

U. PORTO

 INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

 centro hospitalar
do Porto



**Linfoma de Hodgkin - Dificuldade
no diagnóstico e falência de
resposta ao tratamento: a
propósito de um caso clínico**

Ana Elisa Pinho de Matos

*Dissertação de
Mestrado Integrado
em Medicina*

Ano letivo 2012/2013



**Linfoma de Hodgkin - Dificuldade no diagnóstico e falência de
resposta ao tratamento: a propósito de um caso clínico**

Ana Elisa Pinho de Matos

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina

Ano letivo 2012/2013

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR

UNIVERSIDADE DO PORTO

CENTRO HOSPITALAR DO PORTO

Mestrado Integrado em Medicina

Ano letivo 2012/2013

Linfoma de Hodgkin - Dificuldade no diagnóstico e falência de resposta ao tratamento: a propósito de um caso clínico

Ana Elisa Pinho de Matos¹

Orientadora: Dr.^a Luciana Pinho²

¹6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto; Endereço de email: anapinhomatos@gmail.com

²Assistente Hospitalar de Hematologia Clínica, Centro Hospitalar do Porto; Professora Auxiliar Convidada do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto

Agradecimentos

À Doutora Luciana Pinho pela atenção e disponibilidade, mas também pelos bons conselhos dados para a elaboração deste trabalho.

Às minhas colegas de curso pelo carinho, apoio e motivação ao longo destes anos.

Aos meus Pais por nunca deixarem de acreditar na minha capacidade de trabalho e me incentivaram a dar sempre o meu melhor.

Ao Paulo pelo amor, amizade e cumplicidade, estando sempre presente em todos os momentos importantes.

Resumo

A dificuldade no diagnóstico e a falência de resposta ao tratamento continuam a ser dois desafios na abordagem aos doentes com Linfoma de Hodgkin, considerada uma das primeiras neoplasias potencialmente curáveis. A biópsia ganglionar e a análise histológica são etapas fundamentais na correta abordagem a estes doentes e podem condicionar o diagnóstico final. A escolha da técnica de biópsia deve ter como objetivo a obtenção de uma amostra significativa da lesão, sem que comprometa a avaliação histológica. Na análise histológica, deve ter-se em atenção que as células Reed-Sternberg não são patognomónicas de Linfoma de Hodgkin, pelo que é necessária uma correta caracterização histológica e imunofenotípica, de modo não comprometer a abordagem terapêutica.

Apesar da elevada taxa de curabilidade, alguns doentes com Linfoma de Hodgkin não respondem ou apresentam recidiva após quimioterapia de primeira linha, combinada ou não com radioterapia. A falência de resposta ao tratamento parece estar relacionada com fatores genéticos e epigenéticos do tumor. Nos casos de Linfoma de Hodgkin refratário, a abordagem terapêutica inclui quimioterapia *salvage*, seguida

de quimioterapia em alta dose com posterior transplante autólogo de células hematopoiéticas.

O caso relatado refere-se a um doente jovem com uma massa mediastínica, inicialmente diagnosticada como Linfoma não-Hodgkin de alto grau de malignidade. Após falência do tratamento dirigido, a reavaliação histológica revelou tratar-se de um Linfoma de Hodgkin com depleção linfocitária pelo que iniciou tratamento com doxorubicina, bleomicina, vinblastina e dacarbazina (ABVD), seguido de radioterapia, com resposta. No entanto, verifica-se recidiva precoce, que é refratária ao tratamento de segunda linha. Assim, pretende fazer-se uma revisão sobre a dificuldade no diagnóstico inerente a este tipo de linfoma, bem como analisar as circunstâncias em que ocorre falência de resposta ao tratamento.

Palavras-chave: Linfoma de Hodgkin, Células de Reed-Sternberg, Imunofenotipagem, Linfoma de Hodgkin Refratário, Quimioterapia *Salvage*, Transplante Autólogo de Células Hematopoiéticas

Abstract

The difficulty in the diagnosis and the failure of response to treatment continues to be two challenges in the approach to patients with a Hodgkin's

Lymphoma, considered one of the first potentially curable tumors. Lymph node biopsy and histological analysis are fundamental steps in the correct approach to these patients and can condition the final diagnosis. The choice of technique of biopsy should have as aim to obtain a significant sample of the lesion, without compromising the histological evaluation. In the histological analysis, it should be noted that the Reed-Sternberg cells are not pathognomonic of Hodgkin's Lymphoma, and it is necessary a correct histological characterization and immunophenotyping, so as not to compromise the therapeutic approach.

Despite the high rate of curability, some patients with Hodgkin's Lymphoma do not respond or have relapsed after first-line chemotherapy, combined or not with radiotherapy. The failure of response to the treatment appears to be related with genetic and epigenetic factors of the tumor. In cases of refractory Hodgkin's Lymphoma, the therapeutic approach includes salvage chemotherapy followed by high dose chemotherapy with posterior autologous stem cell transplant.

The reported case refers to a young male patient with a mediastinal mass, initially diagnosed as non-Hodgkin Lymphoma with high grade of malignancy. After failure of addressed

treatment, histological reevaluation revealed a Lymphocyte Depleted Hodgkin's Lymphoma that's why the patient initiated a treatment with doxorubicin, bleomycin, vinblastine and dacarbazine (ABVD), followed by radiotherapy, with response. However, early relapse occurs, which is refractory to second-line treatment. So, it is pretended to make a review about the difficulty inherent in the diagnosis of this type of lymphoma, as well as to analyze the circumstances under failure of response to treatment occurs.

Key words: Hodgkin's lymphoma, Reed-Sternberg Cells, Immunophenotyping, Refractory Hodgkin's lymphoma, Autologous Stem Cell Transplant, Salvage Chemotherapy

Introdução

Inicialmente descrito por Thomas Hodgkin e Samuel Wilks no século XIX (1), o Linfoma de Hodgkin (LH) foi a primeira neoplasia potencialmente curável com quimioterapia (QT) combinada (2).

Caracteriza-se pela presença das células de Reed-Sternberg (RS) rodeadas por uma resposta imunológica benigna contendo linfócitos, histiócitos, granulócitos, eosinófilos e plasmócitos. Estas células são binucleadas ou multinucleadas

com citoplasma abundante e podem apresentar formas variantes, como as células *popcorn* ou LP, características do LH nodular com predomínio de linfócitos (LHNPL) (1,2). No entanto, não são patognomônicas de LH, pelo que a sua presença não é suficiente para estabelecer o diagnóstico, estando este dependente também da presença do ambiente celular no qual as células neoplásicas estão inseridas e da imunofenotipagem (2). Com base na morfologia das células RS, composição do infiltrado inflamatório e sua morfologia, imunofenótipo e preservação ou extinção da expressão do gene de célula B, podem ser distinguidas duas entidades com epidemiologia, clínica, imunofenotipagem e genética distintas: o LHNPL e o LH clássico (LHC), com quatro subtipos: esclerose nodular, rico em linfócitos, celularidade mista e com depleção linfocitária (1,3,4). Os subtipos têm diferente valor prognóstico, apresentação clínica e histológica, nomeadamente no que refere ao grupo ganglionar envolvido, padrão de crescimento, presença de fibrose, composição do *background* celular, número e/ou grau de atipia das células neoplásicas, pelo que o conhecimento da subclassificação histopatológica fornece informações importantes para a decisão clínica (1,2). O estudo de marcadores imunofenotípicos, como os anticorpos

anti-CD15 (Leu-M1) e anti-CD30 (Ki-1), outros marcadores de superfície de células B, fatores de transcrição e proteínas associadas ao vírus Epstein-Barr (VEB) é essencial para esclarecer e/ou confirmar o diagnóstico (2,5).

A biópsia ganglionar, com posterior exame histológico e imunofenotipagem, constitui o exame *gold standard* para o diagnóstico da doença (2). A avaliação histológica nem sempre é fácil, podendo ser necessárias várias biópsias para identificação de uma área focal característica, dado que em algumas situações a obtenção de uma amostra significativa pode estar relacionada com a técnica de biópsia realizada (6).

No que refere ao tratamento, na maioria dos casos é possível a cura com QT de primeira linha (ABVD - doxorubicina, bleomicina, vinblastina e dacarbazina), combinada ou não com radioterapia. Este esquema tem elevada taxa de resposta com baixa toxicidade (7). Contudo, em cerca de 20-30% dos doentes ocorre falência de resposta ao tratamento (8), que parece estar relacionada com a presença de alterações genéticas e epigenéticas (9), que aumentam a agressividade do linfoma e condicionam a resposta ao tratamento (10). O LH refratário define-se pela regressão da doença inferior a 50% após 4 a 6 ciclos de QT com antraciclina e progressão da doença durante o tratamento de indução ou 90

dias após terminar tratamento de primeira linha (11). Nestes casos, o tratamento a instituir consiste em QT *salvage*, seguida de QT em alta dose e transplante autólogo de células hematopoiéticas (TACH) (10). O objectivo é obter, pelo menos, uma resposta parcial para que possa ser realizado o transplante. A realização de transplante permite a obtenção de uma sobrevida livre de doença a longo prazo, que não seria conseguida apenas com QT de segunda ou terceira linhas (12). No entanto, o prognóstico da QT *salvage* está dependente de vários fatores clínicos e nem todos os doentes com LH refratário são elegíveis para este tipo de abordagem (10,13). Nos casos em que se verifica progressão da doença sob terapia *salvage* deve optar-se por tratamento paliativo ou inclusão em estudo experimental (7,14).

Com a apresentação deste caso pretende fazer-se uma revisão sobre a dificuldade no diagnóstico inerente a este tipo de linfoma, bem como analisar as circunstâncias em que ocorre falência de resposta ao tratamento.

Descrição do Caso Clínico

B.F.S.F., sexo masculino, 27 anos, caucasiano, natural e residente no Porto, sem antecedentes patológicos pessoais e familiares relevantes.

Recorre ao Serviço de Urgência (SU) do Centro Hospitalar do Porto no dia 22 de Setembro de 2010 por tosse e dispneia, associadas a febre e dor pleurítica à direita, com cerca de duas semanas de evolução. Ao exame físico, encontrava-se apirético e com diminuição do murmúrio vesicular na base pulmonar direita. Apresentava adenomegalias infracentimétricas a nível cervical e supraclavicular. Do estudo analítico e serológico destaca-se linfopenia marcada ($0,61 \times 10^3/\mu\text{L}$), desidrogenase do lactato aumentada (405 U/L a 37°C) e marcadores víricos negativos. Não foram detetados outros achados relevantes. A tomografia computadorizada (TC) torácica realizada revelou uma massa nodular, sólida e lobulada de 14x9x8 cm, expansiva, localizada a nível do mediastino antero-superior, loca tímica, região subcarinal e regiões hilares, com necrose interna, que englobava o pericárdio e brônquios principais e comprimia a veia cava superior (VCS). Foram observadas adenopatias de menor dimensão na base do pescoço e cavado supraclavicular esquerdo, e derrame pleural de médio volume à direita e de pequeno volume à esquerda. Dada a localização da massa, foi proposta a realização de biópsia por agulha guiada por ecografia, bem como a colheita de líquido pleural. Na TC abdominal de estadiamento não foi detetada doença abaixo do diafragma. Foi também

submetido a biópsia de medula óssea, sem se ter verificado invasão.

O exame histológico conclui tratar-se de um Linfoma não-Hodgkin (LNH) anaplástico CD30+. Foi proposto para QT com o esquema rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, prednisona, vincristina (R-CHOP). Após completar dois ciclos de QT, por persistência do derrame pleural e agravamento da tosse, dispneia e sintomas pleuríticos, foi pedida nova avaliação por TC, na qual se verificou ausência de resposta à terapêutica e sinais de trombose não oclusiva da veia subclávia direita e VCS. Decidiu-se a revisão do diagnóstico histológico, com realização de biópsia por toracoscopia. Entretanto, a terapêutica foi alterada para um esquema mais agressivo com rituximab, ifosfamida, carboplatina, etoposídeo (R-ICE), tendo o doente completado apenas dois ciclos de tratamento, pois não se verificou evidência de resposta.

O resultado do exame histológico da nova biópsia revelou tratar-se de um LH com depleção linfocitária, esclerosante, sem identificação de células RS convincentes. O diagnóstico baseou-se na imunorreactividade das células neoplásicas para CD15 e CD30 (ausência de resposta para CD3 e CD20) e no grau de esclerose. Foi possível confirmar o mesmo resultado na primeira biópsia realizada. Em janeiro de 2011, é iniciada QT com

ABVD, com realização de quatro ciclos e posterior reavaliação por tomografia por emissão de positrões (PET). Tendo em conta a QT prévia a que este doente foi submetido e dada a existência de um foco residual na região paratraqueal, sem evidência de doença noutra local, foi proposta radioterapia. Em avaliação posterior por TC foi descrita uma regressão dimensional de cerca de 50% da massa mediastínica, que condicionava *encasement* vascular com trombose da VCS e foi detetada uma extensa área de enfarte com cerca de 6,6 cm de maior eixo no terço médio do rim direito.

Em janeiro de 2012, desenvolve quadro de cólica renal e hematúria. Neste contexto, é realizada nova avaliação por TC que revelou persistência da massa linfomatosa mediastínica, associada a trombose da VCS com aumento da lesão a nível do rim direito, que condicionava invasão do seio renal e ectasia do grupo calicial superior. Foi realizada biópsia da lesão renal cujo resultado mostrou tratar-se de uma infiltração renal por LH.

Concluiu-se, então, que houve progressão da doença, pelo que iniciou terapêutica de segunda linha com dexametasona, citarabina e cisplatina (DHAP), com vista a TACH. No entanto, não se verificou evidência de resposta.

Face à progressão da doença com envolvimento renal confirmado por biópsia, é realizada PET para avaliação da extensão da doença. Neste exame descreve-se maior envolvimento ganglionar a nível cervical e mediastínico, envolvimento ósseo, com atingimento dos ossos da bacia, e hipercaptação heterogénea no rim direito e tecidos moles das regiões dorsal e nadegueira direitas. Foi proposta QT paliativa com clorambucil, vinblastina, procarbazona e prednisona (LVPP), tendo o doente cumprido quatro ciclos. Apesar de tolerar bem o tratamento, desenvolveu trombose venosa profunda maciça da veia subclávia e tronco braquiocefálico.

Novos exames de imagem revelaram progressão da doença, com aumento da massa linfomatosa mediastínica a condicionar trombose completa da VCS, derrame pleural direito e aumento da massa tumoral no parênquima renal direito, pelo que se optou por alterar a estratégia terapêutica para QT com gemcitabina, vinorelbina e doxorubicina. No entanto, o doente desenvolveu febre persistente, com deterioração do estado geral, astenia e anorexia, sendo iniciado tratamento com corticoterapia associado a QT paliativa com vinorelbina e ifosfamida.

A 7 de setembro de 2012, recorreu ao SU por quadro de febre tumoral persistente, confusão mental, agitação

psicomotora e paraparésia dos membros inferiores. O hemograma revelava pancitopenia profunda. Foi decidido internamento para cuidados de enfermagem e medidas de conforto. No entanto, houve evolução rápida e desfavorável do quadro, com verificação do óbito no dia seguinte.

Discussão

O LH é uma doença linfoproliferativa de células B, que apresenta uma distribuição etária bimodal, com pico de incidência entre os 20 e os 29 anos e outro acima dos 50 anos de idade. Contudo, é mais comum em indivíduos jovens (2,15,16).

A apresentação clínica típica consiste em adenopatias, localizadas ou generalizadas, detectadas incidentalmente pelo doente ou durante o estudo imagiológico por outra patologia (17). As adenopatias caracterizam-se por serem persistentes, indolores e firmes, localizadas sobretudo a nível centroaxial supradiaphragmático (regiões cervical, supraclavicular e mediastínica) (15,17). No entanto, a doença pode ainda desenvolver-se noutros órgãos (baço, medula óssea, fígado, osso e pulmão) (17). Em 25% dos doentes, surgem sintomas constitucionais inespecíficos, sintomas B, que incluem febre, suores nocturnos, perda ponderal e astenia (15). Prurido intenso

e inexplicado, síndromes paraneoplásicas, síndrome nefrótica, anemia hemolítica auto-imune, trombocitopenia e hipercalcemia, são manifestações pouco comuns (17). O caso apresentado relata o diagnóstico de LH num indivíduo jovem (27 anos) com uma massa mediastínica detetada por TC durante investigação de um quadro clínico com tosse e dispneia, associadas a febre e dor pleurítica à direita, com cerca de duas semanas de evolução.

O LH mediastínico pode manifestar-se com tosse, dor torácica retroesternal, derrame pleural e síndrome da veia cava superior (SVCS) (17). A SVCS caracteriza-se por edema a nível da face, pescoço e membros superiores, devido ao efeito de massa sobre este grande vaso, sendo o linfoma a causa em 10% dos casos (18). No doente apresentado, a TC revelou a existência de compressão da VCS, contudo sem evidência de sinais clínicos. A SVCS pode levar ao desenvolvimento de derrame pleural em dois terços dos doentes (18), pelo que o derrame pleural neste doente pode estar associado à compressão da VCS. Por outro lado, no linfoma mediastínico, o derrame pleural pode resultar de diversos mecanismos, como compromisso da drenagem linfática, infiltração pulmonar ou pleural e obstrução do ducto torácico. Nos casos de LH, o mecanismo primário envolvido

na formação do derrame parece ser o comprometimento na drenagem linfática (19).

Durante a progressão do quadro clínico, verificou-se um episódio de cólica renal com hematúria, cuja investigação demonstrou tratar-se de infiltração renal por LH. O envolvimento renal por LH é uma situação incomum e clinicamente silenciosa na maioria dos casos (17,20). Quando presente, as manifestações clínicas incluem dor lombar, hematúria, distensão abdominal ou massa palpável (20). Pode causar síndrome nefrótica, insuficiência renal aguda, anasarca ou infeção do trato urinário (21). O sedimento urinário apresenta-se com proteinúria moderada, eritrócitos, leucócitos e cilindros hialinos ou granulares (20). A hematúria apresentada pelo doente pode ter resultado quer de necrose hemorrágica do tumor, quer da ruptura de pequenas veias no parênquima renal (20,22). A infiltração normalmente é bilateral, difusa e mais proeminente a nível do córtex, mas pode apresentar-se com padrão multinodular ou com a presença de uma massa solitária (21). No entanto, o parênquima renal pode estar extensamente invadido e a função renal normal. Numa fase inicial, a imagiologia pode não evidenciar alterações a nível do parênquima renal, pois as células malignas podem estar interpostas no interstício, sem que a

massa seja suficientemente grande para distorcer o parênquima. Após detecção da lesão podem ser considerados diversos diagnósticos diferenciais, como o carcinoma de células renais, mas só a realização de biópsia poderá confirmar a etiologia (20). Nos casos em que se verifica envolvimento renal por LH o prognóstico é reservado, sendo a sobrevida média de 9 meses, após a sua detecção (21).

No caso relatado, após realização de TC, procedeu-se à biópsia da massa. A biópsia com posterior exame histológico e imunofenotipagem constitui o exame *gold standard* no diagnóstico de LH (2). Existem vários métodos para obtenção de amostras de lesões mediastínicas. Estes incluem a biópsia por agulha transtorácica percutânea, técnicas cirúrgicas (toracoscopia, mediastinoscopia cervical e mediastinostomia anterior), e técnicas de biópsia por agulha transbrônquica e ultra-sonografia endoscópica com punção aspirativa por agulha. Tanto a aspiração por agulha fina como a biópsia excisional são técnicas aceites para a recolha de tecido ganglionar (23). A biópsia percutânea transtorácica é menos invasiva que os restantes métodos, requer apenas anestesia local, e apresenta elevada taxa de sucesso no diagnóstico, constituindo um exame rápido, seguro, preciso e de baixo

custo (24,25,26). No caso relatado, o diagnóstico inicial foi realizado com base na amostra obtida por aspiração por agulha fina, dada a localização anatómica da massa. Contudo há estudos que questionam a sua eficácia, devido à perda de arquitectura celular, necessária à identificação do subtipo de linfoma. Por outro lado, como os linfomas são formados por regiões de células malignas interpostas com regiões de células inflamatórias reativas, podem ser apenas puncionados os elementos reativos, conduzindo a resultados falso negativos, sobretudo quando existe envolvimento ganglionar parcial (25,26). A sensibilidade e especificidade desta técnica podem ser também influenciadas pela presença de necrose ganglionar, de outra patologia e de esclerose/fibrose, impedindo a recolha de uma amostra significativa (25). Nas situações em que a biópsia por agulha fina não permite o diagnóstico ou a massa a biopsar for facilmente abordável, é recomendada a realização de biópsia excisional (26,27). Sempre que, num gânglio suspeito, o resultado for normal ou forem encontradas apenas alterações reativas, deve ser realizada a biópsia excisional, para se conseguir um volume significativo da lesão (25). Com esta técnica obtém-se maior quantidade de tecido para avaliação histológica, com manutenção da

arquitetura tecidual, permitindo confirmar e/ou esclarecer o diagnóstico (23,25,26). No caso relatado, o diagnóstico inicial foi realizado através da amostra obtida por aspiração por agulha fina. Como se verificou falência de resposta ao tratamento, foi efetuada biópsia excisional com a obtenção de duas amostras, cuja análise histológica revelou tratar-se de um LH. Deste modo, a realização de biópsia por aspiração por agulha fina não foi vantajosa, tendo contribuído para a dificuldade no diagnóstico inicial.

Histologicamente, o LH caracteriza-se pela presença das células RS ou suas variantes rodeadas por uma resposta imunológica benigna contendo células reativas. Estas células são produtoras de citocinas, induzindo uma resposta inflamatória, pelo que as características histológicas do LH se podem assemelhar às de um processo inflamatório/infeccioso, perfeitamente inespecífico, dificultando o diagnóstico (6).

No presente caso, o exame histológico revelou tratar-se de um LH com depleção linfocitária (LHDL), esclerosante, sem identificação de células RS convincentes, pelo que o diagnóstico foi baseado na imunorreactividade para CD15 e CD30 (ausência de resposta para CD3 e CD20) e no grau de esclerose. O LHDL é o subtipo mais raro e apresenta pior prognóstico, dado que há uma maior

tendência para o desenvolvimento de doença avançada (2,5). Frequentemente apresenta-se em estadio III-IV, com presença de sintomas B e envolvimento medular em 50% dos casos (28). Está muitas vezes associado à infeção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) bem como a antecedentes de infeção por VEB (1,2). A histologia deste subtipo de LHC é altamente variável, mas caracteriza-se pela predominância de células RS em relação ao *background* de linfócitos (5), ou seja, a reacção do hospedeiro é muitas vezes insuficiente quando comparada com o número de células malignas gigantes, dificultando o diagnóstico de LH (2). As células RS apresentam imunofenótipo característico do LHC: ausência dos marcadores de célula B diferenciada (CD19, CD20, CD79a e cadeias leves e pesadas de imunoglobulina) com resultado positivo para CD30, CD15 e Ki67 e negativo para CD45. Verifica-se expressão do antigénio Pax5, com expressão fraca ou ausente de Oct2 e/ou Bob1 (1,3). Podem ser reconhecidos dois padrões histológicos distintos: reticular/sarcomatoso e fibrose difusa. O primeiro apresenta achados histológicos semelhantes ao subtipo de celularidade mista, mas com células RS mais abundantes (1,2,3). A variante sarcomatosa caracteriza-se pelo predomínio de células RS pleomórficas, dificultando a distinção

das formas anaplásticas do LNH de grandes células, sobretudo se expressam CD30 (1,2). De facto, esta variante foi, no passado, classificada como linfoma provavelmente pleomórfico de linhagem B ou T, sendo, ainda hoje, de difícil distinção do linfoma de células B pleomórficas (células RS-like) (5). Este designa-se por "linfoma cinzento" (com características de LH e LNH) ou, consoante a classificação da Organização Mundial de Saúde de 2008, linfoma de células B inclassificável, com características clínicas, morfológicas e/ou imunofenotípicas intermediárias entre linfoma de grandes células B difuso (LG CBD) e LHC (4,5). A imunofenotipagem terá um papel importante no diagnóstico diferencial, pois as células RS-like expressam sobretudo CD20, sendo negativas para CD15 (5). O padrão de fibrose difusa define-se pela presença de células RS incorporadas num fundo de fibrose, no qual o número de fibroblastos pode estar aumentado ou até ser ausente, e as células de RS serem escassas, pelo que dificulta o diagnóstico (1,5). Tendo em conta todas as características histológicas e imunofenotípicas referidas, o próprio subtipo histológico encontrado neste caso pode ter sido um dos fatores confundidores na abordagem inicial.

Existem várias entidades com as quais deve ser feito o diagnóstico diferencial do LH, nomeadamente LNH, carcinomas, melanomas, sarcomas, patologias ganglionares benignas (timoma, miosite, mononucleose infecciosa, rubéola) e situações de depleção linfocítica (6,15). No entanto, o LNH constitui o principal diagnóstico diferencial. Existem muitos casos em que a diferenciação morfológica entre as duas entidades é extremamente difícil. Há evidência de que possam estar interligadas ou transformar-se entre si, e que possam existir entidades intermédias, que se sobrepõe tanto ao LH como o LNH (29). O LH caracteriza-se pela presença de número variável de grandes células B malignas, num ambiente de células inflamatórias não neoplásicas, enquanto que os LNH são compostos predominantemente de células neoplásicas, com menor componente de grandes células. No entanto, alguns casos de LH podem apresentar grande número de células neoplásicas, e alguns tipos de linfoma de grandes células B (LGCB) são caracterizados por um ambiente rico em células inflamatórias. Estes casos constituem um desafio para o diagnóstico diferencial e sugerem a possibilidade de sobreposição biológica entre LH e LGCB (30). Dados obtidos através de perfis de expressão génica sugerem que LGCB mediastínico está mais intimamente relacionado com o

LHC do que a maioria dos outros LGCB, pelo que este fenómeno pode refletir sobreposição biológica entre as duas doenças (31,32). Por outro lado, os LGCB são geralmente compostos por grandes células tumorais pleomórficas, que se podem assemelhar às variantes lacunares das células RS. Mesmo a imunofenotipagem pode ser *borderline*, pois as células do LGCBD expressam CD45 e antígenos de célula B, bem como CD30 e, por vezes, CD15. No entanto, são negativas para imunoglobulina e VEB (30).

Estão descritos subtipos de LNH, como o linfoma anaplástico ou o linfoma de células B rico em células T, que partilham características morfológicas e/ou imunofenotípicas com o LH (33). No caso apresentado, inicialmente foi diagnosticado um LNH anaplástico CD30 positivo. De facto, as células de grandes dimensões, com núcleos e nucléolos proeminentes, com positividade para CD30, características deste tipo de linfoma podem assemelhar-se às células RS. No entanto, são negativas para CD15, esclarecendo-se o diagnóstico (34). Por outro lado, as células RS ao perderem a sua actividade paraneoplásica durante a progressão e desdiferenciação da neoplasia podem torná-la indistinguível de um LGCBD ou de um linfoma anaplástico (33). Em relação ao LHDL, os diagnósticos

diferenciais a considerar, além dos LNH referidos, englobam os tumores como o fibrossarcoma inflamatório, histiocitose de células de Langerhans atípicas, histiocitoma fibroso maligno de células gigantes inflamatórias, lipossarcoma bem diferenciado rico em linfócitos e carcinoma da nasofaringe (28). Apesar de na imunofenotipagem estes tumores serem CD30 negativo, há possibilidade de reagirem com o anticorpo anti-CD30, especialmente os carcinomas de origem embrionária, podendo dificultar no diagnóstico (35).

No caso clínico apresentado, o tratamento proposto incluiu quatro ciclos de QT com o esquema ABVD, seguida de RT. Este esquema apresenta elevada taxa de resposta com toxicidade relativamente baixa (7) e está associado a uma taxa de cura entre 70-80% e a menor probabilidade de recaída, pelo que se tornou na abordagem terapêutica mais largamente utilizada (14,36). No entanto, 10-15% dos doentes com doença localizada e 25-30% com doença disseminada apresentam falência de resposta ao tratamento após terapêutica convencional (11). Foram identificados alguns fatores de prognóstico relacionados com o LH refratário. Vários estudos indicam que um estado clínico debilitado (por exemplo, doente com anemia), estadios avançados (estadio III ou IV) e tempo de falência de resposta menor que 12

meses após início da terapêutica, influenciam a resposta ao tratamento (37,38,39). A falência de resposta parece estar também relacionada com a presença de alterações genéticas e epigenéticas, que aumentam a agressividade do tumor, limitando a resposta à terapêutica *standard*. Vários estudos demonstraram que alterações nos reguladores do ciclo celular e apoptose, nas vias de transdução de sinal e nos marcadores de ativação e diferenciação celular condicionam a agressividade do tumor (9). Alterações na expressão da proteína p53, na expressão do Bcl2, nos índices proliferativo e/ou apoptótico, na ativação da via do NF-κ-B e na expressão de CD15, são alguns dos marcadores identificados (40,41,42). Outros fatores biológicos são a detecção de VEB nas células RS, a presença de linfócitos T citotóxicos no *background* reativo e a eosinofilia tecidual (9). A expressão anormal de p53 é um marcador clássico de mau prognóstico nas neoplasias linfóides e, no caso do LH, está associada a menor sobrevida geral e/ou sobrevida livre de doença. Também a presença de alterações nas moléculas reguladoras da apoptose parece ter um papel importante na resistência ao tratamento (40,41). Pensa-se que a superexpressão de Bcl-2 está relacionada com sobrevida mais curta, dado o seu envolvimento no

mecanismo de resistência à apoptose (9).

O caso relatado refere-se a um LH refratário, por se ter verificado progressão da doença, com envolvimento de órgãos extraganglionares, em menos de um ano após terminar tratamento inicial. Foi proposta a realização de QT de segunda linha com DAHP, com vista à realização de QT de alta dose e posterior TACH, que não se realizou por progressão da doença. De facto, nos casos de LH refratário, a abordagem terapêutica inclui QT *salvage*, isto é, QT de segunda linha, seguida de QT em alta dose com posterior TACH (10,14). Os doentes com recidiva precoce (menos de 12 meses após tratamento), falência do tratamento inicial, segunda recaída e recaída sistémica generalizada (mesmo para além de 12 meses) beneficiam desta abordagem (43). A QT *salvage* é citorredutora e deve incluir fármacos não utilizados na abordagem inicial (13), evitando-se a resistência cruzada. Isto é particularmente importante nos casos de recaída em menos de um ano ou doença primária refratária, pois estão relacionados com resistência ao esquema inicial (7). O regime ideal será aquele com maior taxa de resposta e menor toxicidade, que não provoca supressão grave da medula óssea, permitindo a mobilização subsequente de células para transplante (7,13). O

impacto da QT *salvage* é determinado por fatores clínicos como a idade, a sintomatologia, o tempo de duração da primeira remissão (inferior ou superior a 12 meses), a presença de anemia e a terapêutica prévia (14,17,42). Apesar dos múltiplos estudos publicados, nenhum esquema de QT de segunda linha é considerado como *gold standard* (10,11). Os resultados obtidos para cada esquema de QT *salvage* não são comparáveis entre si, pois os doentes incluídos nos vários estudos realizados são heterogêneos (terapêutica inicial, número de recaídas e QT de alta dose diferentes), apresentando diferentes fatores de prognóstico (11,44).

O esquema DAHP, utilizado no caso relatado, baseia-se em fármacos contendo platina, sendo dos mais frequentemente utilizados por apresentar um perfil de toxicidade bem tolerado. Num estudo realizado em doentes com LH refratário, a taxa de resposta foi de 89%. Nos casos de doença primária progressiva esta atingiu os 65%, sem se terem verificado intercorrências significativas, como infeções graves ou morte (45). Por outro lado, este esquema apresenta alta taxa de sucesso no que refere à recolha de células hematopoiéticas para realização de transplante (46). Outros esquemas foram estudados, apresentando taxas de resposta igualmente elevadas, mas

com toxicidade variável (47). Dois dos esquemas estudados são Dexa-BEAM (dexametasona, etoposido, citarabina, melfalam) e Mini-BEAM, que apresentam uma taxa de resposta de 81%. São esquemas intensivos e associados a toxicidade hematológica, dificultando a colheita de células hematopoiéticas para transplante, pelo que são preteridos em relação a outros esquemas (7,11). O esquema em doses crescentes BEACOPP (bleomicina, etoposido, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbazina, predinisona) tem indicação para doentes que fizeram mais de 6 ciclos de ABVD e permite atingir uma taxa de sobrevida em 5 anos de cerca de 91%. Apesar de ser um dos esquemas mais efectivos no LH em estadio avançado, apresenta toxicidade hematológica grave (48). Outros esquemas possíveis são aqueles que incluem ifosfamida, como o ICE (ifosfamida, carboplatina, etoposido) e o IVE (ifosfamida, etoposido, epirrubicina), que apresentam menor toxicidade não hematológica, quando comparados com os esquemas contendo cisplatina, e uma taxa de resposta de cerca de 88% (49,50). Os esquemas com gemcitabina caracterizam-se por uma taxa de resposta elevada (82%) e baixa toxicidade, com taxa de resposta de 20-40% quando utilizado como agente único em doentes tratados previamente

com esquemas intensivos. No entanto, os estudos relatados até o momento não demonstraram vantagem em relação aos esquemas mais utilizados (7). Dada a inexistência de estudos randomizados que comparem os diferentes esquemas de QT *salvage*, a abordagem terapêutica baseia-se nos resultados de estudos retrospectivos. Por outro lado, tendo em conta que o estado da doença no momento do transplante é um fator determinante do prognóstico a longo prazo, o esquema de QT deverá apresentar elevada taxa de resposta com toxicidade controlável (7,10,47).

A realização de transplante em doentes com LH refratário aumenta a sobrevida. Mesmo nos doentes com doença refratária primária foi demonstrado o seu benefício (7,11,47). No entanto, a sensibilidade à QT prévia ao transplante é um fator de prognóstico importante: doentes que não respondem eficazmente à QT *salvage* inicial têm uma sobrevida inferior a 20% após TACH (51,52). Estudos de fase II sugeriram que a QT de alta dose associada ao transplante apresenta sobrevida a longo prazo superior à esperada com QT convencional em 30 a 65% dos casos. Estudos randomizados confirmaram melhores resultados com esta abordagem quando comparada com QT *salvage* (44,47). Ainda não foi estabelecido se será mais vantajoso o

transplante de células hematopoiéticas obtidas a partir da medula óssea ou do sangue periférico. No entanto, as células são mais facilmente recolhidas no sangue periférico, para além de que se associam a uma recuperação das contagens das linhagens mais rápida (2). Outra hipótese será a realização de transplante alogénico, dada a idade relativamente jovem dos doentes com LH, estando indicado na doença avançada (10). O transplante alogénico com dador familiar ou não relacionado é vantajoso na medida em que não há possibilidade de contaminação com células tumorais. É apenas aplicado em circunstâncias específicas, como doentes com envolvimento medular, doentes com RT pélvica prévia e doentes com alterações nas células hematopoiéticas devido à terapêutica inicial. Hipoteticamente poderá até ter efeito na destruição do linfoma, já que alguns estudos demonstraram actividade anti-tumoral dos linfócitos do dador após infusão (2,10). No entanto, pode levar ao desenvolvimento de doença do enxerto vs. hospedeiro. Um estudo comparou a sobrevida entre indivíduos com transplante autólogo e outros com transplante alogénico, tendo-se verificado uma sobrevida maior (45% vs. 25%) nos que foram submetidos a transplante autólogo (2). Estudos prospetivos adicionais são necessários para estabelecer o benefício do transplante alogénico,

bem como determinar o regime de imunossupressão ideal a utilizar (7).

Outros estudos sugerem RT *salvage* sem associação a QT como indicação na doença refratária limitada, tendo-se observado uma taxa de sobrevida de 51% (53). No entanto, apenas um pequeno número de doentes beneficiará desta abordagem, que na maioria dos casos é já paliativa (10,11).

Apesar das várias estratégias propostas, cerca de 50% dos doentes terá recidiva após o transplante (54). Nos casos em que se verifica progressão da doença sob terapia *salvage* deve optar-se por tratamento paliativo ou inclusão em estudo experimental (7,14).

Estão em estudo novos agentes como os anticorpos monoclonais anti-CD30 (bortezomib) e anti-CD20 (rituximab) (54). O bortezomib tem como alvo as células RS e mostrou ser mais activo numa fase inicial da doença, especialmente quando combinado com QT, apresentando toxicidade mínima. No entanto, os primeiros testes realizados não mostraram resultados favoráveis quando utilizado como agente único ou combinado com outros fármacos, estando associado a toxicidade pulmonar (7,54). Um estudo com rituximab mostrou uma taxa de resposta de 22%, com resolução dos sintomas B (55). O alvo deste anticorpo são as células não malignas do

infiltrado inflamatório que rodeia as células RS. A combinação de rituximab com gemcitabina também foi estudada, sendo observada uma taxa de resposta de 48%. Contudo, os doentes incluídos nestes estudos não apresentavam doença extraganglionar (56). Outros agentes com actividade anti-tumoral por inibição de proteossomas, mecanismos de epigenética ou modulação imunitária provaram ser terapias eficazes para várias doenças hematológicas, estando a ser estudados para o tratamento do LH refratário (7,10).

Conclusão

A dificuldade no diagnóstico e a falência de resposta ao tratamento são dois desafios na abordagem aos doentes com LH.

A biópsia ganglionar e a análise histológica são etapas fundamentais na abordagem a estes doentes e podem condicionar o diagnóstico final. Tanto a aspiração por agulha fina como a biópsia excisional são técnicas aceites para a recolha de tecido ganglionar (23). Contudo a biópsia excisional deverá ser a técnica escolhida pois permite a obtenção de uma amostra de maior volume sem perda da arquitetura tecidual, condicionando um diagnóstico mais preciso (23,25,26). No entanto, a identificação do LH e do tipo histológico nem sempre é fácil. As

células RS não são exclusivas do LH, podendo assemelhar-se às de um processo inflamatório, infeccioso ou neoplásico, nomeadamente os LNH (6,28). De facto, a diferenciação morfológica entre LH e LNH é extremamente difícil e há evidência de que possam estar interligados ou transformar-se entre si, e que possam existir entidades intermédias, com características que se sobrepõe quer ao LH quer ao LNH (29).

A falência de resposta ao tratamento parece relacionar-se com a presença de alterações genéticas e epigenéticas, que aumentam a agressividade do tumor, limitando a resposta à terapêutica convencional (9). Nos casos refratários, está indicada QT *salvage*, seguida de QT em alta dose com posterior TACH (10,14). O regime de QT ideal será aquele com maior taxa de resposta e menor toxicidade, que permita a mobilização de células para transplante (7,13). Apesar dos múltiplos estudos publicados, nenhum esquema de QT *salvage* é considerado como *gold standard* (10,11). Apenas ensaios clínicos randomizados podem demonstrar a superioridade de um esquema *salvage* sobre os restantes (7,11). A realização de transplante provou aumentar a sobrevida, mesmos nos casos de doença refratária ao tratamento inicial (7,11,47). No entanto, a recidiva pós-transplante é ainda de 50%, pelo que deve optar-se por

tratamento paliativo ou inclusão em estudo experimental (7,14,54).

Para a correta abordagem aos doentes com LH é necessário um diagnóstico e estadiamento precisos. A identificação de fatores de mau prognóstico permite adaptar a terapêutica de modo a aumentar a probabilidade de cura e minimizar a toxicidade. Futuramente, a terapêutica indicada nas situações de recaída ou doença refratária, poderá fazer parte da terapia de primeira linha, na tentativa de melhorar os resultados nestes doentes (47).

Bibliografia

1. Stein H. Hodgkin Lymphoma. In: Swerdlow, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pireli SA, Stein H, et al, editors. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon: IARC Press;2008. p. 321-34.
2. Stein S, Morgan DS. Hodgkin Lymphoma. In: Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, et al, editors. Wintrobe's Clinical Hematology. 12th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2009. p. 2311-4.
3. Fraga M, Forteza J. Diagnosis of Hodgkin's disease: an update on histopathological and immunophenotypical features. *Histol Histopathol* 2007 Aug;22(8):923-35.

4. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein S, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* 2011 May 12;117(19):5019-32.
5. Eberle FC, Mani H, Jaffe ES. Histopathology of Hodgkin's Lymphoma. *Cancer J* 2009 Mar-Apr; 15(2):129-37.
6. Pais F, Esteves I, Couceiro A, Pina R, Ilídio J. Dificuldade no diagnóstico da doença de Hodgkin. *Med Interna* 1997; 4(1):21-4.
7. Cashen AF, Bartlett NL. Salvage regimens for Hodgkin Lymphoma. *Clin Adv Hematol Oncol* 2008 Jul;6(7):517-24.
8. Horning SJ. Primary refractory Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 1998; 9 Suppl 5:97-101.
9. Montalbán C, García JF, Abaira V, González-Camacho L, Morente MM, Bello JL, et al. Influence of biologic markers on the outcome of Hodgkin's Lymphoma: A study by the Spanish Hodgkin's Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol* 2004 May 1;22(9):1664-73.
10. Kuruvilla J, Keating A, Crump M. How I treat relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2011 Apr 21;117(16):4208-17.
11. Brice P. Managing relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2008 Apr;141(1):3-13.
12. Lohri A, Barnett M, Fairey RN, O'Reilly SE, Phillips GL, Reece D, et al. Outcome of treatment of first relapse of Hodgkin's disease after primary chemotherapy: identification of risk factors from the British Columbia experience 1970 to 1988. *Blood* 1991 May 15;77(10):2292-8.
13. Byrne BJ, Gockerman JP. Salvage therapy in Hodgkin's lymphoma. *Oncologist* 2007 Feb;12(2):156-67.
14. Connors JM. State-of-the-art therapeutics: Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005 Sep 10;23(26):6400-8.
15. Roddie C, Peggs KS. Hodgkin's lymphoma. *Medicine* 2009; 37(4):208-11.
16. Longo DL. Malignancies of Lymphoid Cells. In: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J, (editors). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18th ed. New York: McGraw-Hill;2012. p.919-35.
17. Connors JM. Clinical manifestations and natural history of Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 2009 Mar-Apr;15(2):124-8.
18. Wilson LD, Detterbeck FC, Yahalom J. Clinical practice. Superior vena cava syndrome with malignant causes. [erratum publicado encontra-se em *N Engl J Med* 2008 Mar 6;358(10):1083] *N Engl J Med* 2007 May 3;356(18):1862-9.
19. Sahn SA. Pleural diseases related to metastatic malignancies. *Eur Respir J*. 1997 Aug;10(8):1907-13.
20. Obrador GT, Price B, O'Meara Y, Salant DJ. Acute renal failure due to lymphomatous infiltration of the kidneys. *J Am Soc Nephrol* 1997 Aug;8(8):1348-54.

21. Jhamb R, Gupta N, Garg S, Kumar S, Gulati S, Mishra D et al. Diffuse lymphomatous infiltration of kidney presenting as renal tubular acidosis and hypokalemic paralysis: case report. *Croat Med J* 2007 Dec;48(6):860-3.
22. Coggins CH. Renal failure in lymphoma. *Kidney Int* 1980 Jun;17(6):847-55.
23. Ravinsky E, Morales C. Diagnosis of lymphoma by image-guided needle biopsies: fine needle aspiration biopsy, core biopsy or both? *Acta Cytol* 2005 Jan-Feb;49(1):51-7.
24. Kulkarni S, Kulkarni A, Roy D, Thakur MH. Percutaneous computed tomography-guided core biopsy for the diagnosis of mediastinal masses. *Ann Thorac Med* 2008 Jan;3(1):13-7.
25. Morris-Stiff G, Cheang P, Key S, Verghese A, Havard TJ. Does the surgeon still have a role to play in the diagnosis and management of lymphomas? *World J Surg Oncol* 2008 Feb 4;6(13):1-4.
26. Buley ID. Fine needle aspiration of lymph nodes. *J Clin Pathol* 1998;51:881-885.
27. Ozben V, Aydogan F, Atasoy D, Ferahman M, Yilmaz MH, Esen G, et al. Radio-guided lymph node biopsy for the diagnosis of axillary lymphadenopathy. *Nucl Med Commun* 2011 Mar;32(3):233-7.
28. Pileri SA, Ascani S, Leoncini L, Sabattini E, Zinzani PL, Piccaluga PP, et al. Hodgkin's lymphoma: the pathologist's viewpoint. *J Clin Pathol* 2002 Mar;55(3):162-76.
29. Elgin J, Phillips JG, Reddy VV, Gibbs PO, Listinsky CM. Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma: spectrum of morphologic and immunophenotypic overlap. *Ann Diagn Pathol* 1999 Oct;3(5):263-75.
30. Harris NL. Shades of gray between large B-cell lymphomas and Hodgkin lymphomas: differential diagnosis and biological implications. *Mod Pathol*. 2013 Jan;26 (Suppl 1):57-70.
31. Rosenwald A, Wright G, Leroy K, Yu X, Gaulard P, Gascoyne RD et al. Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma. *J Exp Med* 2003;198(6):851-62.
32. Savage KJ, Monti S, Kutok JL, Cattoretti G, Neuberg D, De Leval L, et al. The molecular signature of mediastinal large B-cell lymphoma differs from that of other diffuse large B-cell lymphomas and shares features with classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003 Dec 1;102(12):3871-9.
33. Rüdiger T, Zettl A, Ott G, Müller-Hermelink HK. Composite lymphoma: the interface between Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma *Curr Diagn Pathol* 2000; 6:261-70.
34. Kaczmarek-Kanold M, Stefańska K, Trejster E, Kolečki P, Wróbel G, Sopyło B, et al. Large cell anaplastic lymphoma versus Hodgkin's disease - difficulties in the diagnosis. *Rep Pract Oncol Radiother* 1998; 3(4):81-3.

35. Braziel RM, Oyama K. Mistaken diagnoses of Hodgkin's disease. *Hematol Oncol Clin North Am* 1997 Oct;11(5):863-92.
36. Connors JM. Evolving approaches to primary treatment of Hodgkin lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005 Jan 1; 2005 (1): 239-44.
37. Josting A, Franklin J, May M, Koch P, Beykirch MK, Heinz J et al. New prognostic score based on treatment outcome of patients with relapsed Hodgkin's lymphoma registered in the database of the German Hodgkin's lymphoma study group. *J Clin Oncol*. 2002 Jan 1;20(1):221-30.
38. Brice P, Bastion Y, Divine M, Nedellec G, Ferrant A, Gabarre J, et al. Analysis of prognostic factors after the first relapse of Hodgkin's disease in 187 patients. *Cancer* 1996 Sep 15;78(6):1293-9.
39. Bierman PJ, Lynch JC, Bociek RG, Whalen VL, Kessinger A, Vose JM et al. The International Prognostic Factors Project score for advanced Hodgkin's disease is useful for predicting outcome of autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Oncol* 2002 Sep;13(9):1370-7.
40. Garcia JF, Camacho FI, Morente M, Fraga M, Montalbán C, Alvaro T et al: Hodgkin and Reed-Sternberg cells harbor alterations in the major tumor suppressor pathways and cell-cycle checkpoints: Analyses using tissue microarrays. *Blood* 2003 Jan 15;101(2):681-9.
41. Smolewski P, Robak T, Krykowski E, Blasińska-Morawiec M, Niewiadomska H, Pluzanska A et al: Prognostic factors in Hodgkin's disease: Multivariate analysis of 327 patients from a single institution. *Clin Cancer Res* 2000 Mar;6(3):1150-60.
42. Benharroch D, Pilosof S, Gopas J, Levi I. Primary Refractory and Relapsed Classical Hodgkin Lymphoma - Significance of Differential CD15 Expression in Hodgkin-Reed-Sternberg Cells. *J Cancer* 2012;3:322-7.
43. Bonfante V, Santoro A, Viviani S, Devizzi L, Balzarotti M, Soncini F et al. Outcome of patients with Hodgkin's disease failing after primary MOPP-ABVD. *J Clin Oncol* 1997 Feb;15(2):528-34.
44. Yuen AR, Rosenberg SA, Hoppe RT, Halpern JD, Horning SJ. Comparison between conventional salvage therapy and high-dose therapy with autografting for recurrent or refractory Hodgkin's disease. *Blood* 1997 Feb 1;89(3):814-22.
45. Josting A, Rudolph C, Reiser M, Mapara M, Sieber M, Kirchner HH, et al. Time-intensified dexamethasone/cisplatin/cytarabine: an effective salvage therapy with low toxicity in patients with relapsed and refractory Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 2002 Oct;13(10):1628-35.
46. Smardova L, Engert A, Haverkamp H, Raemakers J, Baars J, Pfistner B, et al. Successful mobilization of peripheral blood stem cells with the DHAP regimen (dexamethasone, cytarabine, and filgrastim) in patients with relapsed and refractory Hodgkin's disease. *Blood* 2003 Jun 5;101(11):3700-5.

bine,cisplatinum) plus granulocyte colony-stimulating factor in patients with relapsed Hodgkin's disease. *Leuk Lymphoma* 2005 Jul;46(7):1017-22.

47. Ansell SM. Hodgkin lymphoma: 2012 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2012 Dec;87(12):1096-103.

48. Diehl V, Franklin J, Pfreundschuh M, Lathan B, Paulus U, Hasenclever D, et al. Standard and increased-dose BEACOPP chemotherapy compared with COPP-ABVD for advanced Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 2003 Jun 12;348(24):2386-95.

49. Moskowitz CH, Nimer SD, Zelenetz AD, Trippett T, Hedrick EE, Filippa DA, et al. A 2-step comprehensive high-dose chemoradiotherapy second-line program for relapsed and refractory Hodgkin disease: analysis by intent to treat and development of a prognostic model. *Blood* 2001 Feb 1;97(3):616-23.

50. Moskowitz CH, Bertino JR, Glassman JR, Hedrick EE, Hunte S, Coady-Lyons N, et al. Ifosfamide, Carboplatin, and Etoposide: A Highly Effective Cytoreduction and Peripheral-Blood Progenitor-Cell Mobilization Regimen for Transplant-Eligible Patients With Non-Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol* 1999 Dec;17(12):3776-85.

51. Moskowitz CH, Kewalramani T, Nimer SD, Gonzalez M, Zelenetz AD, Yahalom J. Effectiveness of high dose chemoradiotherapy and autologous stem cell transplantation for patients with biopsy-

proven primary refractory Hodgkin's disease. *Br J Haematol* 2004 Mar;124(5):645-52.

52. Metcalfe TL, Gooley TA, Press OW, et al. Efficacy of High-Dose Therapy and Autologous Stem Cell Transplantation for Chemoresistant Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 2005 Aug 13;114(7):1306-13.

53. Josting A, Rudolph C, Reiser M, Mapara M, Sieber M, Kirchner HH, et al. Time-intensified dexamethasone/cisplatin/cytarabine: an effective salvage therapy with low toxicity in patients with relapsed and refractory Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 2002 Oct;13(10):1628-35.

54. Blum KA, Johnson JL, Niedzwiecki D, Cannelllos GP, Cheson BD, Bartlett NL. A phase II study of bortezomib in relapsed Hodgkin lymphoma: preliminary results of CALGB 50206. *J Clin Oncol* 2006 Jun 20;24(Supp 18):7576-87.

55. Younes A, Romaguera J, Hagemester F, McLaughlin P, Rodriguez MA, Fiumara P, et al. A pilot study of rituximab in patients with recurrent, classic Hodgkin disease. *Cancer* Jul 15;98(2):310-4.

56. Oki Y, Pro B, Fayad LE, Romaguera J, Samaniego F, Hagemester F, et al. Phase 2 study of gemcitabine in combination with rituximab in patients with recurrent or refractory Hodgkin lymphoma. *Cancer* 2008 Feb 15;112(4):831-6.