

# Hodgkin's disease : clinical and biological determinants of prognosis

## Citation for published version (APA):

Erdkamp, F. L. G. (1993). *Hodgkin's disease : clinical and biological determinants of prognosis*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht.

## Document status and date:

Published: 01/01/1993

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## CHAPTER 9

# Summary and future outlook

Hodgkin's disease is one of the most curable malignancies, but in contrast to many other malignant diseases the origin of the clonogenic neoplastic cell is still unknown. Because of the curability there is a growing interest for side effects of treatment and methods to identify subgroups of patients who need less intensive therapy. Clinical investigators have focused their interest the last decade on the identification of indicators for prognosis enabling treatment to be tailored to individual needs. In addition, on the biologic level, much effort has been put into the exploration of the origin of the neoplastic cell in Hodgkin's disease. In this thesis we have evaluated treatment results, clinical features, and DNA ploidy and proliferation characteristics in patients with Hodgkin's disease, all diagnosed and treated in non-university hospitals.

Chapter 1 gives an overview of the historical, clinical and therapeutical aspects of Hodgkin's disease. It also reviews flow and image cytometry data on nuclear DNA content and cell proliferation with a special focus on Hodgkin's disease.

In chapter 2 a registry-based analysis of 182 patients with Hodgkin's disease is described. The observed incidence of 1.9 per 100.000 persons fits fairly well with data from other countries. Because clinical characteristics of our patient population are similar with those observed by others and the treatment results were comparable, we conclude that Hodgkin's disease can be adequately staged and treated in community hospitals. However, we believe that this has to be done by physicians with special interest in and knowledge of the field of hemato-oncology and only if consultation on a regular basis between the physicians involved can be provided.

In chapter 3 special interest is given to the effect of age on the curability of patients with Hodgkin's disease. In the patient population studied the survival appears to decrease markedly if the diagnosis is made after the age of 50 years. Significantly fewer patients over 50 years of age received adequate treatment compared to younger ones and complete remission was achieved less often. However, if appropriate therapy had been given relapse free survival rates were not significantly different for patients under and over 50 years of age. Intercurrent disease appeared not to be responsible for the excess of death in the elderly. Therefore, the decreased overall survival for patients over 50 years of age is probably related to elderly patients dying from Hodgkin's disease who had not achieved complete disease remission. The inability to deliver full therapy may be resolved by the development of new treatment strategies with diminished side effects. Hematopoietic growth factors may be of importance for this goal.

Chapter 4 and 5 review the role of mediastinal enlargement in the management of patients with Hodgkin's disease. In a population-based study of 96 patients with early stage Hodgkin's disease no significant correlation between the presence and size of mediastinal involvement and outcome determined in various ways was observed. This overall conclusion did not change by using different methods to measure the degree of mediastinal disease. Interobserver variability and various cut-off points for determining the degree of mediastinal enlargement were investigated, but the data did not lead to an explanation for the discordant results found between the different studies on the prognostic impact of mediastinal enlargement in Hodgkin's disease. It appears that this controversy in the literature can only be resolved by prospective studies in which is controlled for the treatment schedules. Only by this approach the need for additional therapy for patients already in complete remission after initial treatment with radiotherapy or chemotherapy can be evaluated. Because two-dimensional measurement of mediastinal disease may not be accurately enough, three-dimensional or volume measurement has to be included in future clinical trials. For the time being, we believe that patients with bulky mediastinal disease, particularly those who have well known adverse risk features for prognosis, need systemic therapy upfront.

Chapter 6 provides the results of the flow cytometric determination of the ploidy status. In order to increase the sensitivity of the assay we used a polyclonal goat antinucleolar antibody and forward scatter (size selection) to enrich for the neoplastic nuclei in a bivariate analysis. The deparaffinisation method applied yielded a sufficient number of nuclei from Hodgkin's disease lymph nodes. In about half of the cases DNA aneuploidy was found. The

majority of cases had a DNA index between 0.8 and 1.2. With dual parameter analysis we were able to detect 22 hypo-diploid cases. All analyzed "benign" control lymph nodes appeared to be diploid. The frequency of aneuploid nuclei within one sample appeared to exceed the expected frequency of Reed-Sternberg/Hodgkin cells, suggesting that DNA aneuploidy is not limited to this cell population. Therefore, we hypothesize that the neoplastic cell population in Hodgkin's disease seems to consist of a spectrum of cells. The larger more diagnostic cells may arise from smaller progenitor cells, which may be more important biologically. On this basis it can be speculated, that part of the difficulties encountered in characterizing Hodgkin's disease is due to the heterogeneity of the non-RS/H cell population containing malignant and benign cells with partly overlapping properties. It therefore seems worthwhile to consider other approaches than morphology to select for the neoplastic cells.

In chapter 7 flow cytometrically obtained data are related to patient characteristics, histology, and prognosis. DNA aneuploidy did not correlate with clinical characteristics and survival curves were not different for patients with diploid or aneuploid tumors. S-phase analysis revealed a significantly lower S-phase fraction (SPF) for the histologic subtypes LP and NSI versus NSII, MC, and LD, indicating that a higher rate of cell proliferation is linked with a relative higher frequency of neoplastic cells i.e. RS/H cells. Responses, relapse rates, and relapse-free survival rates showed a tendency to be higher for cases with a  $SPF \geq 7.5\%$  (the median SPF in our material). The SPF at a cut-off point of 7.5% was correlated with overall survival but lost its significance in a multivariate analysis. Further studies are needed to evaluate the impact of cell proliferation on prognosis.

Chapter 8 describes the results of the application of image cytometry in Hodgkin's disease. After selection on morphologically defined nuclear types, DNA aneuploidy could be detected in 20% of the cases (14/70), which was preferentially observed in the population of nuclei of the RS/H like or medium sized lymphocytes. However, compared to flow cytometry image analysis seems a less sensitive method for investigating ploidy status on deparaffinized Hodgkin's disease tissues, although in selected cases additive information was obtained. Two "methodological" aspects seem particularly responsible for the observed discrepancy in detecting DNA aneuploidy between the two cytometry methods. First, the high degree of near-diploidy as is the case in Hodgkin's lymphoma, requires a higher resolution of the peaks in a DNA histogram, as is

provided by flow cytometry. Second, with image cytometry only a limited number of nuclei can be analyzed making it more difficult to detect small aneuploid populations.

In conclusion, in current clinical practice there is a tendency towards tailoring treatment for patients with Hodgkin's disease. For this purpose a considerable number of prognostic factors have been identified, but they appear more or the less to be correlated with the total tumor volume. Therefore, a general consensus between investigators from different centers and groups, on how to use these prognostic factors is much more important than further studies with regard to single or combinations of factors, who all are an indication of tumor mass. In addition, biologic factors such as ploidy grade, cell kinetics and immunophenotyping are needed to characterize the aggressivity of the disease. At the same time they may provide further insight in the pathobiology of the disease and which cells belong to the neoplastic population.

## CHAPTER 10

# Samenvatting

De ziekte van Hodgkin is één van de maligniteiten met een hoog genezingspercentage, echter in tegenstelling tot andere kwaadaardige ziekten is de origine van de maligne cel tot op heden onbekend. Door de hoge genezingskans is de belangstelling toegenomen voor de late gevolgen van de therapie en voor methoden om subgroepen van patiënten te identificeren die mogelijk minder intensief behandeld kunnen worden. Het identificeren van risico factoren moet hierbij een op de individuele patient toegespitste behandeling mogelijk maken. Op moleculair-biologisch gebied is veel aandacht besteed aan het zoeken naar de kwaadaardige cel bij de ziekte van Hodgkin. Kennis over de aard en eigenschappen van deze cel zou tot nieuwe vormen van therapie kunnen leiden. In dit proefschrift hebben wij de behandelingsresultaten en de klinische kenmerken van patiënten met de ziekte van Hodgkin, die alle gediagnostiseerd en behandeld zijn in niet-academische ziekenhuizen, onderzocht. Vervolgens is in het weefsel van deze patiënten gekeken naar afwijkingen in het DNA gehalte en naar de celdelings-activiteit. Het doel van deze onderzoeken is te komen naar betere methoden om de prognose van patiënten met de ziekte van Hodgkin in te schatten.

Hoofdstuk 1 geeft een overzicht van de historische, klinische en therapeutische aspecten van de ziekte van Hodgkin. Voorts worden de flow en beeld cytometrie besproken met name toegespitst op metingen van het DNA gehalte en de S-fase fractie bij patiënten met de ziekte van Hodgkin.

In hoofdstuk 2 wordt een regionaal, retrospectief onderzoek naar 182 patiënten met de ziekte van Hodgkin beschreven. De gegevens over de incidentie, 1,9 per 100.000 inwoners, zijn vergelijkbaar met die uit andere landen. Aangezien de bestudeerde patiënten groep en de behandelings resultaten goed overeenkomen met die in andere studies zijn wij van mening dat de ziekte van Hodgkin

adequaat gestageerd en behandeld kan worden in niet-universitaire ziekenhuizen. De behandeling dient echter te geschieden door internisten met speciale belangstelling voor en kennis op het gebied van de haemato-oncologie, waarbij geregeld overleg met gespecialiseerde centra noodzakelijk is.

In hoofdstuk 3 wordt de samenhang tussen de leeftijd en de genezingskans van patiënten met de ziekte van Hodgkin beschreven. Na het vijftigste levensjaar werd een duidelijke afname van de overlevingskans waargenomen. Patiënten ouder dan 50 jaar kregen in vergelijking met jongere patiënten significant minder vaak een adequate behandeling en het percentage patiënten dat geheel ziekte-vrij werd, was duidelijk lager. Indien echter de juiste behandeling gegeven kon worden, bleek de ziekte-vrije overleving voor patiënten ouder en jonger dan 50 jaar niet te verschillen. De oversterfte bij oudere patiënten kon maar voor een klein deel toegeschreven worden aan een bijkomende ziekte. De slechtere overleving van de oudere patiënt met de ziekte van Hodgkin wordt waarschijnlijk dan ook veroorzaakt door de groep die niet ziekte-vrij werd door de ingestelde therapie. Nieuwe behandelings methoden dienen ontwikkeld te worden die het mogelijk maken om ook bij ouderen de therapie adequaat te doseren. Haematopoëtische groeifactoren zouden hieraan in belangrijke mate kunnen bijdragen.

Hoofdstuk 4 en 5 geven een overzicht van de rol die de aanwezigheid van een verbreed mediastinum speelt bij het te volgen therapeutische beleid bij patiënten met de ziekte van Hodgkin. In studies van patiënten met een laag stadium (I-IIIa) van de ziekte bleek noch de aanwezigheid noch de mate van mediastinum vergroting gecorreleerd met de uiteindelijke prognose. Deze resultaten veranderden niet na het toepassen van verschillende methoden om de mate van mediastinale vergroting te analyseren. Verschillen tussen onderzoekers en de keuze van het afkappunt voor het bepalen van de mate van mediastinale vergroting werden bestudeerd. Hiermee konden echter de uiteenlopende resultaten met betrekking tot het prognostisch belang van een verbreed mediastinum bij de ziekte van Hodgkin, gevonden in andere studies, niet worden verklaard. Alleen prospectieve studies, waarbij voor de diverse vormen van behandeling gecontroleerd wordt, kunnen een oplossing brengen voor deze controverse in de literatuur. Op deze wijze kan worden onderzocht of bij patiënten, die reeds ziekte-vrij zijn na initiële behandeling met radio- of chemotherapie, additionele therapie nodig is. Daar het twee-dimensionaal bepalen van de mediastinale massa niet accuraat genoeg lijkt te zijn, dient in toekomstige klinische trials drie-dimensionale of volume meting te worden opgenomen. Totdat deze resul-



taten bekend zijn verdient het ons inziens de voorkeur om patiënten met een sterk verbreed mediastinum en met name de patiënt met prognostisch ongunstige factoren in eerste opzet met chemotherapie te behandelen.

In hoofdstuk 6 worden de resultaten van het onderzoek naar het DNA gehalte van celkernen (ploïdie) met behulp van flow cytometrie beschreven. Om de gevoeligheid van de bepaling te vergroten hebben wij een polyclonaal antilichaam gericht tegen de nucleolus en selectie op kerngrootte gebruikt, waarbij dan middels bi-variate analyse een verrijking voor maligne kernen bewerkstelligd kan worden. Met de door ons toegepaste methode van deparaffiniseren werden voldoende kernen uit lymfeklieren van patiënten met de ziekte van Hodgkin verkregen. In ongeveer de helft van de gevallen werd DNA aneuploidie gevonden, waarbij het merendeel een DNA index had tussen de 0,8 en 1,2. Gebruik makend van de twee-parameter methode werd in 22 monsters hypodiploidie aangetoond. Alle "goedaardige" controle lymfeklieren waren diploid. De frequentie van aneuploïde kernen in een monster bleek hoger dan verwacht op basis van het aantal Reed-Sternberg/Hodgkin (RS/H) cellen, hetgeen suggereert dat DNA aneuploidie niet beperkt is tot deze populatie. Daarom postuleren wij dat de populatie van kwaadaardige cellen bij de ziekte van Hodgkin bestaat uit een spectrum van cellen, waarbij de grotere, diagnostische cellen wellicht voortkomen uit kleinere voorloper cellen. Op basis van deze gegevens lijkt het waarschijnlijk dat een deel van de moeilijkheden bij het karakteriseren van de ziekte van Hodgkin gelegen is in de heterogeniteit van de niet-RS/H celpopulatie, die benigne en maligne cellen bevat met gedeeltelijk overlappende eigenschappen. Het lijkt daarom de moeite waard om voor verder onderzoek bij het selecteren van kwaadaardige cellen een andere dan de morfologische benadering te kiezen.

In hoofdstuk 7 worden de flow cytometrie gegevens onderzocht in relatie tot de patiënt karakteristieken, de histologie en de prognose. Behalve ploïdie werd ook het percentage cellen met een S-fase DNA gehalte (S-fase fractie) in de analyse betrokken. DNA aneuploidie was niet gecorreleerd met de klinische karakteristieken van de patiënt en de overleving van patiënten met diploïde en aneuploïde tumoren bleek niet verschillend. S-fase analyse liet een significant lagere S-fase fractie zien voor de histologische subtypes lymfocyten-rijk en nodulair-scleroserend type I ten opzichte van nodulair-scleroserend type II, gemengd-cellig en lymfocyten-arm. Dit is een indicatie dat een hogere mate van proliferatie gerelateerd is aan de histologische subtypes met een relatief hoger aantal maligne c.q. RS/H cellen. Hogere respons, hogere kans op recidief en kortere ziekte-vrije overleving leken te correleren met een S-fase fractie van meer dan



7,5% (de mediaan in dit onderzoek). Patiënten met een S-fase fractie van kleiner dan 7,5% hadden een significant betere overleving dan de patiënten met een S-fase fractie groter dan de mediaan. Bij een multivariant analyse bleek dit prognostische belang echter niet onafhankelijk te zijn van andere factoren. Vervolg studies zijn dan ook noodzakelijk om het belang van proliferatieve eigenschappen voor de prognose nader te bepalen.

Hoofdstuk 8 beschrijft de resultaten van de toepassing van beeld cytometrie bij de ziekte van Hodgkin. DNA aneuploidie kon, selecterend op vooraf morfologisch gedefinieerde kern types, in 20% van de gevallen aangetoond worden. Hierbij werd de aneuploidie vrijwel uitsluitend gevonden in kernen van cellen van het RS/H type en van middelgrote lymfocyten. Alhoewel in een aantal gevallen aanvullende informatie werd verkregen, lijkt beeld cytometrie in vergelijking met flow cytometrie een minder gevoelige methode om de ploïdie status te bestuderen in gedeparaffiniseerd weefsel van patiënten met de ziekte van Hodgkin. Twee "methodologische" aspecten lijken met name verantwoordelijk voor de gevonden verschillen tussen de beide cytometrie methoden. Ten eerste vereist het grote aantal bijna-diploïde gevallen bij de ziekte van Hodgkin een techniek met een hogere resolutie dan beeld cytometrie kan bieden. Ten tweede kan met beeld cytometrie maar een beperkt aantal kernen geanalyseerd worden, waardoor het moeilijk wordt om aneuploïde populaties van beperkte omvang te detecteren.

In de dagelijkse praktijk bestaat een tendens om de behandeling van patiënten met de ziekte van Hodgkin te individualiseren en te richten op het risico profiel. Om dit mogelijk te maken zijn een groot aantal prognostische factoren geïdentificeerd, maar deze lijken alle in meer of mindere mate gecorreleerd met het totale volume van de tumor. Het is tijd dat onderzoekers uit verschillende centra en van verschillende studie groepen zich beraden over een consensus met betrekking tot het gebruik van deze factoren in de dagelijkse praktijk. Bovendien is het nu mogelijk om biologische indicatoren van prognose te bestuderen zoals de ploïdie graad, cel proliferatie en immunofenotypering. Daarmee kan wellicht een verfijning van de prognostische classificatie worden bereikt. Tegelijkertijd kunnen resultaten van deze studies bijdragen aan het inzicht in de pathobiologie van de ziekte en daarmee hopelijk leiden tot mogelijkheden om nieuwe vormen van behandeling te vinden.