



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR – UNIVERSIDADE DO PORTO

Dissertação do Mestrado Integrado em Medicina

6º Ano Profissionalizante

Associação entre linfomas não Hodgkin de células B e infeção pelo vírus hepatite C: a propósito de um caso

Artigo tipo “case report”

Estudante: Inês Pereira Brito

Nº de aluno: 200904660

Porto, Ano lectivo 2014/2015

Orientadora: **Dr^a Maria Alexandra dos Santos Mota da Silva**
Assistente Hospitalar Graduada de Hematologia Clínica
Serviço de Hematologia do Centro Hospitalar do Porto

Associação entre linfomas não Hodgkin de células B e infecção pelo vírus hepatite C: a propósito de um caso

Lista de Abreviaturas:

VHC: Vírus da hepatite C

LNH-B: Linfoma não Hodgkin de células B

RVS: Resposta Viroológica Sustentada

LNH: Linfoma não Hodgkin

CM: Crioglobulinemia mista

OR: *Odds ratio*

CM-VHC: Crioglobulinemia mista associada ao vírus da hepatite C

MALT: *Mucosa-associated lymphoid tissue*

TAV: Tratamento antivírico

LNH-VHC: Linfoma não Hodgkin associado ao vírus da hepatite C

HLA: Antígeno leucocitário humano

BCR: Recetor da célula B

LDGCB: Linfoma difuso de grandes células B

LZM: Linfoma da zona marginal

LZME: Linfoma da zona marginal esplênico

LLP: Linfoma linfoplasmocítico

DHL: Desidrogenase do lactato

AST: Aspartato aminotransferase

ALT: Alanina aminotransferase

VHB: Vírus da hepatite B

VIH: Vírus da imunodeficiência humana

TAC: Tomografia axial computadorizada

IPI: *International Prognostic Index*

R-CHOP: Rituximab associado a ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona.

R-CVP: Rituximab associado a ciclofosfamida, vincristina e prednisona.

RM: Ressonância magnética

RBV: Ribavirina

IFN-Peg: Interferão Peguilado

Resumo

A infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) é uma das principais causas de doença hepática crónica em todo o mundo. De acordo com a *European Association for the Study of the Liver (EASL)*, o número de pessoas cronicamente infetadas por este vírus está estimado em cerca de 180 milhões, apesar de a maioria não ter conhecimento da sua situação. Recentemente, surgiu o conceito de síndrome do VHC que define uma extensa lista de patologias associada a este vírus, tanto benignas como malignas, em contexto hepático ou extra-hepático, nomeadamente os linfomas não Hodgkin de células B (LNH-B).

A associação entre a infecção por VHC e LNH-B não está ainda completamente definida, embora tenha sido demonstrada por estudos epidemiológicos. Os subtipos de linfoma não-Hodgkin de células B mais frequentemente associados à infecção por vírus C são o linfoma da zona marginal e o linfoma difuso de grandes células B (LDGCB).

Estudos epidemiológicos, abordagens terapêuticas e dados experimentais recolhidos nas últimas duas décadas estabeleceram não apenas uma mera associação da infecção viral com o desenvolvimento do tumor, como também uma relação causal.

O objetivo desta dissertação é abordar este tema, a partir do caso clínico de um doente portador de infecção crónica por VHC, com diagnóstico recente de linfoma difuso de grandes células B. O trabalho visa a discussão do caso, partindo das descobertas recentes acerca da assinatura molecular e dos mecanismos patológicos dos linfomas não-Hodgkin de células B associados à infecção por VHC, bem como da dificuldades na escolha do tratamento e das intercorrências que, muitas vezes, interferem com essa escolha inicial.

Palavras-chave: Linfoma difuso de grandes células B; vírus da Hepatite C; assinatura molecular; tratamento

Abstract

Hepatitis C infection (HCV) is a major cause of chronic liver disease throughout the world. According to the European Association for the Study of the Liver (EASL), the number of people chronically infected with this virus is estimated at about 180 million, though most have no knowledge of their situation. Recently, the concept of HCV syndrome emerged and defines an extensive list of disorders associated with this virus, both benign and malignant, in hepatic or extrahepatic context, including B-cell non-Hodgkin lymphomas (NHL-B).

The association between HCV infection and B-cell NHL is still not completely defined, but has been shown by epidemiological studies. B cell non-Hodgkin lymphoma subtypes most often associated with HCV infection are marginal zone lymphoma and diffuse large B cell lymphoma (DLBCL).

Epidemiological studies and experimental therapeutic approaches data collected over the past two decades have established not only a mere association of viral infection tumor development but also a causal relationship.

The aim of this work is to approach this subject from a clinical case of a patient carrier of chronic HCV infection, with newly diagnosed diffuse large cell B lymphoma. The paper aims to discuss the case, starting from the recent findings on molecular signature and the pathological mechanisms of B-cell non-Hodgkin lymphomas related to HCV infection, as well as the difficulties in choice the treatment and complications that often interfere with this initial choice.

Key-Words: Diffuse large B cell lymphoma; Hepatitis C virus; molecular signature; treatment

Introdução

Em todo o Mundo, mais de 180 milhões de pessoas estão infetadas cronicamente pelo vírus da hepatite C (VHC). Foi proposta, recentemente, a definição de síndrome do VHC (figura 1) que reúne uma complexidade de patologias associadas à infecção crónica por VHC, tanto a nível hepático como extrahepático (1).

Um grande número de dados clínicos apoia a associação entre infecção por VHC e linfoma não Hodgkin de células B (LNH-B). Estudos epidemiológicos, abordagens terapêuticas e dados experimentais estabeleceram, nas últimas duas décadas, não só uma mera associação entre a infecção virica e o desenvolvimento tumoral, bem como também uma relação causal (2).

A constatação foi feita a partir de uma resposta virológica sustentada (RVS) ao tratamento antivírico, baseado em interferão alfa, que induz a regressão de linfomas associados ao VHC (3). Os mecanismos através do qual a infecção pelo VHC contribui para o desenvolvimento do linfoma ainda não são bem conhecidos, mas têm surgido novos conhecimentos sobre a sua assinatura molecular.

A hipótese da associação entre VHC e LNH surge descrita, pela primeira vez, em 1994, por *Pozzato et al.* e *Ferri et al* (4, 5). Desde então, numerosos estudos foram levados a cabo, com o intuito de confirmar e explicar esta associação.

Os primeiros estudos epidemiológicos evidenciaram o papel do VHC no desenvolvimento da crioglobulinemia mista (CM) (6). Constatou-se que, a presença de CM nos doentes com VHC positivo, pode aumentar o risco de desenvolver LNH e que, mesmo após a erradicação do VHC (7), os doentes têm um risco cerca de 35 vezes superior ao da população geral de progredir para LNH (8). Desta forma, estimou-se que, aproximadamente, 8-10% dos doentes com CM-VHC progridem para LNH.

Quanto à prevalência do VHC, diferenças consideráveis na distribuição geográfica são observadas na Europa, refletindo um “declive” norte-sul (9, 10). Muitos trabalhos têm sido levados a cabo, com o intuito de estabelecer a ligação do VHC e do LNH-B. A

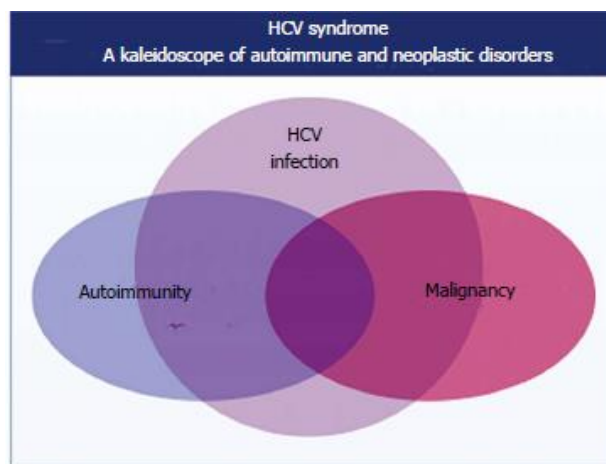


Figura 1 - Síndrome do VHC: os doentes com infecção crónica por VHC podem desenvolver tanto manifestações hepáticas como extra-hepáticas, num espectro de lesões em coexistem auto-imunidade e neoplasias (1).

Associação entre linfomas não Hodgkin de células B e infecção pelo vírus hepatite C: a propósito de um caso

heterogeneidade geográfica torna-se bastante evidente, com uma *odds ratio* (OR) elevada nos países endêmicos para o VHC, quando comparada com os países de baixa prevalência (11-14).

Gisbert *et al* (9) identificou uma prevalência de infecção por VHC em doentes com LNH-B de 15%, não só superior à da população em geral (1,5%), mas também à dos doentes com outras patologias hematológicas (2,9%), o que sugere um envolvimento desse vírus na etiologia de LNH-B. A notável variação geográfica entre esta associação sugere que tanto factores genéticos como ambientais possam estar envolvidos na patogénese desta doença (11, 15, 16).

A associação entre o VHC e o LNH-B foi bem estabelecida pelos dados epidemiológicos supramencionados. No entanto, a evidência mais convincente da relação causal entre a infecção por VHC e o desenvolvimento de linfomas foi observada pela regressão dos LNH-B após a erradicação do VHC, através da terapêutica antivírica. (17-20). Este conceito foi fortemente firmado, em 2002, por Hermine *et al.* (3), após tratar com sucesso um linfoma esplênico, recorrendo à monoterapia com interferão-alfa.

Os hepatócitos são o principal reservatório e local para a replicação do VHC, no entanto este vírus é, também, potencialmente linfotrópico (21-24).

A relação entre os linfomas e o seu microambiente parece seguir três padrões *major*: (1) independente; (2) dependente de interações desreguladas; e (3) dependente de uma coexistência regulada (25). Pelo menos, inicialmente, o desenvolvimento do tumor e o amplo crescimento celular dependem de sinais externos ao seu microambiente, nomeadamente antigénios víricos, citocinas e interações célula-célula (26).

Três teorias gerais emergiram no sentido de compreender o processo de transformação induzido pelo vírus (figura 2): (1) estimulação externa contínua dos receptores linfocíticos pelo antigénios víricos e, conseqüente, proliferação; (2) replicação do VHC nas células B com efeitos oncogénicos mediados por proteínas víricas intracelulares; (3) dano da célula B permanente, por exemplo, através de mutação de genes supressores tumorais, causada pelo vírus intracelular transitoriamente – conhecida como a teoria do “hit and run” (toca e foge) (2).

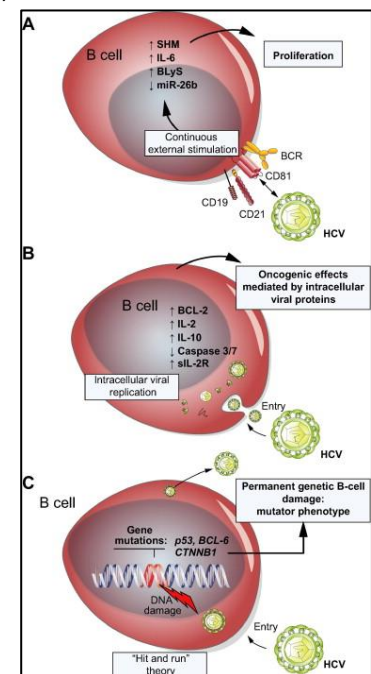


Figura 2 - Teorias que explicam a linfomagenese pelo VHC (2)

O conceito de estimulação antigénica externa dos linfócitos/células do linfoma apresenta semelhanças com o desenvolvimento do linfoma MALT associado ao *Helicobacter pylori* (27). A compatibilidade com os achados clínicos de remissão do linfoma após remoção do antigénio pelo tratamento antivírico (TAV) torna esta teoria atrativa. Além disso, clinicamente, os subtipos mais frequentes associados ao LNH-VHC têm origem nos centros germinativo ou pós-germinativo, funcionando os antigénios como “*trigger*” primário da proliferação (28).

Dados experimentais apoiam esta teoria. A proteína E2, presente no envelope do VHC (29), liga-se ao CD81, expresso nas células B (30). Este recetor encontra-se suprarregulado na infeção por VHC e CM e está correlacionado, de forma positiva, com a carga viral (31). A sua estimulação leva à diminuição do limiar da ativação das células B, podendo induzir a proliferação, através, por exemplo, da via do JNK (32-34).

A acrescentar a isto, o LNH-VHC foi encontrado em combinações restritas de genes da classe de HLA-II. A combinação HLA DR5-DQ3 está associada a doentes com LNH-VHC. A hipótese de que o VHC ou partes dele se exponham como antigénio, levando à proliferação de células B e desenvolvimento de LNH-B e CM, é sustentada por vários estudos. Pode, portanto, especular-se sobre uma exposição a um epítopo antigénico comum, que conduz à selecção e expansão de clones de células B, podendo ser a origem do LNH-VHC. Quinn *et al.* apresentou evidências em como o antígeno comum mencionado pode, de fato, ser o VHC (35). Neste estudo, foram recolhidas amostras de imunoglobulinas séricas de dois doentes, com LNH-B e infeção por VHC, a fim de testar a capacidade do BCR (recetor da célula B) para se ligar à proteína E2 do VHC. A imunoglobulina, do doente com linfoma difuso de grandes células B (LDGCB), reagiu com a glicoproteína E2 do VHC de forma semelhante à de um anticorpo anti-E2 humano fidedigno.

Estes dados suportam a hipótese do desenvolvimento indirecto de um linfoma “*antigen-driven*”, causado por proteínas do VHC, em analogia ao linfoma MALT desencadeado pelo *H. pylori*. O conhecimento clínico que doentes infetados pelo VHC, com CM, têm um risco 35 vezes maior de desenvolver LNH-VHC (8) e a identificação de populações de células oligoclonais em doentes com CM que desenvolveram, posteriormente, LNH (36), levou à teoria de que a CM pode ser um passo intermédio da transformação maligna para LNH-VHC.

No sentido do desenvolvimento do linfoma, propriamente dito, pode ser necessário um evento adicional (“*second hit*”), nomeadamente uma alteração genómica, tal como uma mutação ou um rearranjo do gene Bcl-2 [t(14;18)]. Estes eventos foram associados tanto à CM, como ao linfoma MALT, em doentes com infeção crónica por VHC (37-40).

Associação entre linfomas não Hodgkin de células B e infecção pelo vírus hepatite C: a propósito de um caso

Ainda não estão claros os sinais e/ou as vias de sinalização que medeiam a transformação oncogénica para LNH-VHC. A interleucina 6 (IL-6), com um potente efeito estimulador sobre as células B, foi indiciada no desenvolvimento de crioglobulinemia e LNH-B (41). Além disso, a regulação positiva do factor estimulador de linfócitos B (*BLyS*) pode desempenhar um papel na CM e no LNH-VHC (42-45). *BLyS* é um potente co-ativador da produção de imunoglobulinas e ativa as vias de NF- κ B, JNK e ERK que, conseqüentemente, levam à proliferação e sobrevivência das células B (46).

Os microRNAs (miRNAs) são RNA's curtos não-codificantes que se ligam a sítios-alvo complementares de mRNAs e podem modular a expressão génica, seja por supressão translacional ou degradação mRNA. A expressão reduzida de miR-26b foi encontrado em doentes positivos para VHC, quando comparados com doentes com linfoma da zona marginal (LZM) esplénico e VHC negativo (47-49).

O terceiro conceito no desenvolvimento do LNH-VHC, o mecanismo do “*hit and run*”, foi proposto para explicar a possível transformação nas células B, sem evidência de replicação do vírus dentro das células tumorais. Machida *et al.* descobriu que o VHC leva a uma frequência elevada de mutações nos genes celulares (cadeia pesada da imunoglobulina celular, Bcl-6, p53 e beta-catenina), *in vitro*, ao induzir quebras na cadeia dupla e ao ativar polimerases propensas a erros (50). Os autores sugerem que o VHC induz um fenótipo mutante, através de alterações em protooncogenes e genes supressores tumorais que, conseqüentemente levam à transformação oncogénica de células B, mesmo que o vírus já não se encontre na célula. Subsistem, ainda, algumas dúvidas sobre a aplicação clínica destes resultados, uma vez que outros estudos não foram, ainda, capazes de confirmar estes resultados *in vivo* (51-53).

A questão dos subtipos de LNH-B mais comumente associados ao VHC ainda suscita bastante debate. As associações mais descritas são: os linfomas da zona marginal (LZM), em particular o esplénico (LZME), o linfoma linfoplasmocítico (LLP) e o linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) (15, 54-56), sendo o primeiro o mais comum (57).

Nos últimos anos, muitos estudos epidemiológicos têm reforçado a evidência de que o VHC está associado, não só a LNH-B indolentes, mas também ao LDGCB (figura 3). Um

Subtype	Variant	Specific lymphoma sites
Monoclonal B-cell lymphocytosis		
Tissue based monoclonal B cell and plasma cell proliferations of uncertain type		
Lymphoplasmocytic lymphoma/WM		
Chronic lymphocytic disorders (non CLL)		
MZL	Splenic MZL Nodal MZL MALT	Gastric Extranodal non gastric Salivary gland Skin Orbit Liver
Diffuse large B-cell lymphoma		

WM: Waldenström's macroglobulinemia; CLL: Chronic lymphocytic leukemia; MZL: Marginal zone lymphoma; MALT: Mucosa-associated lymphoid tissue.

Figura 3 - Distúrbios proliferativos linfóides indolentes e agressivos associados ao vírus da hepatite C (25)

estudo italiano relatou uma associação mais elevada da infecção pelo VHC ao LDGCB (OR de 3,5), em relação aos LNH indolentes (OR 2,3), o que sugere que cerca de um em cada 20 casos de LDGCB, pelo menos em Itália, possa ser atribuível ao VHC (58).

Caso Clínico

Doente, do sexo masculino, 59 anos de idade, seguido no Hospital Joaquim Urbano, por infecção pelo vírus da hepatite C, conhecida desde 2013, detetada em análises de rotina, é encaminhado para consulta de Hematologia Clínica, em Setembro do mesmo ano.

Como antecedentes pessoais relevantes, o doente tem história de consumo de drogas inaladas, entre 1992 e 2002, e um acidente de viação, com necessidade de várias cirurgias e transfusões com concentrados de glóbulos rubros, em 1981. Atualmente, é fumador e encontra-se medicado com alprazolam, por ansiedade.

O doente referiu o aparecimento de tumefação axilar esquerda, no início de 2013, com crescimento lento. Negou febre, astenia, anorexia, emagrecimento ou sudorese noturna e não apresentou queixas relativas a outros sistemas.

Ao exame objetivo, aparentava bom estado geral, com conglomerado adenopático axilar esquerdo, de aproximadamente 3cm, adenopatias inguinais bilaterais e hepatomegalia palpável cerca de 4cm abaixo do rebordo costal direito. Sem esplenomegalia palpável, nem sinais de estigma hepático, nomeadamente, ascite, edemas periféricos, telangiectasias ou icterícia.

Analiticamente, o hemograma não apresentava alterações relevantes, com leucócitos ($4,71 \times 10^3/\mu\text{L}$), linfócitos ($1,55 \times 10^3/\mu\text{L}$) e neutrófilos ($2,54 \times 10^3/\mu\text{L}$) normais e sem anemia (hemoglobina 16,2 g/dL) ou trombocitopenia (plaquetas $123 \times 10^3/\mu\text{L}$). Função renal preservada (creatinina 0,85mg/dL), ácido úrico (6,3mg/dL) e desidrogenase do lactato (DHL 180 U/L a 37°) normais. A nível hepático, tinha transaminases aumentadas cerca de 3-4 vezes o normal (AST/TGO 120 U/L; ALT/TGP 154U/L) e a albumina dentro dos valores normais (4,52 g/dL). Os marcadores tumorais alfa-fetoproteína (16,5 $\mu\text{g/L}$, para valores normais <7 $\mu\text{g/L}$) e o CA 19.9 (49,6U/mL) encontravam-se elevados. As serologias para VHB e VIH 1 e 2 foram negativas. A genotipagem do VHC revelou um 3a, com uma carga viral de 491000 UI/mL e um RNA de 5,69 \log_{10} UI/mL.

Foi submetido a biópsia da adenopatia axilar esquerda, em Setembro, cuja histologia revelou uma arquitetura apagada, com arranjo vagamente nodular, septos fibrosos e vasos de parede espessada. Identificou-se proliferação de células linfóides grandes, com aspeto centroblástico e imunoblástico, elevado índice mitótico, necrose e imunorreacção das células

neoplásicas para CD20 e Bcl2. Foi feito o diagnóstico de Linfoma difuso de grandes células B (LDGCB).

Procedeu-se ao estadiamento:

- A biópsia da medula óssea não tinha alterações relevantes, nomeadamente alterações sugestivas de envolvimento medular por linfoma B.
- Na TAC toraco-abdominal-pélvica, foram identificadas múltiplas adenopatias axilares bilateralmente, em maior número e de maiores dimensões à esquerda. A formação de maiores dimensões apresentava um eixo curto com cerca de 31mm, à esquerda. No mesmo exame foram também visualizadas adenopatias inguinais bilaterais, a maior com 21mm à esquerda, esplenomegalia homogénea e duas nodularidades infracentimétricas referenciadas, no segmento VI do lobo hepático direito e no segmento IVb.

Assim, foi assumido o diagnóstico de Linfoma B difuso de grandes células, em Novembro de 2013. O doente apresentava um *International Prognostic Index* (IPI) baixo (idade inferior a 60 anos, DHL normal, sem áreas extra-ganglionares, estadio III-A e com *performance status* classificado como ECOG-0).

A 8 de Novembro de 2013 iniciou tratamento quimioterápico, segundo o protocolo que associa rituximab a ciclosfosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona (R-CHOP). Concomitantemente começou omeprazol (20mg/dia, ao jantar) e alopurinol (300 mg/dia ao jantar).

Após o primeiro ciclo (18 de Novembro de 2013), o doente teve neutropenia febril (neutrófilos $0,04 \times 10^3/\mu\text{L}$) com infecção do trato urinário, tendo tido necessidade de antibioterapia e fator estimulador das colónias de granulócitos, filgrastim[®]. Para além disso, foi observado um aumento significativo das transaminases (AST 500 U/L e ALT 656 U/L), toxicidade hepática atribuída à quimioterapia.

Apesar da boa resposta ao tratamento em termos clínicos (desaparecimento da tumefação axilar esquerda), devido à hepatotoxicidade, foi decidido alterar o esquema anterior. Optou-se por excluir, no segundo ciclo de quimioterapia, as antraciclinas, tendo iniciado o tratamento (R-CVP), com uma semana de atraso. No dia 27 de Novembro, há uma melhoria das enzimas hepáticas (AST 375U/L; ALT 452 U/L), no entanto, apesar da mudança no regime terapêutico, as transaminases, durante os meses seguintes, mantiveram-se sempre acima do limite máximo da normalidade, com algumas flutuações.

No final do quarto ciclo foi documentada, por TAC, resposta completa, tendo o doente completado seis ciclos de quimioterapia em 28 de Fevereiro de 2014.

Atualmente, um ano depois, o doente mantém a remissão completa, apresentando-se clinicamente estável, sem febre, apetite conservado e sem queixas. No entanto, as enzimas

Associação entre linfomas não Hodgkin de células B e infecção pelo vírus hepatite C: a propósito de um caso

hepáticas mantêm-se aumentadas (AST 102U/L; ALT 135U/L) e a RM abdominal mostra uma heterogeneidade parenquimatosa hepática difusa, com duas imagens nodulares, com dimensões maiores em relação a exames anteriores. A alfa-fetoproteína regista um aumento gradual (36,8 µg/L, a 28 de Janeiro de 2015; para um valor 70,2 µg/L). Perante estes dados, foi adotada uma atitude expectante.

O doente mantém-se em vigilância na consulta de Hematologia, bem como de Infeciologia e Cirurgia geral.

Tabela I - Performance scale da Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)

Performance Status	Definição
0	Sem restrições nas atividades que realizava previamente
1	Atividade física extenuante restrita; capaz de realizar tarefas leves ou de natureza sedentária
2	Capaz para cuidar de si, mas incapaz de realizar outras tarefas. Deambula >50% das horas de vigília
3	Limitado nas atividades de cuidado ao próprio. Confinado à cama ou cadeirão >50% das horas de vigília
4	Incapacidade total. Incapaz de cuidar do próprio ou outra atividade. Completamente confinado à cama ou cadeirão

Tabela II - Estadiamento de Ann Arbor (59)

Estadio	Definição
I	Envolvimento de uma única região linfática ou envolvimento local de um único sítio ou órgão extralinfático
II	Envolvimento de duas ou mais regiões linfáticas do mesmo lado do diafragma ou envolvimento local de um único sítio ou órgão extralinfáticos e uma ou mais regiões linfáticas do mesmo lado do diafragma
III	Envolvimento de regiões linfáticas de ambos os lados do diafragma
IV	Envolvimento disseminado ou difuso de um ou mais órgãos extralinfáticos com ou sem envolvimento linfático

Discussão do caso

O desafio neste caso clínico consiste na decisão da melhor abordagem terapêutica, perante o diagnóstico de um linfoma agressivo associado a infecção por vírus da hepatite C, recentemente diagnosticado. Neste caso particular, torna-se importante decidir qual a patologia que deve ser tratada inicialmente.

À luz dos conhecimentos atuais, o doente cumpriu o tratamento quimioterápico adequado para o LDGCB, contudo, devido à hepatotoxicidade desenvolvida após o primeiro ciclo de tratamento, atrasou uma semana no início do segundo, bem como houve necessidade de se excluir as antraciclinas (doxorrubicina) dos ciclos seguintes, não cumprindo a terapêutica definida inicialmente.

No início da programação do tratamento, hematologistas, hepatologistas e infecciosologistas devem ser envolvidos, na monitorização hepática apertada, com ajuste de doses ou paragem no tratamento, sempre que tal se traduza em agravamento da sobrevivência geral (60) e na avaliação da lesão hepática e estabelecimento das comorbilidades do doente.

Por altura do diagnóstico do linfoma, o doente apresentava aminotransferases elevadas e marcadores tumorais, nomeadamente, a alfa-fetoproteína, acima do seu valor normal. No entanto, como dita o estado da arte, o doente foi primariamente tratado para a doença linfoproliferativa.

De acordo com as recomendações atuais (61), é discutível se este doente deveria ter sido submetido a uma biópsia hepática, no sentido de esclarecer as lesões ocupantes de espaço descritas na TAC (duas nodularidades infracentimétricas, no segmento VI do lobo hepático direito e no segmento IVb), bem como o aumento da alfa-fetoproteína (16,5µg/L).

Nesta altura, a biópsia hepática não é obrigatória em todos os casos, mas a sua indicação deve ser cuidadosamente ponderada, não só para determinar o estadio de progressão da doença, mas também, caso se suspeite de cirrose ou de lesões malignas hepáticas, para definir a melhor estratégia terapêutica. Caso estejam presentes, o doente deve ser informado, antes de iniciar a quimioterapia (QT), do risco significativamente maior de reativação viral (62).

A relação causal entre a infecção por VHC e o desenvolvimento de linfomas foi abordada anteriormente e uma das evidências desta associação foi provada pela regressão dos linfomas não Hodgkin de células B (LNH-B) indolentes após a erradicação do vírus da hepatite C (VHC) pelo tratamento antivírico (TAV). No entanto, o tratamento de LNH-B agressivos, associados ao VHC, principalmente no LDGCB, presente no caso clínico, a quimioterapia à base de antraciclinas, em associação ao rituximab (imuno-quimioterapia), mantém-se como primeira linha, enquanto o TAV, até à data, não tem um papel significativo.

Um aspeto importante, no tratamento dos subtipos de linfomas agressivos, é o fato de os regimes antivíricos atuais levarem muito tempo a desenvolver efeitos antitumorais e, para além disso, os LNH-VHC não são exclusivamente “*antigen driven*”, podendo resultar de mutações oncogénicas adquiridas (56, 63).

Associação entre linfomas não Hodgkin de células B e infecção pelo vírus hepatite C: a propósito de um caso

As estratégias de tratamento para o LDGCB devem ser estratificadas de acordo com a idade e o *International Prognostic Index* (IPI) ajustado para a idade (aaIPI) (tabelas I e II). O caso clínico retrata um doente novo (<61 anos), de baixo risco (IPI baixo – tabela II), com um aaIPI de zero, pelo que o tratamento padronizado são seis ciclos de uma combinação de quimioterápicos (ciclosfosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona - CHOP) associada a 6 doses de rituximab, a cada 21 dias, sem benefícios em incluir radioterapia (59).

Tabela III - Fatores de risco que definem o *International Prognostic Index* (IPI) (64)

Index Geral	Parâmetros	Index ajustado para a idade (a.a.)
1	Idade > 60 anos	Não aplicável
1	Performance Status 2-4	1
1	Estadio 3-4	1
1	LDH aumentada	1
1	> 1 Local extra nodal	Não incluído
5	Score máximo	3

Tabela IV - Grupos de risco do IPI (64)

Nº de Fatores de risco	Nº fatores de risco a.a.	Grupo de risco
0-1	0	Baixo
2	1	Intermédio Baixo
3	2	Intermédio Alto
4-5	3	Alto

A questão clínica da influência da imuno-quimioterapia para o LNH-VHC na infecção por VHC crónica é muito importante. O perfil dos efeitos laterais e a eficácia do tratamento *standard* parecem aumentar o risco de danos hepáticos (60). No caso particular do LDGCB, dados recentes provaram a alta incidência de hepatotoxicidade, nos doentes submetidos a rituximab e CHOP (62, 65, 66).

O rituximab, um pilar moderno importante na terapêutica do LNH, parece complicar o tratamento devido ao acréscimo de hepatotoxicidade e da questão da reativação do VHC ou da aceleração da inflamação viral hepática (67-70).

Besson *et al.* (71) estudou 23 doentes com LDGCB associado a VHC positivo, tendo observado que 65% desenvolveram toxicidade hepática durante a quimioterapia, uma percentagem significativamente maior que a dos doentes VHC-negativos. No estudo de Visco (72), entre 132 doentes com LDGCB e VHC positivo, 4% tiveram que interromper tratamento, devido a hepatotoxicidade grave, enquanto 11% necessitou de redução da dose ou prolongamento dos intervalos de tratamento.

No tratamento de um linfoma associado ao VHC, o uso de quimioterapia baseada em antraciclinas associada a rituximab ou o uso imuno-quimioterapia e TAV concomitantes mostram um perfil de segurança menos benéfico, incluindo toxicidade hematológica e *flares* hepáticos.

Diferentes mecanismos foram propostos para explicar as maiores taxas de disfunção hepática e os piores resultados com a quimioterapia *standard* no LNH-VHC (68-71, 73): (1) agravamento de dano hepático preexistente por VHC; (2) replicação acelerada do VHC e, concomitante, dano hepático; (3) hepatite por reativação imune pós-tratamento; e (4) toxicidade farmacológica aumentada devido a alterações no seu metabolismo.

Apesar do referido, foi observada melhoria clínica no fim do primeiro ciclo, com desaparecimento das massas adenopáticas, e documentada remissão completa ao final do quarto. As aminotransferases, embora não tenham atingidos valores normais, diminuíram, antes do início do segundo ciclo, tendo sido possível completar o tratamento quimioterápico adaptado (sem antraciclinas), com manutenção da remissão completa do linfoma (figura 4).

Response	Definition	Nodal Masses	Spleen, Liver	Bone Marrow
CR	Disappearance of all evidence of disease	(a) FDG-avid or PET positive prior to therapy; mass of any size permitted if PET negative (b) Variably FDG-avid or PET negative; regression to normal size on CT	Not palpable, nodules disappeared	Infiltrate cleared on repeat biopsy; if indeterminate by morphology, immunohistochemistry should be negative
PR	Regression of measurable disease and no new sites	≥ 50% decrease in SPD of up to 6 largest dominant masses; no increase in size of other nodes (a) FDG-avid or PET positive prior to therapy; one or more PET positive at previously involved site (b) Variably FDG-avid or PET negative; regression on CT	≥ 50% decrease in SPD of nodules (for single nodule in greatest transverse diameter); no increase in size of liver or spleen	Irrelevant if positive prior to therapy; cell type should be specified
SD	Failure to attain CR/PR or PD	(a) FDG-avid or PET positive prior to therapy; PET positive at prior sites of disease and no new sites on CT or PET (b) Variably FDG-avid or PET negative; no change in size of previous lesions on CT		
Relapsed disease or PD	Any new lesion or increase by ≥ 50% of previously involved sites from nadir	Appearance of a new lesion(s) > 1.5 cm in any axis, ≥ 50% increase in SPD of more than one node, or ≥ 50% increase in longest diameter of a previously identified node > 1 cm in short axis Lesions PET positive if FDG-avid lymphoma or PET positive prior to therapy	> 50% increase from nadir in the SPD of any previous lesions	New or recurrent involvement

Abbreviations: CR, complete remission; FDG, [¹⁸F]fluorodeoxyglucose; PET, positron emission tomography; CT, computed tomography; PR, partial remission; SPD, sum of the product of the diameters; SD, stable disease; PD, progressive disease.

Figura 4 - Critérios de resposta ao tratamento em linfomas agressivos (74)

Ao tratar um LNH-VHC agressivo com imuno-quimioterapia, a infecção por VHC continua a ser a questão a valorizar. Após remissão do linfoma, parece ser intuitivo erradicar o VHC, de forma a prevenir recorrência.

Um estudo de 2008 provou poder ser usado com resultados promissores no tratamento sequencial de imuno-quimioterapia seguida de TAV, levando a um melhor *outcome* clínico, bem como sobrevivência livre de progressão de doença (75). Recentemente, um estudo confirmou que doentes com LDGCB devem ser propostos para TAV, depois de a remissão do linfoma ser atingida, tendo sempre em conta o risco/benefício

dessas terapêuticas (76). Neste aspeto, são necessários mais dados prospectivos, incluindo o uso de terapêuticas emergentes sobre o VHC.

Uma vez tratado o linfoma, deve ponderar-se o tratamento antivírico, no sentido de diminuir a replicação do vírus e evitar as suas complicações, não só a nível hepático, como de outros distúrbios sistémicos comprovadamente associados ao vírus.

Até 2011, o tratamento do VHC, baseava-se, essencialmente, na hipótese de terapia tripla, com um inibidor da protease (*boceprevir* ou *telaprevir*) em associação ao IFN-Peguilado e à ribavirina (RBV) (77, 78). No entanto, recentemente o tratamento da infecção por VHC sofreu alterações profundas.

Desta forma, as novas recomendações europeias sobre o tratamento da infecção crónica por VHC enfatizam a importância de determinar o genótipo do vírus da hepatite C e o nível de fibrose hepática, ambos critérios prognósticos e determinantes na escolha da terapêutica mais adequada (61).

Na figura 5 estão descritas as indicações atuais para iniciar o tratamento, segundo a *European Association for the Study of the Liver* (EASL), entre as quais se encontram os doentes com manifestações extra-hepáticas clinicamente significativas, nomeadamente a CM-VHC ou os linfomas não-Hodgkin de células B.

Treatment priority	Patient group
Treatment is indicated	<ul style="list-style-type: none"> All treatment-naïve and treatment-experienced patients with compensated and decompensated liver disease
Treatment should be prioritized	<ul style="list-style-type: none"> Patients with significant fibrosis (F3) or cirrhosis (F4), including decompensated cirrhosis Patients with HIV coinfection Patients with HBV coinfection Patients with an indication for liver transplantation Patients with HCV recurrence after liver transplantation Patients with clinically significant extra-hepatic manifestations Patients with debilitating fatigue Individuals at risk of transmitting HCV (active injection drug users, men who have sex with men with high-risk sexual practices, women of child-bearing age who wish to get pregnant, haemodialysis patients, incarcerated individuals)
Treatment is justified	<ul style="list-style-type: none"> Patients with moderate fibrosis (F2)
Treatment can be deferred	<ul style="list-style-type: none"> Patients with no or mild disease (F0-F1) and none of the above-mentioned extra-hepatic manifestations
Treatment is not recommended	<ul style="list-style-type: none"> Patients with limited life expectancy due to non-liver related comorbidities

Figura 5 - Segundo a *European Association for the Study of the Liver* (EASL), indicações para o tratamento da infecção crónica por VHC em 2015: Quem tratar? (61)

De acordo com a *American Association for the Study of Liver Diseases* (AASLD), o tratamento do VHC recomendado, em 2015, para o genótipo 3a (tal como o doente descrito), inclui uma associação de *sofosbuvir* (400mg) e ribavirina (dose dependente do peso) diária, durante 24 semanas, caso o doente não tenha sido submetido ainda a nenhuma terapêutica para o VHC. Um esquema alternativo, adiciona IFN-Peg ao esquema anterior, com duração de apenas 12 semanas. No entanto, devido aos efeitos laterais e as

exigências mais apertadas na monitorização, este tratamento está mais indicado para os doentes que não tenham atingido uma RVS previamente (79).

Com taxas de RVS aumentadas, sob o novo tratamento para o VHC, são também esperadas maiores taxas de resposta oncológica no LNH-VHC.

Outros estudos estão em curso e, novamente, a necessidade de uma abordagem interdisciplinar tem de ser enfatizada, à medida que vão surgindo fármacos antivíricos mais recentes, com novos efeitos laterais e potenciais interações farmacológicas, que requerem monitorização apertada.

O *outcome* dos doentes com LDGCB, VHC positivos, não se mostrou ser inferior aos doentes com essa patologia, mas VHC negativo, desde que adequadamente tratados. Os estudos mostraram que nem a infecção por VHC, nem o desenvolvimento de hepatotoxicidade severa estão correlacionados com a sobrevivência nos LDGCB, sugerindo que os doentes com VHC positivo mantenham um benefício anti-linfoma, da adição de rituximab ao tratamento, semelhante aos que não estão infetados (62).

Um ano após completar o tratamento quimioterápico, o doente mantém-se em remissão completa, no entanto as aminotransferases permanecem elevadas (AST 102U/L; ALT 135U/L). De salientar que estes marcadores sofreram várias alterações durante o seguimento do doente: constatou-se um aumento muito marcado concomitante com o início do primeiro ciclo quimioterápico, razão pela qual o tratamento foi alterado e excluídas as antraciclinas. Posteriormente, houve uma diminuição gradual, nos meses seguintes, sem nunca atingirem níveis normais, documentando-se, inclusive, alguns aumentos ligeiros pontuais. Esta evolução temporal sobressai a dificuldade em conjugar o tratamento das duas patologias, uma vez que, o aumento pode ter sido consequência da QT ou representar uma característica da infecção crónica por VHC que se traduz por alterações flutuantes das transaminases.

Recentemente, a *Fondazione Italiana Linfomi* propôs um *score* prognóstico para os LDGCB associados ao VHC que inclui 3 parâmetros: um clínico, a escala ECOG, e dois laboratoriais, o nível de albumina e o RNA-VHC. De acordo com este *score*, é possível estratificar os doentes em três categorias de risco, com prognósticos clinicamente diferentes (58). No entanto, são precisos mais estudos que confirmem e comprovem estes resultados.

Cerca de 30% dos LDGCB recidivam, pelo que o doente deve manter vigilância semestral nos próximos dois anos, com história clínica e exame físico. Aos 24 meses pós-terapia, deve repetir hemograma completo, LDH e TAC toraco-abdominal, apesar de ainda não haver evidências que suportem nenhuma vantagem desta última, nos doentes que obtiveram resposta completa (59).

Conclusão

Em suma, as evidências epidemiológicas acumuladas até hoje apoiam a teoria que doentes com infecção crônica pelo VHC têm um risco elevado de desenvolver linfomas. O grau da associação entre o VHC e os LNH-B varia, em grande escala, com a localização geográfica. Os mecanismos moleculares da linfomagenese associada ao VHC ainda não são concretos. Existem vários conceitos hipotéticos para explicar o processo de transformação, a partir de estudos *in vitro* e *in vivo*. Estas teorias não competem obrigatoriamente, umas com as outras, e podem ser vias paralelas que levam ao LNH-VHC, como uma combinação de eventos transformadores que podem ser necessários para o início do linfoma. Pontes entre os estudos que correlacionem experiências funcionais *in vivo* são necessárias. Os achados da relação próxima entre as respostas do linfoma e a virológica aumentam a esperança de que as taxas maiores de RVS conseguidas com os novos fármacos antivirais, possam melhorar a terapia dos LNH-VHC.

Este caso clínico exemplifica a complexidade e as dificuldades que podem surgir quando temos um doente com duas patologias distintas, mas com uma associação evidente entre elas, tendo o médico, que decidir, baseado nas evidências existentes, a melhor abordagem terapêutica.

Bibliografia

1. Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D, Colaci M, Fallahi P, Piluso A, et al. Hepatitis C virus syndrome: A constellation of organ- and non-organ specific autoimmune disorders, B-cell non-Hodgkin's lymphoma, and cancer. *World Journal of Hepatology*. 2015;7(3):327-43.
2. Peveling-Oberhag J, Arcaini L, Hansmann M-L, Zeuzem S. Hepatitis C-associated B-cell non-Hodgkin lymphomas. Epidemiology, molecular signature and clinical management. *Journal of Hepatology*. 2013;59(1):169-77.
3. Hermine O, Lefrère F, Bronowicki J-P, Mariette X, Jondeau K, Eclache-Saudreau V, et al. Regression of Splenic Lymphoma with Villous Lymphocytes after Treatment of Hepatitis C Virus Infection. *New England Journal of Medicine*. 2002;347(2):89-94.
4. Pozzato G, Mazzaro C, Crovatto M, Modolo M, Ceselli S, Mazzi G, et al. Low-grade malignant lymphoma, hepatitis C virus infection, and mixed cryoglobulinemia 1994 1994-11-01 00:00:00. 3047-53 p.
5. Ferri C, Caracciolo F, Zignego AL, Civita LL, Monti M, Longombardo G, et al. Hepatitis C virus infection in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *British Journal of Haematology*. 1994;88(2):392-4.
6. Ferri C, Marzo E, Longombardo G, Lombardini F, La Civita L, Vanacore R, et al. Interferon-alpha in mixed cryoglobulinemia patients: a randomized, crossover-controlled trial 1993 1993-03-01 00:00:00. 1132-6 p.

7. Landau D-A, Saadoun D, Halfon P, Martinot-Peignoux M, Marcellin P, Fois E, et al. Relapse of hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia vasculitis in patients with sustained viral response. *Arthritis & Rheumatism*. 2008;58(2):604-11.
8. Monti G, Pioltelli P, Saccardo F, et al. Incidence and characteristics of non-hodgkin lymphomas in a multicenter case file of patients with hepatitis c virus-related symptomatic mixed cryoglobulinemias. *Archives of Internal Medicine*. 2005;165(1):101-5.
9. Gisbert JP, García-Buey L, Pajares JMa, Moreno-Otero R. Prevalence of hepatitis C virus infection in B-cell non-Hodgkin's lymphoma: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*. 125(6):1723-32.
10. Agnello V, Chung RT, Kaplan LM. A Role for Hepatitis C Virus Infection in Type II Cryoglobulinemia. *New England Journal of Medicine*. 1992;327(21):1490-5.
11. Dal Maso L, Franceschi S. Hepatitis C Virus and Risk of Lymphoma and Other Lymphoid Neoplasms: A Meta-analysis of Epidemiologic Studies. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2006;15(11):2078-85.
12. Torres HA, Nevah MI, Barnett BJ, Mahale P, Kontoyiannis DP, Hassan MM, et al. Hepatitis C virus genotype distribution varies by underlying disease status among patients in the same geographic region: A retrospective multicenter study. *Journal of Clinical Virology*. 54(3):218-22.
13. Duberg A-S, Nordström M, Törner A, Reichard O, Strauss R, Janzon R, et al. Non-Hodgkin's lymphoma and other nonhepatic malignancies in Swedish patients with hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2005;41(3):652-9.
14. Morton LM, Engels EA, Holford TR, Leaderer B, Zhang Y, Zahm SH, et al. Hepatitis C Virus and Risk of Non-Hodgkin Lymphoma: A Population-Based Case-Control Study among Connecticut Women. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2004;13(3):425-30.
15. Libra M, Polesel, J., Russo, A. E., De Re, V., Cinà, D., Serraino, D., Nicoletti, F., Spandidos, D. A., Stivala, F., Talamini, R. "Extrahepatic disorders of HCV infection: A distinct entity of B-cell neoplasia?". *International Journal of Oncology*. 2010;36.6: 1331-40.
16. Matsuo K, Kusano A, Sugumar A, Nakamura S, Tajima K, Mueller NE. Effect of hepatitis C virus infection on the risk of non-Hodgkin's lymphoma: A meta-analysis of epidemiological studies. *Cancer Science*. 2004;95(9):745-52.
17. Kelaidi C, Rollot F, Park S, Tulliez M, Christoforov B, Calmus Y, et al. Response to antiviral treatment in hepatitis C virus-associated marginal zone lymphomas. *Leukemia*. 2004;18(10):1711-6.
18. Tursi A, Brandimarte G, Torello M. Disappearance of Gastric Mucosa-associated Lymphoid Tissue in Hepatitis C Virus-positive Patients After Anti-hepatitis C Virus Therapy. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2004;38(4):360-3.
19. Mazzaro C, De Re V, Spina M, Dal Maso L, Festini G, Comar C, et al. Pegylated-interferon plus ribavirin for HCV-positive indolent non-Hodgkin lymphomas. *British Journal of Haematology*. 2009;145(2):255-7.
20. Vallisa D, Bernuzzi P, Arcaini L, Sacchi S, Callea V, Marasca R, et al. Role of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Treatment in HCV-Related, Low-Grade, B-Cell, Non-Hodgkin's Lymphoma: A Multicenter Italian Experience. *Journal of Clinical Oncology*. 2005;23(3):468-73.
21. Sung VMH, Shimodaira S, Doughty AL, Picchio GR, Can H, Yen TSB, et al. Establishment of B-Cell Lymphoma Cell Lines Persistently Infected with Hepatitis C Virus In Vivo and In Vitro: the Apoptotic Effects of Virus Infection. *Journal of Virology*. 2003;77(3):2134-46.
22. Conca P, Tarantino G. Hepatitis C virus lymphotropism and peculiar immunological phenotype: Effects on natural history and antiviral therapy. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2009;15(19):2305-8.
23. Zignego AL, Giannini C, Monti M, Gragnani L. Hepatitis C virus lymphotropism: lessons from a decade of studies. *Digestive and Liver Disease*. 39:S38-S45.
24. Kondo Y, Shimosegawa T. Direct effects of hepatitis C virus on the lymphoid cells. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2013;19(44):7889-95.

25. Carbone A, Gloghini A. Relationships between lymphomas linked to hepatitis C virus infection and their microenvironment. *World Journal of Gastroenterology : WJG.* 2013;19(44):7874-9.
26. De Paoli P, Carbone A. Microenvironmental abnormalities induced by viral cooperation: Impact on lymphomagenesis. *Seminars in Cancer Biology.* 2015(0).
27. Nakamura S, Matsumoto T. Helicobacter pylori and gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: Recent progress in pathogenesis and management. *World Journal of Gastroenterology : WJG.* 2013;19(45):8181-7.
28. De Re V, De Vita S, Marzotto A, Gloghini A, Pivetta B, Gasparotto D, et al. Pre-malignant and malignant lymphoproliferations in an HCV-infected type II mixed cryoglobulinemic patient are sequential phases of an antigen-driven pathological process. *International Journal of Cancer.* 2000;87(2):211-6.
29. Dubuisson J, Cosset F-L. Virology and cell biology of the hepatitis C virus life cycle – An update. *Journal of Hepatology.* 2014;61(1, Supplement):S3-S13.
30. Douam F, Lavillette D, Cosset F-L. Chapter Three - The Mechanism of HCV Entry into Host Cells. In: Klasse PJ, editor. *Progress in Molecular Biology and Translational Science.* Volume 129: Academic Press; 2015. p. 63-107.
31. Zuckerman E, Slobodin G, Kessel A, Sabo E, Yeshurun D, Halas K, et al. Peripheral B-cell CD5 expansion and CD81 overexpression and their association with disease severity and autoimmune markers in chronic hepatitis C virus infection. *Clinical and Experimental Immunology.* 2002;128(2):353-8.
32. Functional dissection of the CD21/CD19/TAPA-1/Leu-13 complex of B lymphocytes. *The Journal of Experimental Medicine.* 1993;178(4):1407-17.
33. Carter R, Fearon D. CD19: lowering the threshold for antigen receptor stimulation of B lymphocytes. *Science.* 1992;256(5053):105-7.
34. Rosa D, Saletti G, De Gregorio E, Zorat F, Comar C, D'Oro U, et al. Activation of naïve B lymphocytes via CD81, a pathogenetic mechanism for hepatitis C virus-associated B lymphocyte disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2005;102(51):18544-9.
35. Quinn ER, Chan CH, Hadlock KG, Fong SKH, Flint M, Levy S. The B-cell receptor of a hepatitis C virus (HCV)-associated non-Hodgkin lymphoma binds the viral E2 envelope protein, implicating HCV in lymphomagenesis 2001 2001-12-15 00:00:00. 3745-9 p.
36. Gasparotto D, De Re V, Boiocchi M. Hepatitis C Virus, B-cell Proliferation and Lymphomas. *Leukemia & Lymphoma.* 2002;43(4):747-51.
37. Zignego AL, Ferri C, Giannelli F, Giannini C, Caini P, Monti M, et al. Prevalence of bcl-2 Rearrangement in Patients with Hepatitis C Virus-Related Mixed Cryoglobulinemia with or without B-Cell Lymphomas. *Annals of Internal Medicine.* 2002;137(7):571-80.
38. Zignego AL, Giannelli F, Marrocchi ME, Mazzocca A, Ferri C, Giannini C, et al. T(14;18) translocation in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology.* 2000;31(2):474-9.
39. Libra M, Gloghini A, Malaponte G, Gangemi P, De Re V, Cacopardo B, et al. Association of t(14;18) translocation with HCV infection in gastrointestinal MALT lymphomas. *Journal of Hepatology.* 49(2):170-4.
40. Kitay-Cohen Y, Amiel A, Hilzenrat N, Buskila D, Ashur Y, Fejgin M, et al. Bcl-2 rearrangement in patients with chronic hepatitis C associated with essential mixed cryoglobulinemia type II 2000 2000-10-15 00:00:00. 2910-2 p.
41. Feldmann G, Nischalke HD, Nattermann J, Banas B, Berg T, Teschendorf C, et al. Induction of Interleukin-6 by Hepatitis C Virus Core Protein in Hepatitis C-Associated Mixed Cryoglobulinemia and B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. *Clinical Cancer Research.* 2006;12(15):4491-8.
42. Geri G, Terrier B, Semoun O, Saadoun D, Sène D, Charlotte F, et al. Surrogate markers of B cell non-Hodgkin's lymphoma in patients with hepatitis C virus-related cryoglobulinaemia vasculitis. *Annals of the Rheumatic Diseases.* 2010;69(12):2177-80.

43. Fabris M, Quartuccio L, Sacco S, De Marchi G, Pozzato G, Mazzaro C, et al. B-Lymphocyte stimulator (BLyS) up-regulation in mixed cryoglobulinaemia syndrome and hepatitis-C virus infection. *Rheumatology*. 2007;46(1):37-43.
44. Sène D, Limal N, Ghillani-Dalbin P, Saadoun D, Piette J-C, Cacoub P. Hepatitis C virus-associated B-cell proliferation—the role of serum B lymphocyte stimulator (BLyS/BAFF). *Rheumatology*. 2007;46(1):65-9.
45. Batten M, Groom J, Cachero TG, Qian F, Schneider P, Tschopp J, et al. Baff Mediates Survival of Peripheral Immature B Lymphocytes. *The Journal of Experimental Medicine*. 2000;192(10):1453-66.
46. Kasama Y, Mizukami T, Kusunoki H, Peveling-Oberhag J, Nishito Y, Ozawa M, et al. B-Cell-Intrinsic Hepatitis C Virus Expression Leads to B-Cell-Lymphomagenesis and Induction of NF- κ B Signalling. *PLoS ONE*. 2014;9(3):e91373.
47. Jardin F, Figeac M. MicroRNAs in lymphoma, from diagnosis to targeted therapy. *Current Opinion in Oncology*. 2013;25(5):480-6.
48. Arribas AJ, Gomez-Abad C, Sanchez-Beato M, Martinez N, DiLisio L, Casado F, et al. Splenic marginal zone lymphoma: comprehensive analysis of gene expression and miRNA profiling. *Mod Pathol*. 2013;26(7):889-901.
49. Singaravelu R, Russell RS, Tyrrell DL, Pezacki JP. Hepatitis C virus and microRNAs: miRed in a host of possibilities. *Current Opinion in Virology*. 2014;7(0):1-10.
50. Machida K, Cheng KTN, Sung VMH, Shimodaira S, Lindsay KL, Levine AM, et al. Hepatitis C virus induces a mutator phenotype: Enhanced mutations of immunoglobulin and protooncogenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(12):4262-7.
51. Hofmann WP, Fernandez B, Herrmann E, Welsch C, Mihm U, Kronenberger B, et al. Somatic hypermutation and mRNA expression levels of the BCL-6 gene in patients with hepatitis C virus-associated lymphoproliferative diseases*. *Journal of Viral Hepatitis*. 2007;14(7):484-91.
52. Tucci FA, Broering R, Johansson P, Schlaak JF, Küppers R. B Cells in Chronically Hepatitis C Virus-Infected Individuals Lack a Virus-Induced Mutation Signature in the TP53, CTNNB1, and BCL6 Genes. *Journal of Virology*. 2013;87(5):2956-62.
53. Terrier B, Chaara W, Dufat L, Geri G, Rosenzweig M, Musset L, et al. Serum biomarker signature identifies patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma associated with cryoglobulinemia vasculitis in chronic HCV infection. *Autoimmunity Reviews*. 2014;13(3):319-26.
54. Nieters A, Kallinowski B, Brennan P, Ott M, Maynadié M, Benavente Y, et al. Hepatitis C and Risk of Lymphoma: Results of the European Multicenter Case-Control Study EPILYMPH. *Gastroenterology*. 2006;131(6):1879-86.
55. De Sanjose S, Benavente Y, Vajdic CM, Engels EA, Morton LM, Bracci PM, et al. Hepatitis C and Non-Hodgkin Lymphoma Among 4784 Cases and 6269 Controls From the International Lymphoma Epidemiology Consortium. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 6(4):451-8.
56. Pellicelli AM, Marignani M, Zoli V, Romano M, Morrone A, Nosotti L, et al. Hepatitis C virus-related B cell subtypes in non Hodgkin's lymphoma. *World Journal of Hepatology*. 2011;3(11):278-84.
57. Arcaini L, Paulli M, Boveri E, Vallisa D, Bernuzzi P, Orlandi E, et al. Splenic and nodal marginal zone lymphomas are indolent disorders at high hepatitis C virus seroprevalence with distinct presenting features but similar morphologic and phenotypic profiles. *Cancer*. 2004;100(1):107-15.
58. Merli M, Visco C, Spina M, Luminari S, Ferretti VV, Gotti M, et al. Outcome prediction of diffuse large B-cell lymphomas associated with hepatitis C virus infection: a study on behalf of the Fondazione Italiana Linfomi 2014 2014-03-01 00:00:00. 489-96 p.
59. Tilly H, Vitolo U, Walewski J, da Silva MG, Shpilberg O, André M, et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2012;23(suppl 7):vii78-vii82.

60. Arcaini L, Merli M, Passamonti F, Bruno R, Brusamolino E, Sacchi P, et al. Impact of treatment-related liver toxicity on the outcome of HCV-positive non-Hodgkin's lymphomas. *American Journal of Hematology*. 2010;85(1):46-50.
61. EASL. Recommendations on treatment of Hepatitis C 2015: Indications for treatment: who should be treated? <http://www.easl.eu/research/our-contributions/clinical-practice-guidelines/detail/recommendations-on-treatment-of-hepatitis-c-2015/report/42015> [cited 2015 24 April 2015].
62. Visco C, Finotto S. Hepatitis C virus and diffuse large B-cell lymphoma: Pathogenesis, behavior and treatment. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(32):11054-61.
63. Levine AM, Shimodaira S, Lai MMC. Treatment of HCV-Related Mantle-Cell Lymphoma with Ribavirin and Pegylated Interferon Alfa. *New England Journal of Medicine*. 2003;349(21):2078-9.
64. A Predictive Model for Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 1993;329(14):987-94.
65. Zaky AH, Bakry R, El-sayed MI, Elwanis MA, Nabih O. Impact of treatment-related toxicity on outcome of HCV-positive diffuse large B-cell lymphoma in rituximab era. *Hematology*. 2014;19(7):412-6.
66. Salah-Eldin M, Ebrahim M, El-Sadda W. Clinical outcome of HCV-positive patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab-based chemotherapy. *Ann Hematol*. 2014;93(11):1903-11.
67. Marignani M, Mangone M, Cox MC, Angeletti S, Veggia B, Ferrari A, et al. HCV-positive status and hepatitis flares in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma treated with rituximab-containing regimens. *Digestive and Liver Disease*. 2011;43(2):139-42.
68. De Vita S, Quartuccio L, Isola M, Mazzaro C, Scaini P, Lenzi M, et al. A randomized controlled trial of rituximab for the treatment of severe cryoglobulinemic vasculitis. *Arthritis & Rheumatism*. 2012;64(3):843-53.
69. Dammacco F, Tucci FA, Lauletta G, Gatti P, De Re V, Conteduca V, et al. Pegylated interferon- α , ribavirin, and rituximab combined therapy of hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia: a long-term study 2010 2010-07-22 00:00:00. 343-53 p.
70. Saadoun D, Resche Rigon M, Sene D, Terrier B, Karras A, Perard L, et al. Rituximab plus Peg-interferon- α /ribavirin compared with Peg-interferon- α /ribavirin in hepatitis C-related mixed cryoglobulinemia 2010 2010-07-22 00:00:00. 326-34 p.
71. Besson C, Canioni D, Lepage E, Pol S, Morel P, Lederlin P, et al. Characteristics and Outcome of Diffuse Large B-Cell Lymphoma in Hepatitis C Virus-Positive Patients in LNH 93 and LNH 98 Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte Programs. *Journal of Clinical Oncology*. 2006;24(6):953-60.
72. Visco C, Arcaini L, Brusamolino E, Burcheri S, Ambrosetti A, Merli M, et al. Distinctive natural history in hepatitis C virus positive diffuse large B-cell lymphoma: analysis of 156 patients from northern Italy. *Annals of Oncology*. 2006;17(9):1434-40.
73. Ennishi D, Maeda Y, Niitsu N, Kojima M, Izutsu K, Takizawa J, et al. Hepatic toxicity and prognosis in hepatitis C virus-infected patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab-containing chemotherapy regimens: a Japanese multicenter analysis 2010 2010-12-09 00:00:00. 5119-25 p.
74. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2007;25(5):579-86.
75. La Mura V, De Renzo A, Perna F, D'Agostino D, Masarone M, Romano M, et al. Antiviral therapy after complete response to chemotherapy could be efficacious in HCV-positive non-Hodgkin's lymphoma. *Journal of Hepatology*. 49(4):557-63.
76. Michot J-M, Canioni D, Driss H, Alric L, Cacoub P, Suarez F, et al. Antiviral therapy is associated with a better survival in patients with hepatitis C virus and B-cell non-Hodgkin lymphomas, ANRS HC-13 lympho-C study. *American Journal of Hematology*. 2015;90(3):197-203.

77. Poordad F, McCone J, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. Boceprevir for Untreated Chronic HCV Genotype 1 Infection. *New England Journal of Medicine*. 2011;364(13):1195-206.
78. Hézode C, Forestier N, Dusheiko G, Ferenci P, Pol S, Goeser T, et al. Telaprevir and Peginterferon with or without Ribavirin for Chronic HCV Infection. *New England Journal of Medicine*. 2009;360(18):1839-50.
79. AASLD/IDSA/IAS–USA. Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. <http://www.hcvguidelines.org2015> [cited 2015 24 April].

Agradecimentos

À Dra. Alexandra Mota, um muito obrigado por estar sempre disponível, pelo apoio incansável e por todas as horas em que, já muito cansada, me ajudou, esclareceu dúvidas e corrigiu ideias, sempre com um sorriso no rosto.

Aos meus pais, um agradecimento especial. Sem eles o sonho não se tornava realidade.