através da consulta dos processos clínicos arquivados nos HUC.

### **VI.3-Variáveis**

Foram pesquisadas múltiplas variáveis:

- 1) Biográficas: idade, sexo, local de residência;
- 2) Antecedentes pessoais, nomeadamente a existência de doenças auto-imunes prévias.

- 3) Forma de apresentação clínica da doença, nomeadamente a presença ou ausência de sintomas B (febre inexplicável superior a 38°C, sudorese noturna e emagrecimento superior a 10% do peso corporal em 6 meses) e o estadiamento clínico de Ann Arbor ao diagnóstico, registando a existência de envolvimento extra-nodal e de massas tumorais volumosas (*bulky*). Estas foram definidas como qualquer massa com diâmetro igual ou superior a 10 cm observada em Tomografia Axial computadorizada (TAC) ou *Positron Emission Tomography* (PET), ou pela razão entre o maior diâmetro de uma massa mediastínica e o diâmetro intratorácico máximo, quando superior a 1/3 na radiografia do tórax (Diehl V. *et al*, 2003);
- 4) Subtipos histológicos do LHC, definidos pelos critérios da Classificação da OMS para os Tumores dos Tecidos Hematopoiéticos e Linfóides (Stein H, 2008);
- 5) Principais alterações laboratoriais ao diagnóstico, sobretudo as que têm impacto no prognóstico, como a concentração de hemoglobina, a contagem de leucócitos e respectivo diferencial e a velocidade de sedimentação;
- 6) Protocolos terapêuticos usados em primeira linha, e linhas terapêuticas subsequentes, avaliando-se a resposta à terapêutica instituída segundo os critérios do *International Working Group Response Criteria* (Cheson B *et al*, 1999) para o período pré-PET, e os *Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma* (Cheson B *et al*, 2007) para os doentes que efectuaram PET.
- 7) Avaliação da duração da resposta e sobrevivência, nomeadamente a SG e a SLP.
- 8) Toxicidades tardias, nomeadamente cardíaca, tiroideia, pulmonar e ocorrência de segundas neoplasias.

- 9) Registo da condição clínica (*status vital*) no final do estudo (vivo ou falecido) e a(s) causa(s) do óbito.

#### **VI.4-Análise estatística**

Todos os dados recolhidos foram submetidos a tratamento estatístico, utilizando o programa PASW (SPSS®) v.18.0.

Sendo um estudo observacional, retrospectivo, meramente descritivo, numa primeira fase de tratamento dos dados foi efectuada uma análise univariada, através das frequências, da média, do desvio-padrão e da mediana. O teste do Qui-quadrado foi usado para a comparação de proporções e o teste T para a comparação de médias. Para compararmos mais de 2 grupos utilizou-se a ANOVA. A análise da sobrevivência foi realizada pelo método de Kaplan-Meier. Em todos os testes utilizados considerou-se um nível de significância estatística a 95% ( $p < 0.05$ ).

## ***VII-RESULTADOS***

---

**VI.1- Caracterização da amostra**

Na Tabela IV estão representadas as características dos 276 doentes com LHC diagnosticados entre 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009 no Serviço de Hematologia dos HUC, relativamente à distribuição etária, mediana de idades e distribuição por sexo.

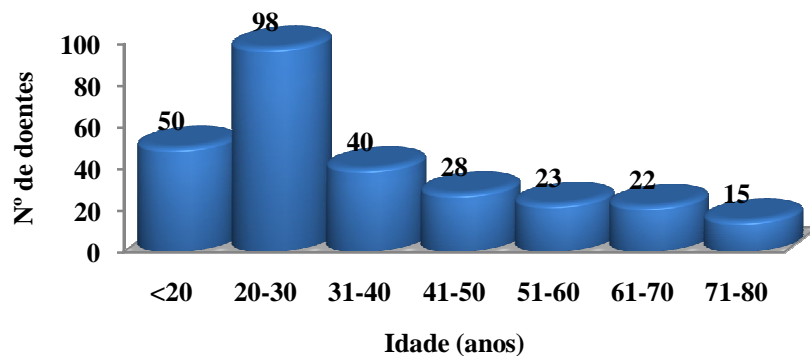
**Tabela IV: Características dos doentes com LHC diagnosticados entre 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009**

		<b>n=276</b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>	<b>Masculino</b>	153	55,4
	<b>Feminino</b>	123	44,6
	<b>Ratio M/F</b>	1,2/1	-
<b>Idade</b>	<b>Mediana (anos)</b>	29	-
	<b>Máx/Min (anos)</b>	12/80	-
<b>Idade Mediana (anos)</b>	<b>Sexo Masculino</b>	31	-
	<b>Sexo Feminino</b>	27	-
<b>Max/Min (anos)</b>	<b>Sexo Masculino</b>	12/80	-
	<b>Sexo Feminino</b>	12/77	-

*Ratio M/F<sup>#</sup>*-Razão Masculino/Feminino; Max/Min- Máximo/Mínimo

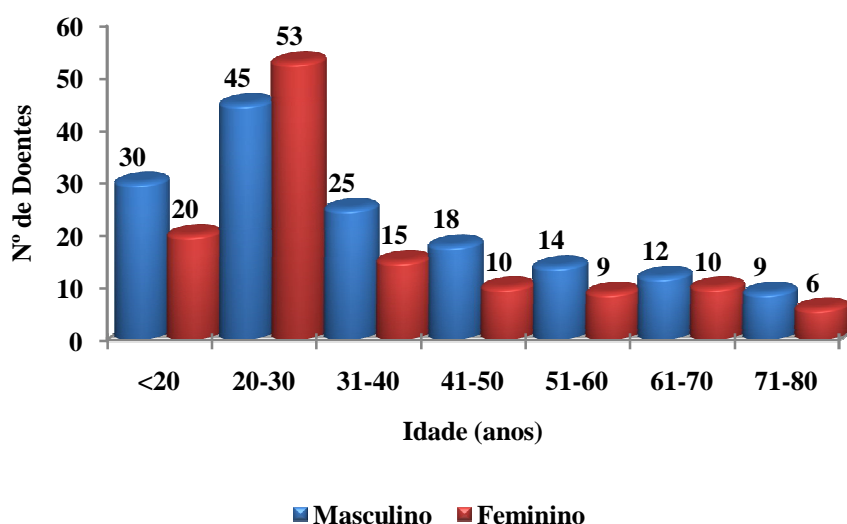
Como podemos observar, nos doentes com LHC verificou-se um ligeiro predomínio do sexo masculino e uma idade mediana ao diagnóstico de 29 anos, com pico de incidência na 2ª década de vida (fig. 3).





**Fig. 3: Distribuição dos doentes com LHC por grupos etários.** Foram analisados 276 doentes com LHC, no período de 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009. Os resultados apresentados correspondem ao número de doentes em cada faixa etária.

De facto, quando analisamos a nossa amostra de acordo com o sexo e com o grupo etário, observamos que a maior parte dos doentes tinham idade inferior ou igual a 30 anos, sendo que 75 doentes (27,2%) eram do sexo masculino e 73 doentes (26,4%) eram do sexo feminino, ou seja o pico na 2ª década de vida continua a ser evidente (fig. 4).



**Fig. 4: Distribuição dos doentes com LHC de acordo com o grupo etário e o sexo.** Foram analisados 276 doentes com LHC, no período de 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009. Os resultados apresentados correspondem ao número de doentes em cada faixa etária.

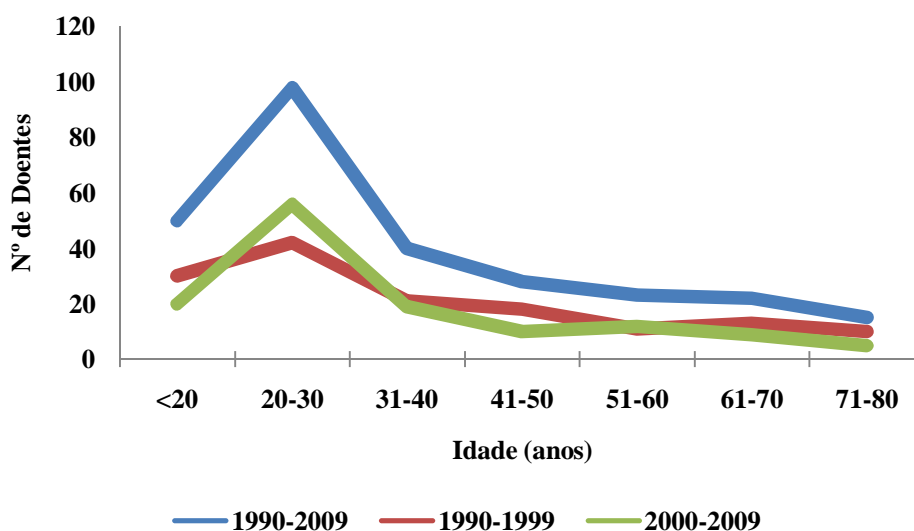
Além disso, como podemos verificar na tabela V, a distribuição por sexos e grupo etário é idêntica e uniforme, independentemente da década em que foi feito o diagnóstico. Aliás, registou-se uma discreta diminuição do número de doentes diagnosticados com LHC na década de 2000-2009, aproximadamente de 5,1%, relativamente a 1990-1999.

**Tabela V: Distribuição dos doentes com LHC diagnosticados nos HUC nas décadas de 1990-1999 e 2000-2009**

		1990-1999		2000-2009	
		n	%	n	%
		<b>145</b>	<b>52,5</b>	<b>131</b>	<b>47,4</b>
<b>Sexo</b>	<b>Masculino</b>	79	54,5	74	56,5
	<b>Feminino</b>	66	45,5	57	43,5
	<b>Ratio M/F</b>	1,2/1	-	1,3/1	-
<b>Grupos Etários (anos)</b>	<b>&lt;20</b>	30	20,7	20	15,3
	<b>20-30</b>	42	28,9	56	42,7
	<b>31-40</b>	21	14,5	19	14,5
	<b>41-50</b>	18	12,4	10	7,6
	<b>51-60</b>	11	7,6	12	9,2
	<b>61-70</b>	13	9	9	6,9
	<b>71-80</b>	10	6,9	5	3,8
<b>Idade</b>	<b>Mediana (anos)</b>	31	-	28	-
	<b>Máx/Min (anos)</b>	12/80	-	12/79	-

Os doentes foram distribuídos de acordo com a década em que foi feito o diagnóstico (1990-1999 e 2000-2009) e analisados em função do sexo, grupo etário e idade mediana. Os resultados estão expressos em numerário (n) e em percentagem (%). *Ratio* M/F- Razão Masculino/Feminino; Max/Min- Máximo/Mínimo

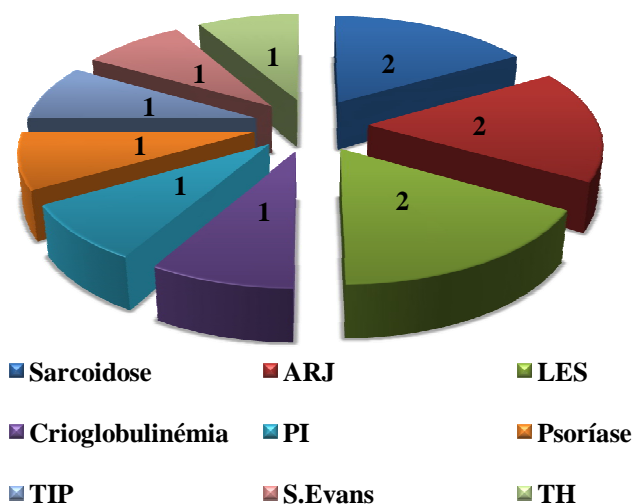
De acordo com o verificado na análise global dos doentes, quando analisamos separadamente a distribuição dos doentes por grupo etário nos 2 períodos de diagnóstico, 1990-1999 e 2000-2009, continuamos a observar só um pico de incidência na 2ª década de vida (fig.5 e tabela V).



**Fig. 5: Distribuição dos doentes com LHC segundo o grupo etário e o período de diagnóstico.** Foram analisados globalmente 276 doentes com LHC diagnosticado entre 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009, e separados em 2 períodos, de 1 de Janeiro de 1990 a 31 de Dezembro de 1999 e de 1 de Janeiro de 2000 a 31 de Dezembro de 2009.

## **VII.2 - Identificação de factores de risco**

Avaliámos a existência de patologias prévias nos doentes da nossa amostra, nomeadamente de patologias que pudessem conferir maior risco de desenvolvimento de LHC. Assim, como representado na fig. 6, em 12 doentes (4,3%) foram identificados antecedentes prévios de doenças autoimunes.



**Fig. 6: Doenças autoimunes prévias ao diagnóstico identificadas nos doentes com LHC.**

Dos 276 doentes com LHC diagnosticado entre 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009, 12 doentes (4,3%) tinham antecedentes de doenças autoimunes.

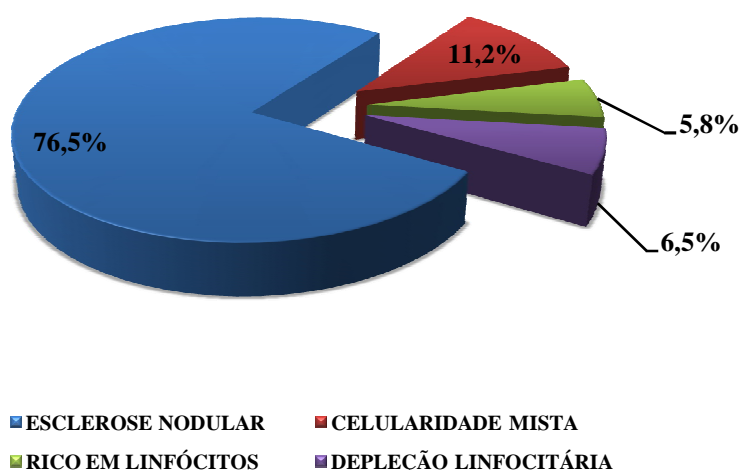
TIP- Trombocitopenia Imune Primária; ARJ- Artrite Reumatóide Juvenil; PI- Polineuropatia Inflamatória; S. Evans- Síndrome de Evans; LES- Lúpus Eritematoso Sistémico; TH- Tiroidite de Hashimoto

Verificámos que a Síndrome de Guillan-Barré ocorreu em 2 doentes, e 1 doente era portador de Imunodeficiência Comum Variável. Dois doentes tinham familiares com antecedentes de LHC (irmão e primo em 1º grau). Em 3 doentes o diagnóstico foi efectuado durante a gravidez e em 2 doentes no puerpério. Uma doente efectuou radioterapia local por carcinoma da mama 15 meses antes do diagnóstico de LHC.

Dado o papel potencial do EBV na etiopatogenia do LHC, particularmente do subtipo Celularidade Mista, foi nosso propósito identificar os doentes que apresentavam expressão positiva de LMP1 (gene latente do EBV) nas células HRS, detectada por imunohistoquímica. Dos 42 doentes que tinham descrição no relatório histológico da identificação da expressão de LMP1, apenas em 15 doentes, todos do subtipo Esclerose Nodular, se observou positividade para a marcação LMP1.

### **VII.3- Subtipo Histológico**

Na figura 7 está representado a caracterização anatomopatológica dos doentes com LHC diagnosticados entre 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009. Como podemos observar, o subtipo histológico mais frequente nos doentes com LHC é a esclerose nodular (EN), em cerca de 76,5% dos doentes, enquanto o menos frequente é o rico em linfócitos (RL) (5,8% dos doentes).



**Fig. 7: Distribuição dos doentes com LHC por subtipo histológico.**

A análise da distribuição dos doentes com LHC pelos subtipos histológicos, de acordo com o sexo e grupo etário (Tabela VI), confirma o predomínio do subtipo histológico EN, com discreto aumento no sexo masculino (*ratio* M/F=1,1/1) e uma mediana de idades de 28 anos. Aliás este subtipo histológico é significativamente mais frequente em idades mais jovens, enquanto o de depleção linfocitária (DL) é mais frequente em idades mais avançadas (idade média de 45,1 anos) ( $p=0,049$ ). Por outro lado, no subtipo RL observou-se um predomínio no sexo masculino, com um *ratio* M/F de 4,3/1. Verificámos que a idade mediana

ao diagnóstico das doentes do sexo feminino nos subtipos histológicos celularidade mista (CM) e DL é, respectivamente, 1,6 e 1,8 vezes superior à do sexo masculino (resultados não mostrados).

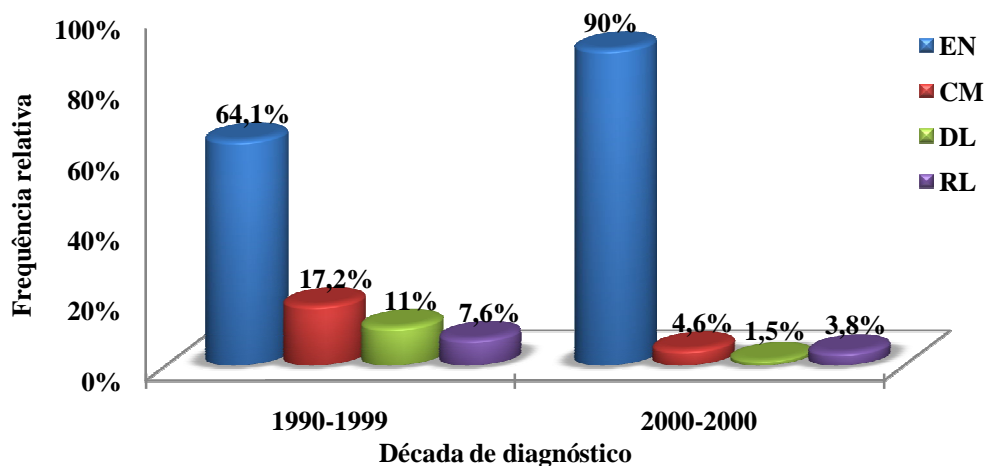
**Tabela VI: Distribuição dos doentes com LHC pelos diferentes subtipos histológicos de acordo com o sexo e idade**

	Esclerose Nodular (n=211)		Celularidade Mista (n=31)		Depleção Linfocitária (n=18)		Rico em Linfócitos (n=16)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Sexo</b>								
<b>Masculino</b>	110	52,1	19	61,3	11	61,1	13	81,2
<b>Feminino</b>	101	47,9	12	38,7	7	38,9	3	18,8
<b>Ratio M/F<sup>#</sup></b>	1,1/1	-	1,6/1	-	1,6/1	-	4,3/1	-
<b>Idade (anos)</b>								
<b>Mediana</b>	28	-	32	-	40,5	-	32,5	-
<b>Máx/Min</b>	12/79	-	14/77	-	14/80	-	12/66	-
<b>Média</b>	34*	-	39,2*	-	45,1*	-	34,2*	-
<b>DP</b>	±17,5	-	±17,4	-	±23,6	-	±16,8	-

Ratio M/F<sup>#</sup>-Razão Masculino/Feminino; Máx/Min- Máximo/Mínimo; DP-Desvio padrão;(\*p=0,049, quando comparamos os doentes com EN vs CM vs DL vs RL)

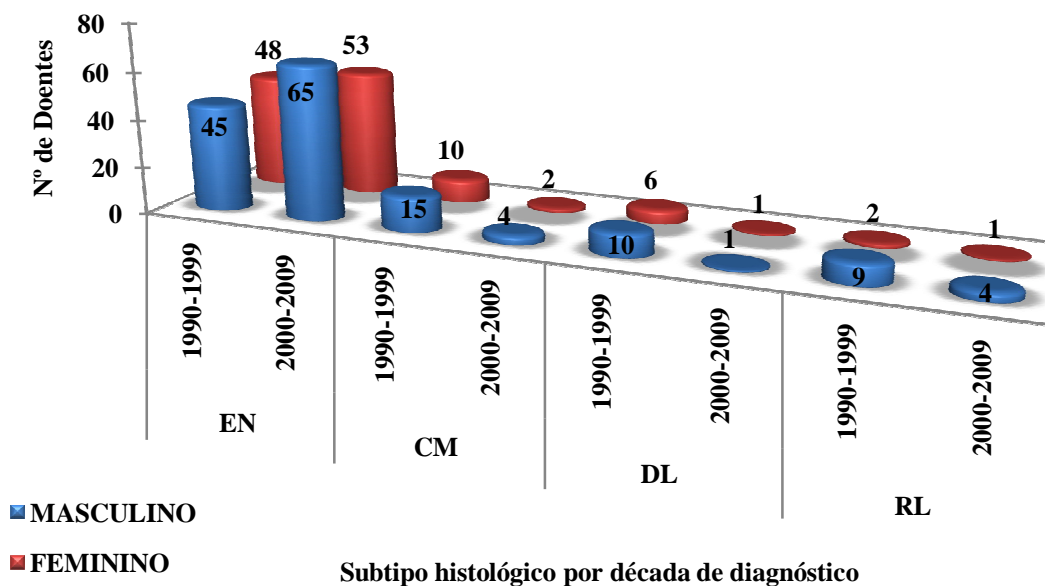
Quando analisamos os resultados segundo o período em que os doentes foram diagnosticados (1ª década de 1990-1999 e 2ª década de 2000-2009), verificamos que na 2ª década de diagnóstico, 118 doentes (90%) eram do subtipo EN, o que representa uma frequência 1,4 vezes superior quando comparada à década anterior (fig.8). Além disso, na 1ª

década, 52 doentes (35,9%) foram diagnosticados com LHC dos subtipos CM, DL e RL. É de referir que, entre as 2 décadas de diagnóstico, as diferenças das frequências dos subtipos histológicos são significativas ( $p < 0,001$ ).



**Fig.8: Distribuição dos doentes com LHC por subtipo histológico segundo a década de diagnóstico.** A figura ilustra o predomínio do subtipo Esclerose Nodular (EN) em ambas as décadas de diagnóstico, mas mais marcado de 2000 a 2009, associado a um decréscimo significativo dos restantes subtipos ( $p < 0,001$ ); CM- Celularidade Mista; DL- Depleção Linfocitária; RL- Rico em Linfócitos.

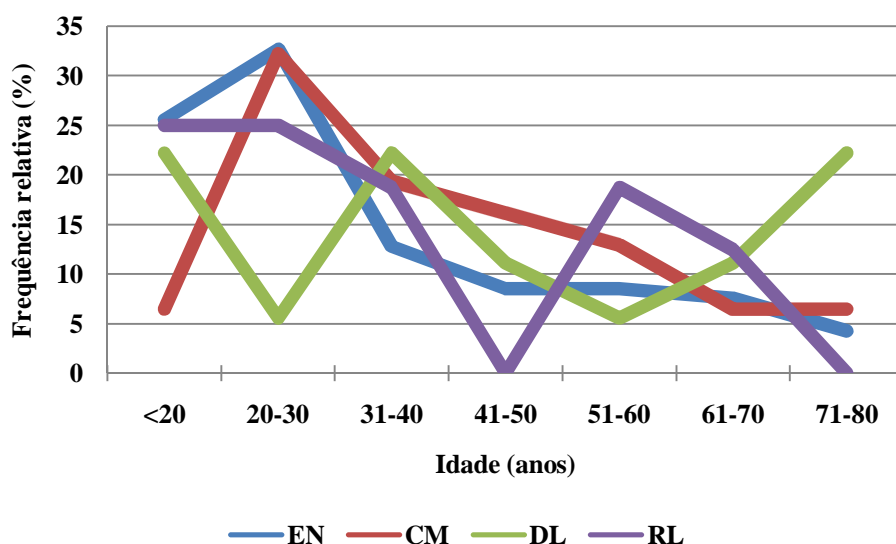
A figura 9 evidencia a distribuição dos subtipos histológicos por sexo e por década de diagnóstico. Destaca-se um discreto predomínio do subtipo EN no sexo feminino (*ratio* M/F: 0,9/1) na década de 1990 a 1999, tendência que se inverteu na década seguinte. Não se identificou nenhuma diferença significativa na distribuição dos diferentes subtipos histológicos por sexo quando comparamos as 2 décadas de diagnóstico.



**Fig.9: Distribuição dos doentes com LHC por subtipo histológico e sexo, segundo a década de diagnóstico.** A figura ilustra o discreto predomínio do sexo masculino em todos os subtipos histológicos, em ambas as décadas de diagnóstico, excepto na Esclerose Nodular (EN) na 1ª década de diagnóstico. CM- Celularidade Mista; DL- Depleção Linfocitária; RL- Rico em Linfócitos.

Na figura 10 está representada a distribuição dos 276 doentes com LHC de acordo com o subtipo histológico e grupo etário. Nesta figura identifica-se um esboço de curva bimodal para o subtipo RL. O subtipo DL apresenta 3 picos de frequência, o primeiro no grupo de doentes com menos de 20 anos, o segundo entre os 31 e os 40 anos e o terceiro a partir dos 71 anos. No entanto, é de destacar que a amostra de doentes com DL e RL é relativamente pequena, 18 e 16 doentes respectivamente.

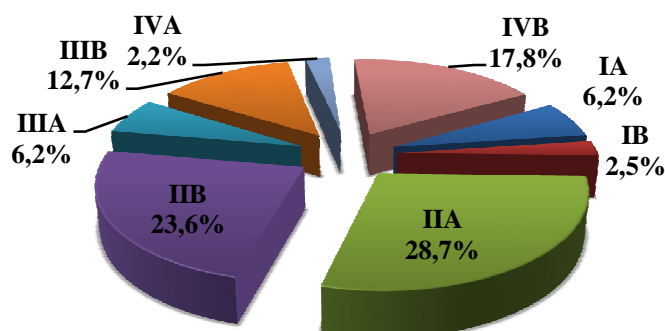




**Fig. 10. Distribuição dos doentes com LHC por subtipo histológico e grupo etário.** Foram analisados 276 doentes com LHC diagnosticados entre 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009. A distribuição etária dos subtipos histológicos EN e CM apresenta 1 pico na 2ª década de vida. O subtipo RL tem uma distribuição etária bimodal com o primeiro pico nos doentes até aos 30 anos e o segundo na 5ª década de vida. Os resultados estão expressos em percentagem (%). EN- Esclerose Nodular; CM- Celularidade Mista; DL- Depleção Linfocitária; RL Rico em Linfócitos

#### VII.4-Estadiamento Clínico

Dos 276 doentes da nossa amostra foi excluído 1 doente por dados insuficientes. Como podemos verificar na figura 11, a maioria dos doentes apresentava ao diagnóstico um estágio clínico I e II (61%), tendo-se verificado uma frequência elevada de doentes com sintomas B (56,7%). É de salientar que 30,5% dos 275 doentes com LHC avaliáveis tinham estádios clínicos avançados e sintomas B associados.



**Fig. 11: Distribuição dos doentes com LHC por estágio clínico de Ann Arbor e presença de sintomas B.** Os resultados estão expressos em percentagem (%).

As características clínicas principais ao diagnóstico por estágio clínico encontram-se listadas na tabela VII.

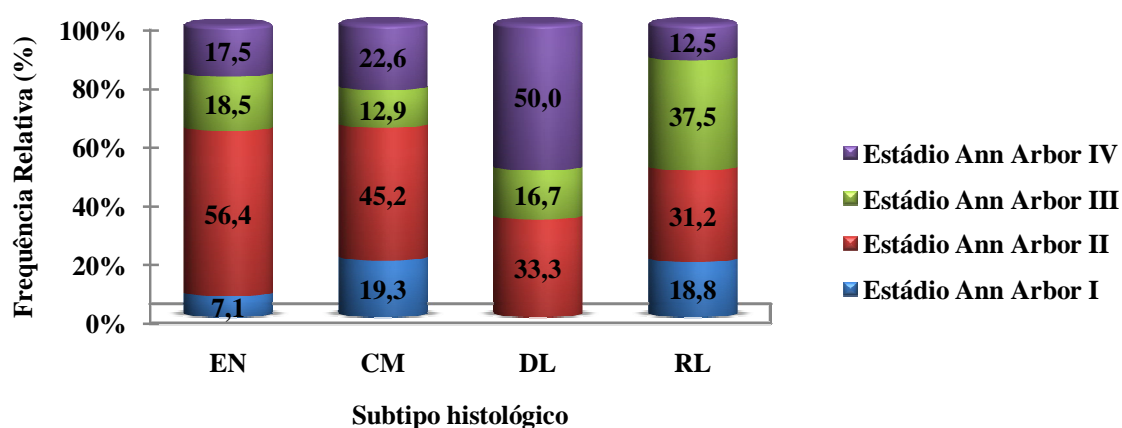
**Tabela VII: Características dos doentes com LHC distribuídos por estágio clínico de Ann Arbor (modificação de Cotswolds)**

	I (n=24)	II (n=144)	III (n=52)	IV (n=55)
<b>Idade (anos)</b>				
<b>Mediana</b>	32	26	31,5	38
<b>Min/Máx</b>	14/77	12/80	13/79	14/79
<b>Média±DP</b>	36,5*±17,6	31,4*±15,5	37,2*±20	43,3*±20,1
<b>Ratio M/F<sup>#</sup></b>	1,6/1	0,9/1	2,2/1	1,7/1
<b>Sintomas B (n/%)</b>	7 (29,2%)	65 (45,1%)	35 (67,3%)	49 (89,1%)
<b>Bulky (n/%)</b>	4 (16,7%)	48 (33,3%)	4 (7,7%)	4 (7,3%)
<b>Envolv. esplénico (n/%)</b>	0	1 (0,7%)	12 (23,1%)	3 (5,5%)
<b>Envolv.extranodal(n/%)</b>	0	6 (4,2%)	0	0

Ratio M/F<sup>#</sup>: Razão masculino/feminino; DP: Desvio padrão; (\*p=0,01, quando comparamos os 4 estádios)

Como podemos verificar na tabela anterior, os doentes eram predominantemente do sexo masculino em todos os estádios, excepto no estágio II onde o *ratio* M/F é de 0,9/1. Quando comparamos a média de idade por estágio verificamos que os doentes do estágio IV eram significativamente mais velhos ( $p=0,01$ ). O envolvimento esplénico estava presente em 16 doentes (5,8%), 68,8% dos quais apresentava sintomas B associados, e 87,5% eram do subtipo histológico EN, sendo apenas 1 doente do subtipo DL e 1 doente do subtipo RL (resultados não mostrados). Dos 6 doentes (2,2%) com LHC com extensão extranodal, 3 doentes apresentavam envolvimento do pulmão, 2 doentes da tiróide e 1 doente do esófago. O envolvimento medular ósseo documentado histologicamente foi observado em 19 doentes (6,9%).

Quando fomos avaliar a frequência de cada subtipo histológico por estágio clínico, verificámos que aproximadamente dois terços dos doentes com o subtipo EN e CM se encontravam em estádios clínicos iniciais (I/II), e que 50% dos doentes com o subtipo DL foram diagnosticados no estágio IV de Ann Arbor (fig. 12).



**Fig. 12: Distribuição dos doentes com LHC por estágio clínico de Ann Arbor e por subtipo histológico.** Foram analisados 276 doentes com LHC diagnosticado entre 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009. Os resultados estão expressos em percentagem (%). EN- Esclerose Nodular; CM- Celularidade Mista; DL- Depleção Linfocitária; RL- Rico em Linfócitos

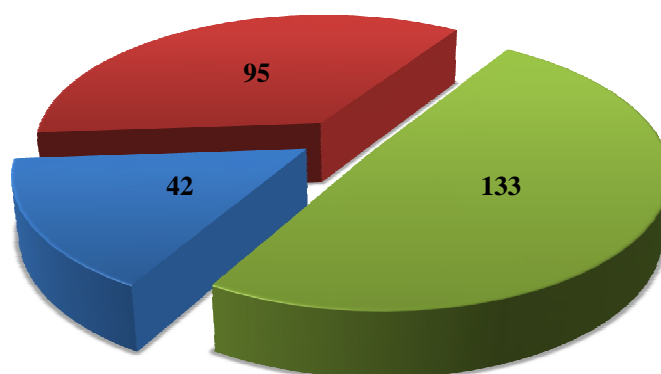
Com o objectivo de verificar se existiriam diferenças na forma de apresentação dos doentes com LHC nas 2 décadas que constituem o nosso período de estudo, fomos analisar o estadiamento, o tamanho do tumor (*bulky*), a presença de sintomas B e o envolvimento esplénico e extranodal, dos doentes divididos em 2 períodos cronológicos, de acordo com a data de diagnóstico, 1990-1999 e 2000-2009. Como se evidencia na Tabela VIII, não existem diferenças significativas quando comparamos a distribuição dos doentes por estágio clínico na 2 décadas, embora o envolvimento esplénico ao diagnóstico tenha sido identificado mais frequentemente no segundo período do estudo (2000-2009).

**Tabela VIII: Distribuição dos doentes com LHC por estágio clínico de Ann Arbor nos períodos de 1990-1999 e 2000-2009**

	1990-1999		2000-2009	
	n=145	%	n=130	%
<b>Estádio de Ann Arbor</b>				
<b>I</b>	12	8,3	12	9,2
<b>II</b>	73	50,3	71	54,6
<b>III</b>	29	20	23	17,7
<b>IV</b>	31	21,4	24	18,5
<b>Sintomas B</b>	83	57,2	73	56,1
<b>Bulky</b>	21	14,5	39	30
<b>Envolv. esplénico</b>	3	2,1	13	10
<b>Doença extranodal</b>	3	2,1	3	2,3

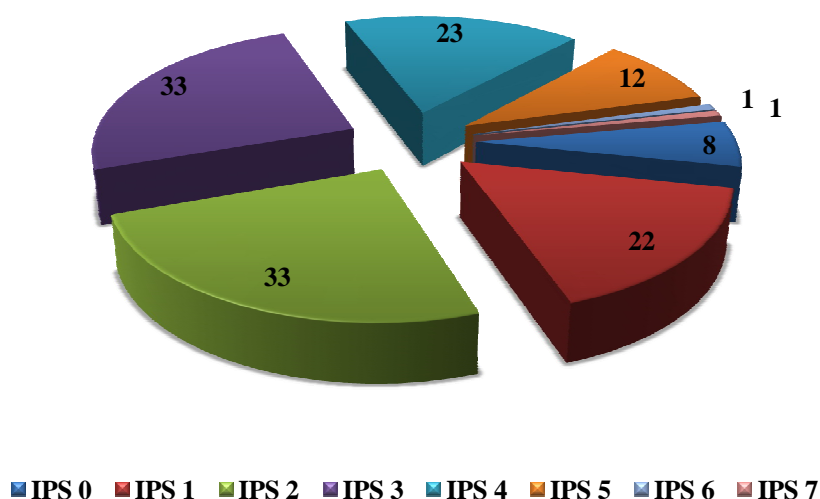
### **VII.5- Factores de Prognóstico**

Os doentes com LHC foram estratificados nos três grupos de risco estabelecidos pelo GHSG, inicial favorável, inicial desfavorável ou intermédio, e avançado. Foram excluídos 5 doentes da análise por ausência de dados laboratoriais, que impediram a determinação do *score IPS (International Prognostic Score)*. Na figura 13 está representada a distribuição dos 270 doentes avaliáveis por grupo de prognóstico do GHSG, onde podemos constatar que 137 doentes (50,7%) pertenciam ao estágio inicial dos quais 42 doentes ao estágio inicial favorável e 95 doentes ao estágio intermédio. Dos 133 doentes (49,3%) com estágio avançado, 63 doentes (47,4 %) tinham 2 ou menos factores de prognóstico adverso de acordo com o IPS, os restantes 70 doentes (52,6%) pertenciam ao IPS de 3 a 7 (fig.14).



■ Estádio Inicial Favorável ■ Estádio Inicial Desfavorável ■ Estádio Avançado

**Fig. 13: Distribuição dos doentes com LHC por grupos de prognóstico do GHSG.** Os estádios foram definidos de acordo com o estágio clínico e a presença/ausência de factores de prognóstico adverso, como estabelecido pelo GHSG (Diehl V. *et al*, 2003). Os resultados correspondem ao número de doentes por grupo de prognóstico.

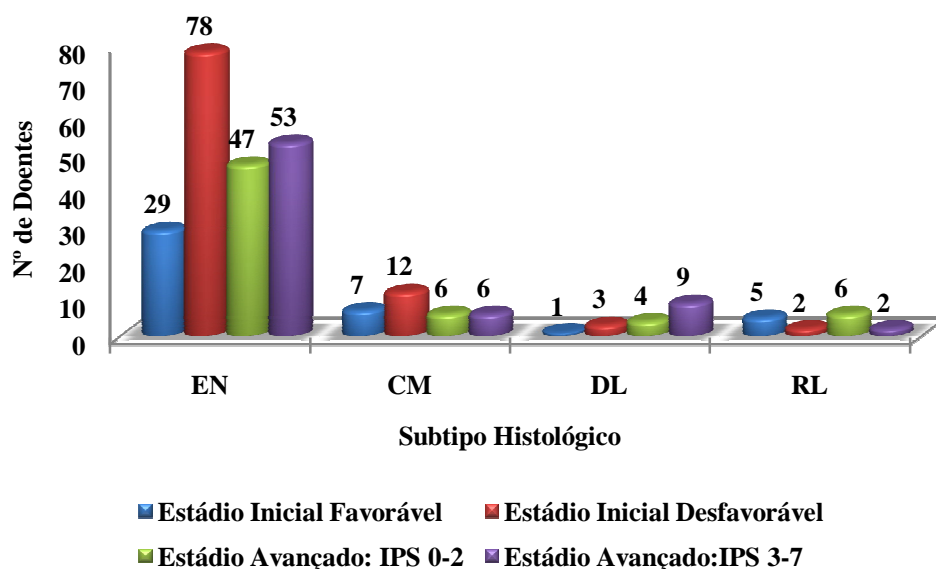


**Fig. 14: Caracterização pelo *International Prognostic Score* dos doentes com estágio avançado segundo o GHSG.** Os *score* prognóstico de 0 a 7 foi determinado pelo nº de factores adversos estabelecidos pelo IPS (Hasenclever D, Diehl V, 1998). Os resultados correspondem ao número de doentes por *score* prognóstico.

Verificámos ainda que os doentes com estágio inicial tinham uma mediana de idades de 27 anos (Máx./Mín.-12/80 anos) e 71 (51,8%) eram do sexo feminino (*ratio* M/F: 0,9/1). A mediana de idades dos doentes do estágio avançado era de 30,5 anos (Máx./Mín -12/79 anos) e 48 (36,1%) eram do sexo feminino (*ratio* M/F: 1,8/1) (resultados não mostrados).

Quando analisámos os doentes, de acordo com o subtipo histológico, constatámos que 87 doentes (51,7%) com EN pertenciam ao estágio inicial, sendo que destes 78 doentes (72,9%) tinham factores característicos de estágio inicial desfavorável. No subtipo DL apenas 4 doentes (23,5%) pertenciam ao estágio inicial, enquanto 13 doentes (76,5%) pertenciam ao estágio avançado, dos quais 9 tinham 3 ou mais factores de prognóstico adverso de acordo com o IPS- *International Prognostic Score* (fig. 15). Aliás, de acordo com o GHSG, a maior parte dos doentes em quase todos os subtipos histológicos tinham factores que os colocavam

no estágio intermédio ou avançado, sendo que este predomínio apresentou significado estatístico ( $p=0,040$ ).



**Fig. 15: Distribuição dos doentes com LHC de acordo com os grupos de prognóstico do GHSG e o subtipo histológico.** Os 270 doentes avaliáveis foram distribuídos nos 3 grupos de prognóstico do GHSG. Os doentes com estágio avançado foram divididos em 2 grupos de acordo com o nº de factores de prognóstico adverso, em IPS 0-2 e IPS 3-7; EN- Esclerose Nodular; CM- Celularidade Mista; DL- Depleção Linfocitária; RL- Rico em Linfócitos; IPS- *International Prognostic Score*

Por outro lado, não se encontraram diferenças significativas na distribuição por grupos de prognóstico, entre as duas décadas em que foi feito o diagnóstico dos doentes com LHC incluídos no estudo, os períodos de 1990 a 1999 e 2000 a 2009 ( $p=0,69$ ).

## **VII.6- Análise da Terapêutica de Primeira Linha utilizada nos doentes com LHC**

Dos 276 doentes estudados, foram excluídos da análise 2 doentes que não efectuaram qualquer terapêutica por morte precoce, e um doente por ausência de dados. Da análise da

tabela IX, é de salientar que apenas 11 doentes (4%) foram tratados com radioterapia (RT) isolada, 9 dos quais pertenciam ao estágio IA e 2 ao estágio IIA. Do ponto de vista prognóstico, dos 11 doentes 9 pertenciam ao estágio inicial favorável e 2 ao desfavorável (resultados não mostrados). Por outro lado, a maior parte dos doentes (54,6%) (n=149 doentes) fez apenas quimioterapia (QT), enquanto que a terapêutica combinada (QT+RT) foi utilizada em 113 doentes (41,4%) Podemos verificar ainda na tabela VIII, que o esquema terapêutico ABVD foi o mais utilizado, quer isoladamente quer em combinação com a radioterapia, sobretudo no período de 2000-2009.

**Tabela IX: Terapêutica de 1ª linha efectuada aos doentes com LHC na década de 1990 a 1999 e 2000-2009**

	1990-1999		2000-2009	
	n=144	%	n=129	%
<b>Só RT</b>	9	6,3	2	1,5
<b>ABVD</b>	30	20,8	57	44,2
<b>MOPP</b>	14	9,7	1	0,8
<b>MOPP/ABVD</b>	27	18,8	1	0,8
<b>ABVD+RT</b>	19	13,2	55	42,6
<b>MOPP+RT</b>	8	5,5	0	-
<b>MOPP/ABVD+RT</b>	25	17,4	0	-
<b>OUTROS</b>	12	8,3	13	10,1

RT: Radioterapia; ABVD: Adriamicina, Bleomicina, Vinblastina, Dacarbazina; MOPP: Mecloroetamina, Vincristina, Procarbazina, Prednisolona; MOPP/ABVD: regimes híbridos, que combinam o MOPP e o ABVD; Outros refere-se a regimes como o BEACOPP (Bleomicina, Etoposideo, Doxorubicina, Ciclofosfamida, Vincristina Procarbazina, Prednisolona), o Stanford V (Mecloroetamina, Doxorubicina, Vinblastina, Vincristina, Bleomicina, Etoposideo, Prednisolona), o ChIVPP (Clorambucilo, Vinblastina, Procarbazina, Prednisolona), o LOPP (Lomustina, Vincristina, Procarbazina, Prednisolona) e o COPP (Ciclofosfamida, Vincristina, Procarbazina, Prednisolona), associados ou não a RT.

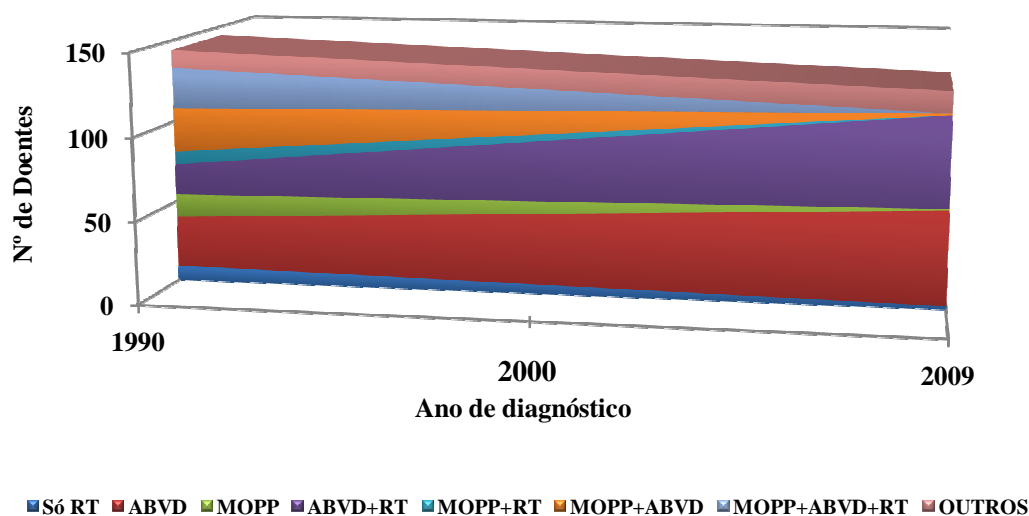


Quando analisámos a terapêutica instituída por estágio clínico de Ann Arbor, verificámos que 41,7 % dos doentes do estágio clínico I e 53,5% dos doentes do estágio clínico II efectuaram terapêutica combinada, enquanto que aproximadamente três quartos dos doentes no estágio clínico III e IV fizeram apenas quimioterapia (76% e 79,6%, respectivamente) (Tabela X).

**Tabela X: Análise do tipo de terapêutica utilizada nos doentes com LHC consoante o estágio clínico de Ann Arbor**

	Só RT (%)	Só QT (%)	QT+RT (%)
<b>Estádio I</b> (n=24)	37,5	20,8	41,7
<b>Estádio II</b> (n=144)	1,4	45,1	53,5
<b>Estádio III</b> (n=50)	0	76	24
<b>Estádio IV</b> (n=54)	0	79,6	20,4

A divisão do período de observação em 2 décadas permitiu analisar a evolução das tendências de utilização dos vários regimes de quimioterapia. Assim, na 1ª década, o regime MOPP e os regimes híbridos (MOPP/ABV, MOPP/ABVD alternado e MOPP/ABVD sequencial) foram muito frequentemente utilizados (em 51,4% dos doentes). Na 2ª década, o regime terapêutico mais usado foi o ABVD em 86,8% dos doentes, tendo os regimes MOPP e híbridos caído em desuso (fig. 16 e tabela IX).

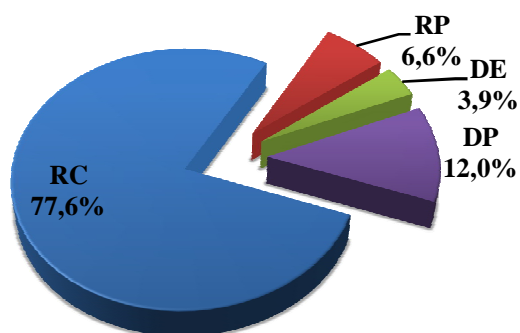


**Fig. 16: Distribuição ao longo do tempo da terapêutica utilizada em primeira linha no período compreendido entre 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009.**

#### **VII.6- Avaliação da Resposta à terapêutica de primeira linha**

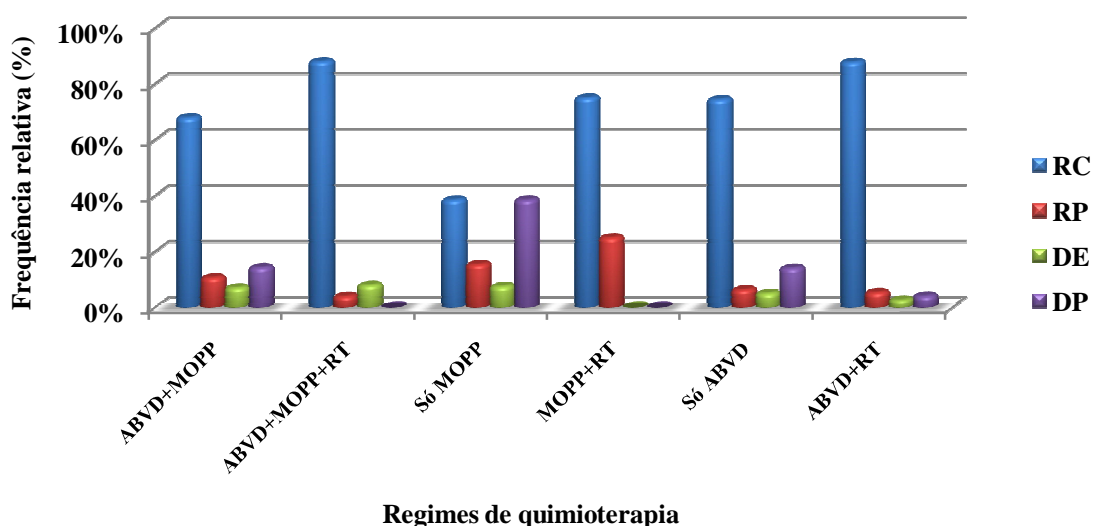
A resposta à terapêutica de primeira linha não foi avaliável em 17 (6,2%) doentes: em 5 doentes por morte precoce (1 por atropelamento, em 2 por degradação do estado geral antes do início da quimioterapia, e em 2 por toxicidade precoce à quimioterapia); em 3 doentes por transferência para outra unidade hospitalar; em 7 doentes por abandono da consulta, e em 2 doentes por ausência de dados.

A resposta à terapêutica de 1ª linha dos 259 doentes avaliáveis está expressa na figura 17, sendo de salientar que a maioria dos doentes (77,6%) obteve respostas completas (RC). A TRG foi de 84,2%, e 15,9% dos doentes não responderam ou progrediram.



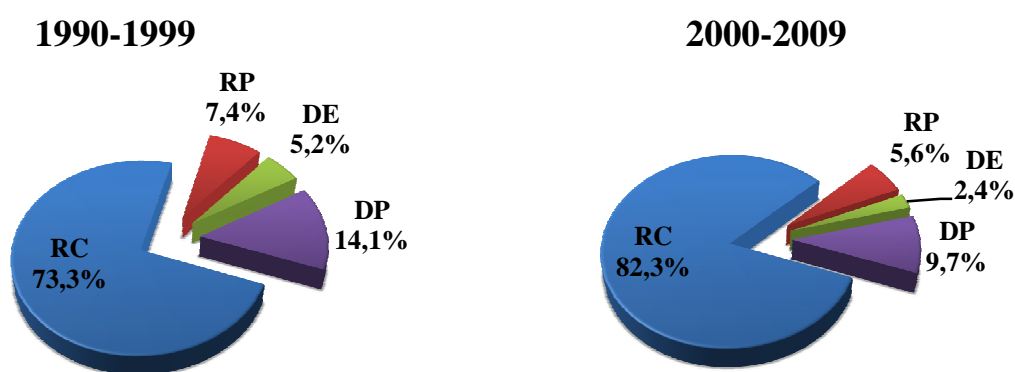
**Fig. 17: Resposta à terapêutica de 1ª linha dos doentes com LHC.** Foram avaliados 259 doentes com LHC. RP- Remissão Parcial; DE- Doença estável; DP Doença Progressiva

Quando analisámos as taxas de resposta obtidas com as principais terapêuticas utilizadas, verificámos que a taxa de RC de cada regime de QT aumenta quando se associa RT, e que o regime com a taxa de RC mais baixa é o MOPP, que também apresenta a maior taxa de DP (fig.18). Como se observa na figura 18, os regimes ABVD+MOPP+RT e ABVD+RT apresentam taxas de RC de 88% e 87,8% respectivamente.



**Fig. 18: Taxas de resposta dos principais regimes de quimioterapia usados.** RC- Remissão Completa; RP- Remissão Parcial; DE- Doença estável; DP Doença Progressiva

Quando comparamos as respostas às terapêuticas efectuadas nas duas décadas que compreendem o período do nosso estudo, verificamos que a TRG na 1ª década foi de 80,7% e na 2ª década de 87,9%. Além disso, como podemos verificar na figura 19, a taxa de RC é superior na 2ª década do estudo, e o número de doentes que não respondem ou progridem com a terapêutica de 1ª linha é inferior. Estas diferenças entre as taxas de resposta não apresentam no entanto significado estatístico ( $p=0,349$ ).



**Fig. 19: Avaliação da resposta à terapêutica de 1ª linha efectuada nos doentes com LHC diagnosticados em duas décadas distintas.** Foram analisadas as respostas às terapêuticas efectuadas em 259 doentes e cujo diagnóstico foi feito em dois períodos, nas décadas de 1990 a 1999 e 2000 a 2009. RC- Remissão Completa; RP- Remissão Parcial; DE- Doença estável; DP- Doença Progressiva

Na tabela XI estão resumidas as principais características do subgrupo de doentes com doença estável e doença progressiva, isto é, que não apresentaram resposta à terapêutica de primeira linha ou mostraram progressão da doença nos primeiros 3 meses após o final do tratamento.

É de salientar que 63,4% dos doentes pertenciam ao diagnóstico ao estágio III/IV, 78% tinham sintomas B, 21,9% doença *bulky*, e 46,3% apresentam estágio avançado com 3 ou mais factores prognóstico adverso, segundo o IPS (tabela XI).

**Tabela XI: Características dos doentes com LHC que não responderam ou progrediram sob terapêutica de 1ª linha**

		<b>n=41</b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>	<b>Masculino</b>	20	48,7
	<b>Feminino</b>	21	51,2
	<b>Ratio M/F</b>	0,95/1	-
<b>Idade Mediana (anos)</b>		32	-
<b>Máx/Min (anos)</b>		16/77	-
<b>Estádio de Ann Arbor</b>	<b>I</b>	2	4,9
	<b>II</b>	13	31,7
	<b>III</b>	10	24,4
	<b>IV</b>	16	39
<b>Sintomas B</b>		32	78
<b>Bulky</b>		9	21,9
<b>Envolv.esplénico</b>		3	7,3
<b>Doença extranodal</b>		3	7,3
<b>Estádio Inicial</b>	<b>Favorável</b>	1	2,4
	<b>Desfavorável</b>	6	14,6
<b>Estádio Avançado</b>	<b>IPS 0 a 2</b>	13	31,7
	<b>IPS 3 a 7</b>	19	46,3
	<b>SD</b>	2	4,9

Os resultados estão expressos em numerário (n) e percentagem (%). IPS- *International Prognostic Score*; Ratio M/F- *Razão Masculino/Feminino*; SD- *Sem dados*

Na tabela XII estão resumidas as principais características do subgrupo de doentes que recidivaram após terapêutica de primeira linha, isto é, que recaíram após uma remissão de pelo menos 3 meses.

Dos 201 doentes que obtiveram RC, 32 (15,9%) recaíram. É de salientar que a maioria dos doentes que recidivaram era do sexo masculino (ratio M/F: 1,5/1), do subtipo EN (75%), 50% tinham sintomas B e 84,4% apresentava um estágio inicial desfavorável ou avançado ao diagnóstico.

**Tabela XII: Características dos doentes com LHC recidivaram após terapêutica de 1ª linha**

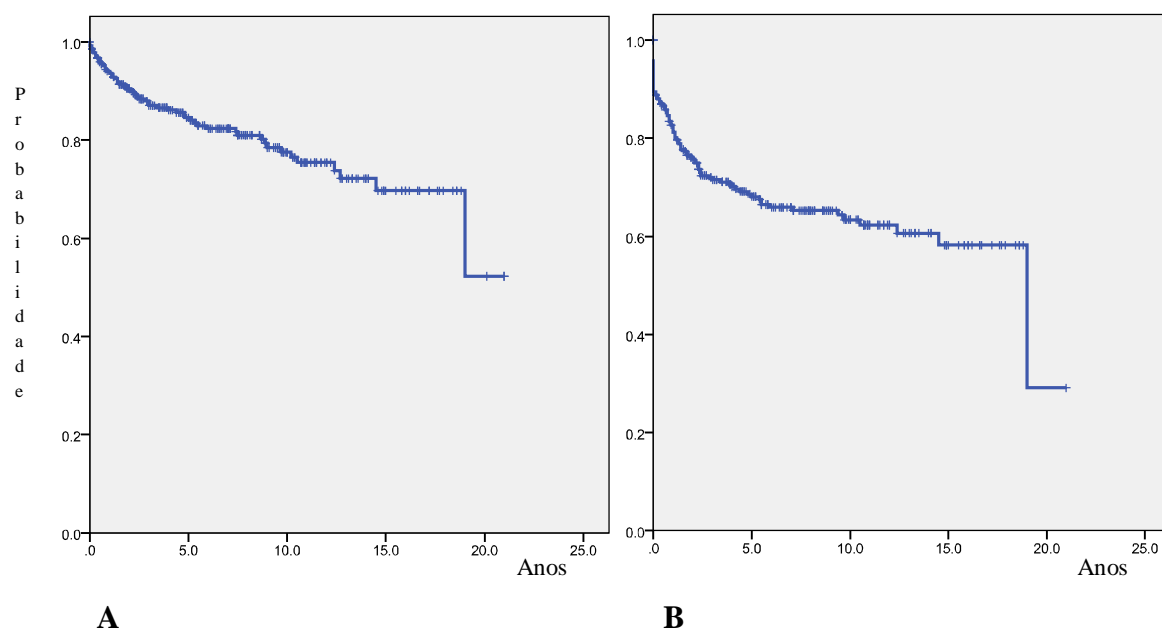
		<b>n=32</b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>	<b>Masculino</b>	19	59,4
	<b>Feminino</b>	13	40,6
	<b>Ratio M/F</b>	1,5/1	-
<b>Idade Mediana (anos)</b>		36	
<b>Máx/Min (anos)</b>		12/77	
<b>Histologia</b>	<b>EN</b>	24	75
	<b>CM</b>	5	5,6
	<b>DL</b>	1	3,1
	<b>RL</b>	2	6,2
<b>Estádio de Ann Arbor</b>	<b>I</b>	3	9,4
	<b>II</b>	16	50
	<b>III</b>	4	12,5
	<b>IV</b>	9	28,1
<b>Sintomas B</b>		16	50
<b>Bulk y</b>		7	21,9
<b>Estádio Inicial</b>	<b>Favorável</b>	5	5,6
	<b>Desfavorável</b>	11	34,4
<b>Estádio Avançado</b>	<b>IPS 0-2</b>	8	25
	<b>IPS 3-7</b>	8	25

*Ratio M/F- Razão Masculino/Feminino; IPS- International Prognostic Score*

Relativamente ao momento da recidiva observou-se que 16 doentes (51,6%) recidivaram muito precocemente num período entre os 3 e os 12 meses após RC, 13 doentes (41,9%) recidivaram 13 a 60 meses após obterem RC, e 3 doentes (9,7%) recidivaram muito tardiamente, mais de 60 meses após atingirem RC (aos 78, 107 e 113 meses).

### **VII.7- Sobrevivência Global e Sobrevivência Livre de Progressão**

Após um seguimento médio de 7 anos (DP± 5,2 anos),, 80,4% dos doentes da população estudada estavam vivos e 66,3% estavam vivos e sem doença. A SG média da amostra foi de 16,1 anos (DP±0,62 anos, IC de 95%) e a SLP média foi de 13 anos (DP±0,72 anos, IC de 95%) (fig.20 A e B).



**Fig. 20: Curvas de sobrevivência dos 276 doentes com LHC diagnosticados entre 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009. A- Sobrevivência Global. A SG aos 5 e aos 10 anos foi de 88,6% e de 74,6% respectivamente. B- Sobrevivência Livre de Progressão. A SLP aos 5 e 10 anos foi de 68,1% e 61,4% respectivamente.**

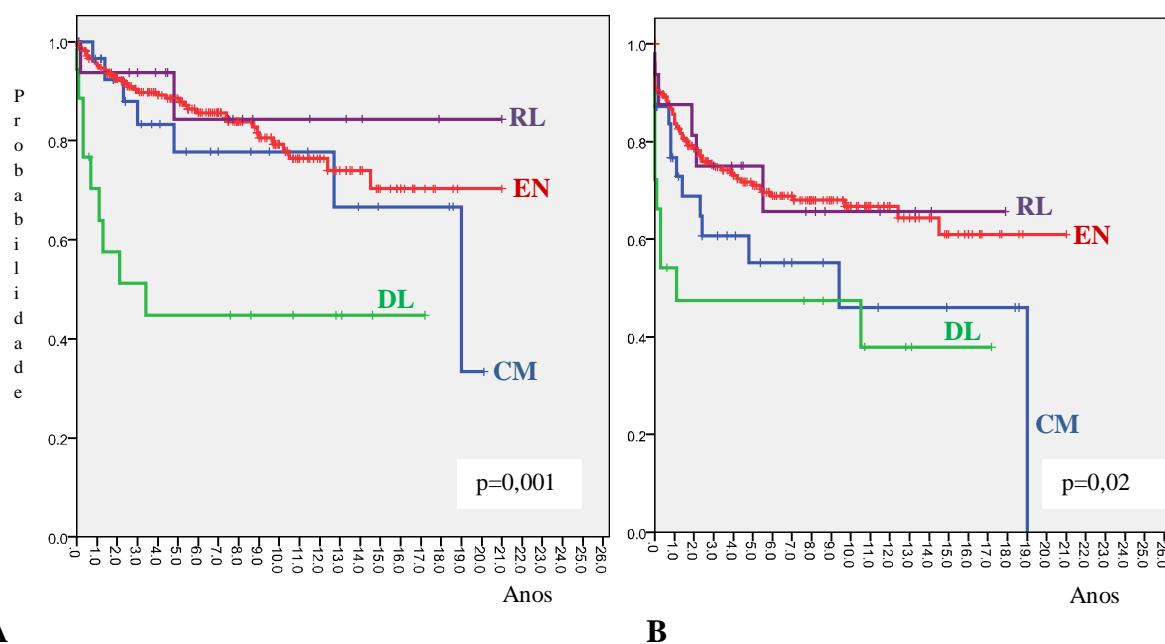
A análise da SG e da SLP por década de diagnóstico não mostrou diferenças significativas, apesar de mostrar uma tendência para a melhoria dos resultados na 2ª década (SG aos 5 anos: 80,3% vs 89,2% ( $p=0,089$ ); SLP aos 5 anos: 63,3% vs 73% ( $p=0,1$ )) (curvas não mostradas).

A avaliação do impacto do subtipo histológico, do grupo de risco prognóstico e das terapêuticas instituídas na sobrevivência dos doentes, foi efectuada através da análise da SG e da SLP de acordo com estes parâmetros como representado nas figuras 21 a 23.

Como podemos observar na figura 21, a SG dos doentes com subtipo RL é significativamente superior aos restantes subtipos, com SG média de 18,2 anos ( $DP\pm 1,85$ ). A SG média dos doentes com EN, CM e DL é respectivamente 16,8 anos ( $DP\pm 0,64$ ), 15 anos ( $DP\pm 1,6$ ) e 8,3 anos ( $DP\pm 1,2$ ), com IC de 95%.

Além disso, também se observaram diferenças significativas na SLP entre os subtipos histológicos aos 5 e 10 anos. Assim, nos doentes com os subtipos RL e EN, a SLP aos 5 anos foi de 75%, e 71%, respectivamente, enquanto nos subtipos CM e DL, a SLP foi bastante inferior, 55,2% e 47,4%. O mesmo se verificou aos 10 anos, em que a SLP foi de 65,6%, 66,7%, 46% e 47,4%, para os doentes com os subtipos RL, EN, CM e DL, respectivamente (fig. 21).



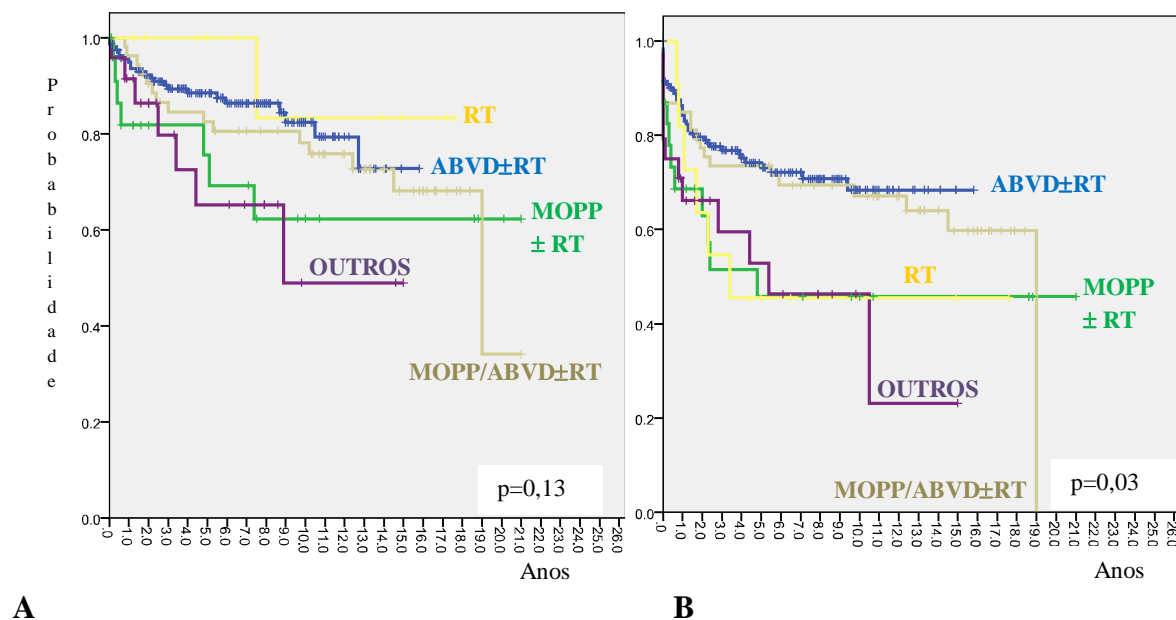


**Fig. 21: Análise da sobrevivência dos 276 doentes com LHC segundo o subtipo histológico do LHC. A- Sobrevivência Global (SG). B- Sobrevivência Livre de Progressão (SLP) doentes com LHC por subtipo histológico.** Em A) a SG de RL é significativamente superior aos restantes subtipos, com SG média de 18,2 anos ( $DP \pm 1,85$ ) Em B) existem diferenças significativas na SLP entre os subtipos histológicos. A SLP aos 5 anos foi de 75%, 71%, 55,2% e 47,4% para os subtipos RL, EN, CM e DL, respectivamente; e aos 10 anos de 65,6%, 66,7%, 46% e 47,4%.

Quando analisamos a SG e a SLP segundo o grupo de prognóstico dos doentes inseridos no estudo, observámos diferenças significativas nos 3 grupos de prognóstico (inicial favorável, inicial desfavorável e avançado). Deste modo, a SG aos 5 anos foi de 97%, 97,4% e 71,8% e a SG aos 10 anos de 87,8%, 91% e 64,9% ( $p < 0,0001$ ). A SLP aos 5 anos foi de 78,9%, 75,7% e 59,6% e aos 10 anos de 73,4%, 72,2% e 54,2% ( $p = 0,002$ ) (curvas não mostradas). Os subgrupos do IPS mostraram influenciar significativamente a SG, mas não a SLP.

A SG dos doentes que efectuaram ABVD e regimes híbridos em combinação ou não com RT não apresentam diferenças significativas entre si. (fig.22-A). No entanto, nos doentes

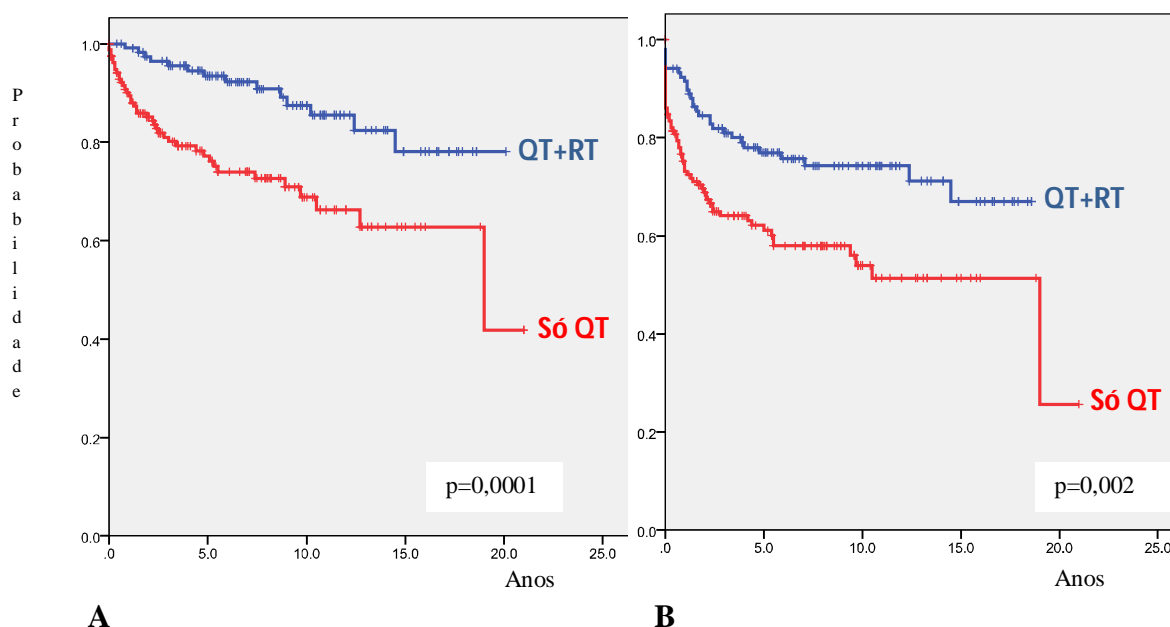
que efectuaram ABVD em combinação ou não com RT ( $\pm$ RT) verificou-se o aumento estatisticamente significativo da SLP (fig. 19-B).



**Fig. 22: Curvas de sobrevivência dos 273 doentes com LHC submetidos a terapêutica de primeira linha. A- Sobrevivência Global (SG). B- Sobrevivência Livre de Progressão (SLP).** Em A) a SG aos 5 anos foi de 88,5%, 82,6% e de 75,5% para o ABVD $\pm$ RT, regimes híbridos $\pm$ RT e MOPP $\pm$ RT, respectivamente. A SG aos 10 anos foi de 82,4%, 78,2% e de 62,3% para o ABVD $\pm$ RT, regimes híbridos $\pm$ RT e MOPP $\pm$ RT, respectivamente. Em B) o tipo de terapêutica influenciou positiva e significativamente a SLP ( $p < 0.05$ ).

Quando separámos em 2 grupos, os doentes que fizeram só quimioterapia e os doentes que fizeram terapêutica combinada, verificámos que a associação da QT à RT influenciou positivamente e de forma significativa a SG e a SLP. De facto, a SG aos 5 anos para os doentes que fizeram QT isolada e QT associada à radioterapia (QT+RT) foi de 77,2% e 93,4%, respectivamente. A SG aos 10 anos para os mesmos esquemas de tratamento (QT e QT+RT) foi de 68,8% e 87,4%, respectivamente. A SLP aos 5 anos dos doentes que fizeram

QT e QT+RT foi de 61,1% e 76,9%, respectivamente, enquanto e aos 10 anos foi de 53,9% e 74,3%, respectivamente. (fig.23-A e B).

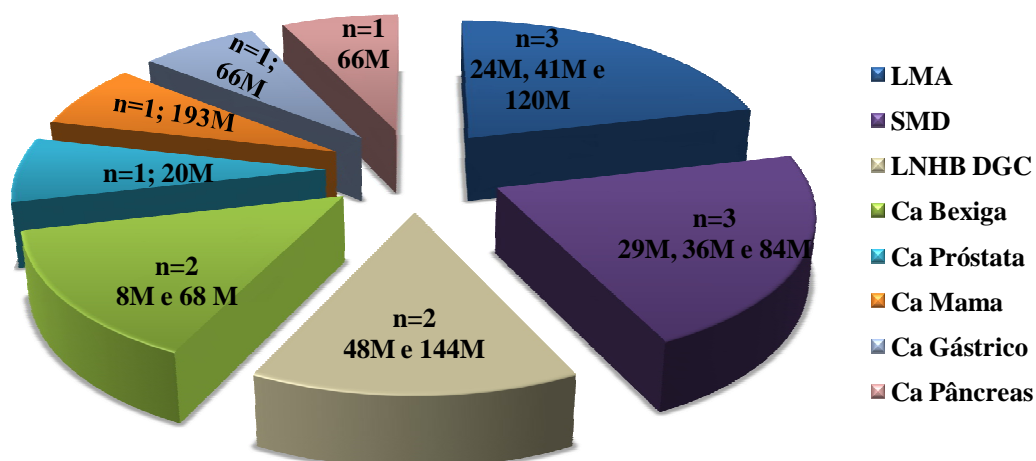


**Fig. 23: Análise da sobrevivência dos 262 doentes com LHC segundo o esquema de tratamento. A- Sobrevivência global (SG) dos doentes que fizeram apenas quimioterapia (QT) e dos que fizeram terapêutica combinada, QT com radioterapia (QT+RT). A SG média da QT+RT foi de 17,6 anos (DP±0,63; IC a 95%) e a SG média da Só QT foi de 14,5 anos (DP±0,88; IC a 95%). B- Sobrevivência Livre de Progressão dos doentes que fizeram QT isolada e QT+RT. A associação da QT à RT influenciou positivamente a SLP.**

### **VII.8- Evolução**

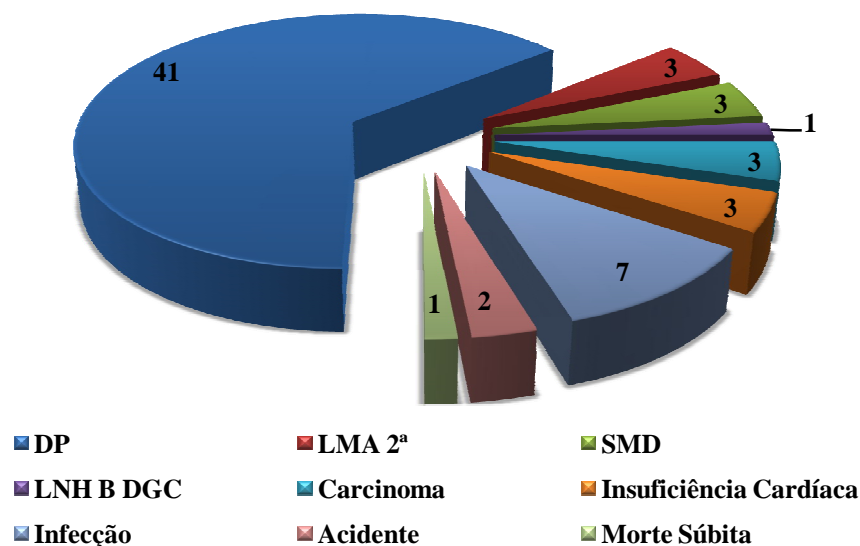
Da análise da evolução dos doentes inseridos no estudo, identificaram-se 14 casos de neoplasias secundárias em 13 doentes, dos quais 6 tinham sido tratados com regimes MOPP-like (associados ou não a RT), 1 só com RT e os restantes com ABVD (associado ou não a

RT) (fig. 24). As neoplasias secundárias mais frequentemente identificadas foram as hematológicas, nomeadamente as SMD, LMA e LNH.



**Fig. 24: Neoplasias secundárias identificadas e tempo da sua ocorrência em meses após o diagnóstico do LHC.** Em média as segundas neoplasias foram detectadas 67,6 meses ( $\pm 52,5$  meses) após o diagnóstico de LHC.

Dos 276 doentes com diagnóstico de LHC seguidos nos HUC entre 1 de Janeiro de 1990 e 31 de Dezembro de 2009, faleceram 54 doentes (19,5%). A causa principal de morte foi doença progressiva em 41 doentes, complicada em 7 doentes por processo infeccioso. Em 10 doentes a neoplasia secundária foi a principal causa de morte. Na figura 25 estão discriminadas as causas principais de morte.



**Fig. 25: Causas principais de morte dos doentes com LHC.** As neoplasias secundárias constituíram a 2ª causa de morte: 3 doentes por Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA M3, M4 e M7, segundo a classificação FAB), 3 doentes por carcinoma (próstata, pâncreas e estômago), 3 doentes por Síndrome Mielodisplásica (SMD) (2 AREB (Anemia Refractária por Excesso de Blastos) e 1 LMMC (Leucemia Mielomonocítica Crónica)) e 1 doente por Linfoma Não Hodgkin B difuso de grandes células (LNHB DGC).

## ***VIII-DISCUSSÃO E CONCLUSÕES***

---

O Linfoma de Hodgkin Clássico (LHC) é uma neoplasia caracterizada pela presença de células clonais malignas, designadas de Células de Hodgkin e de Reed-Sternberg com origem maioritariamente em células B, dispersas num fundo heterogéneo de células inflamatórias não neoplásicas (Diehl V et al, 2005; Stein H, 2008).

Nos últimos 50 anos foram desenvolvidos múltiplos esquemas terapêuticos, transformando o LHC numa doença potencialmente curável (Diehl V *et al*, 2005). No entanto, aproximadamente 20% dos doentes são primariamente refractários, apresentando má resposta às terapêuticas de segunda linha e sobrevivências globais baixas, e 20-40% recidivam após terapêutica de primeira linha.

Neste trabalho fizemos uma análise retrospectiva das características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais dos doentes com LHC diagnosticados e tratados consecutivamente nos Hospitais da Universidade de Coimbra nos últimos 20 anos, de modo a avaliar a eficácia das terapêuticas instituídas e o prognóstico dos doentes.

Na análise global da população estudada observa-se que a maioria dos doentes era jovem, com uma mediana de idades de 29 anos, apresentando um pico etário único na 2ª década de vida. Estes resultados não estão de acordo com os descritos na literatura, uma vez que alguns estudos referem que nos países industrializados a distribuição etária é habitualmente bimodal, com um primeiro pico a ocorrer na terceira década de vida e o 2º pico após os 50 anos (Diehl V *et al*, 2005). No entanto, a forma da curva pode variar consoante a raça, a geografia, a idade, sexo, e a histologia (Glaser SL *et al*, 2010).

Relativamente ao sexo os nossos resultados estão de acordo com o referido por outros autores, tendo-se observado na população estudada um predomínio ligeiro de doentes do sexo masculino (ratio M/F: 1,2/1).

Alguns factores de risco têm sido identificados nos doentes com LHC, como por exemplo a infecção prévia pelo vírus EBV, entre outros (Diehl V *et al*, 2005). Na nossa amostra, a positividade nas HRS para o LMP1, tradutora de infecção prévia pelo EBV, estava presente em apenas 15 doentes (5,4%), enquanto outros autores referem que no Ocidente cerca de 50% dos LHC são EBV positivos (Diehl V *et al*, 2005). Contudo, e tendo em conta o longo período de observação deste estudo e a evolução técnica que ocorreu entretanto, seria pertinente rever os estudos histológicos para aferir correctamente a percentagem de doentes com expressão positiva para o LMP1.

Em 2009 foi publicado um estudo em 9314 doentes com LHC por Kristinsson SY *et al*, que demonstrou um aumento do risco de LH, sobretudo do subtipo CM, em pessoas com história prévia de doença autoimune, provavelmente devido à estimulação imune crónica. Na nossa amostra em 12 doentes (4,3%) foram identificados antecedentes prévios de doenças autoimunes, sendo que 8 doentes eram do subtipo EN e apenas 1 do subtipo CM (resultados não mostrados), o que está em desacordo com o referido anteriormente.

De acordo com o descrito na literatura relativamente à histologia do LHC, no nosso estudo o subtipo mais frequente foi a Esclerose Nodular representando 76,5% dos casos, com discreto predomínio no sexo masculino (ratio M/F- 1,1/1) e nos indivíduos jovens (mediana de idades de 28 anos (Stein H, 2008). Por outro lado, no subtipo RL a preponderância do sexo masculino é muito significativa (ratio M/F- 4,3/1), a mediana de idades é discretamente mais elevada que a da população estudada (32,5 anos), e apresenta uma distribuição homogénea pelos estádios clínicos. Ao contrário dos outros subtipos de LHC, evidencia uma distribuição etária bimodal. Os doentes com o subtipo DL são mais idosos, com uma mediana de idades de 40,5 anos, e pertencem maioritariamente aos estádios clínicos avançados.



Quando avaliámos os dados recolhidos tendo em atenção o período em que tinha sido feito o diagnóstico, 1ª década de 1990 a 1999 e 2ª década de 2000 a 2009, verificámos uma diminuição significativa da incidência do número de casos diagnosticados com CM, RL e DL na 2ª década. Estes dados são consistentes com o descrito na literatura (Diehl V *et al*, 1999; Ansell M *et al*, 2006), que menciona que a melhoria das técnicas de diagnóstico (citológicas, imunohistoquímicas e moleculares) permite uma discriminação mais sensível entre LHC e LNH. Estes aspectos podem justificar a diminuição da incidência de subtipos histológicos com impacto mais negativo na sobrevivência como a CM, DL e RL que, eventualmente poderiam corresponder a casos de LNH mal diagnosticados. Como estes subtipos de LHC ocorrem habitualmente em indivíduos mais idosos, existe uma tendência para o desaparecimento do segundo pico da curva etária (Diehl V *et al*, 2005; Shenoy P *et al*, 2011). Assim, para comprovar se o mesmo se passa na amostra estudada era importante efectuar a revisão da histologia das amostras do estudo.

É de salientar que o envolvimento esplénico, associado frequentemente a sintomas B (68,8%) e ao subtipo EN (87,5%), só foi identificado em 6,8% dos doentes, maioritariamente na 2ª década de diagnóstico. Pensamos que identificação mais frequente na 2ª década se deve provavelmente ao advento da PET que permite identificar lesões metabolicamente activas indicadoras de LHC precocemente. A frequência é muito inferior à descrita na literatura, que refere que o baço está envolvido em 30 a 35% dos doentes ao diagnóstico associado frequentemente a sintomas sistémicos e à CM, mas que é frequentemente subclínico e difícil de diagnosticar (Diehl V *et al*, 2005).

Um dos aspectos a ter em linha de conta na caracterização do prognóstico dos doentes com LHC é o estágio clínico e a presença de factores de prognóstico adverso, os quais segundo o *German Hodgkin Lymphoma Study Group* (GHSG) permitem estratificar os

doentes em três grupos de risco: estágio inicial favorável, estágio inicial desfavorável (ou intermédio) e estágio avançado (Diehl V. *et al*, 2003).

Assim, a maioria da população estudada tinha 1 ou mais factores de prognóstico adverso, e a sua divisão em grupos de prognóstico de acordo com o GHSG, permitiu incluir 15,6% dos doentes no estágio inicial favorável, 35,2% no estágio inicial desfavorável e 49,2% no estágio avançado. Destes 52,6 % tinha 3 ou mais factores de prognóstico adverso de acordo com o IPS. Estes resultados são semelhantes aos descritos na literatura, Diehl *et al* (2005) refere que nos Estados Unidos cerca de 45% dos doentes recém-diagnosticados pertencem aos estádios iniciais e aproximadamente 55% aos estádios avançados. No estudo do *International Prognostic Factor Project* (Hasenclever D, Diehl V, 1998) que levou ao desenvolvimento do IPS, 42% dos doentes tinham 3 ou mais factores de prognóstico adverso.

Além do referido, o tipo de tratamento instituído também pode influenciar o prognóstico e evolução dos doentes.

A variabilidade de protocolos de quimioterapia de primeira linha utilizados reflecte o período em que foi efectuado o diagnóstico. Assim, na 1ª década (1990 a 1999), os protocolos em vigor eram predominantemente o MOPP e os regimes híbridos, em monoterapia e em combinação com RT, os quais foram utilizados em 51,4% dos doentes (Tabela VIII, fig.16), enquanto o protocolo ABVD foi usado em aproximadamente um terço dos doentes. Pelo contrário, na 2ª década (2000 a 2009), o regime terapêutico mais adoptado foi o ABVD, tendo sido administrado em monoterapia e em combinação com RT em cerca de 86,8% dos doentes. Esta mudança de atitude pode estar relacionada com a demonstração da eficácia terapêutica do ABVD relativamente ao MOPP na SG (77,4% vs 67,9%) e na SLP (80,8% vs 62,8%) em várias publicações. Além disso o ABVD mostrou ser tão eficaz quanto os regimes híbridos com SG e SLP sobreponíveis, mas com a vantagem de evidenciar menor toxicidade aguda,

neoplasias secundárias e esterilidade, embora a toxicidade cardíaca e pulmonar não seja negligenciável (Duggan DB *et al*, 2003; Diehl V *et al*, 2007; Borchmann P, Diehl V, 2010; Edwards-Bennett SM *et al*, 2010).

O ABVD é considerado internacionalmente a terapêutica *standard* para os estádios iniciais e avançados. No entanto, outros regimes de quimioterapia têm sido desenvolvidos, na tentativa de melhorar a eficácia do ABVD, tais como o Stanford V e o BEACOPP. O Stanford V mostrou ser igualmente eficaz ao ABVD, com taxas de resposta (91% vs 92%), SG aos 5 anos (92% vs 90%) e SLP aos 5 anos (74% vs 76%) comparáveis (Hoskin PJ *et al*, 2009; Boyer M *et al*, 2010), mas com elevada taxa de efeitos secundários. O BEACOPP mostrou ser significativamente superior ao ABVD no que diz respeito à SLP aos 5 anos (81% vs 68%), mas sem diferença significativa na SG aos 5 anos (92% vs 84%) e com maior incidência de toxicidade hematológica de grau 3 e 4 (Frederico M *et al*, 2003; Boyer M *et al*, 2010).

Na amostra estudada a taxa de resposta global foi de 84,2%, com 77,6% de respostas completas e 6,6% de respostas parciais. No entanto, quando analisamos separadamente as 2 décadas de diagnóstico verificamos um aumento da taxa de respostas completas de 73,3% para 82,3% da 1ª para a 2ª década, e redução da taxa de doença estável e progressiva, embora sem significado estatístico. No que diz respeito à distribuição por grupos etários, por sexo, por estágio clínico e por grupo de prognóstico, nos doentes diagnosticados no período correspondente às 2 décadas, estas características são muito semelhantes, existindo apenas diferenças na distribuição por subtipo histológico e terapêutica utilizada.

Deste modo, verificou-se um predomínio do subtipo EN na 2ª década em relação à 1ª (90% vs 64,1%). Relativamente à terapêutica, na 1ª década, foram usados esquemas que tiveram menor eficácia como o MOPP, com taxas de RC de 38,5%, e o ABVD e os regimes híbridos que obtiveram 62,5% e 70,8% respectivamente. Por outro lado, na 2ª década foi

usado maioritariamente o ABVD que obteve taxas de RC de 79,6% e de 87,5% quando usado isolado e em combinação com a RT, respectivamente. Na nossa amostra, a taxa de RC obtida com estes esquemas terapêuticos é inferior à descrita na literatura, onde o regime MOPP atinge taxas de RC de 80,7% a 84% e os regimes ABVD e híbridos têm taxas de RC de 76 a 81% e de 80 a 82% respectivamente (Longo DL *et al*, 1986; Santoro A *et al*, 1987; Duggan David B *et al*, 2003).

Na análise retrospectiva efectuada neste estudo, verificou-se que os 41 doentes (15,9%) que não responderam ou progrediram sob terapêutica de 1ª linha pertenciam maioritariamente aos estádios III/IV de Ann Arbor (63,4%) e a grupos prognóstico adverso, apresentando 46,3% um estágio avançado com 3 ou mais factores de mau prognóstico, segundo o IPS. De salientar que, em 43,9% destes doentes, a terapêutica que foi efectuada (e à qual não responderam) foi MOPP±RT e, em 29,3%, foi utilizado um regime híbrido.

Os 32 doentes (11,6%) que recidivaram tinham um perfil prognóstico adverso, nomeadamente estágio avançado do IPS em 50% dos casos, 65,6% tinha efectuado o esquema ABVD±RT e 21,9% regimes híbridos±RT. Verificou-se também que as recidivas foram precoces em 16 doentes, tardias em 13 doentes e muito tardias em 3 doentes.

Estes resultados são comparáveis aos publicados por outros autores que referem que, dependendo do estágio e do perfil dos factores de risco, até 95% dos doentes com LH atingem RC após terapêutica de 1ª linha inicial standard (Josting A *et al*, 2001). No entanto, a doença é primariamente refractária em 20% dos doentes, e 20 a 40% recidivam após terapêutica de primeira linha. A taxa de recidiva é variável consoante o grupo prognóstico, podendo variar entre 10 a 15%, nos estádios localizados favoráveis, e 30 a 50% nos estádios avançados (Volker Diehl *et al*, 2003; Moskowitz AJ *et al*, 2009; Larrea FC *et al*, 2010). Contudo, a maioria das recidivas ocorre nos 3 primeiros anos. As recidivas muito tardias, que ocorrem

num prazo superior a cinco anos após a RC, são muito pouco frequentes (aproximadamente 3,5% dos doentes) (Gaudio F *et al*, 2011).

Num estudo retrospectivo publicado pelo GHSG, 28% dos doentes com doença primariamente progressiva pertenciam, à data do diagnóstico, ao estágio inicial desfavorável e 72% ao estágio avançado (Josting A *et al*, 2000). Alguns autores demonstraram que neste grupo de doentes, para além das características clínicas como o estágio ou o grupo prognóstico, parecem existir alguns marcadores imunohistoquímicos que podem ajudar a identificar os doentes cuja doença não vai responder à terapêutica *standard*. A sobreexpressão de BCL2, a ausência frequente de CD20, e a presença de excesso de mastócitos cKIT positivos e de linfócitos T citotóxicos TiA1 positivos, bem como o aumento do número de macrófagos associados ao tumor, são características imunohistoquímicas frequentes nos doentes refractários e que recidivam precocemente (Canioni D *et al*, 2009). O excesso de macrófagos mostrou estar fortemente associado à diminuição da sobrevivência dos doentes com LHC (Steidl C *et al*, 2010). A revisão dos estudos histológicos dos doentes desta amostra, particularmente dos que não responderam ou recidivaram, com base nos dados destas publicações, poderia ajudar a elucidar o motivo deste perfil de resposta.

Por fim, fomos analisar a evolução global dos doentes inseridos no estudo. Após um seguimento médio de 7 anos (DP± 5,2 anos), 80,4% dos doentes estão vivos, sendo a SG de toda a população estudada aos 5 e 10 anos de 84,6% e 77,6%, respectivamente.

Observámos ainda o impacto do subtipo histológico na SG e na SLP. Os subtipos RL e EN apresentam uma SG superior aos 2 outros subtipos, tal como o previamente descrito por Allemani C *et al* (2006). Estes autores, num estudo efectuado em 6726 doentes da Europa e Estados Unidos da América em colaboração como SEER (*Surveillance, Epidemiology and End Results*) e o EURO CARE (*European cancer registry-based study on survival and care of*

*cancer patients*), obtiveram fortes evidências de que a morfologia tem uma influência considerável na sobrevivência dos doentes com LH, e que os doentes com o subtipo RL têm o prognóstico mais favorável e com DL o mais desfavorável.

Os diferentes grupos de prognóstico também demonstraram ter impacto significativo na SG e na SLP da população estudada. No entanto, os subgrupos do IPS mostraram influenciar significativamente a SG, mas não a SLP. Contudo, deve ser realçado o número reduzido de doentes por subgrupo do IPS.

Os resultados sugerem que nos doentes que fizeram terapêutica combinada, que resulta da associação de quimioterapia à radioterapia, a sobrevivência é superior aos que fizeram quimioterapia isolada, quer a nível da SG quer da SLP. No entanto, individualmente, nenhum regime terapêutico, teve impacto significativo na SG. Contudo, temos de ter em atenção o número reduzido de doentes por cada regime terapêutico e a falta de homogeneidade da amostra.

Inúmeros estudos randomizados realizados por diferentes grupos de estudo já haviam demonstrado previamente, que a quimioterapia combinada é superior à radioterapia isolada e à quimioterapia isolada. A adição da RT no final da QT parece permitir um melhor controlo do tumor, com diminuição da taxa de recidiva, e com impacto significativo na SG e da SLP, particularmente nos estádios iniciais favorável e desfavorável. Em relação aos estádios avançados, a radioterapia parece desempenhar um papel importante nos doentes que não atingem RC após quimioterapia de 1ª linha. Nos doentes que atingem RC, a radioterapia não parece melhorar os resultados globais (Borchmann P, Engert A, 2010; Specht L, Ng AK, 2010; Eichenauer DA, Engert A, 2011).

O risco de desenvolvimento de neoplasias secundárias, particularmente tumores sólidos, é um efeito secundário grave da terapêutica. Na população estudada ocorreram 14

casos de segundas neoplasias, em média 67,6 meses (DP±52,5 meses) após o diagnóstico de LHC. A maioria desenvolveu tumores hematológicos (8 doentes), ao contrário do que se encontra descrito onde os tumores sólidos predominam (Franklin J *et al*, 2006).

Relativamente às principais causas de morte, verificámos que a maioria dos doentes faleceu por progressão do LHC (41 doentes) e que, concomitantemente, 7 doentes apresentavam processos infecciosos que contribuíram igualmente para a morte. Em 10 doentes a causa principal de morte foi a existência de uma neoplasia secundária. Os resultados observados são sobreponíveis aos descritos na literatura que refere que a principal causa de morte é a progressão do linfoma, seguido de segundas neoplasias e de patologia cardíaca (Provencio M *et al*, 2008).

Num estudo publicado por Provencio M *et al* (2000), no qual foram estudados 486 doentes com LH, foi efectuada a comparação entre a causa da morte estabelecida por critérios clínicos versus em autópsia. Estes autores concluíram que a progressão do linfoma constituiu a principal causa de morte em 37% dos doentes, quando a causa foi estabelecida por critérios clínicos. No entanto, a infecção foi a principal causa de morte em 43% dos casos após autópsia. Os autores sugerem que muitos processos infecciosos não são identificados, pelo facto dos sintomas mimetizarem a progressão da doença linfomatosa.

Este estudo permitiu caracterizar a população jovem de doentes com LHC diagnosticados e tratados nos últimos 20 anos nos HUC. Concluimos que estes apresentavam algumas características clínicas discrepantes em relação ao descrito na literatura, nomeadamente a distribuição etária e a incidência de infecção pelo EBV, cujo esclarecimento seria beneficiado pela revisão histológica.

A sobrevivência global aos 5 anos é ligeiramente inferior ao descrito noutras séries, que consideramos que se deve à heterogeneidade das terapêuticas efectuadas ao longo destes

20 anos, sobretudo à não utilização de uma estratégia terapêutica adaptada ao risco de acordo com os grupos de prognóstico e ao uso de regimes terapêuticos menos eficazes, mas actuais à data da sua prescrição, sobretudo na 1ª década. A mudança de atitude traduziu-se por uma melhoria na 2ª década, da TRG, da SG e da SLP, ainda que sem significado estatístico.

A utilização sistemática de uma estratégia terapêutica dirigida por grupos de prognóstico com regimes terapêuticos protocolados, usando os esquemas mais intensivos e mais eficazes nos doentes de maior risco, e diminuindo a intensidade da terapêutica nos doentes sem factores de prognóstico adverso, deve ser o objectivo primordial no tratamento dos doentes com LHC.



## ***IX-BIBLIOGRAFIA***

---

Allemani C, Sant M, De Angelis R, Marcos-Gragera R, Coebergh JW, EUROCARE Working Group (2006) Hodgkin Disease Survival in Europe and the U.S.: Prognostic Significance of Morphologic Groups. *Cancer* 107:352-60.

Ansell SM, Armitage JO (2006) Management of Hodgkin Lymphoma. *Mayo Clin Proc* 81(3): 419-426

Bain BJ (1999) *Interactive Haematology Imagebank with Self Assessment*. Oxford: Blackwell Science

Borchmann P, Diehl V (2010). Treatment of advanced stage Hodgkin Lymphoma. In: *Hodgkin Lymphoma: A Comprehensive Update on Diagnostics and Clinics* (Engert A, Horning J S, ed), pp191-202. New York: Springer.

Borchmann P, Engert A (2010). The Past: What We Have Learned in the Last Decade. *Hematology Am Soc Hematol Education Program*: 101-107

Boyer M, Cuerrier S (2010) Le traitement du Lymphome de Hodgkin chez l'adulte. *Pharmactuel* 43(3):171-182

Brusamolino E, Bacigalupo A, Barosi G, Biti G, Gobbi PG, Levis A, *et al* (2009) Classical Hodgkin's lymphoma in adults: guidelines of the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology, and the Italian Group, *Haematologica*; 94:550-565

Canioni D, Deau-Fisher B, Taupin P, Ribrag V, Delarue R, Bosq J, Rubio MT, *et al* (2009) Prognostic significance of new immunohistochemical markers in refractory Classical Hodgkin Lymphoma: a study of 59 cases. PLoS ONE 4(7):e6341

Cheson B, Horning S J, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors J M, Lister TA, Vose J, Grillo-López A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP (1999) Report of an International Workshop to Standardize Response Criteria for Non-Hodgkin's Lymphomas, J Clin Oncol 17:1244

Cheson B, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, Coiffier B, Fisher RI, Hagenbeek A, Zucca E, Rosen ST, Stroobants S, Lister TA, Hoppe RT, Dreyling M, Tobinai K, Vose JM, Connors JM, Federico M, Diehl V (2007) Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. J Clin Oncol 25:579-586

Diehl V, Thomas RK, Re D (2004) Hodgkin's lymphoma—diagnosis and Treatment. Lancet Oncol; 5: 19–26

Diehl V, Stein H, Hummel M, Zollinger R, Connors JM (2003) Hodgkin's Lymphoma: Biology and Treatment Strategies for Primary, Refractory, and Relapsed Disease. Hematology Am Soc Hematol Education Program, 225-247

Diehl V, Fuchs M (2007) Early, intermediate and advanced Hodgkin's Lymphoma: modern treatment strategies. Annals of Oncology 18 (supl.9):ix71-ix79

Diehl V, Re D, Josting A (2005) Hodgkin`s Disease: Clinical Manifestations, Staging, and Therapy. In: Hematology Basic Principles and Practice (Hoffman R, Benz E J. et al, ed), pp 1347-1377, 4th edition. Elsevier- Churchill Livingstone

Diehl V, Sextro M, Franklin J, Hansmann ML, Harris N, Jaffe E, *et al* (1999) Clinical presentation, course, and prognostic factors in Lymphocyte-predominant Hodgkin`s Disease and Lymphocyte-rich Classical Hodgkin`s disease: report from the European Task Force on Lymphoma Project on Lymphocyte-predominant Hodgkin`s Disease. *J Clin Oncol* 17: 776-783

Duggan D B, Petroni GR, Johnson JL, Glick JH, Fisher RI, *et al* (2003) Randomized Comparison of ABVD and MOPP/ABV Hybrid for the Treatment of Advanced Hodgkin`s Disease: Report of an Intergroup Trial, *J Clin Oncol* 21:607-614

Edwards-Bennett SM, Jacks LM, Moskowitz CH, Wu EJ, Zhang Z, *et al* (2010) Stanford V program for locally extensive and advanced Hodgkin Lymphoma: the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center experience. *Annals of Oncology* 21: 574-581

Eichenauer DA, Engert A (2011) Treatment of early-stage Hodgkin Lymphoma Hematology ASCO Education Program 335-

Engert A, Diehl V, Franklin J, Lohri A, Dörken B, Ludwig WD, Koch P, Hänel M, *et al* (2009) Escalated-Dose BEACOPP in the Treatment of Patients With Advanced-Stage Hodgkin`s Lymphoma: 10 Years of Follow-Up of the GHSG HD9 Study, *J Clin Oncol* 27:4548-4554

Engert A, Plütschow A, Eich HT, Lohri A, Dörken B, Borchmann P, Berger B, Greil R, *et al* (2010). Reduced treatment intensity in patients with early-stage Hodgkin's Lymphoma, *N Engl J Med*, 363(7): 640-652

Falini B, Bigerna B, Pasqualucci L, Fizzotti M, Martelli MF, *et al* (1996) Distinctive expression pattern of BCL-6 protein in nodular lymphocyte predominance Hodgkin's disease. *Blood* 87: 465

Franklin J, Pluetschow A, Paus M, Specht L, Anselmo AP, Aviles A, Biti G, Bogatyreva T, Bonadonna G, *et al* (2006) Second malignancy risk associated with treatment of Hodgkin's lymphoma: meta-analysis of the randomised trials. *Annals of Oncology* 17: 1749–1760

Frederico M, Luminari S, Iannitto E, Polimeno G, *et al* (2009) ABVD compared with BEACOPP compared with CEC for the initial treatment of patients with advanced Hodgkin's Lymphoma: Results from de HD2000 Gruppo Italiano per lo studio dei Linfomi Trial. *J Clin Oncol* 27: 805-811

Gaudio F, Giordano A, Pavone V, Perrone T, Curci P, Pastore D, Delia M, *et al* (2011) Outcome of Very Late Relapse in Patients with Hodgkin's Lymphomas. *Advances in Hematology* Vol. 2011: 1-6

Glaser SL, Chang ET, Clarke CA, Keegan TH (2010) Epidemiology. In: *Hodgkin Lymphoma: A Comprehensive Update on Diagnostics and Clinics* (Engert A, Horning J S, ed), pp3-20. New York:Springer.

Hasenclever D, Diehl V (1998) A prognostic score for advanced Hodgkin's Disease for the International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med* 339:1506-1514.

Hoskin PJ, Lowry L, Horwich A, Jack A, Mead B, Hancock BW, *et al* (2009) Randomized comparison of the Stanford V regimen and ABVD in the treatment of advanced Hodgkin's lymphoma: United Kingdom National Cancer Research Institute Lymphoma Group Study ISRCTN 64141244. *J Clin Oncol* 27:5390-5396

Josting A, Franklin J, May M, Koch P, *et al* (2001) New Prognostic Score Based on Treatment Outcome of Patients with Relapsed Hodgkin's Lymphoma Registered in the Database of the German Hodgkin's Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol* 20:221-230

Josting A, Rueffer U, Franklin J, Sieber Ms, Diehl V, Engert A (2000). Prognostic factors and treatment outcome in primary progressive Hodgkin lymphoma: a report from the German Hodgkin Lymphoma Study Group *Blood* 96:1280-1286

Kristinsson SY, Landgren O, Sjöberg J, Turesson I, Björkholm M, Goldin LR (2009) Autoimmunity and risk of Hodgkin's Lymphoma by subtype. *Haematologica* 94:1468-1469

Larrea CF, Martinez C, Gaya A, López-Guillermo A, Rovira M *et al* (2010) Salvage chemotherapy with alternating MINE–ESHAP regimen in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma followed by autologous stem-cell transplantation. *Annals of Oncology* 21: 1211–1216

Longo DL, Young RC, Wesley M, Hubbard SM, Duffey PL, Jaffe ES, DeVita Jr VT (1986)  
Twenty years of MOPP therapy for Hodgkin's disease. J Clin Oncology, Vol 4, 1295-1306

Moskowitz AJ, Perales MA, Kewalramani T, Yahalom J, Castro-Malaspina H, *et al* (2009).  
Outcomes for patients who fail high dose chemoradiotherapy and autologous stem cell rescue  
for relapsed and primary refractory Hodgkin lymphoma. Br J Haematology, 146: 158–163

Provencio M., España P., Salas C, Navarro F, Bonilla F (2000) Hodgkin's disease: Correlation  
between causes of death at autopsy and clinical diagnosis. Annals of Oncology 11: 59-64.

Provencio M, Millán I, España P, Sanchez AC, Sánchez JJ , Cantos B, *et al* (2008) Analysis  
of Competing Risks of Causes of Death and their Variation Over Different Time Periods in  
Hodgkin's Disease Clin Cancer Res 14(16): 5300-5305

Portlock CS, Donnelly GB, Qin J, Straus D, Yahalom J, Zelenetz A, Noy A, *et al* (2004)  
Adverse prognostic significance of CD20 positive Reed-Sternberg cells in classical Hodgkin's  
disease. Br J Haematol 125:701

Richardson SE, McNamara C (2011) The Management of Classical Hodgkin's Lymphoma:  
Past, Present, and Future, Advances in Hematology, 2011: 1-17

Ries LA, Kosary CL, Hankey BF *et al* (Eds) (1997) SEER cancer statistics review: 1973-  
1994, NIH publ n°97-2789, National Cancer Institute, Bethesda

Santoro A, Bonadonna G, Valagussa P, Zucali R, Viviani S, Pagnoni AM, Bonfante V, Musumeci R, Crippa F (1987) Long-term results of combined chemotherapy-radiotherapy approach in Hodgkin`s Disease: superiority of ABVD plus radiotherapy versus Mopp plus radiotherapy. *J Clin Oncology*, Vol 5, 27-37

Shenoy P, Maggioncalda A, Malik N, Flowers CR (2011) Incidence Patterns and Outcomes for Hodgkin Lymphoma Patients in the United States. *Advances in Hematology* 2011:1-11

Specht L, Ng AK (2010) Background and rationale for radiotherapy in early-stage Hodgkin Lymphoma. In: *Radiotherapy for Hodgkin Lymphoma* (Specht L, Yahalom J, ed), pp7-20. New York: Springer.

Steidl C, Lee T, Shah SP, Farinha P, Han G, Nayar T, et al (2010). Tumor-Associated Macrophages and Survival in Classic Hodgkin's Lymphoma *N Engl J Med*. March 11; 362(10): 875–885.

Stein H (2008) Hodgkin Lymphoma in: *WHO Classification of tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues* (Swerdlow H S, ed), pp 320-334. Lyon: IARC

Yung L, Linch D (2005) Hodgkin`s Lymphoma in: *Postgraduate Haematology* (Hofbrand AV, Catovsky D, Tuddenham EGD, ed), pp 722-734. Oxford: Blackwell Publishing



## ***X-AGRADECIMENTOS***

---

Agradeço à Professora Doutora Ana Bela Sarmiento o estímulo, a disponibilidade, os ensinamentos e as críticas construtivas que oportunamente manifestou, sem os quais este trabalho seria muito mais difícil de elaborar.

Agradeço à Dra. Adriana Teixeira o forte incentivo à realização deste trabalho, expresso desde o primeiro momento, e o contributo activo na identificação de doentes para o mesmo.

Agradeço ao Dr. Luís Rito pela ajuda prestada na identificação dos doentes necessários à execução do trabalho.

Agradeço à Dra. Marta Pereira o seu precioso contributo na realização da análise estatística, imprescindível ao trabalho.

Agradeço à D. Isabel Borges, o seu esforço e empenho foram fundamentais para o levantamento dos processos clínicos necessários para a elaboração deste trabalho.

Aos meus pais e irmã, obrigada pelo incentivo contínuo, ajuda e confiança demonstrada em toda a minha vida académica e profissional.

Um muito especial agradecimento ao João, ao Francisco e à Beatriz, pelo seu carinho, paciência e apoio incondicional que sempre evidenciaram.