



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

CRISTIANA PATRÍCIA LAJAS MATOS

***Mecanismos moleculares envolvidos na fisiopatologia de
alguns Linfomas de Células T Periféricos***

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

ÁREA CIENTÍFICA DE HEMATOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSORA DOUTORA CATARINA GERALDES

MESTRE MARÍLIA GOMES

ABRIL/2021

Índice

Abreviaturas	3
Resumo.....	12
Abstract	14
Introdução	15
Métodos	17
Discussão	18
Linfoma de células T periférico, NOS	18
Genes GATA-3 e TBX21.....	19
DNMT3A	22
ITK-SYK.....	24
ITK-FER.....	25
IKZF2-ERBB4	25
VAV1	25
TNFAIP3	26
APC e CHD8 – reguladores Wnt/ β catenina	26
FYN.....	27
NF1, TNFRSF14 e TRAF3	27
TP53 e CDKN2A	29
TP63.....	29
IDH2.....	30

RHOA	30
Linfoma de células T angioimunoblástico	34
TET2	35
RHOA	36
IDH2	39
DNMT3A	40
CD28	41
CTLA4-CD28	42
Imunoblastos B EBV+ e progressão para neoplasia de células B	42
Linfoma anaplásico de células grandes	45
ALCL ALK+	46
ALCL ALK-	48
ALCL cutâneo	51
ALCL associado ao implante mamário.....	51
Conclusão	53
Agradecimentos	55
Referências	56

Abreviaturas

2HG - *2-Hydroxyglutarate*

5hmC - *5-hydroxymethylcytosine*

5mC - *5-methylcytosine*

ABL1 – *Abelson Tyrosine-Protein Kinase 1*

AITL – Linfoma T angioimunoblástico

ALC – Antígeno linfocitário cutâneo

ALCL – Linfoma T anaplásico de células grandes

ALCL ALK- - Linfoma T anaplásico de grandes células positivo para a proteína ALK

ALCL ALK+ - Linfoma T anaplásico de grandes células negativo para a proteína ALK

ALK – *Anaplastic lymphoma kinase*

APC - *Adenomatous polyposis coli*

APCs – Célula apresentadora de antígenos

ARF - *ADP Ribosylation Factor*

ARHGEF1 - *Rho Guanine Nucleotide Exchange Factor 1*

ARID1A – *AT-rich interaction domain 1A*

ARID1B - *AT-rich interaction domain 1B*

ARID2 – *AT-rich interaction domain 2*

ATIC - *5-Aminoimidazole-4-Carboxamide Ribonucleotide Formyltransferase/ IMP Cyclohydrolase*

ATM – *Ataxia Telangiectasia Mutated*

BAF - *BRM/BRG1-associated factors*

BCL11A - *BAF Chromatin Remodeling Complex Subunit BCL11A*

BCL11B - *BAF Chromatin Remodeling Complex Subunit BCL11B*

BCL6 - *B-cell CLL/Lymphoma 6*

BCL9 – *B-cell CLL/Lymphoma 9*

BCR – *B cell receptor*

BIA-ALCL - Linfoma T anaplásico de células grandes associado ao implante mamário

BICRA - *BRD4 Interacting Chromatin Remodeling Complex Associated Protein*

BICRAL - *BRD4 Interacting Chromatin Remodeling Complex Associated Protein Like*

Blimp-1 - *B lymphocyte-induced maturation protein-1*

BRD7 - *Bromodomain Containing 7*

BRD9 - *Bromodomain Containing 9*

BRG1 - *Brahma-related gene 1*

c-ALCL - Linfoma T anaplásico de células grandes cutâneo

CAPRIN1 - *Cell Cycle Associated Protein 1*

cBAF - *Canonical BAF*

CBP/p300 - *CREB-binding protein/ E1A binding protein p300*

CCL3 - *C-C Motif Chemokine Ligand 3*

CCR4 - *C-C Motif Chemokine Receptor 4*

CCR5 - *C-C Motif Chemokine Receptor 5*

CCR6 - *C-C Motif Chemokine Receptor 6*

CD279/PD1 - *Programmed cell Death protein 1*

CD28 - *Cluster of Differentiation 28*

CD58 - *Cluster of Differentiation 58*

CDKN2A - *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A*

CDKN2B - *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2B*

CG – Centro Germinativo

CHD8 - *Chromodomain Helicase DNA Binding Protein 8*

CHOP – *Cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone*

CHP - *Cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone*

CK1 α - *Casein Kinase 1 Alpha*

CREBBP - *CAMP Responsive Element Binding Protein*

CSH3 – *C-terminal SH3 domain*

CSK - *C-Terminal Src Kinase*

CTA – *Cancer testis antigen*

CTLA4 - *Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4*

CXCL14 - *C-X-C Motif Chemokine Ligand 14*

CXCR3 - *C-X-C Motif Chemokine Receptor 3*

CXCR7 - *C-X-C Motif Chemokine Receptor 7*

D-2-HG - *D-2-Hydroxyglutarate*

DBD – *DNA binding domain*

DDR- *DNA damage repair*

DLBCL - *Diffuse large B-cell lymphoma*

DNA – *ácido desoxirribonucleico*

DNMT3A - *DNA Methyltransferase 3 Alfa*

DNMT3B - *DNA Methyltransferase 3 Beta*

DNMT3L - *DNA Methyltransferase 3 like*

DPF2 - *Double PHD Fingers 2*

DPF3 - *Double PHD Fingers 3*

DSS – *Disease specific survival*

DTX1 - *Deltex E3 Ubiquitin Ligase 1*

DUSP22 - *Dual Specificity Phosphatase 22*

E2F1 - *E2F Transcription Factor 1*

EBV – *Epstein-Barr virus*

EEF1G - *Eukaryotic Translation Elongation Factor 1 Gamma*

EMA - *Epithelial membrane antigen*

EOMES - *Eomesodermin*

EP300 - *E1A Binding Protein P300*

ERBB1 - *Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 1*

ERBB2/HER2 - *Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2 / human epidermal growth factor receptor 2*

ERBB3 - *Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 3*

ERBB4 - *Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 4*

ERK - *Extracellular-signal-regulated kinase*

FAS – *Fas cell surface death receptor*

FASLG - *Fas Ligand*

FDA - *Food and Drug Administration*

FER - *FER tyrosine kinase*

FOXP3 - *Forkhead Box P3*

FRA7H - *Fragile Site, Aphidicolin Type, Common, Fra(7)(Q32.3)*

FRK - *Fyn Related Src Family Tyrosine Kinase*

FTCL – *Follicular T cell lymphoma*

FYN - *FYN Proto-Oncogene, Src Family Tyrosine Kinase*

GAP - *GTPase-activating proteins*

GATA3 - *GATA Binding Protein 3*

GBAF/ncBAF - *GLTSCR1/like-containing BAF complex/ non-canonical BAF*

GDI - *GDP dissociation inhibitors*

GDP - *Guanosine diphosphate*

GEF - *Guanine nucleotide exchange factors*

GEP - *Gene expression profiling*

GRAP2 - *GRB2 Related Adaptor Protein 2*

GRB2 - *Growth Factor Receptor Bound Protein 2*

GSK3 β - *Glycogen synthase kinase 3 beta*

GSS - *Glutathione Synthetase*

GTP - *Guanosine-5'-triphosphate*

HAT - *Histone acetyltransferases*

HDAC - *Histone deacetylases*

HGF - *Hepatocyte growth factor*

HLA - *human leukocyte antigen*

hmC - *hydroxymethylcytosine*

HP1 - *Heterochromatin Protein 1*

ICOS - *Inducible T Cell Costimulator*

IDH2 - *Isocitrate Dehydrogenase (NADP(+)) 2*

IFN-γ - *Interferon Gamma*

IGF1 - *Insulin Like Growth Factor 1*

IK - *IK Cytokine*

IKZF2 - *IKAROS Family Zinc Finger 2*

IL- - *interleukin-*

IL-18RA - *Interleukin 18 Receptor 1*

IL-2RB - *Interleukin 2 Receptor Subunit Beta*

IPI - *International Prognostic Index*

IRF4 - *Interferon Regulatory Factor 4*

ITK - *IL2 Inducible T Cell Kinase*

JAK/STAT3 - *Janus Kinase/ Signal Transducer And Activator Of Transcription 3*

KDM6A - *Lysine Demethylase 6A*

Ki-67 - *Marker Of Proliferation Ki-67*

KMT2A - *Lysine Methyltransferase 2A*

KMT2D/MLL2 - *Lysine Methyltransferase 2D/ Mixed lineage leukemia gene 2*

LCK - *LCK Proto-Oncogene, Src Family Tyrosine Kinase*

LDH - *Lactate dehydrogenase*

LNH – *Linfomas não Hodgkin*

mC - *methylcytosine*

MDK - *Midkine*

MET - *MET Proto-Oncogene, Receptor Tyrosine Kinase*

MIR29A - *MicroRNA 29a*

MPAK - *Mitogen-Activated Protein Kinase*

mRNA – *Ácido ribonucleico mensageiro*

mTOR - *Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase*

mTORc1 - *Mechanistic Target of Rapamycin Complex 1*

MYC – *V-Myc Avian Myelocytomatosis Viral Oncogene Homolog*

MYO1F - *Myosin IF*

NADP+ - *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*

NCOR - *Nuclear Receptor Corepressor*

NF1 - *Neurofibromin 1*

NF-κB - *Nuclear factor-kappaB*

NK – *células natural killer*

NOTCH1 - *Notch Receptor 1*

NPM1 - *Nucleophosmin 1*

OD – *oligomerization domain*

OMS – *Organização Mundial da Saúde*

OS – *Overall survival*

PAX5 – *Paired box 5*

PBAF - *Polybromo-associated BAF*

PBRM1 - *Polybromo 1*

PH – *Pleckstrin homology*

PHF10 - *PHD Finger Protein 10*

PI3K - *Phosphoinositide 3-kinase*

PIAS1 - *Protein Inhibitor Of Activated STAT 1*

PIASx α - *protein inhibitor of activated STATx alpha*

PLCG1 - *Phospholipase C Gamma 1*

PML- *Promyelocytic leukemia protein*

PRDM1 - *Positive regulatory domain containing 1*

PTCL – *Peripheral T cell lymphoma*

PTCL, NOS – *Peripheral T cell lymphoma, not otherwise specified*

PTEN – *Phosphatase And Tensin Homolog*

PTN - *Pleiotrophin*

RAC1 - *Rac Family Small GTPase 1*

RAR - *Retinoic acid receptor*

RHOA - *Ras Homolog Family Member A*

RNF213 - *Ring Finger Protein 213*

ROS1 - *ROS Proto-Oncogene 1, Receptor Tyrosine Kinase*

RP58 - *Zinc finger protein 238*

RTK - *Receptor tyrosine kinases*

SAM - *S-adenosylmethionine synthase*

SAP - *signaling lymphocyte activation molecule (SLAM) associated protein*

SETD2 - *SET Domain Containing 2, Histone Lysine Methyltransferase*

SG – *Sobrevivência Global*

SH2 - *SRC Homology 2 Domain*

SH3 - *SRC Homology 3 Domain*

SMARCA2 - *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin, Subfamily A, Member 2*

SMARCA4 - *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin, Subfamily A, Member 4*

SMARCC1 - *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin Subfamily C Member 1*

SMARCC2 - *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin Subfamily C Member 2*

SMARCD1 - *SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin Subfamily D Member 1*

SNC – *Sistema Nervoso Central*

SRC - **SRC** - *Proto-Oncogene, Non-Receptor Tyrosine Kinase*

STAT3 - *Signal Transducer And Activator Of Transcription 3*

SUMO-1 - *Small Ubiquitin Like Modifier 1*

SUV39H1 - *Suppressor Of Variegation 3-9 Homolog 1*

SWI/SNF - *SWItch/Sucrose Non-Fermentable*

SYK - *Spleen Associated Tyrosine Kinase*

TA – *transactivation domain*

T-bet - *T-box expressed in T cells*

TBX21 - *T-Box Transcription Factor 21*

TCF/LEF - *T cell factor/lymphoid enhancer factor*

TCR – *T cell receptor*

TET2 - *Tet Methylcytosine Dioxygenase 2*

TET3 - *Tet Methylcytosine Dioxygenase 3*

TFH – *T follicular helper*

Th – *Linfócito T helper*

TH – *Tec homology*

TIA-1 - *TIA1 Cytotoxic Granule Associated RNA Binding Protein*

TLE/GROUCHO - *Transducin-like Enhancer of split*

TNF - *Tumor Necrosis Factor*

TNFAIP3/A20 - *TNF Alpha Induced Protein 3*

TNFRSF14 - *TNF Receptor Superfamily Member 14*

TNFRSF8 - *TNF Receptor Superfamily Member 8*

TP53 – *Tumor protein 53*

TP63 – *Tumor protein 63*

TPM3 - *Tropomyosin 3*

TPRG1 - *Tumor Protein P63 Regulated 1*

TRAF3 - *TNF Receptor Associated Factor 3*

TYK2 - *Tyrosine Kinase 2*

UBC9 – *SUMO-conjugating enzyme*

VAV1 - *Vav Guanine Nucleotide Exchange Factor 1*

VEGF - *Vascular Endothelial Growth Factor*

VEGF-A - *Vascular Endothelial Growth Factor A*

WHO – *World Health Organization*

WT – *wild type*

ZAP-70 - *Zeta Chain Of T Cell Receptor Associated Protein Kinase 70*

ΔNp63 – *p63 N-truncada*

Resumo

O linfoma de células T periférico (PTCL) corresponde a 10-15% de todos os Linfomas não Hodgkin (LNH) e é muito heterogêneo na apresentação clínica e no perfil de alterações moleculares. A revisão da classificação das neoplasias linfoides da Organização Mundial da Saúde (OMS) de 2016 distingue 29 entidades de PTCL, baseando-se em estudos recentes de sequenciação gênica e numa melhor compreensão da célula de origem. No entanto, 30-50% dos PTCL são classificados em PTCL, *not otherwise specified* (NOS) por não cumprirem critérios que permitam incluí-los nas restantes entidades. Estes estudos têm contribuído para a reclassificação de doentes com diagnóstico de PTCL, NOS em linfoma de células T angioimunoblástico (AITL) (15%) e linfoma T anaplásico de células grandes (ALCL) (10%), que são o segundo e terceiro subtipos mais comuns de PTCL, respetivamente.

O subtipo PTCL, NOS associa-se a mutações em mediadores epigenéticos, genes envolvidos na ativação da sinalização do TCR e genes supressores tumorais. Este grupo de linfomas divide-se em dois subgrupos moleculares distintos consoante a expressão de *GATA3* ou *TBX21*, que se traduz numa diferença de prognóstico significativa entre os dois subgrupos, nomeadamente na sobrevivência global (SG) aos 5 anos de 19% versus 38%, respetivamente.

A identificação de mutações recorrentes numa significativa percentagem de AITL (*TET2* em 50-75%, *RHOA* em 70%, *IDH2* em 20%, *DNMT3A* em 20-38,5% e *CD28* em 10%) e em casos de PTCL, NOS com um fenótipo T *helper* folicular (TFH) levou à introdução de uma nova entidade provisória na revisão da classificação da OMS de 2016 – o PTCL ganglionar com fenótipo TFH.

O ALCL classifica-se com base na apresentação clínica (sistémico ou localizado) e a expressão da ALK. Os ALCL ALK+ apresentam um prognóstico mais favorável do que os ALK-, mas a presença da fusão *NPM1-ALK* associa-se a pior prognóstico em idade pediátrica. Os ALCL ALK- envolvem a ativação da JAK/STAT3, e a presença de rearranjos *DUSP22* resulta numa SG mais favorável.

O subtipo de linfoma T é um importante fator de risco e associa-se a resposta ao tratamento e a prognóstico distintos. O ALCL é o que apresenta melhor resposta a regimes de quimioterapia CHOP-*like*, sendo o ALCL ALK+ em idade pediátrica a entidade com melhor prognóstico. Assim, torna-se evidente a necessidade de uma caracterização molecular precisa de cada entidade, de forma a estratificar o prognóstico, identificar potenciais alvos terapêuticos e, conseqüentemente, selecionar um tratamento mais personalizado a cada doente.

Palavras-chave: “Linfoma de células T”, “prognóstico”, “patologia molecular”, “alvos terapêuticos”

Abstract

Peripheral T cell lymphomas (PTCLs) comprise 10-15% of all non-Hodgkin lymphomas (NHL) and are highly heterogeneous on their clinical presentation and molecular profile. The 2016 revision of the World Health Organization (WHO) classification of lymphoid neoplasms describes 29 distinct entities based on recent gene expression profiling studies and a better understanding of the origin cell. However, 30-50% of PTCLs are classified as PTCL, not otherwise specified (NOS) as they don't meet criteria that allow them to be included in the remaining categories. This studies have contributed to reclassify some patients first diagnosed with PTCL,NOS as angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AITL) (15%) and as anaplastic large cell lymphoma (ALCL) (10%), which are the second and third most common subtypes of PTCL, respectively.

PTCL, NOS relate to mutations on epigenetic mediators, genes involved in TCR signalling activation and tumor suppressor genes. This group of lymphomas subdivides into two distinct molecular subgroups depending on *GATA3* or *TBX21* expression, leading to a significant prognosis difference between them, namely in 5 years overall survival (OS) of 19% versus 38%, respectively.

Identification of recurrent mutations in a significant portion of AITL (*TET2* in 50-75%, *RHOA* in 70%, *IDH2* in 20%, *DNMT3A* in 20-38,5% and *CD28* in 10%) that also occur in PTCL, NOS that manifest a T-follicular helper (TFH) phenotype led to introduction of a new provisional entity in the 2016 revision of the WHO classification – nodal PTCL with a TFH phenotype.

ALCLs are classified based on clinical presentation (localized or systemic) and the expression of anaplastic lymphoma kinase (ALK). ALK+ ALCLs have a more favourable prognosis than ALK- ALCLs. However, the presence of NPM1-ALK fusion protein on the pediatric population associates with a less favourable prognosis. ALK- ALCL involves the activation of JAK/STAT3, and if *DUSP22* rearrangements are present the OS is better.

The type of T cell lymphoma is an important risk factor, given the different prognostic and response to treatment among them. ALCL is the only one with a good response to CHOP-like regimens, being the ALK+ ALCL in the pediatric age the entity with better prognosis. Hence, it becomes evident the need of a precise description of each entity, to better stratify the prognosis, identify potential therapeutic targets and then provide a more personalized treatment.

Keywords - "T cell lymphoma", "prognosis", "pathology, molecular", "therapeutic targets"

Introdução

A classificação da OMS classifica as neoplasias linfoides de acordo com a sua célula de origem (B ou T) e com o seu grau de diferenciação, distinguindo-as em neoplasias linfoides de células precursoras e de células maduras. (1) As neoplasias linfoides com origem em células T maduras (pós-tímicas ou periféricas) são, de um modo geral, denominadas como linfomas de células T periféricas (PTCLs) e são divididos em cutâneos, ganglionares, extraganglionares e leucémicos, consoante a sua forma de apresentação.

Os PTCLs representam 10-15% dos Linfomas não Hodgkin (LNH) e, comparativamente com os linfomas de células B, são menos frequentes, mais difícil de diagnosticar e classificar, mais agressivos e com um pior prognóstico com a terapêutica disponível atualmente. São mais frequentes em adultos e, no geral, são mais comuns na Ásia do que na Europa e nos Estados Unidos da América. (2)

A revisão da classificação da OMS de 2016 das neoplasias linfoides distingue 29 tipos de PTCLs, incluindo algumas entidades provisórias, baseando-se em estudos recentes de sequenciação génica e numa melhor compreensão da célula de origem. (1) No entanto, o diagnóstico e diferenciação de cada subtipo de PTCL é desafiante. A ausência de marcadores clínicos, imunofenotípicos e moleculares, que permitam incluí-los em entidades de PTCLs bem definidas resultam, por exclusão, na classificação de 30-50% dos casos numa categoria heterogénea, os PTCL, NOS. Os estudos de expressão génica têm contribuído para a reclassificação de doentes com diagnóstico de PTCL, NOS em linfoma T angioimunoblástico (AITL) e linfoma anaplásico de grandes células (ALCL) em 15 e 10% dos casos, respetivamente. (3)

Os linfomas T ganglionares representam a maior parte dos PTCL, sendo o PTCL, NOS o mais frequente (26%), seguido do AITL (18,5%), do ALCL ALK+ (6,6%) e do ALK- (5,5%). (2)

O desenvolvimento de PTCLs resulta de um processo complexo que envolve duas componentes major – a desregulação das vias de sinalização TCR intrínsecas às células T tumorais e a interação com o microambiente tumoral não neoplásico. Adicionalmente, em alguns subtipos, a transformação neoplásica é despoletada por vírus e inflamações crónicas. Translocações cromossómicas, inserções e deleções, a par com mutações genéticas, resultam em proteínas de fusão, ativação constitutiva, hiperativação e perdas de genes. A desregulação epigenética desempenha um papel igualmente importante neste processo. (4) Os linfócitos T, depois de sofrerem o seu processo de maturação, podem evoluir para inúmeros subtipos: células T helper (Th), natural killer (NK), células T supressoras, células T citotóxicas, células T de memória, células T reguladoras (Treg) e células T $\gamma\delta$. Cada uma

secreta um espectro diferente de citocinas que vai interagir com outras células do sistema imune, estando envolvidas em diversas vias de sinalização. (5) Conhecer a célula precursora é essencial para compreender as diferenças entre as doenças neoplásicas e estabelecer uma melhor abordagem terapêutica.

Neste sentido, a análise mutacional, com recurso a tecnologias como o perfil de expressão génica (GEP) e a sequenciação genómica, começa a ser incorporada em ensaios clínicos que visam a identificação de biomarcadores de resposta terapêutica, tornando-a mais dirigida. (4)

Esta diversidade, associada ao facto dos linfomas de células T serem muito raros, levou a que os progressos na terapêutica e, conseqüentemente, no prognóstico, fossem escassos nos últimos anos (5), justificando uma SG aos 5 anos de apenas 20-30%. (6)

Em 1993, num ensaio clínico de fase 3 aleatorizado com 899 doentes com LNH de células B e T em estágio avançado e/ou de alto grau, Fisher RI *et al.* mostraram que o CHOP, quando comparado com regimes mais intensivos, se mantinha a melhor opção. (7) Ainda que o número de doentes com PTCL incluídos no estudo seja incerto, assumiu-se que este seria o tratamento *standard* para esta patologia. (5)

Em 2009, foi aprovado o pralatrexato pela *Food and Drug Administration* (FDA), o primeiro fármaco dirigido a doentes com o diagnóstico de PTCL, em recidiva ou refratário. Recentemente, a aprovação de vários novos fármacos tem estimulado a pesquisa e investigação, explorando a sua combinação com o regime CHOP, e até o possível desenvolvimento de um novo tratamento *standard* não baseado neste regime. (5) Um exemplo é o ensaio clínico ECHELON-2, o primeiro ensaio de fase 3 aleatorizado direcionado a doentes com PTCLs CD30+ recém diagnosticados, que comparou o regime CHOP com o CHP associado a Brentuximab vedotina, um anticorpo monoclonal anti-CD30 conjugado. (8) Os resultados foram favoráveis para a associação CHP-Brentuximab, o que levou à sua aprovação pela FDA para o tratamento em primeira linha dos PTCLs. (5)

O presente trabalho visa a descrição dos mecanismos moleculares envolvidos na fisiopatologia do PTCL, NOS, do AITL e dos ALCL ALK+ e ALK-, identificando pontos chave na via oncogénica destes linfomas. O objetivo é uma melhor compreensão e posterior identificação de potenciais biomarcadores, de diagnóstico, de prognóstico e de resposta, bem como de alvos terapêuticos.

Métodos

Para a realização deste trabalho, inicialmente, foi consultada a revisão da classificação das neoplasias linfoides da OMS de 2016. Depois da elaboração de um plano para cada um dos subtipos de linfomas T que seriam abordados, tendo em conta as alterações moleculares identificadas até ao momento da publicação da OMS, foram analisados os artigos originais aí citados.

Posteriormente foi realizada uma pesquisa *online* nas bases de dados PubMed e Web of Science, ambas restringidas através dos filtros “tipo de artigo” (revisão), “ano de publicação” (últimos 5 anos) e “idioma” (inglês).

A pesquisa na PubMed utilizou a equação de pesquisa de linguagem controlada "Lymphoma, T-Cell"[Mesh] AND "Pathology, Molecular"[Mesh] e a equação de pesquisa de linguagem natural ["T cell" AND lympho* AND gene* AND (physiology OR physiopathology OR mechanism*)]. A pesquisa na Web of Science utilizou a equação [lymphocyte* AND "T-cell" AND (physiology OR physiopathology OR mechanism*)].

A partir dos resultados obtidos foram selecionados os artigos com maior fator de impacto e com base na relevância do título e na leitura dos respetivos resumos.

Posteriormente, foram analisados os artigos originais citados nas revisões selecionadas.

Discussão

Linfoma de células T periférico, NOS

O linfoma de células T periférico, NOS (PTCL, NOS) é o subtipo mais comum de linfomas de células T maduras, representando aproximadamente 26-40% de todos os PTCL. (9) Tem uma incidência semelhante na Europa e na América do Norte (34%), sendo menos comum na Ásia (22,4%). (2)

É o subtipo mais comum na Europa, com uma idade mediana de apresentação de 60 anos, predominantemente em doentes do sexo masculino. (2) Trata-se de uma categoria vasta de doenças clínicas e biologicamente heterogêneas, principalmente devido ao facto de se tratar de um diagnóstico de exclusão. No momento do diagnóstico é comum o envolvimento ganglionar, ainda que qualquer órgão possa estar afetado – medula óssea (22%), fígado, baço e pele. (3)

Caracteriza-se por uma evolução clínica agressiva, com 70% dos casos diagnosticados em estágio avançado, justificando, em parte, a refratariedade ao tratamento *standard*, bem como a recidiva após uma boa resposta à terapêutica. (3)

A citologia é frequentemente pleomórfica, e a maioria dos casos apresenta-se como uma população variada de células pequenas e grandes com uma elevada taxa de proliferação. É possível encontrar células *Reed-Sternberg like*, sendo a distinção com o AITL desafiante, por vezes com necessidade de recorrer a uma análise imunofenotípica extensa. (10)

Fenotipicamente, o PTCL, NOS expressa os antígenos das células T CD2, CD3, CD5 e CD7 com perda de um ou mais antígenos em mais de 80% dos casos. O mais comum é ter origem em células T CD4+ não citotóxicas, mas há casos raros que se podem apresentar CD8+, CD4+ CD8+ ou CD4- CD8-. (3) A expressão de marcadores citotóxicos associa-se a um perfil CD8+ e a um pior prognóstico. (11) Em mais de 85% dos casos de PTCL, NOS, as células T tumorais expressam o TCR $\alpha\beta$; contudo, em casos raros, podem expressar o TCR $\gamma\delta$ ou ser negativas para ambos. Os casos EBV+ são raros e associam-se a uma evolução mais agressiva. (12) Poderão ainda, ocasionalmente, expressar CD30, tornando complexa a distinção do ALCL ALK-. (13)

Os estudos do perfil de expressão génica têm contribuído para uma reclassificação de muitos doentes diagnosticados com PTCL, NOS - cerca de 15% poderá corresponder a AITL e 10% dos casos a ALCL ou a linfoma de células T/NK extraganglionar. (3)

Alterações moleculares no PTCL, NOS

Genes *GATA-3* e *TBX21*

Nas células T saudáveis, o fator de transcrição *GATA3* está envolvido na diferenciação de células Th2, promove a transcrição de IL-4/IL-13 e regula epigeneticamente o *locus* da IL-10. (14) Ao contrário do IFN- γ e dos agonistas dos recetores *Toll-like*, que promovem a polarização clássica M1 dos macrófagos, dependente da fosforilação do STAT1, as citocinas IL-4/IL-13 e IL-10 desempenham um papel importante na polarização alternativa M2 – dependentes, respetivamente, da fosforilação da STAT6 e da STAT3. Enquanto a polarização clássica está associada à apresentação de antígenos, à destruição de agentes patogénicos intracelulares e de células tumorais, a polarização alternativa regula a sobrevivência e o crescimento das células tumorais, suprime a imunidade do hospedeiro e promove a angiogénese e a remodelação da matriz extracelular. (15)

Wang *et al.* demonstraram que as células T tumorais promovem a polarização alternativa dos macrófagos, de forma dependente da IL-10 – citocina presente no microambiente tumoral. Estes macrófagos (núcleo STAT3 fosforilado +/- superfície CD163+) não foram identificados nos tecidos normais, mas estavam presentes em elevado número no microambiente tumoral de 41% dos linfomas de células T em estudo. A expressão de *GATA3* estava restrita ao núcleo, sugerindo que poderá representar um importante regulador transcricional e epigenético neste subtipo de linfomas. (16)

Iqbal *et al.*, num estudo de 372 doentes com PTCL, identificou, por GEP, as seguintes identidades: AITL em 114 doentes, ALCL ALK+ em 31 doentes e ALCL ALK- em 48 doentes, tendo reclassificado 37% dos doentes com PTCL, NOS. (11) Nos restantes 121 casos classificados como PTCL, NOS, foi possível definir dois subgrupos moleculares baseados na expressão de *GATA3* ou *TBX21* (T-bet) por GEP.

O grupo de doentes com elevada expressão de *GATA3* e respetivos genes alvo (*CCR4*, *IL-18RA*, *CXCR7* e *IK*) associou-se a uma baixa taxa de sobrevivência (SG aos 5 anos 19%) e a aumento de expressão de genes relacionados com proliferação celular (*MYC*), mTOR (PI3K) e β catenina.

Os PTCL, NOS-*GATA3* apresentam diversas anomalias cromossómicas, nomeadamente, associam-se a ganhos nos cromossomas 7, 8 e 17, neste último onde se encontra o gene *STAT3*. Heavican *et al.* descreveram ganhos cromossómicos no gene *MYC* (8q24.21) e,

consequentemente, aumento da expressão dos seus genes alvo. (17) Foram, ainda, observadas deleções em cromossomas ligados a genes supressores tumorais, como *TP53* (58%), *PTEN* (35%), *FAS* (32%), *CDKN2A/B* (45%) e *PRDM1* (23%). A deleção do *CDKN2A* apresentou impacto prognóstico, associando-se a uma pior SG. (17)

O grupo com elevada expressão de *TBX21* e respetivos genes alvo (*CXCR3*, *IL-2RB*, *CCL3* e *IFN-γ*) revelou um aumento de expressão de genes induzidos pelo IFN- γ e pelo NF-κB, e apresentam uma sobrevivência mais favorável (SG aos 5 anos 38%). (11) Os PTCL, NOS-*TBX21* apresentam menos anomalias cromossómicas. Associaram-se a ganhos em *loci* que incluem genes imuno-reguladores (*CD244*, *CD247*, *FASLG*) no cromossoma 1 e reguladores do ciclo celular (*TP63*, *TPRG1*) no cromossoma 3. Em 20% dos casos observaram-se ganhos envolvendo o *BCL11B*, um regulador negativo do *GATA3* e do programa de expressão Th2. (17)

Apesar da diferença significativa no prognóstico, aquando da apresentação, estes doentes não apresentavam características clínicas distintas. (11)

Dentro do segundo grupo, destacou-se ainda um subgrupo de doentes com elevada expressão de genes associados a células T citotóxicas CD8+ e que apresentaram um pior prognóstico. Dado que o *TBX21* e o seu parólogo *EOMES* (T-box) são importantes não só na diferenciação das células Th2 como também das células T citotóxicas, poderá haver uma dicotomia na polarização celular deste grupo. (18)

Wang *et al.* analisaram a expressão de IL-10 e dos transcritos associados aos Th1 (IFN- γ, T-bet, *CXCR3*) e Th2 (IL-4, IL-5, IL-13, *CCR4*, *GATA3*) em 31 casos de PTCL, NOS, tendo distinguido dois subgrupos, indo ao encontro dos resultados do estudo de Iqbal *et al.* – o primeiro com expressão *GATA3* e transcritos associados ao Th2, o segundo rico em *TBX21*, transcritos associados ao Th1 e IL-10. Numa análise posterior, concluiu que a presença do *GATA3* está associada a sobrevivência livre de progressão e SG inferiores. (16)

Modificações epigenéticas

Alterações das histonas

As histonas podem sofrer alterações por acetilação (a mais frequente), metilação, fosforilação e ubiquitinação. As acetiltransferases das histonas (HATs) e as desacetilases das histonas

(HDACs) mantêm o equilíbrio do estado de acetilação/desacetilação, tendo um papel importante na modificação estrutural cromossômica e na regulação da expressão gênica. (19)

Ji *et al.* estudaram a presença de mutações em genes relacionados com a modificação de histonas – mais precisamente metilação (*KMT2D (MLL2)*, *SETD2*, *KMT2A* e *KDM6A*) e acetilação (*EP300* e *CREBBP*) -, tendo sido identificadas 59 mutações somáticas em 36% dos casos de PTCL, NOS em estudo (45/125). Estas mutações associaram-se a menor sobrevivência livre de progressão. (20)

O estudo apresentou evidências clínicas de que as mutações que envolvem modificações das histonas, principalmente metilação e acetilação, estão significativamente associadas à quimiorresistência e à progressão tumoral do PTCL, NOS.

Metilação do DNA

TET2

Um dos principais reguladores da expressão gênica durante a embriogênese e a diferenciação das células estaminais é a metilação do DNA. A metilação da citosina na posição 5 (5mC) desempenha um papel central no equilíbrio do genoma humano e na manutenção do dinamismo nas alterações de metilação do DNA. (21)

O gene *TET2* codifica uma oxigenase 2-oxoglutarato/Fe²⁺ - dependente que catalisa a oxidação da 5-metilcitosina (5mC) em 5-hidroximetilcitosina (5hmC), um importante marcador epigenético. A 5hmC é abundante nas células estaminais embrionárias e nas células adultas (22), o que tem promovido estudos com o objetivo de compreender o papel desta alteração epigenética na regulação da metilação do DNA.

As células tumorais que originam ou mantêm o clone maligno têm a capacidade de autorrenovação, e a inativação do *TET2* em ratinhos resultou na expansão de células precursoras hematopoiéticas, com aumento da autorrenovação, bem como em anomalias pleiotrópicas, afetando tanto a linha mieloide como a linfóide. (23) (Figura 4)

Ainda que a disfunção deste gene leve a alterações da homeostasia dos precursores hematopoiéticos, não é suficiente para induzir uma doença tumoral hematopoiética específica. Quivoron *et al.* identificaram inúmeras mutações presentes aquando da inativação do *TET2*, tanto ao nível da célula estaminal em precursores CD34+, como em fases mais tardias do

desenvolvimento do linfoma, sugerindo que quando ocorrem em conjunto na célula estaminal poderão resultar em malignidade. (23)

Lemonnier *et al.* investigaram a presença de mutações de inativação *TET2*, inicialmente identificadas em neoplasias mieloides, em 190 doentes diagnosticados com PTCL. Esta mutação foi encontrada em 47% dos casos de AITL e em 38% dos casos de PTCL, NOS, estando ausentes nos restantes subtipos. (24)

As alterações são principalmente inserções/deleções criando mutações *frameshift* e *non-sense* semelhantes às encontradas nas neoplasias mieloides. (24)

A presença da mutação de inativação do gene *TET2* associou-se a doença em estágio avançado, presença de sintomas B, aumento de envolvimento extraganglionar, trombocitopenia, scores elevados do *International Prognostic Index* (IPI) e, conseqüentemente, a um pior prognóstico. (24)

DNMT3A

As DNMTs dividem-se em três famílias – DNMT1, DNMT2 e DNMT3. A família DNMT3 tem três membros: DNMT3A, DNMT3B e DNMT3L (*DNMT3-like*). A DNMT3A é altamente expressa nas células estaminais, em fases precoces embrionárias e em células germinativas em desenvolvimento, onde a metilação *de novo* desempenha um papel importante. Tal como a DNMT3B, a DNMT3A, uma metiltransferase *de novo*, é responsável pela definição do padrão de metilação de DNA durante a embriogénese e a gametogénese. Adicionalmente, estão também envolvidas na manutenção global dos níveis de metilação do DNA. Este padrão de metilação é mantido por interações moleculares entre as DNA metiltransferases e outros fatores associados à cromatina. Têm sido identificadas inúmeras proteínas que interagem com uma ou mais DNMTs e, muitas delas, estão envolvidas na regulação da estrutura da cromatina e da expressão génica. A DNMT3A associa-se à HDAC1, PML-RAR, MYC, RP58, SUV39h1, HP1, SUMO-1, UBC9, PIAS1, PIAS α e DNMT3L. (25)

A metilação do DNA – associada a silenciamento génico - ocorre principalmente em resíduos de citosina, inseridos em dinucleotídeos CpG. Padrões de metilação alterados, incluindo hipometilação generalizada do genoma e hipermetilação de regiões específicas, são encontrados frequentemente em tumores. (26)

O gene que codifica a DNMT3A está mutado em neoplasias mieloides e foram identificadas mutações (*frameshift*, *missense* e no *splice site*) em casos de PTCL, NOS, com uma

frequência inferior a 15% (17, 27). Esta alteração foi identificada em células CD19+, sugerindo que a mutação poderá ser adquirida em fases precoces do desenvolvimento linfóide. (28) Couronné *et al.* identificaram a coexistência de mutações *TET2* com mutações *DNMT3A*, em 73% dos casos, sugerindo uma cooperação oncogénica entre os dois genes que poderá envolver desregulação da metilação da citosina e processos de desmetilação. (28)

Remodelação da cromatina

O complexo SWI/SNF (também conhecido como BAF) é um regulador chave da remodelação, ATP-dependente, da cromatina, pelo posicionamento dos nucleossomas. Este complexo divide-se em três subfamílias: cBAF, PBAF e GBAF/ncBAF, tendo todas subunidades em comum – SMARCC1, SMARCC2, SMARCD1 e uma das ATPases SMARCA4 ou SMARCA2. A cBAF é constituída pela ARID1A, ARID1B, DPF2, DPF3, BCL11A e BCL11B; a PBAF pela ARID2, PBRM1, BRD7 e PHF10; a ncBAF – não tão comumente envolvida em tumores -, BRD9, BICRA e BICRAL. (29)

Além do controlo transcricional através da remodelação da cromatina, este complexo tem sido associado a mecanismos de reparação de lesão de DNA (DDR), desde modificação da cromatina circundante a alterações no recrutamento de proteínas necessárias à reparação. (29)

As subunidades deste complexo têm sido identificadas como supressores tumorais em neoplasias humanas, estando recorrentemente mutadas em cerca de 25% de todas as neoplasias. (30)

Schatz *et al.* identificaram alteração da atividade do complexo SWI/SNF em 18% de 28 casos de PTCL,NOS estudados, particularmente, por mutações no *ARID1B* (3/28), *ARID2* (1/28) e *SMARCA2* (1/28) (31).

Ativação da via de sinalização do TCR

ITK-SYK

A ITK pertence à família de quinases Tec. Este grupo é definido por uma estrutura em comum que inclui um domínio catalítico tirosina quinase que ocupa o C-terminal e um domínio de interação com proteínas (SH2 e SH3), semelhante ao da família Src. O ITK possui ainda uma região rica em prolina (domínio TH) e um domínio N-terminal homólogo à *pleckstrin* (PH), que se ligam ao C-terminal do SYK. (32) Esta quinase está envolvida nos mecanismos de sinalização do TCR. (Figura 1)

A SYK é uma tirosina quinase envolvida na sinalização bioquímica de inúmeros recetores, incluindo o BCR. (33) Os linfócitos T normais não expressam a proteína SYK, mas um homólogo desta, a ZAP-70, na sinalização do TCR. (Figura 1) No entanto, a proteína SYK encontra-se anormalmente expressa na maioria dos PTCLs. (34)

Streubel *et al.* descreveram a mutação t(5;9)(q33;22) que resulta na fusão *ITK-SYK*, e identificaram-na em 17% (5/30) dos casos de PTCL, NOS estudados. (32)

Pechloff *et al.*, tendo em conta a recorrência da translocação t(5;9)(q33;22) nos PTCL,NOS (32), constataram que a proteína resultante da fusão *ITK-SYK* se liga às membranas plasmáticas das células T, despoletando a fosforilação do TCR de forma independente do antigénio. Esta ligação resulta na ativação de vias de sinalização *downstream* e efeitos agudos celulares compatíveis com a ligação antigénio-TCR, incluindo aumento da expressão de CD69 ou produção de IL-2. Analisando a expressão clínica desta mutação em ratinhos, verificou-se que, histologicamente, a arquitetura do baço se encontrava completamente alterada, com um infiltrado difuso de células linfoides e com um elevado Ki-67. Estas células atípicas infiltraram sempre a medula óssea e outros órgãos sólidos, como rins, fígado e pulmões. (35) Assim, Pechloff *et al.* sugeriram que a expressão *ITK-SYK* em células T induz um linfoma de células T extremamente agressivo.

ITK-FER

Boddicker *et al.* identificaram a fusão das quinases ITK-FER num estudo em amostras de PTCL, NOS. A expressão desta fusão resultou num aumento da formação de colónias *in vitro*. (36)

IKZF2-ERBB4

O *IKZF2* codifica o Helios, um fator de transcrição apenas presente nas células T, que pertence à família Ikaros, sobre-expresso em vários subtipos de PTCL. (37)

O *ERBB4* codifica um membro da família ErbB, um grupo de tirosinas quinases que também inclui o recetor do fator de crescimento epidérmico (ERBB1), HER2 (ERBB2) e ERBB3. Estão geralmente associados ao desenvolvimento de tumores sólidos e epiteliais. No entanto, estudos recentes têm constatado a relevância desta família nos PTCLs, devido a achados como proteínas ERBB4 mutadas, níveis aumentados em circulação do fator de crescimento epidérmico e mutações tendo a via de sinalização ErbB como alvo. (36)

Boddicker *et al.* identificaram ainda uma outra fusão nova de quinases em casos de PTCL, NOS – IKZF2-ERBB4 -, que resultou na sobre-expressão da quinase. (36)

VAV1

A atividade da GEF VAV1 tem como alvo, principalmente, a RAC1 – pertencente à família Rho. A fusão genética VAV1-GSS aumentou a ativação desta GTPase, promovendo o crescimento e migração celular. (36) Os resultados do estudo indicam que a função desta proteína truncada está dependente, pelo menos parcialmente, da RAC1. (36)

A RAC1 está associada a múltiplos processos oncogénicos, como a ativação do STAT3 através de um mecanismo indireto pela produção autócrina de IL-6, um mediador da resposta do STAT3, que tem sido associado a vários PTCLs. (36, 38)

Boddicker *et al.* identificaram, em 11% dos casos de PTCL, NOS, fusões genéticas envolvendo o *VAV1* (*VAV1-GSS* e *VAV1-MYO1F*). Estas alterações levam à perda do domínio CSH3 da GEF VAV1, importante na sinalização do TCR. (Figura 1) Este domínio está

associado à auto-inibição da atividade da GEF VAV1, resultando numa ativação aumentada em contexto de mutação. (36)

TNFAIP3

Este gene codifica um fator de necrose tumoral/A20, um regulador negativo da via de sinalização do NF- κ B após a sinalização do TCR - fator nuclear cuja ativação tem sido associada ao processo oncogénico de diversas neoplasias linfoides. (39)

Schatz *et al.* identificaram mutações *missense* do *TNFAIP3* em 11% dos casos de PTCL, NOS. (31)

Honma *et al.* mostraram que a deleção 6q, uma das mutações mais comuns nos LNH, está associada ao *TNFAIP3/A20*, e que a sobre-expressão do A20 em linfomas de células do manto e em linfomas B difusos de células grandes induz apoptose, enquanto o seu silenciamento está associado a resistência à apoptose e aumento da proliferação celular. (39)

As células com diminuição de A20 resultaram num aumento da atividade do NF- κ B, o que, a par dos resultados anteriores, sugere um papel importante do A20 como gene supressor tumoral e no desenvolvimento de linfomas. (39)

APC e CHD8 – reguladores Wnt/ β catenina

A via de sinalização Wnt é uma das cascatas reguladoras durante o desenvolvimento embrionário, e pode ser dependente da β -catenina (canónica) ou não (não canónica). (Figura 1) A ativação da primeira está envolvida em muitos processos fisiológicos, como a homeostasia e a regeneração dos tecidos. (40)

A ausência dos ligandos Wnt (por exemplo, Wnt3a e Wnt1) levam à fosforilação citoplasmática da β -catenina pelo complexo de destruição (Axin, APC e as quinases GSK3 β e CK1 α), sendo marcada para destruição proteasómica. Sem a β -catenina nuclear, um complexo repressor, que inclui TCF/LEF e TLE/Groucho, recruta HDACs resultando no silenciamento de genes alvo. Por outro lado, quando a via é ativada, há uma cascata de reações que leva à ativação de modificadores de histonas (por exemplo, CBP/p300, BRG1 e BCL9), permitindo a transcrição génica. (40)

A CHD8 promove a associação da β -catenina e da histona H1, formando um complexo trimérico na cromatina, resultando na inibição da via Wnt. (41)

Schatz *et al.* identificaram mutações *missense* nos genes *APC* ou *CHD8* – reguladores negativos da via de sinalização Wnt/ β -catenina -, em 14% dos casos de PTCL, NOS. (31)

FYN

A tirosina quinase FYN é, juntamente com a LCK, a quinase da família Src predominantemente encontrada nos linfócitos T e desempenha um papel importante na sua ativação quando da estimulação pelo TCR. (50) (Figura 1)

Mutações do *FYN* (p.Arg176Cys e p.Tyr531His) parecem alterar a interação inibitória intramolecular do domínio FYN SH2 com o FYN Tyr531 fosforilado pela CSK, em casos de PTCL, NOS. Em células Rat1A, estas mutações resultaram num aumento do nível de ativação da FYN. (49)

NF1, TNFRSF14 e TRAF3

Schatz *et al.* identificaram mutações em três genes com papel supressor na ativação do TCR – *NF1* (*frameshift*), *TNFRSF14* (*missense* que afeta o codão stop) e *TRAF3* (*nonsense*). (31)

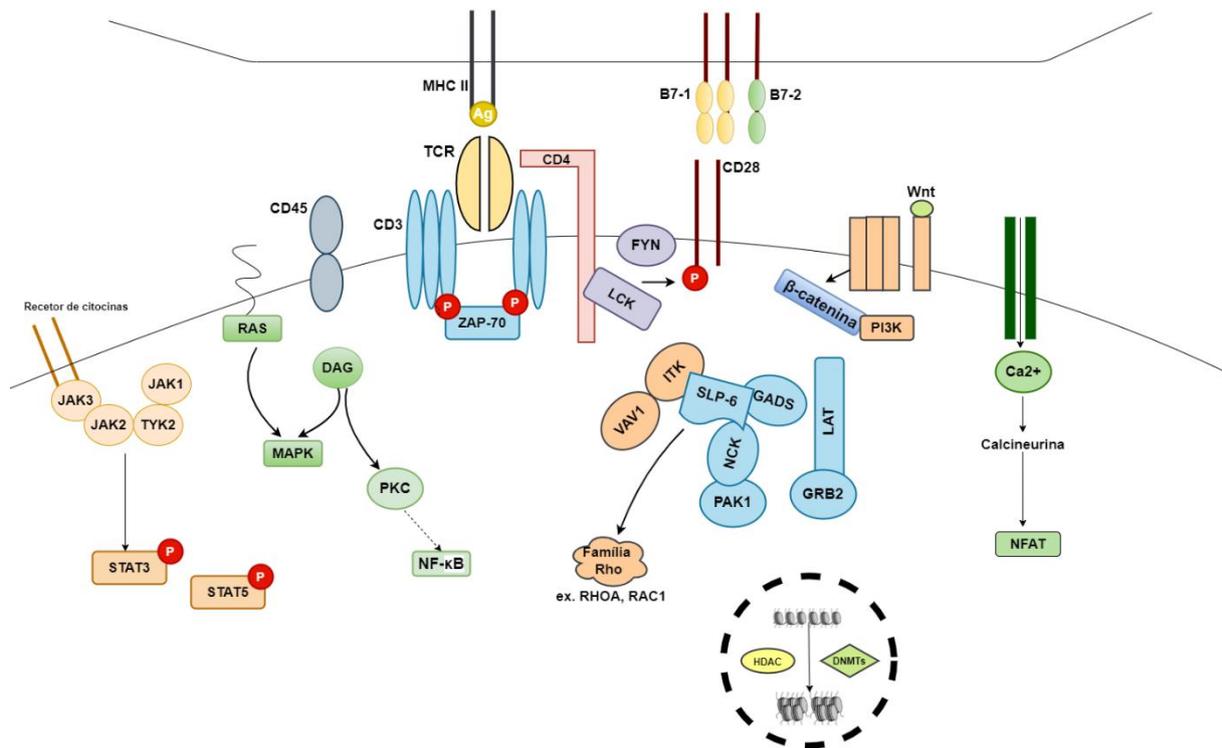


Figura 1 – Sinalização do TCR. P – fosforilação; JAK – Janus Kinase; STAT – Signal Transducer and activator of transcription; TYK – Tirosina quinase; RAS – Ras GTPase; DAG – diacilglicerol; MAPK – MAP quinase; PKC – proteína quinase C; NF-κB - Nuclear factor-κB; CD45 – tirosina fosfatase; TCR – T cell receptor; ITK – IL-2 inducible T cell kinase; MHC II – complexo major de histocompatibilidade II; Ag – antígeno; ZAP-70 – proteína quinase 70 associada à cadeia zeta do TCR; NFAT – nuclear factor of activated T cells; LAT – linker for activation of T cells (Adaptado de Zain *et al.* 2019 (4))

Genes supressores tumorais

TP53 e CDKN2A

Watatani *et al.* identificaram mutações e deleções do gene *TP53* e deleções do *CDKN2A* em 28% e 13% de casos de PTCL, NOS, respetivamente. Mutações nestes genes e a *RHOA* Gly17Val mostraram-se mutuamente exclusivas, sugerindo que as primeiras são alterações específicas do PTCL, NOS não TFH. Assim, distinguiram-se dois subtipos moleculares do PTCL, NOS – um com alterações relacionadas com o fenótipo TFH e outro com alterações nos genes supressores tumorais (*TP53* e *CDKN2A*). (27) Consequentemente, surgem 3 grupos distintos – 1) alterações relacionadas com TFH (*TET2*, *RHOA* Gly17Val e *IDH2*); 2) alterações *TP53/CDKN2A*; 3) ausência das alterações anteriores. No grupo 3, foram detetadas mutações e deleções no *ATM* – que regula a via supressora tumoral do *ARF-TP53* -, o que pode representar um mecanismo oncogénico em comum com o grupo 2, por inativação da supressão tumoral. (27)

A divisão em 3 subgrupos - segundo a expressão aumentada de *GATA3*, *TBX21* e genes citotóxicos - sugerida anteriormente (Iqbal *et al.*) foi considerada, mas não foi evidente neste estudo. O grupo 2 apresentou um maior conteúdo tumoral do que o grupo 1 e, consequentemente, uma pior sobrevivência e prognóstico. Estes achados sugerem um mecanismo molecular patogénico nos casos com mutações *TP53/CDKN2A*. (27)

TP63

A p63 pertence à família de fatores de transcrição que também inclui a p53 e a p73. Todos os membros têm três domínios em comum – domínio de transativação (TA), domínio de ligação ao DNA (DBD) e domínio de oligomerização (OD). A p63 e a p73 têm ainda um domínio adicional de interação com proteínas no C-terminal – SAM. Em situações fisiológicas, atuam como supressores tumorais, pela indução da apoptose e paragem do ciclo celular por vias semelhantes. (42)

Vasmatzis *et al.* identificaram rearranjos do gene *TP63* em 5,8% de casos de PTCL, incluindo 9,4% de PTCL, NOS em estudo, associados a uma taxa de sobrevivência inferior, sugerindo o envolvimento da disrupção do fator de supressão tumoral p53 nos PTCL. (43)

Estas alterações codificam proteínas de fusão que contêm uma p63 N-truncada ($\Delta Np63$) semelhante à isoforma nativa $\Delta Np63$, que atua como inibidora da via de sinalização p53, e não só promove o crescimento celular como também protege as células da apoptose. (42)

Outras mutações

IDH2

A *IDH2* é uma enzima NADP⁺-dependente que catalisa a interconversão do isocitrato e 2-oxoglutarato.

Mutações nos genes *IDH2* em resíduos ativos de arginina alteram a sua função enzimática, resultando na conversão do 2-oxoglutarato no metabolito raro D-2-hidroxioglutarato (D-2-HG), que se acumula em níveis altos nas células e tecidos. Assim, esta mutação resulta, não só num aumento dos níveis do D-2-HG como também da 5-mC, por diminuição do 2-oxoglutarato, necessário à conversão de 5-mC em 5hmC pela *TET2*. Figueroa *et al.* constataram ainda que o D-2-HG interfere com a ligação da *TET2* ao Fe²⁺ e com a estabilização da reação, sendo capaz de inibir a hidroxilação da 5mC e subsequente metilação do DNA. (44) (Figura 2)

O D-2-HG atua como um oncometabolito responsável pela progressão tumoral ao interferir com enzimas dependentes do 2-oxoglutarato que afetam a sinalização de hipoxia (proliferativas hidroxilases), metilação de histonas e metilação do DNA (*TET2*). (45) (Figura 2)

Watatani *et al.* identificaram mutações do *IDH2*, principalmente substituições no R172, em 8% de casos de PTCL, NOS. (27)

Lemmonier *et al.* sugeriram que as mutações *IDH2* e *TET2* poderão estar ainda envolvidas na desregulação do controlo da estrutura da cromatina. (24)

RHOA

A proteína *RHOA* pertence à família Rho de GTPases, um grupo de proteínas *RAS-like*, diferindo destas devido a um domínio de ligação específico. Assim como a *RAS* e outras GTPases, a *RHOA* alterna entre estado inativo – ligação com GDP – e estado ativo – ligação

com GTP. Este ciclo é altamente regulado por três tipos de proteínas: 1) fator de troca de guanina (GEFs), que catalisa a perda de GDP e captação de GTP; 2) proteína ativadora da GTPase (GAPs), que inibem a atividade da RHOA; 3) inibidores da dissociação GDP (GDIs) que inibem a dissociação de GDP da RHOA. (46) Uma vez ativadas, as RHO GTPases ligam-se a diferentes moléculas efetoras e despoletam uma cascata de sinalização, levando a determinadas respostas celulares. Estas proteínas estão envolvidas na organização da actina e microtúbulos do citoesqueleto, divisão celular, motilidade, adesão celular, fagocitose e regulação da transcrição. Além destes processos fisiológicos, contribuem ainda para processos patológicos, como migração, invasão e metastização de células tumorais, inflamação e processo cicatricial. (47)

A RHOA pode ainda ser ativada por ligandos extracelulares (como o ácido lisofosfatídico), o que resulta na organização de fibras de stress e formação local de complexos de adesão. (48)

Palomero *et al.* identificaram a mutação no gene *RHOA* Gly17Val em 67% de casos de AITL e em 18% de PTCL, NOS. Estudou os efeitos desta alteração em fibroblastos e demonstrou que, na sua presença, as células apresentavam uma morfologia alongada e protusões celulares. Simultaneamente, verificou-se uma diminuição de fibras de stress de F-actina, concluindo-se que a mutação Gly17Val desempenha um papel inibidor na cascata de sinalização da RHOA. Testou ainda a capacidade da RHOA Gly17Val, em células T *Jurkat*, se ligar à *rhothekin*, uma proteína efetora que reconhece o estado ativo da RHOA (RHOA-GTP) e verificou que não há ligação, sugerindo que a RHOA mutada está bloqueada na configuração inativa. Finalmente, concluiu ainda que a RHOA Gly17Val tem grande afinidade para a sequestração do ARHGEF1, um fator GEF altamente expresso nas células T, sendo resistente à sua atividade. (49)

Watatani *et al.* constataram que em todos os casos de PTCL, NOS com mutação *RHOA* Gly17Val havia pelo menos um marcador positivo TFH. Por outro lado, nenhuma das outras mutações *RHOA* estava presente num fenótipo TFH, sugerindo que a mutação Gly17Val poderá ser patognomónica dos PTCL, NOS TFH. (27)

Além da proeminente importância de mutações que afetam a metilação e a hidroximetilação do DNA – *TET2*, *DNMT3*, *IDH2* e *TET3* (23, 28, 45) -, a sua resposta deficiente ao dano (*ATM*) e fuga ao sistema de vigilância imunológica pelas células T e NK (*B2M* e *CD58*), estão também envolvidos na patogénese do PTCL. (49)

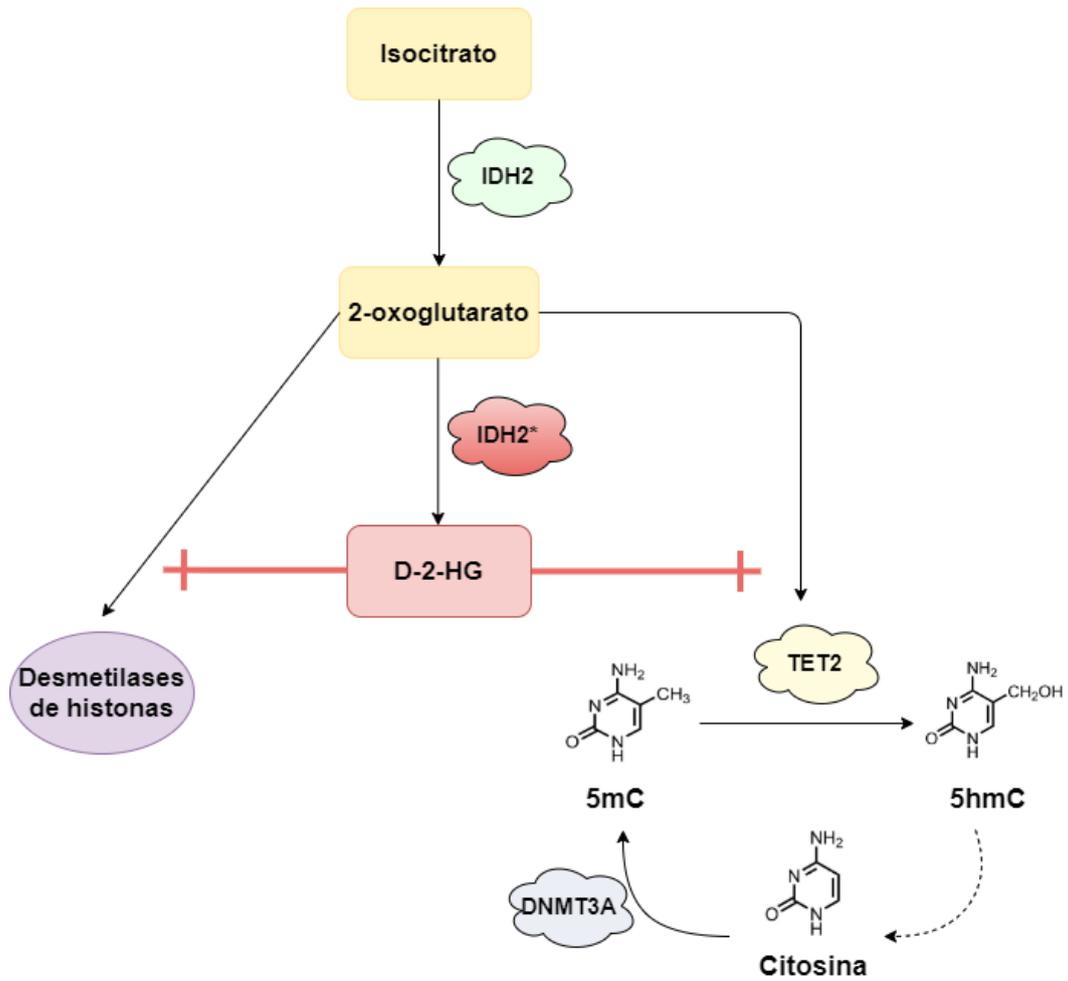


Figura 2 - Inibição da atividade desmetilase da TET2 e das histonas desmetilases pela mutação IDH2. IDH2* - mutação no gene IDH2; D-2-HG – D-2-hidroxoglutarato; 5mC – 5-metilcitosina; 5hmC 5-hidroximetilcitosina (Adaptado de Nakajima *et al.* 2014 (51))

Fenótipo células T *helper* foliculares no PTCL, NOS

Múltiplos estudos genéticos identificaram mutações recorrentes presentes numa grande proporção de casos de AITL, como nos genes *TET2*, *RHOA*, *IDH2*, *DNMT3A* e *CD28*, e fusões de genes como *ITK-SYK* ou *CTLA4-CD28*. Muitas destas alterações são também observadas em casos de PTCL,NOS com um fenótipo T *helper* folicular (TFH). Para tal designação, as células tumorais devem expressar pelo menos 2 marcadores de células T *helper* foliculares, tais como CD279/PD1, CD10, BCL6, CXCL13, ICOS, SAP e CCR5. (1)

Este fenótipo levou à introdução de uma nova entidade na classificação das neoplasias linfoides da OMS em 2016 (1) - PTCL ganglionar com fenótipo TFH -, que inclui o linfoma de células T folicular (FTCL), o AITL e outros PTCL ganglionares com fenótipo TFH.

Apesar das células neoplásicas partilharem um fenótipo TFH e várias alterações genéticas, mantêm-se grandes diferenças clínicas e patológicas, razão pela qual são consideradas entidades distintas. (1)

Linfoma de células T angioimunoblástico

O AITL é uma doença rara que corresponde apenas a 1-2% dos LNH e a 15-20% dos PTCLs, sendo o segundo subtipo mais comum de PTCL. A incidência é superior na Europa (28,7%), seguida da Ásia (17,9%) e da América do Norte (16%). (2)

A idade mediana de apresentação clínica é aos 65 anos, predominantemente no sexo masculino (56%). Geralmente apresenta-se com estágio avançado (III-IV), com linfadenopatias generalizadas em 75% dos casos e envolvimento medular em 29%, acompanhado por hepatoesplenomegalia em 33% dos casos e envolvimento de pelo menos 2 localizações extraganglionares em mais de 20% dos doentes, frequentemente a pele. (2) Associa-se a fenómenos autoimunes como a presença de complexos imunes circulantes, aglutininas a frio, anemia hemolítica, fator reumatoide e anticorpos anti músculo liso. A hipergamaglobulinemia está presente em aproximadamente 50% dos doentes, tipicamente policlonal. (52) A taxa de sobrevivência global aos 5 anos é de 32%, associando-se a mau prognóstico. (2)

Em fases precoces da doença, observa-se regressão folicular, sugerindo que a doença se desenvolve em associação com o centro germinativo, estendendo-se a regiões extra foliculares à medida que progride. (53)

O AITL representa de forma clara a interação e a interdependência que existe entre a célula de origem de um tumor e o microambiente tumoral. Este linfoma está associado à ativação da via NF- κ B (53, 54) e desenvolve-se a partir da expansão clonal de células T *helper* foliculares (TFH), que fisiologicamente são responsáveis pela regulação de células B e de células dendríticas foliculares no centro germinativo. As citocinas associadas às células TFH, como CXCL13 e a IL-21, e os recetores de superfície, como CXCR5 e o ICOS, são orquestrados pela BCL6. Assim, este linfoma caracteriza-se pela expansão de células B e células dendríticas foliculares do centro germinativo. (16)

As células tumorais acompanham-se de pequenos linfócitos reativos, eosinófilos, plasmócitos e uma grande quantidade de células dendríticas foliculares. Estão frequentemente presentes grandes células imunoblásticas B CD20+, geralmente positivas para EBV. O microambiente tumoral é o resultado da sobre-expressão de genes associados a células B, plasmócitos, células dendríticas foliculares, moléculas da matriz extracelular (laminina, colagénio, fibronectina), enzimas e fatores envolvidos na síntese e reparação da matriz extracelular (fator de transformação do crescimento β , fator de crescimento de fibroblastos, metaloproteinases

da matriz), moléculas de adesão celular (caderinas, integrinas), angiogénese (VEGF-A) e coagulação. (53)

As células tumorais expressam frequentemente CD3, CD4, CD10, PD1 e por vezes BCL6, estando o CD5 e o CD7 geralmente ausentes. Com recurso à imunohistoquímica, foi demonstrado que os elementos tumorais expressam, quase invariavelmente, CXCL13 (55), uma citocina característica das células TFH, normalmente presente nos centros germinativos com uma função importante para os linfócitos B foliculares.

As mutações mais relevantes no AITL ocorrem nos genes *TET2*, *IDH2*, *DNMT3A* e *RHOA*, desempenhando um papel importante no desenvolvimento tumoral. (56) (Figura 4)

TET2

Mutações neste gene são as mais prevalentes no AITL – 50 a 75% dos casos – e, geralmente, estão associadas a doença em estágio avançado, IPI elevado, trombocitopenia, aumento da LDH e menor sobrevivência. (24) Esta mutação promove a perda de função da enzima TET2. (23)

Foram analisados ratinhos com disfunção na TET2 e, de um modo geral, os modelos desenvolveram um fenótipo de leucemia mielomonocítica crónica (23) e linfoma de células T periférico com fenótipo TFH. (57)

Muto *et al.* mostraram que ratinhos com perda de função no *TET2* exibiam produção elevada de células TFH no baço, comparativamente com casos-controlo. Estes ratinhos desenvolveram um linfoma de células T com fenótipo TFH, após um período de latência de cerca de 67 semanas. Este estudo evidenciou ainda que a BCL6 está sobre-expressa pela perda de função da TET2 através da hipermetilação de uma região intrónica silenciadora na BCL6. Posteriormente ao desenvolvimento do linfoma, as células T CD4+ esplénicas mostraram viés para diferenciação em células TFH. (57) Esta mutação foi identificada tanto em células PD1+ como CD20+. (58)

As mutações nos genes *TET2* e *DNMT3A* representam um evento precoce no desenvolvimento do linfoma. (28) (Figura 4) Estas alterações foram encontradas em células hematopoiéticas CD34+ não tumorais de diversos casos de PTCL e em indivíduos idosos saudáveis, corroborando a hipótese de que ocorrem numa fase inicial da diferenciação hematopoiética. (59)

RHOA

Mutações *RHOA* que codificam a substituição Gly17Val têm sido descritas em aproximadamente 70% dos AITL, muitas vezes ocorrendo em simultâneo com *TET2* (59, 60), *IDH2* (59) e também frequentemente com mutações *DNMT3A*. (60) Todos os casos com mutação *IDH2* e *TET2* em simultâneo apresentaram uma mutação *RHOA*, num estudo em 90 amostras de PTCL. (59)

Nguyen *et al.* mostraram que as mutações *RHOA* estão presentes em células PD1+ numa população de células tumorais TFH, e ausentes em células B CD20+ (58), sugerindo que a mutação surge após a diferenciação em célula T ou B. (61) Adicionalmente, recorrendo a citometria de fluxo, encontraram, num caso de AITL, a mutação *RHOA* Gly17Val em células PD1+CD4+ selecionadas de células mononucleares da medula óssea. Este evento suporta a hipótese de que a mutação *RHOA* é específica para células TFH. (58)

Este gene, em condições normais, é ativado numa fase posterior à sinalização do TCR em linfócitos T maduros, mas, quando mutado, há uma alteração na função GTP-ase que vai também inibir a proteína *wild-type* (WT). (49) Esta perda de função deve-se à incapacidade de se ligar a nucleótidos (49, 60), adquirindo, no entanto, capacidade de ligação à proteína VAV1 (62), que geralmente participa na via de sinalização do TCR como uma GEF e desempenha ainda funções GEF-independentes.

A atividade da VAV1 é regulada pela fosforilação de tirosina (62), estando a FYN e a LCK em estudo como possíveis tirosinas quinases responsáveis por esta regulação. (61) Em células *Jurkat*, a *RHOA* Gly17Val intensifica a sinalização do TCR pelo aumento da fosforilação da VAV1 na Tyr174. (62) É provável que, *in vivo*, resulte num aumento da sinalização do TCR nas células T naïve CD4+ que expressam a mutação Gly17Val, o que poderá contribuir para uma diferenciação preferencial em TFH, em detrimento de linhagens não TFH, aquando da interação com células dendríticas. (63)

Fujisawa *et al.* identificaram uma nova translocação, *VAV1-STAP2*, presente em 8,2% dos casos AITL *RHOA* Gly17Val-negativos. (62) Nestes verificou-se o aumento da fosforilação Tyr174 e ativação da sinalização do TCR independente da estimulação antigénica.

Estudos em ratinhos mostram que a *RHOA* Gly17Val, por si só, induz a diferenciação celular em TFH no baço. (64) Modelos com a mutação produzem anticorpos anti ds-DNA e apresentam fenótipos compatíveis com doenças auto-imunes, como rash cutâneo e deposição renal de imunocomplexos. (65) Esta alteração aumenta ainda a proliferação de células T CD4+ e reduz a diferenciação em células Th1. (64)

A proteína RHOA regula negativamente o mTORc1, que, por sua vez, é importante na ativação das células T, afetando a diferenciação e função das células TFH. (65) Assim, seria expectável que a mutação *RHOA* Gly17Val tivesse um efeito negativo na função da RHOA, promovendo a sinalização mTORc1. Foi observado que a via de sinalização PI3K-AKT-mTOR apresenta atividade aumentada nas células T naíve CD4+ portadoras da mutação Gly17Val. (64, 65)

ICOS

A ICOS é uma molécula co-estimuladora e um recetor de migração para as células TFH, sendo a sua função sinalizadora essencial tanto nas fases iniciais da especialização das células TFH como na manutenção do fenótipo TFH. (66)

In vitro, na presença da mutação *RHOA* Gly17Val, a expressão da ICOS é induzida pela estimulação de células naíve CD4+ com anticorpos anti CD3 e células apresentadoras de antígenos (APCs) sujeitas a radiação. (64) Em resposta à co-estimulação TCR-ICOS, as células T CD4+ mutadas exibiram um aumento da sinalização PI3K-mTOR e MPAK. A ativação destas vias levou a um aumento da proliferação e dos níveis de secreção de citocinas inflamatórias, corroborando o papel da mutação *RHOA* Gly17Val no aumento da expressão do ICOS e sinalização nas células T CD4+. (64)

Expressão *RHOA* Gly17Val em simultâneo com a disfunção *TET2*

A disfunção do *TET2* ou a expressão *RHOA* Gly17Val induzem, independentemente, a diferenciação em TFH. Estudos têm analisado o fenótipo de ratinhos que apresentam a combinação de disfunção *TET2* e expressão da mutação *RHOA* Gly17Val, (64, 65, 67) verificando-se um aumento da via de sinalização mTORc1 em células TFH com mutação simultânea *RHOA* e *TET2*, comparando com células TFH *TET2* -/- e WT. (65) Curiosamente, a via de sinalização IL-2-STAT5 apresenta um aumento de função em células TFH *RHOA* Gly17Val, células T naíve CD4+ *RHOA* Gly17Val e em células TFH *TET2* -/-. Estes resultados sugerem que o aumento de função desta via poderá ser um indicador não específico da ativação celular e que pode resultar tanto da *RHOA* Gly17Val como da perda de função da *TET2*. (65)

Nguyen *et al.* constataram que ratinhos *TET2* *-/-* *RHOA* Gly17Val desenvolveram linfomas de células T (Figura 3) com uma taxa de sobrevivência de 48 semanas, em média, contrastando com ratinhos WT e *RHOA* Gly17Val que se mantiveram saudáveis durante o mesmo período. Nos ratinhos *TET2* *-/-* *RHOA* Gly17Val a arquitetura do baço e gânglios linfáticos estava completamente alterada por invasão linfocítica de tamanho médio e com citoplasma claro. As células neoplásicas ficaram rodeadas por linfócitos reativos, eosinófilos, histiócitos e plasmócitos e o baço destes modelos continha células CD4+ numa maior proporção do que os WT. Os níveis plasmáticos de IL-2, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF e IFN- γ estavam também significativamente elevados. (67)

Tanto as mutações *TET2* e *RHOA* Gly17Val têm a capacidade de induzir a diferenciação de células T naïve CD4+ em células TFH. Neste contexto, vias de sinalização que resultam na hiperplasia do centro germinativo são necessárias e suficientes para a instalação do AITL. As mutações *TET2* provocam alterações a nível da transcrição de células T e B, que podem ativar a sinalização envolvida na hiperplasia do centro germinativo. (61)

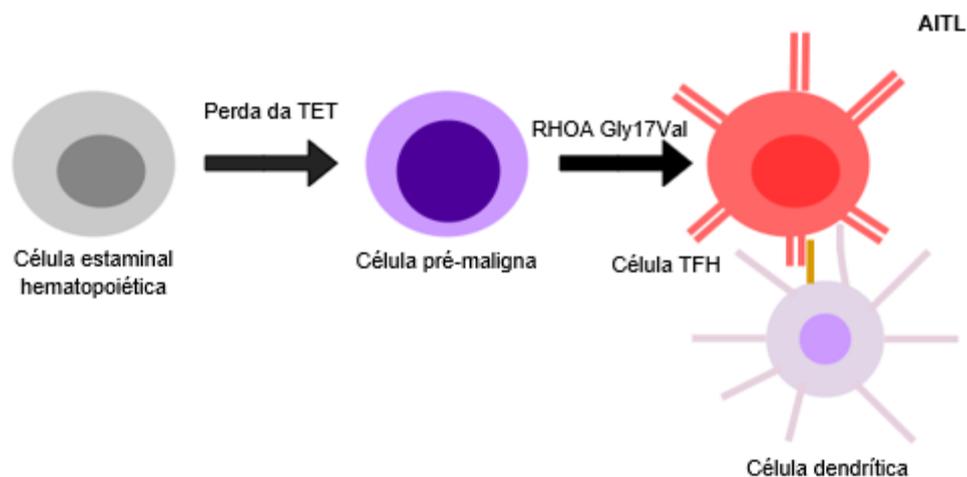


Figura 3 - Representação esquemática do modelo de transformação maligna que resulta no AITL. TFH – fenótipo T helper folicular; AITL – linfoma de células T angioimunoblástico (Adaptado de Cortés *et al.* 2020 (6))

IDH2

A mutação R172 do *IDH2* é característica do AITL e tende a ocorrer em simultâneo com mutações *TET2* (45), ao contrário do que acontece em neoplasias mieloides onde são mutuamente exclusivas. (58)

Cairns *et al.* identificaram no gene *IDH2* a mutação *missense* R172 em aproximadamente 20% de casos. (45)

Esta mutação define um subgrupo dentro do AITL com uma expressão génica distinta. (59) Amostras com expressão da *IDH2* R172 apresentam um aumento do VEGF (17), que poderá estar associado ao aumento da vascularização característico do AITL. (Figura 4)

O AITL é caracterizado por ganhos no cromossoma 5 em 43% dos casos e no cromossoma 21 em 23%. (17) O ganho no cromossoma 5 é significativo porque outras neoplasias hematológicas apresentam perdas nesse cromossoma. (68) Estas alterações estão associadas à *IDH2* R172 e ao aumento de expressão da IL-4, IL-13 e MAPK9, localizados no cromossoma 5, afetando a regulação do ciclo celular e a diferenciação das células T. (17) Casos de AITL sem ganho no cromossoma 5 apresentam aumento de expressão das vias NF-κB e PI3K-AKT, semelhante ao padrão de expressão presente em amostras *IDH2* WT. (17)

Os casos com mutação simultânea *IDH2* e *TET2* apresentam um fenótipo TFH mais evidente, com aumento da expressão dos genes associados às células TFH (*IL21*, *ICOS*) e diminuição da expressão de genes relacionados com fenótipo Th1, Th2 e Th17. (59) As células das amostras com mutação *IDH2/TET2* apresentam aumento significativo dos níveis de H3K27me3 e hipermetilação de regiões promotoras de todo o genoma. (45, 60, 69) Tal sugere que as desmetilases das histonas poderão ser importantes alvos do 2HG gerado pela *IDH2* R172. (59) (Figura 2)

A *IDH2* R172 associa-se a hipermetilação de genes envolvidos na sinalização do TCR e na diferenciação das células T, e ainda a alteração de mecanismos de desmetilação do DNA e histonas, levando a uma regulação anormal da transcrição génica. (59)

Nguyen *et al.* examinaram a distribuição da mutação *IDH2* em células PD1+ e CD20+, assumindo que as primeiras estão presentes na população tumoral. Identificaram a mutação nas células PD1+, estando ausente no segundo grupo, sugerindo que esta alteração é específica de células tumorais no microambiente tumoral do AITL. (58) Os anticorpos específicos das células *IDH2* R172 reagem especificamente com células ICOS+, pensando-

se que esta alteração é adquirida imediatamente antes ou depois da diferenciação em célula TFH. (70)

Os casos com mutação *IDH2* poderão ser considerados um subgrupo dos casos com mutação *RHOA Gly17Val*, (60) o que sugere que a aquisição da mutação *IDH2* ocorre após a aquisição da mutação *RHOA*. (58) (Figura 4)

A presença da mutação não foi associada a pior prognóstico. (59) Porém, casos de AITL com mutação simultânea *IDH2/TET2* têm um maior perfil de modificação de histonas em comparação com casos que apenas apresentam mutação *TET2*. (59)

DNMT3A

Mutações *DNMT3A* no AITL ocorrem com uma frequência de 20-38,5% (49, 59, 60, 69), semelhante àquela observada nos casos de PTCL,NOS com fenótipo TFH (59, 60), e parecem ser adquiridas numa fase precoce da diferenciação linfóide. (28) Mutações *DNMT3A* foram encontradas tanto em células PD1+ como em células CD20+, ou seja, estão presentes tanto em células neoplásicas como em células saudáveis, no microambiente tumoral. (58)

As mutações neste gene afetam, frequentemente, a Arg882 (R882). (28)

Como referido anteriormente, a metilação do DNA em dinucleótidos CpG desempenha um papel central na regulação da expressão génica. A metilação ocorre ao nível das citosinas (mC) pela DNMT3A e 3B, e é mantida pela DNMT1. A família TET catalisa a oxidação da mC em hidroximetilcitosina (hmC), substrato que a DNMT1 não mantém eficazmente, resultando na perda da metilação à medida que as células se dividem. (71)

A atividade destas duas proteínas parece ter resultados opostos – adição e remoção da metilação. Curiosamente, mutações *DNMT3A* em linfomas TFH tendem a ocorrer em simultâneo com mutações *TET2* (49, 60, 69), sugerindo uma cooperação entre as duas enzimas. (Figura 4)

Ratinhos com mutação *DNMT3A TET2* *-/-* apresentam efeitos sinérgicos na expressão de fatores de transcrição responsáveis pela especificação de linhagem (71) e resultam na desorganização do padrão de metilação. (72) A hipermetilação associada à *DNMT3A R882H* resulta na diminuição da expressão do *loci* do supressor tumoral e a hipometilação na expressão elevada do oncogene (72). Scourzic *et al.* demonstraram que a hipometilação e sobre-expressão do *NOTCH1* e *DTX1* resultaram na ativação da via de sinalização Notch, oncogénica nas neoplasias de células T. (72)

Atualmente, não há evidência de que mutações neste gene tenham repercussões na especialização e diferenciação das células TFH. (61) É importante determinar se as alterações no *DNMT3A* potenciam, de facto, o efeito da perda de função TET2 na promoção da diferenciação em célula TFH.

Ativação da via de sinalização do TCR

Mutações em genes associados à sinalização do TCR, como *PLCG1*, *CD28*, *VAV1* e *FYN*, estão presentes em aproximadamente 50% dos casos de AITL. (17, 49, 73) Alguns destes, nomeadamente o *CD28*, *VAV1* e *ITK*, foram associados a alterações estruturais, como fusões genéticas, em amostras de AITL. (36, 60, 74) No entanto, a maioria destas alterações, com exceção das mutações e fusões do *CD28* (17, 74), ocorre com grande frequência em PTCL,NOS (27) ou ATLL (75), não sendo específica do AITL ou de linfomas TFH.

Dada a importância da sinalização do TCR na especialização TFH de células T naíve CD4+ (63), estas mutações poderão contribuir para o desenvolvimento tumoral através de influência na proliferação, resistência à apoptose, migração ou produção de citocinas. (61)

CD28

O CD28 pertence a uma via co-estimulatória necessária à ativação das células T e a disfunção desta via de sinalização pode resultar na supressão da resposta imune. (76)

Foi reportada uma mutação *missense* no gene *CD28* – T195P – em cerca de 10% das amostras de AITL, que parece ser específica deste subtipo de linfoma T. A T195P encontra-se no domínio citoplasmático do CD28, indicando potenciais alterações na sinalização do TCR. (17, 77, 78)

O CD28 liga-se a diversas proteínas sinalizadoras, como a PI3K, GRB2 e GRAP2. O PI3K está envolvido em inúmeras cascatas sinalizadoras através da fosforilação do inositol. A GRB2 e a GRAP2 são duas proteínas associadas à ativação do promotor da IL-2 CD28-mediada e à ativação da NF-κB. (78)

A presença da mutação associou-se a uma diminuição da ligação do CD28 à PI3K e a um aumento da ligação à GRB2 e à GRAP2, sugerindo que esta alteração tem impacto na sinalização mediada pelo CD28. (78) Observou-se ainda um aumento da proliferação de

células CD28 T195P, sugerindo que estas se encontram constitutivamente ativadas na estimulação e ativação das células T. (78)

As células mutadas apresentaram um aumento da fosforilação da AKT, mTOR e da ERK, proteínas envolvidas na sinalização intracelular necessária à co-estimulação de células T mediada pelo CD28. (78) Lee *et al.* associaram ainda a presença desta alteração a um aumento da produção de IL-2, essencial para a proliferação de células T, e a uma elevada atividade da sinalização mediada pela NF-κB. (78)

Clinicamente, a presença da mutação não foi associada a pior prognóstico. (78)

CTLA4-CD28

O CTLA4, tal como o CD28, é um recetor co-regulador, mas com função oposta na sinalização de células T. Ambos desempenham a função de manter o equilíbrio da sinalização, e, portanto, um nível adequado de ativação do sistema imune. (79)

A fusão destes dois genes resulta na expressão do domínio extracelular do CTLA4 e da região citoplasmática do CD28. (74) Yoo *et al.* observaram, em células mutadas, um aumento da proliferação, da produção de IL-2, da fosforilação da AKT e ERK. (74) Estes dados sugerem que a fusão *CTLA4-CD28* leva à ativação constitutiva da célula T por conversão de sinais inibitórios em sinalização estimuladora.

Imunoblastos B EBV+ e progressão para neoplasia de células B

No AITL é frequente a existência de imunoblastos B que, geralmente, são EBV+. Em cerca de 10% dos AITL há evolução para linfoma de células B. (80-82) Em proliferações de células B EBV+, o vírus contribui para a transformação da célula B. (80-82) Posteriormente, a via de sinalização das células TFH tumorais poderá promover a expansão das células B. (83) No entanto, o mecanismo por detrás da co-ocorrência de linfomas de células T e B em doentes com AITL é desconhecido.

Dada a ocorrência de mutações *TET2* em células hematopoiéticas em doentes AITL (23), Schwartz *et al.* colocaram a possibilidade de estarem também presentes em células B e, portanto, desempenharem um papel importante no desenvolvimento de linfoma B nestes doentes. (83) Os autores registaram que em cerca de 2/3 dos casos de AITL, 7-66% das

células B expressavam a mutação *TET2*, sugerindo que células hematopoiéticas precursoras com mutação *TET2* resultam, não só na expansão de células T (23), como também na produção de células B mutadas. (83)

Ratinhos com células B com mutação *TET2* apresentam hiperplasia do CG, possivelmente devido à dificuldade das células B em abandonar a zona clara do CG, e, conseqüentemente, em iniciar a expressão de genes que permitam a sua saída. (84) Estas células são retidas no CG, aumentando a probabilidade de interação com células TFH. No contexto de desenvolvimento do AITL, uma célula TFH ou T naïve CD4+, que se virá a especializar em TFH devido à mutação *TET2*, adquire a *RHOA* Gly17Val e prolifera. A partir daqui, eventualmente, irá interagir com a célula B mutada. (61) Estes modelos apresentaram uma diminuição da diferenciação de células B em plasmócitos pela diminuída expressão do gene que codifica o fator de transcrição Blimp-1. (84) No entanto, a gamapatia policlonal está fortemente associada ao AITL, sugerindo que esta diferenciação deficiente em células B mutadas poderá ser revertida no contexto do linfoma T. (61)

Mutações *NOTCH1* foram identificadas em células CD19+ em amostras de AITL. (58) Esta alteração poderá intensificar os efeitos da mutação *TET2*. A interação entre células B com mutações *TET2* e *NOTCH1* e células TFH com mutações *TET2* e *RHOA* poderá mediar uma sinalização bidirecional necessária ao desenvolvimento do AITL. (61) (Figura 4)

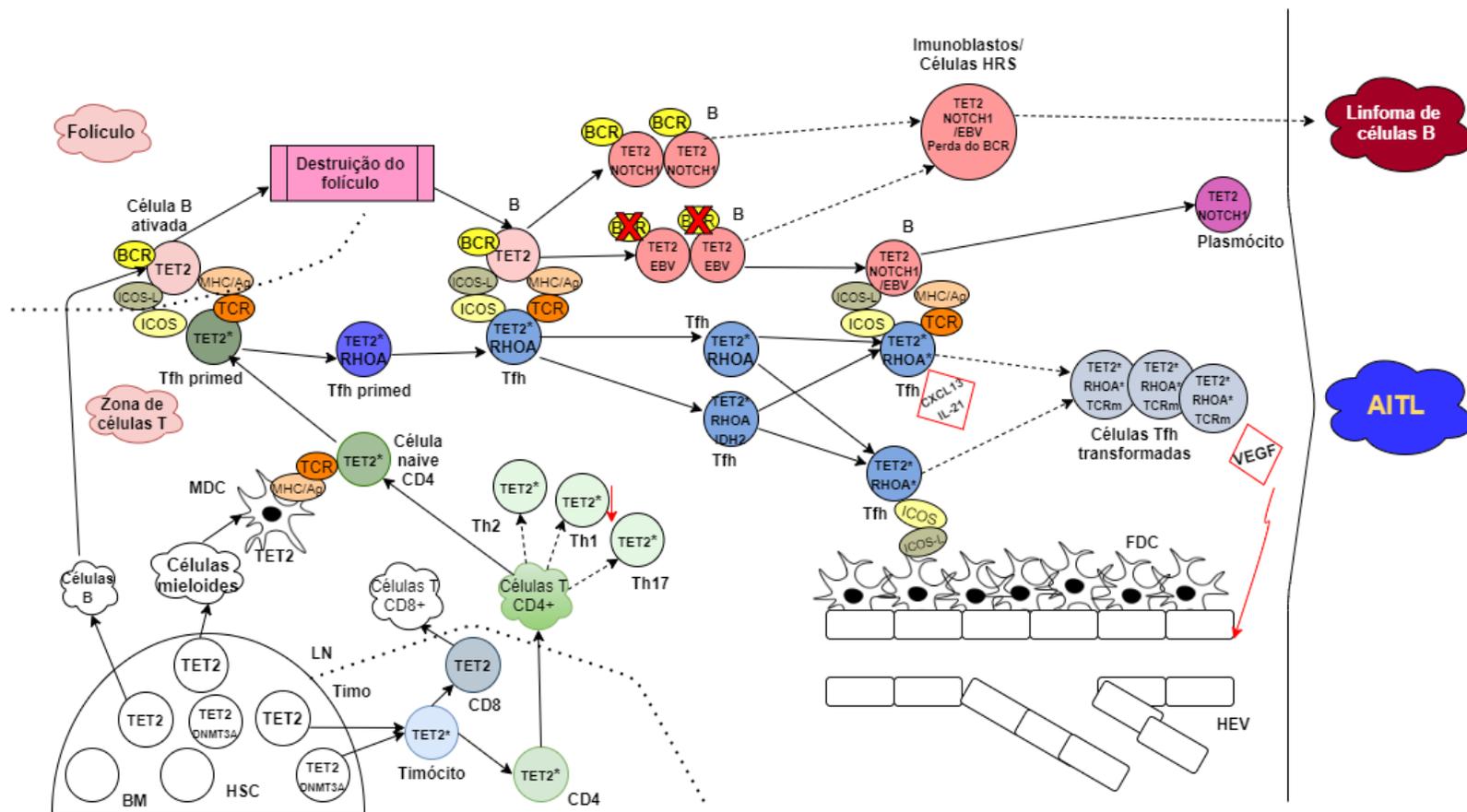


Figura 4 – Modelo esquemático do desenvolvimento do AITL. BM – medula óssea; LN – gânglio linfático; HSC – células estaminais hematopoiéticas; Th – linfócito T helper; MDC – células dendríticas mieloides; Tfh primed – célula T CD4+ Tfh-primed; Tfh – célula T helper folicular; FDC – células foliculares dendríticas; HEV – vénulas do endotélio alto; ICOS-L – ligando da ICOS; MHC/Ag – antígeno apresentado no complexo major de histocompatibilidade; TCR – recetor da célula T; BCR – recetor da célula B; VEGF – fator de crescimento endotelial vascular; IL-21 – interleucina 21; CXCL13 - Células HRS – células de Hodgkin e Reed Sternberg; B – linfócito B; TCRm – mutações no TCR; TET* - mutação *TET2* ou *TET2* e *DNMT3A*; RHOA* - mutação *RHOA* ou *RHOA* e *IDH2* (Adaptado de Chiba *et al.* 2020 (61))

Linfoma anaplásico de células grandes

O ALCL compreende um grupo de linfomas de células T com características em comum, que incluem a expressão do marcador de ativação linfocitário CD30 (TNFRSF8), membro da família dos recetores do fator de necrose tumoral, e a presença de células *hallmark*. (85)

O ALCL corresponde aproximadamente a 10-15% dos LNH pediátricos/adolescência e a apenas 2% dos LNH adultos. (86) Pode apresentar-se como linfoma *de novo* ou ser secundário a uma doença linfoproliferativa prévia, como papulose linfomatoide, micose fungoide ou linfoma de Hodgkin, ou surgir no contexto de infeção por VIH. (87)

Aproximadamente 60-70% dos doentes apresentam-se com doença em estágio avançado (III/IV) no momento do diagnóstico, associada a linfadenopatias periféricas e abdominais. O envolvimento extraganglionar está presente em cerca de 33% dos casos, afetando mais comumente a pele, o osso, o pulmão, o fígado e o tecido conjuntivo. O envolvimento da medula óssea, SNC e trato gastro intestinal é raro. (88) Ainda que seja pouco frequente, doentes com envolvimento do sangue periférico têm um pior prognóstico, independentemente da expressão ou não da ALK. (89)

As células *hallmark*, que estão presentes em todas as variantes histológicas do ALCL, tomam esta designação por serem tão específicas que o seu reconhecimento permite o diagnóstico da doença. Estas células apresentam um núcleo aumentado e excêntrico em formato de ferradura com citoplasma abundante basofílico. (89)

Inicialmente, este grupo de linfomas foi identificado devido um padrão de invasão sinusoidal anormal e à reação de anticorpos anti Ki-1. (90) Este antigénio foi associado ao CD30 e identificado como um marcador de ativação, que podia estar expresso em células T, células B e em histiócitos. (85) Posteriormente, Morris *et al.* constataram o envolvimento dos genes *ALK* e *NPM1*, 2p23 e 5q35, respetivamente, no mecanismo fisiopatológico do ALCL. (90)

A expressão do CD30 não é específica do ALCL, estando também presente em células *Reed Sternberg* do linfoma de Hodgkin e em algumas células do linfoma B difuso de células grandes (DLBCL). Cerca de 85% dos casos de ALCL são positivos para TIA1, granzima B e perforina, enquanto que a expressão de antigénio de membrana epitelial (EMA) está presente em 60-70% dos casos. (88)

O perfil imunofenotípico e morfológico do ALCL e do linfoma de Hodgkin é muito semelhante e, por vezes, a distinção é desafiante. A expressão do *PAX5*, ainda que tenha sido associada a alguns casos de ALCL (91), continua a ser um marcador imunohistoquímico no diagnóstico

diferencial entre as duas entidades, dado que é frequentemente expresso por células B de linfomas de Hodgkin e de DLBCL, mas não no ALCL. (88)

O ALCL é classificado tendo em conta a apresentação clínica – localizado ou sistémico – e a expressão da quinase de linfoma anaplásico (ALK). Os ALCL sistémicos incluem os ALCL ALK+ e os ALK-, consoante a presença ou não de rearranjos no gene ALK. As formas localizadas incluem o ALCL primário cutâneo (c-ALCL) – que pertence ao espectro de neoplasias linfoproliferativas primárias cutâneas de células T CD30+ - e uma nova entidade provisória, ALCL associado a implante mamário (BIA ALCL). (1)

ALCL ALK+

O ALCL ALK+ representa cerca de 7% dos PTCL, com maior incidência na América do Norte (16,0%), seguida da Europa (6,4%) e da Ásia (3,2%). Ocorre principalmente em crianças e adultos jovens, com predominância masculina e apresenta-se, tipicamente, com doença em estágio III/IV e sintomas sistémicos. O ALCL ALK+ tem melhor SG em relação ao ALK-, 70% e 49% aos 5 anos, respetivamente, e um prognóstico mais favorável. (2)

Todos os ALCLs ALK+, independentemente da presença da *NPM1-ALK* ou outra variante de fusões *ALK*, apresentam uma resposta mais favorável à terapêutica, quando comparado com o ALCL ALK-, atingindo taxas de resposta completa de cerca de 80% em crianças e 50-60% em adultos com quimioterapia baseada no regime CHOP. (92)

A ALK, também denominada CD246, é uma proteína que pertence à família de recetores de insulina, assim como o IGF1 e o MET, desempenhando um papel importante no desenvolvimento neuronal e oncogénese. (92) O gene foi identificado como resultado da clonagem do gene fusão *NPM1-ALK* observado em ALCLs. (90) Anteriormente, no final da década de 80, foi reportada uma associação entre a alteração citogenética t(2;5)(p23;q35) e o ALCL (93), e os genes envolvidos na translocação foram identificados em 1994 – *NPM1* no cromossoma 5q35 e o recetor tirosina quinase (RTK) *ALK* no cromossoma 2p23. (90)

A expressão do *ALK* atinge o pico no período pré-natal e sofre um rápido decréscimo após o parto. O mRNA é transcrito principalmente no cérebro e tecido nervoso intestinal, testículos, placenta e fígado fetal. (92) As proteínas PTN e MDK são ligandos da ALK, ambas com expressão elevada no sistema nervoso durante o desenvolvimento fetal, sugerindo um papel importante na regulação de respostas celulares fisiológicas, como angiogénese e

neurogênese. (92) Bowden *et al.* associaram a ALK à regulação, pelo menos parcial, da atividade reguladora da PTN e MDK na apoptose. (94) Além disso, tanto a PTN e a MDK estão envolvidas na proliferação, mecanismos antiapoptóticos e metastização de diversos tumores, e angiogênese em contexto tumoral. (92) A ALK está expressa em diversos tumores, como neuroblastomas, tumores neuroectodérmicos, glioblastomas e melanomas. (92)

À semelhança de outras RTKs, a ALK tem sido associada ao processo oncogénico devido a alterações genéticas, desde mutações pontuais, amplificação génica ou fusão com outros genes, resultando na ativação do domínio catalítico da quinase. A sua ativação induz a proliferação de fatores de crescimento, transformação celular, sinalização antiapoptótica e resistência a fármacos e à radiação gama utilizados na abordagem terapêutica. (92)

Todas as proteínas de fusão ALK envolvem completamente o segmento intracelular, incluindo o domínio catalítico da quinase e cada parceiro da ALK apresenta um domínio de oligomerização que medeia a associação entre as proteínas de fusão, resultando numa constante ativação da ALK via domínio catalítico. (88) Esta oligomerização simula a agregação e ativação mediada pelos ligandos da ALK, levando à transmissão contínua de sinais de crescimento celular. As proteínas de fusão não só se associam entre si, como também se associam às proteínas de expressão dos genes constituintes da fusão. Assim, a localização das fusões ALK nos tumores é altamente determinada pela distribuição normal destas nos tecidos. Esta ativação leva à fosforilação e ativação aberrante de diferentes substratos e cascatas de sinalização envolvidos na transformação neoplásica das células. (92)

A fusão ALK mais comum é a NPM1-ALK, associada à translocação t(2;5)(p23;q35), presente em aproximadamente 75-80% dos ALCL ALK+. (90) A *NPM1* codifica uma proteína que está envolvida no transporte de partículas pré-ribossómicas e na biogénese do ribossoma, na regulação da divisão celular, nos mecanismos de reparação de DNA, na transcrição e na estabilidade genómica. (88)

Pomari *et al.* constataram que a população pediátrica ALCL ALK+ pode ser dividida em dois subgrupos consoante os níveis de expressão da proteína NPM1-ALK. (95) Não se observaram diferenças significativas baseadas nas características clínicas entre os dois subgrupos, mas doentes com envolvimento do SNC pertenciam ao subgrupo *ALK-high* e 9/12 doentes com recidiva pertenciam também a este subgrupo, com um tempo médio até à recidiva de 5 meses, comparando com 30 meses no caso dos doentes *ALK-low*. Os casos *ALK-low* apresentaram uma elevada expressão de genes envolvidos na via de sinalização de interleucinas (especificamente IL-2, IL-15 e IL-21), comparando com o outro subgrupo que se associou a sobre-expressão de genes envolvidos no crescimento e divisão celular (*ciclina D1*, *MYC* e

E2F1). A IL-2 desempenha um papel central na maturação e função das células T CD4+, e está sub-expressa em células ALCL em resposta à atividade da NPM1-ALK. Assim, tendo em conta que os doentes *ALK-high* têm maior taxa de recidiva do que doentes *ALK-low*, estes resultados sugerem que no segundo subgrupo a NPM1-ALK não tem capacidade de estimular a produção de linfócitos deficientes incapazes de receber sinalização das interleucinas, contribuindo para um fenótipo menos agressivo. Células *ALK-high* parecem ainda adquirir uma vantagem de crescimento comparativamente às células *ALK-low*. (95)

Além do *NPM1*, têm sido descritos outros genes parceiros do *ALK*, sendo os mais comuns o *TPM3* associado à t(1;2)(q25;p23), presente em 12-18% dos casos (96), e o *ATIC* associado à inv(2)(p23;q35), presente em cerca de 2% dos casos. (97) (Figura 5) Recentemente, um estudo em 8 doentes com diagnóstico de ALCL ALK+ destacou a presença de diferentes genes parceiros, incluindo *EEF1G* (1/8), *RNF213* (1/8), *ATIC* (4/8) e *TPM3* (2/8). (98) Curiosamente, todos os casos apresentaram aumento do número de cópias do gene *ALK* alterado, o que nunca se observa nos linfomas *NPM1-ALK+*. Todos estes genes de fusão, à exceção do *EEF1G*, apresentaram baixa expressão nas células T normais e neoplásicas, em comparação com o *NPM1*. Estes resultados sugerem que as variantes *ATIC-*, *RNF213-* e *TPM3-*, necessitam de um aumento de cópias do gene *ALK* para compensar a baixa expressão e propriedades sinalizadoras do respetivo gene quimérico. (98) O facto de terem sido detetadas translocações em células T normais de indivíduos doentes, mas também em indivíduos saudáveis, sugere que estas alterações são um evento frequente e necessário, mas não suficiente para a transformação neoplásica das células. (88)

As proteínas de fusão fosforilam e ativam diretamente a STAT3, ou ativam a JAK3 que, por sua vez, contribui para a ativação da STAT3. (Figura 5) A STAT3 ativada permite o aumento de transcrição de fatores antiapoptóticos e reguladores do ciclo celular. Assim, a sobrevivência das células tumorais é mantida. (88)

ALCL ALK-

O ALCL ALK- representa cerca de 5,5% dos PTCLs, com maior incidência na Europa (9,4%), seguida da América do Norte (7,8%) e da Ásia (2,6%). Este subtipo de linfoma ocorre principalmente em adultos, com uma idade mediana ao diagnóstico de 58 anos, com predomínio no sexo masculino. Ao diagnóstico, tende a apresentar-se frequentemente em estádios avançados (III/IV) e com envolvimento extraganglionar menos frequente do que no

subtipo ALK+. (2) Apresentam pior prognóstico do que o ALCL ALK+ e o tratamento com regimes CHOP-*like* obtém taxas de resposta completa de cerca de 40%. (92)

Estudos GEP permitiram a identificação de critérios de distinção entre o ALCL ALK- e os PTCLs CD30+, sendo reconhecido como uma entidade definitiva desde a classificação da OMS de 2016. (1)

O ALCL ALK- é caracterizado pela ausência de translocações cromossômicas que envolvam o gene ALK, mas várias alterações genéticas têm sido associadas a este linfoma. Crescenzo *et al.* identificaram mutações e fusões de quinases que resultam na ativação constitutiva da via JAK/STAT3. (99) Esta é ativada através de diferentes mecanismos que parecem ser mutuamente exclusivos – mutações de ativação nos genes *JAK1* e/ou *STAT3* ou proteínas de fusão entre um fator de transcrição e uma tirosina quinase (*NF-κB-ROS1*, *NCOR-ROS1*, *NF-κB-TYK2*). Cerca de 37,5% dos ALCL ALK- apresentaram mutações *STAT3* e *JAK1*, e foi observada cooperação entre as duas proteínas mutadas quando co-expressas. (99) (Figura 5)

Foram identificados rearranjos do gene tirosina quinase *FRK* exclusivamente em ALCLs ALK- com uma frequência de 5,4%. As redes reguladoras da *FRK* e da *ALK* têm algumas proteínas em comum, incluindo a *STAT3*. Uma das proteínas de fusão, a *CAPRIN1-FRK*, promoveu a fosforilação do *STAT3*, em níveis superiores aos da *NPM1-ALK* na mesma biópsia, e o crescimento celular *in vitro* foi inibido pelo dasatinib. (100) Assim, os rearranjos *FRK* poderão representar um alvo terapêutico num subgrupo de ALCLs ALK-.

Rearranjos cromossômicos do *DUSP22/IFR4* estão presentes em 30% dos ALK-. (101) O *DUSP22* é um gene supressor tumoral que codifica uma fosfatase inibidora da sinalização do TCR e do crescimento celular. (102) Este gene pode estar associado ao *FRA7H* via t(6;7)(p25.3;q32.3), resultando na diminuição da expressão do *DUSP22* e no aumento da expressão do *MIR29A*. Pensa-se que o *MIR29A* se comporta como um gene supressor tumoral no ALCL ALK+, no qual se encontra epigeneticamente silenciado. No entanto, o significado biológico e clínico no ALK- é incerto. (88)

Na presença de rearranjos do *DUSP22*, os marcadores citotóxicos TIA-1, granzima B e perforina estão ausentes, resultando numa SG mais favorável. (101) Recentemente, um estudo de GEP em amostras com rearranjos *DUSP22* revelou que este grupo não apresenta expressão dos genes associados à via de sinalização JAK/STAT3. No entanto, apresenta marcada hipometilação do DNA, aumento de expressão de genes do antigénio do cancro do testículo (CTA) assim como do gene co-estimulatório *CD58* e HLA classe II e expressão mínima do PD-L1. Estas particularidades, que resultam num fenótipo imunogénico, poderão explicar o prognóstico favorável (taxa de SG aos 5 anos de 90%) neste subgrupo de doentes,

sugerindo um subgrupo molecular distinto de ALCL com rearranjos *DUSP22*. (103) Estas alterações no *DUSP22* não são específicas para os ALCL ALK- e podem ser identificados em aproximadamente 20% dos ALCL cutâneos e em casos esporádicos de papulose linfomatoide. (104)

Rearranjos no *TP63* estão presentes em 5-8% dos ALCL ALK-, associados à inv(3)(q26q28) gerando uma fusão *TBL1XR1-TP63* homóloga à Δ Np63, uma isoforma p63 dominante negativa com potencial oncogénico. Esta alteração associa-se a pior prognóstico e resistência ao tratamento, com taxa de SG aos 5 anos de 17%. (101)

Entre todos os casos ALCL, rearranjos *DUSP22*, *TP63* e *ALK* mostraram-se mutuamente exclusivos. Casos que não expressam nenhuma destas alterações – “triplos negativos” – apresentam SG aos 5 anos de 42%. (101)

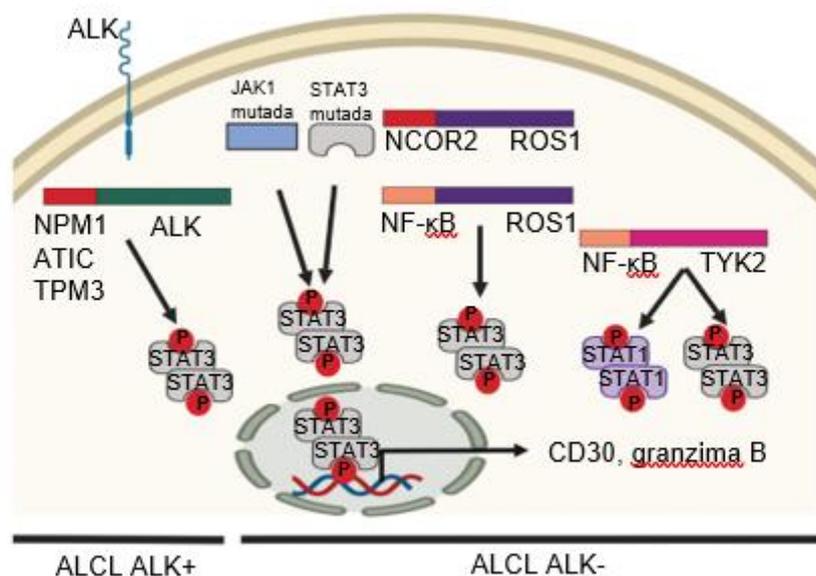


Figura 5 - Mutações e fusões de quinases recorrentes no linfoma anaplásico de células grandes. P – fosforilação (Adaptado de Cortés et al. 2020 (6))

ALCL cutâneo

É importante distinguir clinicamente o ALCL sistêmico ALK- do ALCL cutâneo (c-ALCL), dado que, ainda que sejam ambos ALK-, o c-ALCL apresenta uma melhor resposta ao tratamento associada a melhor prognóstico. (92) Os doentes com c-ALCL têm entre 70 e 80 anos ao diagnóstico, são predominantemente do sexo masculino, e apresentam lesões cutâneas nodulares eritematosas, frequentemente solitárias e associadas a ulceração. Aproximadamente 20% dos doentes experienciam a regressão espontânea da sua lesão primária, tornando-se menos provável quando as lesões persistem por mais de 3 meses. No entanto, 50% dos casos apresentam recorrência, frequentemente limitada à mesma região cutânea de manifestação da lesão primária. (105) Clinicamente, o c-ALCL tem uma evolução indolente, com um risco cumulativo de 5 anos de progressão para ALCL sistêmico de 14%, segundo o estudo da *British Columbia Cancer Agency*. (106) Neste estudo, a *disease-specific survival* (DSS) e a SG foram 86% e 75%, respetivamente, confirmando o prognóstico favorável, apesar de uma taxa de recorrência elevada. O prognóstico de doentes com doença em estágio limitado melhora significativamente se submetidos a radioterapia (RT). (106)

ALCL associado ao implante mamário

O ALCL associado ao implante mamário (BIA-ALCL) é uma entidade provisória introduzida na classificação de 2016 da OMS. (1) Foi descrito pela primeira vez em 1997 e, geralmente, apresenta-se confinado à cavidade do seroma que envolve o implante mamário e ao tecido fibroso pericapsular. (107) O intervalo médio desde a colocação do implante até ao aparecimento do linfoma é de 10 anos. O prognóstico é excelente nas situações localizadas quando excisadas. Quando há infiltração da cápsula ou formação de massas, a abordagem poderá ter de ser mais agressiva com recurso a regimes de quimioterapia. (108)

A morfologia celular e o imunofenótipo são muito semelhantes ao do ALCL ALK-. As células tumorais expressam CD30 e os marcadores citotóxicos TIA-1 e granzima B, sendo ALK-. (109)

Estudos moleculares e génicos em amostras de BIA-ALCL têm registado a ausência consistente de rearranjos do *ALK*, *DUSP22* e *TP63*, mas observaram a expressão da STAT3 ativada associada a mutações no *STAT3* e no *JAK1* em 20% e 7% dos casos, respetivamente. (110)

Di Napoli *et al.* identificaram em células de BIA-ALCL um fenótipo de célula T CD4+ de memória ativada, associado à expressão de *CD25* e *FOXP3*, e a sobre-expressão de genes envolvidos na motilidade celular, como *MET*, *CCR6*, *HGF* e *CXCL14*. (111)

Conclusão

O linfoma de células T periférico é um grupo de linfomas raros, correspondendo a 10-15% de todos os LNH e, geralmente, apresentam-se com uma evolução clínica mais agressiva e um prognóstico menos favorável do que a maioria dos LNH de células B. (2) No entanto, o tratamento *standard* dos PTCL consiste em regimes de quimioterapia CHOP ou CHOP-*like* com combinação de antraciclina, carecendo de um esquema terapêutico devidamente direcionado aos seus mecanismos moleculares. (5) Neste sentido, a análise mutacional com recurso a estudos de GEP tem sido incorporada em ensaios clínicos visando a identificação de possíveis alvos terapêuticos e biomarcadores de resposta. (4) Os estudos identificaram subgrupos moleculares distintos, com base na sua expressão génica, que apresentam igualmente diferentes prognósticos.

O PTCL, NOS corresponde a 30-50% dos PTCLs e é o subtipo mais comum. (2) Associa-se a uma evolução clínica agressiva e a refratariedade à terapêutica, traduzindo-se num prognóstico pouco favorável. (3) Foram identificados dois subgrupos moleculares com base na expressão de *GATA3* ou *TBX21* – o primeiro com taxa de SG aos 5 anos de 19% e o segundo de 38%. No segundo grupo, destacou-se ainda um subgrupo com expressão de genes citotóxicos, com prognóstico menos favorável. (11) Este linfoma associou-se a mutações envolvendo mediadores epigenéticos – alteração das histonas por metilação (*KMT2D*, *SETD2*, *KMT2A* e *KDM6A*) e acetilação (*EP300* e *CREBBP*) (20), metilação do DNA (*TET2* (23, 24) e *DNMT3A* (27, 28)) e remodelação da cromatina (*ARID1B*, *ARID2* e *SAMRCA2*) (31) -, ativação da sinalização do TCR – as fusões *ITK-SYK* (32, 35), *ITK-FER* (36) e *IKZF2-ERBB4* (36), *VAV1* (36), *TNFAIP3* (31, 39), *APC* e *CHD8* (31), *FYN*. (49, 50) e *NF1*, *TNFRSF14* e *TRAF3* (31) – e genes supressores tumorais – *TP53* e *CDKN2A* (27), *TP63* (43) e *FOXO1* e *BCORL1* (31). A expressão de *TP53/CDKN2A* e a *RHOA Gly17Val* mostraram-se mutuamente exclusivas, sendo identificados 3 subgrupos consoante a expressão de cada uma das alterações ou ausência de ambas. O grupo com expressão de mutações *TP53/CDKN2A* apresentou um prognóstico menos favorável em relação ao grupo com expressão da *RHOA Gly17Val*. (27) Identificaram-se ainda mutações na enzima *IDH2*, principalmente a R172, (27) e na GTPase *RHOA – Gly17Val* (49).

O AITL é o segundo subtipo mais comum de PTCL (15-20%), com SG aos 5 anos de 32%, associando-se a mau prognóstico. (2) Este linfoma desenvolve-se a partir da expansão clonal de células T *helper* foliculares que, fisiologicamente, são responsáveis pela regulação de células B no centro germinativo. (16) A mutação mais frequente ocorre no *TET2* (24, 57), presente também em células B de amostras AITL (83), e que poderá explicar a evolução para linfoma de células B em 10% dos doentes. (82)

A mutação no gene *RHOA* Gly17Val (60) pode ser expressa em simultâneo com a *TET2*, resultando num prognóstico menos favorável. (67) A mutação *RHOA* Gly17Val associa-se a alterações na via de sinalização do TCR, por aumento da atividade da *VAV1* (62) e da *ICOS*. (64) A *IDH2* R172 resulta no aumento do VEGF, que poderá estar associado ao aumento da vascularização característico do AITL. (17) Esta alteração, se expressa em simultâneo com a *TET2*, condiciona um fenótipo TFH mais evidente, com aumento da expressão da IL-21 e *ICOS*. No entanto, não foi associada a pior prognóstico. (59) A *DNMT3A* no AITL pode ocorrer também em simultâneo com a *TET2*, mas não há evidência de que mutações neste gene tenham repercussões na especialização e diferenciação das células TFH. (61) Mutações em genes associados à sinalização do TCR, como *CD28* (78) e *VAV1* (62), estão presentes em aproximadamente 50% dos casos de AITL, podendo contribuir para o desenvolvimento tumoral por influência na proliferação, resistência à apoptose, migração ou produção de citocinas. (61)

Dada a recorrência de mutações *TET2*, *RHOA*, *IDH2*, *DNMT3A* e *CD28* numa grande porção de AITL e em casos de PTCL, NOS com um fenótipo TFH, a OMS introduziu uma nova entidade provisória na revisão da classificação das neoplasias linfoides de 2016 – o PTCL ganglionar com fenótipo TFH. (1)

O ALCL é o 3º subtipo mais comum de PTCL e é classificado com base na apresentação clínica (localizado ou sistémico) e na expressão da *ALK*. (1) O ALCL ALK+ expressa proteínas de fusão que envolvem o *ALK*, sendo a NPM1-*ALK* a mais frequente, associada à t(2;5)(p23;q35). (90) A expressão desta proteína foi associada a um pior prognóstico na população pediátrica. (95) Têm sido descritos outros parceiros da *ALK*, como a TPM3 e a ATIC, que resultam em proteínas quiméricas com uma menor expressão e propriedades sinalizadoras. (96, 97) O ALCL ALK-, que apresenta um prognóstico menos favorável, envolve a ativação da via JAK/STAT3, (99) atribuída em alguns casos a rearranjos no *TYK2*, *ROS1* (99) ou *FRK*. (100) A presença de rearranjos *DUSP22* resulta numa SG mais favorável, ao contrário de alterações no *TP63*. (101)

O diagnóstico dos PTCLs é baseado atualmente em características clínicas, anatomopatológicas e genéticas. No entanto, tendo em conta o prognóstico adverso destas entidades e o parco sucesso terapêutico, torna-se necessária uma melhor e mais exaustiva caracterização molecular dos diversos subtipos de linfomas de células T, elucidando os seus mecanismos patogénicos, visando uma classificação mais precisa e identificando potenciais alvos terapêuticos.

Agradecimentos

Agradeço às minhas orientadoras, Professora Doutora Catarina Geraldes e Mestre Marília Gomes, pelo apoio, ajuda e disponibilidade ao longo da realização deste trabalho.

À minha família pelo apoio e por acreditarem sempre em mim.

Ao Paulo, pelo amor, pela compreensão, e pelo amparo nos momentos de maior ansiedade.

Referências

1. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-90.
2. Vose J, Armitage J, Weisenburger D. International peripheral T-cell and natural killer/T-cell lymphoma study: pathology findings and clinical outcomes. *J Clin Oncol*. 2008;26(25):4124-30.
3. Broccoli A, Zinzani PL. Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified. *Blood*. 2017;129(9):1103-12.
4. Zain JM. Aggressive T-cell lymphomas: 2019 updates on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2019;94(8):929-46.
5. Marchi E, O'Connor OA. The rapidly changing landscape in mature T-cell lymphoma (MTCL) biology and management. *Ca-a Cancer Journal for Clinicians*. 2020;70(1):47-70.
6. Cortés JR, Palomero T. Biology and Molecular Pathogenesis of Mature T-Cell Lymphomas. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2020.
7. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlborg S, Oken MM, Grogan TM, Mize EM, et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 1993;328(14):1002-6.
8. Horwitz S, O'Connor OA, Pro B, Illidge T, Fanale M, Advani R, et al. Brentuximab vedotin with chemotherapy for CD30-positive peripheral T-cell lymphoma (ECHELON-2): a global, double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet*. 2019;393(10168):229-40.
9. Iqbal J, Wilcox R, Naushad H, Rohr J, Heavican TB, Wang C, et al. Genomic signatures in T-cell lymphoma: How can these improve precision in diagnosis and inform prognosis? *Blood Reviews*. 2016;30(2):89-100.
10. Ai-Zahrani M, Savage KJ. Peripheral T-Cell Lymphoma, Not Otherwise Specified A Review of Current Disease Understanding and Therapeutic Approaches. *Hematology-Oncology Clinics of North America*. 2017;31(2):189-+.
11. Iqbal J, Wright G, Wang C, Rosenwald A, Gascoyne RD, Weisenburger DD, et al. Gene expression signatures delineate biological and prognostic subgroups in peripheral T-cell lymphoma. *Blood*. 2014;123(19):2915-23.
12. Dupuis J, Emile JF, Mounier N, Gisselbrecht C, Martin-Garcia N, Petrella T, et al. Prognostic significance of Epstein-Barr virus in nodal peripheral T-cell lymphoma, unspecified: A Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA) study. *Blood*. 2006;108(13):4163-9.
13. Piccaluga PP, Agostinelli C, Califano A, Rossi M, Basso K, Zupo S, et al. Gene expression analysis of peripheral T cell lymphoma, unspecified, reveals distinct profiles and new potential therapeutic targets. *J Clin Invest*. 2007;117(3):823-34.
14. Shoemaker J, Saraiva M, O'Garra A. GATA-3 directly remodels the IL-10 locus independently of IL-4 in CD4+ T cells. *J Immunol*. 2006;176(6):3470-9.
15. Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol*. 2010;11(10):889-96.
16. Wang T, Feldman AL, Wada DA, Lu Y, Polk A, Briski R, et al. GATA-3 expression identifies a high-risk subset of PTCL, NOS with distinct molecular and clinical features. *Blood*. 2014;123(19):3007-15.
17. Heavican TB, Bouska A, Yu J, Lone W, Amador C, Gong Q, et al. Genetic drivers of oncogenic pathways in molecular subgroups of peripheral T-cell lymphoma. *Blood*. 2019;133(15):1664-76.
18. Intlekofer AM, Takemoto N, Wherry EJ, Longworth SA, Northrup JT, Palanivel VR, et al. Effector and memory CD8+ T cell fate coupled by T-bet and eomesodermin. *Nat Immunol*. 2005;6(12):1236-44.
19. Zhang P, Zhang M. Epigenetic alterations and advancement of treatment in peripheral T-cell lymphoma. *Clinical Epigenetics*. 2020;12.
20. Ji MM, Huang YH, Huang JY, Wang ZF, Fu D, Liu H, et al. Histone modifier gene mutations in peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified. *Haematologica*. 2018;103(4):679-87.
21. Cimmino L, Abdel-Wahab O, Levine RL, Aifantis I. TET family proteins and their role in stem cell differentiation and transformation. *Cell Stem Cell*. 2011;9(3):193-204.

22. Ito S, D'Alessio AC, Taranova OV, Hong K, Sowers LC, Zhang Y. Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. *Nature*. 2010;466(7310):1129-33.
23. Quivoron C, Couronné L, Della Valle V, Lopez CK, Plo I, Wagner-Ballon O, et al. TET2 inactivation results in pleiotropic hematopoietic abnormalities in mouse and is a recurrent event during human lymphomagenesis. *Cancer Cell*. 2011;20(1):25-38.
24. Lemonnier F, Couronné L, Parrens M, Jaïs JP, Travert M, Lamant L, et al. Recurrent TET2 mutations in peripheral T-cell lymphomas correlate with TFH-like features and adverse clinical parameters. *Blood*. 2012;120(7):1466-9.
25. Chen T, Li E. Establishment and maintenance of DNA methylation patterns in mammals. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2006;301:179-201.
26. Brenner C, Fuks F. DNA methyltransferases: facts, clues, mysteries. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2006;301:45-66.
27. Watatani Y, Sato Y, Miyoshi H, Sakamoto K, Nishida K, Gion Y, et al. Molecular heterogeneity in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified revealed by comprehensive genetic profiling. *Leukemia*. 2019;33(12):2867-83.
28. Couronné L, Bastard C, Bernard OA. TET2 and DNMT3A mutations in human T-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2012;366(1):95-6.
29. Mittal P, Roberts CWM. The SWI/SNF complex in cancer - biology, biomarkers and therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2020;17(7):435-48.
30. Kadoch C, Hargreaves DC, Hodges C, Elias L, Ho L, Ranish J, et al. Proteomic and bioinformatic analysis of mammalian SWI/SNF complexes identifies extensive roles in human malignancy. *Nat Genet*. 2013;45(6):592-601.
31. Schatz JH, Horwitz SM, Teruya-Feldstein J, Lunning MA, Viale A, Huberman K, et al. Targeted mutational profiling of peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified highlights new mechanisms in a heterogeneous pathogenesis. *Leukemia*. 2015. p. 237-41.
32. Streubel B, Vinatzer U, Willheim M, Raderer M, Chott A. Novel t(5;9)(q33;q22) fuses ITK to SYK in unspecified peripheral T-cell lymphoma. *Leukemia*. 2006;20(2):313-8.
33. Gocek E, Moulas AN, Studzinski GP. Non-receptor protein tyrosine kinases signaling pathways in normal and cancer cells. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2014;51(3):125-37.
34. Wilcox RA, Sun DX, Novak A, Dogan A, Ansell SM, Feldman AL. Inhibition of Syk protein tyrosine kinase induces apoptosis and blocks proliferation in T-cell non-Hodgkin's lymphoma cell lines. *Leukemia*. 2010. p. 229-32.
35. Pechloff K, Holch J, Ferch U, Schweneker M, Brunner K, Kremer M, et al. The fusion kinase ITK-SYK mimics a T cell receptor signal and drives oncogenesis in conditional mouse models of peripheral T cell lymphoma. *J Exp Med*. 2010;207(5):1031-44.
36. Boddicker RL, Razidlo GL, Dasari S, Zeng Y, Hu G, Knudson RA, et al. Integrated mate-pair and RNA sequencing identifies novel, targetable gene fusions in peripheral T-cell lymphoma. *Blood*. 2016;128(9):1234-45.
37. Fujii K, Ishimaru F, Nakase K, Tabayashi T, Kozuka T, Naoki K, et al. Over-expression of short isoforms of Helios in patients with adult T-cell leukaemia/lymphoma. *Br J Haematol*. 2003;120(6):986-9.
38. Faruqi TR, Gomez D, Bustelo XR, Bar-Sagi D, Reich NC. Rac1 mediates STAT3 activation by autocrine IL-6. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(16):9014-9.
39. Honma K, Tsuzuki S, Nakagawa M, Tagawa H, Nakamura S, Morishima Y, et al. TNFAIP3/A20 functions as a novel tumor suppressor gene in several subtypes of non-Hodgkin lymphomas. *Blood*. 2009;114(12):2467-75.
40. Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. Wnt signaling in cancer. *Oncogene*. 2017;36(11):1461-73.
41. Nishiyama M, Skoultchi AI, Nakayama KI. Histone H1 recruitment by CHD8 is essential for suppression of the Wnt- β -catenin signaling pathway. *Mol Cell Biol*. 2012;32(2):501-12.
42. Graziano V, De Laurenzi V. Role of p63 in cancer development. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1816(1):57-66.

43. Vasmatazis G, Johnson SH, Knudson RA, Ketterling RP, Braggio E, Fonseca R, et al. Genome-wide analysis reveals recurrent structural abnormalities of TP63 and other p53-related genes in peripheral T-cell lymphomas. *Blood*. 2012;120(11):2280-9.
44. Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, Ward PS, Patel J, Shih A, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell*. 2010;18(6):553-67.
45. Cairns RA, Iqbal J, Lemonnier F, Kucuk C, de Leval L, Jais JP, et al. IDH2 mutations are frequent in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood*. 2012;119(8):1901-3.
46. Vega FM, Ridley AJ. Rho GTPases in cancer cell biology. *FEBS Lett*. 2008;582(14):2093-101.
47. Jaffe AB, Hall A. Rho GTPases: biochemistry and biology. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2005;21:247-69.
48. Martin E, Ouellette MH, Jenna S. Rac1/RhoA antagonism defines cell-to-cell heterogeneity during epidermal morphogenesis in nematodes. *J Cell Biol*. 2016;215(4):483-98.
49. Palomero T, Couronné L, Khiabani H, Kim MY, Ambesi-Impiombato A, Perez-Garcia A, et al. Recurrent mutations in epigenetic regulators, RHOA and FYN kinase in peripheral T cell lymphomas. *Nat Genet*. 2014;46(2):166-70.
50. Palacios EH, Weiss A. Function of the Src-family kinases, Lck and Fyn, in T-cell development and activation. *Oncogene*. 2004;23(48):7990-8000.
51. Nakajima H, Kunimoto H. TET2 as an epigenetic master regulator for normal and malignant hematopoiesis. *Cancer Sci*. 2014;105(9):1093-9.
52. Federico M, Rudiger T, Bellei M, Nathwani BN, Luminari S, Coiffier B, et al. Clinicopathologic characteristics of angioimmunoblastic T-cell lymphoma: analysis of the international peripheral T-cell lymphoma project. *J Clin Oncol*. 2013;31(2):240-6.
53. de Leval L, Rickman DS, Thielen C, Reynies A, Huang YL, Delsol G, et al. The gene expression profile of nodal peripheral T-cell lymphoma demonstrates a molecular link between angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AITL) and follicular helper T (TFH) cells. *Blood*. 2007;109(11):4952-63.
54. Iqbal J, Weisenburger DD, Greiner TC, Vose JM, McKeithan T, Kucuk C, et al. Molecular signatures to improve diagnosis in peripheral T-cell lymphoma and prognostication in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood*. 2010;115(5):1026-36.
55. Dupuis J, Boye K, Martin N, Copie-Bergman C, Plonquet A, Fabiani B, et al. Expression of CXCL13 by neoplastic cells in angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AITL): a new diagnostic marker providing evidence that AITL derives from follicular helper T cells. *Am J Surg Pathol*. 2006;30(4):490-4.
56. Broccoli A, Zinzani PL. Angioimmunoblastic T-Cell Lymphoma. *Hematology-Oncology Clinics of North America*. 2017;31(2):223-+.
57. Muto H, Sakata-Yanagimoto M, Nagae G, Shiozawa Y, Miyake Y, Yoshida K, et al. Reduced TET2 function leads to T-cell lymphoma with follicular helper T-cell-like features in mice. 2014.
58. Nguyen TB, Sakata-Yanagimoto M, Asabe Y, Matsubara D, Kano J, Yoshida K, et al. Identification of cell-type-specific mutations in nodal T-cell lymphomas. *Blood Cancer J*. 2017;7(1):e516.
59. Wang C, McKeithan TW, Gong Q, Zhang W, Bouska A, Rosenwald A, et al. IDH2R172 mutations define a unique subgroup of patients with angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood*. 2015;126(15):1741-52.
60. Sakata-Yanagimoto M, Enami T, Yoshida K, Shiraishi Y, Ishii R, Miyake Y, et al. Somatic RHOA mutation in angioimmunoblastic T cell lymphoma. *Nat Genet*. 2014;46(2):171-5.
61. Chiba S, Sakata-Yanagimoto M. Advances in understanding of angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Leukemia*. 2020;34(10):2592-606.
62. Fujisawa M, Sakata-Yanagimoto M, Nishizawa S, Komori D, Gershon P, Kiryu M, et al. Activation of RHOA-VAV1 signaling in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Leukemia*. 2018;32(3):694-702.
63. DiToro D, Winstead CJ, Pham D, Witte S, Andargachew R, Singer JR, et al. Differential IL-2 expression defines developmental fates of follicular versus nonfollicular helper T cells. *Science*. 2018;361(6407).

64. Cortes JR, Ambesi-Impiombato A, Couronné L, Quinn SA, Kim CS, da Silva Almeida AC, et al. RHOA G17V Induces T Follicular Helper Cell Specification and Promotes Lymphomagenesis. *Cancer Cell*. 2018;33(2):259-73.e7.
65. Ng SY, Brown L, Stevenson K, deSouza T, Aster JC, Louissaint A, Jr., et al. RhoA G17V is sufficient to induce autoimmunity and promotes T-cell lymphomagenesis in mice. *Blood*. 2018;132(9):935-47.
66. Weber JP, Fuhrmann F, Feist RK, Lahmann A, Al Baz MS, Gentz LJ, et al. ICOS maintains the T follicular helper cell phenotype by down-regulating Krüppel-like factor 2. *J Exp Med*. 2015;212(2):217-33.
67. Nguyen TB, Sakata-Yanagimoto M, Fujisawa M, Nuhath ST, Miyoshi H, Nannya Y, et al. Dasatinib Is an Effective Treatment for Angioimmunoblastic T-cell Lymphoma. *Cancer Res*. 2020;80(9):1875-84.
68. Fang J, Barker B, Bolanos L, Liu X, Jerez A, Makishima H, et al. Myeloid malignancies with chromosome 5q deletions acquire a dependency on an intrachromosomal NF- κ B gene network. *Cell Rep*. 2014;8(5):1328-38.
69. Odejide O, Weigert O, Lane AA, Toscano D, Lunning MA, Kopp N, et al. A targeted mutational landscape of angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood*. 2014;123(9):1293-6.
70. Lemonnier F, Cairns RA, Inoue S, Li WY, Dupuy A, Broutin S, et al. The IDH2 R172K mutation associated with angioimmunoblastic T-cell lymphoma produces 2HG in T cells and impacts lymphoid development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(52):15084-9.
71. Zhang X, Su J, Jeong M, Ko M, Huang Y, Park HJ, et al. DNMT3A and TET2 compete and cooperate to repress lineage-specific transcription factors in hematopoietic stem cells. *Nat Genet*. 2016;48(9):1014-23.
72. Scourzic L, Couronné L, Pedersen MT, Della Valle V, Diop M, Mylonas E, et al. DNMT3A(R882H) mutant and Tet2 inactivation cooperate in the deregulation of DNA methylation control to induce lymphoid malignancies in mice. *Leukemia*. 2016;30(6):1388-98.
73. Vallois D, Dobay MP, Morin RD, Lemonnier F, Missiaglia E, Juilland M, et al. Activating mutations in genes related to TCR signaling in angioimmunoblastic and other follicular helper T-cell-derived lymphomas. *Blood*. 2016;128(11):1490-502.
74. Yoo HY, Kim P, Kim WS, Lee SH, Kim S, Kang SY, et al. Frequent CTLA4-CD28 gene fusion in diverse types of T-cell lymphoma. *Haematologica*. 2016;101(6):757-63.
75. Kataoka K, Nagata Y, Kitanaka A, Shiraishi Y, Shimamura T, Yasunaga J, et al. Integrated molecular analysis of adult T cell leukemia/lymphoma. *Nat Genet*. 2015;47(11):1304-15.
76. Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu Rev Immunol*. 1996;14:233-58.
77. Yoo HY, Sung MK, Lee SH, Kim S, Lee H, Park S, et al. A recurrent inactivating mutation in RHOA GTPase in angioimmunoblastic T cell lymphoma. *Nat Genet*. 2014;46(4):371-5.
78. Lee SH, Kim JS, Kim J, Kim SJ, Kim WS, Lee S, et al. A highly recurrent novel missense mutation in CD28 among angioimmunoblastic T-cell lymphoma patients. *Haematologica*. 1002015. p. e505-7.
79. Rudd CE, Taylor A, Schneider H. CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction. *Immunol Rev*. 2009;229(1):12-26.
80. Willenbrock K, Bräuninger A, Hansmann ML. Frequent occurrence of B-cell lymphomas in angioimmunoblastic T-cell lymphoma and proliferation of Epstein-Barr virus-infected cells in early cases. *Br J Haematol*. 2007;138(6):733-9.
81. Zettl A, Lee SS, Rüdiger T, Starostik P, Marino M, Kirchner T, et al. Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disorders in angioimmunoblastic T-cell lymphoma and peripheral T-cell lymphoma, unspecified. *Am J Clin Pathol*. 2002;117(3):368-79.
82. Dogan A, Attygalle AD, Kyriakou C. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2003;121(5):681-91.
83. Schwartz FH, Cai Q, Fellmann E, Hartmann S, Mäyränpää MI, Karjalainen-Lindsberg ML, et al. TET2 mutations in B cells of patients affected by angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *J Pathol*. 2017;242(2):129-33.

84. Dominguez PM, Ghamlouch H, Rosikiewicz W, Kumar P, Béguelin W, Fontán L, et al. TET2 Deficiency Causes Germinal Center Hyperplasia, Impairs Plasma Cell Differentiation, and Promotes B-cell Lymphomagenesis. *Cancer Discov.* 2018;8(12):1632-53.
85. Jaffe ES. Anaplastic large cell lymphoma: the shifting sands of diagnostic hematopathology. *Mod Pathol.* 2001;14(3):219-28.
86. Kinney MC, Higgins RA, Medina EA. Anaplastic large cell lymphoma: twenty-five years of discovery. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135(1):19-43.
87. Perez K, Castillo J, Dezube BJ, Pantanowitz L. Human Immunodeficiency Virus-associated anaplastic large cell lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2010;51(3):430-8.
88. Boi M, Zucca E, Inghirami G, Bertoni F. Advances in understanding the pathogenesis of systemic anaplastic large cell lymphomas. *Br J Haematol.* 2015;168(6):771-83.
89. Lu Y, Zhao X, Wang E, Chen W, Huang Q. ALK-negative anaplastic large cell lymphoma with extensive peripheral blood and bone marrow involvements manifested as "leukemic phase". *Leuk Res.* 2010;34(4):475-82.
90. Morris SW, Kirstein MN, Valentine MB, Dittmer KG, Shapiro DN, Saltman DL, et al. Fusion of a kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science.* 1994;263(5151):1281-4.
91. Feldman AL, Law ME, Inwards DJ, Dogan A, McClure RF, Macon WR. PAX5-positive T-cell anaplastic large cell lymphomas associated with extra copies of the PAX5 gene locus. *Mod Pathol.* 2010;23(4):593-602.
92. Webb TR, Slavish J, George RE, Look AT, Xue L, Jiang Q, et al. Anaplastic lymphoma kinase: role in cancer pathogenesis and small-molecule inhibitor development for therapy. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2009;9(3):331-56.
93. Le Beau MM, Bitter MA, Larson RA, Doane LA, Ellis ED, Franklin WA, et al. The t(2;5)(p23;q35): a recurring chromosomal abnormality in Ki-1-positive anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia.* 1989;3(12):866-70.
94. Bowden ET, Stoica GE, Wellstein A. Anti-apoptotic signaling of pleiotrophin through its receptor, anaplastic lymphoma kinase. *J Biol Chem.* 2002;277(39):35862-8.
95. Pomari E, Basso G, Bresolin S, Pillon M, Carraro E, d'Amore ES, et al. NPM-ALK expression levels identify two distinct subtypes of paediatric anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia.* 31. England 2017. p. 498-501.
96. Lamant L, Dastugue N, Pulford K, Delsol G, Mariamé B. A new fusion gene TPM3-ALK in anaplastic large cell lymphoma created by a (1;2)(q25;p23) translocation. *Blood.* 1999;93(9):3088-95.
97. Ma Z, Cools J, Marynen P, Cui X, Siebert R, Gesk S, et al. Inv(2)(p23q35) in anaplastic large-cell lymphoma induces constitutive anaplastic lymphoma kinase (ALK) tyrosine kinase activation by fusion to ATIC, an enzyme involved in purine nucleotide biosynthesis. *Blood.* 2000;95(6):2144-9.
98. van der Krogt JA, Bempt MV, Ferreiro JF, Mentens N, Jacobs K, Pluys U, et al. Anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large cell lymphoma with the variant RNF213-, ATIC- and TPM3-ALK fusions is characterized by copy number gain of the rearranged ALK gene. *Haematologica.* 2017;102(9):1605-16.
99. Crescenzo R, Abate F, Lasorsa E, Tabbo F, Gaudio M, Chiesa N, et al. Convergent mutations and kinase fusions lead to oncogenic STAT3 activation in anaplastic large cell lymphoma. *Cancer Cell.* 2015;27(4):516-32.
100. Hu G, Dasari S, Asmann YW, Greipp PT, Knudson RA, Benson HK, et al. Targetable fusions of the FRK tyrosine kinase in ALK-negative anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia.* 32 2018. p. 565-9.
101. Parrilla Castellar ER, Jaffe ES, Said JW, Swerdlow SH, Ketterling RP, Knudson RA, et al. ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a genetically heterogeneous disease with widely disparate clinical outcomes. *Blood.* 2014;124(9):1473-80.
102. Feldman AL, Dogan A, Smith DI, Law ME, Ansell SM, Johnson SH, et al. Discovery of recurrent t(6;7)(p25.3;q32.3) translocations in ALK-negative anaplastic large cell lymphomas by massively parallel genomic sequencing. *Blood.* 2011;117(3):915-9.

103. Luchtel RA, Dasari S, Oishi N, Pedersen MB, Hu G, Rech KL, et al. Molecular profiling reveals immunogenic cues in anaplastic large cell lymphomas with DUSP22 rearrangements. *Blood*. 2018;132(13):1386-98.
104. Satou A, Bennani NN, Feldman AL. Update on the classification of T-cell lymphomas, Hodgkin lymphomas, and histiocytic/dendritic cell neoplasms. *Expert Rev Hematol*. 2019;12(10):833-43.
105. Skinnider BF, Connors JM, Sutcliffe SB, Gascoyne RD. Anaplastic large cell lymphoma: a clinicopathologic analysis. *Hematol Oncol*. 1999;17(4):137-48.
106. Hapgood G, Pickles T, Sehn LH, Villa D, Klasa R, Scott DW, et al. Outcome of primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma: a 20-year British Columbia Cancer Agency experience. *Br J Haematol*. 2017;176(2):234-40.
107. Keech JA, Jr., Creech BJ. Anaplastic T-cell lymphoma in proximity to a saline-filled breast implant. *Plast Reconstr Surg*. 1997;100(2):554-5.
108. Miranda RN, Aladily TN, Prince HM, Kanagal-Shamanna R, de Jong D, Fayad LE, et al. Breast implant-associated anaplastic large-cell lymphoma: long-term follow-up of 60 patients. *J Clin Oncol*. 2014;32(2):114-20.
109. Tsuyama N, Sakamoto K, Sakata S, Dobashi A, Takeuchi K. Anaplastic large cell lymphoma: pathology, genetics, and clinical aspects. *J Clin Exp Hematop*. 2017;57(3):120-42.
110. Oishi N, Brody GS, Ketterling RP, Viswanatha DS, He R, Dasari S, et al. Genetic subtyping of breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma. *Blood*. 1322018. p. 544-7.
111. Di Napoli A, De Cecco L, Piccaluga PP, Navari M, Cancila V, Cippitelli C, et al. Transcriptional analysis distinguishes breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma from other peripheral T-cell lymphomas. *Mod Pathol*. 2019;32(2):216-30.