

Edna Maria Fonseca Gonçalves

**LINFOMAS DIFUSOS DE GRANDES CÉLULAS B**

*FACTORES DE PROGNÓSTICO CLÍNICOS*

Porto 1999

Edna Maria Fonseca Gonçalves

**LINFOMAS DIFUSOS DE GRANDES CÉLULAS B**

*FACTORES DE PROGNÓSTICO CLÍNICOS*

Mestrado em Oncologia

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto,

Instituto Português de Oncologia do Porto, Jefferson Medical College

Porto 1999

*À minha família*  
*Aos meus amigos*

## *Agradecimentos*

*Quero manifestar os meus sinceros agradecimentos a todos os que, directa ou indirectamente, permitiram que concluisse esta tese de dissertação.*

*Ao Prof. Doutor Carlos Lopes pela orientação do trabalho realizado.*

*Ao Dr. Guimarães dos Santos pelo incentivo que me deu, para além da iniciativa e dinamismo que tornaram possível o Mestrado em Oncologia da Universidade do Porto.*

*À Dr<sup>a</sup> Luísa Viterbo, minha amiga e colega de trabalho na Clínica Oncológica V do Instituto Português de Oncologia do Porto, pelo estímulo e permanente disponibilidade para me ajudar a resolver muitos dos problemas e dificuldades com que fui deparando.*

*Ao Dr. Fernando Viseu, pelos ensinamentos teóricos e práticos que diariamente me deu e me levaram a interessar pelo tema abordado.*

*Ao Dr. Rui Henrique pela revisão cuidada dos exames histológicos dos doentes incluídos neste trabalho.*

*À Dr<sup>a</sup> Noémia Afonso pelo contributo no processamento e análise estatística dos dados.*

*Aos colegas que intervieram na orientação clínica dos doentes incluídos neste estudo.*

*A todos os colegas e amigos que com o seu trabalho, amizade e compreensão me ajudaram a realizar este trabalho.*

*Por fim, aos meus pais, irmã e cunhado que para além do incentivo, me animaram e acompanharam pacientemente, mesmo nos momentos mais difíceis, permitindo que esta tese de dissertação fosse uma realidade.*

## Resumo

Com o advento da poliquimioterapia e sobretudo após a inclusão das antraciclina nos esquemas de tratamento, melhorou substancialmente a esperança de vida dos doentes com LDGC-B. Apesar disso, muitos doentes ficam ainda por curar. Nos últimos anos diversos estudos têm sido feitos no sentido de identificar características do doente e/ou do tumor - factores de prognóstico - que, presentes no diagnóstico, permitam prever quais os doentes que não vão ficar curados com os tratamentos convencionais.

No presente estudo retrospectivo, realizado com base na consulta do processo clínico, foram estudados 116 doentes com idade superior a 15 anos, portadores de linfoma difuso de grandes células B (LDGC-B), admitidos e tratados no IPO - Porto de Janeiro de 1990 a 31 de Julho de 1998. Após exclusão de 9 doentes, foram analisados 107 casos. Avaliaram-se características do doente (sexo, idade, presença de sintomas B, estado geral; DHL sérica, presença de anemia, linfopenia, alterações das proteínas séricas, elevação da velocidade de sedimentação e da  $\beta_2$  - microglobulina) e do tumor (estadio, localização e número de áreas ganglionares e extraganglionares envolvidas, dimensões da maior massa), o tratamento realizado e a resposta ao mesmo. Posteriormente analisaram-se, separadamente, os 95 doentes tratados em primeira linha com esquemas contendo antraciclina, no sentido de identificar parâmetros clínicos ou analíticos que permitissem prever a resposta ao tratamento e as sobrevivências global (SG) e livre de doença (SLD). Foi também avaliado o impacto prognóstico do índice de prognóstico internacional (IPI).

Concluimos que interferem significativamente na resposta ao tratamento, SG e SLD os seguintes parâmetros, que se comportam como factores de prognóstico: idade, sintomas B, estado geral do doente, estadio Ann Arbor, número de locais extraganglionares envolvidos pelo linfoma, envolvimento de gânglios axilares ou inguinais, DHL sérica, linfopenia, hipoproteinemia e/ou hipoalbuminemia,  $\beta_2$  - microglobulina e o esquema de quimioterapia. A resposta ao tratamento influencia significativamente a SG e a SLD. A presença de anemia diminuiu significativamente a taxa de resposta ao tratamento e a existência de uma massa  $\geq 10$  cm ("*bulky*") alterou significativamente a SLD. O sexo, a localização ganglionar *versus* extraganglionar do linfoma, o envolvimento da medula óssea ou do fígado, a elevação da velocidade de sedimentação e o tempo que medeia entre o primeiro sintoma e o início do tratamento, não comportam significado prognóstico.

O IPI permitiu identificar 3 grupos de doentes relativamente à resposta ao tratamento, SLD e SG: 1- Doentes com elevadas taxas de remissão completa, SLD e SG (*risco baixo* do IPI); 2- Doentes de “risco intermédio” (*risco intermédio / baixo* do IPI); 3- Doentes com baixa probabilidade de responder ao tratamento convencional e de sobreviver 5 anos (*risco intermédio / alto e alto* do IPI).

O IPI, a presença / ausência de hipoproteinemia e o esquema de quimioterapia realizado em primeira linha terapêutica, influenciaram de forma significativa e independente a sobrevivência global.

## Summary

With the advent of combination chemotherapy, mainly after the addition of anthracyclines to the therapeutic schemes, there was a considerable improvement on the survival of patients with diffuse large B cell lymphomas (DLBCL). However, many patients still die of disease progression.

In the last years, efforts have been made in order to identify at diagnosis the features (prognostic factors) that could help predict which patients will progress after conventional chemotherapy.

In this retrospective study, we analysed 116 patients over fifteen years old with DLBCL, admitted to IPO – Porto between January 1990 and July 1998. Several reasons led to the exclusion of 9 patients. For the remaining 107, we studied the patient's features (sex, age, B symptoms, performance status, serum LDH, presence of anemia, lymphopenia, serum proteins, erythrocyte sedimentation rate (ESR) and  $\beta_2$ -microglobulin), the tumor's features (Ann Arbor stage, number and location of involved nodal and extranodal areas, measures of the greatest mass), the treatment scheme and respective response. The 95 patients who were treated with anthracyclines based schemes were studied separately in order to identify the clinical or laboratory data that could predict treatment outcome, overall survival (OS), and disease-free survival (DFS). The prognostic value of the International Prognostic Index (IPI) was also evaluated.

We concluded that age, B symptoms, performance status, Ann Arbor stage, number of extranodal areas involved, axillary and inguinal lymph nodes, LDH, lymphopenia, hipoproteinemia and/or hipoalbuminemia, and  $\beta_2$ -microglobulin, significantly influenced the response to treatment, OS, and DFS. This is, they can be considered as prognostic factors.

The presence of anemia significantly reduced the treatment response rate, and a tumor mass  $\geq 10$  cm (bulky), significantly reduced DFS. Sex, nodal versus extranodal location, bone marrow or liver involvement, high ESR, and the time elapsed from the first symptom to diagnosis had no prognostic value.

IPI allowed us to identify 3 groups of patients respecting treatment response rate, DFS, and OS: 1- Patients with high treatment response rate, OS, and DFS (IPI' "low risk");

2- Patients with “intermediate risk” (IPI’ “intermediate-low risk”); 3- Patients with a low probability of response to conventional treatment and of surviving for 5 years (IPI’s “intermediate-high” and “high risk”).

IPI, the presence versus absence of hipoproteinemia, and the chemotherapy scheme significantly and independently influenced the overall survival.

# Índice

Resumo .....	iii
Summary .....	v
<b>1 – Introdução</b>	
1.1- Linfomas Não-Hodgkin: Epidemiologia e sistemas de classificação ....	1
1.2- Linfomas difusos de grandes células B (LDGC –B) .....	4
1.3- Factores de prognóstico clínicos .....	6
1.4- Factores de prognóstico biológicos .....	13
<b>2 – Objectivos .....</b>	<b>16</b>
<b>3 - Material e Métodos</b>	
3.1- Doentes em estudo .....	17
3.2- Variáveis analisadas .....	19
3.3- Análise estatística .....	21
<b>4 - Resultados</b>	
4.1- Características dos 107 doentes .....	22
4.2- Análise dos factores de prognóstico associados à resposta à quimioterapia com antraciclina .....	26
4.3- Análise dos factores de prognóstico associados à sobrevivência global e livre de doença nos doentes tratados com antraciclina .....	29
4.4- Análise multifactorial .....	34
<b>5 - Discussão</b>	
5.1- Características da população estudada .....	35
5.2- Factores de prognóstico associados à resposta à quimioterapia .....	36
5.3- Factores de prognóstico associados à sobrevivência global e livre de doença .....	37
5.4- Impacto prognóstico do Índice de Prognóstico Internacional .....	40
<b>6 – Conclusões .....</b>	<b>42</b>
Bibliografia .....	44

# 1 - Introdução

## 1.1 – Linfomas Não-Hodgkin: Epidemiologia e sistemas de classificação

Os Linfomas Não-Hodgkin (LNH), cuja incidência tem vindo a aumentar rapidamente, constituem um importante problema de saúde em todo o mundo. Segundo dados da American Cancer Society, nos Estados Unidos da América a incidência destas neoplasias aumentou cerca de 60% nos últimos 15 anos tornando-as a 5ª doença oncológica mais comum neste país, o que fez com que Weisenburger em 1994 falasse em “epidemia de LNH”<sup>1,2</sup>.

A incidência dos LNH aumenta progressivamente com a idade o que, associado ao envelhecimento da população mundial, contribui para o aumento da incidência global destas neoplasias. Além disso, com excepção do sarcoma de Kaposi, nenhuma outra neoplasia está tão associada à imunodeficiência como os LNH que são 60 vezes mais comuns nos indivíduos com SIDA do que na população em geral. Estes dois factores por si só não são, no entanto, suficientes para justificar o grande aumento de incidência dos LNH que se tem verificado nos últimos anos<sup>3</sup>. Segundo Linet e Pottern, é possível que os familiares próximos de um doente com LNH tenham um risco 3 a 4 vezes superior ao da população em geral de vir a ter a mesma doença ou outra doença linfoproliferativa<sup>4</sup>.

Constituindo um grupo heterogéneo de neoplasias, várias têm sido as tentativas de sistematizar os LNH (tabela 1). Infelizmente até hoje nenhuma das classificações propostas conseguiu um grau de precisão de diagnóstico e reprodutibilidade capazes de satisfazer completamente dois dos objectivos pretendidos: 1) ajudar os clínicos a estabelecer o melhor tratamento e prognóstico para cada doente; 2) facilitar a investigação clínica permitindo que os investigadores de todo o mundo falem a mesma linguagem.

**Tabela 1: Sistemas de classificação dos LNH**

---

Gall e Mallory (1942)
Rappaport et al (anos 50)
Lukes/Collins (EUA) e Kiel (Europa) (década de 70)
Working Formulation (1982)
Revised European-American Lymphoma (REAL) (1993)

---

Com base nas características morfológicas, imunológicas e genéticas dos linfomas a classificação REAL (tabela 2), criada em 1993 por um grupo internacional de anatomopatologistas (o International Lymphoma Study Group), conseguiu uma precisão e concordância de diagnóstico entre anatomopatologistas superior à de qualquer dos outros sistemas anteriormente conhecidos (precisão  $\geq 85\%$ ; reprodutibilidade: 85%)<sup>5,6,7</sup>. Esta classificação, que vai ser a usada nesta dissertação, serve agora de base para uma nova classificação da OMS e permitiu individualizar alguns subgrupos de LNH com formas de apresentação e curso clínico suficientemente diferentes para que constituam verdadeiras entidades anatomo-clínicas (ex: L. de células do manto; L. de células B da zona marginal, L. anaplásticos). No entanto alguns subtipos de linfomas, como os linfomas difusos de grandes células B, continuam a representar um grupo heterogéneo de tumores<sup>5,6,8,9</sup>.

**Tabela 2: Classificação REAL<sup>5</sup>**

---

Neoplasias de células B

I- Neoplasias de cél. B precursoras: Leucemia / linfoma linfoblástico B

II- Neoplasias de células B periféricas:

1. Leucemia linfocítica crônica / leucemia prolinfocítica / linfoma de pequenos linfócitos
2. Linfoma linfoplasmocitóide / imunocitoma
3. Linfoma de células do manto
4. Linfoma do centro folicular, folicular  
Graus I – III (gradação citológica provisória)  
Entidade provisória: L. predominantemente de pequenos linfócitos, difuso
5. Linfoma de células B da zona marginal  
Extraganglionar (tipo MALT)  
Entidade provisória: Ganglionar
6. Entidade provisória: Linfoma da zona marginal esplênico
7. Leucemia de células em cabeleira
8. Plasmocitoma / mieloma múltiplo
9. Linfoma difuso de grandes células B  
Subtipo: L. primário do mediastino
10. Linfoma de Burkitt
11. Entidade provisória: Linfoma de alto grau, “Burkitt-like”

Neoplasias de células T

I- Neoplasias de cél. T precursoras: Leucemia / linfoma linfoblástico T

II- Neoplasias de células T e NK periféricas:

1. Leucemia linfocítica crônica / leucemia prolinfocítica
2. Leucemia de grandes linfócitos granulares: células T / células NK
3. Micoose fungóide / síndrome de Sezary
4. Linfomas de células T periféricas  
Entidade provisória: L. hepatosplênico de células T  $\gamma\delta$   
Entidade provisória: L. células T tipo paniculite subcutânea
5. Linfoma angioimunoblástico
6. Linfoma angiocêntrico
7. Leucemia de células T intestinal
8. Leucemia / linfoma de células T adulto
9. Linfoma anaplástico de grandes células, CD 30<sup>+</sup>
10. Entidade provisória: L. anaplástico de grandes células, “Hodgkin-like”

Doença de Hodgkin

- 1- Predomínio linfocítico
  - 2- Escleronodular
  - 3- Celularidade mista
  - 4- Depleção linfocítica
  - 5- Entidade provisória: DH rica em linfócitos
-

## 1.2 – Linfomas difusos de grandes células B (LDGC-B)

Compostos por células grandes que na maioria dos casos se assemelham a centroblastos e / ou imunoblastos, este grupo de linfomas inclui entidades anteriormente conhecidas como *linfomas centroblásticos, imunoblásticos e anaplástico de grandes células* da classificação de Kiel e *linfomas difusos de grandes células clivadas, não clivadas ou imunoblásticos e alguns linfomas difusos mistos de pequenas e grandes células* da Working Formulation<sup>2,5</sup>. Estudos de imunofenotipagem mostraram que os LDGC-B são neoplasias de células maduras que em 2/3 dos casos expressam cadeias leves de imunoglobulinas ( $K > \lambda$ ). A maioria têm também marcadores de activação (ex: CD25 e CD38) e um alto índice proliferativo (ex: Ki 67 e CD71)<sup>10</sup>.

Os linfomas difusos de grandes células B são o grupo de linfomas mais frequente no adulto (tabela 3), situando-se a mediana de idades na 7ª década de vida (64 anos). Com um ligeiro predomínio no sexo masculino (55%), apresentam-se tipicamente como uma massa ganglionar ou extra-ganglionar de crescimento rápido, em muitos casos sintomática ( $\geq 5$  cm em 76% dos casos). Cerca de metade dos doentes (51%) apresentam-se em estadio I ou II e entre 12 e 17% têm a medula óssea invadida na altura do diagnóstico. Até 40% destes linfomas são primariamente extra-ganglionares, sendo o estômago a localização mais comum<sup>2,5-7</sup>.

**Tabela 3: Frequência dos diferentes grupos de LNH<sup>6</sup>**

Linfoma	Frequência (%)
Difuso de grandes células B	31
Folicular	22
Da zona marginal, MALT	8
Periférico de células T	7
Pequenos linfócitos B	7
Células do manto	6
Grandes células B primário do mediastino	2
Anaplástico de grandes células T/NK	2
“Burkitt-like”	2
Da zona marginal, ganglionar	2
Linfoblástico T	2
Linfoplasmocitóide	1
Burkitt	<1

Embora a maioria dos LDGC-B surjam *de novo*, alguns resultam da transformação histológica de linfomas indolentes como os linfomas foliculares e os linfomas da zona marginal, tendo estes *linfomas transformados* um prognóstico habitualmente pior<sup>2</sup>.

Os linfomas difusos de grandes células são de um modo geral agressivos mas potencialmente curáveis com quimioterapia. Quando tratados com esquemas de poliquimioterapia contendo antraciclina, os doentes com LDGC-B têm uma sobrevivência global e uma sobrevivência livre de progressão aos 5 anos que variam entre 22 e 73% e entre 19 e 63% respectivamente, dependendo da existência ou não de *indicadores de mau prognóstico*<sup>6,7,11</sup>. Este facto corrobora uma vez mais a impressão clínica de que os LDGC-B representam um grupo heterogéneo de tumores.

Num estudo comparativo entre 4 esquemas de poliquimioterapia contendo antraciclina (CHOP, MACOP-B, m-BACOD, ProMACE-CytaBOM) a sobrevivência global aos 3 anos foi de 52% para o total de doentes tratados, estando 44% dos doentes vivos e sem evidência de doença aos 3 anos<sup>12</sup>.

### 1.3 – Factores de prognóstico clínicos

Apesar dos recentes progressos no estudo e tratamento dos linfomas, muitos doentes ficam ainda por curar. Tornou-se pois importante seleccionar, por um lado os doentes que tendo menor probabilidade de responder ao tratamento convencional poderão vir a beneficiar de novos tratamentos potencialmente mais agressivos e por outro, aqueles que tendo respondido bem ao tratamento convencional podem ser poupados a outros tratamentos.

O sistema de estadiamento de Ann Arbor, inicialmente concebido para os linfomas de Hodgkin que têm tendência a progredir por áreas ganglionares contíguas, continua a ser o mais usado no estadiamento dos LNH. Uma vez que os linfomas não-Hodgkin incluem uma grande variedade de tipos histológicos com diferentes comportamentos biológicos e padrões de progressão, não é de admirar que o estadiamento de Ann Arbor seja menos eficaz na identificação de prognóstico nestes linfomas que nos linfomas de Hodgkin<sup>9,13,14</sup>.

A definição clássica de um factor de prognóstico inclui a quantificação de uma variável clínica ou biológica associada à sobrevivência global (SG) e à sobrevivência livre de doença (SLD), na ausência de tratamento<sup>15</sup>.

Parâmetros como a idade avançada, mau estado geral, presença de sintomas B, grande massa tumoral, estadio avançado (Ann Arbor III e IV), presença de doença em 2 ou mais locais extraganglionares e DHL sérica elevada têm sido apontados como indicadores de mau prognóstico nos LNH (tabela 4).

**Tabela 4: Características do doente/tumor e indicadores de prognóstico<sup>16</sup>**

<b>Características do doente/tumor</b>	<b>Indicadores de prognóstico</b>
Potencial de crescimento e invasão tumoral	DHL sérica Nº de locais com doença Tamanho da massa tumoral Estadio (Ann Arbor) Envolvimento da medula óssea
Resposta do doente ao tumor	Sintomas B Performance status
Capacidade do doente tolerar o tratamento	Idade do doente “Performance status” Envolvimento da medula óssea

Da combinação destes parâmetros que reflectem o potencial de crescimento e invasão da neoplasia, a resposta do doente à sua presença e a capacidade do doente tolerar o tratamento, resultaram diferentes índices de prognóstico que na sua maioria não foram validados para outros doentes que não os do estudo original<sup>16-21</sup>.

Numa tentativa de uniformizar e melhorar os múltiplos índices de prognósticos existentes, investigadores de 16 instituições e grupos cooperativos da Europa, EUA e Canadá juntaram-se no “Internacional Non-Hodgkin’s Lymphoma Prognostic Factors Project” e criaram o *Índice de Prognóstico Internacional* (IPI).

Resultando da análise de 1385 doentes com linfomas agressivos tratados entre 1982 e 1987 com um esquema de quimioterapia contendo doxorubicina, o IPI classifica os doentes em 4 grupos de risco com base em 5 características clínicas: idade ( $\leq 60$  vs  $> 60$  anos), estado geral (ECOG 0-1 vs 2-4), estadio (Ann Arbor I-II vs III-IV)), número de locais extra-ganglionares envolvidos ( $\leq 1$  vs  $> 1$ ) e DHL sérica ( $\leq 1x$  vs  $> 1x$  normal) (tabela 5)<sup>11</sup>.

**Tabela 5: Índice de Prognóstico Internacional**

Grupo de risco	Nº factores de risco	Factores de risco
<i>Todos os doentes</i>		
Baixo	0 – 1	Idade $> 60$ anos
Intermédio-baixo	2	ECOG $\geq 2$
Intermédio-alto	3	Estadio III – IV
Alto	4 – 5	DHL sérica $> 1x$ normal
		Doença extra-ganglionar em $> 1$ local
<i>Doentes <math>\leq 60</math> anos</i>		
Baixo	0	ECOG $\geq 2$
Intermédio-baixo	1	Estadio III – IV
Intermédio-alto	2	DHL sérica $> 1x$ normal
Alto	3	
<i>Doentes <math>&gt; 60</math> anos</i>		
Baixo	0	ECOG $\geq 2$
Intermédio-baixo	1	Estadio III – IV
Intermédio-alto	2	DHL sérica $> 1x$ normal
Alto	3	Doença extra-ganglionar em $> 1$ local

Como na análise feita por aquele grupo internacional os dois grupos etários ( $\leq 60$  vs  $>60$  anos) tinham diferentes resultados e sendo os 60 anos considerados uma idade limite em muitos protocolos de tratamento mais agressivos, criaram também um *Índice de Prognóstico Internacional ajustado à idade* (tabela 5)<sup>11</sup>.

Inicialmente desenhado para os linfomas agressivos, o Índice de Prognóstico Internacional tem sido aplicado a outros tipos de linfoma quer na altura do diagnóstico quer nas recaídas, permitindo diferenciar subgrupos de doentes que diferem entre si na resposta ao tratamento, taxa de recaída e sobrevivência global (tabela 6)<sup>6,7,11,16,22</sup>.

**Tabela 6: Sobrevivência por grupo histológico e IPI<sup>7</sup>**

Linfoma	SG aos 5 anos (%)		SLD aos 5 anos (%)	
	IPI 0/1	IPI 4/5	IPI 0/1	IPI 4/5
Difuso de grandes células B	73	22	63	19
Folicular	84	17	55	6
Da zona marginal, MALT	89	40	83	0
Periférico de células T	36	15	27	10
Pequenos linfócitos B	76	38	35	13
Células do manto	57	0	27	0
Grandes células B primário do mediastino	77	0	69	0
Anaplástico de grandes células T/NK	81	83	49	83
“Burkitt-like”	71	0	71	0
Da zona marginal, ganglionar	76	50	30	0
Linfoblástico T	29	40	29	40

Para além dos parâmetros avaliados no IPI, outros têm sido apontados como indicadores de prognóstico, nomeadamente a classificação histológica e imunofenótipo B/T, o envolvimento da medula óssea ou fígado, os valores da hemoglobina, albumina sérica e  $\beta_2$ -microglobulina na altura do diagnóstico e muitos outros.

## Histologia

Embora a classificação histológica influencie a sobrevivência global e o tempo livre de doença, há diferenças significativas de comportamento em cada sub-grupo de linfomas<sup>7</sup>.

Engelhard e colaboradores consideram que os doentes com LNH imunoblásticos têm uma sobrevivência global e livre de doença significativamente pior que os doentes com linfomas centrolásticos e esta diferenciação histológica tem valor prognóstico independente, tal como previsto na Working Formulation<sup>23,24</sup>. Outros autores não encontraram no entanto qualquer diferença entre os dois tipos histológicos de LNH pelo que na classificação REAL estão ambos incluídos no grupo dos LDGC-B<sup>2,5,18,25</sup>.

De um modo geral aceita-se que os LDGC-B resultantes da transformação histológica de linfomas de baixo grau de malignidade têm pior prognóstico que os LDGC *de novo*. Numa revisão de Iowa, a mediana da sobrevivência dos LNH *transformados* e *de novo* foi respectivamente de 12 meses e 40 meses<sup>13</sup>.

### **Idade do doente**

O facto de os idosos tolerarem muitas vezes mal os esquemas de tratamento convencional faz com que sejam frequentemente tratados com doses reduzidas, o que diminui a toxicidade do tratamento mas reduz também a sua eficácia. Assim, não é claro que a idade por si só influencie o prognóstico pois, se há estudos que o consideram, outros há que demonstram que se se ajustar a idade às outras causas de morte, aquela não constitui factor de prognóstico independente<sup>11,26-28</sup>.

### **Sintomas B**

Presentes em 30 a 50% dos doentes com linfomas agressivos, estes sintomas (febre > 38°C, emagrecimento > 10% do peso corporal, sudorese nocturna) são apontados em muitos estudos como indicadores de pior prognóstico. No entanto, quando é feita a análise multivariada de diversos indicadores de prognóstico, estes sintomas perdem muito do seu valor preditivo pois não são factores de prognóstico independentes<sup>11,13,17,18,29</sup>.

### **Tamanho do tumor**

A importância prognóstica do tamanho da massa tumoral tem sido considerada em muitos trabalhos, no entanto a forma como essa massa tumoral é avaliada é muito variável e nem sempre fácil. Muitos autores analisam apenas as dimensões da maior área envolvida pelo linfoma e consideram volumosas (“*bulky*”) as massas com mais de 5-10 cm<sup>10,13,17,19,29</sup>. Outros valorizam o número de áreas ganglionares e/ou extraganglionares envolvidas<sup>11,17,18</sup>.

## **$\beta_2$ -Microglobulina**

A  $\beta_2$ -microglobulina ( $\beta_2M$ ), uma pequena proteína extracelular comum aos antígenos A, B e C do complexo major de histocompatibilidade (HLA), é lançada para a circulação a um ritmo determinado pela proliferação e activação linfocitária e tem valor prognóstico independente relativamente à resposta ao tratamento, duração da remissão e sobrevivência dos doentes com linfomas agressivos<sup>14,30-34</sup>.

Num estudo realizado no St. Bartolomeu Hospital, dos doentes com linfomas agressivos e  $\beta_2M$  alta no diagnóstico, só 37% entraram em remissão completa, contra 70% dos doentes com  $\beta_2M$  normal. A  $\beta_2M$  manteve o seu valor prognóstico nos doentes que entraram em remissão completa, verificando-se que a duração média dessa remissão e a sobrevivência global foram significativamente maiores nos doentes com  $\beta_2M$  normal do que nos doentes com  $\beta_2M$  elevada (6 anos vs 19 meses e > 6 anos vs 1 ano, respectivamente)<sup>33</sup>.

Associada ao IPI, a  $\beta_2M$  aumentou a sensibilidade daquele índice sem diminuir significativamente a especificidade do mesmo<sup>35</sup>.

## **Albumina sérica**

A albumina sérica, que é fácil de determinar e indirectamente traduz o estado geral do doente, foi considerada um factor de prognóstico independente em diversos trabalhos<sup>21,33,36</sup>. A hipoalbuminemia foi também associada a elevada mortalidade durante o tratamento<sup>38</sup>.

Em 1991 Coiffier e colaboradores demonstraram que valores baixos de albumina sérica ( $\leq 30$  g/L) estavam associados a uma diminuição da taxa de remissão completa e da sobrevivência global<sup>21</sup>. No estudo do St. Bartolomeu Hospital acima referido, a albumina sérica constituiu também um importante indicador de prognóstico<sup>33</sup>.

## **Velocidade de sedimentação**

A elevação da velocidade de sedimentação (VS) é um importante factor de prognóstico nos linfomas de Hodgkin.<sup>39-41</sup> Num trabalho de Nicolaidis e colaboradores em que foram incluídos 239 doentes com linfomas difusos de grandes células tratados com

um esquema contendo antraciclina, a taxa de remissão completa e a sobrevivência global foram significativamente mais baixas nos doentes com VS superior a 50 mm e o valor prognóstico da VS manteve-se na análise multivariada<sup>42</sup>.

### **Resposta ao 1º tratamento**

Independentemente de outros parâmetros, a obtenção de remissão completa após o primeiro tratamento continua a ser um dos factores de prognóstico mais importantes<sup>13,43</sup>.

Em 1986, Armitage e colaboradores salientaram a importância prognóstica do *tempo que medeia entre o início do tratamento e a remissão completa* ao verificarem que 80% dos doentes que entraram em remissão completa ao fim de 3 ciclos de quimioterapia estavam livres de doença 5 anos depois e que, daqueles doentes que necessitaram de mais de 5 ciclos apenas 40% mantiveram a remissão completa por mais de 2 anos<sup>44</sup>.

Posteriormente outros autores comprovaram também este facto e, como com os métodos radiológicos habituais (incluindo ecografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética nuclear) é por vezes difícil determinar a data da remissão completa uma vez que alguns doentes ficam com massas residuais de significado incerto, recorreu-se ao *cintilograma com Gallium-67 (<sup>67</sup>Ga)* para ajudar a diferenciar estas massas<sup>16,45-48</sup>. Mais recentemente, os resultados do cintilograma com <sup>67</sup>Ga foram melhorados com o recurso à tomografia computadorizada com emissão de fotões (SPECT) ou à tomografia com emissão de positrões (PET), que permitem diferenciar com maior precisão as áreas de linfoma das massas benignas que também captam *Gallium-67*<sup>49-51</sup>.

Para além de ajudar a determinar a remissão completa, o <sup>67</sup>Ga pode também ter valor prognóstico já que se se mantiver positivo durante o tratamento (após 2 a 6 ciclos dependendo dos autores), a probabilidade de o linfoma progredir ou recair precocemente é grande<sup>2,46,52</sup>.

### **Tempo para a recaída**

O tempo que medeia entre a data da remissão completa (data de diagnóstico ou do fim do primeiro tratamento para alguns autores) e a recaída tem sido considerado um importante factor de prognóstico da resposta ao tratamento de salvação e da sobrevivência nos doentes que recaem. Estratificando os doentes em dois grupos de risco consoante a

recaída se faz precoce ou tardiamente, verifica-se que os doentes que recaem precocemente (até 6 meses ou até 2 anos após a remissão completa, dependendo dos autores) respondem pior ao tratamento de salvação (37% vs 50%) e têm pior sobrevivência (13% vs 27%)<sup>43,53,54</sup>.

## 1.4 – Factores de prognóstico biológicos

A heterogeneidade clínica dos linfomas difusos de grandes células B reflete, muito provavelmente, as diferentes características biológicas das células tumorais, nomeadamente no que se refere a alterações genéticas, a alterações na regulação do ciclo celular ou no complexo major de histocompatibilidade, a diferentes formas de expressão das moléculas de adesão ou à produção de citocinas pelas células do linfoma ou pelas células do hospedeiro em resposta às primeiras<sup>55,56</sup>. Diversos destes parâmetros têm sido avaliados como possíveis indicadores de prognóstico, com resultados de um modo geral controversos (tabela 7).

**Tabela 7: Factores de prognóstico biológicos nos LDGC**

Marcador	Valor prognóstico
Proteína <i>bcl-2</i>	Diminuição da SLD ± SG <sup>57-64</sup>
Rearranjo <i>bcl-2</i> , t(14;18)	Sem valor prognóstico <sup>57-60,63,64</sup>
Rearranjo <i>bcl-6</i> , (3q27)	Controverso (indicador de bom prognóstico?) <sup>55-57,59,63,65</sup>
Rearranjo <i>myc</i> , (t8;14)	Elevação da taxa RC e SLD? <sup>57</sup>
Índice de proliferação	Diminuição da SG e SLD (e da taxa RC?) <sup>60,66-69</sup>
Mutações do p53	Controverso (efeito adverso na taxa RC, SG e SLD?) <sup>60-62,72</sup>
Proteína <i>retinoblastoma</i>	Aumento da SG? <sup>60</sup>
<b>Outros marcadores:</b>	
Alterações do HLA <sup>16,73,74</sup>	
Moléculas de adesão (CD 44, ICAM-1) <sup>16,55,76-79</sup>	
Citocinas (IL-6, IL-10, TNF, receptores solúveis do TNF e IL-2) <sup>55</sup>	

### Alterações genéticas

Diversas alterações cromossómicas têm sido descritas nos LDGC (alterações dos cromossomas 1, 2, 3, 6, 7, 11, 12, 14, 17 e 18) mas nenhuma foi ainda definitivamente aceite como indicador de prognóstico nos LDGC-B<sup>55,63</sup>.

- *Expressão e rearranjo bcl-2* – detectada em 45 a 58% dos LDGC-B a expressão da proteína *bcl-2* tem sido apontada em múltiplos estudos como um factor de prognóstico independente do IPI associando-se a uma diminuição da sobrevivência livre de doença (SLD) e, em alguns trabalhos, a uma diminuição da sobrevivência global (SG) sem afectar a taxa de remissão completa (RC)<sup>57-64</sup>. A expressão desta proteína não parece, no entanto, correlacionar-se com a presença do rearranjo do oncogene *bcl-2*, detectável em 12% a 30% dos LDGC (sobretudo nos linfomas ganglionares)<sup>10,57,60,64</sup>.
- *Rearranjo bcl-6* – Detectado em 15 a 35% dos LDGC, em 1994 foi considerado um importante factor de prognóstico por Offit e colaboradores, ao verificarem que mais de 80% dos doentes com LDGC em que este rearranjo estava presente ficavam sem progressão da doença<sup>65</sup>. Este valor prognóstico do *bcl-6* não foi, no entanto, confirmado por outros autores<sup>55-57,59,63,65</sup>.
- *Rearranjo myc* – Ao contrário do *rearranjo bcl-2* o *rearranjo myc*, detectado em 2 a 16% dos LDGC, é mais comum nos linfomas extraganglionares e parece associar-se a um aumento da taxa de remissão completa e sobrevivência global<sup>57</sup>.

### **Alterações na regulação do ciclo celular**

- *Índice de proliferação tumoral* - Embora a maioria das séries sugira que uma elevada actividade proliferativa (fracção em fase S > 15-20%) se associa a uma diminuição da sobrevivência global, o valor prognóstico deste índice é ainda controverso<sup>16,55,56,60,66-71</sup>. Num estudo do grupo SWOG a sobrevivência ao fim de um ano foi de 18% nos doentes com mais de 80% das células Ki-67 positivas contra 82% nos doentes com baixo índice proliferativo. Curiosamente, 5 dos 11 doentes com índice proliferativo elevado foram classificados pelo IPI como de risco baixo ou intermédio-baixo e, destes 5, quatro morreram no 1º ano<sup>66</sup>. Entretanto, em 1996 Winter e colaboradores publicaram os resultados de um estudo com 242 doentes em que, embora houvesse uma tendência para que a um índice de proliferação baixo se associasse uma maior sobrevivência, este facto não teve significado estatístico<sup>69</sup>.

- *Mutações da proteína p53* – Comuns em tumores “sólidos”, detectam-se também em alguns LNH, mas o seu valor prognóstico nos linfomas é ainda controverso<sup>56,60-62,72</sup>.
- *Proteína associada ao retinoblastoma (RB)* - Envolvida no controle do ciclo celular e apoptose, a diminuição da expressão deste proteína parece estar associada a mau prognóstico em diversos tumores incluindo os LDGC<sup>60</sup>.

### **Alterações no complexo major de histocompatibilidade**

Numa pequena série, Miller e colaboradores verificaram que os doentes cujos linfomas não expressavam o HLA-DR tinham uma sobrevivência menor que aqueles com linfomas HLA-DR positivos, no entanto esta diferença não atingiu valores significativos em outros estudos<sup>73,74</sup>.

### **Diferentes formas de expressão das moléculas de adesão**

O *antigénio CD 44* (ou “*lymphocyte homing receptor*”) facilita a ligação dos linfócitos ao endotélio das vénulas e permite a sua saída dos gânglios<sup>75</sup>. Em 1990, Horst e colaboradores verificaram que se apresentavam com doença avançada 51% dos doentes cujos linfomas tinham *altos níveis do antigénio CD 44* e apenas 12% daqueles com baixos níveis de CD 44<sup>76</sup>. Posteriormente, outros trabalhos demonstraram que os doentes com LNH ricos em CD 44 tinham menor sobrevivência<sup>16,55,77,78</sup>

## 2 - Objectivos

1. Caracterizar, clínica e analiticamente, a população de doentes (idade >15 anos) com linfomas difusos de grandes células B (LDGC-B) inscritos no Instituto Português de Oncologia – Centro do Porto.
2. Identificar os parâmetros clínicos e analíticos que, determinados na altura do diagnóstico, possam ter valor prognóstico na resposta ao tratamento, sobrevivência livre de doença e sobrevivência global nos doentes com LDGC-B tratados em 1<sup>a</sup> linha com antracilinas.
3. Avaliar o impacto prognóstico do Índice de Prognóstico Internacional (IPI) na população estudada (doentes tratados com antracilinas em 1<sup>a</sup> linha).

### **3 - Material e Métodos**

#### **3.1 – Doentes em estudo**

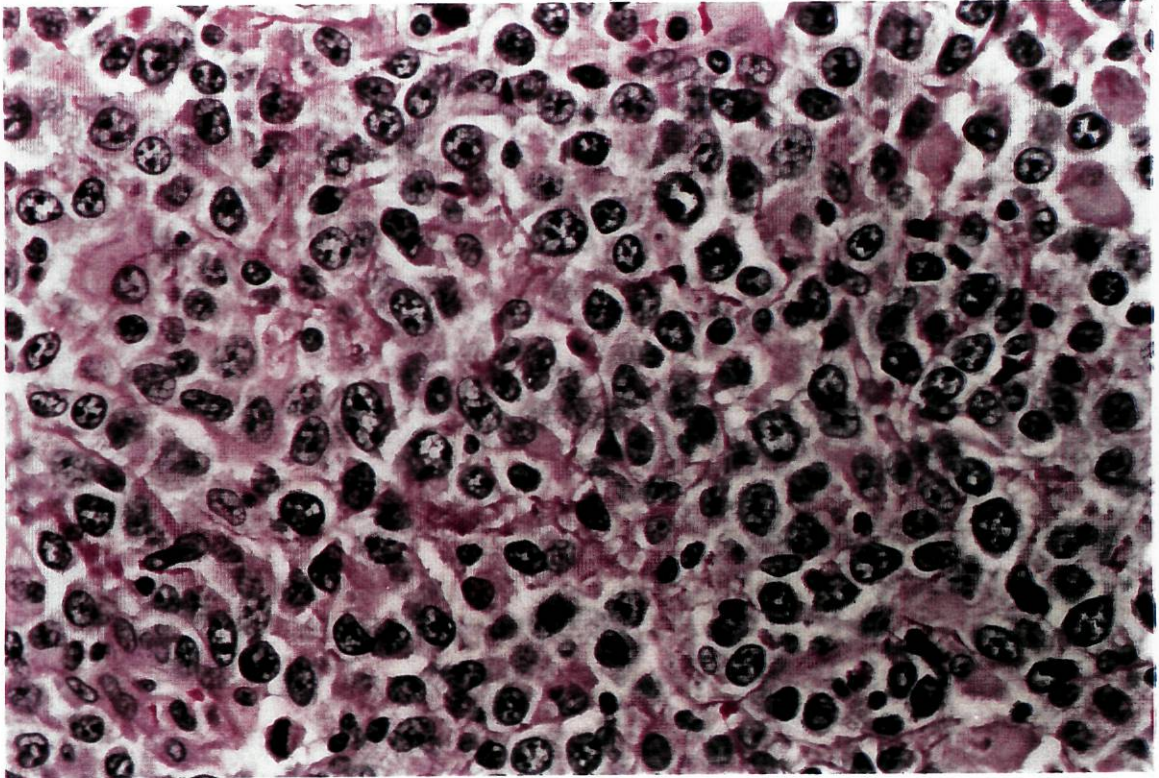
Foram analisados, retrospectivamente, 116 processos clínicos de doentes imunocompetentes com idade superior a 15 anos portadores de linfoma difuso de grandes células B (linfomas centrolásticos e imunoblásticos da classificação de Kiel e alguns difusos mistos de pequenas e grandes células da Working Formulation), inscritos no IPO – Porto, de Janeiro de 1990 a 31 de Julho de 1998 (fig. 1A e B). Não foram considerados os doentes com linfomas anaplásticos, linfomas primários do mediastino ou linfomas B ricos em células T, por serem entidades com características próprias que os permitem de alguma forma individualizar dos restantes linfomas incluídos no grupo dos linfomas difusos de grandes células B da classificação REAL.

Após revisão dos diagnósticos histológicos por um anatomopatologista do IPO – Porto, foram excluídos 5 doentes: 4 por “material insuficiente” e um por poder ser um linfoma de células do manto. Posteriormente foram excluídos mais 4 doentes, 3 por falta de informação no processo clínico e um por ser portador do vírus de imunodeficiência humana (HIV). Assim, o número total de doentes considerados foi de 107, dos quais apenas 95 foram tratados com esquemas de quimioterapia contendo antraciclínicas.

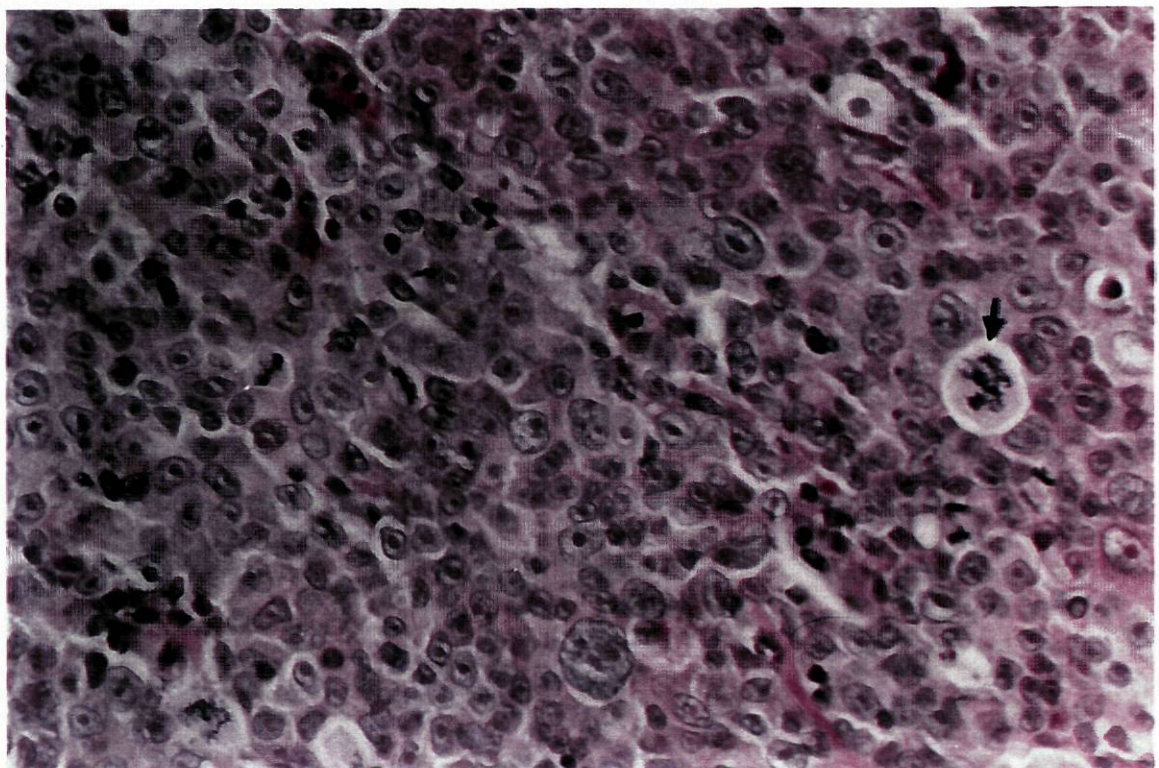
A avaliação inicial dos doentes incluiu o exame clínico, hemograma, bioquímica sérica (incluindo função renal, perfil hepático, DHL, proteínas totais e albumina), telerradiografia de tórax, TAC abdominopélvico (e de outras áreas quando necessário), biópsia de medula óssea (na maioria dos casos unilateral) e despiste do vírus de imunodeficiência humana (HIV 1 e 2). Por este estudo se basear na análise retrospectiva de processos clínicos elaborados por diversos clínicos, sem um protocolo de estudo previamente estabelecido, outros parâmetros foram avaliados num número variável de doentes.

A análise dos factores de prognóstico relacionados com a resposta ao tratamento, sobrevivência livre de doença e sobrevivência global, bem como a avaliação do impacto prognóstico do Índice de Prognóstico Internacional (IPI), incidiu apenas sobre os 95 doentes tratados com antraciclínicas.

**Figura 1:** Aspectos morfológicos de 2 casos de linfoma difuso de grandes células B



**A -** Predomínio de células do tipo centroblástico (HE x 300)



**B -** Predomínio de células do tipo imunoblástico. De notar o elevado índice mitótico e a presença de mitoses atípicas (seta) (HE x 300)

### 3.2 – Variáveis analisadas

Para além dos factores incluídos no IPI (idade  $\leq 60$  anos /  $> 60$  anos, *performance status* - escala ECOG, estadio *Ann Arbor*, número de locais extraganglionares envolvidos e DHL sérica) foram considerados potenciais indicadores de prognóstico:

- Tempo que medeia entre o 1º sintoma e o início do tratamento;
- Presença de sintomas B (febre  $> 38^\circ$  C sem outra causa aparente, no mês anterior ao diagnóstico; suores nocturnos; emagrecimento superior a 10% do peso corporal nos 6 meses anteriores ao diagnóstico);
- Dimensões do maior tumor  $\geq 10$  cm ou, para massas torácicas,  $\geq 1/3$  do diâmetro transversal do tórax ao nível da 5ª e 6ª vertebrae dorsais (“bulky”);
- Linfoma primariamente ganglionar *versus* extraganglionar;
- Áreas ganglionares envolvidas (gânglios cervicais, supraclaviculares, axilares, mediastínicos, abdominais ou inguinais);
- Envolvimento da medula óssea, fígado ou anel Waldeyer;
- Presença de anemia (sexo masculino - Hg  $< 11$  g/dl; sexo feminino Hg  $< 10$  g/dl);
- Velocidade de sedimentação elevada (VS  $> 30$  ou  $50$  mm);
- Alterações do número absoluto de linfócitos circulantes;
- Presença de hipoproteinemia (proteínas totais  $< 60$  g/L) ou hipoalbuminemia (albumina sérica  $< 35$  g/L);
- $\beta_2$  - microglobulina ( $\beta_2$ -M) elevada ( $> 3,0$  mg/L);
- Tratamento realizado (esquema de quimioterapia  $\pm$  radioterapia e/ou cirurgia);
- Resposta ao tratamento inicial – definiu-se *remissão completa* como o desaparecimento de todas as evidências clínicas, analíticas e radiológicas do linfoma durante pelo menos um mês; *remissão parcial* como uma redução das massas tumorais para pelo menos 50% do tamanho inicial; *má resposta* ou *progressão* quando a doença reduziu para menos de 50% ou até aumentou<sup>80</sup>.

Procurou também analisar-se a relação entre linfócitos  $CD4^+$  /  $CD8^+$  circulantes, bem como os níveis séricos da proteína C-reativa (PCR), interleucina 6 (IL-6) e receptor da interleucina 2 (IL-2R), mas o número de processos clínicos em que estes dados estavam disponíveis foi escasso.

Nos doentes que entraram em remissão completa calculou-se a *sobrevivência livre de doença* (SLD) com base no tempo decorrido entre o fim do tratamento e a recaída (data da última observação sem evidência de doença ou morte naqueles em que a doença não recaiu). A *sobrevivência global* (SG) foi calculada como o intervalo de tempo entre a data do diagnóstico e a data da morte ou última observação.

### 3.3 – Análise estatística

Para identificar os factores que isoladamente influenciaram a obtenção da remissão completa foram usadas tabelas de contingência e o teste do qui-quadrado de Pearson ( $\chi^2$ ).

A sobrevivência global (SG) da totalidade dos doentes e a sobrevivência livre de doença (SLD) dos que entraram em remissão completa foram calculadas pelo *método de Kaplan-Meier*. O significado estatístico da associação entre cada um dos parâmetros biológicos analisados e a sobrevivência global e livre de doença foi determinado pelo *teste de log-rank*. Para identificar os parâmetros que afectam o prognóstico de forma significativa e independente foi efectuada uma análise multifactorial usando o modelo de regressão de Cox "*Cox Proportional Hazard Model*" pelo método "*Enter first condition*".

O nível de significância admitido foi de  $p < 0,05$ .

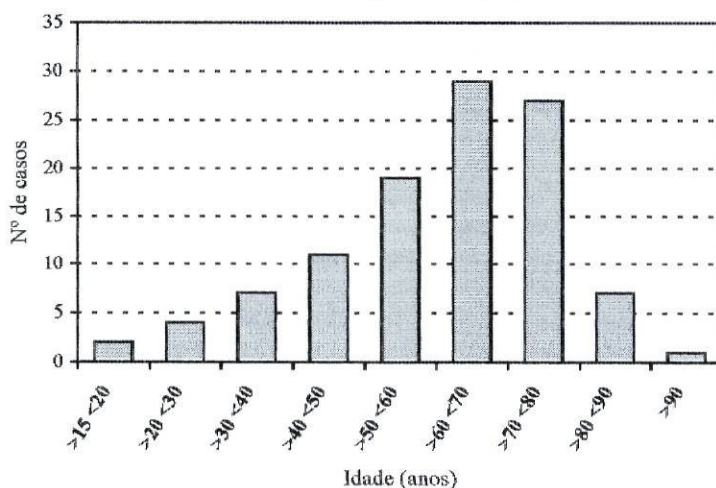
A análise estatística foi efectuada com o programa SPSS 7.5 para Windows 97®.

## 4 - Resultados

### 4.1 – Características dos 107 doentes

Com idades compreendidas entre os 17 e os 94 anos (mediana = 63 anos; fig. 2), 51 doentes eram do sexo masculino e 56 do sexo feminino. Sete doentes tinham antecedentes pessoais de carcinomas (2 espinocelulares da pele, 1 do colo do útero, 1 da mama, 1 gástrico, 1 do cólon e 1 colangiocarcinoma) tendo sido tratados com cirurgia. A doente com carcinoma do colo do útero fez também radioterapia local. Trinta doentes referiam antecedentes familiares oncológicos.

Fig. 2 - Distribuição por grupos etários



As principais características clínicas dos doentes à data de diagnóstico ( $n = 107$ ) são apresentadas no quadro 1.

O tempo decorrido entre o 1º sintoma e o diagnóstico do linfoma variou entre 2 dias e 38 meses (mediana: 3,5 meses) sendo os “nódulos” (adenomegalias) o 1º sintoma mais vezes referido pelos doentes (34,6%), logo seguidos pelas dores abdominais (19,6%) e pelas massas extraganglionares (15,9%). Os grupos ganglionares mais vezes envolvidos foram os cervicais (43% dos doentes) e os abdominais (37,4%), seguidos pelos gânglios inguinais (26,2%), os supraclaviculares e axilares (17,7%) e os mediastínicos (10,3%).

Entre o 1º sintoma e o início do tratamento decorreram entre 0 e 39 meses com uma mediana de 4,9 meses. Cinco doentes não fizeram quimioterapia: 3 devido à idade (73, 79 e 94 anos); 1 por ter falecido durante o estadiamento; 1, com linfoma localizado à

pálpebra, por ter sido tratado com cirurgia e radioterapia, encontrando-se sem evidência de doença desde 1994. Dos 102 doentes que foram tratados com quimioterapia (tabela 8), um foi tratado com vimblastina + prednisolona e 6 fizeram quimioterapia com antraciclina apenas em 2ª linha, isto é, após falência da cirurgia e/ou radioterapia. Assim, apenas 95 doentes (88,8%) foram tratados com um esquema de poliquimioterapia contendo antraciclina, isoladamente em 46 casos (43%) ou em associação com a radioterapia (23 doentes), cirurgia (20 doentes) ou ambas (6 doentes).

**Tabela 8: Quimioterapia efectuada em 1ª linha de tratamento**

Esquema	Nº	Idade Mediana (mín. - Máx.)
Nenhum	11	75 anos (52 - 94)
CHOP <sup>a</sup>	30	60 anos (32 - 69)
CNOP <sup>b</sup>	31	74 anos (59 - 85)
ProMACE-CytaBOM <sup>c</sup>	24	41 anos (17 - 68)
ProMACE-MOPP <sup>d</sup>	2	57 anos (56 - 58)
Outra com antraciclina	8	60 anos (38 - 81)
Vimblastina + Prednisolona	1	73 anos

a - CHOP: Ciclofosfamida (CTX), Doxorubicina (Doxo), Vincristina (VCR) e prednisolona (Pred); b- CNOP: CTX, Mitoxantrone, VCR e Pred; c - ProMACE-CytaBOM: Pred, Metetrexato, Leucovorin, Doxo, CTX, VP-16, ARA-C, Bleomicina, VCR; d - ProMACE-MOPP: Pred, Metetrexato, Leucovorin, Doxo, CTX, VP-16, Mostarda nitrogenada, VCR, Procarbazina

Após o 1º tratamento 56 doentes estavam em remissão completa (52,3%), 26 em remissão parcial (24,3%) e 21 (19,6%) em progressão. Quatro doentes (3,7%) faleceram durante o tratamento, 3 por progressão da doença e 1 por sepsis.

A mediana do tempo de seguimento (*follow-up*) foi de 15,8 meses, variando entre um mínimo de 11 dias e um máximo de 9 anos sendo a mediana do tempo livre de doença de 2 meses (mín.: 0 dias; máx.: 92 meses).

A sobrevivência global aos 5 anos foi de 52% (54% para os 95 doentes tratados com antraciclina) (fig. 3). A sobrevivência livre de doença aos 5 anos foi de 44% (39% dos tratados com antraciclina) (fig. 4).

Fig. 3: Sobrevivência global

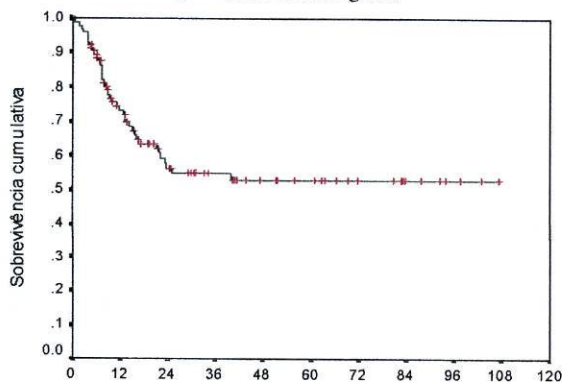
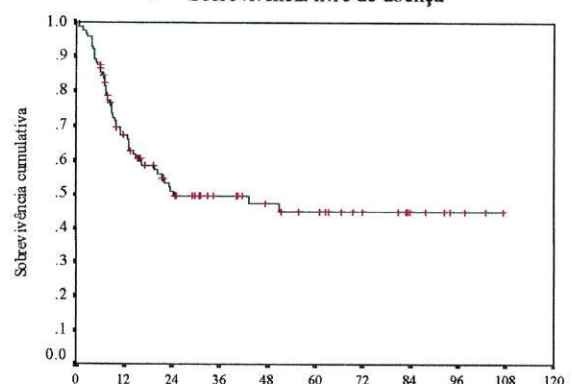


Fig 4: Sobrevivência livre de doença



**Quadro 1: Características dos doentes (n = 107)**

Características	Total de doentes	Tratados com antraciclina
	Nº (%)	Nº (%)
Sexo		
Masculino	51 (47,7)	47 (49,5)
Feminino	56 (52,3)	48 (50,5)
Idade		
≤ 60 anos	46 (43,0)	44 (46,3)
> 60 anos	61 (57,0)	51 (53,7)
Estado geral (ECOG)		
0 (atividade total)	19 (17,8)	17 (17,9)
1 (ambulatório)	63 (58,9)	56 (58,9)
2 (acamado < 50% do tempo)	11 (10,3)	9 (9,5)
3 (acamado > 50% do tempo)	13 (12,1)	12 (12,6)
4 (100% acamado)	1 (0,9)	1 (1,1)
Estadio (Ann Arbor)		
I	31 (29,0)	25 (26,3)
II	38 (35,5)	34 (35,8)
III	12 (12,2)	10 (10,5)
IV	26 (24,3)	26 (27,4)
Sintomas B		
Ausentes	60 (56,1)	50 (52,6)
Presentes	47 (43,9)	45 (47,4)
LNH primariamente extraganglionar		
Sim	55 (51,4)	48 (50,5)
Não	52 (48,6)	47 (49,5)
Locais de envolvimento extraganglionar		
Nenhum	33 (30,8)	28 (29,5)
ORL	20 (18,7)	12 (12,6)
Estômago/Intestino	17 (13,1)	14 (14,7)
Medula óssea	10 (9,3)	4 (4,2)
Fígado	8 (7,4)	4 (4,2)
Pele	7 (6,4)	4 (4,2)
Outros	23 (21,3)	16 (16,8)
≤ 1 local extraganglionar	89 (83,2)	77 (81,1)
> 1 local extraganglionar	18 (16,8)	18 (18,9)
Áreas ganglionares envolvidas		
Nenhuma	28 (26,2)	24 (25,3)
Gg. supradiafragmáticos	30 (28,0)	25 (26,3)
Gg. infradiafragmáticos	25 (23,4)	24 (25,3)
Gg. supra e infradiafragmáticos	24 (22,4)	22 (23,2)
Dimensões da maior massa tumoral		
< 10 cm	46 (59,7)	40 (57,1)
≥ 10 cm	31 (40,3)	30 (42,9)
Desconhecidas	30	25

**Quadro 1: Características dos doentes (continuação)**

Características	Total de doentes	Tratados com antraciclina
	Nº (%)	Nº (%)
DHL sérica		
Normal	56 (52,3)	48 (50,5)
Elevada (>1 x normal)	51 (47,7)	47 (49,5)
Anemia		
Não	90 (84,1)	78 (82,1)
Sim	17 (15,9)	17 (17,9)
Alterações do número de linfócitos		
Não	79 (73,8)	67 (70,5)
Linfopenia (< 1 x10 <sup>9</sup> /L)	22 (20,6)	22 (23,2)
Linfocitose (> 3,5 x 10 <sup>9</sup> /L)	6 (5,6)	6 (6,3)
Proteínas totais		
Normais	88 (83,8)	76 (81,7)
Baixas (< 60 g/L)	17 (16,2)	17 (18,3)
Desconhecidas	2	2
Albumina sérica		
Normal	81 (77,1)	69 (74,2)
Baixa (< 35 g/L)	24 (22,9)	24 (25,8)
Desconhecida	2	2
Imunoglobulinas séricas		
Normais	13 (25,0)	12 (25,5)
Alteradas	39 (75,0)	35 (74,5)
Desconhecidas	55	48
β <sub>2</sub> - microglobulina sérica		
Normal	43 (55,1)	39 (54,9)
Elevada (> 3 mg/dl)	35 (44,9)	32 (45,1)
Desconhecida	29	24
IPI (todas as idades)		
Baixo (0-1)	51 (47,7)	45 (47,4)
Intermédio / baixo (2)	27 (25,2)	23 (24,2)
Intermédio / alto (3)	15 (14,0)	14 (14,7)
Alto (4-5)	14 (13,1)	13 (13,7)
Resultado do 1º tratamento		
Remissão completa	56 (52,3)	49 (51,6)
Remissão parcial	26 (24,3)	25 (26,3)
Má resposta ou progressão	21 (19,6)	21 (22,1)
Morte	4 (3,7)	0

#### 4.2 – Análise dos factores de prognóstico associados à resposta à quimioterapia com antraciclinas

Na análise dos factores de prognóstico verificou-se que o *Índice de Prognóstico Internacional (IPI)* determinado na altura do diagnóstico se associava, significativamente, com o resultado do primeiro tratamento ( $p < 0,001$ ), já que 95% dos doentes que entraram em remissão completa (46 em 49) tinham IPI baixo ou intermédio / baixo e dos 21 doentes com progressão da doença após o 1º tratamento, 66% tinham IPI intermédio / alto ou alto. Verificou-se também uma associação estatisticamente significativa entre cada uma das variáveis que integram o IPI (idade, “performance status”, estadio Ann Arbor, nº de locais extraganglionares envolvidos e DHL sérica) e a resposta ao 1º tratamento (quadro 2).

**Quadro 2: Associação do IPI e seus parâmetros com o resultado do 1º tratamento**

	Resultado do primeiro tratamento (n = 95)						
	RC		RP		Progressão	p	
	n	(%)	n	%			n
<i>Idade</i> ≤ 60 anos	26	(59)	15	(34)	3	(07)	<i>0,003</i>
> 60 anos	23	(45)	10	(20)	18	(35)	
<i>“Performance status”</i>							<i>&lt;0,001</i>
- ECOG 0 – 1	46	(63)	16	(22)	11	(15)	
- ECOG ≥ 2	3	(14)	9	(41)	10	(45)	
<i>Estadio (Ann Arbor)</i>							<i>&lt;0,001</i>
- I – II	40	(68)	10	(17)	9	(15)	
- III – IV	9	(25)	15	(42)	12	(33)	
<i>Nº locais extraganglionares</i>							<i>0,003</i>
- ≤ 1	46	(60)	18	(23)	13	(17)	
- > 1	3	(17)	7	(39)	8	(44)	
<i>DHL sérica</i>							<i>0,009</i>
- Normal	32	(67)	10	(21)	6	(12)	
- Elevada	17	(36)	15	(32)	15	(32)	

RC: Remissão completa; RP: Remissão parcial

Dos doentes com *sintomas B* na altura do diagnóstico (n = 45) só 36% entraram em remissão completa com o 1º tratamento, contra 66% dos doentes que não manifestavam estes sintomas ( $p = 0,009$ ).

O sexo, o tamanho da maior massa tumoral ("Bulky"  $\geq 10$  cm) e a localização primária do linfoma (ganglionar versus extraganglionar) não influenciaram significativamente a resposta ao 1º tratamento.

Verificou uma associação com significado estatístico entre o envolvimento de gânglios axilares ou inguinais e a resposta ao 1º tratamento, o mesmo não acontecendo relativamente ao envolvimento de gânglios cervicais, supraclaviculares, abdominais ou mediastínicos. Também o envolvimento da medula óssea ou fígado não se relacionou estatisticamente com a resposta à quimioterapia inicial (quadro 3).

**Quadro 3: Associação entre as áreas envolvidas pelo linfoma e a resposta ao 1º tratamento**

		Total doentes	Remissão completa		
		Nº	Nº	%	p
Gânglios cervicais	Negativos	55	32	58	0,306
	Positivos	40	17	43	
Gg. supraclaviculares	Negativos	76	43	57	0,149
	Positivos	19	6	32	
Gânglios axilares	Negativos	77	46	60	0,004
	Positivos	18	3	17	
Gânglios mediastínicos	Negativos	85	45	53	0,718
	Positivos	10	4	40	
Gânglios abdominais	Negativos	57	33	58	0,150
	Positivos	38	16	42	
Gânglios inguinais	Negativos	70	43	61	0,006
	Positivos	25	6	24	
Medula óssea	Negativa	85	45	54	0,349
	Positiva	10	3	30	
Fígado	Negativo	87	47	54	0,052
	Positivo	8	2	25	

Não se verificou uma associação significativa entre a resposta ao 1º tratamento e a elevação da velocidade de sedimentação para valores acima de 30 mm ( $p = 0,945$ ) ou acima de 50 mm ( $p = 0,951$ ).

A existência de *anemia*, *linfopenia*, *hipoproteinemia*, *hipoalbuminemia* e elevação da  $\beta_2$ -*microglobulina* na altura do diagnóstico influenciou, negativamente, a resposta ao 1º tratamento (quadro 4).

A resposta ao tratamento dependeu também do *esquema de quimioterapia* realizado (quadro 4).

**Quadro 4: Valores analíticos, quimioterapia e resultado do 1º tratamento**

	Resultado do primeiro tratamento						p
	RC		RP		Progressão		
	n	(%)	n	%	n	%	
<b>Anemia (n = 95)</b>							
Não	42	(54)	23	(30)	13	(16)	<b>0,019</b>
Sim	7	(41)	2	(12)	8	(47)	
<b>Linfopenia (n = 95)</b>							
Não	45	(62)	17	(23)	11	(15)	<b>0,001</b>
Sim	4	(18)	8	(36)	10	(46)	
<b>Hipoproteinemia (n = 93)</b>							
Não	45	(59)	19	(25)	12	(16)	<b>0,003</b>
Sim	3	(18)	6	(35)	8	(47)	
<b>Hipoalbuminemia (n = 93)</b>							
Não	42	(61)	16	(23)	11	(16)	<b>0,008</b>
Sim	6	(25)	9	(38*)	9	(38*)	
<b><math>\beta_2</math>-microglobulina (n = 71)</b>							
Baixa	29	(74)	7	(18)	3	(08)	<b>0,001</b>
Elevada	10	(31)	10	(31)	12	(38)	
<b>1º Esquema de quimioterapia</b>							
CHOP	18	(60)	9	(30)	3	(10)	<b>0,001</b>
CNOP	9	(29)	6	(19)	16	(52)	
ProMACE-CytaBOM	15	(63)	7	(29)	2	(08)	
Outro com antraciclina	7	(70)	3	(30)	0	(00)	

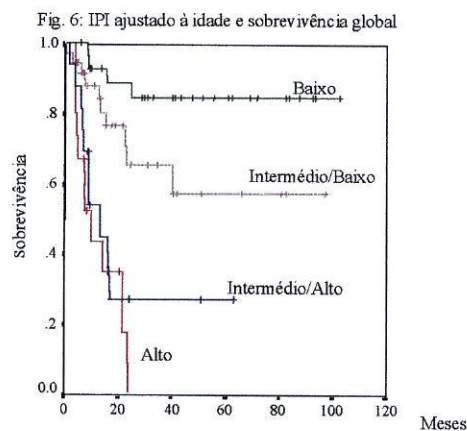
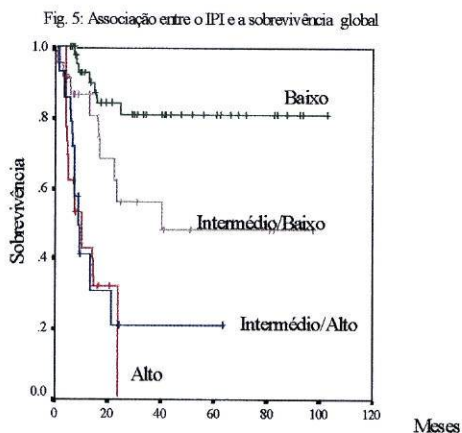
\*Valor arredondado de 37,5%

### 4.3 – Análise dos factores de prognóstico associados à sobrevivência global e livre de doença dos doentes tratados com antraciclinas

O índice de prognóstico internacional associou-se significativamente com a sobrevivência global (fig. 5 e 6) e livre de doença ( $p < 0,001$ ). Analisando separadamente o valor prognóstico de cada um dos parâmetros que integram o IPI, verificou-se que, com excepção da idade, todos os outros parâmetros (“performance status”, estadio, nº de locais extraganglionares envolvidos e DHL sérica) se associaram, significativamente, com a SG e a SLD. A idade na altura do diagnóstico ( $\leq 60$  anos /  $> 60$  anos) associou-se significativamente com a SG ( $p < 0,05$ ) mas não com a SLD ( $p = 0,09$ ) (quadro 5).

**Quadro 5: Associação do IPI e seus parâmetros com a SLD e a SG (n = 95)**

	Nº (%)	SLD aos 5 anos		SG aos 5 anos	
		%	P	%	p
<i>IPI (todas as idades)</i>					
Baixo (0-1)	45 (47)	73		80	
Intermédio / baixo (2)	23 (24)	37	<0,001	47	<0,001
Intermédio / alto (3)	14 (15)	8		19	
Alto (4-5)	13 (14)	0		0	
<i>IPI ajustado à idade</i>					
Baixo (0-1)	29 (30)	80		84	
Intermédio / baixo (2)	35 (37)	43	<0,001	56	<0,001
Intermédio / alto (3)	16 (17)	18		26	
Alto (4-5)	15 (16)	0		0	
<i>Idade</i>					
$\leq 60$ anos	44 (46)	48	0,094	67	0,046
$> 60$ anos	51 (54)	40		43	
<i>“Performance status”</i>					
- ECOG 0-1	73 (77)	55	<0,001	63	<0,001
- ECOG $\geq 2$	22 (23)	10		20	
<i>Estadio (Ann Arbor)</i>					
- I – II	59 (62)	63	<0,001	72	<0,001
- III – IV	36 (38)	14		26	
<i>Nº locais extraganglionares</i>					
- $\leq 1$	77 (81)	55	<0,001	59	0,020
- $> 1$	18 (19)	7		32	
<i>DHL sérica</i>					
Normal	48 (51)	61	<0,001	69	<0,001
Elevada	47 (49)	24		37	



A presença de *sintomas B* associou-se a uma diminuição significativa da SLD ( $p < 0,01$ ) e da SG ( $p = 0,01$ ) e a existência de uma *massa tumoral*  $\geq 10$  cm (“*Bulky*”  $\geq 10$  cm) diminuiu a SLD ( $p = 0,02$ ) sem afectar significativamente a SG ( $p = 0,06$ ). O *sexo* e a *localização primária do linfoma* (ganglionar vs extraganglionar) não influenciaram a SG nem a SLD.

O *envolvimento de gânglios axilares* ou *inguinais* diminuiu, significativamente, a SLD e a SG, o mesmo não se verificando com os gânglios cervicais, supraclaviculares, mediastínicos ou abdominais. O *envolvimento da medula óssea ou fígado* também não se correlacionou significativamente com a sobrevivência (quadro 6).

Foi também analisada a possível relação entre alguns parâmetros analíticos fáceis de determinar no momento de diagnóstico e a SLD e a SG. Assim, verificou-se que a existência de *linfopenia* (linfócitos  $< 1 \times 10^9/L$ ), *hipoproteinemia* (proteínas totais  $< 60$  g/L) ou *hipoalbuminemia* (albumina  $< 35$  g/L) se associou a uma redução significativa da SLD e da SG (quadro 6). Pelo contrário, a presença de *anemia* ou alterações da *velocidade de sedimentação* (VS  $> 30$  ou  $> 50$  mm) não se correlacionou nem com a SLD nem com a SG.

Dos doentes com  $\beta_2$ -*microglobulina*  $> 3,0$  mg/L só 21% estavam sem evidência de doença ao fim de 5 anos ( $p < 0,001$ ), encontrando-se vivos no mesmo período de tempo, 33% dos 71 doentes em que foi possível saber o valor daquela proteína ( $p < 0,001$ ) (quadro 6).

**Quadro 6: Associação entre as áreas envolvidas pelo linfoma e a sobrevivência**

		Nº (%)	SLD aos 5 anos		SG aos 5 anos	
			%	p	%	P
Gânglios cervicais	Negativos	55 (58)	52	0,367	60	0,574
	Positivos	40 (42)	33		47	
Gg. supraclaviculares	Negativos	76 (80)	53	0,195	54	0,962
	Positivos	19 (20)	22		55	
Gânglios axilares	Negativos	77 (81)	54	<b>0,007</b>	63	<b>0,011</b>
	Positivos	18 (19)	11		22	
Gânglios mediastínicos	Negativos	85 (90)	45	0,710	54	0,981
	Positivos	10 (10)	34		53	
Gânglios abdominais	Negativos	57 (60)	48	0,520	54	0,766
	Positivos	38 (40)	37		55	
Gânglios inguinais	Negativos	70 (74)	53	<b>0,005</b>	62	<b>0,021</b>
	Positivos	25 (26)	20		34	
Medula óssea	Negativa	85 (89)	49	0,234	58	0,761
	Positiva	10 (11)	0		0	
Fígado	Negativo	87 (92)	47	0,571	58	0,457
	Positivo	8 (8)	25		21	
Anel Waldeyer	Negativo	79 (83)	44	0,679	54	0,751
	Positivo	16 (17)	40		52	
Anemia	Negativo	78 (82)	47	0,061	57	0,064
	Positivo	17 (18)	31		43	
Linfopenia	Negativo	73 (77)	54	<b>&lt;0,001</b>	63	<b>&lt;0,001</b>
	Positivo	22 (23)	15		23	
VS > 30 mm (n = 88)	Negativo	50 (57)	44	0,978	51	0,774
	Positivo	38 (43)	44		55	
Hipoproteinemia (n = 93) (< 60 g/L)	Negativo	76 (82)	54	<b>&lt;0,001</b>	61	<b>&lt;0,001</b>
	Positivo	17 (18)	18		22	
Hipoalbuminemia (n = 93) (< 35 g/L)	Negativo	69 (74)	51	<b>&lt;0,001</b>	61	<b>&lt;0,001</b>
	Positivo	24 (26)	14		33	
$\beta_2$ -microglobulina (n = 71)	Baixa	39 (55)	68	<b>&lt;0,001</b>	75	<b>&lt;0,001</b>
	Elevada	32 (45)	21		33	

O tempo decorrido entre o primeiro sintoma referido pelo doente e o início do tratamento ( $\leq 6$  meses /  $> 6$  meses) não influenciou significativamente a SLD nem a SG (quadro 7).

Apesar de os 95 doentes terem sido todos tratados com um *esquema de poliquimioterapia* contendo antraciclinas, verificou-se uma diferença estatisticamente significativa na SG ( $p < 0,01$ ) e na SLD ( $p < 0,01$ ) entre os 4 esquemas analisados (CHOP, CNOP, ProMACE-CytaBOM, outro esquema). Esta diferença deveu-se sobretudo ao esquema CNOP, já que dos 31 doentes que o fizeram, só 26% permaneciam vivos 5 anos após o diagnóstico em oposição com mais de 60% dos doentes tratados com os outros esquemas (quadro 7) (fig. 7 e 8). O resultado obtido após o 1º esquema de tratamento (remissão completa, remissão parcial ou progressão) também influenciou significativamente a SLD e a SG ( $p < 0,001$ ) (quadro 7).

**Quadro 7: Associação entre o tratamento e a sobrevivência livre de doença e global**

Características	Nº (%)	SLD aos 5 anos		SG aos 5 anos	
		%	p	%	p
Tempo do 1º sintoma ao tratamento (n=94)					
≤ 6 meses	63 (67)	49	0,492	57	0,522
> 6 meses	31 (33)	32		45	
1º Esquema de quimioterapia					
CHOP	30 (32)	52	<b>0,001</b>	64	<b>0,007</b>
CNOP	31 (33)	23		26	
ProMACE-CytaBOM	24 (25)	54		67	
Outro com antraciclina	10 (10)	68		68	
Resultado do 1º esquema de tratamento					
Remissão completa	49 (52)	85	<b>&lt;0,001</b>	86	<b>&lt;0,001</b>
Remissão parcial	25 (26)	0		0	
Progressão / Morte	21 (22)	0		0	

Fig. 7: 1ª Quimioterapia e sobrevivência global

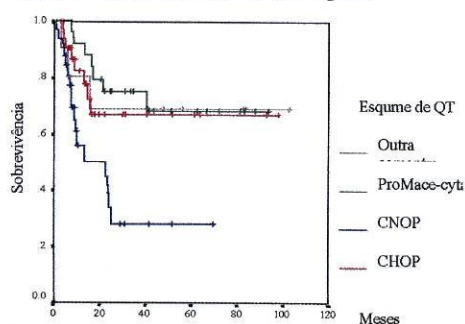
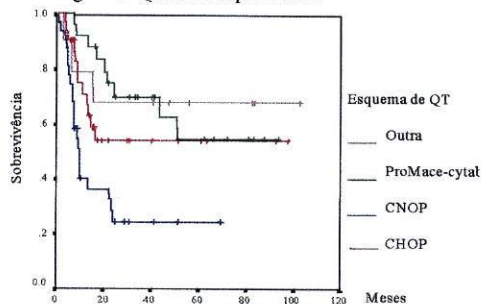


Fig. 8: 1ª Quimioterapia e SLD



Dos 49 doentes que entraram em remissão completa após o primeiro esquema de quimioterapia, só 5 (5,3%) recaíram: 2 com idade inferior a 60 anos e 3 com mais de 60 anos. A recaída ocorreu até 2 anos após a remissão completa, nos 5 doentes.

#### 4.4 – Análise multifactorial

Considerando a possibilidade de haver alguma relação ou interferência entre as diversas variáveis que pela análise unifactorial demonstraram influenciar significativamente a sobrevivência global (SG) e excluindo a  $\beta_2$  – microglobulina, por só estar disponível em 71 dentes, realizou-se uma análise multifactorial no sentido de identificar as variáveis que afectaram o prognóstico de forma significativa e independente.

Comparando o índice de prognóstico internacional (IPI), a presença ou ausência de sintomas B, envolvimento de gânglios axilares ou inguinais, linfopenia ou hipoproteinemia e o primeiro esquema de quimioterapia realizado (CHOP, CNOP, ProMACE-CytaBOM, “outro com antraciclina”), verificou-se que o *IPI*, a existência de *hipoproteinemia* e o *esquema de quimioterapia* influenciaram de forma significativa e independente a sobrevivência global (quadro 8).

**Quadro 8: Análise multifactorial relativa à SG**

	SG (p)
IPI	<i>0,002</i>
Sintomas B	0,549
Gânglios axilares	0,607
Gânglios inguinais	0,110
Linfopenia	0,122
Hipoproteinemia	<i>0,023</i>
1º Esquema de quimioterapia	<i>0,027</i>

## 5 - Discussão

### 5.1 – Características da população estudada

Apesar de algumas características clínicas e analíticas próprias, a população analisada apresenta uma taxa de remissão completa (52%) e sobrevivência global aos 5 anos (54%), sobreponíveis às de outras séries de doentes tratados com esquemas de poliquimioterapia contendo antraciclinas<sup>2,7,11,14,42</sup>.

Ao contrário da maioria das séries descritas, no grupo de doentes analisado verificou-se um ligeiro predomínio do sexo feminino (52%) e dos doentes com idade superior a 60 anos (57%). A mediana das idades (63 anos) foi, no entanto, sobreponível à descrita por outros autores<sup>7,9,42</sup>.

O estado geral dos doentes deste estudo foi, de um modo geral, melhor que o descrito em outras séries, apresentando-se 76% dos doentes com ECOG 0-1, em vez dos 61% descritos no “International Non-Hodgkin’s Lymphoma Prognostic Factors Project” ou os 49% da série de Nicolaides e colaboradores<sup>11,42</sup>. Esta discrepância de resultados pode atribuir-se, pelo menos em parte, a uma certa subjectividade na descrição do estado geral dos doentes, mesmo quando se recorre a escalas simples, como a escala do Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)<sup>18</sup>.

Como em outras séries, uma proporção significativa dos doentes tinham doença extraganglionar (69% dos doentes), sendo o tubo digestivo e o anel de Waldeyer os locais preferencialmente envolvidos<sup>11,36,42</sup>.

A incidência de envolvimento da medula óssea nos LDGC-B varia entre 12% e 17%<sup>7,9,42</sup>. Neste estudo salienta-se o escasso número de doentes com envolvimento da medula óssea: 9,3% dos 107 doentes e apenas 4,2% dos doentes tratados com antraciclinas. Este facto pode dever-se, pelo menos em parte, a uma deficiente amostragem da medula óssea, seja por na maioria dos doentes se terem feito biópsias únicas, seja por nas biópsias realizadas o material colhido ser escasso. Por outro lado, nos primeiros doentes incluídos nesta amostra o estudo da medula óssea era realizado apenas com base na coloração com hematoxilina-eosina, enquanto que nos doentes mais recentes se tem recorrido a técnicas de imunohistoquímica que permitem melhorar a acuidade diagnóstica. De facto, 7 dos 10

doentes com medula óssea invadida foram diagnosticados a partir de 1995 (3 em 1998, 2 em 1997, 1 em 1996 e 1 em 1995), 2 em 1994, 1 em 1993 e nenhum em 1990 e 1991.

O reduzido número de doentes com envolvimento da medula óssea pode também ter contribuído para a percentagem relativamente elevada de doentes com estadios precoces da doença (64% contra 35% a 55% em outras séries)<sup>7,11,42</sup>.

De um modo geral, as características analíticas da população estudada foram sobreponíveis às descritas por outros autores, nomeadamente no que se refere aos níveis séricos de DHL, albumina e  $\beta_2$  - microglobulina<sup>11,33,38,42</sup>.

Apesar de a maioria dos trabalhos revistos não incluírem dados relativos ao número de linfócitos e imunoglobulinas séricas, pareceu-nos interessante analisá-los por poderem traduzir a capacidade de resposta do doente ao linfoma.

## **5.2 – Factores de prognóstico associados à resposta à quimioterapia**

Independentemente de outros parâmetros, o resultado final do primeiro tratamento continua ser considerado um dos factores que mais influencia a sobrevivência dos doentes com LDGC-B, o que aconteceu também neste estudo<sup>13,43</sup>. Este facto justifica largamente a incessante pesquisa de características do doente e/ou linfoma que, determinadas no momento do diagnóstico, permitam prever a resposta ao tratamento por forma a orientá-lo no sentido de se atingir a remissão completa.

Como na maioria das séries publicadas, todos os factores incluídos no índice de prognóstico internacional (idade, “performance status”, estadio, número de locais extraganglionares envolvidos pelo linfoma e DHL sérica) influenciaram significativamente a resposta ao 1º tratamento.

Os doentes com sintomas B, anemia, hipoproteinemia ou hipoalbuminemia, responderam pior ao tratamento ( $p \leq 0,01$ ; quadro 4), tal como aconteceu em outras séries<sup>21,38,42</sup>. No entanto, nos estudos em que foram feitas análises multifactoriais, estes parâmetros perderam muito do seu valor preditivo, não sendo considerados factores de prognóstico independentes<sup>11,37,42</sup>.

À semelhança de Johnson e colaboradores, também na série aqui analisada a taxa de remissão completa foi significativamente maior nos doentes com  $\beta_2$  – microglobulina baixa ( $p < 0,001$ )<sup>33</sup>. Uma das explicações para este facto sugere que nas células tumorais dos doentes com  $\beta_2$  – microglobulina baixa há uma retenção de epítopos do complexo major de histocompatibilidade (MHC), o que permitiria um melhor reconhecimento dos antigénios específicos do tumor pelos linfócitos T citotóxicos do doente<sup>31</sup>.

Embora o número absoluto de linfócitos não seja habitualmente descrito como um factor de prognóstico dos LDGC-B, é de admitir que possa de alguma forma traduzir a capacidade de resposta do doente ao tumor. Neste estudo verificou-se que, dos 22 doentes com linfopenia (linfócitos  $< 1 \times 10^9/L$ ) apenas 4 (18%) entraram em remissão completa. Pelo contrário, esta resposta foi conseguida em 62% dos doentes em que o número de linfócitos era igual ou superior ao normal ( $p < 0,01$ ) (quadro 4).

Surpreendentemente, o envolvimento de gânglios axilares ou inguinais pelo linfoma associou-se a uma menor taxa de remissão completa, o que não aconteceu com as outras áreas ganglionares ( $p < 0,01$ ) (quadro 3).

O sexo, o tamanho da maior massa tumoral ("*bulky*"  $\geq 10$  cm) e a elevação da velocidade de sedimentação não influenciaram significativamente a resposta ao tratamento. O reduzido número de doentes com envolvimento da medula óssea ( $n = 4$ ) ou do fígado ( $n = 4$ ) não permitiu tirar conclusões dos resultados obtidos.

### **5.3- Factores de prognóstico associados à sobrevivência global e livre de doença**

Com base na análise unifactorial e com as reservas próprias de um estudo retrospectivo, foram identificados diversos factores clínicos e analíticos com significado prognóstico quer na sobrevivência global (SG), quer na sobrevivência livre de doença (SLD).

Com excepção da idade, todos os parâmetros incluídos no IPI (estado geral do doente, estadio da doença, número de locais extraganglionares envolvidos e DHL sérica) influenciaram, significativamente, a SG e a SLD (quadro 5).

A idade ( $\leq 60$  /  $> 60$  anos) não alterou significativamente a sobrevivência livre de

doença ( $p = 0,09$ ), mas os doentes com idade superior a 60 anos tiveram uma sobrevivência global significativamente menor ( $p = 0,046$ ). Atendendo a que a taxa de remissão completa foi menor neste grupo etário (45% *versus* 59% nos doentes  $\geq 60$  anos), é de admitir que os doentes com mais de 60 anos tenham morrido frequentemente em consequência do seu linfoma. No entanto, não pode excluir-se a possibilidade de estes doentes ter morrido também mais vezes por outros motivos<sup>27,42</sup>. Por outro lado, 60% dos doentes com mais de 60 anos foram tratados com o esquema CNOP que neste estudo, como em outros, se associou a uma menor taxa de remissão completa e sobrevivência global<sup>81,82</sup>. Para verificar estas hipóteses seria necessário que num ensaio randomizado comparando os resultados do CNOP com os dos outros esquemas, se analisasse a mortalidade específica pelo linfoma em vez da mortalidade global. Há, no entanto, diversos estudos que demonstram a superioridade do CHOP sobre o CNOP, mesmo em doentes com mais de 70 anos<sup>81,83</sup>. A idade cronológica pode pois, por si só, não influenciar os resultados dos tratamentos realizados<sup>84</sup>.

Como descrito em outros estudos, a presença de sintomas B foi um indicador de mau prognóstico na análise unifactorial, mas na análise multifactorial não demonstrou ter valor prognóstico independente<sup>11,17,19,29</sup>.

O envolvimento de gânglios axilares ou inguinais (mas não de outras áreas ganglionares), a presença de linfopenia, hipotroteinemia, hipoalbuminemia ou  $\beta_2$  - microglobulina elevada, associaram-se, significativamente, a uma diminuição das sobrevivências global e livre de doença (quadro 6). No entanto, na análise multifactorial só a hipoproteinemia manteve valor prognóstico independente (quadro 8).

A existência de uma massa tumoral com mais de 10 cm de maior diâmetro (“*bulky*”) associou-se a uma diminuição da SLD sem interferir significativamente na sobrevivência global. Salienta-se no entanto a dificuldade em avaliar correctamente o tamanho das lesões, quer clinicamente, quer mesmo com o recurso a técnicas de imagem.

A velocidade de sedimentação é um importante factor de prognóstico nos linfomas de Hodgkin<sup>39-41</sup>. Contrariamente ao descrito por Nicolaidis e colaboradores, no presente estudo a elevação da velocidade de sedimentação para valores acima de 30 mm não alterou significativamente a SLD nem a SG<sup>42</sup>.

A presença de anemia tem sido apontada por alguns como um indicador de mau

prognóstico<sup>42</sup>. No estudo realizado, não se verificou uma associação significativa entre a presença de anemia e a sobrevivência (SG e SLD).

O tipo de células neoplásicas que infiltram a medula óssea (grandes vs pequenas células) e a extensão e o padrão dessa infiltração têm sido apontadas por alguns autores como indicadores de prognóstico dos doentes com LDGC-B. Assim, seria pior o prognóstico dos doentes com um infiltrado medular com predomínio de células grandes ou com um padrão intersticial / difuso<sup>85-87</sup>. No presente estudo, o envolvimento da medula óssea não influenciou a SLD nem a SG mas o número de doentes com a medula óssea envolvida foi demasiado pequeno para que se possa tirar conclusões (n = 4) (quadro 6).

Apesar de nos últimos 30 anos o tratamento dos linfomas ter evoluído, o protocolo CHOP continua a ser considerado o tratamento “*standard*” dos LDGC-B<sup>12,88,89</sup>. No estudo realizado, a SG e a SLD variaram, significativamente, com o esquema de quimioterapia usado como primeira linha de tratamento (CHOP, ProMACE-CytaBOM, CNOP, “outro com antraciclina”), salientando-se sobretudo os maus resultados verificados com o protocolo CNOP (fig. 7 e 8). Estes resultados poder-se-ão atribuir, pelo menos em parte, ao facto de o protocolo CNOP ter sido usado em doentes significativamente mais velhos (p<0,001). No entanto, o esquema de quimioterapia demonstrou ter um valor prognóstico independente na análise multifactorial, devido sobretudo aos resultados do protocolo CNOP. Este facto aponta no sentido de outros estudos que demonstraram a superioridade do CHOP sobre o CNOP<sup>81,83</sup>.

Como era de esperar, o resultado obtido no final do 1º tratamento influenciou significativamente a sobrevivência global (SG) e livre de doença (SLD) (p<0,001). Além disso, verificou-se que só sobreviveram 5 ou mais anos os doentes que atingiram remissão completa, encontrando-se 85% deles sem evidência de linfoma 5 anos após o fim do tratamento (quadro 7).

Por a avaliação da resposta não ter sido feita na mesma fase de tratamento em todos os doentes, não foi possível avaliar a importância prognóstica do tempo necessário para a obtenção da remissão completa, conforme proposto por Armitage e colaboradores<sup>44</sup>.

Na análise multifactorial apenas o IPI, a presença vs ausência de hipoproteinemia e o 1º esquema de quimioterapia apresentaram significado prognóstico independente relativamente à sobrevivência global (quadro 8).

#### 5.4- Impacto prognóstico do Índice de Prognóstico Internacional (IPI)

No presente estudo, a estratificação dos doentes segundo os grupos de risco do IPI associou-se a diferenças estatisticamente significativas na taxa de remissão completa, SLD e SG, o que confirma o valor prognóstico deste índice.

Analisando cada um dos grupos de risco isoladamente, verificou-se no entanto que, se para o grupo de *risco baixo* os resultados são semelhantes ( $\geq 70\%$  dos doentes vivos aos 5 anos), o mesmo não se passa para os restantes 3 grupos de risco, nos quais a SLD e a SG foram francamente piores neste estudo (quadro 9). Assim, na população analisada o IPI parece ter um valor preditivo maior que o descrito inicialmente pelos seus autores, diferenciando claramente os doentes com *risco intermédio / alto ou alto*, (SG aos 5 anos = 0 a 22% consoante se aplica o IPI global ou ajustado à idade), dos restantes doentes. Esta diferença não é tão evidente nos resultados do grupo internacional onde 32% dos doentes com menos de 60 anos e *risco alto* sobrevivem 5 ou mais anos<sup>11</sup>. Esta discrepância de resultados poderá dever-se, pelo menos em parte, ao facto de o IPI incluir parâmetros como o “*performance status*” que, sendo relativamente subjectivo, pode de alguma forma diminuir o grau de precisão e reprodutibilidade do índice ou como a idade cronológica, que para alguns autores não influencia, por si só, os resultados<sup>84</sup>.

**Quadro 9: SLD e SG nos diferentes grupos de risco do IPI: Resultados do Grupo Internacional de Linfomas (GIL)<sup>11</sup> e do presente estudo**

	Doentes (%)		SLD aos 5 anos (%)		SG aos 5 anos (%)	
	GIL <sup>11</sup>	Estudo	GIL <sup>11</sup>	Estudo	GIL <sup>11</sup>	Estudo
<i>IPI todas as idades</i>						
Baixo	35	47	70	73	73	80
Intermédio / baixo	27	24	50	37	51	47
Intermédio / alto	22	15	49	8	43	19
Alto	16	14	40	0	26	0
<i>IPI idade ≤ 60 anos</i>						
Baixo	22	34	86	75	83	93
Intermédio / baixo	32	43	66	29	69	65
Intermédio / alto	32	14	53	0	46	0
Alto	14	9	58	0	32	0
<i>IPI idade &gt;60 anos</i>						
Baixo	18	27	46	78	56	73
Intermédio / baixo	31	31	45	37	44	52
Intermédio / alto	35	20	41	10	37	22
Alto	16	22	37	0	21	0

No estudo apresentado, a presença de hipoproteinemia diminuiu a sobrevivência global de forma significativa e independente. Outros estudos apontam também a albumina sérica como um importante factor de prognóstico<sup>21,33,36</sup>. Traduzindo indirectamente o estado geral do doente, estes 2 parâmetros, que não foram incluídos no IPI por falta de dados, poderiam talvez obviar à subjectividade da escala ECOG na avaliação do estado geral do doente. Por outro lado, parâmetros “promissores” e relativamente fáceis de determinar, como a  $\beta_2$  – microglobulina, não foram avaliados nem no presente estudo nem no do grupo internacional, por falta de dados.

## Conclusões

Ao contrário do esperado, neste estudo verificou-se um ligeiro predomínio dos doentes do sexo feminino e idosos (> 60 anos) com mais de 75% dos doentes apresentando bom estado geral (ECOG 0-1). Como descrito em outras séries, a proporção de doentes com doença extraganglionar foi elevada, sendo o tubo digestivo e o anel de Waldeyer os locais mais vezes envolvidos pelo linfoma. O número de casos com medula óssea invadida foi, no entanto, inferior ao esperado e a percentagem de doentes com estadios precoces foi elevada. Do ponto de vista analítico (DHL, albumina,  $\beta_2$ -microglobulina), a população foi sobreponível a outras. Um número significativo de doentes apresentou alterações do número de linfócitos circulantes e das imunoglobulinas séricas. A taxa de remissão e a sobrevivência global foram sobreponíveis às de outras séries.

Nos doentes tratados com antraciclinas, diversos parâmetros clínicos e analíticos influenciaram significativamente a resposta ao primeiro tratamento, a sobrevivência livre de doença (SLD) e / ou a sobrevivência global (SG) (quadro 10).

Mesmo aplicado retrospectivamente, o índice de prognóstico internacional (IPI) revelou-se útil, permitindo identificar 3 grupos de doentes relativamente à resposta ao tratamento, SLD e SG: 1- Doentes com elevada taxa de remissão completa, SLD e SG (*risco baixo* do IPI); 2- Doentes de “risco intermédio” (*risco intermédio / baixo* do IPI); 3- Doentes com baixa probabilidade de responder ao tratamento convencional e de sobreviver aos 5 anos (*risco intermédio / alto e alto* do IPI).

Para além do IPI, a presença ou ausência de hipoproteïnemia e o esquema de quimioterapia realizado como primeira linha de tratamento, influenciaram a sobrevivência global de forma significativa e independente.

No final desta análise fica a interrogação: tendo os linfomas difusos de grandes células B comportamentos clínicos (e características biológicas) muito diversos, será lícito continuar a considerá-los uma entidade própria ou deveremos adoptar a nova classificação da Organização Mundial de Saúde que considera 4 grandes grupos de LDGC-B: os linfomas primários do mediastino, os linfomas intravasculares, os linfomas primários dos derrames e os LDGC-B não especificados (variantes centroblástica, imunoblástica, rica em células T e anaplástica)?<sup>56</sup>.

Entretanto diversas questões práticas se levantam, nomeadamente: 1) Como avaliar correctamente o estado geral dos doentes?; 2) Qual o valor prognóstico da idade cronológica?; 3) Como avaliar o tamanho da massa tumoral e qual o seu valor prognóstico? 5) Qual o papel da medicina nuclear na determinação da massa tumoral e na avaliação da resposta? 6) Qual o significado prognóstico do envolvimento da medula óssea e quando considerar as amostras representativas? 7) Porque razão a velocidade de sedimentação, que é considerada um importante factor de prognóstico nos linfomas de Hodgkin, não o parece ser nos LDGC-B? 8) Qual a importância clínica dos factores de prognóstico biológicos? 9) Será o CNOP um esquema a abandonar no tratamento dos LDGC-B? 10) Como tratar os doentes com baixa probabilidade de responder aos esquemas de tratamento convencionais?

**Quadro 10: Associação entre os parâmetros analisados e a resposta ao tratamento, SLD e SG**

	Resposta 1º tratamento	SLD	SG
<i>IPI (todas as idades)</i>	X	X	X*
<i>Idade (<math>\leq 60</math> anos / <math>&gt; 60</math> anos)</i>	X	X	X
<i>"Performance status" (ECOG)</i>	X	X	X
<i>Estádio (Ann Arbor)</i>	X	X	X
<i>Nº locais extraganglionares (<math>\leq 1</math> / <math>&gt; 1</math>)</i>	X	X	X
<i>DHL</i>	X	X	X
<i>Sintomas B</i>	X	X	X
<i>LNH ganglionar / extragang.</i>	----	----	----
<i>"Bulky" <math>\geq 10</math> cm</i>	----	X	----
<i>Áreas ganglionares Axilares</i>	X	X	X
<i>Inguinais</i>	X	X	X
<i>Outras</i>	----	----	----
<i>Medula óssea envolvida</i>	----	----	----
<i>Anemia</i>	X	----	----
<i>Linfócitos <math>&lt; 1 \times 10^9/L</math></i>	X	X	X
<i>Hipoproteinemia (<math>&lt; 60</math> g/L)</i>	X	X	X*
<i>Albumina <math>&lt; 35</math> g/L</i>	X	X	X
<i>VS <math>&gt; 30</math> ou <math>50</math> mm</i>	----	----	----
<i><math>\beta_2</math> - microglobulina</i>	X	X	X
<i>Tempo do 1º sintoma ao tratamento</i>	----	----	----
<i>1º Esquema de quimioterapia</i>	X	X	X*
<i>Resposta ao tratamento</i>		X	X

X - Estatisticamente significativo na análise unifactorial, \* Estatisticamente significativo na análise multifactorial

## Bibliografia

- 1- Weisenburger DD. Epidemiology of Non-Hodgkin's Lymphoma: Recent findings regarding an emerging epidemic. *Ann Oncol* 1994 (suppl 1); 5: 19-24
- 2- Shipp MA, Mauch PM, Harris NL. Non-Hodgkin's Lymphomas. *Devita Cancer Principles and Practice of Oncology* – 5<sup>th</sup> ed. Pg.2165-2220
- 3- Grufferman Seymour. Epidemiology and hereditary aspects of malignant lymphoma and Hodgkin's disease. *Neoplastic Diseases of the Blood* – 3<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone Inc. 1996; Capitulo 38: 737 – 751
- 4- Linet MS, Pottern LM. Familial aggregation of hematopoietic malignancies and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res.* 1992; 52(suppl): 5468s-5473s
- 5- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: A proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84 (5):1361–1392
- 6- Armitage JO, Lister TA. Non-Hodgkin's Lymphoma. 34<sup>th</sup> ASCO Meeting Educational Book 1998: 338-341.
- 7- The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project: A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 1997; 89 (11): 3909-3918.
- 8- Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying Non-Hodgkin's Lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. *J Clin Oncol* 1998; 16 (8): 2780-2795.
- 9- Pittaluga S, Bijmens L, Teodorovic I, et al. Clinical analysis of 670 cases in two trials of the European Organization for the Research and Treatment of Cancer Lymphoma Cooperative Group subtyped according to the Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms: A comparison with the Working Formulation. *Blood* 1996; 87 (10): 4358-4367.
- 10- Medeiros LJ, Jaffe ES. Pathology of non-Hodgkin's and Hodgkin's disease. *Neoplastic Diseases of the Blood* – 3<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone Inc. 1996; Capitulo 39: 753–805.
- 11- The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1993; 329 (14): 987-994.

- 12- Fisher RI, Gaynor ER, Dahlberg S, 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): 1002-1006.
- 13- Vose JM, Bierman PJ, Armitage JO. Diagnosis and treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *Neoplastic Diseases of the Blood – 3<sup>th</sup> ed.* Churchill Livingstone Inc. 1996; Capítulo 44: 907 – 924.
- 14- Cooper DL, Salloum E. Chemotherapy of intermediate- and high-grade non-Hodgkin's lymphomas. *Principles and Practice of Oncology updates* 1995; 9 (12): 1-15.
- 15- Harris J. Cancer of the breast. *Devita Cancer Principles and Practice of Oncology 5<sup>th</sup> ed.* 1997: 1590-1592.
- 16- Shipp MA. Prognostic factors in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: who has "high-risk" disease? *Blood* 1994; 83 (5): 1165-1173.
- 17- Velasquez WS, Jagannath S, Tucker SL, et al. Risk classification as the basis for clinical staging of diffuse large-cell lymphoma derived from 10-year survival data. *Blood* 1989; 74 (2): 551-557
- 18- Hoskins PJ, Ng V, Spinelli JJ, et al. Prognostic variables in patients with diffuse large-cell lymphoma treated with MACOP-B. *J Clin Oncol* 1991; 9 (2): 220-226.
- 19- Coiffier B, Lepage E. Prognosis of aggressive lymphomas: a study of five prognostic models with patients included in the LNH-84 regimen. *Blood* 1989; 74 (2): 558-564.
- 20- Jagannath S, Velasquez WS, Tucker SL, et al. Tumor burden assessment and its implication for a prognostic model in advanced diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1986; 4: 859-865.
- 21- Coiffier B, Gisselbrecht C, Vose JM, et al. Prognosis factors in aggressive malignant lymphomas: description and validation of a prognostic index that could identify patients requiring a more intensive therapy. *J Clin Oncol* 1991; 9 (2): 211-219
- 22- Blay JY, Gomez F, Sebban C, et al. The International Prognostic Index correlates to survival in patients with aggressive lymphoma in relapse: analysis of the PARMA trial. *Blood* 1998; 92 (10): 3562-3568.
- 23- Engelhard M, Brittinger G, Huhn D, et al. Subclassification of diffuse large B-cell lymphomas according to the Kiel classification: distinction of centroblastic and immunoblastic lymphomas is a significant prognostic risk factor. *Blood* 1997; 89 (7): 2291-2297.

- 24- The non-hodgkin's lymphoma pathologic classification project. National Cancer Institute sponsored study of classification of non-Hodgkin's lymphomas. Summary and description of a working formulation for clinical usage. *Cancer* 1982; 49 (10): 2112-2135.
- 25- Solar A, Fernández de Sevilla A, Romagosa V, et al. Diffuse large B-cell lymphoma: is morphologic subdivision useful in clinical management? *Eur J Haematol* 1998; 60: 202-208.
- 26- Solal-Celigny P, Chastang C, Herrera A, et al. Age as the main prognostic factor in adult aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Med* 1987; 83: 1075-1079.
- 27- Vose JM, Armitage JO, Weisenburger DD, et al. The importance of age in survival of patients treated with chemotherapy for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1988; 6 (12): 1838-1844.
- 28- d'Amore F, Brincker H, Chrestensen BE, et al. Non-Hodgkin's lymphoma in the elderly. *Ann Oncol.* 1992; 3: 379-386.
- 29- Mounier N, Morel P, Haioun C, et al. A multivariate analysis of the survival of patients with aggressive lymphoma. *Cancer* 1998; 82 (10): 1952-1962.
- 30- Cresswell P, Springer T, Strominger J, et al. Immunological identity of the small subunits of HLA antigens and  $\beta_2$ -Microglobulin and its turnover on the cell membrane. *Proc Natl Acad Sci* 1974; 71 (5): 2123-2127.
- 31- Legros M, Ferriere J, Bignon Y, et al.  $\beta_2$  Microglobulin: a good prognosis indicator in non-Hodgkin's lymphoma. *Proc ASCO* 1987; 6: 190 (abstract 748).
- 32- Han T, Bhargava A, Henderson E, et al. Prognosis significance of  $\beta_2$  Microglobulin in chronic lymphocytic leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. *Proc ASCO* 1989; 8: 270 (abstract 1056).
- 33- Johnson PW, Whelan J, Longhurst S, et al.  $\beta$ -2 microglobulin: a prognostic factor in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Br J Cancer* 1993; 67: 792-797.
- 34- Perez-Encinas M, Quintas A, Bendana A et al. Correlation and prognostic value of serum soluble ICAM-1, beta-2 microglobulin and IL-2 alpha R levels in non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1999; 33 (5-6): 551-8.
- 35- Roggero E, Zucca E, Bertoni F, et al. Comparison of prognostic models for diffuse large B cell lymphomas (DLCL): can  $\beta_2$ -microglobulin ( $\beta_2M$ ) improve upon the International Prognostic Index (IPI)? *Proc ASCO* 1997; abstract 70.

- 36- Cowan RA, Jones M, Harris M, et al. Prognostic factors in high and intermediate grade non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Cancer* 1989; 59: 276-282.
- 37- Coiffier B, Bryon PA, French M, et al. Intensive chemotherapy in aggressive lymphomas: Updated results of LNH-80 protocol and prognostic factors affecting response and survival. *Blood* 1987; 70 (5): 1394-1399.
- 38- Dhaliwal HS, Rohatiner AZ, Gregory W, et al. Combination chemotherapy for intermediate and high grade non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Cancer* 1993; 68: 767-774
- 39- Friedman S, Henry-Amar M, Cosset JM, et al. Evolution of erythrocyte sedimentation rate as predictor of early relapse in posttherapy early-stage Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 1988; 6 (4): 596-602.
- 40- Henry-Amar M, Friedman S, Hayat M, et al. Erythrocyte sedimentation rate predicts early relapse and survival in early-stage Hodgkin's disease. *Ann Intern Med* 1991; 114 (5): 361-365.
- 41- Loffler M, Mauch P, MacLennan K, et al. Hodgkin's disease: Review on prognostic factors. *Ann Oncol* 1992; 3 (suppl 4): S63-S66.
- 42- Nicolaides C, Fountzilas G, Zoumbos N, et al. Diffuse large cell lymphomas: Identification of prognostic factors and validation of the International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Index. *Oncology* 1998; 55: 405-415.
- 43- Armitage JO. Treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1993; 328 (14): 1023-1030.
- 44- Armitage JO, Weisenburger DD, Hutchins M, et al. Chemotherapy for diffuse large cell lymphoma – Rapidly responding patients have more durable remissions. *J Clin Oncol* 1986; 4: 160-164.
- 45- Engelhard M, Meusers P, Brittinger G, et al. Prospective multicenter trial for the response-adapted treatment of high-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas: Updated results of the COP-BLAM / IMVP 16 protocol with randomized adjuvant radiotherapy. *Ann Oncol* 1991; 2 Suppl. 2): 177-180.
- 46- Kaplan WD, Jochelson MS, herman TS, et al. Gallium-67 imaging: a predictor of residual tumor viability and clinical outcome in patients with diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1990; 8 (12): 1966-1970.

- 47- Shipp MA, Shulman LN, Kaplan WD, et al. Intensified induction therapy for patients with "high-risk" aggressive NHL: high-dose CHOP. *Am Soc Hematol* 1993; 82 (suppl 1): 322 a.
- 48- Israel O, Front D, Lam M, et al. Gallium-67 imaging in monitoring lymphoma response to treatment. *Cancer* 1988; 61: 2439-2443.
- 49- Even-Sapir E, Bar-Shalom R, Israel O, et al. Single-photon emission computed tomography quantitation of gallium citrate uptake for the differentiation of lymphoma from benign hilar uptake. *J Clin Oncol* 1995; 13 (4): 942-946.
- 50- Vose JM, Bierman PJ, Anderson JR, et al. Single-photon emission computed tomography gallium imaging versus computed tomography: Predictive value in patients undergoing high-dose chemotherapy and autologous stem-cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1996; 14 (9): 2473-2479.
- 51- Romer W, Hahauske A-R, Zieger S, et al. Positron-emission tomography in non-Hodgkin's lymphoma: Assessment of chemotherapy with fluorodeoxyglucose. *Blood* 1998; 91 (12): 4464-4471.
- 52- Janicek M, Kaplan W, Neuberg D, et al. Early restaging gallium scans predict outcome in poor-prognosis patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma treated with high-dose CHOP chemotherapy. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1631-1637.
- 53- Sanz L, López-Guillermo A, Martínez C, et al. Risk of relapse and clinico-pathological features in 103 patients with diffuse large-cell lymphoma in complete response after first-line treatment. *Eur J Haematol* 1998; 61: 59-64.
- 54- Guglielmi C, Gomez F, Philip T, et al. Time to relapse has prognostic value in patients with aggressive lymphoma enrolled onto the Parma trial. *J Clin Oncol* 1998; 16 (10): 3264-3269.
- 55- Salles G. Towards new prognostic factors in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1996; 7:993-996.
- 56- Horning SJ, Gascoyne RD, Fisher RI. Large-cell lymphoma: Let's CHOP down barriers to progress. 35<sup>th</sup> ASCO Meeting Educational Book 1999: 319-331.
- 57- Kramer MHH, Hermans J, Wijburg E, et al. Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 1998; 92 (9): 3152-3162.

- 58- Hill ME, MacLennan KA, Cunningham DC, et al. Prognostic significance of BCL2 expression and *bcl-2* major breakpoint region rearrangement in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma: a British National Lymphoma Investigation Study. *Blood* 1996; 88 (3): 1046-1051.
- 59- Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, et al. Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90 (1): 244-251.
- 60- Sanchez E, Chacon I, Plaza MM, et al. Clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma is dependent on the relationship between different cell-cycle regulator proteins. *J Clin Oncol* 1998; 16 (5): 1931-1939.
- 61- Kramer MHH, Hermans J, Parker J, et al. Clinical significance of bcl2 and p53 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma: A population-based study. *J Clin Oncol* 1996; 14 (7): 2131-2138.
- 62- Piris MA, Pezella F, Martínez-Montero JC, et al. P53 and bcl-2 expression in high-grade B-cell lymphomas: correlation with survival time. *Br J Cancer* 1994; 69: 337-341.
- 63- Vitolo U, Gaidano G, Botto B, et al. Rearrangements of *bcl-6*, *bcl-2*, *c-myc* and 6q deletion in B-diffuse large-cell lymphoma: Clinical relevance in 71 patients. *Ann Oncol* 1998; 9: 55-61.
- 64- Hermine O, Haioun C, Lepage E, et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1996; 87 (1): 265-272.
- 65- Offit K, Lo Coco F, Louie DC, et al. Rearrangement of the *bcl-6* gene as a prognostic marker in diffuse large-cell lymphoma. *N Engl J Med* 1994; 331 (2): 74-80.
- 66- Miller TP, Grogan TM, Dahlberg S, et al. Prognostic significance of the Ki-67 associated proliferative antigen in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: A prospective South-West Oncology Group trial. *Blood* 1994; 83 (6): 1460-1466.
- 67- Grogan TM, Kippman SM, Spier CM, et al. Independent prognostic significance of a nuclear proliferation antigen in diffuse large cell lymphomas as determined by the monoclonal antibody Ki-67. *Blood* 1988; 71 (4): 1157-1160.
- 68- Czaykowski P, Goodwin P, Perez-Ordóñez NL, et al. Immunobiologic prognostic factors in aggressive non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Proc ASCO* 1998; abstract 86.

- 69- Winter JN, Andersen J, Variakojis D, et al. Prognostic implications of ploidy and proliferative activity in the diffuse, aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1996; 88 (10): 3919-3925.
- 70- Turner RR, Layfield LJ, Bishop PC, et al. Flow cytometric measurements of proliferation-associated nuclear antigen p105 and DNA content in non-Hodgkin's lymphomas. *Arch Pathol Lab Med* 1989; 113: 907-11.
- 71- Schrape S, Jones DB, Wright DH: A comparison of the three methods for the determination of the growth fraction in non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Cancer* 1987; 55: 283-289.
- 72- Ichikawa A, Kinoshita T, Watanabe T, et al. Mutation of the p53 gene as a prognostic factor in aggressive B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 1997; 337 (8): 529-534.
- 73- Miller TP, Lippman SM, Epier CM, et al. HLA-DR (1a) immune phenotype predicts outcome for patients with diffuse large cell lymphoma. *J Clin Invest* 1988; 82:370
- 74- O'Keane JC, Mack C, Lynch E, et al. Prognostic correlation of HLA-DR expression in large cell lymphoma as determined by LN3 antibody staining. *Cancer* 1990; 66: 1147-1153
- 75- Stoolman LM: Adhesion molecules controlling lymphocyte migration. *Cell* 1989; 56: 907-910
- 76- Horst E, Meijer CJLM, Radaszkiewicz T, et al. Adhesion molecules in the prognosis of diffuse large-cell lymphoma: Expression of a lymphocyte homing receptor (CD 44), (CD 11a/18), and ICAM-1 (CD 54). *Leukemia* 1990; 4: 595-599.
- 77- Jalkanen S, Joensuu H, Soderstrom KO, et al. Lymphocyte homing and clinical behavior of non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Invest* 1991; 87: 1835-1840
- 78- Stauder R, Eisterer W, Thaler J, et al. CD 44 variant isoforms in non-Hodgkin's lymphoma: A new independent prognostic factor. *Blood* 1995; 85 (10): 2885-2899.
- 79- Terol MJ, Lopez-Guillermo A, Bosch F, et al. Expression of the adhesion molecule ICAM-1 in non-Hodgkin's lymphoma: Relationship with tumor dissemination and prognostic importance. *J Clin Oncol* 1998; 16 (1): 35-40.
- 80- Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, et al. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 1999; 17 (4): 1244-1253.

- 81- Sonneveld P, de Ridder M, van der Lelie H, et al. Comparison of doxorubicin and mitoxantrone in the treatment of elderly patients with advanced diffuse non-Hodgkin's lymphoma using CHOP versus CNOP chemotherapy. *J Clin Oncol* 1995; 13 (10): 2530-2539.
- 82- Bezwoda W, Rastogi RB, Erazo Valla A, et al. Long-term results of a multicentre randomised, comparative phase III trial of CHOP versus CNOP regimens in patients with intermediate- and high-grade non-Hodgkin's lymphomas. Novantrone International Study Group. *Eur J Cancer* 1995; 31 A(6): 903-911.
- 83- Tirelli U, Errante D, Van glabbeke M, et al. CHOP is the standard regimen in patients greater-than or equal to 70 years of age with intermediate-grade and high-grade non-Hodgkin's lymphoma: results of a randomized study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Lymphoma Cooperative Study Group. *J Clin Oncol* 1998; 16: 27-34.
- 84- Gomez H, Hidalgo M, Casanova L, et al. Risk factors for treatment-related death in elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma: results of a multivariate analysis. *J Clin Oncol* 1998; 16 (6): 2065-2069.
- 85- Hodges GF, Lenhardt TM, Cotelingham JD: Bone marrow involvement in large-cell lymphoma. Prognostic implications of discordant disease. *Am J Clin Pathol* 1994; 101: 305-311.
- 86- Robertson LE, Redman JR, Butler JJ, et al. Discordant bone marrow involvement in diffuse large-cell lymphoma: A distinct clinical-pathologic entity associated with a continuous risk of relapse. *J Clin Oncol* 1991; 9: 236-242.
- 87- Yan Y, Chan WC, Weisenburger DD, et al. Clinical and prognostic significance of bone marrow involvement in patients with diffuse aggressive B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1995; 13 (6): 1336-1342.
- 88- Fisher RI. Treatment of aggressive non-Hodgkin' lymphomas. Lessons from the past 10 years. *Cancer* 1994; 74 (9 Suppl): 2657-2661.
- 89- Fisher RI. Cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone versus intensive chemotherapy in non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 1997; 40 Suppl: S42-46.