

LINFOMA DE HODGKIN
BIOLOGIA, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

Ana Catarina Sá Machado¹

Professora Doutora Ana Bela Sarmiento Ribeiro²

Mestre Marília Elisabete Sousa Gomes³

¹Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

catarinamachado88@hotmail.com

²Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

absarmiento@fmed.uc.pt

³Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra,
Portugal

marília.elisabete.gomes@gmail.com

ÍNDICE

Resumo.....	4
<i>Abstract</i>	6
Abreviaturas	8
1. Introdução.....	11
2. Materiais e Métodos	12
3. Classificação.....	12
4. Incidência e Epidemiologia.....	16
5. Fatores de Risco	16
5.1 Vírus de Epstein-Barr e Outros.....	17
5.2 Imunodeficiência	19
5.3 Autoimunidade	19
5.4 Fatores genéticos	20
5.5 Outros fatores.....	21
6. Etiologia e Patogénese	21
6.1 Origem das Células Tumorais	21
6.2 Reprogramação Celular	23
6.3 Vias de Sobrevivência e Proliferação Celular	26
6.4 Alterações Genéticas	30
6.5 Interação com o Microambiente	32
6.6 Vírus de Epstein-Barr e Linfoma de Hodgkin.....	36
7. Diagnóstico.....	37
7.1 Apresentação Clínica e Laboratorial	37
7.2 Histologia.....	40
7.2.1 Linfoma de Hodgkin Clássico	41
7.2.1.1 Linfoma de Hodgkin Clássico, Esclerose Nodular.....	42

7.2.1.2 Linfoma de Hodgkin Clássico, Celularidade Mista	44
7.2.1.3 Linfoma de Hodgkin Clássico, Rico em Linfócitos	45
7.2.1.4 Linfoma de Hodgkin Clássico, Depleção Linfocitária	47
7.2.2 Linfoma de Hodgkin de Predomínio Linfocítico Nodular.....	49
7.3 Imunofenótipo.....	50
8. Diagnóstico Diferencial.....	53
9. Estadiamento	54
10. Fatores de Prognóstico e Estratificação do Risco	57
11. Tratamento	59
11.1 Linfoma de Hodgkin Clássico	60
11.1.1 Estádio Inicial Favorável	60
11.1.2 Estádio Inicial Desfavorável.....	61
11.1.3 Estádio Avançado	62
11.2 Linfoma de Hodgkin de Predomínio Linfocítico Nodular	63
11.3 Situações Especiais.....	64
11.3.1 Doentes Idosos	64
11.3.2 Doentes Grávidas.....	64
11.3.3 Doentes com VIH/Síndrome da Imunodeficiência Adquirida.....	65
12. Avaliação Pós-Tratamento	65
13. Tratamento da Doença Recidivante ou Refratária	67
13.1 Linfoma de Hodgkin Clássico	68
13.2 Linfoma de Hodgkin de Predomínio Linfocítico Nodular	69
14. Novos Agentes	69
15. Efeitos Tardios do Tratamento.....	70
16. <i>Follow-up</i>	71
17. Conclusão.....	73
Referências Bibliográficas	76

RESUMO

O Linfoma de Hodgkin (LH) tem sido um desafio ao longo de mais de 175 anos. Designado inicialmente como Doença de Hodgkin por Samuel Wilks em 1865, deve o seu nome a Thomas Hodgkin, o primeiro a descrever a doença em 1832.

Segundo a classificação da Organização Mundial de Saúde (2008), o LH engloba duas entidades clínicas e anatomopatológicas distintas: o Linfoma de Hodgkin Clássico (LHC) (95%) e o Linfoma de Hodgkin de Predomínio Linfocítico Nodular (5%). No LHC distinguem-se ainda quatro subtipos: esclerose nodular, celularidade mista, rico em linfócitos e depleção linfocitária.

A doença pode surgir em qualquer idade, embora seja rara em crianças e tenha um pico de incidência em adultos jovens, sendo mais frequente no sexo masculino. Em Portugal são diagnosticados anualmente cerca de 17000 casos de LH, correspondendo a menos de 1% de todos os casos de cancro.

Apesar de vários fatores terem sido associados a maior risco de desenvolvimento de LH, nomeadamente história prévia de infeção pelo vírus de Epstein-Barr, imunodeficiência, antecedentes de doenças autoimunes e possíveis fatores genéticos, a prevenção desta neoplasia é complexa. Sabe-se agora que o LH é uma neoplasia de células B do centro germinativo (CG) ou pós-CG, cujas células tumorais apresentam uma reprogramação da expressão genética e alterações das vias sobrevivência e proliferação celular.

O diagnóstico clínico pode ser difícil, porque os sintomas são similares aos de outras doenças. No entanto, o aparecimento de adenopatias na região cervical num adulto jovem e a presença de sintomas B podem permitir um diagnóstico de suspeição, que deverá ser confirmado por exames complementares de diagnóstico, com especial atenção para a biópsia ganglionar. Uma das suas características essenciais é a presença de um pequeno número de células gigantes

mononucleadas e multinucleadas, as células de Hodgkin e de Reed-Sternberg, distribuídas num fundo de abundantes células não-neoplásicas inflamatórias e acessórias.

Nas últimas décadas, a intensa investigação desenvolvida na área tem permitido progressos bastante significativos na abordagem do LH, adaptando-se o tratamento ao grupo de risco do doente: o ABVD (adriamicina, bleomicina, vinblastina, dacarbazina) é considerado a terapêutica *standard* para os estádios iniciais e avançados. Verificou-se um aumento na sobrevivência aos 5 anos, sendo atualmente curável em pelo menos 80% dos doentes. O *follow-up* é de grande importância pelo risco de recidiva e potencial toxicidade tardia.

Com este trabalho pretendeu-se fazer uma revisão dos conhecimentos atuais relativos ao LH, englobando a sua caracterização biológica, evolução clínica, estratégias de diagnóstico e terapêuticas disponíveis na abordagem destes doentes.

Para tal, foi recolhida informação proveniente de artigos recentes publicados em revistas indexadas na área da Hematologia/Oncologia e outras referências bibliográficas atualizadas.

Palavras-chave: Linfoma de Hodgkin, vírus de Epstein-Barr, resistência à apoptose, NF- κ B, ABVD

ABSTRACT

The Hodgkin Lymphoma (HL) has been a challenge for over 175 years. Initially designated as Hodgkin's Disease by Samuel Wilks in 1865, it owes its name to Thomas Hodgkin, who first described the disease in 1832.

Following the classification of the World Health Organization (2008), LH includes two distinct clinical and pathological entities: the Classical Hodgkin Lymphoma (CHL) (95%) and the Nodular Lymphocyte Predominant Hodgkin Lymphoma (5%). In CHL the following four subgroups can be identified: nodular sclerosis, mixed cellularity, lymphocyte-rich and lymphocyte-depleted.

The disease can occur at any age, although it is rare in children and it has a peak of incidence in young adults, more commonly in men. In Portugal, about 17000 cases of HL are annually diagnosed, accounting for less than 1% of all cancer cases.

Although many factors have been associated with an increased risk of HL, in particular history of Epstein-Barr virus infection, immunodeficiency, history of autoimmune diseases and possible genetic factors, the prevention of this cancer is complex. Nowadays it is known that HL is a B cell neoplasm of germinal center (GC) or post-GC, whose tumor cells have a gene expression reprogramming and deregulated pathways of survival and cellular proliferation.

Clinical diagnosis can be difficult because the symptoms are similar to other diseases. However, the appearing of cervical lymphadenopathies in a young adult and the presence of B symptoms may allow a diagnosis of suspicion, which must be confirmed by diagnostic exams, with special attention to the lymph node biopsy. One of its key features is the presence of a small number of mononucleated and multinucleated large cells, the Hodgkin and Reed-

Sternberg cells, dispersed in a background of abundant inflammatory and accessory non-neoplastic cells.

In recent decades, the intense research carried out on this area has allowed a very significant progress in the management of HL, adapting the treatment to the patient's risk group: ABVD (adriamycin, bleomycin, vinblastine, dacarbazine) is considered the standard therapy for early and advanced stages. There was an increase of the overall survival at 5 years, and nowadays we can cure at least 80% of patients. The follow-up is very important due to the relapse risk and the potential late toxicity.

This paper aimed to review the actual knowledge concerning HL, their biological characterization and the clinical, diagnostic and therapeutic methods available for a correct approach to these patients.

Information was collected from recent articles published on indexed journals on the field of Hematology / Oncology and other updated references.

Key-words: Hodgkin Lymphoma, Epstein-Barr virus, apoptosis resistance, NF- κ B, ABVD

ABREVIATURAS

ABVD – Adriamicina, Bleomicina, Vinblastina, Dacarbazina

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AP-1 – *Activator protein 1*

ARN – Ácido ribonucleico

BARTs – *BamHI A rightward transcripts*

BCL – *B-cell lymphoma gene*

BCL – *B-cell lymphoma protein*

BCR – Recetor das células B

BEACOPP – Bleomicina, Etoposido, Doxorrubicina, Ciclofosfamida, Vincristina,

Procarbazina, Prednisolona

BOB.1 – *B-cell specific octamer-binding protein 1*

CCL – *Chemokine (C-C motif) ligand*

CD – *Cluster differentiation*

CG – Centro germinativo

EBERs – *Epstein-Barr encoded ribonucleic acids*

EBF – *Early B cell factor*

EBNA-1 – *Epstein-Barr nuclear antigen 1*

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

FADD – *FAS-associated protein with death domain*

FISH – *Fluorescence in-situ hybridization*

FLIP – *FADD-like interleukin-1 beta-converting enzyme (FLICE) inhibitory protein*

GHSH – *German Hodgkin's Lymphoma Study Group*

GM-CSF – Fator estimulador de colónias de granulócitos e monócitos

HRS – Células de Hodgkin e Reed-Sternberg

IF-RT – *Involved field-radiotherapy*

Ig – Imunoglobulina

IgV – Região variável da Ig

IKK – Cinase da IκB

IL – Interleucina

IPS – *International Prognostic Score*

JAK-STAT – *Janus kinase–signal transducers and activators of transcription*

LDGCB – Linfoma Difuso de Grandes Células B

LDH – Desidrogenase do lactato

LH – Linfoma de Hodgkin

LHC – LH Clássico

LHCCM – LHC, Celularidade Mista

LHCDL – LHC, Depleção Linfocitária

LHCEN – LHC, Esclerose Nodular

LHCRL – LHC, Rico em Linfócitos

LHPLN – LH de Predomínio Linfocítico Nodular

LMP – *Latent membrane protein*

LNH – Linfomas Não-Hodgkin

LP – *Lymphocyte Predominant cells*

LTC – Linfócitos T citotóxicos

MHCII – Complexo major de histocompatibilidade classe II

mTOR – *Mammalian target of rapamycin*

NCCN – *National Comprehensive Cancer Network*

NF-κB – *Nuclear factor-kappa B*

OCT – *Octamer-binding transcription factor*

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAX5 – *Paired-box transcription factor 5*

PET- ¹⁸F-FDG – Tomografia de emissão de positrões com ¹⁸F-fluordesoxiglucose

PI3K – *Phosphoinositide 3-kinase*

QT – Quimioterapia

RANK – *Receptor activator of NF-κB*

RC – Remissão completa

RT – Radioterapia

RTK – Recetor da tirosina cinase

SG – Sobrevivência Global

SLP – Sobrevivência Livre de Progressão

SOCS-1 – *Supressors of cytokine signaling 1*

TARC – *Thymus and activation-regulated chemokine*

TC – Tomografia computadorizada

TCR – Recetor das células T

Th – Células T *helper*

TNF – Fator de necrose tumoral

Tregs – Células T reguladoras

VEB – Vírus de Epstein-Barr

VIH – Vírus da imunodeficiência humana

VS – Velocidade de sedimentação

1. INTRODUÇÃO

Os linfomas são um grupo heterogêneo de doenças resultantes da acumulação de linfócitos malignos nos gânglios linfáticos, podendo também atingir o sangue (fase leucêmica) ou infiltrar outros órgãos, para além dos do tecido linfóide. Dividem-se em linfomas de Hodgkin (LH) e Não-Hodgkin (LNH).

O LH tem inspirado o interesse científico de vários clínicos ao longo de mais de 175 anos. Em 1832 Thomas Hodgkin publicou um artigo intitulado “*On some morbid appearances of the adsorbent glands and spleen*”, no qual descreveu a aparência *post-mortem* em sete doentes com aumento dos gânglios linfáticos e baço. Trinta e três anos depois Wilks, no seu artigo “*Cases of enlargement of the lymphatic glands and spleen (or Hodgkin’s Disease)*”, confirmou as descobertas de Hodgkin através da observação adicional de 15 doentes e propôs a designação “Doença de Hodgkin”. Langhans em 1872 e Greenfield em 1878 relataram algumas características histológicas da doença, mas deve-se a Carl Sternberg em 1898 e a Dorothy Reed em 1902 a descrição, de forma independente, das características células bi e multinucleadas associadas à doença. Reed contestou a visão de Sternberg, que relacionou a doença com a tuberculose, mas nenhum reconheceu a sua origem neoplásica.¹

Com a implementação da classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), passou a designar-se LH, por se tratar de uma neoplasia de células B do centro germinativo (CG) ou pós-CG. Esta classificação divide o LH em duas grandes entidades: o Linfoma de Hodgkin Clássico (LHC) e o Linfoma de Hodgkin de Predomínio Linfocítico Nodular (LHPLN).²

O LH é uma neoplasia rara, com uma incidência de cerca de três casos por 100000 habitantes por ano³ e representa cerca de 30% de todos os linfomas no mundo ocidental.⁴ O LHC ocorre em 95% dos casos e o LHPLN nos restantes.

Embora com semelhanças, o LHC e o LHPLN apresentam diferentes características clínicas e anatomopatológicas, pelo que são considerados entidades distintas.

Nas últimas décadas, a intensa investigação desenvolvida na área tem permitido a caracterização de um conjunto de parâmetros clínicos, morfológicos, imunofenotípicos e genéticos, de que resultaram progressos bastante significativos na abordagem do LH.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Efetuuou-se uma pesquisa de artigos publicados em revistas indexadas na área da Hematologia/Oncologia, entre Janeiro de 2000 e Novembro de 2012, para o termo “Linfoma de Hodgkin” e os termos relacionados “vírus de Epstein-Barr”, “resistência à apoptose”, “NF- κ B” e “ABVD”, na Medline e PubMed. Não se restringiram as referências bibliográficas por idioma de publicação e incluíram-se referências relevantes publicadas antes do período de pesquisa. Também foi efetuada uma pesquisa de referências de artigos importantes. Os relatórios de conferências e *abstracts* foram incluídos quando considerados úteis.

3. CLASSIFICAÇÃO

Em 1944 Jackson e Parker desenvolveram a primeira classificação da Doença de Hodgkin que apresentava três subtipos: paragranuloma, granuloma e sarcoma. A classificação moderna foi introduzida por Lukes e Butler que reconheceram as características únicas da esclerose nodular, anteriormente incluída no subtipo granuloma, e distinguiram também os subtipos: predomínio linfocítico e histiocítico (nodular ou difuso), e depleção linfocitária (com fibrose difusa ou reticular). A celularidade mista incluía os casos sem critérios para qualquer um dos restantes subtipos. Em 1965, no simpósio de Rye, estes seis subtipos foram reduzidos para

quatro: esclerose nodular, predomínio linfocítico, depleção linfocitária e celularidade mista. Tal classificação manteve-se inalterada por quase três décadas.⁵

Em 1994, a classificação da *Revised European American Lymphoma* (REAL) com base nos novos achados a nível do fenótipo, genótipo, morfologia e clínica, distinguiu dois tipos *major* de LH, o LHC e o LHPLN. O LHC foi ainda classificado em quatro subtipos: LHC esclerose nodular (LHCEN), LHC celularidade mista (LHCCM), LHC rico em linfócitos (LHCRL) e LHC depleção linfocitária (LHCDL).⁶ A terminologia recomendada na classificação REAL foi incorporada na classificação das neoplasias linfóides da OMS, incluindo a substituição do termo “Doença de Hodgkin” por LH na 3ª edição publicada em 2001.⁷ Esta substituição foi reforçada pelo reconhecimento da natureza neoplásica da doença.

A 4ª e última edição da classificação das neoplasias linfóides segundo a OMS foi publicada em 2008, tendo como objetivos a revisão de critérios, nomenclatura e definições das doenças já descritas, assim como a inclusão de novas entidades, e possui no total 64 subtipos (Tabelas 1 e 2). O LH mantém a divisão em LHPLN e LHC, bem como a subdivisão deste último em LHCEN, LHCCM, LHCRL e LHCDL, de acordo com um conjunto de características morfológicas, imunofenotípicas, genéticas e clínicas.²

Tabela 1. Classificação das neoplasias linfóides B segundo a OMS, 2008.

Neoplasias de Células B Maduras
<ul style="list-style-type: none">• Leucemia Linfocítica Crónica / Linfoma Linfocítico de Células Pequenas• Leucemia Prolinfocítica de Células B• Linfoma Esplénico da Zona Marginal• Leucemia de <i>Hairy Cells</i> (Células Cabeludas)• <i>Leucemia / Linfoma Esplénico, Inclassificável*</i><ul style="list-style-type: none">○ <i>Linfoma Esplénico Difuso de Células B Pequenas de Polpa Vermelha*</i>○ <i>Variante Leucémica de Hairy Cells (Células Cabeludas)*</i>• Linfoma Linfoplasmocítico<ul style="list-style-type: none">○ Macroglobulinémia de Waldenström• Doenças das Cadeias Pesadas<ul style="list-style-type: none">○ Doença da Cadeia Pesada Alfa○ Doença da Cadeia Pesada Gama○ Doença da Cadeia Pesada Mu• Mieloma Múltiplo• Plasmocitoma Solitário do Osso• Plasmocitoma Extra-Ósseo• Linfoma do Tecido Linfóide Associado à Mucosa (Linfoma MALT)• Linfoma da Zona Marginal Ganglionar<ul style="list-style-type: none">○ <i>Variante Pediátrica*</i>• Linfoma Folicular<ul style="list-style-type: none">○ <i>Variante Pediátrica*</i>• Linfoma Cutâneo Primário do Centro Folicular• Linfoma de Células do Manto• Linfoma Difuso de Grandes Células B, sem outras especificações<ul style="list-style-type: none">○ Linfoma de Grandes Células B Rico em Células T / Histiócitos○ Linfoma Difuso de Grandes Células B Primário do Sistema Nervoso Central○ Linfoma Difuso de Grandes Células B Cutâneo Primário, <i>leg type</i>○ <i>Linfoma Difuso de Grandes Células B Epstein-Barr positivo do Idoso*</i>• Linfoma Difuso de Grandes Células B Associado a Inflamação Crónica• Granulomatose Linfomatóide• Linfoma de Grandes Células B Primário do Mediastino (Tímico)• Linfoma de Grandes Células B Intravascular• Linfoma de Grandes Células B ALK (<i>Anaplastic Lymphoma Kinase</i>) positivo• Linfoma Plasmablástico• Linfoma de Grandes Células B Secundário a Doença De Castleman Multicêntrica Associada ao Herpesvírus Humano 8• Linfoma Primário dos Derrames• Linfoma de Burkitt• Linfoma de Células B, inclassificável, com características intermédias entre Linfoma Difuso de Grandes Células B e Linfoma de Burkitt• Linfoma de Células B, inclassificável, com características intermédias entre Linfoma Difuso de Grandes Células B e Linfoma de Hodgkin Clássico• Linfoma de Hodgkin

(Adaptado de ⁸)

Tabela 2. Classificação do linfoma de Hodgkin e das neoplasias linfóides T / *Natural Killer* segundo a OMS, 2008.

Linfoma de Hodgkin
<ul style="list-style-type: none"> • Linfoma de Hodgkin de Predomínio Linfocítico Nodular • Linfoma de Hodgkin Clássico <ul style="list-style-type: none"> ○ Linfoma de Hodgkin Clássico, Esclerose Nodular ○ Linfoma de Hodgkin Clássico, Celularidade Mista ○ Linfoma de Hodgkin Clássico, Rico em Linfócitos ○ Linfoma de Hodgkin Clássico, Depleção Linfocitária
Neoplasias de Células T e Células <i>Natural Killer</i> Maduras
<ul style="list-style-type: none"> • Leucemia Pró-linfocítica de Células T • Leucemia Linfocítica de Células T Grandes Granulares • Distúrbio Crónico Linfoproliferativo de Células <i>Natural Killer</i>* • Leucemia de Células <i>Natural Killer</i> Agressiva • Doença Linfoproliferativa de Células T Sistémica, Vírus de Epstein-Barr positivo da Infância • Linfoma <i>Hidroa vaciniiforme-like</i> • Leucemia / Linfoma de Células T do Adulto • Linfoma Extraganglionar de Células T / <i>Natural Killer</i>, do Tipo Nasal • Linfoma de Células T Associado a Enteropatia • Linfoma de Células T Hepatoesplénico • Linfoma de Células T Subcutâneo Tipo Paniculite • Micoose Fungóide • Síndrome de Sézary • Distúrbios Linfoproliferativos de Células T CD30 positivas Cutâneos Primários <ul style="list-style-type: none"> ○ Papulomatose Linfomatóide ○ Linfoma Anaplásico de Grandes Células Cutâneo Primário • Linfomas Cutâneos Primários Agressivos <ul style="list-style-type: none"> ○ De Células T Citotóxicas CD8 positivas Epidermotrópicas* ○ De Células T Gama-Delta ○ De Pequenas / Médias Células T CD4 positivas* • Linfoma de Células T Periférico, sem outras especificações • Linfoma de Células T Angioimunoblástico • Linfoma Anaplásico de Grandes Células, ALK (<i>Anaplastic Lymphoma Kinase</i>) positivo • Linfoma Anaplásico de Grandes Células, ALK (<i>Anaplastic Lymphoma Kinase</i>) negativo* <p>*Representam entidades provisórias ou subtipos provisórios de outras neoplasias. Doenças em itálico são as incluídas pela primeira vez na nova classificação da OMS.</p>

(Adaptado de ⁸)

4. INCIDÊNCIA E EPIDEMIOLOGIA

O LH é uma neoplasia rara, com uma incidência baixa e relativamente estável de 2,7-2,8 casos/100000 habitantes/ano no Reino Unido e Estados Unidos da América⁹ e de 2,2 casos/100000 habitantes/ano na União Europeia³ e representa aproximadamente 30% de todos os linfomas.⁴ Em Portugal são diagnosticados anualmente cerca de 17000 casos, o que corresponde a menos de 1% de todos os casos de cancro.

Nos países desenvolvidos, o LH apresenta uma distribuição etária em curva bimodal, com um pico de incidência nos adolescentes/adultos jovens (15-35 anos) e outro após os 55 anos, e um ligeiro predomínio no sexo masculino, com um *ratio* homem:mulher de 1:1-1,3:1.¹⁰

É mais comum em indivíduos de raça branca, verificando-se uma diminuição progressiva da frequência em negros, hispânicos e descendentes asiáticos.

Nos países em desenvolvimento, nomeadamente África e Ásia, apresenta menor incidência, ocorrendo sobretudo em crianças do sexo masculino com idade inferior a 15 anos.⁴

Além da variação da incidência do LH com a idade, sexo e raça, também se verificam diferenças a nível dos tipos histológicos. Nos países desenvolvidos, o LHC representa 95% dos casos e o LHPLN 5%. O LHCEN, que é o subtipo mais comum nestes países, ocorrendo em 70% dos casos, apresenta menor incidência nos países em desenvolvimento.¹⁰

5. FATORES DE RISCO

Vários fatores foram associados a maior risco de desenvolvimento do LH, nomeadamente história prévia de infeção pelo vírus de Epstein-Barr (VEB), imunodeficiência associada a infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH), transplantação de órgãos sólidos ou de

progenitores hematopoiéticos, uso de fármacos imunossupressores, e antecedentes de doenças autoimunes, além de possíveis fatores genéticos.

5.1 VÍRUS DE EPSTEIN-BARR E OUTROS

O VEB é um γ -herpesvírus com tropismo para os linfócitos. A infecção primária geralmente ocorre na infância, de forma assintomática ou subclínica, mas a exposição tardia pode condicionar o desenvolvimento de mononucleose infecciosa. Após a infecção primária, o vírus mantém-se latente para a toda a vida nas células B de memória, controlado pela resposta dos linfócitos T citotóxicos (LTC).¹¹ A prevalência da infecção aumenta com a idade, pelo que cerca de 95% da população adulta mundial é seropositiva.

Cerca de 20 a 100% dos casos de LH parecem estar associados à infecção pelo VEB, o qual parece desempenhar um papel crucial no desenvolvimento desta patologia.¹² A associação varia com a idade (mais frequente nas crianças e idosos), género (mais frequente no sexo masculino), distribuição geográfica (mais frequente na Ásia do que nos Estados Unidos da América) e histologia (mais comum no LHCCM e LHCDL).^{4,13}

O genoma do VEB tem sido detetado em 30-50% dos tumores através da expressão de proteínas virais, nomeadamente a EBNA-1 (*Epstein-Barr nuclear antigen-1*), a LMP-1 (*latent membrane protein-1*), a LMP-2, as EBERs (*Epstein-Barr encoded ribonucleic acids*) e as BARTs (*BamHI A rightward transcripts*).¹⁴

Assim, os indivíduos com história pessoal de mononucleose infecciosa apresentam um elevado risco (aumento em 3 a 4 vezes) de desenvolvimento de LH associado ao VEB.¹⁵ Além disso, o risco é superior em casos de imunodeficiência e nos portadores de HLA-A*01 (*human leucocyte antigen-A*01*). Estas diferenças ocorrem, porque nestes indivíduos não se confirma

a existência de resposta dos LTC aos epítomos virais, ao contrário do que se sucede com o genótipo HLA-A*02, associado à diminuição do risco de linfoma.¹⁶

No LH associado ao VEB, este é detetado em todas as células tumorais (Figura 1) e a infecção viral é clonal, indicando a sua ocorrência antes da transformação maligna e apoiando desta forma a hipótese do vírus ser um agente causal da doença.¹⁷

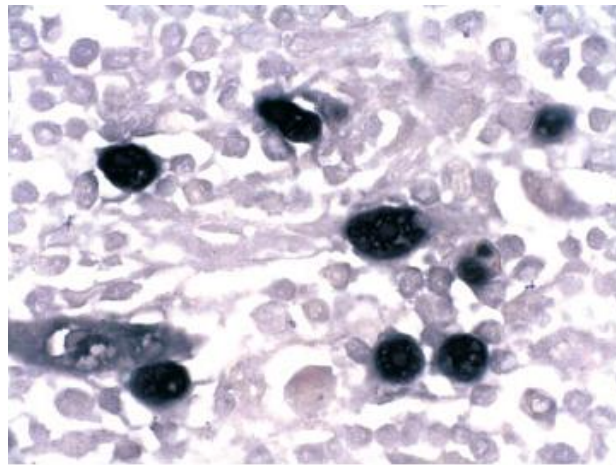


Figura 1. Identificação da proteína viral EBER por FISH em LHC. Após FISH (*fluorescence in-situ hybridization*), observa-se emissão de fluorescência pelo núcleo de todas as células tumorais, evidenciando a presença de EBER 1. (Adaptado de ¹⁷)

Por outro lado, títulos elevados de anticorpos anti-VEB com padrão de reativação viral ao diagnóstico, bem como alguns anos antes, foram detetados em doentes com LH, sugerindo que o VEB desempenha um papel no desenvolvimento do LH.

No LH associado ao VEB há maior predisposição para a reativação durante o ano anterior à data do diagnóstico. A imunossupressão no contexto de um processo de imunossenescência, poderá explicar a grande incidência do LH associado ao VEB numa idade mais avançada.¹⁸

Outros vírus, como o citomegalovírus, os herpesvírus humanos 6, 7 e 8, os poliomavírus JC, BK e SV40, o adenovírus, o vírus T-linfotrópico humano 1 e o vírus do sarampo, poderão estar envolvidos na etiologia do LH não associado ao VEB, não existindo contudo atualmente evidência sólida do seu envolvimento.¹⁹

5.2 IMUNODEFICIÊNCIA

O risco de desenvolvimento de LH está fortemente aumentado no contexto de imunodeficiência primária e adquirida.

A infecção pelo VIH aumenta consideravelmente o risco de LH (até 10 vezes). Está relacionada com os subtipos LHCCM e LHCDL e em 80-100% dos casos há presença concomitante do VEB.²⁰

A reativação do vírus varicela-zoster associa-se também a imunossupressão, embora mais subtil, constituindo outro fator de risco.²¹

A transplantação de órgãos sólidos ou de progenitores hematopoiéticos aumenta igualmente o risco de ocorrência de LH, embora seja uma situação rara,²² bem como a utilização de fármacos imunossupressores, nomeadamente em patologias autoimunes.

5.3 AUTOIMUNIDADE

As doenças autoimunes caracterizam-se por uma resposta linfocitária descontrolada contra antígenos *self* e pela produção de auto-anticorpos, de que resultam lesões dos tecidos-alvo, como as articulações ou a pele.

A história pessoal ou familiar de artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistémico, trombocitopenia imune, sarcoidose ou colite ulcerosa, encontra-se associada a um risco elevado de LH.²³ A associação entre doença autoimune e o risco de LH pode ser parcialmente explicada pela estimulação crónica de células B mediada por auto-antígenos, condicionando a emergência de um clone maligno, e pela terapêutica imunossupressora usada nestas patologias.

5.4 FATORES GENÉTICOS

O LH familiar representa cerca de 4,5% de todos casos diagnosticados de novo. A predisposição genética para o LH é suportada pela existência de casos familiares, bem como a associação a genes específicos.

Além disso, o risco relativo de desenvolvimento de LH aumenta cerca de 100 vezes em gémeos monozigóticos, o que pode ser indicativo do efeito de genes partilhados, e sete vezes em irmãos de doentes com idade inferior a 45 anos. O risco é inferior em doentes jovens com múltiplos irmãos mais velhos, o que pode ser justificada pela exposição mais precoce aos agentes patogénicos mais comuns da infância como o VEB.¹³

O conhecimento dos fatores genéticos envolvidos no desenvolvimento do LH, e da sua interação com fatores extrínsecos, constitui um importante passo para a compreensão da etiologia do linfoma.

Após um estudo do genoma em 44 famílias de alto risco para LH, não foi possível aferir com certeza acerca da existência de regiões genómicas relacionadas com a patologia, mas identificaram-se algumas sugestivas de estarem envolvidas, nomeadamente nos cromossomas 2, 4 e 11.²⁴ Um outro estudo de doentes com LH não relacionados entre si demonstrou uma

associação com os genes da interleucina-6 (IL-6), IL-4R (recetor da IL-4), IL-1R (recetor da IL-1) e LMO₂ (*LIM domain only 2*). Outros estudos evidenciaram a existência de polimorfismos no gene da IL-6 importantes na etiologia do LH.²⁵

5.5 OUTROS FATORES

A exposição ao pó da madeira e produtos químicos, como os fenoxi-herbicidas e os clorofenóis, e as radiações ionizantes, constituem outros possíveis fatores de risco no desenvolvimento do LH, mas, em geral, os estudos acerca de fatores de risco ambientais, químicos e ocupacionais, não apresentam qualquer evidência sólida.²⁶

6. ETIOLOGIA E PATOGÊNESE

6.1 ORIGEM DAS CÉLULAS TUMORAIS

O LH é uma neoplasia de células B do CG ou pós-CG (Figura 2). No LHC, as células tumorais características são designadas no seu conjunto por células de Hodgkin e Reed-Sternberg (HRS), enquanto que no LHPLN são as células LP (*Lymphocyte Predominant cells*).¹

A origem das células tumorais do LH permaneceu desconhecida durante vários anos, em parte devido ao seu imunofenótipo pouco característico, mas também porque o seu pequeno número no tecido tumoral (menos de 1%) dificultou a utilização das mais padronizadas técnicas de biologia molecular para detetar rearranjos dos genes da imunoglobulina (Ig) ou do recetor das

células T (TCR). A confirmação de que estas células resultam da proliferação clonal de células B foi conseguida com a associação da microdissecção à análise dos genes da Ig.²⁷

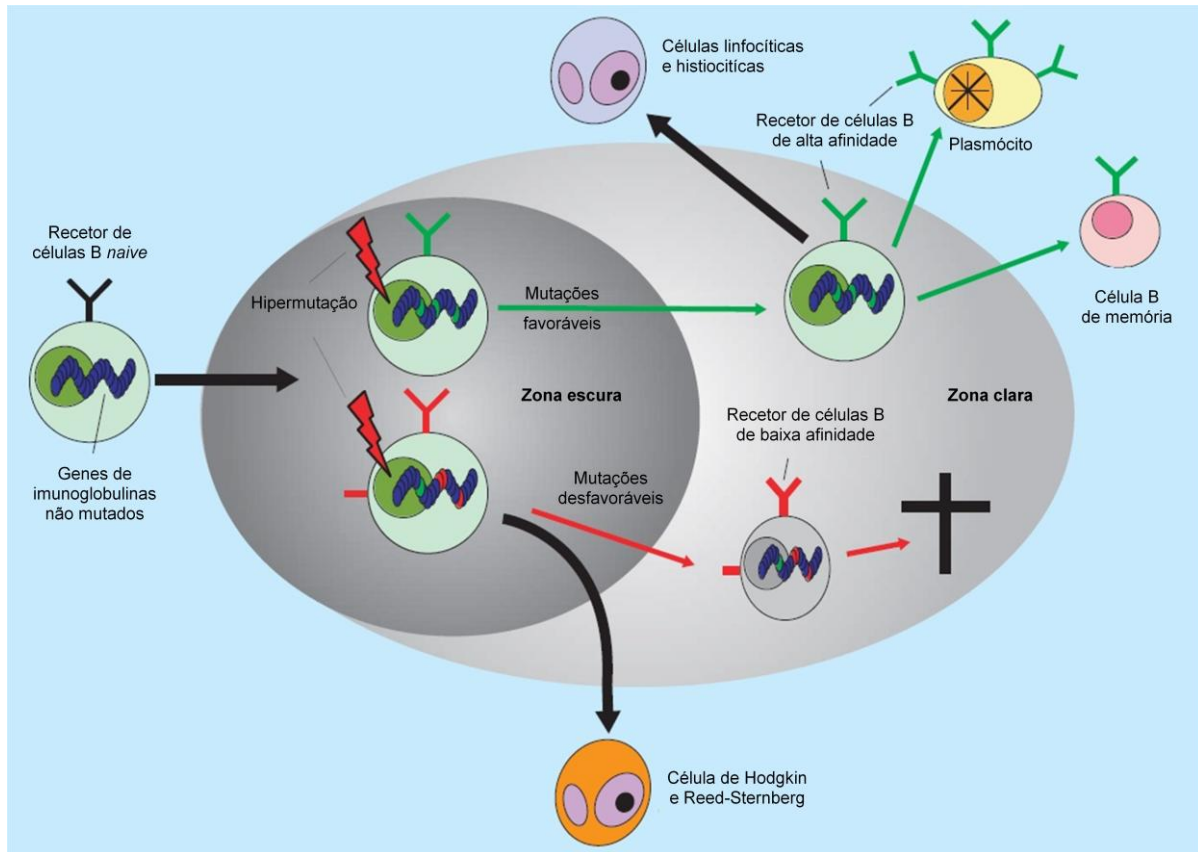


Figura 2. Origem no CG das células do LH. Durante a diferenciação das células B no CG de um gânglio, ocorre um processo de hipermutação na zona escura do CG, de que resulta um grande número de mutações somáticas a nível do rearranjo genético da Ig, com o objetivo de aumentar a afinidade do anticorpo. Na zona clara do CG, segue-se uma seleção negativa das células B que adquiriram mutações “desfavoráveis” do rearranjo genético da Ig, com consequente expressão de um BCR de baixa afinidade ou autorreativo. Numa reação imune fisiológica, as células B que possuem tais características são eficientemente eliminadas por apoptose. Por outro lado, as células tumorais sobrevivem e continuam a proliferar, apesar dos estímulos apoptóticos. (Adaptado de ²⁸)

As células de HRS apresentam um rearranjo dos genes das cadeias pesadas e/ou leves das Igs, o que comprova a sua origem nas células B, o qual é idêntico entre as várias células de HRS, confirmando a sua natureza clonal. Por outro lado, a ocorrência de hipermutação somática a nível do rearranjo genético da região variável da Ig (IgV) suporta a origem no CG ou pós-CG.¹⁷

A origem das células de HRS a partir de células B do CG foi também verificada na análise de linfomas compostos, caso em que o LHC e um dos LNH de células B coexistem no mesmo doente. Estes linfomas possuem rearranjos genéticos da IgV idênticos, mas mutações somáticas distintas, o que sugere um precursor comum, isto é, uma célula B do CG.²⁹

Numa pequena proporção de casos (inferior a 2%), foi sugerida uma origem em células T pela presença de um rearranjo dos genes do TCR.³⁰ Contudo, faltam evidências conclusivas que atribuam uma origem em células T ao LH.

As células LP do LHPLN também apresentam um rearranjo dos genes da IgV e, de forma semelhante às células de HRS, ocorrem mutações somáticas a nível do rearranjo. Por outro lado, em cerca de metade dos casos há evidência de hipermutação somática durante a expansão clonal. Tais achados, juntamente com a expressão de marcadores caraterísticos, confirmam a origem das células LP a partir das células B do CG.¹⁷

6.2 REPROGRAMAÇÃO CELULAR

Apesar da sua origem, as células de HRS apresentam uma perda da expressão de genes específicos das células B, pelo que não produzem Igs nem possuem um recetor das células B (BCR) funcional.¹³

Em cerca de 1/4 dos casos, as mutações somáticas tornam o rearranjo genético da IgV não funcional, pela introdução de mutações *nonsense* (mutações pontuais que originam codões *stop*) ou deleções, que alteram a grelha de leitura (mutações *crippling*).³¹

Por outro lado, verifica-se um compromisso severo da atividade dos fatores de transcrição que habitualmente regulam a expressão génica das células B (Figura 3).

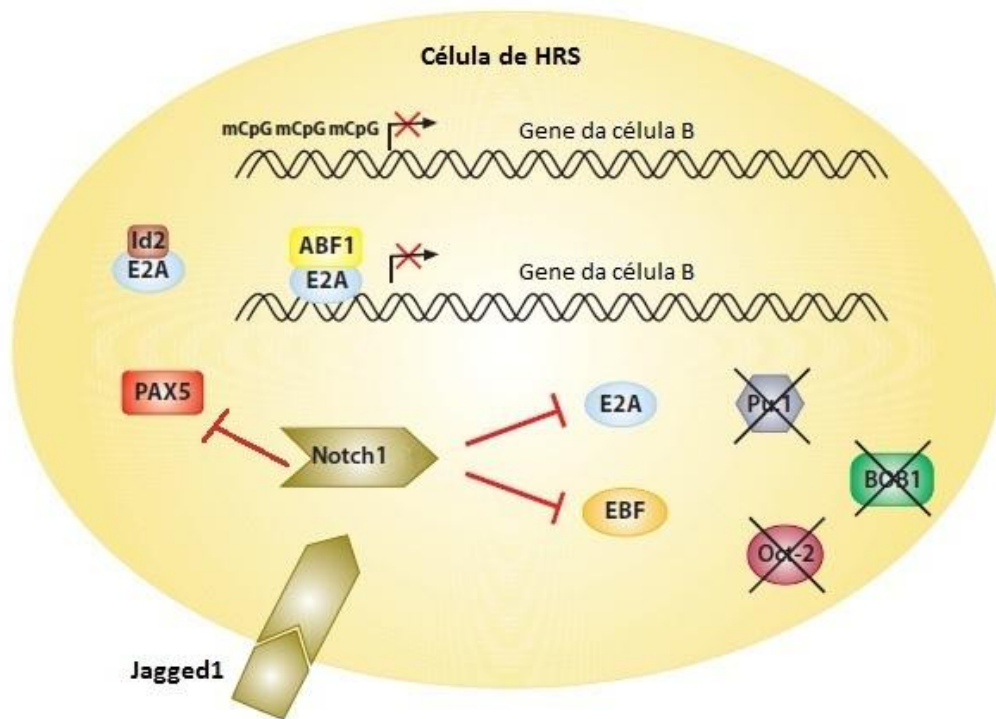


Figura 3. Alteração da atividade dos fatores de transcrição das células de HRS.

Geralmente não existe expressão dos fatores de transcrição específicos das células B, PU.1, OCT-2 e BOB.1. O E2A é inativado pelo ID2 e ABF1, cuja expressão está anormalmente aumentada nas células HRS. Os heterodímeros E2A-ID2 não se conseguem ligar ao ADN, enquanto os heterodímeros ABF1-E2A se ligam, mas não conseguem ativar a transcrição. A expressão do fator de transcrição das células T NOTCH1, um recetor transmembranar ativado por proteólise após ligação ao JAGGED1, interfere com a função do E2A, EBF e PAX5. O silenciamento epigenético através da metilação (mCpG) também contribui para a perda da expressão de genes específicos das células B. (Adaptado de ²⁷)

Como representado na Figura 3, os fatores de transcrição específicos das células B, os fatores PU.1, OCT-2 (*octamer-binding transcription factor-2*) e BOB.1 (*B-cell specific octamer-binding protein 1*), usualmente não são detetados nas células de HRS, contribuindo para a diminuição da transcrição dos genes das Igs.³² Esta também pode ser reforçada por modificações epigenéticas que condicionam o silenciamento dos genes através, por exemplo, da metilação do ácido desoxirribonucleico (ADN) em sequências ricas em dinucleótidos CpG (citosina, guanina).³³

Outros importantes fatores de transcrição específicos das células B estão presentes a nível das células de HRS, mas não desempenham corretamente a sua função. É o caso do E2A, EBF (*early B cell factor*) e PAX5 (*paired-box transcription factor 5*) que durante o desenvolvimento inicial das células B controlam a expressão de vários genes, como o CD19 (*cluster differentiation 19*) e o CD79A, assegurando também a expressão genética nas células B maduras. O NOTCH1 é largamente expresso nas células de HRS, sendo ativado pela interação com o seu ligando JAGGED1, que é produzido pelas células não-neoplásicas circundantes. Trata-se de um fator de transcrição das células T, que promove o desenvolvimento destas células e suprime a diferenciação das células B, através da degradação do E2A e do bloqueio da ligação do EBF ao ADN. O E2A é também inativado pela expressão do ID2 (*inhibitor of differentiation and DNA binding 2*) e ABF1 (*activated B cell factor 1*) nas células de HRS. Além disto, a ativação do NOTCH1 inibe ainda o PAX5, tanto a nível da transcrição como da pós-tradução.¹⁷

Concluindo, as células de HRS do LHC apresentam uma reprogramação da sua expressão genética devido, em grande parte, a alterações do conjunto habitual de fatores de transcrição das células B e que poderá então estar relacionada com a ausência da síntese de Ig e com as alterações da função do BCR.

Por outro lado, as células LP no LHPLN preservam o programa de expressão genética específico das células B, sendo os fatores de transcrição PU.1, OCT-1, OCT-2, BOB.1 e PAX5 expressos em todos os casos.³⁴

6.3 VIAS DE SOBREVIVÊNCIA E PROLIFERAÇÃO CELULAR

Normalmente, as células B do CG com um BCR não funcional sofrem apoptose. A sobrevivência e proliferação das células de HRS apesar dos estímulos apoptóticos, é considerada o evento central da oncogênese do LHC. Para tal parece contribuir a desregulação de várias vias de sinalização celular (Figura 4), cujas causas são apenas parcialmente compreendidas, mas incluem mecanismos de *feedback* parácrinos e autócrinos e ainda lesões genéticas detetadas nas células de HRS.²⁷

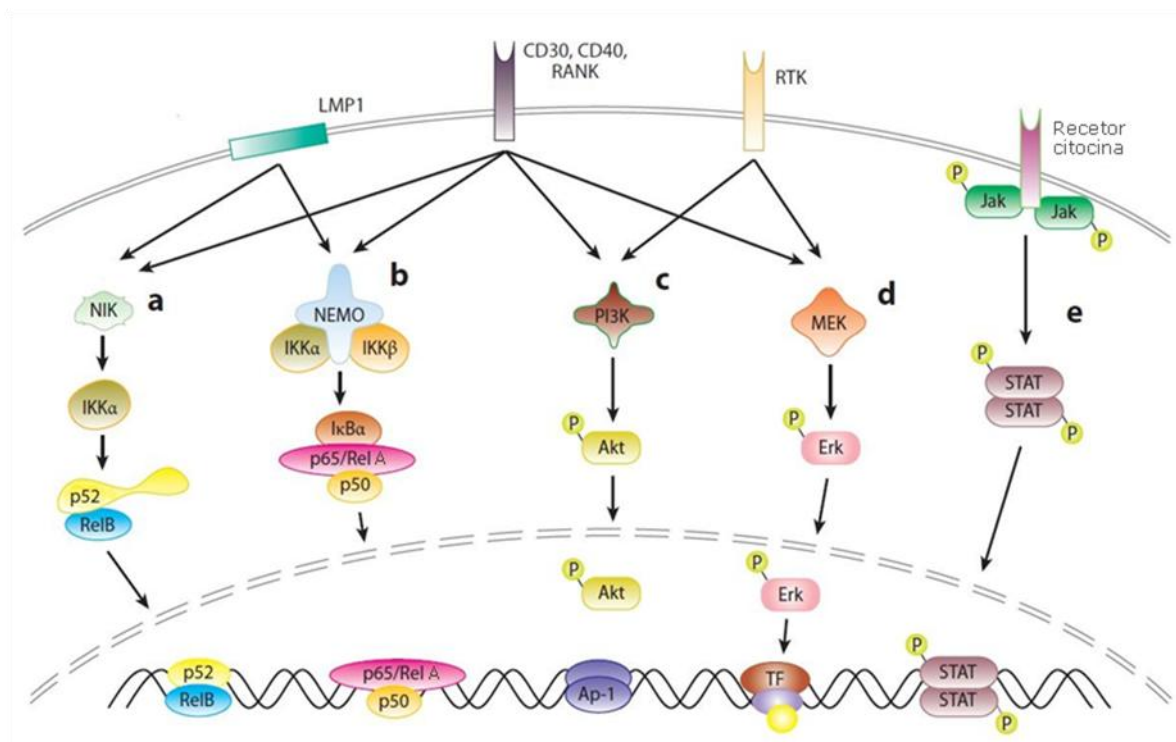


Figura 4. Principais vias de sinalização das células de HRS. (a) (b) A estimulação dos recetores CD30, CD40 e RANK (*receptor activator of NF-κB*), assim como da LMP-1, desencadeiam uma série de eventos, de que resulta a translocação nuclear da família proteica do NF-κB (*nuclear factor-kappa B*) e consequente ativação dos genes alvo, NIK (*NF-κB-inducing kinase*) e NEMO (*NF-κB essential modulator*). (c) A AKT (*protein kinase B*) e a (d) ERK (*extracelular signal-regulated kinase*) ativadas podem fosforilar múltiplos substratos no citoplasma e no núcleo. (e) A estimulação dos recetores das citocinas resulta na ativação da via JAK-STAT (*janus kinase–signal transducers and activators of transcription*). (Adaptado de ²⁷)

O NF-κB (*nuclear factor-kappa B*) é uma família de fatores de transcrição que se encontra envolvida em vários processos celulares, nomeadamente na resposta inflamatória, adesão celular e na sobrevivência celular. Inclui cinco proteínas que atuam como homo e heterodímeros: RELA (p65), RELB, c-REL, NF-κB1 (p50 e o seu precursor p105) e NF-κB2

(p52 e o seu precursor p100). O NF- κ B é mantido inativo no citoplasma, pela ligação das proteínas inibitórias I κ B α , I κ B β , I κ B ϵ e proteínas precursoras p105 e p100 (Figura 4). A estimulação dos recetores celulares, nomeadamente da superfamília de recetores do fator de necrose tumoral (TNF), leva à ativação da cinase da I κ B (IKK), com fosforilação destas proteínas e sua consequente degradação proteolítica no proteasoma. Desta forma, o NF- κ B fica livre, passando para o núcleo, onde aumenta a transcrição de vários genes, particularmente os que codificam citocinas pró-inflamatórias [IL-6, IL-13, TNF- α e CCL5 (*chemokine (C-C motif) ligand 5*)] e fatores antiapoptóticos [BCL-XL (*B-cell lymphoma-extra large protein*), cIAP2 (*cellular inhibitor of apoptosis protein 2*) e FLIP (*FAS-associated protein with death domain (FADD)-like interleukin-1 beta-converting enzyme (FLICE) inhibitory protein*)].³⁵

Habitualmente, a ativação da via de sinalização do NF- κ B é transitória e rigorosamente controlada, no entanto, nas células de HRS encontra-se permanentemente ativa por diferentes mecanismos:

- Aumento da expressão de vários recetores do TNF pelas células de HRS, como CD30, CD40, RANK (*receptor activator of NF- κ B*) e CD95;
- Estimulação parácrina destes recetores, devido à produção de ligandos pelo ambiente celular que rodeia as células de HRS;
- Presença do VEB, que contribui diretamente para a ativação da via através da LMP-1;
- Mutações deletérias dos genes que codificam as proteínas inibitórias I κ B e a proteína A20 envolvida na *down-regulation* do NF- κ B;
- Amplificação da região cromossómica que inclui o gene *c-REL*.

A análise da expressão genética das células LP revelou a transcrição de vários genes-alvo do NF- κ B, sugerindo que o aumento da ativação desta via de sinalização também desempenha um importante papel no LHPLN.³⁶

A ativação da via de sinalização JAK-STAT (*janus kinase–signal transducers and activators of transcription*) também tem sido implicada na sobrevivência e proliferação das células de HRS, face aos estímulos apoptóticos. Esta via representa um dos mecanismos centrais de sinalização pelas citocinas, incluindo a IL-5, IL-6, IL-9, IL-13 e o fator estimulador de colônias de granulócitos e monócitos (GM-CSF). No LH, as citocinas capazes de ativar esta via são produzidas em abundância, pelo que no núcleo das células de HRS se encontram níveis elevados de STAT3, STAT5 e STAT6 fosforiladas. Por outro lado, existem também lesões genéticas capazes de afetar o normal funcionamento da via, como a amplificação do gene *JAK2* e as mutações do *SOCS-1* (*supressors of cytokine signaling-1*), que regula negativamente a JAK.¹⁷

Várias outras vias de sinalização celular estão desreguladas no LH. É o caso da via MAPK-MEK-ERK (*mitogen-activated protein kinase – MAPK/ERK kinase – extracelular signal-regulated kinase*), cuja ativação é mediada pelos recetores CD30, CD40 e RANK e ainda pelos recetores da tirosina cinase (RTK) (também com expressão aumentada) e da via de sinalização PI3K-AKT-mTOR (*phosphoinositide 3-kinase – protein kinase B – mammalian target of rapamycin*), ativada pelos mesmos recetores (Figura 4). Por último, refira-se ainda a desregulação da via AP-1 (*activator protein 1*) – Jun/Fos, cujos genes alvo incluem o CD30 e a galectina-1.²⁷

Muitos dos genes envolvidos nas vias de sinalização referidas podem ser regulados por pequenas moléculas de ácido ribonucleico (ARN) não-codificante, os microARNs (miRs). Estes miRs têm reconhecida importância no desenvolvimento neoplásico, existindo

evidências da alteração da sua expressão de forma variável no LH. O miR-155 é expresso em elevados níveis nas linhas celulares de LH e no tecido primário, onde poderá estar relacionado com a diminuição da atividade do fator de transcrição das células B, PU.1. Nas células de HRS também se verifica uma *up-regulation* dos miRs 9, 16, 18a, 20a, 21, 30b, 30a-5p, 140, 155, 186, 196a e 374 e *down-regulation* dos miRs 200, 520a e 614. No entanto, não se encontra ainda esclarecido o papel destes miRs na regulação da transcrição, sobrevivência e proliferação das células do LH.¹⁷

Concluindo, há uma desregulação de múltiplas vias de transcrição e sinalização celular no LH que cooperam entre si para aumentar a proliferação celular, reduzir a apoptose e promover um ambiente celular favorável, através da libertação de múltiplas citocinas e quimiocinas.

6.4 ALTERAÇÕES GENÉTICAS

A identificação de alterações genéticas nas células de HRS e nas células LP é dificultada pelo baixo índice mitótico e pequeno número destas células nos tecidos. No entanto, nas células após microdissecção, a utilização da FISH e PCR (*polimerase chain reaction*) permitiu o reconhecimento de determinadas lesões genéticas importantes na patogenia do LH, algumas das quais já referidas anteriormente.

As células tumorais apresentam uma grande instabilidade genómica. É típica a existência de múltiplas alterações cromossómicas, numéricas e estruturais, sendo algumas clonais, mas a maioria ocorre apenas em subclones. Contudo, a causa subjacente a esta instabilidade genómica não se encontra ainda esclarecida.²⁷

Uma porção significativa dos casos de LHC e LHPLN exibem translocações envolvendo o gene que codifica as cadeias pesadas das Igs, o que suporta a sua origem nas células B. Nas

células LP, o gene *BCL-6* está frequentemente envolvido nestas translocações, sendo pouco característico nas células de HRS, o que está de acordo com os padrões de expressão do gene *BCL-6* nos dois subtipos de LH.³⁷ Também é rara, nas células de HRS, a associação de translocações dos genes da Ig com outros proto-oncogenes, como a ciclina *D1*, o *BCL-2* e o *MYC* (*myelocytomatosis oncogene*). Ou seja, no LHC, os genes envolvidos na maior parte destas translocações continuam por identificar.

A análise genética das células tumorais do LH, também permitiu a identificação de outros oncogenes e vários genes supressores tumorais que poderão estar envolvidos na patogenia. É o caso do já referido anteriormente gene *c-REL* no cromossoma 2p16, que codifica um componente do NF- κ B e que sofre amplificação em cerca de 50% dos casos de LHC. Daqui resulta um aumento dos níveis nucleares de c-REL, contribuindo para a ativação contínua do NF- κ B. Em cerca de 10-20% dos casos de LHC encontram-se ainda mutações inativadoras dos genes de duas proteínas inibitórias do NF- κ B, a $I\kappa B\alpha$ e $I\kappa B\epsilon$, sobretudo do gene que codifica a $I\kappa B\alpha$. Estes genes parecem funcionar como supressores tumorais. Também se verificam alterações do gene que codifica a proteína A20, que assim como as proteínas anteriores, inibe a ativação do NF- κ B. Foram identificadas deleções recorrentes da região cromossômica do gene *A20* 6q23 em linhas celulares do LH e células de HRS, assim como mutações inativadoras em cerca de 45% dos casos de LHC. Curiosamente, apenas o LH não associado ao VEB apresentava tais mutações, pelo que o gene *A20* poderá funcionar como supressor tumoral nestes casos.²⁷

Como também já referido anteriormente, a via de sinalização JAK-STAT é igualmente ativada por lesões genéticas das células tumorais. Em cerca de 25% dos casos de LHC, o locus *JAK2* no cromossoma 9p24 encontra-se amplificado, e verificam-se mutações inativadoras do gene *SOCS-1* nas células de HRS e LP, que habitualmente inibe a ativação desta via de sinalização celular.²⁷

Além do referido, as células tumorais expressam o recetor FAS, apesar de serem resistentes à apoptose por esta via. Por outro lado, são raras as mutações encontradas a este nível e nenhuma ocorre nos genes do complexo que sinaliza para a morte celular, FADD, caspase 8 e caspase 10. No entanto, os doentes com mutações do gene *FAS* a nível da linha germinativa apresentam um aumento do risco em 50 vezes de desenvolver LH.³⁸ Não existe evidência significativa de que a resistência ao FAS se deva ao aumento da expressão do FLIP, um inibidor desta via cuja atividade está aumentada pelo NF-κB.

As células de HRS também expressam elevados níveis de p53, associados a mutações que provocam a perda da sua função supressora tumoral.³⁹ Tal função poderá ainda ser inibida pela ligação da proteína MDM2 (*murine double minute 2*), que se encontra aumentada nas células tumorais.

Outros oncogenes e genes supressores tumorais foram analisados, como o *ATM* (*ataxia-telangiectasia mutated*), *BAD* (*BCL-2-associated agonist of cell death*), *BCL-10* e *RAS*, mas as lesões genéticas identificadas são raras.²⁷

Assim, pode concluir-se que as mutações mais frequentes das células tumorais ocorrem a nível dos componentes das vias de sinalização NF-κB e JAK-STAT, reforçando o papel central destas vias na patogénese do LH.

6.5 INTERAÇÃO COM O MICROAMBIENTE

Quase todas as células presentes no tecido tumoral do LH constituem um infiltrado inflamatório, que inclui células T, células B, eosinófilos, fibroblastos, macrófagos, mastócitos e plasmócitos. Há evidência de que as células de HRS e as células LP recrutam muitos componentes deste característico infiltrado inflamatório através da secreção de citocinas e

quimiocinas. Por sua vez, os sinais parácrinos induzidos por estas células não-neoplásicas, promovem a sobrevivência das células tumorais. A interação entre as células tumorais e as células do infiltrado inflamatório constitui então um elemento importante da patogênese do LH.¹⁷

As células do infiltrado inflamatório são, na sua grande maioria, células T CD4+, sendo que as que se encontram próximas das células de HRS, formando as chamadas rosetas, geralmente são células T *helper* (Th) tipo 2 (Figura 5). É notável a ausência de LTC CD8+, de células T CD4+ Th1 e de células *natural killer* (NK).

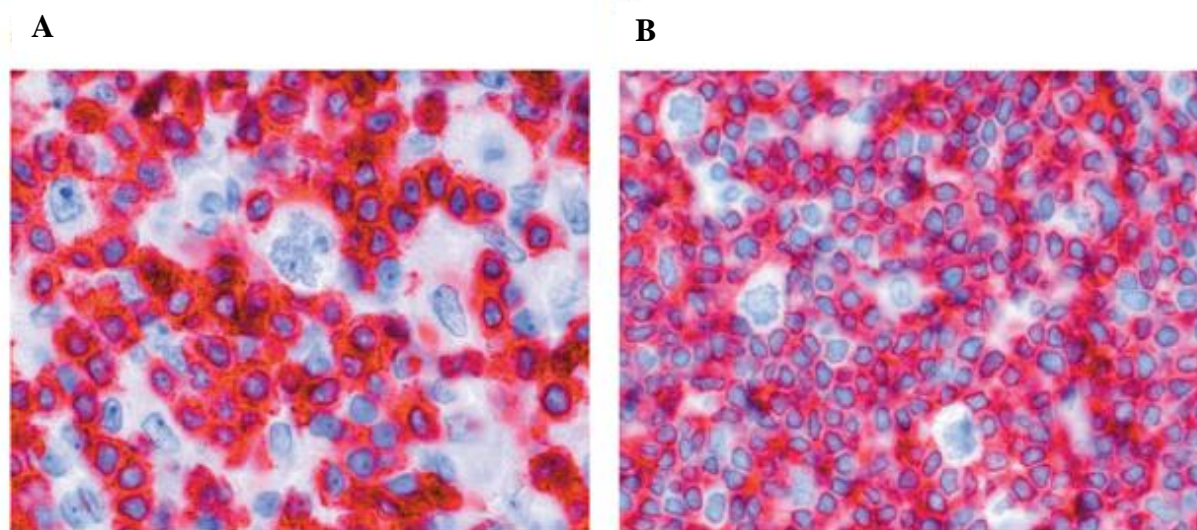


Figura 5. Identificação por imunohistoquímica de células T no LHC e LHPLN. Observam-se numerosas células T CD4+ ao redor das células de HRS (A) e das células LP (B) no LHC e LHPLN, respetivamente. (Adaptado de ²⁷)

Acredita-se que as células de HRS libertam quimiocinas, como a TARC (*thymus and activation-related chemokine*), CCL5 [RANTES (*regulated upon activation normal T cell expressed and secreted*)] e CCL22, que atraem as células Th2. Estas células expressam o ligando CD40 que deverá estimular o respetivo recetor na superfície das células de HRS,

ativando deste modo as cascatas de sinalização já referidas.⁴⁰ Os antígenos do complexo major de histocompatibilidade classe II (MHCII) e os fatores CD80 e CD86 que estimulam as células T encontram-se presentes na superfície das células de HRS, forçando a interação destas células com as células T que as rodeiam. A interação é reforçada por moléculas de adesão expressas pelas células de HRS (CD54, CD58) e pelas células T CD4+ [LFA-1 (*lymphocyte function-associated antigen-1*), CD2] (Figura 6).

As células T reguladoras (Tregs), CD4+/CD25+/FOXP3+ (*forkhead box P3*), também se encontram em abundância no infiltrado inflamatório. Estas células inibem a IL-2 e CD25 (IL-2R α), prevenindo a ativação dos LTC e das células NK e também libertam IL-10, uma citocina inibidora da resposta imune.⁴¹ Assim, protegem as células de HRS da resposta imunitária, particularmente nos casos associados ao VEB, em que as células expressam antígenos virais.⁴² As células Tregs são recrutadas para o infiltrado pelas células de HRS, através da secreção de galectina-1 e quimiocinas, nomeadamente IL-10, TGF- β (fator de crescimento tumoral- β), TARC, CCL5, CCL20 e CCL22. Assim como a IL-10, também a galectina-1 e o TGF- β inibem a resposta imunitária, que é ainda reforçada pela expressão do ligando PD-1 (*programmed cell death 1*) pelas células de HRS, que ativa o respetivo recetor nas células T (Figura 6).

Tanto as células de HRS como os fibroblastos secretam IL-5, IL-9, CCL5, CCL11 (eotaxina), CCL28 e GM-CSF, de que resulta a chamada de eosinófilos para o infiltrado. Os eosinófilos, por sua vez, libertam TGF- β e expressam o ligando CD30, que estimula o respetivo recetor nas células tumorais. Os mastócitos presentes também expressam o ligando CD30 e podem contribuir para a angiogénese⁴³ (Figura 6). Outras citocinas envolvidas na patogénese do LH incluem a IL-13, que é produzida pelas células de HRS promovendo a sobrevivência tumoral através da sinalização autócrina.⁴⁴

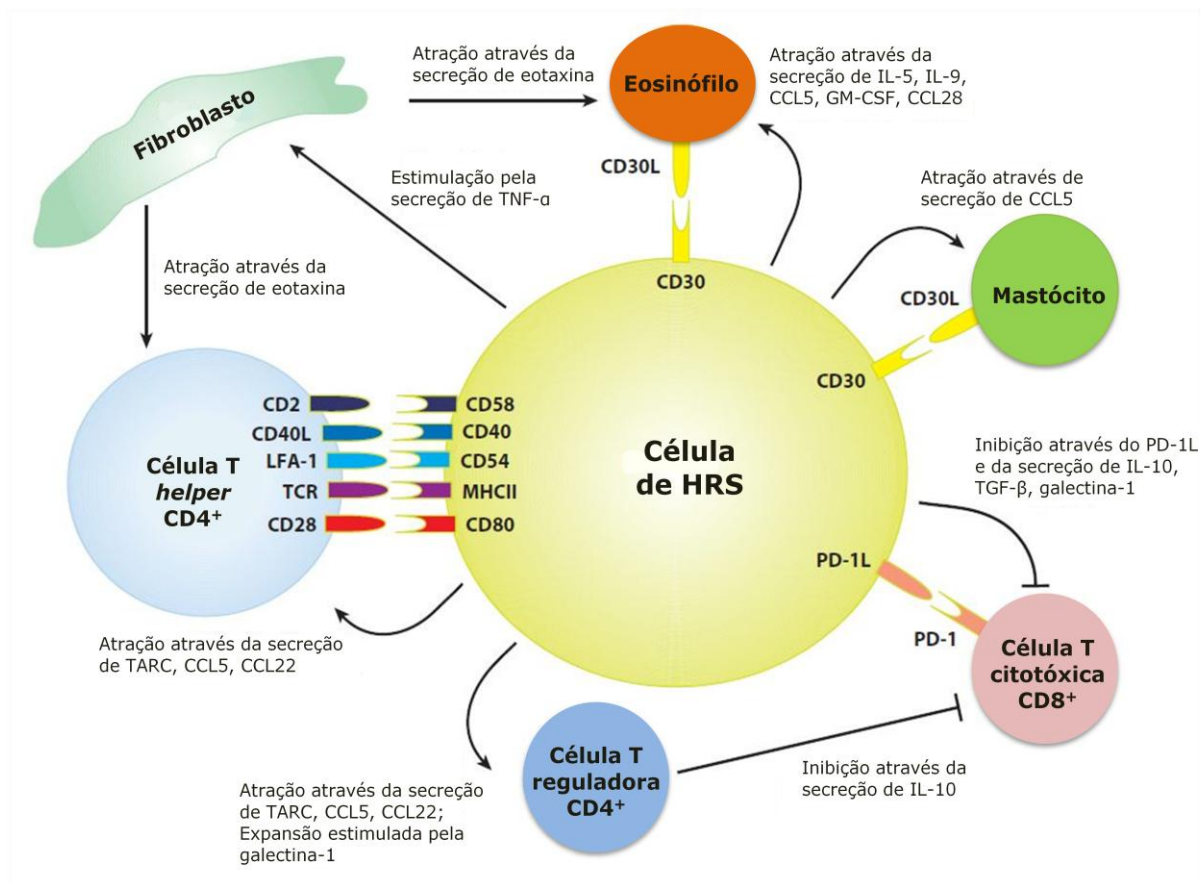


Figura 6. Interações da célula de HRS do LHC com as células do microambiente. O microambiente celular no LHC é constituído por algumas células de HRS rodeadas por um grande infiltrado de células inflamatórias, que podem constituir 99% de todas as células no tecido tumoral e que consistem sobretudo em fibroblastos, eosinófilos, mastócitos, células B, plasmócitos e células T. As células neste microambiente são atraídas por várias citocinas. Os fibroblastos libertam eotaxina que atrai células T CD4⁺ e eosinófilos. A via de sinalização do ligando CD30 (CD30L)/CD30 ativada pelos eosinófilos e mastócitos promove a sobrevivência das células de HRS. Estas células também recebem múltiplos estímulos proliferativos das células T CD4⁺, através das interações CD54-LFA-1, ligando CD40 (CD40L)/CD40, MHCII/TCR, CD58/CD2 e CD80/CD28. A função dos LTC é inibida pela interação ligando PD-1 (PD-1L)/PD-1 entre estas células e as células de HRS e pela secreção de IL-10, TGF- β e galectina-1 pelas células tumorais. São também inibidos pela libertação de IL-10 pelas Tregs. (Adaptado de ²⁷)

No LHPLN, as células LP encontram-se associadas a células dendríticas foliculares e rodeadas por rosetas de células T CD4+/CD57+, um grupo específico de células Th do centro germinativo.²⁷

6.6 VÍRUS DE EPSTEIN-BARR E LINFOMA DE HODGKIN

Há evidência que nos casos de LH associados ao VEB, este desempenha um papel essencial na oncogênese/linfomagenese. Assim, será importante perceber como tal se desenvolve.

As células de HRS expressam várias proteínas do VEB, nomeadamente as proteínas EBNA-1, LMP-1, LMP-2, EBERs e BARTs.¹⁴

Os antígenos EBNA-1 e LMP-1 são essenciais para a transformação das células B pelo VEB e o LMP-2 parece ser importante na sobrevivência destas células. O antígeno EBNA-1 mantém o genoma viral como um epissoma e assegura a sua replicação durante a mitose. Além disto, suporta o desenvolvimento tumoral pelo aumento da secreção de CCL22 e consequente atração das Tregs. O LMP-1 mimetiza a sinalização via CD40, de que resulta a ativação permanente do NF-κB, sendo também capaz de ativar as vias de sinalização JAK-STAT, PI3K e AP-1.⁴⁶ Tanto este, como o antígeno LMP-2, podem contribuir para a reprogramação da expressão genética das células de HRS. Em particular, o LMP-2 ativa de forma contínua a via NOTCH, provocando alterações dos níveis dos fatores de transcrição E2A e EBF.⁴⁶

Os EBERs aumentam a resistência à apoptose, pela diminuição da atividade da p53 e STAT1.

Os BARTs são um grupo de ARNs que sofreram *splicing* alternativo, derivados do fragmento *BamHI A* do genoma do VEB. A sua função ainda é pouco conhecida, mas também parecem ser importantes na patogénese viral.

Apesar da morfologia, fenótipo e expressão genética dos casos de LH associados ao VEB parecerem semelhantes aos casos não associados ao vírus, há uma evidência crescente de que a patogênese molecular destes dois grupos é distinta. Assim, as mutações de genes que codificam inibidores do NF- κ B, em particular a proteína A20, são mais comuns quando o vírus não está presente, sugerindo que tais mutações substituem a expressão do antígeno LMP-1. Além disto, as mutações *crippling* dos genes da Ig parecem quase exclusivas dos casos associados ao VEB, indicando que o vírus é necessário para impedir que as células contendo estas mutações sofram apoptose. Por último, o aumento da expressão dos RTK é mais frequente quando o vírus não está presente, sugerindo que este substitui importantes sinais oncogênicos.¹⁷

7. DIAGNÓSTICO

7.1 APRESENTAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL

É essencial o conhecimento da apresentação clínica do LH (Tabela 3) para o diagnóstico atempado, estadiamento e início de um tratamento apropriado.

Como já referido, o LH, embora possa surgir em qualquer idade, possui um pico de incidência nos adolescentes/adultos jovens (15-35 anos) e outro após os 55 anos, e um ligeiro predomínio no sexo masculino.¹⁰

Além das características epidemiológicas típicas anteriormente referidas, a maioria dos doentes apresenta-se inicialmente com uma linfadenopatia superficial, persistente, indolor, firme, com consistência dura-elástica e predominantemente supradiafragmática (mais frequentemente cervical), sem outros sintomas associados.

A localização mediastínica pode ser identificada ocasionalmente numa radiografia do tórax de rotina ou apenas após o desenvolvimento de sintomas associados ao seu crescimento, como tosse ou desconforto/dor torácica. A localização a nível do anel de Waldeyer, da região mesentérica, poplítea e epitróclea é rara.¹⁴

Tabela 3. Manifestações comuns, pouco comuns e raras do LH aquando ao diagnóstico.

Manifestações comuns	
Linfadenopatia	
Supradiaphragmática	90%
Infradiaphragmática	10%
Doença extraganglionar	
Ausência de doença extraganglionar	75%
Extensão local (em contiguidade com os gânglios envolvidos)	10%
Disseminação à distância (fígado, medula óssea, pulmão e osso)	
LHC	15%
LHPLN	5%
Sintomas B	35%
Manifestações pouco comuns	
Prurido	<5%
Dor induzida por álcool	<2%
Manifestações raras	
Síndrome da veia cava superior	<1%
Compressão aguda da medula espinhal	
Lesão solitária do sistema nervoso central	
Envolvimento do anel de Waldeyer	
Glomerulonefrite	
Massas testiculares	
Oclusão intestinal	

(Adaptado de ⁴⁷)

O LH dissemina-se tipicamente por contiguidade, isto é, de uma região ganglionar para a/as região/regiões ganglionares adjacentes. Embora pouco comum na apresentação inicial,

reconhecem-se dois tipos de disseminação extraganglionar, local e à distância. A extensão local, presumivelmente por invasão direta ou através dos vasos linfáticos, pode envolver qualquer estrutura em contiguidade com os gânglios afetados. A disseminação à distância ocorre por via hematogénea, e é quase sempre precedida pelo envolvimento esplênico, atingindo sobretudo o fígado, medula óssea, pulmão ou osso. Outras localizações, nomeadamente a nível cutâneo, cerebral, gastrointestinal ou musculo-esquelético, são excepcionais e constituem menos de 1% das formas de apresentação do LH.⁴⁷

Os doentes podem apresentar sintomas locais como tosse, dor torácica e/ou dor óssea, como referido. Contudo, os sintomas sistémicos são mais frequentes, encontrando-se em cerca de 1/3 dos casos ao diagnóstico. Os sintomas B incluem febre inexplicada superior a 38°C por 3 dias consecutivos, sudorese noturna e emagrecimento inexplicável superior a 10% do peso corporal nos 6 meses precedentes.¹

Outras manifestações menos comuns desta patologia são o prurido e a dor induzida por álcool. Esta última é quase diagnóstica e ocorre a nível das regiões linfáticas afetadas após a ingestão de uma quantidade moderada de bebidas alcoólicas.

Apresentações clínicas raras como a síndrome da veia cava superior, a compressão aguda da medula espinhal, o envolvimento isolado do sistema nervoso central e do anel de Waldeyer, a glomerulonefrite, as massas testiculares ou a oclusão intestinal, estão normalmente associadas a LH avançado.¹⁴

É importante destacar duas situações em que o LH se pode apresentar de forma pouco usual, na infeção VIH e na idade avançada. Nos doentes com infeção VIH a doença extraganglionar associada a sintomas B é mais frequente. A disseminação pode ocorrer para locais pouco comuns, como o sistema nervoso central, o tecido musculo-esquelético, a pleura e as vísceras

abdominais, sem que haja atingimento esplênico. Nos idosos os sintomas sistêmicos são mais comuns e a doença envolve sobretudo a região infradiafragmática.

Além da sintomatologia, existem alterações laboratoriais que não devem ser desvalorizadas, tais como a anemia normocítica e normocrômica, a trombocitopenia, a neutropenia, a linfopenia, a hipoalbuminemia e a elevação da velocidade de sedimentação (VS), da proteína C-reativa e da desidrogenase do lactato (LDH).⁴⁷ Contudo, a caracterização histológica e imunofenotípica são fundamentais para o diagnóstico dos diferentes subtipos de LH.

7.2 HISTOLOGIA

O diagnóstico definitivo requer um estudo histológico por um anatomopatologista experiente, através da realização de biópsia ganglionar, já que os sintomas, sinais e alterações laboratoriais são similares aos de outras doenças. Segundo as *guidelines* da *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*,⁴⁸ a biópsia aspirativa por agulha fina, de forma isolada, é geralmente insuficiente para o diagnóstico inicial. Apesar deste tipo de biópsia poder ser adequada, encontra-se sobretudo recomendada a realização de biópsia excisional do gânglio linfático.

Como já referido, a classificação das neoplasias linfóides (OMS 2008) reconhece a existência de 2 tipos histológicos major de LH: o LHC e o LHPLN. Uma característica comum a ambas as entidades e que permite diferenciar a nível histológico o LH de outros linfomas e até de outros tumores malignos, é a presença de um reduzido número de células neoplásicas no tecido afetado, constituindo apenas cerca de 1% da massa tumoral, distribuídas num fundo de abundantes células não-neoplásicas inflamatórias e acessórias (Figuras 7 e 8).⁴⁹

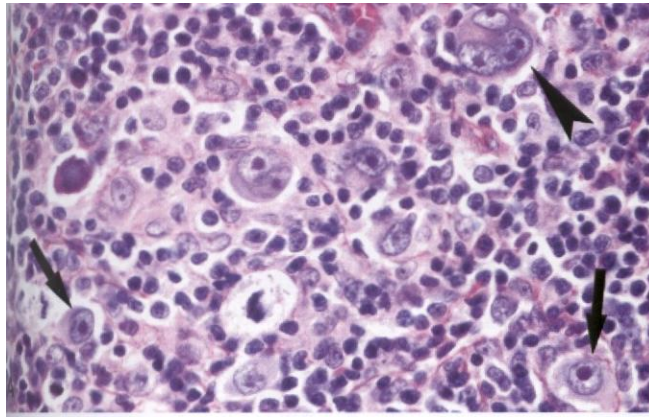


Figura 7. Histologia de um gânglio linfático de um doente com LH. As setas indicam a presença de células grandes multinucleadas, as células de Reed-Sternberg e células grandes mononucleadas, as células de Hodgkin. Estas células co-existem com um infiltrado inflamatório com células acessórias, linfócitos, plasmócitos, macrófagos, eosinófilos e histiócitos. (Adaptado de ¹)

7.2.1 LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO

De uma forma geral, o LHC caracteriza-se pela presença das células de Reed-Sternberg, células de grande tamanho, multinucleadas e com um proeminente nucléolo eosinófilo, e das células de Hodgkin, equivalentes mononucleares das primeiras, designadas no seu conjunto por células de HRS¹ (Figuras 7 e 8). Podem distinguir-se 4 subtipos histológicos deste linfoma, o LHCEN, o LHCCM, o LHCRL e o LHCDL, de acordo com a morfologia das células de HRS e a composição do infiltrado celular.² Tendo em conta o que já foi referido anteriormente, pode afirmar-se que estes subtipos também diferem ligeiramente entre si na incidência/epidemiologia, fatores de risco e apresentação clínica.

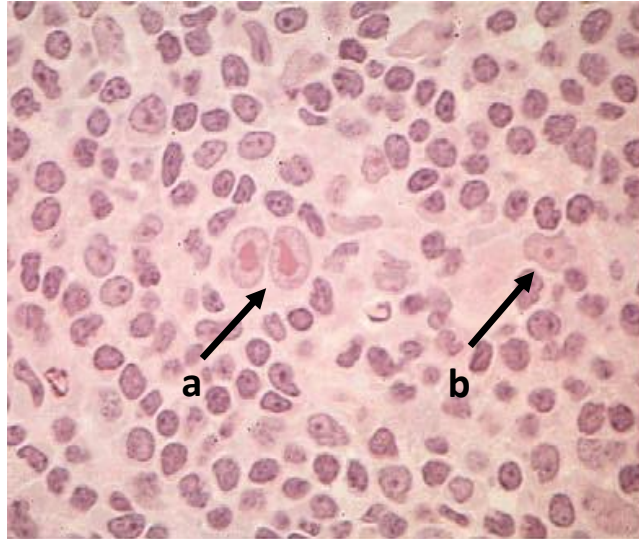


Figura 8. Células Características do LHC. Visualizam-se células multinucleadas de Reed-Sternberg (a) e células mononucleadas de Hodgkin (b). (Adaptado de ¹)

7.2.1.1 LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO, ESCLEROSE NODULAR

O LHCEN é uma entidade caracterizada pela presença de nódulos de tamanho variável separados por densas bandas de colagénio (Figura 9), que exibem uma típica birrefringência verde à luz polarizada, e que permite a distinção do LHCDL.¹⁴ A fibrose geralmente estende-se a partir da cápsula do gânglio de forma perivascular. Os nódulos são compostos por células lacunares e um número variável de pequenos linfócitos. Neutrófilos e eosinófilos também podem estar presentes em abundância, formando por vezes microabcessos no interior dos nódulos. É de realçar que, em contraste com o LHCCM e o LHCDL, as células B constituem uma grande proporção do infiltrado linfocítico, com preservação da estrutura folicular.¹³ As células lacunares constituem uma variante das células de Reed-Sternberg, sendo assim designadas devido ao facto de ocorrer retração da membrana citoplasmática aquando da sua fixação com formol. Comparativamente às últimas, as células lacunares apresentam um núcleo de menor tamanho, um nucléolo menos proeminente e maior quantidade de citoplasma

(Figura 9). As clássicas células de HRS também podem estar presentes, mas geralmente são muito raras neste subtipo.¹

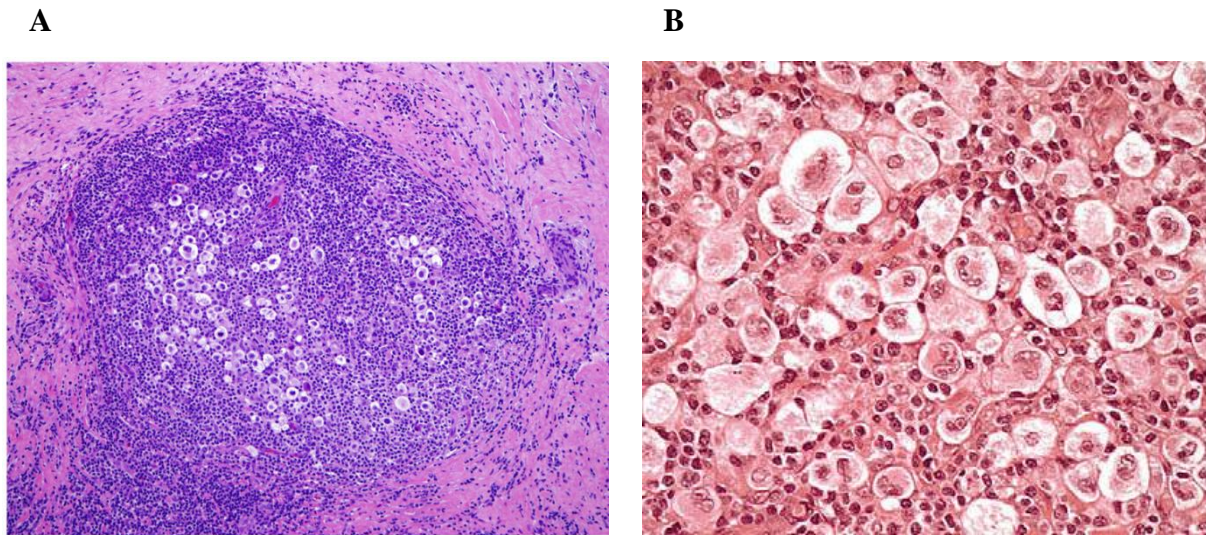


Figura 9. LHCEN. (A) Presença de largas bandas de colagénio birrefringente e agrupamento das células lacunares nos nódulos. (B) Ampliação das células lacunares. (Adaptado de ^{1,13})

O LHCEN é o subtipo de LHC mais comum nos países desenvolvidos, onde representa 70% de todos os casos, apresentando menor incidência nos países em desenvolvimento. Ocorre sobretudo nos adolescentes e adultos jovens e, ao contrário dos restantes subtipos, apresenta um ligeiro predomínio no sexo feminino.¹⁴ Um elevado nível socioeconómico é considerado um fator de risco. Por outro lado, a sua incidência nos indivíduos VIH-positivos diminui com o decréscimo da contagem de células CD4, sugerindo que a imunodeficiência não se relaciona com o seu desenvolvimento. Também se encontra pouco associado ao VEB (apenas em 10 a 40% dos casos).⁵ A nível clínico, há envolvimento do mediastino em 80% dos doentes e 50% apresentam mesmo doença volumosa ou *Bulky*, e os sintomas B ocorrem em aproximadamente 40% dos doentes.¹

7.2.1.2 LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO, CELULARIDADE MISTA

O LHCCM define-se como o subtipo de LHC que apresenta numerosas células de HRS distribuídas num infiltrado difuso ou vagamente nodular, sem esclerose, embora possa existir uma fibrose intersticial fina.¹⁴ As células de HRS têm uma aparência típica, não se encontrando presentes variantes destas células (Figura 10). Como o próprio nome indica, o infiltrado compreende uma mistura de diferentes células inflamatórias, verificando-se um predomínio de pequenos linfócitos T, juntamente com um número variável de eosinófilos, plasmócitos, histiócitos epitelióides, neutrófilos e fibroblastos. Por vezes, podem encontrar-se granulomas que dificultam a visualização das células diagnósticas.⁵

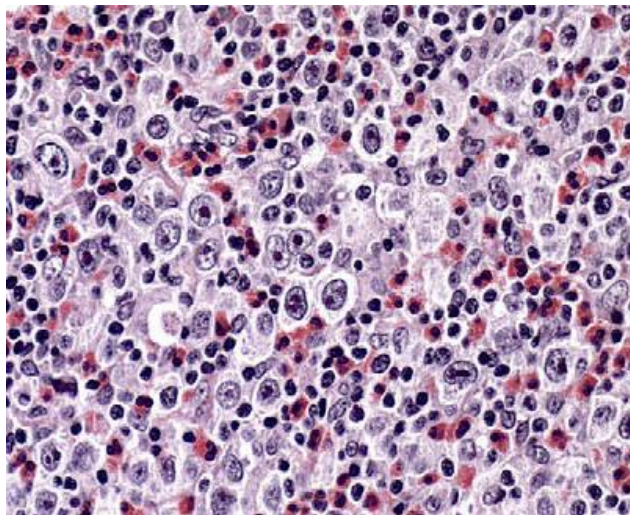


Figura 10. LHCCM. Visualizam-se as típicas células de HRS. (Adaptado de ¹)

Esta entidade inclui não só os casos com histologia característica, mas também aqueles que não podem ser classificados como um dos outros subtipos de LHC.⁵⁰

Nos países desenvolvidos o LHCCM é o segundo subtipo mais frequente, onde representa 25% de todos os casos, apresentando maior incidência nos países em desenvolvimento (50%).

Tem uma distribuição etária em curva bimodal, sendo mais comum nos grupos etários extremos (crianças e idosos). Aliás, é responsável pela maior parte dos casos de LHC nas crianças.¹ Em contraste com o LHCEN, um baixo nível socioeconómico e a infeção pelo VIH constituem fatores de risco para o seu desenvolvimento. A infeção das células neoplásicas pelo VEB é frequentemente detetada (associação em mais de 75% dos casos). Geralmente apresenta-se como doença avançada, envolvendo os gânglios linfáticos, baço, fígado ou medula óssea e poupando tipicamente o mediastino e o timo. Os sintomas B são frequentes.⁵

7.2.1.3 LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO, RICO EM LINFÓCITOS

O LHCRL é o subtipo de LHC identificado mais recentemente. Morfologicamente é muito difícil de distinguir do LHPLN, sendo fundamental recorrer a estudos imunohistoquímicos.

A maior parte tem um padrão de crescimento nodular composto essencialmente por pequenos linfócitos B. Neutrófilos, eosinófilos e plasmócitos, se presentes, ocorrem em pequeno número. Alguns dos nódulos apresentam áreas focais de fibrose e centros germinativos atróficos ou, com menor frequência, hiperplásicos. As células de Reed-Sternberg são geralmente raras, estão localizadas no interior dos nódulos, periféricamente, no manto e zona marginal dos folículos, e apresentam um fenótipo do tipo clássico, embora morfolologicamente se assemelhem às células LP (Figura 11). Ao seu redor, é ainda característica a presença de rosetas de células T.¹

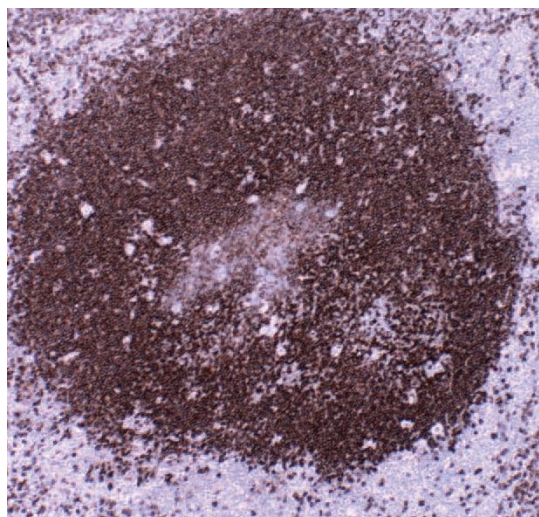


Figura 11. Aspectos imunohistoquímicos do LHCRL. As células de HRS encontram-se no interior dos folículos expandidos, sobretudo à periferia, no manto e zona marginal (marcação para CD20). (Adaptado de ⁵)

Um pequeno número de casos apresenta um padrão de crescimento difuso, com clássicas células de HRS distribuídas num fundo de numerosos linfócitos pequenos que, em contraste com o tipo nodular, são sobretudo linfócitos T.¹

Foi já questionado se o LHCRL se trataria de uma forma inicial de LHCEN, mas nos doentes submetidos a biópsias repetidas, o padrão histológico mantém-se constante.¹³

Este subtipo de LH representa 5% de todos os casos de LHC. Surge normalmente em indivíduos com mais de 50 anos de idade, e tem uma fraca associação com a infeção VEB. Caracteriza-se por baixa agressividade e envolvimento preferencial de áreas infradiafragmáticas. A localização mediastínica ou extraganglionar e a presença de sintomas sistémicos ou de massas volumosas são raras.¹⁴

7.2.1.4 LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO, DEPLEÇÃO LINFOCITÁRIA

O LHCDL é uma entidade que se pode apresentar com um padrão de fibrose difusa ou, menos frequentemente, com um padrão reticular. Em qualquer dos casos, há uma alteração completa da arquitetura ganglionar. O primeiro, como o nome indica, caracteriza-se por uma fibrose densa e difusa (sem colagénio birrefringente), podendo também existir áreas de necrose. Há um predomínio de células de HRS, sendo rara, se ocorrer, a presença de células não-neoplásicas inflamatórias e acessórias (Figura 12). Globalmente, estas características conferem uma aparência ganglionar do tipo sarcomatóide. A existência de camadas confluentes de células de HRS define a variante reticular (ou sarcoma de Hodgkin).¹⁴

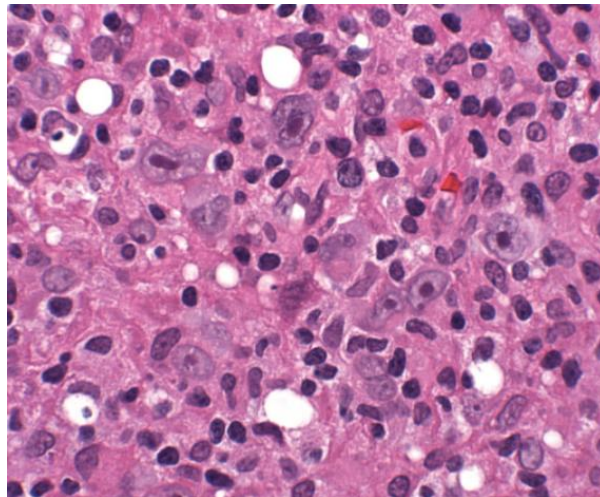


Figura 12. LHCDL. Visualizam-se abundantes células de HRS distribuídas num fundo de raras células não-neoplásicas. (Adaptado de ⁵)

Nos países desenvolvidos o LHCDL é o subtipo menos comum (menos de 1% dos casos), apresentando maior incidência nos países em desenvolvimento. Ocorre preferencialmente nos idosos. Um baixo nível socioeconómico e a infeção pelo VIH constituem fatores de risco para o seu desenvolvimento. Constitui com o LHCCM os subtipos mais frequentes nos países não-

industrializados e nos indivíduos VIH-positivos. Há também uma grande associação à infeção pelo VEB, que ocorre em mais de 75% dos doentes. Geralmente apresenta-se como doença avançada, tipicamente com envolvimento infradiafragmático, esplénico ou extraganglionar (fígado e medula óssea). Os sintomas B são frequentes.¹

Na Tabela 4 está representado um resumo comparativo da incidência/epidemiologia, fatores de risco e localização dos vários subtipos de LHC.

Tabela 4. Subtipos de LHC.

		LHCEN	LHCCM	LHCRL	LHC DL
Incidência/ Epidemiologia	Países desenvolvidos	70%	25%	5%	<1%
	Idade	Adultos jovens	Crianças e idosos	Adultos >50 anos	Idosos
	Sexo	Feminino	Masculino	Masculino	Masculino
Fatores de risco	Nível socioeconómico	Elevado	Baixo	Elevado	Baixo
	Infeção VIH	Sem associação	Associação	Sem associação	Associação
	Infeção VEB	Baixa associação	Grande associação (>75%)	Baixa associação	Grande associação (>75%)
Localização preferencial		Mediastino, zona axilar e cervical	Gânglios linfáticos, baço, fígado ou medula óssea	Gânglios linfáticos periféricos	Gânglios linfáticos, baço, fígado ou medula óssea

(Adaptado de ⁵)

7.2.2 LINFOMA DE HODGKIN DE PREDOMÍNIO LINFOCÍTICO NODULAR

O LHPLN é uma entidade que possui uma aparência histológica distinta da do LHC. Há desaparecimento da normal arquitetura ganglionar e, na maior parte dos casos, não existem centros germinativos ativos residuais. Geralmente apresenta um padrão de crescimento nodular, que pode ou não ser acompanhado de áreas difusas; muito raramente encontra-se um padrão de crescimento difuso puro. Os nódulos são basicamente áreas de células B próximas de centros germinativos em transformação progressiva.¹⁴ Pelo contrário, no tipo difuso encontram-se sobretudo células T. Não são detetadas células de HRS.

As células neoplásicas eram denominadas inicialmente por células L&H (*Lymphocytic and Histiocytic cells*) ou *popcorn*, mas a classificação da OMS (2008) recomendou a designação de células LP (*Lymphocyte Predominant cells*). São células de grande tamanho, com um núcleo multilobulado, algo irregular e vesicular, com um pequeno nucléolo basófilo, e com abundante citoplasma (Figura 13).¹³ Podem ocorrer em quantidades variáveis, mas nunca em grande proporção, e encontram-se frequentemente isoladas, sem nenhuma tendência para formar densos agregados.

O fundo não-neoplásico é sobretudo representado por pequenos linfócitos e um número variável de histiócitos, que podem formar, a nível focal, granulomas não-necróticos. Raramente se visualizam plasmócitos, eosinófilos e neutrófilos.¹⁴

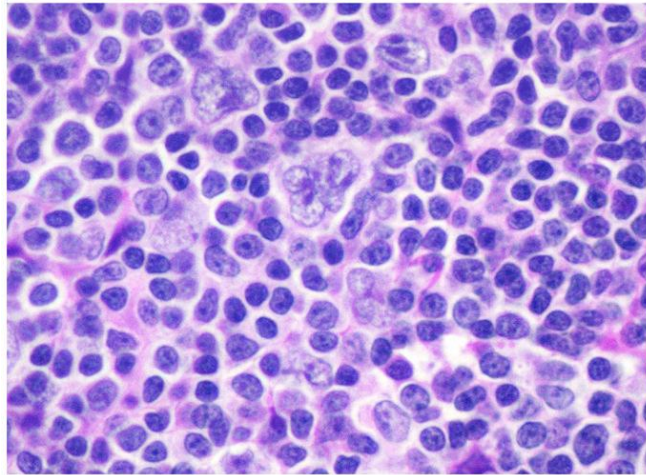


Figura 13. LHPLN. Visualizam-se células LP, com um núcleo multilobulado contendo um pequeno nucléolo basófilo. (Adaptado ¹³)

O LHPLN pode ocorrer em qualquer idade, mas é mais comum nos adultos. Em contraste com o LHC, não se encontra associado ao VEB. Apresenta-se sobretudo como doença localizada, geralmente poupando o mediastino, sendo frequentes as linfadenopatias periféricas, sobretudo cervicais, axilares ou inguinais. Os gânglios mesentéricos são mais frequentemente envolvidos no LHPLN do que no LHC. Na grande maioria dos casos, não ocorrem sintomas B.¹

7.3 IMUNOFENÓTIPO

A avaliação imunofenotípica é altamente recomendada, não só para estabelecer um diagnóstico, mas também para classificar o LH (Tabela 5) e diferenciá-lo de outros tipos de linfoma. Para tal, a marcação para CD3, CD15, CD20, CD30 e CD45, no caso do LHC e, para CD3, CD15, CD20, CD21, CD30 e CD57, no caso do LHPLN, permite fazer o diagnóstico diferencial.⁴⁸ Se desta forma não for possível estabelecer um diagnóstico definitivo, encontra-

se disponível um extenso painel de outros marcadores, incluindo marcadores da superfície das células B, fatores de transcrição e proteínas associadas ao VEB.⁵

Tabela 5. Características imunofenotípicas do LH.

Marcador	Células de HRS do LHC	Células LP do LHPLN
CD30	+	-
CD15	+/-	-
CD45	-	+
CD20	-/+	+
CD79a	-/+	+
Cadeia J	-	+/-
PAX-5	+	+
OCT-2	-/+	+
BOB.1	-/+	+
PU.1	-	+
EBV	+/-	-

Legenda: +, positivo em todos os casos; +/-, positivo na maior parte dos casos; -/+, negativo na maior parte dos casos; -, negativo em todos os casos. (Adaptado de ¹³)

Em praticamente todos os casos as células de HRS são CD30+ (Figura 14) e a maior parte (85%) é também CD15+, mas nenhum destes marcadores é específico. Por outro lado, nunca expressam CD3 nem o marcador típico dos leucócitos CD45. É notável a perda de expressão de vários genes específicos das células B, incluindo componentes do BCR, mas 30-40% dos casos de LHC são CD20+ e 10% CD79a+. Outros marcadores comuns incluem o MUM-1 (*multiple myeloma oncogene 1*) e, em cerca de ¼ dos casos, a BLIMP-1 (*B lymphocyte-*

induced maturation protein 1).¹⁴ As células de HRS também são intensivamente PAX5 positivas, mas negativas para os fatores de transcrição PU.1, OCT-2 e BOB.1.

Expressam ainda de forma variável muitos outros marcadores, incluindo marcadores das células dendríticas (CCL17), células T (granzima B, CD4), células B (CD20) e macrófagos (α 1-antitripsina), e proteínas envolvidas na apresentação antigénica e interação com as células T CD4+, como antígenos do MHCII, CD40, CD80 e CD86.²⁷ No caso de associação ao VEB, este pode ser detetado através da marcação para LMP-1 e através da técnica de FISH utilizando como sonda um EBER.

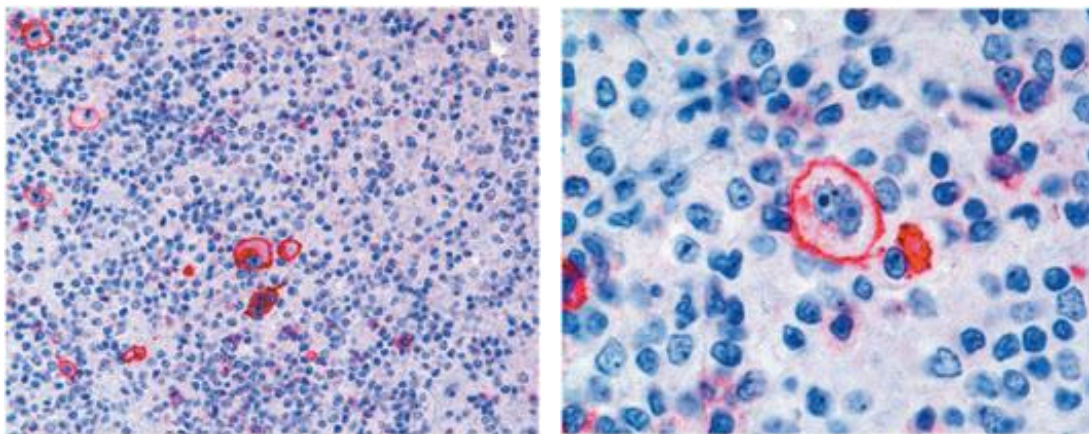


Figura 14. LHC. Visualizam-se várias células de HRS CD30 positivas (a vermelho) encontrando-se em maior ampliação na figura à direita. (Adaptado de ²⁷)

As células LP são tipicamente negativas para CD30 e CD15 (CD30-, CD15-), e positivas para CD45 (CD45+), mantendo a expressão de vários antígenos associados às células B (CD19, CD20, CD22 e CD79a) (Figura 15). Além disto, é também comum a expressão de EMA (*epithelial membrane antigen*), BCL-6 e do segmento J das cadeias leves. Os fatores de transcrição PAX5, PU.1, OCT-1, OCT-2 e BOB.1 são positivos em praticamente todos os casos de LHPLN. Outros marcadores recentemente introduzidos, como o HGAL (*human*

germinal center-associated lymphoma protein), a centerina e a AID (*activation-induced cytidine deaminase*), são também expressos pelas células LP.¹⁴

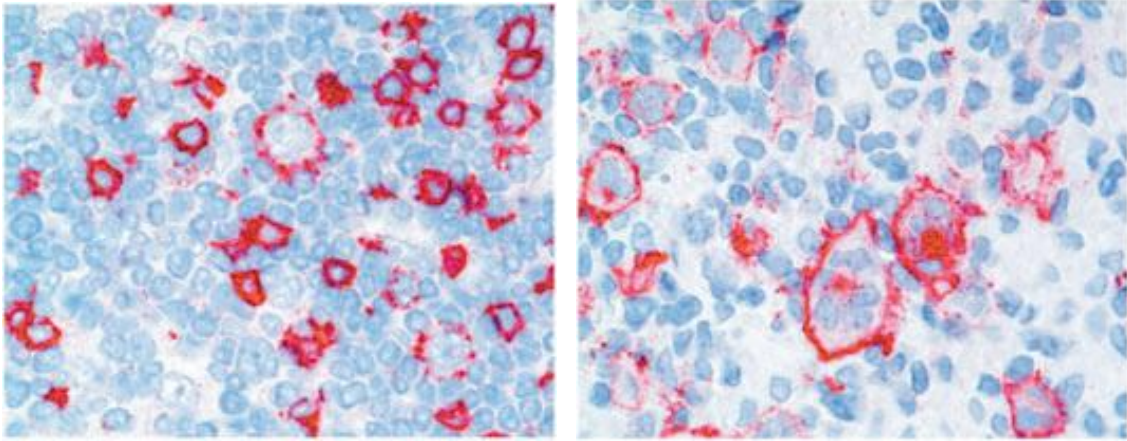


Figura 15. LHPLN. Visualizam-se várias células LP CD20 positivas (a vermelho), encontrando-se em maior ampliação na figura à direita. (Adaptado de ²⁷)

8. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Os principais diagnósticos diferenciais de LHC que devem ser equacionados incluem o LNH de Grandes Células B Primário do Mediastino (Tímico) (LGCBPM), o LNH Difuso de Grandes Células B (LDGCB) e o LNH Anaplásico de Grandes Células (LAGC).⁵¹ Os procedimentos anteriormente descritos vão permitir estabelecer um diagnóstico de certeza de LHC ou LHPLN.

O LGCBPM pode apresentar esclerose e, além das habituais células claras, também células semelhantes às de HRS. As células neoplásicas podem ser positivas para CD30, mas são negativas para CD15 e VEB, e expressam largamente CD45, CD20 e CD79a.

Existem linfomas B que apresentam características morfológicas, imunofenotípicas, biológicas e clínicas sobreponíveis ao LHC e ao LDGCB, especialmente o LGCBPM, constituindo uma zona cinzenta, pelo que são classificados pela OMS sob a designação de “linfoma de células B, inclassificável, com características intermédias entre LDGCB e LHC”.² Nesta entidade, geralmente as células linfomatosas encontram-se em grande proporção, são positivas para CD30 e CD15, e expressam largamente CD20 e outros marcadores específicos das células B.

No LAGC as células neoplásicas apresentam um núcleo reniforme com um halo acidófilo perinuclear. Geralmente o imunofenótipo é do tipo dos LTC [positividade para CD8 e TIA-1 (*T-cell-restricted intracellular antigen-1*)], expressando o CD30 e a proteína ALK (*anaplastic lymphoma kinase*) na maior parte dos casos. Além da típica translocação t(2;5), este linfoma pode ainda apresentar rearranjos genéticos monoclonais do TCR.

O LHPLN faz diagnóstico diferencial sobretudo com o LDGCB Rico em Células T/Histiócitos. A combinação da presença de células CD8 e TIA-1 positivas em associação com a existência rara de células B é a favor deste último linfoma.¹

9. ESTADIAMENTO

O estadiamento clínico, isto é, a avaliação da extensão da doença, é importante, não só para definição do prognóstico, mas também para adequação da terapêutica. O sistema de estadiamento utilizado é o sistema de Ann Arbor (modificação de Cotswolds) e é constituído por 4 estádios (Tabela 6).

A realização de exames complementares de estadiamento deve ser precedida de uma história clínica e de exames laboratoriais já anteriormente mencionados (hemograma com fórmula leucocitária, VS, LDH e provas de função hepática e renal). A serologia da infeção VIH

poderá também ser relevante nos indivíduos com fatores de risco para tal ou cuja doença se apresenta de forma pouco comum.⁴⁸

Tabela 6. Sistema de Estadiamento de Ann Arbor (modificação de Cotswolds).

Estádio	Descrição
Estádio I	Envolvimento de uma única região ganglionar ou estrutura linfóide, como baço, timo ou anel de Waldeyer (I), ou um único local extraganglionar (IE).
Estádio II	Envolvimento de duas ou mais regiões ganglionares ou estruturas linfóides do mesmo lado do diafragma (II), ou envolvimento localizado de um local extraganglionar (IIE). O número de regiões anatómicas envolvidas deve ser indicado (ex.: II ₃). Os gânglios mediastínicos constituem uma única região ganglionar.
Estádio III	Envolvimento de regiões ganglionares ou estruturas linfóides de ambos os lados do diafragma (III), ou envolvimento localizado de um local extraganglionar (IIIE), ou envolvimento esplénico (IIIs) ou ambos (IIIEs). Pode distinguir-se o estágio III ₁ , caracterizado por envolvimento ganglionar esplénico, hilar, celíaco ou portal, do estágio III ₂ , que apresenta envolvimento ganglionar para-aórtico, ilíaco e/ou mesentérico.
Estádio IV	Envolvimento difuso ou disseminado de um ou mais órgãos extraganglionares, com ou sem envolvimento ganglionar associado, ou envolvimento localizado do fígado ou medula óssea.
Designações aplicáveis a qualquer estágio	
A	Sem sintomas.
B	Febre inexplicada superior a 38°C por 3 dias consecutivos, sudorese noturna, emagrecimento inexplicável superior a 10% do peso corporal nos 6 meses precedentes.
X	Doença volumosa ou <i>Bulky</i> (qualquer massa com diâmetro máximo ≥ 10 cm ou massa mediastínica com diâmetro máximo $\geq 1/3$ do diâmetro intratorácico máximo a nível do espaço intervertebral T ₅ -T ₆ em radiografia torácica pósterio-anterior).
E	Envolvimento localizado de um único local extraganglionar contíguo ou proximal à região ganglionar

(Adaptado de ¹⁴)

A radiografia do tórax e a tomografia computadorizada (TC) cérvico-toraco-abdomino-pélvica são os principais exames complementares imagiológicos de estadiamento. A radiografia do tórax permite a definição de massa mediastínica volumosa (*bulky*), como a presença de uma massa mediastínica com diâmetro máximo superior ou igual a 1/3 do diâmetro intratorácico máximo. A TC permite avaliar a extensão anatómica da doença de forma superior à radiografia. A observação de qualquer massa com diâmetro máximo superior ou igual a 10 cm neste exame também define doença volumosa (*Bulky*).¹

A PET-¹⁸F-FDG (tomografia de emissão de positrões com ¹⁸F-fluordesoxiglicose), sobretudo em combinação com a TC (PET-¹⁸F-FDG/TC), apresenta uma sensibilidade superior à TC na identificação de doença ganglionar e, principalmente, de doença extraganglionar. Ou seja, é capaz de detetar um número adicional de locais envolvidos pela doença em comparação com a TC, o que geralmente resulta numa modificação do estadiamento para um estágio superior em 13 a 24% dos doentes.⁹ As *guidelines* da NCCN recomendam já o uso da PET-¹⁸F-FDG/TC no estadiamento inicial de doentes com LH. No entanto, é necessária precaução no uso deste exame, já que é frequentemente positivo em locais de infeção ou inflamação, na ausência de LH (2% de falsos-positivos ao diagnóstico). Assim, quando ocorre positividade em locais ainda não identificados ou inconsistentes com a forma de apresentação comum, é recomendada uma avaliação clínica e patológica adicional.⁴⁸

O estadiamento através de biópsia da medula óssea não é necessário na maioria dos doentes com LH, já que no estágio I ou II, sem fatores de prognóstico adverso, o envolvimento da medula óssea é raro. Recomenda-se a realização da biópsia da medula óssea nos doentes com sintomas B, com estádios III-IV e/ou com citopenias periféricas.⁴⁸

10. FATORES DE PROGNÓSTICO E ESTRATIFICAÇÃO DO RISCO

O estágio clínico de Ann Arbor e a presença de fatores de prognóstico adverso permitem estratificar os doentes em três grupos de risco, segundo os principais sistemas de prognóstico do *German Hodgkin's Lymphoma Study Group* (GHSH) e do *European Organization for Research and Treatment of Cancer* (EORTC): estágio inicial favorável, estágio inicial desfavorável (ou intermédio) e estágio avançado (Tabela 7). De uma forma geral, o estágio inicial tem um prognóstico excelente, com uma sobrevivência global (SG) superior a 90%, enquanto que os doentes no estágio avançado apresentam uma SG de 75 a 90%.⁹

Tabela 7. Grupos de risco do GHSG e EORTC.

Sistemas de prognóstico		GHSH	EORTC
Fatores de risco		≥3 regiões ganglionares envolvidas, massa mediastínica volumosa, VS ≥50 mm sem sintomas B ou ≥30 com sintomas B, doença extraganglionar	≥4 regiões ganglionares envolvidas, massa mediastínica volumosa, VS ≥50 mm sem sintomas B ou ≥30 com sintomas B, idade ≥50 anos
Estratificação	Estádio inicial favorável	Estádio clínico I-II sem FR	Estádio clínico I-II sem FR
	Estádio inicial desfavorável ou intermédio	Estádio clínico I-IIA com ≥1 FR Ou Estádio clínico IIB sem massa mediastínica volumosa ou doença extraganglionar	Estádio clínico I-II com ≥1 FR
	Estádio avançado	Estádio clínico IIB com massa mediastínica volumosa ou doença extraganglionar Ou Estádio clínico III-IV	Estádio clínico III-IV

Legenda: VS-velocidade de sedimentação; FR-fatores de risco. (Adaptado de ⁹)

No estágio avançado é utilizado como *score* prognóstico o *International Prognostic Score* (IPS) (também denominado *Hasenclever Score*), com o objetivo identificar os doentes que podem beneficiar de uma estratégia terapêutica individualizada, uma vez que permite prever as taxas de Sobrevivência Livre de Progressão (SLP) e de SG aos 5 anos. Baseia-se em 7 fatores (idade, sexo, concentração de albumina sérica e hemoglobina, estágio, contagem leucocitária e linfocitária) que demonstraram ter um efeito prognóstico independente semelhante, sendo que a presença de cada um deles reduz em cerca de 8% a SLP aos 5 anos (Tabela 8). A presença de três ou mais destes fatores de prognóstico adverso está associada a uma SLP de 55% e a uma SG de 70% aos 5 anos.¹⁴

Tabela 8. *International Prognostic Score*.

Fatores de prognóstico adverso	Idade ≥ 45 anos
	Sexo masculino
	Albumina sérica < 4 g/dL
	Hemoglobina $< 10,5$ g/dL
	Estádio clínico IV
	Contagem leucocitária $\geq 15000/\mu\text{L}$
	Contagem linfocitária $< 600/\mu\text{L}$ ou $< 8\%$ da contagem leucocitária

(Adaptado de ⁹)

Outros fatores foram associados a mau prognóstico, nomeadamente a elevação da LDH, a infecção latente pelo VEB nas células tumorais, elevados níveis circulantes de CD30, de IL-1RA (antagonista do recetor da IL-1), IL-6, IL-10, TNF- α e TARC, a infiltração tecidual por macrófagos, eosinófilos e mastócitos, e a expressão de BCL-2 e IL-6 pelas células tumorais.⁵² Por outro lado, existem fortes evidências de que a morfologia tem também uma influência

considerável na sobrevivência dos doentes com LH, sendo que os que apresentam o subtipo LHCRL têm o prognóstico mais favorável e com o subtipo LHCDL o mais desfavorável.

11. TRATAMENTO

O tratamento é determinado de acordo com o tipo histológico de LH, LHC ou LHPLN, e ainda de acordo com o grupo de risco do doente: estágio inicial favorável, estágio inicial desfavorável ou estágio avançado. Esta estratificação tem como objetivo adequar a intensidade da terapêutica ao risco de recidiva, não esquecendo a potencial toxicidade tardia.

Antes de iniciar o tratamento, recomenda-se a realização de determinados procedimentos. A avaliação da fração de ejeção ventricular esquerda é recomendada nos doentes que irão realizar quimioterapia (QT) com doxorubicina, enquanto que no caso de QT com bleomicina, são importantes as provas de função respiratória, incluindo a difusão alvéolo-capilar de monóxido de carbono. As vacinas da gripe, pneumocócica e meningocócica são aconselhadas caso a radioterapia (RT) esplênica esteja contemplada no tratamento.

Deve ser efetuado um teste de gravidez às mulheres em idade fértil, devido ao potencial teratogénico da QT. A QT com agentes alquilantes está associada a um maior risco de falência ovárica e testicular precoces, pelo que se recomenda a preservação da fertilidade (criopreservação de esperma no homem e de tecido ovárico ou ovócitos na mulher) antes do início de QT com agentes alquilantes ou RT pélvica. A ooforopexia também deve ser considerada para preservar a função ovárica nas mulheres pré-menopausa se se planear RT pélvica.⁴⁸

11.1 LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO

11.1.1 ESTÁDIO INICIAL FAVORÁVEL

De acordo com as *guidelines* da *European Society for Medical Oncology* (ESMO) e NCCN, o tratamento *standard* do LH em estágio inicial favorável consiste na associação de QT com ABVD (adriamicina, bleomicina, vinblastina, dacarbazina) a RT de campo envolvido [IF-RT (*involved field-radiotherapy*)], com uma SG superior a 95%. A terapêutica combinada apresenta uma taxa de recidiva substancialmente inferior ao uso isolado de RT, e permite a utilização de campos de irradiação de menores dimensões.^{3,48}

O ensaio HD10 do GHSG comparou a utilização de 4 ciclos de ABVD com a de 2 ciclos e de IF-RT na dose 30 Gy com uma dose de 20 Gy. Após 5 anos de *follow-up*, não se registaram diferenças significativas a nível da SLP e SG, no entanto, os efeitos tóxicos foram superiores com a utilização de 4 ciclos de ABVD e/ou IF-RT na dose de 30 Gy. Assim, a associação de 2 ciclos ABVD a IF-RT na dose de 20 Gy deve ser considerada a estratégia *standard* de tratamento deste grupo de doentes, com uma SLP de 91% e uma SG de 93% aos 5 anos.⁵³

Têm sido feitas tentativas no sentido da utilização de regimes menos intensivos de QT. O ensaio HD13 do GHSG comparou a associação de quatro regimes alternativos ao ABVD com IF-RT na dose de 30 Gy, de forma a estabelecer se a bleomicina ou a dacarbazina podiam ser omitidas. No entanto, a omissão destes fármacos condicionou uma taxa de recidiva superior à da terapêutica *standard* com ABVD.⁵⁴

É discutível a utilização de QT isolada no tratamento deste grupo de doentes, em virtude de estudos recentes terem demonstrado que a terapêutica combinada apresenta taxas de SLP e SG superiores. Por outro lado, considerando a toxicidade da RT, alguns grupos recomendam a utilização de ABVD em monoterapia em doentes cuidadosamente selecionados,

nomeadamente com risco elevado de neoplasias secundárias. Este grupo pode incluir mulheres com idade superior a 35 anos ou que apresentem história familiar de cancro da mama, quando o campo de irradiação atinja o tecido mamário.⁹

11.1.2 ESTÁDIO INICIAL DESFAVORÁVEL

No estágio intermédio, 4 ciclos de ABVD seguidos de IF-RT na dose de 30 Gy constituem a terapêutica *standard*, como ficou estabelecido nos ensaios HD8 do GHSG e H8U da EORTC.⁵⁵

Neste grupo de doentes foram investigados vários regimes de QT, potencialmente menos tóxicos que o ABVD, como o EBVM (epirrubicina, bleomicina, vinblastina, metotrexato), EBVP (epirrubicina, bleomicina, vinblastina, prednisona) ou EVE (epirrubicina, vincristina, etoposido), mas nenhum se revelou superior na SLP e SG.¹⁴

Continua em investigação se outros regimes de QT mais intensivos associados a IF-RT são superiores ao ABVD. O ensaio HD11 do GHSG comparou 4 ciclos de ABVD versus 4 ciclos de BEACOPP base (bleomicina, etoposido, doxorrubicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbazona, prednisolona), em combinação com IF-RT na dose de 20 Gy ou 30 Gy, não tendo revelado qualquer diferença significativa com intensificação de dose da QT. Isto é, demonstrou que 4xBEACOPP base é igualmente eficaz, mas mais tóxico, que 4xABVD, e que o ABVD deve ser combinado com 30 Gy neste grupo de doentes.⁵³ Outro ensaio, o HD14 comparou a utilização de 4 ciclos de ABVD com 2 ciclos de BEACOPP escalonado seguidos de 2 ciclos ABVD, ambos em associação com IF-RT na dose de 30 Gy, tendo demonstrado maior eficácia, traduzida no aumento significativo da SLP, com o último regime, mas maior toxicidade aguda, nomeadamente hematológica.⁵⁶

11.1.3 ESTÁDIO AVANÇADO

O tratamento preconizado dos doentes deste grupo é a QT combinada.^{3,48} O regime ABVD apresenta melhores resultados que os regimes anteriores, como o MOPP (mecloroetamina, vincristina, procarbazina, prednisolona), tendo uma eficácia semelhante aos regimes MOPP/ABVD alternado ou MOPP/ABV híbrido, mas com toxicidade mais reduzida, particularmente menor incidência de esterilidade, de síndromes mielodisplásicas e leucemias mieloblásticas agudas secundárias. Assim, a terapêutica *standard* do estágio avançado consiste em 6 a 8 ciclos ABVD, com taxas de SLP de cerca de 70% e SG de 82 a 90%.⁹

Na tentativa de melhorar estes resultados, foram investigados outros esquemas terapêuticos, tal como o regime Stanford V – um protocolo semanal de sete fármacos (doxorrubicina, vinblastina, mecloroetamina, vincristina, bleomicina, etoposido, prednisona) administrados por 3 meses em combinação com RT em grande extensão. No entanto, este regime demonstrou ter uma eficácia semelhante ou até inferior à terapêutica *standard*.⁹

Ensaio subsequentes com BEACOPP escalonado evidenciaram o seu impacto muito significativo na SLP e SG (82% e 86% respetivamente aos 10 anos), questionando o papel do ABVD na terapêutica do LH estágio avançado, apesar da sua toxicidade imediata e tardia ser superior. Esta maior eficácia do BEACOPP escalonado na sobrevivência é sobretudo evidente no subgrupo de doentes com elevado IPS. Deste modo, considerando que 60-70% dos doentes podem ser curados com uma toxicidade mínima, usando como 1ª linha o regime ABVD e que, em caso de falha deste regime, continua a ser possível a cura, o ideal será reservar o BEACOPP escalonado para os doentes com um prognóstico mais adverso. Tem sido questionado o valor preditivo do IPS e, como vários autores salientam, o papel prognóstico da PET intermédia ao 2º ciclo ABVD, pelo que se encontra em análise a sua utilização na seleção de uma estratégia terapêutica mais intensiva.¹⁴

Relativamente à RT, o seu papel no estágio avançado continua por definir, no entanto a irradiação dos locais com massas volumosas à apresentação e das massas residuais pode ser considerada após QT de 1ª linha com ABVD. Poderá não ser necessária em massas residuais PET negativas após QT com BEACOPP.³

O tratamento de consolidação com QT de alta dose e transplante autólogo de células estaminais é uma abordagem investigacional em doentes com LH em primeira remissão completa (RC) após QT. Apesar de alguns resultados iniciais encorajadores, estudos posteriores não demonstraram qualquer impacto deste tratamento na SLP e SG dos doentes de alto risco que responderam à QT.¹⁴

11.2 LINFOMA DE HODGKIN DE PREDOMÍNIO LINFOCÍTICO NODULAR

Como este tipo de LH ocorre apenas numa pequena percentagem de casos, encontram-se disponíveis poucos ensaios clínicos e a melhor forma tratamento ainda não está definida. Dada a excelente sobrevivência a longo prazo e a idade jovem de apresentação, os efeitos tardios do tratamento devem ser cuidadosamente considerados. Nos doentes submetidos a excisão cirúrgica e sem evidência de doença residual, optar apenas pela observação, que embora seguida por alguns, pode ser considerada uma estratégia inaceitável, dada a elevada taxa de recidivas.⁹

A RT isolada pode ser equacionada nos estádios clínicos IA e IIA, apresentando uma SLP de 89% e SG de 96% aos 10 anos. A IF-RT é tão eficaz como a irradiação de grande extensão, mas com menor taxa de complicações tardias. Nos estádios clínicos IB, IIB, III e IV recomenda-se QT combinada com ou sem IF-RT, existindo evidências escassas sobre a escolha de um regime particular. O ABVD é usado frequentemente, mas outros regimes com menos efeitos tóxicos, como o CVP (ciclofosfamida, vincristina, prednisolona), são

recomendados por alguns grupos de estudo. O rituximab (anticorpo monoclonal anti-CD20), isolado ou em combinação com a QT, tem demonstrado eficácia no LHPLN, podendo ser equacionado o seu uso ao diagnóstico ou na recidiva.⁴⁸

11.3 SITUAÇÕES ESPECIAIS

11.3.1 DOENTES IDOSOS

Os doentes idosos apresentam taxas de sobrevivência mais reduzidas em comparação com os doentes jovens, devido às comorbilidades, aos efeitos tóxicos do tratamento e ainda à utilização de regimes menos intensivos. Em doentes com idade inferior a 70 anos e na ausência de comorbilidades que contra-indiquem o uso de antraciclina, encontra-se recomendado o tratamento *standard* já descrito. Nos doentes mais idosos e/ou com comorbilidades significativas, pensa-se que o ABVD seja demasiado tóxico, sendo utilizados regimes alternativos como o VEPEMB (vinblastina, ciclofosfamida, procarbazona, prednisolona, etoposido, mitoxantrona, bleomicina). Novos agentes com menos efeitos tóxicos irão com certeza ter um importante papel no tratamento de idosos com LH.⁵⁷

11.3.2 DOENTES GRÁVIDAS

O LH é uma das neoplasias mais comuns durante a gravidez. Para evitar a exposição à radiação, o estadiamento deve ser feito com recurso a ultrassonografia ou ressonância magnética. De uma forma geral, a RT deve ser evitada pelo risco teratogénico. O tratamento com ABVD parece ser seguro, sobretudo no 2º e 3º trimestres. Outros tratamentos incluem a observação e controlo de sintomas com corticosteróides ou vinblastina isolada até ao parto.

Contudo, o risco aumentado de recidiva ou de doença refratária com esta abordagem deve ser cuidadosamente considerado.⁵⁸

11.3.3 DOENTES COM VIH/SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA

Dada a existência de terapêutica antirretroviral eficaz, a abordagem e prognóstico de doentes em que coexiste infeção VIH/Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) e LH são os mesmos de doentes com LH sem imunodeficiência associada.⁵⁹

12. AVALIAÇÃO PÓS-TRATAMENTO

É essencial avaliar a resposta ao tratamento inicial, pois é esta que define a necessidade de tratamento adicional. O re-estadiamento deve incluir todos os exames complementares que se revelaram alterados aquando do estadiamento inicial. A avaliação da resposta no LH é complicada pela persistência frequente de massas residuais, sobretudo a nível do mediastino, frequentemente relacionadas com processos de fibrose e não com doença ativa ou com risco aumentado de recidiva. Até recentemente, a TC era considerada a pedra angular da avaliação da remissão da doença, não conseguindo diferenciar, no entanto, doença ativa de fibrose. A PET é um exame mais seguro na identificação de doença ativa persistente.¹

Em 1999, o *International Working Group* (IWG) publicou *guidelines* para a avaliação da resposta ao tratamento de doentes com LH ou LNH, que se baseavam na redução do tamanho das linfadenopatias na TC e na extensão do envolvimento da medula óssea determinada por biópsia. Incluía a RC não confirmada, indicando que não era possível determinar se as massas residuais identificadas na TC representavam LH residual ou um processo não-maligno.⁴⁸

A disseminação do uso da PET na diferenciação de massas fibróticas residuais e doença ativa persistente exigiu uma reavaliação das *guidelines* do IWG, que ocorreu em 2006 pelo *International Harmonization Project*. A inclusão da PET na avaliação final de resposta ao tratamento permitiu a eliminação da categoria de RC não confirmada. Estas recomendações são atualmente o ponto de referência para a avaliação pós-tratamento e incluem as seguintes considerações: a) para utilizar a PET na avaliação da resposta ao tratamento, não é obrigatória a sua realização ao diagnóstico; b) a avaliação pela PET não deve ser efetuada antes de pelo menos 3 semanas após QT e 8 a 12 semanas após RT; c) avaliação visual por si só é considerada adequada; d) captação positiva é definida de acordo com regras específicas. De acordo com estes critérios, a resposta pós-tratamento é definida como sumariado na Tabela 9.^{14,48}

Tabela 9. Consenso do *International Harmonization Project in Lymphoma*.

Remissão completa	Desaparecimento de todas as evidências de doença. Tanto nos doentes com uma PET inicial positiva como naqueles que não realizaram uma PET de início, a presença de uma massa residual de qualquer tamanho é permitida desde que seja negativa na PET. Se a medula óssea se encontrava envolvida antes do tratamento, na repetição da biópsia o infiltrado não deve conter alterações.
Resposta parcial (RP)	Diminuição $\geq 50\%$ da soma dos produtos dos diâmetros de até seis das maiores massas dominantes. Não deve ser observado nenhum aumento do tamanho de outros gânglios, baço ou fígado. A PET pós-tratamento deve ser positiva no mínimo num dos locais previamente atingidos. A avaliação da medula óssea, se positiva anteriormente, é irrelevante para a determinação da RP.
Doença estável	Ausência dos critérios necessários para definir RC, RP e doença progressiva. A PET deve ser positiva nos locais anteriores de doença sem envolvimento de novas áreas (TC e PET).
Doença progressiva	Inclui uma das seguintes situações: a) aparecimento de uma nova lesão $>1,5$ cm em qualquer eixo (aumento da captação na PET num local previamente não afetado só deve ser considerado positivo após confirmação com outra modalidade e a decisão terapêutica não deve ser tomada somente com base na PET); b) aumento $>50\%$ da soma dos produtos dos diâmetros de mais do que um gânglio; c) aumento $>50\%$ no diâmetro máximo de um gânglio previamente identificado >1 cm num pequeno eixo. As lesões devem ser positivas na PET.

(Adaptado de ¹⁴)

Recentemente, a PET foi proposta por vários autores para prever os resultados da terapêutica ainda numa fase inicial, geralmente após 2 ciclos ABVD ou BEACOPP, como um teste indicador da quimio-sensibilidade. Os doentes com uma PET negativa após 2 ciclos ABVD são candidatos a um prognóstico excelente, enquanto que aqueles com captação residual ou não modificável parecem ter resultados mais pobres. A oportunidade de prever a resposta final à terapêutica convencional com base na avaliação precoce da PET pode ser útil para a introdução de terapia adaptada. Contudo, não existe ainda evidência sólida de que a alteração do tratamento inicial de acordo com a PET melhore o prognóstico do doente. A utilização da PET numa fase inicial do tratamento encontra-se ainda em investigação e é apenas recomendada em ensaios clínicos, não devendo ser para já utilizada na prática diária para modificar a estratégia de tratamento.⁶⁰

13. TRATAMENTO DA DOENÇA RECIDIVANTE OU REFRATÁRIA

Dependendo do estágio e do perfil dos fatores de risco, até 95% dos doentes com LH atingem a RC após terapêutica de 1ª linha *standard*. No entanto, a doença é primariamente refratária em 20% dos doentes e 20 a 40% recidivam após tratamento de 1ª 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. Contudo, a maioria das recidivas ocorre nos 3 primeiros anos, enquanto as recidivas muito tardias, que ocorrem num prazo superior a 5 anos após a RC, são muito pouco frequentes (aproximadamente 3,5% dos casos).⁶¹

13.1 LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO

A suspeita de recidiva de LHC deve ser confirmada com biópsia. No caso de biópsia negativa, a observação é apropriada. O re-estadiamento, incluindo biópsia da medula óssea, é recomendado nos doentes com biópsia positiva. A escolha do tratamento em caso de doença recidivante ou refratária é determinada pelas terapêuticas já efetuadas e pela duração da resposta prévia.⁴⁸

A QT de alta dose seguida de transplante autólogo de células estaminais é considerada o tratamento *standard* do LHC recidivante ou refratário após terapêutica de 1ª linha.^{3,48} O melhor regime de indução antes deste tratamento continua por definir. No entanto, vários esquemas de diferente intensidade, como o DHAP (dexametasona, citarabina, cisplatina), ICE (ifosfamida, carboplatina, etoposido) e IGEV (ifosfamida, gemcitabina, vinorelbina), mostraram ser eficazes na redução da doença volumosa e mobilização de células estaminais no sangue periférico.³

Os doentes que apresentam recidiva após tratamento de 1ª linha com RT isolada podem ser tratados com ABVD (associada ou não a IF-TR), e os que manifestam doença em recidiva tardia podem ser tratados com QT combinada, incluindo o mesmo regime utilizado previamente, associada a RT nos locais de doença volumosa não irradiados anteriormente.¹⁴

Não há um tratamento *standard* para os doentes com recidiva após transplante autólogo. A decisão de como tratar estes doentes tem de ser estabelecida de forma individual. O transplante alogénico de células estaminais com regimes de condicionamento de intensidade reduzida parece ser um tratamento adequado para os doentes com doença recidivante ou refratária numa fase precoce, ou para aqueles que recidivam após transplante autólogo.⁶²

Quando o intuito é paliativo, podem conseguir-se respostas aceitáveis, qualidade de vida satisfatória e prolongamento da sobrevivência usando QT com gemcitabina e/ou RT regional.

No entanto, o tratamento paliativo clássico é cada vez mais desafiado por novos agentes, como pequenas moléculas, anticorpos e imunotoxinas, ainda em avaliação.³

13.2 LINFOMA DE HODGKIN DE PREDOMÍNIO LINFOCÍTICO NODULAR

A realização de uma biópsia na suspeita de recidiva de LHPLN, é ainda mais importante do que no LHC, para exclusão de LNH agressivo (a transformação em LDGCB ocorre em 8 a 14% dos doentes, 4 a 8 anos após o diagnóstico, e o risco de transformação aumenta com o tempo). As recidivas localizadas podem ser tratadas com rituximab isolado. A doença avançada requer regimes terapêuticos mais agressivos, possivelmente combinados com rituximab.³

14. NOVOS AGENTES

Nos doentes que apresentam recidiva após o transplante alogénico ou que não possuem critérios para a sua realização, o tratamento é paliativo ou experimental. A QT com um único agente, como a gemcitabina ou vinblastina, tem sido usada nesta área, sendo que com gemcitabina se observa uma taxa de SG de 39%, com uma duração média de resposta de 6 meses.⁹

Entre as novas opções terapêuticas, a atenção encontra-se focada no potencial papel do rituximab, que parece ser eficaz não só no LHPLN, mas também no LHC, apesar das células de HRS serem habitualmente CD20 negativas. O objetivo é atuar sobre os linfócitos B presentes no microambiente celular, de forma a inibir as vias de sinalização de sobrevivência das células neoplásicas e facilitar a ação da QT.⁶³

O desenvolvimento de novas terapêuticas tendo como alvo o CD30 constitui um grande avanço no tratamento do LH. Têm-se obtido notáveis taxas de resposta na doença recidivante ou refratária com o brentuximab vedotin, que conjuga um anticorpo anti-CD30 com um agente anti-microtúbulos. Os resultados iniciais demonstraram taxas de RC de 34% e SG de 75%. Trata-se por isso de um agente promissor no controlo da doença refratária ou com múltiplas recidivas, como uma ponte para o transplante e, eventualmente, no tratamento dos estádios iniciais da doença.⁶⁴

Outros agentes prometedores, pela eficácia que apresentaram em ensaios clínicos, incluem a lenalidomida (agente imunomodulador), o everolimus (inibidor do mTOR), e o panobinostat (inibidor das histonas desacetilases). O bortezomib (inibidor do proteasoma) apresenta pouca eficácia quando usado de forma isolada, mas poderá ter um papel importante em combinação com outros agentes.⁶³

15. EFEITOS TARDIOS DO TRATAMENTO

Os efeitos tardios são importantes determinantes da morbilidade, mortalidade e qualidade de vida dos doentes tratados por LH, exigindo *follow-up* a longo prazo. Nos primeiros 10 anos após tratamento, a progressão do linfoma constitui a principal causa de morte, mas após este período de tempo a mortalidade deve-se sobretudo aos efeitos tardios.⁹ As neoplasias secundárias, a doença cardiovascular, o hipotireoidismo e a infertilidade constituem os efeitos tardios mais graves.

As neoplasias secundárias são com maior frequência tumores sólidos (sobretudo do pulmão, da mama, pele e gastrointestinal) ou então neoplasias hematológicas (leucemia, síndromes mielodisplásicas ou linfomas secundários). A RT encontra-se associada a um risco aumentado de cancro nos locais de maior irradiação, enquanto a QT se relaciona sobretudo com o

aparecimento de leucemia, LNH e cancro do pulmão. A neoplasia secundária mais comum nas mulheres é o cancro da mama, tendo como principais fatores de risco uma idade inferior a 20 anos aquando do tratamento e a realização de RT a nível do mediastino.⁶⁵

Após o tratamento de LH, também se verifica um aumento da incidência de enfarte do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, doença coronária assintomática e valvulopatia. O risco de morbimortalidade cardiovascular encontra-se associado a RT supradiaphragmática e QT com antraciclina.⁹

A irradiação do pescoço associa-se frequentemente ao desenvolvimento de hipotiroidismo, mas também a um risco aumentado de neoplasias da tiróide.

A infertilidade é também um aspeto importante pela idade jovem da maioria dos doentes ao diagnóstico. Os regimes com agentes alquilantes, como o BEACOPP, causam azoospermia na grande maioria dos homens após tratamento, enquanto o ABVD se associa a uma azoospermia reversível em aproximadamente um terço dos homens. Nas mulheres, a realização de QT com agentes alquilantes ou RT pélvica pode levar a falência ovárica, com menopausa precoce e infertilidade.⁶⁵

Outras complicações incluem a mielossupressão, um efeito colateral da QT que se associa a um risco aumentado de infeções, e a toxicidade pulmonar induzida pela bleomicina.⁴⁸

16. FOLLOW-UP

O seguimento dos doentes após a conclusão do tratamento deve ser individualizado, de acordo com as circunstâncias clínicas, como a idade do doente, estágio da doença e estratégia terapêutica inicial. É importante encorajar os doentes a receberem orientações sobre questões

relativas à sobrevivência, efeitos a longo prazo do tratamento, hábitos de saúde e questões psicossociais.

São recomendadas avaliações clínicas (história, exame físico e análises laboratoriais, que incluam hemograma completo com fórmula leucocitária e contagem de plaquetas, VS e bioquímica) a cada 2 a 4 meses durante os primeiros 2 anos após tratamento, a cada 3 a 6 meses nos 3 anos seguintes e, a partir daqui, anualmente. Todos os doentes devem receber anualmente a vacina da gripe.⁴⁸

A realização de exames imagiológicos é também importante. Está recomendada uma radiografia ou TC do tórax a cada 6 a 12 meses durante os primeiros 2 a 5 anos após o fim do tratamento. A realização de uma TC abdominal ou pélvica está aconselhada a cada 6 a 12 meses durante os primeiros 2 a 3 anos. A PET não se encontra recomendada para *follow-up*, devido à elevada incidência de falsos-positivos.⁴⁸

De acordo com o que foi referido anteriormente, tendo em conta o tipo de QT ou RT efetuadas, há ainda que despistar precocemente o desenvolvimento de neoplasias secundárias, sobretudo da mama e pulmão, monitorizar indícios de doença cardiovascular e avaliar a função tiroideia. Assim está recomendada a realização dos exames imagiológicos torácicos e, se mulher, mamografia ou ressonância magnética (a primeira 8 a 10 anos após o tratamento ou aos 40 anos de idade, o que se verificar primeiro), bem como a monitorização anual da tensão arterial e realização de provas da função tiroideia, se irradiação cervical. Aconselha-se a realização de ecocardiograma 10 anos após conclusão da terapêutica, mesmo em indivíduos assintomáticos. Nos doentes mais jovens também poderá ser revelante monitorizar os níveis de estrogénios e testosterona.⁴⁸

17. CONCLUSÃO

O LH é uma neoplasia rara. Em Portugal são diagnosticados anualmente cerca de 17000 casos, o que corresponde a menos de 1% de todos os casos de cancro. O LHC ocorre em 95% dos casos, apresentando uma distribuição etária em curva bimodal, com um pico de incidência nos adolescentes/adultos jovens (15-35 anos) e outro após os 55 anos, e um ligeiro predomínio no sexo masculino.¹⁰

Vários fatores foram associados a maior risco de desenvolvimento do LH, nomeadamente história prévia de infeção pelo VEB, imunodeficiência associada a infeção VIH, transplantação de órgãos sólidos ou de progenitores hematopoiéticos, uso de fármacos imunossuppressores, e antecedentes de doenças autoimunes, além de possíveis fatores genéticos.

A patogénese do LH é complexa, mas atualmente o seu conhecimento começa a ser possível. Há uma boa evidência de que se trata de uma neoplasia de células B do CG ou pós CG, sendo que as células neoplásicas não apresentam o fenótipo característico destas células, devido a processos de reprogramação da expressão genética celular. O VEB parece desempenhar um importante papel na patogénese de uma proporção de casos de LH e as proteínas deste vírus parecem contribuir para a reprogramação, sobrevivência e proliferação das células tumorais. Também se verifica uma desregulação de múltiplos fatores de transcrição e vias de sinalização, sobretudo da via NF- κ B. A interação entre as células tumorais e o microambiente também parece importante para a sobrevivência e proliferação das células tumorais e ainda para a evasão imune. No entanto, algumas questões permanecem por esclarecer.¹⁷

O diagnóstico do LH, dada a sua variabilidade clínica e inespecificidade dos sintomas, assenta numa base histológica e imunofenotípica que lhe é característica e que permite fazer um diagnóstico de certeza, diferenciando-o de outras entidades.⁴⁸ Além dos dois tipos major de

LH, LHPLN e LHC, neste último distinguem-se ainda quatro subtipos: LHCEN, LHCCM, LHCRL e LHCDL. Todos os casos apresentam em comum a presença de um pequeno número de células neoplásicas no tecido afetado (células de HRS no LHC e células LP no LHPLN) distribuídas num fundo de abundantes células não-neoplásicas inflamatórias e acessórias. Contudo, possuem características anatomopatológicas e clínicas distintas entre si que possibilitam o diagnóstico de certeza.²

Após o diagnóstico, é necessário um estadiamento cuidadoso, pois a abordagem subsequente é diferente consoante o grupo de risco do doente. Vários marcadores prognósticos já se encontram definidos, mas muitos mais estão em estudo de forma a permitir uma avaliação mais individualizada de cada doente.⁵²

Nas últimas décadas a intensa investigação desenvolvida na área tem permitido progressos bastante significativos na abordagem do LH. Atualmente e de uma forma geral, encontra-se recomendada como 1ª linha nos estádios iniciais a realização de terapêutica combinada (QT+RT), enquanto no estágio avançado se opta por um tratamento inicial com QT. O ABVD é considerado o regime *standard*. De notar apenas que os estádios clínicos IA e IIA do LHPLN podem ser tratados com RT isolada. Segue-se o re-estadiamento para avaliação da resposta ao tratamento. Estudos recentes deram relevância ao valor prognóstico da PET quando utilizada numa fase inicial do tratamento, contudo não é ainda recomendada na prática clínica diária.⁶⁰

A QT de alta dose seguida de transplante autólogo das células estaminais é considerada a melhor terapêutica nos doentes com LHC recidivante ou refratário. No caso do LHPLN, o rituximab poderá ser uma boa opção.⁴⁸

Com o desenvolvimento de opções terapêuticas mais eficazes, verificou-se um aumento na sobrevivência aos 5 anos. Dependendo do estágio e do perfil dos fatores de risco, até 95% dos

doentes com LH atingem a RC após terapêutica de 1ª linha *standard*.⁶¹ No entanto, há risco de recidiva, além da potencial toxicidade tardia, pelo que o *follow-up* é de grande importância.

Com o aparecimento de vários novos agentes que demonstram eficácia nesta patologia, estamos realmente perante uma época importante a nível da investigação do LH. A nova geração de fármacos terá com certeza um grande impacto no paradigma que é o tratamento deste linfoma, através da melhoria da eficácia, tolerabilidade e toxicidade a longo prazo. Além disto, enquanto se continuem a identificar novos marcadores da doença, tornar-se-á possível uma abordagem mais personalizada no tratamento do LH.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schnitzer B. Hodgkin Lymphoma. *Hematol Oncol Clin N Am* 2009;23:747-768.
2. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.
3. Eichenauer DA, Engert A, Dreyling M. Hodgkin's lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow up. *Annals of Oncology* 2011;22(Suppl 6):vi55-vi58.
4. Caporaso NE, Goldin LR, Anderson WF, et al. Current insight on trends, causes, and mechanisms of Hodgkin's lymphoma. *Cancer J* 2009;15:117-123.
5. Eberle FC, Mani H, Jaffe ES. Histopathology of Hodgkin's Lymphoma. *Cancer J* 2009;15:129-137.
6. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1994;84:1361-1392.
7. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. Pathology and Genetics of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2001.
8. Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphomas: implications for clinical practice and translational research. *ASH Education Book* 2009;1:523-531.
9. Townsend W, Linch D. Hodgkin's lymphoma in adults. *Lancet* 2012;380:836-47.
10. Punnett A, Tsang RW, Hodgson DC. Hodgkin lymphoma across the age spectrum: epidemiology, therapy, and late effects. *Semin Radiat Oncol* 2010;20:30-44.
11. Hislop AD, Taylor GS, Sauce D, Rickinson AB. Cellular responses to viral infection in humans: lessons from Epstein-Barr virus. *Annu. Rev. Immunol.* 2007;25:587-617.
12. Jarrett RF. Viruses and Hodgkin's lymphoma. *Ann. Oncol.* 2002;13(Suppl. 1):23-29.

13. Mani H, Jaffe ES. Hodgkin lymphoma: an update on its biology with new insights into classification. *Clin Lymphoma Myeloma* 2009;9:206-216.
14. Gobbi PG, et al. Hodgkin Lymphoma. *Crit Rev Oncol/Hematol* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2012.07.002>.
15. Hjalgrim H, Smedby KE, Rostgaard K, et al. Infectious mononucleosis, childhood social environment, and risk of Hodgkin lymphoma. *Cancer Res.* 2007; 67:2382-2388.
16. Hjalgrim H, Rostgaard K, Johnson PC, et al. HLA-A alleles and infectious mononucleosis suggest a critical role for cytotoxic T-cell response in EBV-related Hodgkin lymphoma. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2010;107:6400-6405.
17. Farrel K, Jarret RF. Molecular pathogenesis of Hodgkin lymphoma. *Histopathology* 2011;58:15-25.
18. Jarrett RF, Stark GL, White J, et al. Impact of tumor Epstein–Barr virus status on presenting features and outcome in agedefined subgroups of patients with classic Hodgkin lymphoma: a population-based study. *Blood* 2005;106:2444-2451.
19. Benharroch D, Shemer-Avni Y, Levy A, et al. New candidate virus in association with Hodgkin’s disease. *Leuk Lymphoma.* 2003;44:605-610.
20. Carbone A, Gloghini A. Aids-related lymphomas: from pathogenesis to pathology. *Br J Haematol.* 2005;130:662-670.
21. Karunanayake CP, Singh GV, Spinelli JJ, et al. Occupational exposures and Hodgkin lymphoma: Canadian case–control study. *J. Occup. Environ. Med.* 2009;51:1447-1454.
22. Landgren O, Gilbert ES, Rizzo JD, et al. Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2009;113:4992-5001.
23. Landgren O, Engels EA, Pfeiffer RM, et al. Autoimmunity and susceptibility to Hodgkin lymphoma: a population-based case-control study in Scandinavia. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98:1321-1330.

24. Goldin LR, McMaster ML, Ter-Minassian M, et al. A genome screen of families at high risk for Hodgkin lymphoma: evidence for a susceptibility gene on chromosome 4. *J Med Genet.* 2005;42:595-601.
25. Cordano P, Lake A, Shield L, et al. Effect of IL-6 promoter polymorphism on incidence and outcome in Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol.* 2005;128:493-495.
26. Grufferman NM. Hodgkin's lymphoma. In: David Schottenfeld J, Joseph F, Farumeni, eds. *Cancer Epidemiology and Prevention.* New York: Oxford University Press 2006:872-897.
27. Schimtz R, Stanelle J, Hansmann ML, Küppers R. Pathogenesis of Classical and Lymphocyte-Predominant Hodgkin Lymphoma. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2009;4:151-74.
28. Thomas RK, Re D, Wolf J, Diehl V. Hodgkin's lymphoma—molecular biology of Hodgkin and Reed-Sternberg cells Part I. *Lancet Oncology* 2004;5:11-18
29. Kuppers R, Sousa AB, Baur AS, et al. Common germinal-center B-cell origin of the malignant cells in two composite lymphomas, involving classical Hodgkin's disease and either follicular lymphoma or B-CLL. *Mol. Med.* 2001;7:285-292.
30. Tzankov A, Bourgau C, Kaiser A, Zimpfer A, Maurer R, et al. Rare expression of T cell markers in classical Hodgkin's lymphoma. *Mod. Pathol* 2005;18:1542-49.
31. Brauninger A, Schmitz R, Bechtel D, et al. Molecular biology of Hodgkin's and Reed / Sternberg cells in Hodgkin's lymphoma. *Int. J. Cancer* 2006;118:1853-1861.
32. Schwering I, Brauninger A, Klein U, et al. Loss of the B-lineage-specific gene expression program in Hodgkin and Reed–Sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003;101:1505-1512.
33. Ushmorov A, Leithauser F, Sakk O, et al. Epigenetic processes play a major role in B-cell-specific gene silencing in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2006;107:2493-2500.

34. McCune RC, Syrbu SI, Vasef MA. Expression profiling of transcription factors Pax-5, Oct-1, Oct-2, BOB.1, and PU.1 in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas: a comparative study using high throughput tissue microarrays. *Mod Pathol* 2006;19(7):1010-8.
35. Jost PJ, Ruland J. Aberrant NF-kappaB signaling in lymphoma: mechanisms, consequences, and therapeutic implications [Review]. *Blood* 2007;109:2700-2707.
36. Adams H, Obermann EC, Dirnhofer S, Tzankov A. Targetable molecular pathways in classical Hodgkin's lymphoma. *Expert Opin. Investig. Drugs* 2011;20(2):141-151.
37. Wlodarska I, Nooyen P, Maes B, et al. Frequent occurrence of BCL6 rearrangements in nodular lymphocyte predominance Hodgkin lymphoma but not in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003;101:706–710.
38. Straus SE, Jaffe ES, Puck JM, Dale JK, Elkon KB, et al. The development of lymphomas in families with autoimmune lymphoproliferative syndrome with germline FAS mutations and defective lymphocyte apoptosis. *Blood* 2001;98:194-200.
39. Feuerborn A, Moritz C, Von Bonin F, Dobbstein M, Trümper L, et al. Dysfunctional p53 deletion mutants in cell lines derived from Hodgkin's lymphoma. *Leuk. Lymphoma* 2006;47:1932-40.
40. Skinnider BF, Mak TW. The role of cytokines in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2002;99:4283-4297.
41. Marshall NA, Christie LE, Munro LR, et al. Immunosuppressive regulatory T cells are abundant in the reactive lymphocytes of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2004;103:1755-1762.
42. Li J, Qian CN, Zeng YX. Regulatory T cells and EBV associated malignancies. *Int. Immunopharmacol.* 2009;9:590-592.

43. Aldinucci D, Gloghini A, Pinto A, De Filippi R, Carbone A. The classical Hodgkin's lymphoma microenvironment and its role in promoting tumour growth and immune escape. *J. Pathol.* 2010;221:248-263.
44. Skinnider BF, Kapp U, Mak TW. The role of interleukin 13 in classical Hodgkin lymphoma. *Leuk. Lymphoma* 2002;43:1203–1210.
45. Young LS, Murray PG. Epstein–Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumours. *Oncogene* 2003;22:5108-5121.
46. Portis T, Dyck P, Longnecker R. Epstein–Barr Virus (EBV) LMP2A induces alterations in gene transcription similar to those observed in Reed–Sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003;102:4166–4178
47. Connors JM. Clinical Manifestations and Natural History of Hodgkin's Lymphoma. *Cancer J* 2009;15:124-128.
48. Hoppe RT, Advani RH, Ai WZ, Ambinder RF, Aoun P, Bello CM, Bierman PJ, Blum KA, Chen R, Dabaja B, Duron Y, Forero A, Gordon LI, Hernandez-Ilizaliturri FJ, Hochberg EP, Maloney DG, Mansur D, Mauch PM, Metzger M, Moore JO, Morgan D, Moskowitz CH, Poppe M, Pro B, Winter JN, Yahalom J, Sundar H. Hodgkin lymphoma, version 2.2012 featured updates to the NCCN guidelines. *J Natl Compr Canc Netw* 2012 May;10(5):589-97.
49. Stein H, Poppema S, Delsol G, et al. Hodgkin lymphoma. In Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al, editors. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC Press 2008;321-334.
50. Weiss LM, Von Wasielewski R, Delsol G, et al. Mixed cellularity classical Hodgkin lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al, editors. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th edition. Lyon, France: IARC Press 2008; p. 331.

51. Forteza-Vila J, Fraga M. Differential Dagnosis of Classic Hodgkin Lymphoma. *International Journal of Surgical Pathology* 2010;18(3):124S-127S.
52. Blum KA. Upcoming diagnostic and therapeutic developments in classical Hodgkin's lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010:93-100.
53. Eich HT, Engenhart-Cabillic R, Hansemann K, et al. Quality control of involved field radiotherapy in patients with early-favorable (HD10) and early-unfavorable (HD11) Hodgkin's lymphoma: an analysis of the German Hodgkin Study Group. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 2008;71:1419-24.
54. Borchmann P, Diehl V, Goergen H, et al. Dacarbazine is an essential component of ABVD in the treatment of early favourable Hodgkin lymphoma: results of the second interim analysis of the GHSG HD13 trial. *Haematologica* 2010;95:473.
55. Richardson SE, Mcnamara C. The Management of Classical Hodgkin's Lymphoma: Past, Present and Future. *Advances in Hematology* 2011;1-17.
56. von Tresckow B, Plutschow A, Fuchs M, et al. Dose-intensification in early unfavorable Hodgkin's lymphoma: final analysis of the German Hodgkin Study Group HD14 trial. *J Clin Oncol* 2012;30:907-13.
57. Halbsguth TV, Böll B, Borchmann P, Diehl V. The Unique Characteristics and Management of Patients Over 60 Years of Age with Classic Hodgkin Lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep* 2011;6:164-171.
58. Pereg D, Koren G, Lishner M. The treatment of Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma in pregnancy. *Haematologica* 2007;92:1230-37.
59. Tanaka PY, Pessoa VP Jr, Pracchia LF, Buccheri V, Chamone DA, Calore EE. Hodgkin lymphoma among patients infected with HIV in post-HAART era. *Clin Lymphoma Myeloma* 2007;7:364-68.

60. Aridgides P, Bogart J, Shapiro A, and Gajra A. PET Response-Guided Treatment of Hodgkin's Lymphoma: A Review of the Evidence and Active Clinical Trials. *Advances in Hematology* 2011;article ID 309237:5 pages.
61. Diehl V, Stein H, Hummel M, Zollinger R, Connors JM. Hodgkin's Lymphoma: Biology and Treatment Strategies for Primary, Refractory, and Relapsed Disease. *Hematology Am Soc Hematol Education Program* 2003;225-247.
62. Holmberg L, Maloney DG. The Role of Autologous and Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Hodgkin Lymphoma. *J Natl Compr Canc Netw* 2011;9(9):1060-1071.
63. Copeland A, Younes A. Current treatment strategies in Hodgkin lymphomas. *Curr Opin Oncol* 2012;24:466-474.
64. Moskowitz AJ. Novel Agents in Hodgkin Lymphoma. *Curr Oncol Rep* 2012;14:419-423.
65. Baxi SS, Matasar MJ. State-of-the-art Issues in Hodgkin's Lymphoma Survivorship. *Curr Oncol Rep* 2010;12:366-373.