



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



Monografia

Expressão da proteína ALK-1 e prognóstico dos Linfomas Anaplásicos de Grandes Células: uma revisão sistemática

Hyndiara Lorena Frota Oliveira

Salvador (Bahia)
Fevereiro, 2014

UFBA/SIBI/Bibliotheca Gonçalo Moniz: Memória da Saúde Brasileira

Oliveira, Hyndiara Lorena Frota

O48 Expressão da proteína ALK-1 e prognóstico dos Linfomas Anaplásicos de Grandes Células: uma revisão sistemática / Hyndiara Lorena Frota Oliveira. Salvador: HLF, Oliveira, 2014.

VIII; 50 fls. : il. [fig., tab., quadros].

Inclui anexos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo.

Monografia (Conclusão de Curso) Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina da Bahia, Salvador, 2013.

1. Linfoma anaplásico de célula grande. 2. Antígenos CD30. 3. Prognóstico. 4. Criança. I. Araújo, Iguaracyra Barreto de Oliveira. II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Medicina. III. Título.

CDU : 616-006.44



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



Monografia

Expressão da proteína ALK-1 e prognóstico dos Linfomas Anaplásicos de Grandes Células: uma revisão sistemática

Hyndiara Lorena Frota Oliveira

Professor orientador: **Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo**

Monografia de Conclusão do Componente Curricular MED-B60/2013.2, como pré-requisito obrigatório e parcial para conclusão do curso médico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, apresentada ao Colegiado do Curso de Graduação em Medicina.

Salvador (Bahia)
Fevereiro, 2014

Monografia: *Expressão da proteína ALK-1 em Linfomas Anaplásicos de Grandes Células e prognóstico: uma revisão sistemática*, de **Hyndiara Lorena de Oliveira Frota.**

Professor orientador: **Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo**

COMISSÃO REVISORA:

- **Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo** (Presidente), Professor Associado II do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **Maria da Glória Bomfim Arruda**, Professor Associado I do Departamento de Medicina Interna e Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.
- **Claudia Ida Brodskyn de Assis**, Professor Adjunto do Departamento de Biointeração do Instituto de Ciências em Saúde da Universidade Federal da Bahia, Pesquisador Titular do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz.
- **Manuela da Silva Solcá**, Doutorando do Curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Patologia (PPgPat) da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

TERMO DE REGISTRO ACADÊMICO: Monografia avaliada pela Comissão Revisora, e julgada apta à apresentação pública no VI Seminário Estudantil de Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA, com posterior homologação do conceito final pela coordenação do Núcleo de Formação Científica e de MED-B60 (Monografia IV). Salvador (Bahia), em ___ de _____ de 2014.

As coisas findas muito mais que lindas, essas ficarão. (extraído do poema “Memória” de **Carlos Drummond de Andrade**)

Aos Meus Queridos Pais, **Lélia Pondé e
Hélio Oliveira** e a Minha Irmã, **Camila
Oliveira.**

EQUIPE

- Hyndiara Lorena Frota Oliveira, Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA. Correio-e: hyndi_lorena@hotmail.com.
- Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo, Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA.

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

- Faculdade de Medicina da Bahia (FMB)

FONTES DE FINANCIAMENTO

1. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);e
2. Recursos próprios.

AGRADECIMENTOS

- ◆ À minha professora orientadora, **Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo**, pela generosidade em ensinar, incentivar e, principalmente, pelos conselhos, assistência permanente que marcarão não só este trabalho, como minha vida profissional e pessoal.
- ◆ Ao Grupo de Estudos de Linfomas da Bahia- **GELB**, pela contribuição direta ao meu aprendizado e, em especial, aos colegas **Geibel Reis e Lucas Fernandes**, pela troca de experiências e vivências.
- ◆ Aos meus **colegas e amigos**, por tornarem o percurso sempre mais agradável e menos árduo. Especialmente, **Amanda Acioli**, companheira de tantos momentos, que facilitou minha caminhada na construção deste trabalho.
- ◆ Às minhas amigas, colegas e companheiras de jornada, **Isadora Nagaya e Júlia Lopes**, pelo apoio nos momentos difíceis durante a construção deste trabalho, mas também, pela disponibilidade em ajudar, ouvir e aconselhar sempre.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS	2
ÍNDICE DE FIGURAS E QUADROS	3
ÍNDICE DE SIGLAS	4
I. RESUMO	5
II. OBJETIVOS	6
III. INTRODUÇÃO	7
IV. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	8
IV.1. Histórico	8
IV.2. Aspectos clínicos e epidemiológicos	9
IV.3. Aspectos histológicos	9
IV.4. Aspectos imunofenotípicos	10
IV.5. A proteína ALK	10
V. METODOLOGIA	15
V.1. Tipo de estudo	15
V.2. Delineamento do estudo	15
V.3. Critérios de inclusão	15
V.4. Critérios de exclusão	16
V.5. Objeto do estudo	16
V.6. Estratégia para identificação dos artigos	17
V.7. Estratégia para seleção dos artigos	17
V.8. Dados da sistematização	18
V.9. Tratamento dos dados	18
VI. RESULTADOS	19
VII. DISCUSSÃO	29
VIII. CONCLUSÕES	34
IX. SUMMARY	35
X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
X. ANEXO	
• ANEXO I: Índice de Prognóstico Internacional	42

ÍNDICE DE TABELAS

TABELAS

TABELA I. Argumentos de busca	17
TABELA 1. Critérios preliminares de exclusão de artigos - busca no PUBMED	20
TABELA 2. Resultados da busca nas bases de dados	21
TABELA 3. Aspectos gerais dos estudos selecionados	22
TABELA 4. Aspectos clínicos	23
TABELA 5. Expressão da proteína ALK e relação com idade nos estudos selecionados	24
TABELA 6. Relação da expressão da proteína ALK e IPI.	25
TABELA 7. Relação entre sobrevida e expressão de ALK.	27

ÍNDICE DE FIGURAS EQUADROS

FIGURAS

- FIGURA I.** Proteína de fusão NPM-ALK 11
FIGURA II. Esquema de sinalização da proteína de fusão NPM-ALK 12

QUADROS

- QUADRO1.** Principais conclusões dos estudos selecionados 28

ÍNDICE DE SIGLAS

ALK- Quinase do Linfoma Anaplásico de Grandes Células

AKT- Proteína quinase B

CD – Grupamento de diferenciação

CHOP- Ciclofosfamida, Hidroxidoxorubicina, Vincristina (Oncovin), Prednisona

EBV- Vírus Epstein-Barr

EMA- Antígeno Membrana Epitelial

EKT- Quinase Regular por Sinal Extracelular

FDA- Administradora de Drogas e Alimentos

IPI- Índice de Prognóstico Internacional

JAK- Tirosina kinase janus kinase

LAGC- Linfoma Anaplásico de Grandes Células

LDH- Desidrogenase láctica

LH- Linfoma Hodgkin

LNH- Linfoma Não-Hodgkin

NPM- Nucleofosmina

OMS- Organização Mundial de Saúde

RAS- Vírus do Sarcoma de Rato

SG- Sobrevida Global

SLD- Sobrevida Livre de Doença

STAT- Proteína de transdução de sinal e transcrição

TIA1- Antígeno Intracitoplasmático de Células T

I. RESUMO

EXPRESSÃO DA PROTEÍNA ALK-1 E PROGNÓSTICO DOS LINFOMAS ANAPLÁSICOS DE GRANDES CÉLULAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA: Os Linfomas Anaplásicos de grandes células (LAGCs) correspondem 2 a 3% dos linfomas não- Hodgkin. Possui uma grande prevalência na faixa etária infantil, sendo frequente em crianças brasileiras. Os LAGCs apresentam, em geral, um curso clínico agressivo. Todavia atribui-se à expressão da quinase ALK um melhor prognóstico. A última classificação da Organização Mundial de Saúde (2008) determinou a divisão do LAGC em duas entidades distintas: o LAGC ALK positivo e o LAGC ALK negativo, entidade provisória. Estas entidades são distintas quanto a expressão da proteína ALK, e possivelmente, quanto a apresentação clínica e prognóstico. Para avaliar a expressão da proteína ALK e o prognóstico nas duas entidades foi realizada uma busca sistemática na literatura de artigos publicados nos últimos 10 anos que utilizem a proteína ALK como marcador prognóstico no LAGC sistêmico primário. A partir da busca nas bases de dados PUBMED/MEDLINE, LILACS e SCOPUS, um total de oito artigos foram selecionados segundo os critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos. A comparação entre os trabalhos permitiu inferir que os pacientes com LAGCs são em maior proporção do sexo masculino, com apresentação em estágio avançado da doença ao diagnóstico. O grupo que expressa ALK foi mais jovem. O IPI foi um importante fator prognóstico. A comparação de desfechos clínicos- sobrevida global e sobrevida livre de doença- nos diferentes estudos, mostrou que apesar da associação do ALK como fator prognóstico, na análise estatística ele não pode ser considerado um fator de desfecho independente. Apontando a idade mais jovem como um potencial marcador prognóstico independente. Outros estudos indicam diferentes fatores prognósticos que podem interferir na evolução dos LAGCs. Conclui-se que apesar de melhores desfechos clínicos observados associados à expressão de ALK, a análise estatística não identifica a quinase como fator prognóstico independente nos LAGCs. A idade parece ser um fator confundidor nos achados de prognóstico associados à expressão de ALK.

Palavras-chaves: Linfoma Anaplásico de Células Grandes; Antígenos CD30; Prognóstico; Criança.

II. OBJETIVOS

II. 1. GERAL

Compilar publicações referentes à expressão da proteína ALK-1 como marcador prognóstico nos Linfomas Anaplásicos de Grandes Células (LAGCs) publicadas nos últimos 10 anos.

II. 2. ESPECÍFICOS

1. Observar a relação da expressão da proteína ALK-1 em LAGCs correlacionando com idade e gênero;
2. Observar a relação da expressão de ALK-1 em LAGCs e prognóstico, ou seja, que estudem a relação da expressão com variáveis prognósticas tais como índice de prognóstico internacional (IPI), sobrevida global ou sobrevida livre de doença.
3. Fomentar argumentação quanto à existência de dois tipos de LAGCs, o ALK-1 positivo e o ALK-1 negativo, entidade ainda provisória na classificação da OMS.

III. INTRODUÇÃO

As neoplasias originadas do tecido linfóide correspondem a um grupo diverso, que abrange diferentes entidades, como o Linfoma Hodgkin (LH), Linfoma não-Hodgkin (LNH), e leucemias linfocíticas.¹

O linfoma anaplásico de grandes células (LAGC) pertence ao grupo dos Linfomas não-Hodgkin, correspondendo de 2 a 3% de todos os LNH e 12% dos LNH de células T.^{2,3} Em crianças brasileiras, este linfoma é muito frequente, correspondendo a 8% dos LNH e 13% dos linfomas de células T maduras.^{4,5} Apesar do curso clínico agressivo, no grupo pediátrico este linfoma tem um curso nitidamente mais favorável que no grupo adulto.⁵

O curso favorável dos LAGCs tem sido associado à expressão da quinase do linfoma anaplásico de grandes células – ALK-1.⁶ Esta proteína de fusão resulta da translocação (2;5) dos genes da nucleofosmina (NPM), situado no cromossomo 5q35 para o cromossomo 2p23, designando “*anaplastic lymphoma kinase*”.⁷ Esta proteína de fusão NPM/ALK-1 é detectada em um número variável de LAGC, com elevada frequência no grupo pediátrico.⁸

A proteína ALK ganhou destaque a partir da descoberta que outras neoplasias expressam atividade de tirosina quinase e se beneficiam do tratamento com anticorpo monoclonal que bloqueia esta atividade. Isto mudou particularmente o manejo dos pacientes com carcinoma de pulmão, e, recentemente, tem sido expandida para os pacientes LAGC ALK-1 positivo.⁹

A Organização Mundial de Saúde (OMS), fundamentado no curso clínico favorável os LAGC ALK-1 positivos, segregou os LAGCs ALK-1 negativo em uma entidade provisória. A classificação mais recente de 2008 da OMS reorganizou essa entidade em dois tipos de LAGC sistêmico a partir da expressão da proteína ALK-1.^{10,11} A entidade LAGC ALK positivo caracterizada pela expressão da proteína e rearranjo do gene ALK, e o LAGC ALK negativo, proposta como entidade provisória. Apesar de morfologicamente indistintos, alguns estudos apontam para distintas características moleculares e, principalmente, prognósticas.^{9,11}

Trabalhos tem se somado na análise do impacto prognóstico e características que permitam distinguir estas entidades.^{6,12} Considerando a fragmentação dos estudos, resolvemos compilar os trabalhos que analisaram o perfil dos pacientes ALK-1 positivo quanto à idade e sexo tendo em vista o impacto da expressão desta proteína no prognóstico dos LAGC.

IV. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

IV. I. HISTÓRICO

O Linfoma Anaplásico de Grandes Células (LAGC) foi descrito por Stein et al. como uma nova entidade de linfoma não-Hodgkin em 1985, caracterizada pela proliferação de blastos pleomórficos em padrão coesivo com expressão do antígeno Ki (Kiel) -1 (CD30).^{12,14} Este antígeno, inicialmente, considerado específico da Doença de Hodgkin e nas células de Reed-Sternberg (RS) foi descoberto por *Stein et al.* em 1982. Posteriormente, verificou-se que também era característico dos LAGCs e passou a ser designado CD30. Em 1988, a nova entidade intitulada “Linfoma Anaplásico de Grandes Células” foi incluída na classificação revisada de Kiel.¹⁵

A Classificação Européia - Americana de Linfoma Revisada (REAL) propôs na definição final para LAGC a restrição desta nomenclatura a linfomas com fenótipos de célula T ou célula nula. Entretanto, a OMS utiliza o termo anaplásico para designar a variante anaplásica do Linfoma Difuso de Grandes Células B.¹⁶ Apesar de morfológicamente semelhante ao LAGC esta entidade é completamente distinta do LAGC oriundo em células T/null, tanto do ponto de vista clínico, quanto imunofenotípico e molecular.

A identificação da translocação t(2;5) (p23q35) presente em 60% a 80% dos casos de LAGC, que codifica a proteína chamada de quinase do linfoma anaplásico de grandes células – ALK-1, foi fundamental para a comprovação do LAGC como entidade distinta.¹⁶ A maior compreensão da patogênese associada à proteína ALK-1 ajudou a definir os limites entre o LAGC e outros subtipos de linfomas, como a Doença de Hodgkin e o linfoma de células T periférico.¹²

IV. II. ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS

O LAGC pode ser sistêmico ou localizado. Este último é principalmente cutâneo, com casos descritos, recentemente, primários de ossos e em associação com implante de silicone mamário.^{10,17} A forma localizada é associada ao melhor prognóstico, enquanto que os sistêmicos possuem curso agressivo, diagnosticados em estágio avançado da doença e com alto escore no Índice de Prognóstico Internacional (IPI), além de sintomas B (febre baixa, sudorese).^{3,9}

Todavia existem evidências que a resposta ao tratamento esteja relacionada à idade e expressão de AKL-1.^{3,9, 11} O LAGC ALK-positivo equivale somente a 3% dos Linfomas Não-Hodgkin em adultos. A entidade LAGC ALK-positivo é mais frequente nas três décadas iniciais da vida, em especial, no grupo pediátrico. Estes pacientes apresentam envolvimento extranodal em cerca de 60% dos casos, sendo que metade, destes, exibe baixo IPI ao diagnóstico e melhor evolução clínica.⁹

O LAGC ALK-negativo tem pico de incidência nos adultos de 40 a 60 anos com casos acontecendo em qualquer fase da vida.³ Nestes casos, o acometimento extranodal é de cerca de 40% e o curso clínico é desfavorável.¹⁰ Enquanto a sobrevida em cinco anos destes é de 30 a 49%, nos LAGCs ALK positivo a sobrevida em cinco anos é de 70 a 86%.³

IV. 3. ASPECTOS HISTOLÓGICOS

Atualmente, a classificação da OMS define diferentes padrões morfológicos para o LAGC, permitindo o reconhecimento de cinco variantes. As variantes são organizadas em: padrão comum (60%), padrão linfocítico (10%), padrão de pequenas células (5-10%), padrão semelhante ao Linfoma de Hodgkin (3%) e padrão misto (15%).¹⁴ Todas essas variantes, apesar das características específicas, apresentam em comum a presença de uma proporção variável de células anaplásicas, definidora da doença. Estas células exibem núcleo excêntrico em formato de rim ou ferradura, multinucleação e geralmente uma área eosinofílica próxima ao núcleo.¹¹

Baseado somente nos critérios morfológicos, o LAGC ALK negativo não pode ser distinguido do LAGC ALK positivo. Com exceção do padrão de pequenas células, que sempre expressam ALK e ocorrem quase exclusivamente no grupo pediátrico, os demais exibem positividade variável para ALK-1.¹⁸

IV. 4. ASPECTOS IMUNOFENOTÍPICOS

A expressão da glicoproteína CD30 é uma característica definidora dos LAGCs, e pode ter apresentação membranar ou próximo à região do Golgi (padrão em “dot”). Além de CD30, cerca de 70% dos LAGC expressam EMA e, grande parte expressa também um ou mais marcadores de células T. No entanto, a negatividade para marcadores de linhagem T não é rara e reflete o fenótipo nulo. Mesmo nestes casos há evidência do rearranjo dos receptores de células T (TCR) ao nível molecular.¹³ Dentre os marcadores para células T, o marcador CD3 está presente em aproximadamente metade dos casos; aqueles CD3 negativos podem ser positivos para os marcadores CD2, CD5, CD4. As células tumorais possuem positividade variável para CD45 e CD45RO. A expressão de moléculas citotóxicas - TIA1, granzima B e/ou perforina- ocorre em cerca de 80% dos LAGCs, sendo estes casos consistentemente negativos para o vírus Epstein Barr- EBV.^{11, 18, 19}

IV. 5. A PROTEÍNA ALK

A proteína ALK-1 presente no LAGC ALK positivo é uma tirosina quinase da família dos receptores de insulina, cuja expressão em humanos é normalmente limitada a células de origem neural, não sendo detectada em células hematopoiéticas normais.^{9, 20}

A ativação de ALK pode ocorrer por eventos que estabeleçam a fusão entre o gene ALK situado na banda cromossomal 2p23 com uma variedade de parceiros gênicos, a partir de processos de translocação gênica.^{9, 21} A principal translocação no LAGC, na qual essa proteína foi descrita em

princípio, ocorre com o par gênico que codifica a proteína nucleolar nucleofosmina (NPM), situada no cromossomo 5q35.

O gene ALK codifica uma proteína (Figura I) que na sua forma selvagem pesa 220 kD e cujo domínio catalítico de tirosina-quinase está na sua cauda intracelular. A translocação 2;5 justapõe a porção do gene NPM, que codifica o domínio N-terminal da NPM, para parte do gene ALK, que codifica toda a região citoplasmática da proteína ALK. Como consequência, o gene ALK estará sobre influência do promotor NPM com a transcrição do gene híbrido NPM-ALK. A proteína formada contém domínio de oligomerização NPM e região intracitoplasmática ALK, podendo ser detectada pelo anticorpo ALK-1.¹⁴

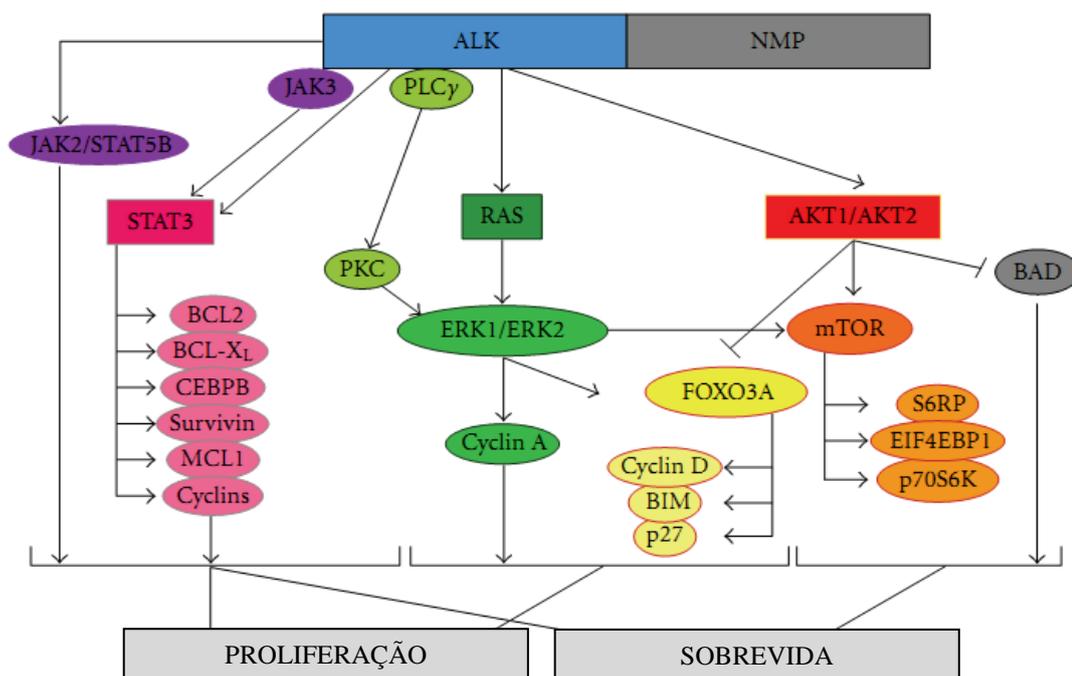
A sinalização fisiológica associada à ALK depende da homodimerização induzida por ligante. Por outro lado, nas translocações com formação de proteína de fusão patogênica, os domínios são independentes dos ligantes resultando em expressão constante e em transformação maligna.⁹

Várias vias de sinalização celular são relacionadas à patogênese da translocação NPM-ALK. (Figura II) A ativação da via STAT3, AKT/PI3K, RAS/ERK, entres outras parecem estar associadas ao papel oncogênico dessa proteína.²² Estas vias estão presentes em redes de sinalização complexas, que controlam a proliferação celular, a sobrevivência e ciclo celular.^{9,14}

Figura I- Proteína de fusão NPM-ALK



Figura II- Esquema de sinalização da proteína de fusão NPM-ALK



Legenda: A proteína ALK promove a proliferação celular e sobrevivência pelas vias STAT3, RAS/ERK e AKT/mTOR. **Adaptado FONTE 17.**

IV. 5.1. AKL EM NEOPLASIAS MALIGNAS

Desde a sua descoberta, diferentes variantes da quinase ALK-1 foram descritas, não somente no LAGC, mas em outras neoplasias.²² ALK é um dos poucos oncogenes envolvidos em neoplasias hematopoiéticas e não hematopoiéticas.⁹ Dentre as distintas neoplasias estão os tumores miofibroblástico inflamatório, carcinomas pulmonares não-pequenas células, linfoma difuso de grande célula B, câncer de colón, câncer de mama, carcinoma de células renais e plasmocitomas extramedulares. Além disso, mutações ativadoras e amplificadoras do gene ALK foram encontradas em neuroblastoma esporádico e câncer de tireóide.²³

Nessas diferentes neoplasias, o conhecimento da expressão da proteína ALK tem sido útil como alvo terapêutico, em especial, no carcinoma de pulmão e neuroblastoma.²⁴

IV. 5.2. ALK EM LINFOMAS

A presença da proteína ALK-1 nas células neoplásicas está associada a diferentes alterações genéticas. A translocação t(2;5) (p23;q35), entre o gene ALK no cromossomo 2 e o gene da NPM no cromossomo 5, é a alteração mais comum (75-80% dos casos) com marcação imuno-histoquímica da proteína ALK no citoplasma e núcleo das células no LAGC ALK positivo.^{9,11,18}

A proteína de fusão resultante é uma tirosina quinase com propriedades oncogênicas, que atua através de uma variedade de sinais antiapoptóticos, com importante papel no desenvolvimento e patogênese do LAGC.^{21,25} Diferentes estudos vêm apontando a proteína ALK-1 como um fator prognóstico importante para o LAGC. Uma vez que a mesma é encontrada em linfomas, ocorrendo em menores faixas etárias com melhor resposta ao tratamento e maior sobrevida.^{12,20}

Assim a divisão do LAGC em duas entidades distintas provisórias pela OMS aponta para necessidade de novos estudos que demarquem as diferenças entre os grupos em seus aspectos histopatológicos, clínicos, prognósticos e de tratamento. A expressão da proteína ALK-1 parece ser um fator determinante na compreensão do LAGC e de sua evolução, bem como a sua diferente distribuição etária. Enquanto no grupo infantil, este linfoma mostra um excelente prognóstico e expressão de proteína ALK-1 em células tumorais; em adultos, a proteína está ausente e o prognóstico é reservado.^{19,25}

IV. 5.3. POTENCIAL DO BLOQUEIO DA ATIVIDADE DE TIROSINA QUINASE COMO ALVO TERAPÊUTICO

Recentemente, observou-se que inibidores de ALK são efetivos no tratamento do LAGC ALK positivo e outras malignidades que expressam ALK.^{23,26} A relação, em especial, da translocação NPM-ALK na patogênese e desenvolvimento do LAGC ALK positivo faz da proteína um potencial alvo terapêutico importante.^{9,14} A interrupção das vias de sinalização com a finalidade de parar ciclo celular e induzir apoptose tem sido objeto de estudo.⁹

Para o carcinoma de pequenas células do pulmão, o inibidor seletivo de ALK e do fator de crescimento epitelial mesenquimal, Crizotinibe, mostrou eficácia na resposta terapêutica com aprovação da droga pela FDA - Administração de Alimentos e Remédios - nos Estados Unidos da América.²⁷ Assim o uso da quinase ALK como alvo terapêutico parece ser um caminho promissor nas diversas neoplasias que a expressam.

V. METODOLOGIA DA PESQUISA

O método desta pesquisa seguiu as recomendações para realização de revisões sistemáticas propostas por, Guidugli (2000); Sampaio e Mancini (2006) e Amaral-Lopes (2011).

V.1. TIPO DE ESTUDO

Revisão sistemática de artigos originais.

V.2. DELINEAMENTO DO ESTUDO

- Estratégia de busca estruturada com uso de termos análogos, segundo os descritores do assunto;
- Busca sistematizada e hierarquizada;
- Estratégia de busca estruturada pelo emprego de operadores booleanos específicos da base de dados;
- Análise secundária de dados, obtidos em estudos primários referentes ao estudo da expressão de ALK-1 nos Linfomas Anaplásicos de Grandes Células (LAGCs) usando imuno-histoquímica e relação ao prognóstico;
- Busca de dados secundários referentes aos aspectos clínicos, epidemiológicos, histopatológicos e imuno-histoquímicas que caracterizam os LAGC no Brasil e mundo.

V.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os critérios de inclusão utilizados foram:

- a. Idiomas: Inglês, português e espanhol.
- b. Estudos cujo diagnóstico de LAGC tenha sido estabelecido através de imunofenotipagem.

- c. Estudos que utilizaram como critérios diagnósticos os da Classificação da Organização Mundial de Saúde de 2001 ou 2008.
- d. Estudos publicados a partir de 2003.
- e. Estudos que analisem o LAGC sistêmico primário.
- f. Estudos que pesquisem em LAGC a expressão da proteína ALK-1 por imuno-histoquímica em células tumorais.
- g. Estudos que correlacionem expressão de ALK-1 com prognóstico, traduzido pelo Índice de Prognóstico Internacional (IPI) e/ou sobrevida global e/ou sobrevida livre de doença.

V.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão foram:

- a. Idioma não previsto nos critérios de inclusão.
- b. Estudos não disponíveis na rede CAPES.
- c. Estudos cujo objeto tenha sido revisão, relatos de caso, monografias, teses.
- d. Estudos que não utilizem como critérios de prognóstico o IPI e/ou a sobrevida global e/ou a sobrevida livre de doença.
- e. Estudos com número de casos menor que 10.
- f. Estudos que analisem estritamente LAGC localizados cutâneo, LAGC primário de sítios específicos (osso, sistema nervoso), outros linfomas e neoplasias.
- g. Estudos que não atendam aos critérios de inclusão.

V.5. OBJETO DO ESTUDO

Levantamento bibliográfico dos artigos e periódicos constantes nos seguintes bancos de dados eletrônicos: SCOPUS (<http://www.scopus.com/home.url>), PUBMED/MEDLINE (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) e LILACS (<http://lilacs.bvsalud.org/>).

V.6. ESTRATÉGIA PARA IDENTIFICAÇÃO DOS ARTIGOS

A argumentação Booleana adotada para a busca nas bases de dados combinou termos que respondem a revisão proposta. A busca no PUBMED/MEDLINE utilizou a opção *'ADVANCED'* com os seguintes argumentos para título e resumo: (“lymphoma” AND “anaplastic”) AND (“prognosis” OR “prognostic” OR “outcome”). Os argumentos utilizados em cada base de dado estão listados na tabela 1.

Tabela I- Argumentos de Busca

BASE DE DADOS	DESCRITORES
SCOPUS	“Lymphoma” AND “Anaplastic” AND “ALK1” AND “Prognosis”
PUBMED/MEDLINE	(“Lymphoma” AND “Anaplastic”) AND (“Prognosis” OR “Prognostic” OR “Outcome”)
LILACS	“Linfoma Anaplásico”

IV. 7. ESTRATÉGIA PARA SELEÇÃO DOS ARTIGOS

A pesquisa foi realizada por uma equipe formada por duas pessoas, um docente e um estudante de graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia- FAMED. Os pesquisadores utilizaram os argumentos nos bancos de dados, e selecionaram os artigos independentemente. Posteriormente, se reuniram para realizar o cruzamento dos resultados, excluindo artigos repetidos. As discordâncias foram resolvidas por consenso.

A seleção inicial dos estudos foi feita pela leitura dos títulos e resumos com inclusão ou exclusão preliminar. Os estudos previamente selecionados foram arquivados para leitura completa, sendo então avaliados segundo os critérios de inclusão e exclusão definidos previamente.

V.8. DADOS DA SISTEMATIZAÇÃO

A partir dos estudos selecionados foram analisados os seguintes dados:

- Tamanho da amostra.
- Distribuição por sexo.
- Distribuição etária.
- Presença e ausência de expressão da proteína ALK-1.
- Média de idade nos grupos ALK-1 positivo e negativo.
- Fatores prognósticos avaliados- IPI, sobrevida global e sobrevida livre da doença.

V.9. TRATAMENTO DOS DADOS

Após a coleta e seleção qualitativa dos dados, os mesmos foram implantados em planilha eletrônica do *EXCEL 2007*. Para a análise foram levadas em consideração variáveis absolutas e percentuais.

VI. RESULTADOS

O número dos estudos identificados em cada fonte está descrito na Tabela 2, a data da última busca na literatura foi 18 de outubro de 2013.

VI. 1. BUSCA NO PUBMED

Através da *home page* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> após inserção dos descritores “*lymphoma*” AND “*anaplastic*” para pesquisa em título e resumo, foram encontrados um total de 3714 artigos. Posteriormente, realizou-se a pesquisa em título e resumo para os argumentos “*prognosis*” OR “*prognostic*” OR “*outcome*”, com um total de 863.532 artigos encontrados. A partir da ferramenta *ADVANCED* disponível no *PUBMED/MEDLINE*, as duas pesquisas foram cruzadas resultando em 729 trabalhos para análise pelos pesquisadores. A leitura dos títulos e resumos seguindo os critérios previamente fixados levou à seleção de 23 artigos. Os critérios de exclusão preliminares adotados e o número de artigos não selecionados estão descritos na tabela 2. Não houve acesso a 2 trabalhos completos, pois não estavam disponíveis no portal de periódicos da CAPES (<http://www.periodicos.capes.gov.br>). A partir da busca ativa, dois artigos disponíveis como literatura relacionada pelo PUBMED foram escolhidos. Foram selecionados, por fim, vinte e dois artigos para leitura completa e análise qualitativa.

VI. 2. BUSCA NO LILACS

Através da *home page* <http://lilacs.bvsalud.org/> após inserção dos descritores “*Linfoma*” AND “*Anaplásico*” AND “*ALK-1*” foram encontrados 27 trabalhos. Os trabalhos publicados nos últimos dez anos foram identificados; bem como, aqueles escritos em língua inglesa, portuguesa ou espanhola, restando 15 publicações. A partir da leitura dos títulos e resumos, foram excluídos aqueles que não estavam de acordo com os critérios de inclusão e exclusão: relatos de caso, análise de outros

tumores, monografias e revisões. Dois resultados da busca foram coincidentes entre *LILACS* x *MEDLINE*. Após análise dos critérios de inclusão e exclusão, não houve trabalhos a serem incluídos para seleção nesse estudo.

VI. 2. BUSCA NO SCOPUS

A partir da *home page* <http://www.scopus.com/home.url>, foram inseridos os argumentos “*lymphoma*” AND “*anaplastic*” AND “*ALK1*” AND “*prognosis*”. A busca resultou em 20 artigos encontrados sobre o tema. O seguimento da leitura de títulos e resumos culminou com a seleção de dois artigos não coincidentes com a busca realizada nas bases de dados *PUBMED/MEDLINE* ou *LILACS*. Porém os dois artigos foram excluídos da revisão por não estarem disponíveis no portal de periódicos da CAPES (<http://www.periodicos.capes.gov.br>).

Tabela 1- Critérios preliminares de exclusão de artigos busca no PUBMED

Critérios de Exclusão	Número absoluto de artigos excluídos	Porcentagem de artigos excluídos
Língua não-inglesa, não-portuguesa, não-espanhola	28	3,82%
Revisões	78	10,69%
Outros tumores e linfomas	137	18,79%
LAGC não-sistêmico e/ou não-primário	48	6,58%
Relatos de caso, série de casos	44	6,03%
Métodos de tratamento	52	7,13%
Outros temas (citogenética, aspectos moleculares, entre outros)	78	10,69%
Publicações anteriores há 2003	244	33,47%
Total	709	97,25%

VI. 3. ARTIGOS SELECIONADOS

A leitura dos vinte artigos previamente selecionados levou à seleção de oito artigos.²⁸⁻³⁵ A exclusão ativa dos 14 estudos ocorreu, pois os mesmos não abordavam os seguintes desfechos: análise da proteína ALK-1 como marcador prognóstico; descrição de sobrevida global, livre de doença; LAGC não primário e sistêmico; e população da amostra de LAGC inferior a dez casos. Dois trabalhos não estavam disponíveis na rede CAPES com exclusão automática da análise.

Tabela 2- Resultado da busca nos bancos de dados

BANCO DE DADOS	ARTIGOS ENCONTRADOS	ARTIGOS SELECIONADOS
PUBMED	731	8
LILACS	27	0
SCOPUS	20	0
TOTAL	778	8

VI. 4. ANÁLISE GERAL DOS ARTIGOS SELECIONADOS

Os artigos selecionados são coortes históricas com análise retrospectiva de casos em diferentes períodos de tempo. A maior parte dos estudos desta revisão foram desdobramentos de trabalhos multicêntricos, em especial os estudos ocidentais- Savage et al., Sibon et al., Schmitz et al.- de modo, que o número de casos (N) observado de LAGC foi elevado. As menores amostras foram encontradas nos estudos coreanos de Park SJ et al. (2008) e Park SR et al. (2006) com 32 e 30 casos, respectivamente. Os dados iniciais da sistematização estão na tabela 3.

Dentre os marcadores imuno-histoquímicos utilizados para firmar diagnóstico, o CD30 foi utilizado em todos, apenas um dos estudos usou adicionalmente a expressão de uma molécula citotóxica (Wang et al.). Houve variação nos demais marcadores descritos nos artigos, sendo que o marcador para célula B (CD20) e marcadores para célula T (CD3, CD2, CD7) foram utilizados na

maioria dos artigos selecionados. Todos os estudos marcaram a proteína ALK pelo anticorpo anti-ALK p80 (ALK-1).

TABELA 3- Aspectos gerais e epidemiológicos dos estudos selecionados.

Artigo	Desenho do estudo	População estudada	Número de pacientes	Distribuição etária dos casos
Ten Berge et al., 2003	Coorte histórico	Europa- Holanda	68	2-90 anos
Arrowsmith E et al., 2003	Coorte histórico	EUA	30	6-76 anos
Savage et al., 2008	Coorte histórico	Ásia (40%) Europa (35%) USA (25%)	159	Adultos/ >19 anos
Schintz et al., 2010	Coorte histórico	Alemanha	191	-
Sibon et al., 2012	Coorte histórico	Francês (GELA)	138	Adultos
Park SR et al., 2006	Coorte histórico	Coréia do Sul	32	Adultos/ >16 anos
Park SJ et al., 2008	Coorte histórico	Coréia do Sul	30	Adultos/ >15 anos
Wang YF et al., 2012	Coorte histórico	China	92	38 infantis 54 adultos

Legenda: - dados não disponíveis

VII. ASPECTOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS

Três artigos estudaram a população oriental – coreana e chinesa, enquanto os demais estudos envolvem população européia (dois estudos), americana (um estudo). Destacando-se um grande estudo multicêntrico, envolvendo a população americana, européia e asiática. A distribuição por gênero foi identificada em seis dos trabalhos e em geral predominando no sexo masculino. A distribuição por idade foi observada em sete dos trabalhos, sendo que os trabalhos com maior número de casos se restringiu a população adulta (Savage et al., Sibon et al., Park SR et al., e Park SJ et al.) com diferentes cortes de limites etários. Apenas um dos trabalhos compara a população adulta e pediátrica (Wang et al.).

O estágio de doença definido pelos critérios de estadiamento de Ann Arbor foi descrito em oito dos estudos. Em geral, os pacientes apresentavam estágio avançado da doença (III e IV) ao diagnóstico. Em seis artigos, o estágio avançado foi encontrado em 50% ou mais dos indivíduos. Os aspectos clínico-epidemiológicos gerais dos estudos estão apresentados na tabela 4.

TABELA 4- Aspectos clínicos

Artigo	Relação masculino:feminino	Estágio Avançado % (Ann Arbor III-IV)	Tratamento
Ten Berge et al., 2003	41:29 (1,4:1)	52,9	CHOP + Poliquimioterapia
Arrowsmith E et al., 2003	22:8 (2,75:1)	60	Poliquimioterapia
Savage et al., 2008	98:61 (1,6:1)	61,63	Poliquimioterapia
Schimtz et al., 2010	113	47,12	CHOP/ Poliquimioterapia
Sibon et al., 2012	-	-	CHOP/ACVBP
Park SR et al., 2006	26	56,2	CHOP/ Poliquimioterapia
Park SJ et al., 2008	24	36,7	CHOP/ Excissão cirúrgica
Wang YF et al., 2012	58	50	CHOP

Legenda: - dados não disponíveis.

VI. 5. EXPRESSÃO DE ALK EM LINFOMAS ANAPLÁSICOS E RELAÇÃO COM A IDADE

A positividade para ALK variou de 35% a 55% com as maiores frequências foram observadas no estudo multicêntrico americano e no estudo chinês. Este último atingiu a maior proporção coincidindo com o maior número de casos pediátricos. Em todos os trabalhos selecionados por esta revisão, o grupo ALK positivo foi mais jovem que o grupo ALK negativo. Houve diferença estatística na distribuição dos casos ALK+ e ALK- e idade em todos os trabalhos em que esta variável foi analisada. Em geral, a mediana de idade nos casos positivos encontrava-se entre a segunda e terceira década de vida.

No grupo ALK negativo, os indivíduos foram mais velhos com idades médias entre a quarta e quinta década de vida. A menor idade média para o LAGC ALK negativo foi encontrada no trabalho de Wang Y et al. (30 anos). Porém, mesmo nesse trabalho a idade no grupo ALK positivo se manteve ainda menor (22 anos) que aquela do grupo ALK negativo. A distribuição dos casos ALK positivo e ALK negativo foi descrita na tabela 6 para cada estudo.

TABELA 5- Expressão da proteína ALK e relação com idade nos estudos selecionados.

Artigo	ALK+(n)	ALK- (n)	Idade (mediana)		Valor de p
			ALK+	ALK-	
Ten Bergeet al., 2003	24 (35%)	44	23,5	54,5	<0.00001
Arrowsmith E et al., 2003	15 (50%)	15	22,5	34	0.03
Savage et al., 2008	87 (54%)	72	34	58	<0.001
Schintz et al., 2010	78 (40%)	113	37	50	-
Sibon et al., 2012	64 (46%)	74	31,5	56	0.01
Park SR et al., 2006	6 (33%)	12	-	-	-
Park SJ et al., 2008	13 (43%)	17	33	43	0.047
Wang YF et al., 2012	51 (55%)	41	22	30	0.05
Total	338(46%)	388 (54%)	*29	46,5*	-

Legenda: - dados não disponíveis/ Obs: nem todos os casos incluídos em cada estudo foi pesquisado ALK, portanto o n é menor. * média das idades medianas

VI. 6. RELAÇÃO DA EXPRESSÃO DE ALK-1 COM FATORES PROGNÓSTICOS ESTABELECIDOS

VI. 6.1. RELAÇÃO DA EXPRESSÃO DE ALK-1 COM O IPI

Dos oito trabalhos selecionados pela revisão sistemática, seis correlacionaram os valores de IPI e expressão da proteína ALK-1. O IPI foi considerado relacionado com a gravidade da doença, entretanto não havia padronização dos escores entre os diferentes trabalhos. Com a finalidade de

padronizar os valores do IPI, os escores foram divididos em duas variáveis - IPI baixo ou IPI alto, que correspondem às faixas de 0-2 e 3-5, respectivamente, ou as classificações baixo/baixo-intermediário e alto intermediário/alto, respectivas, utilizadas por alguns autores. A relação estabelecida nos trabalhos entre o valor de IPI e expressão de ALK-1 encontra-se descrita na tabela 6.

Os casos de LAGC apresentaram IPI baixo ao diagnóstico em maior proporção independente da expressão da proteína ALK-1. Com exceção do estudo de Arrowsmith et al., onde LAGC ALK positivo teve 53% de casos com IPI alto, os demais trabalhos mostram uma relação dos LAGC ALK positivos com baixo IPI. Assim, cinco estudos relacionam a expressão de ALK-1 a IPI baixo, sendo que apenas dois estudos mostram diferença estatisticamente significativa do IPI entre pacientes ALK-positivos e ALK-negativos (Ten Berg et al. e Sibon et al.). O IPI alto foi associado a um pior prognóstico assim como o IPI baixo a um melhor prognóstico, em alguns trabalhos em análise univariada (Savage et al., Park SJ et al.), multivariada (Ten Berg et al.) independente do status do ALK-1 (Savage et al. e Park SJ et al. e Schmitz et al.).

TABELA 6. Relação da expressão da proteína ALK e IPI.

ARTIGOS	IPI				
	P	ALK+		ALK-	
		BAIXO	ALTO	BAIXO	ALTO
Ten Berge et al., 2003	S	24	2	28	19
Arrowsmith E et al., 2003	S	-	53%	-	8%
Savage et al., 2008	N	58/71%	24/29%	40/61%	26/39%
Schmitz et al., 2010	N	66/84,6%	12/15,4%	91/80,5%	22/19,5%
Sibon et al., 2012	S	42/77%	13/23%	28/52%	25/48%
Park SR et al., 2006		-	-	-	-
Park SJ et al., 2008	N	8/62%	5/38%	11/65%	6/35%
Wang YF et al., 2012	-	-	-	-	-

Legenda: - dados não disponíveis/ s= diferença estatisticamente significativa entre os grupos ALK-1 positivo e ALK-1 negativo/ IPI= Índice de Prognóstico Internacional.

VI. 6.2. RELAÇÃO DA EXPRESSÃO DE ALK-1 E SOBREVIDA

Todos os artigos selecionados apontam para um melhor prognóstico dos pacientes que expressam ALK-1 em comparação com os pacientes ALK-1 negativo levando em consideração a sobrevida global e a sobrevida livre de doença como marcadores prognósticos. Entretanto o valor desta observação variou entre os diferentes estudos. Em seis estudos os pacientes ALK-1 positivos exibiam maior sobrevida global e/ou livre de doença, entretanto em apenas 4 esta diferença foi estatisticamente significativa, três na análise univariada e um na análise multivariada. Ten Berge et al. mostraram que a sobrevida global diferiu significativamente entre os grupos ALK positivo e ALK negativo ($p = 0,0001$), inclusive com análise corrigida para características clínicas, como IPI. ($p = 0,0009$). Para a população chinesa, Wang et al. mostrou também que a expressão de ALK estava associada com uma maior sobrevida global e, portanto, a um melhor prognóstico. Contudo, a análise estratificada dos pacientes concluiu que o melhor prognóstico dos casos ALK positivos estava associado à idade menor ou igual a 14 anos ($p = 0,05$). Assim, na análise multivariada, a expressão de ALK não foi um fator prognóstico independente da idade. Ao contrário do encontrado nesta população chinesa, Sibon e col. descrevem que pacientes com idade igual ou maior a 40 anos e expressão de ALK-1 exibiram melhor sobrevida global ($p= 0,002$) e sobrevida livre de doença ($p=0,021$). Porém, da mesma forma, a expressão de ALK não foi um fator prognóstico independente na análise multivariada.

Três dos estudos apontam para uma relação dos casos LAGC ALK-1 positivo com SG e SLD, porém não estatisticamente significativa. Savage e col. mostram que a SLD ($p= 0,015$) e SG ($p= 0,016$) foram favoráveis no LAGC ALK positivo, porém quando comparam estratificando por faixa etária (pacientes maiores de 40 anos e menores que 40 anos), não observaram diferenças na SLD e SG. Ou seja, sugerem que a idade seja um fator importante nos diferentes desfechos, com prognóstico favorável em pacientes mais jovens.

Os estudos de Park SJ et al.(2008) e Park SR et al. (2006) apontam para uma melhor sobrevida global quando comparando LAGC ALK-positivo e LAGC-ALK negativo. No entanto, não

houve diferença estatisticamente significativa entre os dois subtipos pela análise univariável nestes trabalhos. Schimtz e col. também observaram uma melhor sobrevida global (SG) e sobrevida livre de doença (SLD) no LAGC ALK positivo, contudo, a análise estatística não foi realizada para essas variáveis. Esse estudo concluiu ainda que a idade e o LDH (desidrogenase láctica) foram significantes estaticamente para a SG, enquanto o estágio do IPI foi significativo para a SLD.

Alguns destes estudos abordam ainda outros fatores que podem ser relacionados ao prognóstico como beta2 microglobulina, LDH, estadiamento clínico, entre outros. A relação da expressão de ALK-1 e sobrevidas está apresentada na tabela 7.

Além das relações ilustradas, os artigos selecionados trazem conclusões específica, listadas a seguir (Quadro 1).

TABELA 7- Relação entre sobrevida e expressão de ALK.

ARTIGOS	SLD			SG		
	ALK+	ALK-	P	ALK+	ALK-	P
Ten Berge et al., 2003	-	-	0,007	90%	40%	<0,0001 0,0009*
Arrowsmith E et al., 2003	0.94	1.27	-	-	-	-
Savage et al., 2008	60%	36%	0.0015	70%	49%	0,016
Schimtz et al., 2010	75,8%	50%	-	89,8%	67,5%	-
Sibon et al., 2012	72%	39%	<0.001	82%	49%	<0,01
Park SR et al., 2006	83%	55%	0.23	60%	25%	0,39
Park SJ et al., 2008	-	-	0.752	61,5%	20%	0,48
Wang YF et al., 2012	-	-	-	58%	36%	<0,05*

Legenda: - dados não disponíveis/ * análise multivariada/ SG-sobrevida global/ SLD - sobrevida livre de doença.

Quadro 1- Principais conclusões dos estudos selecionados

ARTIGOS	CONCLUSÃO
Ten Berge et al., 2003	LAGC ALK-, ao contrário do LAGC ALK+, possui pior prognóstico, bem como dados clínicos desfavoráveis.
Arrowsmith E et al., 2003	A positividade para ALK não é fator prognóstico independente para o LACG de células T.
Savage et al., 2008	A SG e SLD são melhores no grupo ALK+ mais jovem, porém quando se limita a idade não há diferenças. A idade foi fator proeminente no desfecho.
Schimtz et al., 2010	A SG e SLD dos pacientes com LAGC ALK+ foi significativamente melhor que nos pacientes com outros diagnósticos de linfoma de células T, inclusive LAGC ALK-.
Sibon et al., 2012	O impacto do prognóstico da expressão de ALK está associado à idade. Na análise multivariável, idade e beta-microglobulina foram identificadas como fatores independentes de prognóstico, mas não ALK.
Park SR et al., 2006	Não há evidências que fatores clínicos e desfechos do LAGC sistêmico diferem significativamente para casos ALK- ou ALK+.
Park SJ et al., 2008	Não há diferença estatisticamente significante na SG e SLD entre LAGC ALK+ e ALK-.
Wang YF et al., 2012	Expressão de ALK está associada a maior SG, porém somente em pacientes pediátricos (≤ 14 anos). Na análise multivariável, ALK não foi fator prognóstico independente da idade.

Legenda: SG- sobrevida global/ SLD- sobrevida livre de doença/ LAGC- Linfoma Anaplásico de Grandes Células.

VII. DISCUSSÃO

Os Linfomas Anaplásicos de Grandes Células (LAGCs) são entidades de células T maduras definidas pela Organização Mundial de Saúde a partir da expressão da proteína ALK-1.¹¹ Nos últimos anos, os avanços no conhecimento de marcadores imuno-histoquímicos, genéticos e relação clínico-prognóstico têm levado a alterações na classificação dos LAGCs.^{14,15} Uma recente modificação proposta pela OMS e ainda de caráter provisório na última classificação de 2008 diz respeito a segregação dos LAGC em ALK-1 positivos e ALK-1 negativos. A proteína ALK (tirosina quinase dos linfomas anaplásicos) tem ação promotora de sobrevivência e proliferação celular e nestes linfomas é uma proteína de fusão resultante da translocação 2;5. A sua expressão nos LAGCs é a diferença mais importante no diagnóstico comparativo entre essas duas entidades, entretanto parece ter um papel singular no desfecho clínico favorável e mais recentemente tem sido apontada como alvo de terapêutico promissor.⁶ Assim, o objetivo deste trabalho foi compilar os artigos analisando o papel da expressão do ALK-1 em relação a parâmetros prognósticos já estabelecidos, tais como IPI e sobrevivência livre de doença e global.

A maior parte dos casos descritos nos trabalhos teve sua origem na Ásia ou Europa, correspondendo a cerca de 90% de todos os casos. Isto foi possível devido a concentração de casos em centros de referência para diagnóstico de linfomas e também a existência na Europa de três grandes ensaios clínicos para tratamento de linfomas não Hodgkin entre 1987 e 1998. Possivelmente isto resultou na concentração de pacientes com LAGC possibilitando a inclusão de um maior número de casos (média de incidência de 8 casos/ano) (Schimitz et al., Sibon et al., Ten Berg et al.), semelhante ao estudo chinês (8 casos/ano), três vezes maior que os estudos coreanos e americano (3 casos/ano). Apesar desta revisão ter incluído trabalhos com grande número de casos de uma doença de baixa frequência na população em geral, este estudo não se presta a qualquer análise de incidência ou distribuição geográfica da doença.²

Os pacientes com diagnóstico de LAGC eram predominantemente do sexo masculino, correspondendo a uma relação de 1.7 homens para 1 mulher.¹¹ Os trabalhos analisados incluíram

predominantemente adultos, e os pacientes encontraram-se entre a terceira e quinta décadas de vida. Embora alguns artigos isoladamente mostrassem estágios avançados da doença ao diagnóstico, quando corrigido para o número total de pacientes de todos os artigos, 46% dos casos exibiam estágios III e IV de Ann Arbor, significando indiretamente que mais da metade dos pacientes encontravam-se em estágios iniciais da doença.^{2,5,36}

A frequência da expressão de ALK variou de 35% dos casos a 55% dos casos, possivelmente correlacionando com a pequena representatividade de casos pediátricos nestes trabalhos. Fortalecendo esta hipótese estudos envolvendo exclusivamente a população pediátrica mostram positividade para ALK-1 em mais de 90% dos casos.^{5,37} A expressão de ALK no nosso estudo estava diretamente relacionada a uma faixa etária mais jovem. Mesmo no grupo dos adultos a idade média daqueles que apresentaram a expressão da proteína ALK foi menor quando comparado aos casos ALK negativos. A alta frequência da expressão de ALK-1 no grupo pediátrico é consenso na literatura.^{38,39} O estudo de Brugières et al. (1998), com população pediátrica menor que 17 anos apresentou uma positividade igual a 97% para expressão de ALK.³⁷ No Brasil, o estudo de Gualco et al. (2010) mostrou que cerca de 85% dos casos pediátricos expressam ALK-1, e que mesmo dentro do grupo pediátrico a positividade é maior em crianças abaixo dos 9 anos de idade.⁵

Alguns estudos relacionam a expressão de ALK-1 à presença de determinadas alterações cromossômicas. Mussolin et al. (2010) compararam os cariótipos apresentados na população pediátrica e adulta a partir de casos de LAGC descritos na literatura e parte de uma população própria. Foram analisados comparativamente 64 crianças e 39 adultos portadores de LAGC, caracterizando as diferentes anormalidades citogenéticas. A presença de trissomias foi mais comum na população pediátrica e estava mais associada à presença da translocação ALK. Enquanto a monossomia foi mais comum no grupo adulto com menor associação à expressão de ALK.⁴⁰ Tais achados citogenéticos podem, em parte, explicar a gênese da expressão distinta da proteína ALK-1 no grupo pediátrico e adulto.

A expressão de ALK-1 tem sido relacionada a melhor prognóstico traduzida no escore do Índice de Prognóstico Internacional (IPI) favorável.

O IPI é um fator prognóstico constituído por várias variáveis de ampla utilização na prática clínica com escores variando de 0 a 5.⁴¹ Nossos achados apontam para uma associação entre expressão de ALK e níveis de IPI menores quando comparados aos tumores ALK negativos. Inferindo, assim, que no grupo LAGC ALK- positivo, o escore de prognóstico é melhor do que LAGC ALK- negativo. Entretanto apenas na metade dos estudos esta diferença atingiu significância estatística. Considerando que a idade (acima dos 60 anos) é uma variável que contribui para aumento do escore e que os pacientes ALK-positivos são significativamente mais jovens que os ALK-negativos, a associação do LAGC ALK-positivo a IPI baixo pode estar, principalmente, relacionado à idade. Favorecendo esta interpretação dois dos estudos que mostram significância estatística incluíram crianças a partir de 2 e 6 anos de idade. Adicionalmente, quando se limita a análise para adultos com estágios precoces da doença (Ann Arbor I e II), não houve diferenças significantes estatisticamente no prognóstico associados ao IPI ou, mesmo, à expressão de ALK.⁴² Entretanto, é importante ressaltar, que quando feita a análise estatística, o IPI foi um fator prognóstico independente, enquanto o mesmo não foi encontrado para a expressão de ALK. A partir dos trabalhos analisados, foi possível concluir que o IPI é um bom marcador de desfecho clínico nos LAGCs, independente da expressão de ALK-1.

A expressão do ALK-1 tem sido relacionada ao melhor prognóstico, considerando-se a sobrevida em trabalhos antes de 2000.^{6,39, 43} Entretanto, a análise dos estudos selecionados neste trabalho indica que a expressão de ALK segundo a análise estatística não é um fator prognóstico independente no LAGC. Apesar dos valores absolutos de sobrevida global e sobrevida livre de doença melhores no LAGC ALK positivo, a idade, na maioria dos estudos, mostrou ser um fator independente mais importante no desfecho dos pacientes com LAGC. De fato, a maior expressão de ALK em idades menores pode contribuir como fator confundidor na interpretação dos desfechos apresentados.

Historicamente, três artigos anteriores já convergem para esta interpretação. Falini et al. (1999) foram um dos primeiros a demonstrarem que o LAGC ALK positivo seria uma entidade distinta, porém que o melhor prognóstico observado no mesmo, deveria ser definido baseado no IPI

ajustado para idade como forma de predizer a sobrevida.⁶ Este autor conclui que relação íntima entre expressão de ALK e idade dificulta a avaliação dos reais fatores que influenciam na sobrevida. Suzuki et al. demonstraram que na análise multivariada ALK não foi um fator prognóstico independente. Todavia quando idade ou IPI foram excluídos na análise multivariada, ALK foi identificado como fator prognóstico em ambos os modelos.⁴³ Gascoyne et al. (1999), em contrapartida, concluíram que ALK é um fator prognóstico independente. Neste trabalho, a idade foi um preditor nas análises uni e multivariadas quando ALK não foi incluído no modelo, porém a expressão da proteína foi um marcador mais importante para esse grupo populacional.³⁹

Na nossa revisão, a exceção de Ten Berge et al. (2003) e Wang et al. (2012) que demonstraram relação da expressão de ALK e sobrevida na análise multivariada, todos os outros estudos incluídos nesta revisão trouxeram a importância da faixa etária como preditor de sobrevida global e sobrevida livre de doença. A limitação do trabalho de Ten Berg et al. foi a não correlação da expressão de ALK à idade nos modelos estatísticos utilizados, o que diminui o valor da variável ALK-positivo e questiona a sua independência. O outro trabalho que mostrou valor independente para o ALK-1 nesta revisão (Wang et. al., 2012) apenas para pacientes abaixo de 14 anos. Este trabalho de Wang et. al contrasta com outros trabalhos em jovens que não mostram diferenças na resposta a terapêutica e expressão de ALK.^{44,45} Considerando que, independente do tipo de linfoma, crianças entre 7 e 14 anos exibem melhor prognóstico quando comparado com adolescentes entre 17 e 14 anos e que nesta idade mais de 90% são ALK-positivos, a idade representa muito provavelmente viés, dificultando a análise da independência dos dados.⁴⁶ Na nossa análise, os melhores achados de sobrevida global e livre de doença, estão correlacionados diretamente a grupos etários pediátricos, portanto, concluímos que a idade, possivelmente abaixo dos 14 anos seja um fator preditor de melhor prognóstico clínico nos LAGC e muito provavelmente independe da expressão de ALK-1.

Cada vez mais, procura-se definir outros marcadores prognósticos que influenciam o curso clínico distinto dentro do grupo ALK positivo ou, ainda, no grupo ALK negativo. Fatores reguladores da apoptose, tais como Hsp 90 α , p53, MDM2, Bcl-2, Bax, citocromo C e caspase-3 clivada tem sido relacionados a prognóstico favorável.²⁴ Duplantier et al. encontraram a expressão

de serpina-1 no LAGC ALK positivo. Serpina1 está associado ao maior envolvimento extranodal nessa entidade e maior disseminação do tumor ALK positivo.⁴⁷ Outra via associada ao LAGC ALK positivo é STAT3 com expressão de survivina, que aparece como fator prognóstico desfavorável.⁸ A presença de MUC no LAGC sistêmico foi associada ao pior prognóstico, mais frequentemente observada no grupo ALK negativo.⁴⁸ Assim, a estimativa de sobrevida e evolução clínica nos casos de LAGCs devem ser o resultado de diferentes aspectos clínicos, e, embora os marcadores sejam promissores e alguns possam interagir com a expressão do ALK-1, os estudos ainda são inconclusivos.⁴⁹

A explicação para uma melhor resposta terapêutica e melhor evolução no LAGC ALK positivo poderia estar na presença de uma resposta imune à oncoproteína ALK. A resposta imunológica direcionada à ALK parece ser importante mecanismo na organização e evolução da doença. Pacientes com LAGC que expressam ALK possuem uma resposta de células T citotóxicas, como também produção de anticorpos voltados a epítomos da proteína.⁵⁰ Estudo realizado com população pediátrica alemã, a partir da titulação de anticorpos contra a ALK, concluiu que maiores titulações de anticorpos estão associadas com menor número de recidivas da doença e maior sobrevida livre de doença. Sendo encontrada diferença estatisticamente significativa também, quando as titulações são menores e o número de recaídas são maiores. As titulações foram inversamente proporcionais ao estágio da doença no momento da titulação e a disseminação da doença para medula óssea, sangue e vísceras.⁵¹

Apesar de não encontrarmos com esta revisão uma relação entre melhor prognóstico e expressão de ALK, o entendimento sobre a modulação imune e dos marcadores associados à ALK é essencial na perspectiva de uso de imunoterapia como alvo terapêutico nos LAGCs, bem como, na apresentação clínica dessas entidades.

VIII. CONCLUSÕES

Esta revisão selecionou oito trabalhos da literatura publicados nos últimos 10 anos acerca da expressão da proteína ALK nos LAGCs. A partir da análise desses trabalhos foi possível obter as seguintes conclusões:

- 1- Os LAGCs sistêmicos em geral acometem, preferencialmente, indivíduos do sexo masculino, sendo que o LAGC ALK positivo ocorre em indivíduos mais jovens quando comparado ao LAGC ALK negativo.
- 2- Em geral os escores de IPI são baixos nos LAGCs, porém o LAGC ALK negativo parece estar associado a IPI mais altos.
- 3- Independente da expressão ou não do ALK-1, o IPI é um fator independente para o desfecho clínico dos LAGCs.
- 4- A expressão de ALK-1 não parece ser um fator prognóstico independente no LAGC. Todavia há indícios da sua associação a outros fatores prognósticos, como a menores faixas etárias - grupo com melhores taxas de sobrevida global e sobrevida livre de doença.
- 5- A partir dos achados deste trabalho, fica mais evidente que LAGCs ALK positivo e ALK negativo se comportam como entidades distintas. Apresentam características clínicas, genéticas e, mesmo de desfecho clínico, diferentes.
- 6- Não encontramos com esta revisão evidências de que a expressão da proteína ALK esteja relacionada como fator independente ao melhor prognóstico no LAGC ALK positivo. Outros fatores prognósticos devem ser objeto de novos estudos.

IX. SUMMARY

EXPRESSION OF ALK-1 PROTEIN AND PROGNOSIS OF ANAPLASTIC LARGE CELL LYMPHOMA: A SYSTEMATIC REVIEW:The Anaplastic large cell lymphoma (ALCL) is an entity that represents 2-3 % of non-Hodgkin lymphomas. It has a high prevalence in children's age, being frequent in Brazilian children. The ALCL presents, in general, an aggressive clinical course. However attaches itself to the expression of ALK-kinase a better prognosis. The final classification of the World Health Organization (2008) determined the division of ALCL into two distinct entities: the ALCL ALK positive and ALK negative ALCL, provisional entity. These entities are different in terms of expression of ALK protein, and possibly, as the clinical presentation and prognosis. To evaluate the expression of ALK protein and prognosis in the two entities a systematic search was conducted for articles published in the last 10 years using the ALK protein as a prognostic marker in primary systemic ALCL literature. From the search in PUBMED / MEDLINE, LILACS, SCOPUS database, a total of eight articles were selected according to the criteria of inclusion and exclusion previously established. The comparison among works also has shown that patients with ALCL are proportionally more males, presenting at an advanced stage of disease. The group ALK positive was younger. The IPI was an important prognostic factor. A comparison of clinical outcomes - overall survival and disease free survival - in different studies showed that despite the association of ALK as a prognostic factor in the statistical analysis it can not be considered a factor independent outcome. Pointing younger age as a potential independent prognostic marker. Other studies indicate different prognostic factors that can interfere with the evolution of ALCLs. It is concluded that despite best observed clinical outcomes associated with expression of ALK, the statistical analysis does not identify the kinase as an independent prognostic factor in ALCLs. Age seems to be a confounding factor in the findings for prognosis associated with expression of ALK.

Key words: Lymphoma; Large-Cell; Anaplastic; CD30; Prognosis; Child.

X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morton L, Wang S, Devesa S, et al. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood*. 2006, 107: 265-276.
2. Rivzi M, Evens A, Tallman M, et al. T-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2006, 107: 1255-1264.
3. Ferreri AJ, Gofi S, Pileri S, Savage K. Anaplastic large cell lymphoma, ALK-negative. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2012, 85: 206–215
4. Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J Clin Oncol*. 1998.
5. Gualco G, Klumb C, Baber G et al. Pediatric lymphomas in Brazil. *Clinical Science*. 2010, 65: 1267-1278.
6. Falini B, Pileri S, Aruajo I et al. ALK1 Lymphoma: Clinico-Pathological Findings and Outcome. *Blood*. 1999, 93: 2697-2706.
7. Morris SW, Kirstein MN, Valentine MB et al. Fusion of a kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science*. 1994, 263(5151):1281-4.
8. Nars M, Laver J, Chang M et al. Expression of Anaplastic Lymphoma Kinase, Tyrosine-Phosphorylated STAT3, and Associated Factors in Pediatric Anaplastic Large Cell Lymphoma: a Report From the Children's Oncology Group. *Hematopathology*. 2007, 127:770-778.
9. Ferreri AJ, Gofi S, Pileri S, Savage K. Anaplastic large cell lymphoma, ALK-positive. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2012, 85: 293–302.
10. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. World Health Organization classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. *Lyon: IARC Press*. 2008.
11. World Health Organization- WHO. Mature T- and NK-cell neoplasms. 2008.

12. Wang F, Li YH, Zeng J. Clinical analysis of primary systemic anaplastic large cell lymphoma: A report of 57 cases. *Chinese Journal of Cancer*. 2009, 28(1):49-53.
13. Falini B, Martelli M. Anaplastic large cell lymphoma: changes in the World Health Organization classification and perspectives for targeted therapy. *Haematologica*. 2009; 94(7): 897-900.
14. Stein H, Foss HD, Falini B, et al. CD30+ anaplastic large cell lymphoma: a review of its histopathologic, genetic, and clinical features. *Blood*. 2000, 96: 3681-93.
15. Jaffe, ES. Anaplastic Large Cell Lymphoma: The Shifting Sands of Diagnostic Hematopathology. *Modern Pathology*. 2011.
16. Vassallo J, Lamant L, Brugieres L, Gaillard F, Campo E, Brousset P e Delsol G. ALK-Positive Anaplastic Large Cell Lymphoma Mimicking Nodular Sclerosis Hodgkin's Lymphoma: Report of 10 cases. *American Journal of Pathology*. 2006.
17. Nagasaka T, Nagamura S, Medeiros J, Juco J, Lai R. Anaplastic Large Cell Lymphomas presented as bone lesions:a clinicopathologic study of six cases and review of the literature. *Modern Pathology*. 2000, 13: 1143-1149.
18. Piccaluga PP, Pileri S, Gazzola A, et al. Pathobiology of Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Advances in Hematology*. 2010.
19. Pileri S, Agostinelli C, Bacci F. Pathobiology of ALK-negative anaplastic large cell lymphoma. *Pediatric Reports*. 2011, 3: (s2) e5.
20. Fornari et al. Anaplastic large cell lymphoma: one or more entities among T-cell lymphoma? *HematolOncol*. 2009.
21. Amin H, Lai R. Pathobiology of ALK+ anaplastic large-cell lymphoma. *Blood*. 2007, 2007 110: 2259-2267.
22. Bohling SD, Jenson S, Crockett D et al. Analysis of gene expression profile of TPM3-ALK positive anaplastic large cell lymphoma reveals overlapping and unique patterns with that of NPM-ALK positive anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia Research*. 2008, 383–393.
23. Pearson J, Lee J, Bacani J et al. NPM-ALK: The Prototypic Member of a Family of Oncogenic Fusion Tyrosine Kinases. *Journal of Signal Transduction*. 2012, 1-14.

24. Carpenter EL, Haglund EA, Mace EM et al. Antibody targeting of anaplastic lymphoma kinase induces cytotoxicity of human neuroblastoma. *Oncogene*. 2012, 31(46):4859-67.
25. Li LH, Huang XP, ZHOU X et al. Correlation of Seven Biological Factors (Hsp90 α , p53, MDM2, Bcl2, Bax, Cytochrome C, and Cleaved caspase3) with Clinical Outcomes of ALK+ Anaplastic Large cell Lymphoma. *Bio med Environ Science*. 2011.
26. Webb TR, Slavish J, George RE et al. Anaplastic lymphoma kinase: role in cancer pathogenesis and small-molecule inhibitor development for therapy. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2009, 9(3):331-56.
27. O'Bryant CL, Wenger SD, Kim M, Thompson LA et al. Crizotinib: a new treatment option for ALK-positive non-small cell lung cancer. *The Annals of Pharmacotherapy*. 2013, 47(2):189-97.
28. Ten Berge R, Bruin C, Oudejans J, Ossenkoppele J, Valk P eMeijer C. ALK-negative anaplastic large-cell lymphoma demonstratessimilar poor prognosis to peripheral T-cell lymphoma,unspecified. *Histopathology*. 2003, 43: 462–469.
29. Arrowsmith E, Macon W, Killey M, Stein R, Goodman S, Morgan D, et al. Peripheral T- cells lymphomas: clinical features and prognostic factors of 92 cases defined by the Revised European American Lymphoma Classification. *Leukemia and Lymphoma*. 2003, 44.
30. Savage K, Harris N, Vose J, Ullrich F, Jaffe E,Connors J, et al. ALK- anaplastic large-cell lymphoma is clinically and immunophenotypically different from both ALK+ ALCL and peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified: report from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood*. 2008, 111: 5496-5504.
31. Schimtz N, Trumper L, Ziepert M, Nickelsen M, D. Ho A, Metzner B, et al. Treatment and prognosis of mature T-cell and NK-cell lymphoma: an analysis of patients with T-cell lymphoma treated in studies of the German High-GradeNon-Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood*. 2010, 116: 3418-3425.

32. Sibon D, Fournier M, Briere J, Lamant L, Haioun C, Bologna S, et al. Long-Term outcome of adults with systemic Anaplastic Large-Cell Lymphoma treated within the Groupe d'Études des Lymphomes de l'Adulte Trials. *Journal of Clinical Oncology*. 2012, 32.
33. Park SR, Baek JY, Kim T, IM S, Kim T, Bang Y, et al. Primary Systemic Anaplastic Large Cell Lymphoma in a single Korean Institution: clinical characteristics and treatment outcome. *J Korean Med Science*. 2006, 21.
34. Park SJ, Kim S, Lee D, Jeong Y, Bae Y, Han E, et al. Primary systemic Anaplastic Large Cell Lymphoma in Korean adults: 11 Years' experience at Asan Medical Center. *Yonsei Med Journal*. 2008, 49(4):601 –609.
35. Wang Y, Yang Y, Gao Z, Zhou C, Gregg X, Shi Y, et al. Clinical and laboratory characteristics of systemic anaplastic large cell lymphoma in Chinese patients. *Journal of Hematology & Oncology*. 2012, 5:38.
36. Wellmann A, Otsuki T, Vogelbruch M, Clark H, Jaffe E e Raffeld M. Analysis of the t(2; 5)(p23; q35) translocation by Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction in CD30+ Anaplastic Large-Cell Lymphomas, in other Non-Hodgkin's Lymphomas of T-cell Phenotype, and in Hodgkin's Disease. *Blood*. 1995, 86: 2321-2328.
37. Brugieres L, Le Deley M, Pacquement P et al. CD30+ Anaplastic Large-Cell Lymphoma in Children: Analysis of 82 Patients Enrolled in Two Consecutive Studies of the French Society of Pediatric Oncology. *Blood*. 1998,92: 3591-3598.
38. Wellmann A, Otsuki T, Vogelbruch M et al. Hodgkin's disease in other non-Hodgkin's lymphomas of T-cell phenotype, and in lymphomas, polymerase chain reaction in CD30+ anaplastic large-cell . *Blood*. 1995.
39. Gascoyne R, Aoun P, Wu D, Chhanabhai M, Skinnider B, Greiner T et al. Prognostic Significance of Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) Protein Expression in Adults With Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Blood*. 1999, 93: 3913-3921.
40. Mussolin L, Pillon M, Bonato P et al. Cytogenetic Analysis of Pediatric Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2010.

41. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A Predictive Model for Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *New England Journal Med.* 1993, 329-987.
42. Zhang X, Li Y, Wang W et al. Favorable outcome with doxorubicin-based chemotherapy and radiotherapy for adult patients with early stage primary systemic anaplastic large-cell lymphoma. *European Journal of Haematology.* 2013, 90:195–201.
43. Suzuki R, Kagami Y, Takeuchi K et al. Prognostic significance of CD56 expression for ALK-positive and ALK-negative anaplastic large-cell lymphoma of T/null cell phenotype. *Blood.* 2000,96: 2993-3000.
44. Brugières L, Le Deley MC, Pacquement H et al. CD30+ Anaplastic Large-Cell Lymphoma in Children: Analysis of 82 Patients Enrolled in Two Consecutive Studies of the French Society of Pediatric Oncology. *Blood.* 1998, 92: 3591-3598
45. Burkhardt B, Oschlies I, Klapper W et al. Non-Hodgkin's lymphoma in adolescents: experiences in 378 adolescent NHL patients treated according to pediatric NHL-BFM protocols. *Leukemia.* 2011, 25:153–160.
46. Burkhardt B, Zimmermann M, Oschlies I, Niggli F, Mann G, Parwaresch R et al. The impact of age and gender on biology, clinical features and treatment outcome of non-Hodgkin lymphoma in childhood and adolescence. *British Journal of Hematol.* 2005, 131, 39-49.
47. Duplantier MM, Lamant L, Sabourdy F et al. Serpin A1 is overexpressed in ALK positive anaplastic large cell lymphoma and its expression correlates with extranodal dissemination. *Leukemia.* 2006, 20:1848–1854.
48. Rassidakis G, Goy A, Medeiros L , et al. Prognostic Significance of MUC-1 Expression in Systemic Anaplastic Large Cell-Lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2003, 9:2213-2220.
49. Li C, Takino H, Eimoto T, Ishida T, Inagaki A, Ueda R et al. Prognostic significance of NPM-ALK fusion transcript overexpression in ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma. *Modern Pathology.* 2007, 20:648-655.
50. Ait-Tahar K, Cerundolo V, Banham A, et al. B and CTL responses to the ALK protein in patients with ALK-positive ALCL. *International Journal of Cancer.* 2006, 118:688–695.

51. Ait-Tahar K, Damm-Welk C, Burkhardt B, et al. Correlation of the autoantibody response to the ALK oncoantigen in lymphoma with tumor dissemination and relapse risk positive anaplastic large cell–pediatric anaplastic lymphoma kinase. *Blood*. 2010, 115: 3314-3319.

X. ANEXO**Anexo 1**

IPI
Idade > 60 anos
LDH elevado
Status performance >2
Estágios clínicos Ann Arbor III ou IV
Acometimento extranodal >1