

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA IP
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „NICOLAE
TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U: 616. 411- 006.

Buruiană Sanda

**LIMFOAMELE NON-HODGKIN INDOLENTE (ASPECTE
CLINICO-HEMATOLOGICE, MORFOLOGICE ȘI
IMUNOHISTOCHIMICE)**

321.10-Hematologie și Hemotransfuzie

Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale

CHIȘINĂU, 2017

Teza a fost elaborată în cadrul Catedrei de Oncologie, hematologie și radioterapie a IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova.

Conducător științific: ROBU Maria, dr.șt.med., conferențiar universitar
Consultant științific: IACOVLEV Iraida, dr.hab.șt.med., profesor universitar
Referenți oficiali: ȚUREA Valentin, dr.hab.șt.med., profesor universitar
MIRON Lucian, dr.șt.med., profesor universitar,
Institutul Regional de Oncologie Iași, România

Componenta Consiliului Științific Specializat D50 321.10-01 –Hematologie și Hemotransfuzie:

DUMBRAVA Vlada-Tatiana, **președinte**, dr.hab.șt.med., profesor universitar
MUSTEAȚA Larisa, **secretar științific**, dr.șt.med., conferențiar universitar
ȚÎBÎRNĂ Gheorghe, dr.hab.șt.med., profesor universitar, academician
GAVRILIUC Ludmila, dr.hab.șt.med., conferențiar universitar
BOGDANSCAIA Nina, dr.hab.șt.med., conferențiar cercetător
BULAT Iurie, dr.hab.șt.med., profesor cercetător
EȘANU Galina, dr.șt.med., conferențiar universitar

Susținerea va avea loc la data de 14 iulie 2017, ora 14.00, în ședința Consiliului Științific Specializat D50 321.10-01 din cadrul IP USMF „Nicolae Testemițanu” din R. Moldova, (MD2004, Chișinău, bd. Ștefan cel Mare 165).

Teza de doctor și autoreferatul pot fi consultate la biblioteca IP USMF „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova și la pagina web a CNAA (www.cnaa.md).

Autoreferatul a fost expediat la 09. 06.2017.

Secretar științific al Consiliului științific,
doctor în științe medicale

MUSTEAȚĂ Larisa

Conducător științific, doctor în medicină,
conferențiar universitar

ROBU Maria

Consultant științific, doctor habilitat în medicină,
profesor universitar

IACOVLEV Iraida

Autor

BURUIANĂ Sanda

©Buruiană Sanda, 2017

INTRODUCERE

Actualitatea temei

Limfoamele non-Hodgkin (LNH) includ un grup de tumori maligne ale țesutului limfatic neomogene după structura morfologică, proprietățile imunohistochimice, citogenetice, biologiei moleculare, clinico-morfologice, răspunsul la tratament și prognostic [1, 2, 3, 4, 5, 6].

LNH prezintă o patologie cu tendința de creștere a morbidității în toată lumea precum și în Republica Moldova (RM). Conform datelor lui I.Corcimaru, 2007, indicele morbidității a LNH în RM constituie 4,1 la 100 000 de populație [7]. Cercetările efectuate de către Institutul Național al Cancerului în SUA au depistat creșterea morbidității LNH aproape de 2 ori în ultimii 28 de ani a secolului trecut. Morbiditatea a crescut de la 10,2 la 100 000 de populație în anul 1973 până la 19 la 100 000 în anul 2000 [8]. În acelaș timp indicii de supraviețuire a LNH rămân nesatisfăcători. Conform datelor Institutului Național al Cancerului din SUA supraviețuirea bolnavilor de 5 ani constituie puțin mai mult de 50% [9, 10].

În prezent direcțiile principale în depistarea factorilor care pot contribui la elaborarea tacticii de tratament a LNH sunt îndreptate spre cercetările biologiei moleculare, citogenetice, imunohistochimice [11]. Însă un factor important în individualizarea programelor de tratament poate fi și aspectul clinic (localizarea focarului primar tumoral, zonele de metastazare inițială și la etapele de generalizare al LNH).

Descrierea situației în domeniul de cercetare. Concepțiile despre LNH s-au schimbat de multe ori în funcție de interpretarea originii celulelor, care formează substratul morfologic al tumorii ceea ce a avut ca urmare elaborarea variantelor noi ale LNH.

Printre primele denumiri ale acestei patologii figurează termenul „limfosarcom” propus de Virchow în anul 1863 [12]. Una din primele clasificări clinice ale LNH a fost Clasificarea lui Rappaport (1966) [13], ce a numit tumorile țesutului limfatic prin termenul de „limfoame maligne”, propus în anul 1883 de Billroth [14]. Ulterior au fost elaborate și utilizate un șir de clasificări: Clasificarea lui Lukes și Collins (1974 și 1975) [15], Clasificarea lui Lennert (1974) [16], Clasificarea Britanică (1974) [17], Clasificarea lui Dorfman (1974) [18], Clasificarea internațională histologică și citologică a maladiilor tumorale ale țesuturilor hematopoietic și limfatic (OMS, 1976) [19], Clasificare REAL (A Revise European-American Clasification of Lymphoid Neoplasms) [20], Clasificare OMS din anul 2001 [21] și Clasificarea propusă de OMS în anul 2008 [22].

În Clasificarea OMS din anul 2008 au fost evidențiate noi variante ale LNH. În ultimii ani în studierea LNH se face accent pe cercetările imunohistochimice, citogenetice și biologiei molecular. Însă manifestările clinice ale fiecărei variante ale LNH sunt puțin studiate.

Frecvența joasă a unor variante ale LNH indolente probabil este una din cauzele studierii insuficiente a acestor forme ale LNH. De exemplu, limfomul din celulele zonei marginale constituie 8-10%, limfomul din celulele zonei de manta – 4-7%, limfomul folicular – 20-25% [23].

Deoarece substratul morfologic al LNH indolente este foarte asemănător, stabilirea diagnosticului cu identificarea variantelor poate fi determinat prin utilizarea metodelor imunohistochemice. Pentru efectuarea diagnosticului diferențial este necesar de selectat o componență rațională de markeri imunologici, care permit deosebirea unor sau altor variante ale LNH indolente histologic similare [24]. În acest scop ar fi utile și particularitățile clinice ale maladiei (localizarea focarului primar tumoral, evoluția clinică, zonele de metastazare) și hematologice în cazurile de afectare a măduvei oaselor: hemograma, medulograma, tabloul histologic al măduvei oaselor ale variantelor LNH indolente.

Însă în literatură astfel de studii lipsesc. Aceste date ar fi un criteriu în baza căruia ar fi posibil de selectat mai rațional anticorpii monoclonali pentru confirmarea imunohistochemică a variantelor LNH indolente și ar simplifica în unele cazuri complexul vast și costisitor de investigații. Manifestările clinice și hematologice ale LNH indolente în corelare cu modificările morfologice și imunohistochemice conform Clasificării maladiilor sistemului hematopoietic și limfatic a OMS din anul 2008 sunt puțin studiate. De aceea studierea aspectelor clinice și hematologice ale LNH indolente în funcție de structura morfologică a tumorii cu utilizarea metodelor imunohistochemice prezintă o problemă actuală.

Scopul: studierea aspectelor clinico-hematologice, morfologice și imunohistochemice ale limfoamelor non-Hodgkin indolente pentru a identifica unele particularități de diagnostic și evoluție a fiecărui tip de LNH indolent.

Obiectivele:

1. Studierea modificărilor morfologice, imunohistochemice conform variantelor LNH indolente.
2. Evaluarea aspectelor clinice ale variantelor LNH indolente în funcție de vârstă, localizarea focarului primar tumoral.
3. Estimarea caracterului metastazării inițiale și la etapa de generalizare a LNH indolente.
4. Studierea indicilor hematologici ai sângelui periferic și măduvei oaselor în funcție de varianta LNH indolente.
5. Evaluarea indicilor de supraviețuire a pacienților în funcție de varianta LNH indolente.

Metodologia cercetării științifice: a fost efectuat un studiu clinic prospectiv în cadrul căruia au fost utilizate metode de cercetare: examinarea clinică a pacienților, investigații

paraclinice, cercetări speciale (cercetările morfologice și imunohistochimice, hematologice), procedee statistice.

Noutatea și originalitatea studiului: de pe pozițiile unui studiu analitic au fost evaluate în ansamblu tabloul clinic și paraclinic la pacienții cu diverse tipuri ale LNH indolente. O inițiativă de premieră a fost evaluarea aspectelor clinico-hematologice în corelare cu cercetările morfologice și imunohistochimice în conformitate cu Clasificarea Internațională a hemopatiilor maligne ale țesutului hematopoietic și limfatic a OMS din 2008. Lucrarea a delimitat și specificat spectrul cercetărilor imunohistochimice, evoluția clinică pentru fiecare variantă a LNH indolente.

Problema științifică soluționată în teză constă în evidențierea particularităților clinice și hematologice a fiecărei variante a LNH indolente. A fost elucidat rolul cercetărilor morfologice, imunohistochimice în diagnosticul diferențial al variantelor LNH indolente.

Semnificația teoretică a lucrării: evidențierea particularităților clinico-hematologice în corelare cu cercetările morfologice și imunohistochimice vor contribui la lărgirea cunoștințelor în aspect clinic cu optimizarea conduitei de diagnostic, perfecționarea și individualizarea tratamentului.

Valoarea aplicativă a lucrării: rezultatele studiului au argumentat utilitatea și informativitatea metodelor de cercetare contemporană a pacienților cu diverse variante ale LNH indolente, ce includ cercetările hematologice, morfologice și imunohistochimice. A fost identificat segmentul de vârstă a persoanelor mai frecvent afectate în LNH indolente. Au fost determinate zonele de metastazare inițială și la distanță, frecvența și localizarea metastazelor extranodale în funcție de varianta LNH indolente. A fost elaborat un algoritm de folosire a anticorpilor monoclonali pentru determinarea tipului LNH indolente.

Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere:

1. Metodologia de evaluare a pacientului cu diverse forme ale LNH indolente, fundamentată pe analiza particularităților de evoluție clinică la diferite etape ale maladiei.
2. Evaluarea modificărilor hematologice în diverse forme ale LNH indolente.
3. Elaborarea unui algoritm de folosire a anticorpilor monoclonali pentru determinarea tipului LNH indolente.
4. Principiile de diagnostic diferențial al variantelor LNH indolente.
5. Criteriile de prognostic ale diverselor forme ale LNH indolente bazate pe determinarea IPI, statusului de performanță clinică ECOG, indicilor de supraviețuire.

Implementarea rezultatelor științifice: rezultatele obținute în studiu au fost implementate în practica Departamentului Hematologic și Centrului Consultativ Diagnostic al IMSP Institutul Oncologic din Republica Moldova și în procesul de instruire a studenților,

rezidenților și medicilor DECMF la Catedra de oncologie, hematologie și radioterapie a IP USMF „Nicolae Testemițanu”. În baza acestui studiu a fost elaborată metoda unui algoritm de folosire a anticorpilor monoclonali pentru determinarea tipului LNH indolente.

Aprobarea rezultatelor științifice: materialele tezei au fost prezentate și discutate la: conferințele științifice anuale ale IP USMF „Nicolae Testemițanu” 2010, 2013, 2014, 2015, 2016, Congresul IV Național de Oncologie, 2015, Simpozionul cu participare internațională „Vigilența oncologică în activitatea medicală; depistarea precoce și tratamentul tumorilor” - 40 ani de activitate a Catedrei de oncologie, hematologie și radioterapie a IP USMF „Nicolae Testemițanu” în 10. 2016, CONFER 2016. Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, 24-27.11.2016., Iași, România, Simpozionul științific: „Noi strategii de diagnostic și tratament în managementul limfoamelor non-Hodgkin”, Chișinău, 24.03.2017. Rezultatele tezei au fost aprobate în cadrul: ședinței Catedrei de oncologie, hematologie și radioterapie a IP USMF „Nicolae Testemițanu” (proces verbal №14 din 30.06.2015), Seminarul Științific de Profil a IP USMF „Nicolae Testemițanu” (proces verbal №3 din 22.03.2017).

Publicații la tema tezei: Materialele studiului au fost relatate în 11 lucrări științifice: 8 articole publicate în reviste științifice recenzate naționale, 3 teze în culegeri internaționale, 5 articole sunt fără coautori, 1 brevet de inovație. Rezultatele științifice ale tezei au fost aprobate la 3 foruri științifice naționale de specialitate și la unul internațional.

Sumarul compartimentelor tezei: teza este structurată tradițional și constă din introducere, revista literaturii, 3 capitole, sinteza rezultatelor, concluzii, recomandări practice și anexe. Teza este expusă pe 121 de pagini dactilografiate. Materialul iconografic include 42 tabele, 31 figuri. Lucrarea dată este fundamentată pe 174 surse bibliografice.

Cuvinte - cheie: limfom non-Hodgkin, ganglioni limfatici, splină, măduva oaselor, hemogramă, cercetările morfologice și imunohistochimice.

CONȚINUTUL TEZEI

În **Introducere** este descrisă situația în domeniul de studiu și argumentată actualitatea temei de cercetare. Sunt reflectate datele statistice privind frecvența LNH în lume, precum și în Republica Moldova. Sunt prezentate realizările și problemele de cercetare a LNH indolente. Este motivată ipoteza de lucru, argumentat scopul și sunt trasate obiectivele cercetării. Succint este expusă noutatea științifică, valoarea aplicativă a rezultatelor obținute, importanța lor științifică și în practica medicală.

În **Capitolul 1-„Concepțiile contemporane despre Limfoamele non-Hodgkin”**- sunt relatate informațiile contemporane selectate din literatura de specialitate cu referire la limfoamele non-Hodgkin.

Este arătat progresul în clasificarea limfoamelor non-Hodgkin în ordine cronologică. Numeroasele clasificări au fost actualizate de multe ori în funcție de interpretarea originii celulelor care formează substratul morfologic al LNH. Este menționată importanța practică a acestor clasificări. În pofida faptului că multitudinea de clasificări au fost reînnoite la diferite etape, LNH rămân în vizorul specialiștilor, deoarece până în prezent sunt multe întrebări neresoluate atât în plan diagnostic cât și de tratament. Deși în ultimii ani au fost obținute succese remarcabile în studierea LNH, supraviețuirea pacienților de peste 5 ani constituie puțin mai mult de 50% [25].

Progresul considerabil în imunologie, citogenetică și implementarea biologiei moleculare a permis o cercetare mai bună a formelor deja cunoscute și evidențierea a noi tipuri ale LNH care sunt incluse în Clasificarea tumorilor țesutului hematopoietic și limfatic a OMS din anul 2008 [22]. Aceasta a permis o identificare mult mai înaltă a LNH, totodată reflectându-se pozitiv și asupra perfecționării tratamentului aplicat. Un interes deosebit îl prezintă LNH indolente, care au fost completate cu noi tipuri: limfomul limfocitar din limfocite mici, limfomul folicular gradul I și II, limfomul din celulele zonei marginale, limfomul din celulele zonei mantalei. În acest capitol sunt reflectate cerințele moderne de identificare a fiecărui tip al LNH indolente.

Din cele analizate a fost argumentată ipoteza de lucru al acestui studiu: cercetarea aspectelor clinice ale diverselor forme ale LNH indolente în conformitate cu Clasificarea OMS (2008).

În Capitolul 2- „Material și metode de cercetare”

Aspectele clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice au fost studiate la 82 de pacienți cu LNH indolente cu vârsta de la 27 de ani până la 79 ani, care s-au aflat la evidență în Departamentul Hematologie al IMSP Institutul Oncologic în anii 2007-2011. Pentru persoanele incluse în studiu au fost completate fișele de cercetare elaborate de noi, adaptate specificului patologiei studiate.

Examenul clinic a inclus: starea generală, constituția, ganglionii limfatici periferici, aparatul locomotor, sistemul respirator, sistemul cardiovascular, sistemul digestiv, sistemul ORL, sistemul nervos.

Datele paraclinice: rezultatele cercetărilor imagistice (radiografia pulmonară, tomografia madiastinului, tomografia nazofaringelui, ultrasonografia, computer tomografia), rezultatele cercetărilor endoscopice (fibrogastroscoopia, colonoscopia, epilaringofaringoscopia), hemograma, biochimia, punctatul medular, trepanobiopstatul osului iliac.

A fost elaborat dizainul studiului (fig. 2.1.).

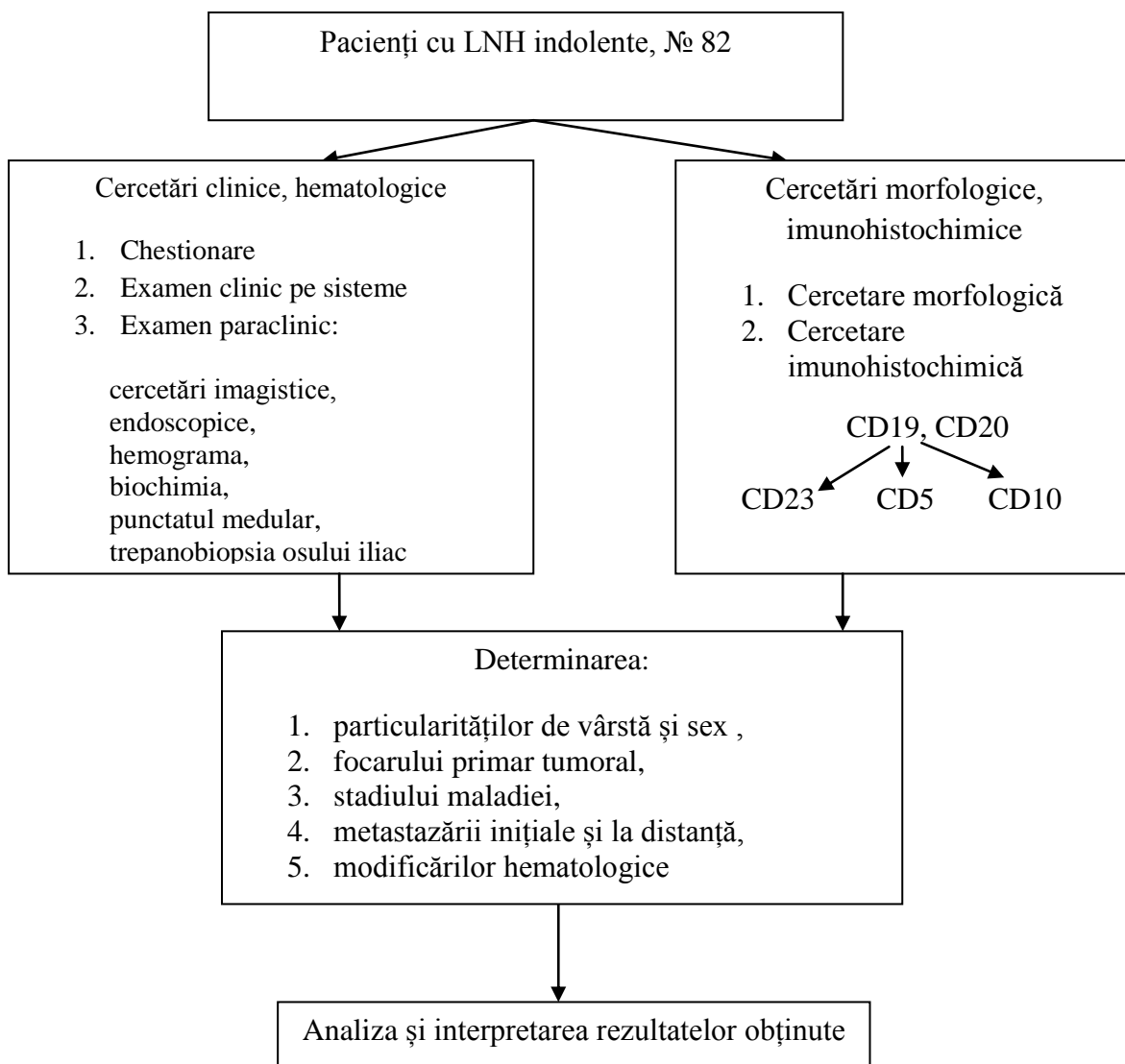


Fig. 2.1. Dizainul studiului.

Diagnosticul de LNH a fost confirmat morfologic și imunohistochimic. Au fost identificate următoarele tipuri ale LNH indolente: din limfocite mici la 28 bolnavi, din celulele zonei marginale la - 24, din celulele zonei mantale la - 14, foliculare la - 16. (fig.2.2.)

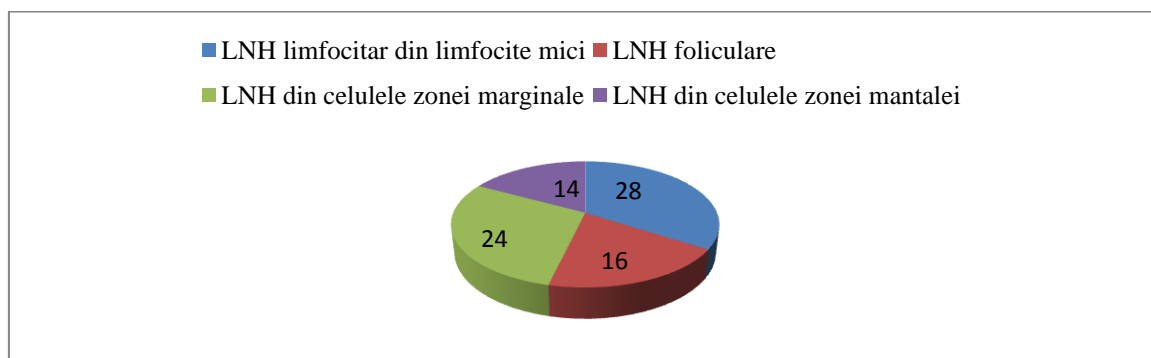


Fig. 2.2. Numărul de pacienți în funcție de tipurile morfologice incluse în studiu.

Au predominat pacienții cu vârsta mai mare de 40 de ani. Cel mai frecvent au fost afectate persoanele cu vârsta cuprinsă între 50-59 de ani, după care urmează persoanele cu vârsta cuprinsă între 60-69 de ani. Foarte rar LNH indolente s-au dezvoltat la persoanele cu vârsta de până la 40 de ani și de peste 70 de ani (fig. 2.3.).

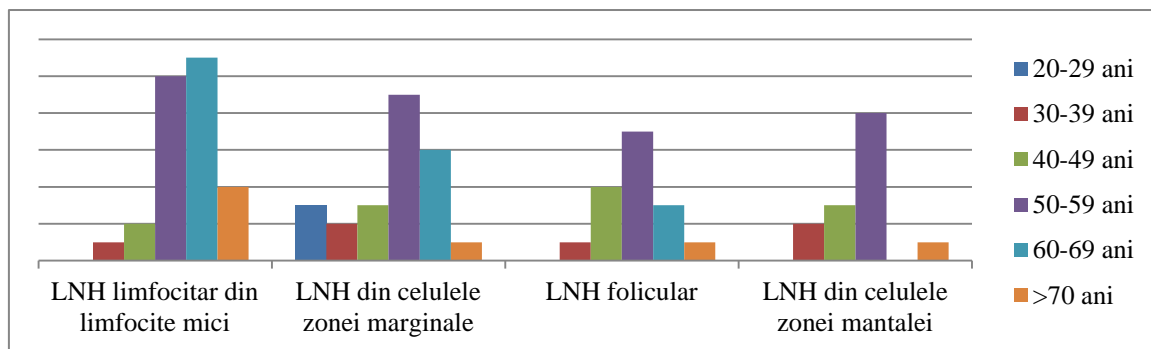


Fig. 2.3. Distribuția pacienților cu LNH indolente în funcție de vârstă.

Din 82 pacienți incluși în studiu bărbați au fost 45, femei – 37. A fost analizată distribuția pacienților cu LNH indolente în funcție de vârstă și sex. În categoriile de vârstă de 20-29 de ani, 40-59 de ani și > de 70 de ani au predominat bărbații. În intervalul vârstei de 60-69 de ani maladia s-a dezvoltat mai frecvent la femei, iar la pacienții cu vârsta de 30-39 de ani, frecvența afectării a fost constatată aceeași la femei și la bărbați (fig. 2.4)

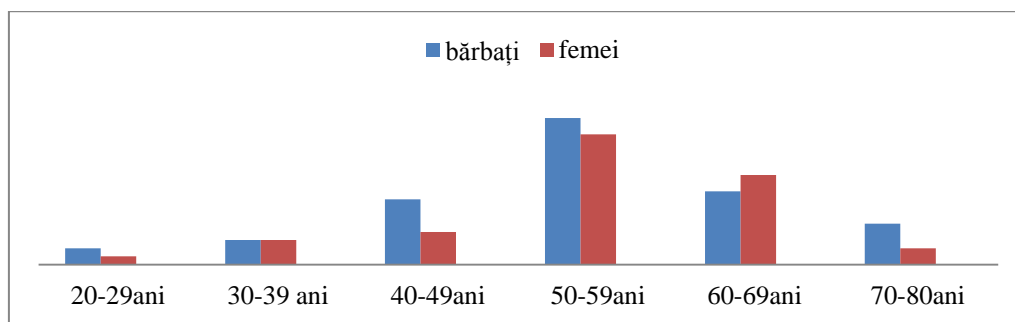


Fig. 2.4. Distribuția pacienților cu LNH indolente în funcție de vârstă și sex.

Identificarea variantelor LNH s-a efectuat în conformitate cu Clasificarea Internațională histologică și citologică a patologiilor tumorale ale țesutului hematopoietic și limfatic propusă de OMS în anul 2008 [22]. Diferențierea variantelor LNH a fost stabilită în funcție de morfologia tumorii și cercetările imunohistochimice ale celulelor tumorale cu utilizarea anticorpilor monoclonali în corespundere cu ipoteza de diagnostic în baza examenării histologice a preparatelor pregătite din materialul obținut prin biopsia ganglionilor limfatici sau alt țesut afectat. Pentru diagnosticul diferențial al LNH indolente a fost selectată o componentă rațională de markeri imunologici, care au permis să constatăm una din variantele LNH.

Preparatele histologice au fost studiate sub conducerea doamnei profesor universitar om emerit în știință I. Iacovlev, iar metodele imunohistochimice au fost studiate în laboratorul patomorfologic (șef. profesorul universitar A. Cernâi) al IMSP Institutului Oncologic, Republica Moldova. Pentru identificarea imunohistochimică a LNH indolente au fost folosiți: anticorpii monoclonali anti CD19, CD20, care confirmă linia B-celulară a limfocitelor, CD5 caracteristic pentru varianta din celulele zonei mantalei, CD10 – pentru LNH folicular, coexpresia CD5/CD23 pentru varianta din limfocite mici, anticorpii CD4 și CD8 caracteristici pentru LNH T-limfocitare. Cercetarea particularităților morfologice ale LNH indolente a demonstrat, că din punct de vedere histologic toate tipurile LNH indolente, constatate la pacienții incluși în studiu, erau aproximativ similare. Ulterior, acest fapt a fost demonstrat prin aplicarea CD19 și CD20, ce au fost pozitive, deci LNH s-au dezvoltat pe linia B-celulară. Pentru excluderea liniei T celulare s-au utilizat anticorpii monoclonali specifici T limfocitelor ce au fost negativi. Reeșind din faptul, că cercetarea complexă imunohistochimică este costisitoare și că LNH mai frecvent (85-90%) se dezvoltă pe linia B- celulară, a fost creat un algoritm de folosire rațională a anticorpilor monoclonali formulată de noi în propunerea de inovație înregistrată Nr 17/14 din 11.10.2014.:

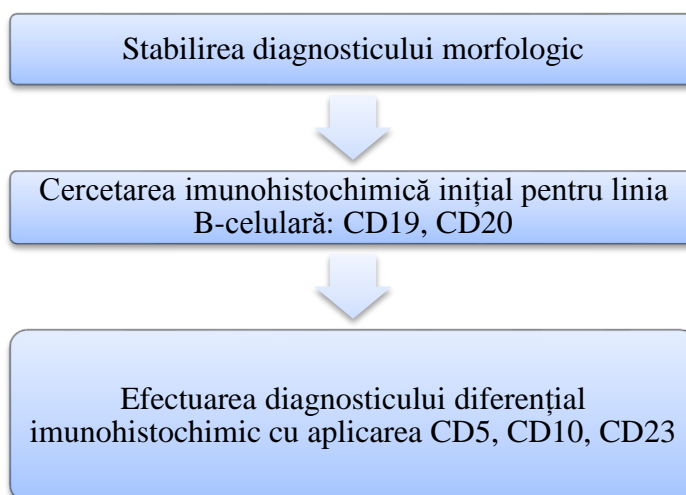


Fig. 2.5. Algoritm de folosire rațională a anticorpilor monoclonali pentru stabilirea diagnosticului de LNH indolent.

Stadiul bolii a fost determinat în conformitate cu Clasificarea Clinică Internațională elaborată în Ann Arbor (SUA, 1971) [26]. În scopul determinării gradului de răspândire a procesului tumoral au fost utilizate metode clinice și paraclinice.

Au fost utilizați doi indici cu importanță prognostică. Indexul prognostic internațional (IPI) [27], caracteristic pentru toate tipurile de LNH indolente cu excepția LNH folicular, pentru care s-a folosit Indexul prognostic internațional pentru limfoamele non-Hodgkin foliculare (FLIPI) [28]. Pentru aprecierea semnificației prognostice a variantelor LNH a fost studiată supraviețuirea bolnavilor de la momentul apariției primelor simptome ale bolii. Calcularea

termenilor de supraviețuire a bolnavilor s-a efectuat conform recomandărilor OMS (1979) și a fost folosită metoda life-table de formare a curbelor de supraviețuire propusă de Kaplan E. și Meier P. [29]. Semnificația statistică a supraviețuirii s-a determinat conform criteriilor Wilcoxon [30]. Rezultatele la distanță sunt urmărite până la 5 ani.

Pentru aprecierea variabilității parametrilor hematologici din hemogramă (valorile minime, medii și maxime) a fost aplicată metoda Custom Tables. Analiza datelor obținute a fost realizată cu ajutorul programelor EXCEL (Crosstabs, Hypothesis Test Summary) cu determinarea probabilității de semnificație statistică, numită și nivel de semnificație observat (p). Stabilirea semnificației testului pe baza valorii lui p se face cu următoarea regulă empirică (considerând nivelul ales $\alpha=0,05$).

Verificarea indicilor obținuți a fost efectuată prin calcularea erorilor standart și a intervalului de încredere [31].

Imaginile foto au fost efectuate în colaborare cu Catedra de histologie, citologie și embriologie al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, d-l conferențiar universitar Onea E..

Capitolul 3 Aspectele clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale LNH limfocitar din limfocite mici și ale LNH din celulele zonei marginale.

Aspectele clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice au fost studiate la 28 pacienți (bărbați -15, femei-13) în vârstă de la 37 până la 71 de ani cu limfom non-Hodgkin limfocitar din limfocite mici și la 24 bolnavi (17 bărbați și 7 femei) în vârstă de la 27 până la 74 de ani cu limfom non-Hodgkin din celulele zonei marginale.

În cazurile LNH limfocitar din limfocite mici studiate de noi morfologic a fost caracteristică creșterea difuză constituită din limfocite mici. Morfologic tumora a fost reprezentată de celule mici, citoplasma foarte îngustă, cu nucleu rotund bine conturat, cromatina condensată. În unele cazuri au fost întâlnite și limfocite de dimensiuni mari cu nucleu rotund și nucleoli, cu formarea structurilor slab conturate de tip pseudofoliculi fără centre de creștere (fig. 3.1.). În LNH din celulele zonei marginale, în cazurile afectării primare tumorale a stomacului, glandei mamare în tabloul histologic au predominat celule monocitoide cu nucleu bobos și citoplasmă deschisă, limfocite mici cu celule plasmatică caracteristice pentru MALT cu includerea în proces a structurilor glandulare. Pentru afectarea tumorală primară a ganglionilor limfatici a fost caracteristică predominarea celulelor monocitoide printre limfocite mici, unici centroblaști și imunoblaști.

Celulele limfoide au fost puțin mai mari comparativ cu limfocitele mici cu creștere difuză. La pacienții cu LNH limfocitar din limfocite mici imunohistochimic au fost pozitive reacțiile la CD5, CD23, iar la examenul imunohistochimic pentru LNH din celulele zonei

marginale au fost depistate CD5, CD10 și CD23 negative. În ambele tipuri ale LNH CD 19, CD 20 au fost pozitive, ceea ce denotă originea B celulară a substratului tumoral.

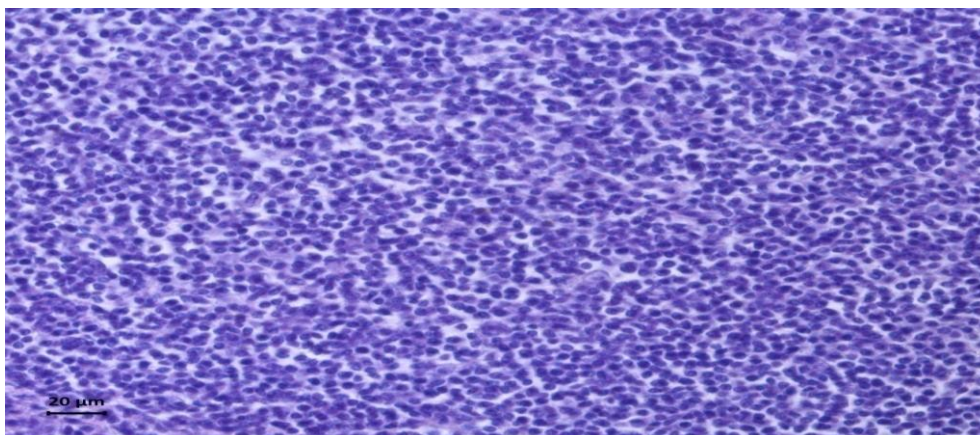


Fig. 3.1. Varianta limfocitară din limfocite mici cu creștere difuză. Colorație hematoxin și eozin, X 110.

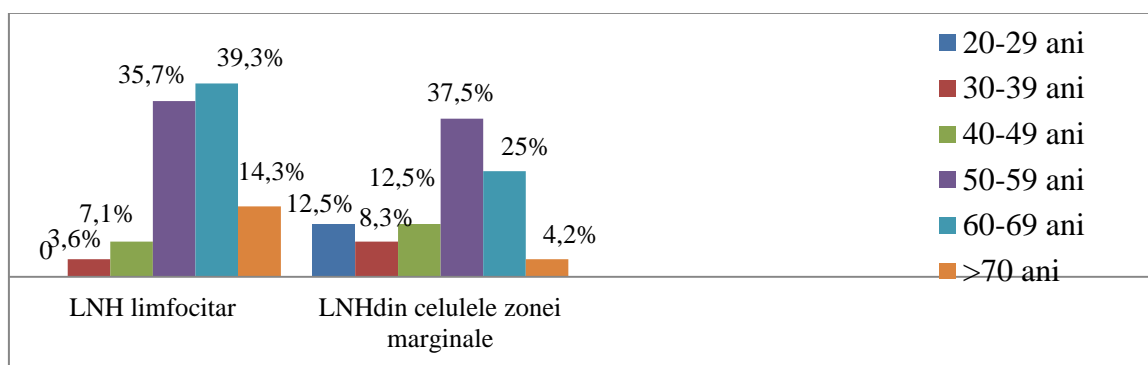


Fig. 3.2. Distribuția pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici și cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de vârstă.

LNH limfocitare din limfocite mici și din celulele zonei marginale s-au dezvoltat mai frecvent la persoanele cu vârsta de 50-69 de ani (75,0% și 62,5% respectiv) (fig. 3.2).

LNH limfocitare din limfocite mici s-au dezvoltat aproximativ cu aceeași frecvență la bărbați și la femei (53,6% și 46,4%, corespunzător), iar LNH din celulele zonei marginale au predominat la bărbați (70,8%).

Atât în LNH limfocitare din limfocite mici cât și în LNH din celulele zonei marginale la jumătate din pacienți (50% și 54,5% corespunzător) debutul maladiei a avut loc în ganglionii limfatici, preponderent în cei periferici (32,1% și 46,1% respectiv). Atrage atenția frecvența înaltă de afectare primară a splinei care s-a întâlnit în LNH limfocitare din limfocite mici și în LNH din celulele zonei marginale aproximativ cu aceeași frecvență (32,1% și 36,5% respectiv) (149,3±14,9 și 55,7±17,3 corespunzător). Rar procesul tumoral s-a dezvoltat în alte organe și

țesuturi. (pentru LNH limfocitar $p=0,003$, iar pentru LNH din celulele zonei marginale $<0,001$)
(fig. 3.3.)

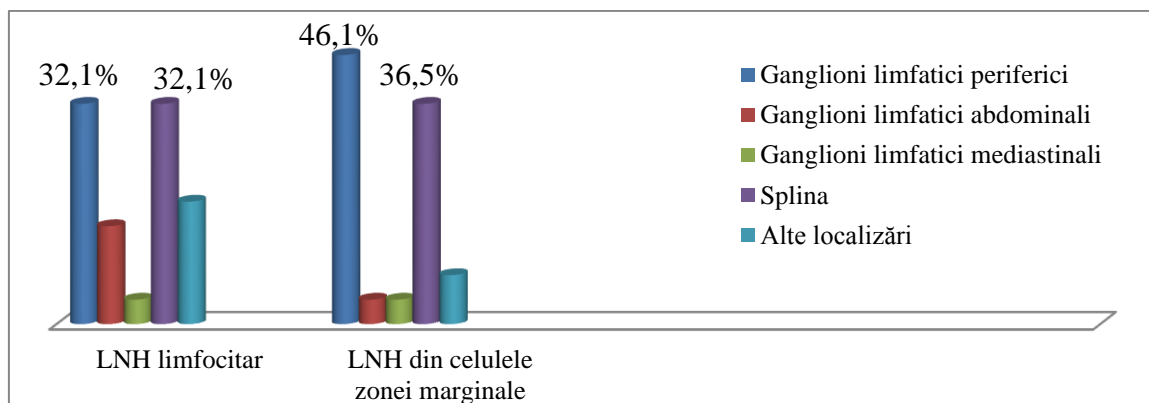


Fig. 3.3. Distribuția pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici și cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de localizarea focarului primar tumoral.

Tab.3.1. Distribuția pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici în funcție de localizarea focarului primar și stadiul clinic

Localizarea focarului primar	Numărul de bolanvi	Stadiul clinic			
		I	II	III	IV
Ganglionii limfatici periferici	9	-	-	1	8
Ganglionii limfatici abdominali	4	-	-	1	3
Ganglionii limfatici mediastinali	1	-	-	-	1
Splina	9	-	1	-	8
Alte localizări	5	1	1	1	2
Total	28	1	2	3	22

Tab.3.2. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de localizarea focarului primar și stadiul clinic

Localizarea focarului primar	Numărul de bolanvi	Stadiul clinic			
		I	II	III	IV
Ganglionii limfatici periferici	11	-	4	2	5
Ganglionii limfatici abdominali	1	-	-	-	1
Ganglionii limfatici mediastinali	1	-	-	-	1
Splina	9	-	-	-	9
Alte localizări	2	1	-	-	1
Total	24	1	4	2	17

La pacienții cu LNH limfocitar din limfocite mici stadiile locale au fost constatate doar în cazurile de debut extranodal. Toți pacienții cu afectarea primară a ganglionilor limfatici, inelului limfatic Waldeyer și 8 din 9 cazuri cu debut în splină au fost diagnosticați în stadiile generalizate ($p=0,003$) (tab.3.1.).

În LNH din celulele zonei marginale stadiile locale au fost constatate doar la 4 pacienți cu localizare primară în ganglionii limfatici periferici și într-un singur caz cu afectare primară extranodală (stomacul). Mai mult de jumătate din pacienții cu afectarea primară a ganglionilor limfatici periferici (63,6%) și toate celelalte localizări primare au fost diagnosticați în stadiile generalizate ($p<0,001$) (tab.3.2.).

În ambele tipuri ale LNH indolente majoritatea pacienților au fost diagnosticați în stadii generalizate, preponderent în stadiul IV ($p<0,001$) (fig. 3.4.). Aceste date ne indică la o tendință de generalizare rapidă a procesului tumoral.

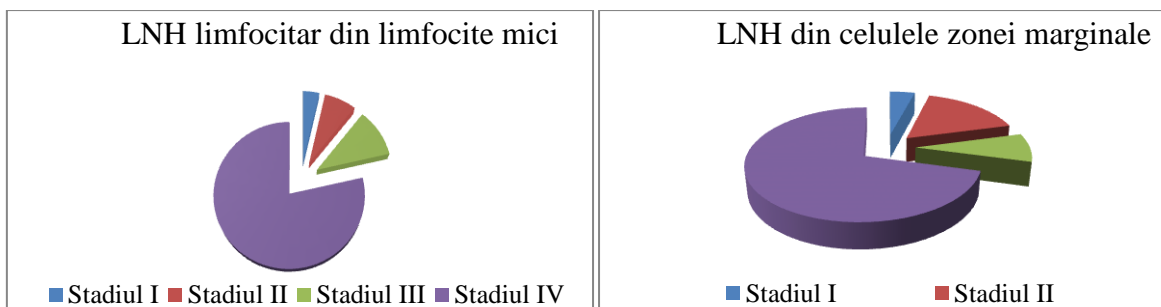


Fig. 3.4. Distribuția pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici și cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de stadiul clinic.

Simptomele de intoxicare au fost înregistrate mai frecvent la pacienții cu LNH din celulele zonei marginale (41,7%) ($61,5\pm 21,9$) spre deosebire de LNH limfocitare din limfocite mici (21,4%) ($36,7\pm 6,1$). Frecvența mai înaltă a simptomelor de intoxicare la pacienții cu LNH din celulele zonei marginale indică la un prognostic mai puțin favorabil decât în LNH limfocitare din limfocite mici.

Studierea răspândirii procesului tumoral la pacienții urmăriți până la stadiul II a arătat că la pacienții cu LNH limfocitare din limfocite mici la etapele inițiale în majoritatea cazurilor (88,9%) au fost afectați ganglionii limfatici din zonele vecine. A lipsit interesarea ganglionilor limfatici regionali doar la 11,1% bolnavi la care a avut loc afectarea primară a splinei ($p>0,005$). În cazurile LNH din celulele zonei marginale răspândirea LNH în ganglionii limfatici regionali a fost înregistrată doar în 65,2% cazuri și majoritatea pacienților (73,3%) au fost cu localizarea primară a procesului tumoral în ganglionii limfatici. Lipsa afectării ganglionilor limfatici regionali, deasemenea, a avut loc la pacienții cu LNH lienale ($p>0,005$).

La pacienții urmăriți mai mult de stadiul II în scurt timp după apariția ganglionilor limfatici regionali au fost determinate metastaze în ganglionii limfatici la distanță. În LNH limfocitare din limfocite mici aceste metastaze au fost constatate în 77,0% cazuri și în LNH din celulele zonei marginale- la 63,1% bolnavi. În ambele tipuri ale LNH afectarea ganglionilor limfatici la distanță după cei regionali a avut loc la majoritatea pacienților cu afectarea primară a ganglionilor limfatici. A lipsit această consecutivitate de răspândire a procesului tumoral la pacienții cu debutul LNH extranodal, preponderent cu afectarea primară a splinei.

Se poate de constatat că în procesul de generalizare a LNH limfocitar din limfocite mici aproximativ cu aceeași frecvență au fost afectați ganglionii limfatici cervicali, axilari, inghinali (80,0%, 72,0% și 72,0% respectiv), după care au urmat ganglionii limfatici abdominali (48,0%). Mai rar au fost determinate metastaze în ganglionii limfatici mediastinali (28,0%).

Aproximativ cu aceeași frecvență, însă într-un procent mai mic au fost interesați în procesul de generalizare a LNH din celulele zonei marginale ganglionii limfatici cervicali, axilari, inghinali (63,2%, 57,9% și 63,2% respectiv), după care au urmat ganglionii limfatici abdominali (47,4%). Rar au fost afectați ganglionii limfatici mediastinali (21,1%).

Pe măsura avansării maladiei la majoritatea bolnavilor (22 din 28 pacienți cu LNH limfocitare din limfocite mici ($p > 0,005$) și 17 din 24 pacienți cu LNH din celulele zonei marginale ($p > 0,005$)) urmăriți până la stadiul IV au fost depistate metastaze extranodale. Numărul mare de bolnavi cu metastaze extranodale demonstrează, că interesarea în procesul tumoral a diferitor organe și țesuturi este caracteristică pentru aceste tipuri de LNH (fig. 3.5.).

Afectarea diferitor zone extranodale n-a fost identică. Mai frecvent a fost interesată în procesul tumoral măduva oaselor după care a urmat ficatul, splina. Alte organe și țesuturi au fost afectate rar. Frecvența metastazelor în măduva oaselor a fost înaltă și a variat în funcție de tipul LNH: în LNH limfocitare din limfocite mici interesarea măduvei oaselor a avut loc la 95,5% (103,1±87,9) pacienți, în LNH din celulele zonei marginale – la 82,4% (100,4±64,4).

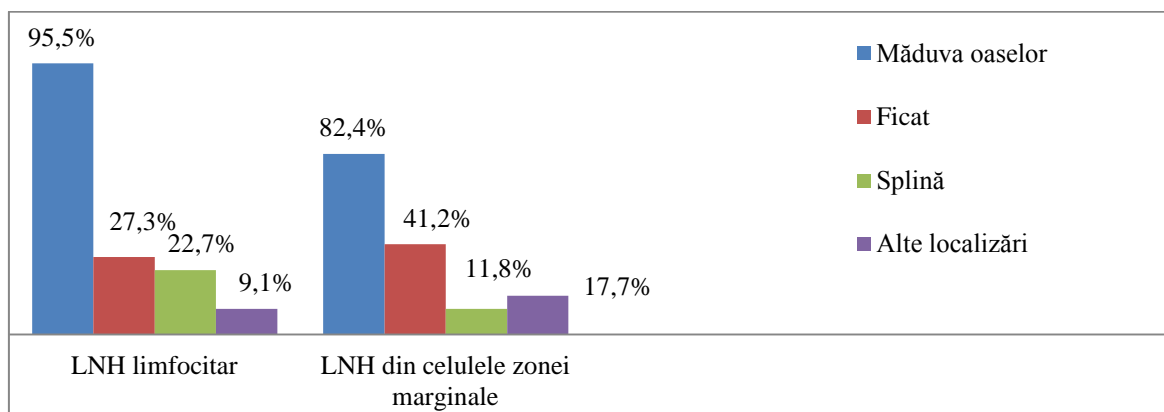


Fig. 3.5. Distribuția pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici și cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de metastazările extranodale.

În LNH limfocitare din limfocite mici afectarea măduvei oaselor a avut loc la toți pacienții cu debutul în ganglionii limfatici periferici și splină (100% și 100% respectiv). Deasemenea, și la pacienții cu LNH din celulele zonei marginale frecvența metastazelor în măduva oaselor a fost înaltă în cazurile de afectare a ganglionilor limfatici periferici și splină (100% și 88,9% corespunzător).

La pacienții fără afectarea măduvei oaselor modificări în analiza generală a sângelui, punctatul medular și trepanobiopsie n-au fost.

În cazurile de afectare a măduvei oaselor modificările hematologice au fost diverse. La pacienții cu LNH limfocitare din limfocite mici în 42,8% cazuri a fost depistată anemia, iar în LNH din celulele zonei marginale anemia a fost înregistrată la jumătate din pacienți (50,0%).

Leucocitoza a fost mai frecvent constatată la pacienții cu LNH limfocitar din limfocite mici (71,4%) spre deosebire de LNH din celulele zonei marginale (42,9%). În toate cazurile cu leucocitoză în ambele tipuri de LNH a avut loc limfocitoza și lipsa corelării dintre numărul de leucocite și formațiunile tumorale. Au predominat dimensiunile mari ale formațiunilor tumorale față de numărul de leucocite. Leucopenia a fost prezentă rar și a fost înregistrată doar la pacienții cu LNH din celulele zonei marginale (14,3%). În cazurile LNH limfocitar din limfocite mici trombocitopenia a fost depistată rar (9,5%). În LNH din celulele zonei marginale trombocitopenia a fost înregistrată în 28,5% cazuri.

Medulograma pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici a fost reprezentată de celule limfoide mici, cu citoplasma foarte îngustă, rotunde, cu nucleu fără nucleoli, cu cromatina condensată. Rareori printre aceste celule mature s-au observat puține prolimfocite. Trepanobiopatul a fost reprezentat de celulele limfoide mici cu citoplasma foarte îngustă și nucleu cu cromatina condensată, creând focare foliculare de diferite dimensiuni, bine delimitate, situate în cavitățile medulare. Țesutul din jurul lor constă din elemente mieloide la diferite stadii de diferențiere. În cazurile de afectare a măduvei oaselor în LNH din celulele zonei marginale au fost depistate focare de infiltrație cu celulele limfoide care atât în punctatul medular cât și în trepanobiopatul au avut caracter de celulele mature cu cromatina compactă fără nucleoli cu citoplasma îngustă (celule mai mari decât limfocitele mici).

Supraviețuirea de peste 5 ani a pacienților a fost mai înaltă în LNH limfocitar din limfocite mici (65,1%) spre deosebire de LNH din celulele zonei marginale (44,3%).

Astfel se poate de constatat că LNH limfocitar din limfocite mici și LNH din celulele zonei marginale s-au dezvoltat preponderent la persoanele cu vârsta 50-69 de ani. În ambele tipuri ale LNH focarul tumoral primar a avut loc mai frecvent în ganglionii limfatici periferici și splină. În cazurile de afectare primară a ganglionilor limfatici periferici a avut loc o consecutivitate în răspândirea procesului tumoral: inițial în ganglionii limfatici regionali, ulterior

și în cei din zonele de la distanță. La etapa de generalizare frecvent au avut loc metastaze în măduva oaselor. LNH limfocitare din limfocite mici au avut o evoluție mai indolentă spre deosebire de LNH din celulele zonei marginale. Supraviețuirea pacienților de peste 5 ani în LNH limfocitare din limfocite mici a fost mai înaltă (65,1%), decât în LNH din celulele zonei marginale (44,3%).

Capitolul 4 Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale LNH foliculare și ale LNH din celulele zonei mantalei.

Aspectele clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice au fost studiate la 16 pacienți (6 bărbați și 10 femei) în vârstă de la 33 până la 70 de ani limfom non-Hodgkin folicular și la 14 bolnavi (7 bărbați și 7 femei) în vârstă de la 32 până la 76 de ani cu limfom non-Hodgkin din celulele zonei de manta.

În cazurile de LNH folicular a fost constatată pierderea structurii histoarhitectonice normale, cu prezența celulelor mici și medii cu nucleu clivat (centrocite) și celule mari cu nucleu neclivat (centroblaști), care și-au păstrat capacitatea de formare a pseudofoliculilor (fig. 4.1). Gradul I citologic (0-5 centroblaști) a fost diagnosticat la 4 (25,0%) pacienți, gradul II (6-15 centroblaști) – la 6 (37,5%) și gradul III (> 15 centroblaști) – în 6 (37,5%) cazuri.

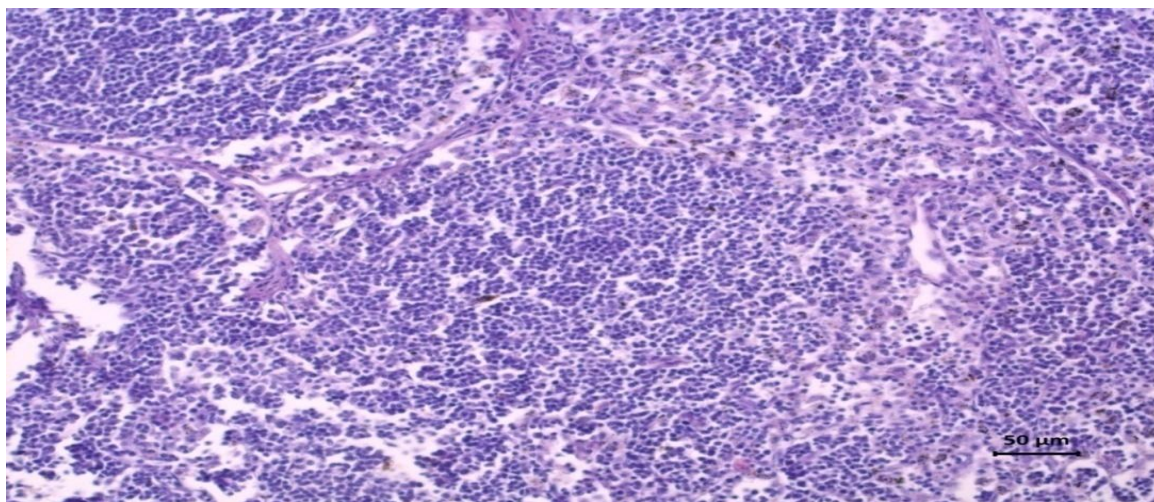


Fig. 4.1. Limfom non-Hodgkin folicular cu formarea pseudofoliculilor. Colorația hematoxilin și eozin, X 100.

Examinarea imunohistochimică a depistat pozitive CD 19, CD 20, ce denotă originea B celulară a substratului tumoral și CD 10 pozitiv. Au fost negative CD 5, CD 23. Prezența CD 10 pozitiv a fost în favoarea LNH folicular.

În LNH din celulele zonei de manta se deosebesc două subtipuri de celule (tipice și blastoide), care constituie substratul morfologic al acestui limfom. În toate cazurile studiate a fost depistată varianta din celule tipice cu dimensiuni intermediare dintre limfocitele mici și

mari, cu creștere de tip difuz. Deoarece zona mantalei este situată nemijlocit lângă centrul foliculelor ganglionului limfatic celulele tumorale au infiltrat nu numai structurile periferice ale ganglionilor limfatici, dar s-au răspândit și spre centrul foliculelor cu păstrarea rămășițelor centrelor foliculare (fig. 4.2).

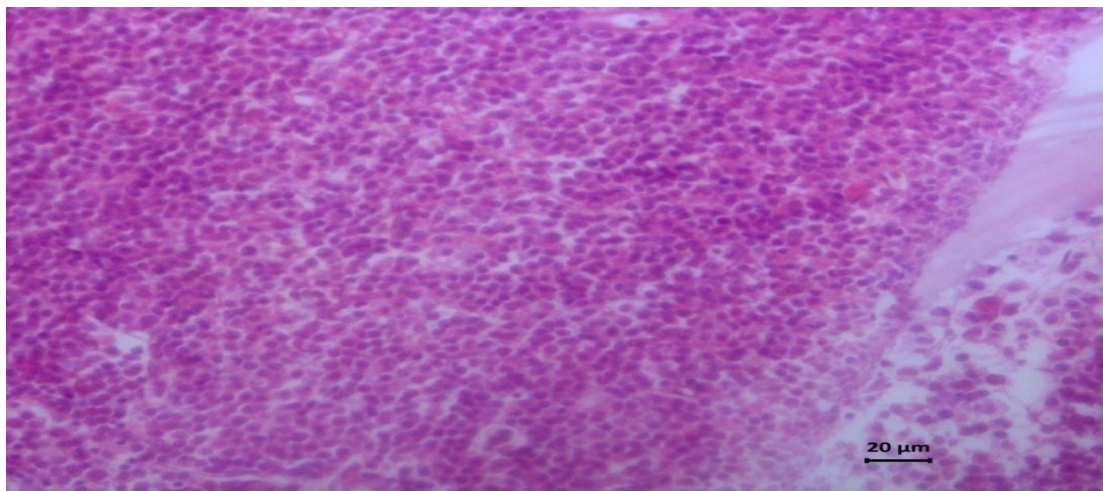


Fig. 4.2. Limfom non-Hodgkin din celulele zonei de manta, ganglion limfatic cu, pseudofolicul cu tendința de creștere difuză. Colorația hematoxin și eozin, X 160.

Imunohistochimic au fost pozitive CD19, CD20, care au confirmat linia B-limfocitară a substratului tumoral, iar CD10 și CD23 – negative. CD5 a fost pozitiv fiind caracteristic pentru LNH din celulele zonei mantalei.

LNH foliculare și LNH din celulele zonei de manta s-au dezvoltat mai frecvent la persoanele cu vârsta de 40-59 de ani (68,8% și 78,6% respectiv) (fig. 4.3.).

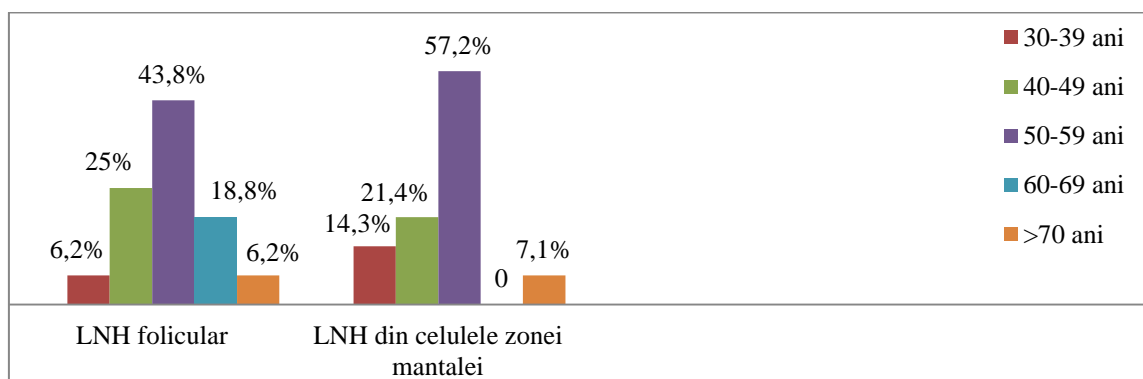


Fig. 4.3. Distribuția pacienților cu LNH foliculare și LNH din celulele zonei de manta în funcție de vârstă și tipul morfologic al LNH.

LNH foliculare au predominat la femei (62,5%), iar LNH din celulele zonei de manta au avut loc cu aceeași frecvență la bărbați și femei (50,0% și 50,0% corespunzător) ($p=0,05$).

În LNH foliculare focarul primar tumoral mai frecvent s-a dezvoltat în ganglionii limfatici periferici și splină, care a avut loc cu aceeași frecvență (37,5% și 37,5% corespunzător).

În cazurile LNH din celulele zonei de manta focarul primar tumoral a predominat în ganglionii limfatici (64,3%), preponderent în ganglionii limfatici periferici (77,8%). În această variantă debutul LNH în splină a avut loc rar (14,3%) ($p>0,005$) (fig. 4.4.).

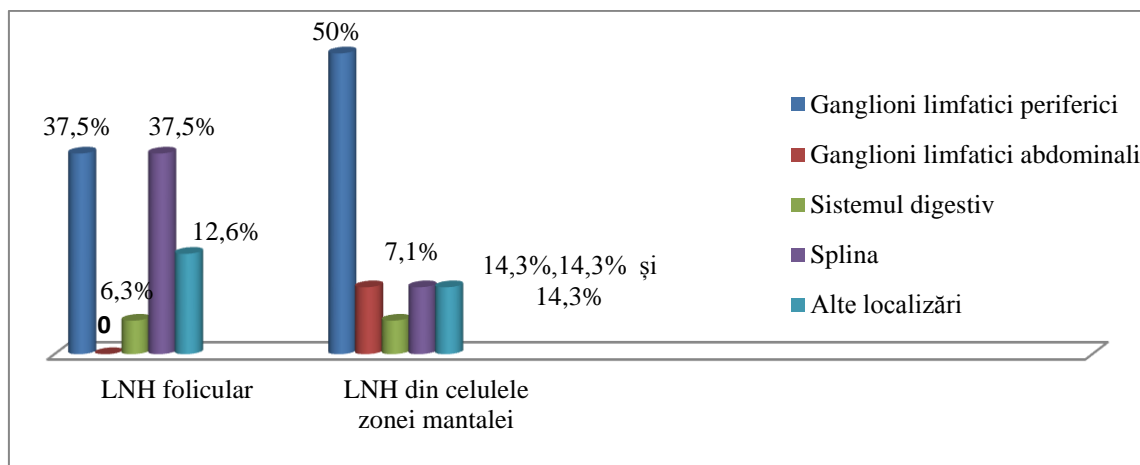


Fig. 4.4. Distribuția pacienților cu LNH foliculare și LNH din celulele zonei de manta în funcție de localizarea focarului primar tumoral.

Atât în LNH foliculare cât și în LNH din celulele zonei de manta majoritatea pacienților au fost diagnosticați în stadii generalizate (81,2% și 85,8% respectiv), preponderent în stadiul IV (68,8% și 64,4% corespunzător) ($p=0,01$ și $p<0,001$ respectiv). Aceste date denotă o tendință de generalizare rapidă a procesului tumoral. (fig. 4.5.).

În LNH foliculare, deși majoritatea pacienților au fost diagnosticați în stadiile generalizate, simptomele de intoxicare generală au fost înregistrate doar la 3 pacienți (18,7%) ($38,0\pm-0,4$). Însă la pacienții cu LNH din celulele zonei de manta simptomele de intoxicare generală au fost prezente în 42,8% cazuri ($67,6\pm15,8$). Procentul înalt al simptomelor de intoxicare generală indică la o evoluție mai agresivă a acestui tip de LNH și un prognostic mai puțin favorabil.

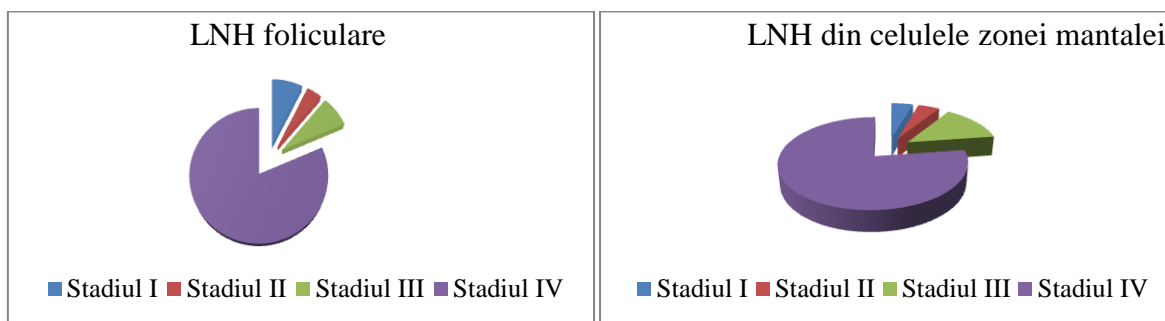


Fig. 4.5. Distribuția pacienților cu LNH foliculare și LNH din celulele zonei de manta în funcție de stadiul clinic.

Atât la pacienții cu LNH foliculare cât și cu LNH din celulele zonei de manta, urmăriți până la stadiul II, la etapa inițială procesul tumoral s-a răspândit în majoritatea cazurilor în

ganglionii limfatici din zonele vecine (76,9% și 84,6% respectiv) ($p > 0,005$ și $p > 0,05$ corespunzător). A lipsit afectarea ganglionilor limfatici regionali la pacienții urmăriți mai mult de stadiul II doar la cei cu LNH lienale în ambele tipuri. La pacienții urmăriți mai mult de stadiul II în scurt timp după apariția ganglionilor limfatici regionali au apărut metastaze în ganglionii limfatici la distanță. În LNH foliculare afectarea ganglionilor limfatici la distanță a avut loc în 46,1% cazuri, iar în LNH din celulele zonei de manta- 66,6% pacienți. La ambele tipuri ale LNH afectarea ganglionilor limfatici la distanță după cei regionali a avut loc la majoritatea pacienților cu debutul în ganglionii limfatici. Deci, se poate de constatat o consecutivitate în răspândirea procesului tumoral în ganglionii limfatici la pacienții cu afectarea primară a ganglionilor limfatici. A lipsit această consecutivitate în răspândirea procesului tumoral la pacienții cu afectarea primară extranodală, preponderent în LNH lienale (pentru LNH foliculare $p > 0,005$, iar pentru LNH din celulele zonei mantalei $p > 0,05$).

Pe măsura avansării maladiei la majoritatea bolnavilor (11 din 16 pacienți cu LNH foliculare și 9 din 14 pacienți cu LNH din celulele zonei mantalei) urmăriți până la stadiul IV au fost depistate metastaze extranodale ($p > 0,005$ și $p > 0,05$ respectiv). Așa număr mare de bolnavi demonstrează, că interesarea în procesul tumoral a diferitor organe și țesuturi este caracteristică pentru aceste tipuri de LNH (fig. 4.6.). În ambele tipuri ale LNH mai frecvent a fost interesată măduva oaselor după care a urmat ficatul, splina. Alte organe și țesuturi au fost antrenate în procesul tumoral rar. Frecvența metastazelor în măduva oaselor a fost înaltă și a variat în funcție de tipul LNH: în LNH foliculare interesarea măduvei oaselor a avut loc la 72,7% pacienți ($99,0 \pm 46,4$), în LNH din celulele zonei mantalei în 88,9% cazuri ($109,5 \pm 68,3$). În LNH foliculare măduva oaselor a fost interesată la toți pacienții cu afectarea primară a splinei (100%) și în 40,0% cazuri cu debutul LNH în ganglionii limfatici periferici. Însă în LNH din celulele zonei mantalei metastaze în măduva oaselor au fost diagnosticate la toți pacienții cu afectarea ganglionilor limfatici (100%) și doar în 50,0% cazuri în LNH lienale.

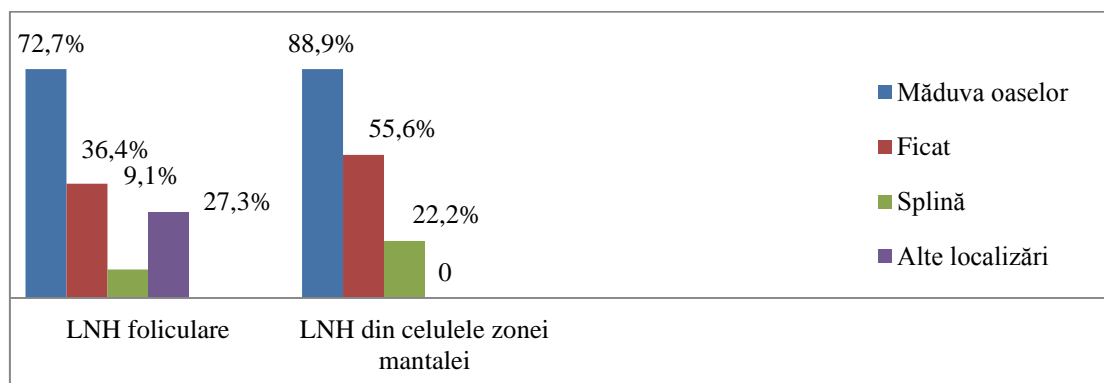


Fig. 4.6. Distribuția pacienților cu LNH foliculare și LNH din celulele zonei de manta în funcție de metastazările extranodale.

La pacienții fără afectarea măduvei oaselor modificări în analiza generală a sângelui, punctatul medular, trepanobiopsie n-au fost. În cazurile de interesare a măduvei oaselor modificări hematologice au fost diverse.

Anemia a fost constatată cu aceeași frecvență la pacienții cu LNH foliculare și cu LNH din celulele zonei mantalei (62,5% și 62,5% respectiv). Leucocitoza la pacienții cu LNH foliculare a fost înregistrată în 37,5% cazuri, iar în LNH din celulele zonei mantalei leucocitoza a avut loc la jumătate (50,0%) din bolnavii. Leucopenia a fost prezentă doar la pacienții cu LNH foliculare (25,0%). În LNH din celulele zonei mantalei leucopenia n-a fost constatată nici într-un caz. Trombocitopenia a avut loc rar și a fost înregistrată cu aceeași frecvență la bolnavii de LNH foliculare și LNH din celulele zonei mantalei (12,5% și 12,5%, respectiv).

Celulele limfoide în LNH foliculare au fost de dimensiuni mici și medii, în trepanobiopsat pe alocuri s-au observat grupuri de celule limfoide fără formarea unor structuri. Doar într-un singur caz un grup de celule limfoide amintea structura unui folicul.

În LNH din celulele zonei mantalei celulele limfoide în medulogramă au corespuns limfocitelor tipice. La cercetarea trepanobiopsiei s-au observat câmpuri de celule limfoide mai mari decât limfocitele mici difuz răspândite.

Diferă și indicii supraviețuirii pacienților în funcție de tipul LNH indolente. Supraviețuirea de peste 5 ani a pacienților a fost mai înaltă în LNH foliculare (57,2%) și mai joasă în LNH din celulele zonei de manta (39,8%), ceea ce denotă un pronostic mai puțin favorabil în cazurile LNH din celulele zonei mantalei.

Prin urmare se poate de constatat, că LNH foliculare și LNH din celulele zonei mantalei s-au dezvoltat mai frecvent la persoanele cu vârsta 50-59 de ani. În LNH foliculare focarul primar tumoral a avut loc preponderent în ganglionii limfatici periferici și splină. În cazurile LNH din celulele zonei mantalei focarul primar tumoral a predominat în ganglionii limfatici periferici, însă rar a fost afectată primar splina.

În ambele tipuri ale LNH cu debut în ganglionii limfatici a avut loc o consecutivitate în răspândirea procesului tumoral: inițial în ganglionii limfatici regionali, ulterior și în cei din zonele de la distanță. Această consecutivitate de răspândire a procesului tumoral a lipsit în cazurile de afectare primară extranodală, preponderent în LNH lienale.

La etapa de generalizare atât în LNH foliculare cât și în LNH din celulele zonei de manta frecvent a fost afectată măduva oaselor.

LNH din celulele zonei mantalei au avut o evoluție mai agresivă și un prognostic mai puțin favorabil, deoarece supraviețuirea de peste 5 ani a pacienților a constituit doar 39,8%.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE

Concluzii

1. Independent de varianta morfologică au fost identificate doar LNH de origine B-celulară. Aceste date indică la inițierea cercetărilor imunohistochemice cu anticorpi monoclonali ce determină linia B-celulară (CD19, CD20), ulterior pentru fiecare variantă (CD5, CD10, CD23) [21, 76, 97].
2. Debutul LNH în toate variantele LNH indolente a avut loc mai frecvent în ganglionii limfatici (51,2%), preponderent în cei periferici (40,2%), după care a urmat în splină (32,2%). În alte organe și țesuturi LNH indolente s-au dezvoltat rar [19, 22, 84, 97].
3. LNH limfocitare din limfocite mici și din celulele zonei marginale preponderent s-au dezvoltat la vârsta 50-69 de ani (75% și 62,5% respectiv), din celulele zonei de manta și foliculare la vârsta 40-59 de ani (78,6% și 68,8% corespunzător) [19, 22, 84, 97].
4. Indiferent de varianta morfologică LNH indolente în majoritatea cazurilor (75,3%), inițial s-au răspândit în ganglionii limfatici regionali [22, 84, 97].
5. În LNH indolente la etapa de generalizare a procesului tumoral frecvent a fost afectată măduva oaselor. Însă frecvența interesării măduvei oaselor a variat în funcție de tipul LNH și a fost mai înaltă în LNH limfocitare din limfocite mici (95,5%), în LNH din celulele zonei marginale (82,4%), în LNH din celulele zonei de manta (88,9%). În LNH foliculare măduva oaselor a fost afectată doar în 72,7% cazuri [19, 22, 84, 97].
6. În toate variantele LNH indolente afectarea măduvei oaselor în hemograma sângelui periferic s-a manifestat preponderent (54,9%) prin leucocitoză cu limfocitoză, care au predominat în LNH limfocitare din limfocite mici (71,4%). Pe fondalul metaplaziei la jumătate (50,0%) din pacienți s-a dezvoltat anemie de diferit grad. Frecvența anemiei a fost mai înaltă în cazurile de LNH din celulele zonei mantalei și foliculare (62,5% și 62,5% respectiv). Trombocitopenia a avut loc rar (15,6%). Structura substratului morfologic din punctatul și trepanobiopatul medular permit de a suspecta varianta LNH indolente [19, 22, 84, 97].
7. Supraviețuirea de peste 5 ani a pacienților cu LNH indolente a fost mai înaltă în varianta limfocitară din limfocite mici (65,1%), după care au urmat LNH foliculare (57,2%) și LNH din celulele zonei marginale (44,3%). Supraviețuirea în aceeași termini a fost mai joasă în LNH din celulele zonei de manta (39,8%), ce indică la o evoluție agresivă a acestei variante [19, 22, 84, 97].
8. Problema științifică soluționată în teză a permis evidențierea particularităților clinice, hematologice în corelare cu cercetările morfologice și imunohistochemice a variantelor de

LNH indolente, ce va contribui la lărgirea cunoștințelor în aspect clinic cu optimizarea conduitei de diagnostic, perfecționarea și individualizarea tratamentului.

Recomandări practice

- **Pentru medicii hematologi**

1. Pentru aprecierea severității maladiei, determinarea prognosticului, evaluarea clinică a pacienților cu LNH indolente de către medicii hematologi va viza cercetarea clinică, inclusiv factorii de prognostic conform IPI (indexul de prognostic internațional), statusul de performanță clinică ECOG (the Eastern Cooperative Oncolgz group).
2. Luând în considerație afectarea frecventă a măduvei oaselor în LNH indolente pentru aprecierea modificărilor hematologice se vor efectua punctatul medular și trepanobiopsia osului iliac cu cercetarea citologică și histologică.

- **Pentru medicii morfopatologi**

1. În algoritmul de evaluare a variantei LNH indolente vor fi examinate preparatele histologice ale materialului biopsat după care în conformitate cu structura morfologică depistată vor fi selectați anticorpii monoclonali pentru confirmarea originii celulelor tumorale ale țesutului limfoid, inițial al B-celulelor.

BIBLIOGRAFIA

1. Campo E., Swerdlov S., Harris N., et all. The 2008 WHO Classification of lymphoid neoplasms and beynd: evolutiune concept and practical applications. Blood. 2011; 117: 5019-5032.
2. Buruiană S., Robu M., Iacovleva I., ș.a. Progresul în clasificarea limfoamelor non-Hodgkin. Curierul medical. 2011; 4 (322) : 16-20.
3. Buruiană S. Actualități în studierea limfoamelor non-Hodgkin indolente. Anale științifice ale USMF “ N. Testemițanu”. 2013; Ediția XIV (3). Probleme actuale în medicina internă : 470-477.
4. Buruiană S. Aspectele clinice, hematologice și imunohistochimice ale limfomului Non-Hodgkin din celulele zonei marginale. Buletinul AȘM. 2015; 3(48) : 383-388.
5. Shankland R., Armetage J., Hancore B. Non-Hodgkin lymphoma. Lancet. 2012; 380 (9844): 848-857.
6. Perna S. K., Huve I., Savoldo B. Management of patients with non- Hodgkin’s lymphoma: focus on adoptive T cell- therapy. Immunotarqets Ther. 2015; 19 (4) : 55-63.
7. Corcimaru I. Limfoamele nehodgkiniene. Hematologie. 2007 : 252-279.

8. Groves E., Linet M., Dovesa S. Cancer surveillance series: Non- Hodgkin's lymphoma by histologic subtype in United States from 1978 through 1993 INCI. *Cancer spectrum*. 2000; 92 (15): 1240-1251.
9. Воробьев А. И., Яхина Е. И., Самойлова Р.С. Принципы дифференциальной диагностики злокачественных лимфатических опухолей. *Терапевтический архив*. 1995; 7 : 3.
10. Qasi R., Aisenberg A., Long J. The natural history of nodular of lymphoma. *Cancer*. 1976; 37 (4) : 1923-1927.
11. Поддубная И. В., Тупицин Н. Н., Флейшман Е. В. Основные принципы и диагностические критерии « Пересмотра Европейско-Американской классификации лимфоидных опухолей». *Арх. Патологии*. 1997; 4: 65-77.
12. Virchow R. Die krankheite Geschwiilste. Berlin. 1864-1865; Bd. 21: 728-738.
13. Rappaport H. Tumors of the hematopoietic system. Atlas of tumor pathology sect. 3. Fascicle S. Washington: DC Armed Forces Institute of pathology. 1966: 97-161.
14. Billroth Th. Die allgemeine chirurgische. Patologie and Therapie. Berlin. 1983:643-647.
15. Lukes R., Collins R. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer*. 1974; 34 (4): 1488-1503.
16. Lennert K., Stein H., Kaiserling E. Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphoma. *Brit. J. Cancer*. 1975; 31: 29.
17. Bennet M. H., Furrer-Brown C., Henry K. et al. Classification of non- Hodgkin's lymphomas. *Lancet*. 1974 ; 2: 405-406.
18. Dorfman R.F. Pathology of the non-Hodgkin's Lymphomas. New classifications. *Cancer treatm. Rep*. 1977; 61 (6): 945-951.
19. Morton Lindsay M., Turner Jennifer J., Cerhan James R. et al. Proposed classification of lymphoid neoplasms for epidemiologic research from the Pathology Working Group of the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph) *Blood*. 2007; 110: 695-708.
20. Harris N., Jaffe E., Stein H., et al. A revised European- American Classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1994; 84: 1361-1392.
21. Turner J., Hughes A., Kricker A. Use of the WHO lymphoma. Classification in a population based epidemiological study. *Ann Oncol*. 2004; 15 (4): 631-637.
22. Swerdlow S., Campo E., Harris N., Pileri S., Stein H., Thiele J., Vardiman J. eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th edition. IARC Press. Lyon. 2008.

23. Поддубная И., Савченко В. Неходжкенские лимфомы. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. Современная Онкология. 2013; 16-51.
24. Воробьев И. А., Худолева О. А., Ращупкина Т. Д., и др. Иммунофенотипирование опухолей системы крови и лимфатических опухолей. Часть I. Зрелоклеточные лимфомы и лимфосаркомы. Гематология и трансфузиология. 2005; 50 (1): 7-12.
25. Junlen H.R., Peterson S., Kimby E., et al. Follicular lymphoma in Sweden: nationwide improved survival in the rituximab era, particularly in elderly women- a Swedish Lymphoma Registry study. Leukemia. 2014; 29 (3): 668-676.
26. Miron L. Limfoamele maligne Non-Hodgkiniene. Suport de curs. Facultatea de Medicină. Oncologie. UMF. IAȘI. 2014; 46-88.
27. Lee Hong Ghi, Kim Sung- Yong, Kim Inho et al. Prediction of survival by applying current prognostic models in diffuse large B- cell lymphoma treated with R- CHOP followed by autologous transplantation. Blood Res. 2015; 50 (3) : 160-166.
28. Lopez- Guillermo Armando . A novel clinicogenetic prognostic score for follicular lymphoma. The Lancet. 2015; 16 (9) : 1011-1012.
29. Kaplan E., Meier P. Non parametric estimation from incomplete observation. J. Am. Statist. Ass. 1958; 457-481.
30. Jehan E. Generalized Wilcoxon test for comparing arbitrarily singly-sensored samples. Biometrika. 1965; 53: 203-223.
31. Spinei L., Lozan O., Badan V. Biostatistica. Chișinău. 2006; 69-72.

LISTA LUCRĂRILOR

ȘTIINȚIFICE, ȘTIINȚIFICO-METODICE, DIDACTICE

ale dnei **Sanda Buruiană**

asistent universitar, Catedra de oncologie, hematologie și radioterapie a Instituției Publice
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE:

- **Articole în reviste științifice din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei:**

Categoria B

1. **Buruiană S.**, Robu M., Iacovlev I. ș. a. Progresul în clasificarea limfoamelor non-Hodgkin. În: Curierul medical. Chișinău, 2011, nr. 4(322), p. 16-20. ISSN 1857-0666.
2. **Buruiană S.** Updated requirements for the identification of morphological types of non-Hodgkin's lymphomas. În: Curierul medical. Chișinău, 2012, nr. 1(325), p. 61-64. ISSN 1857-0666.

3. **Buruiană S.** Aspectele clinice, hematologice și imunohistochimice ale Limfomului non-Hodgkin din celulele zonei marginale. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. Chișinău, 2015, nr. 3(48), p. 383-388.

Categoria C

4. **Buruiană S.,** Corcimar I., Robu M. ș.a. Aspecte clinice ale limfoamelor non-Hodgkin indolente. Zilele Universității consacrate 65 de ani ai învățământului medical superior din Republica Moldova. În: Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2010, vol.3, p. 335-339. ISSN 1857-1719.
 5. **Buruiană S.** Actualități în studierea limfoamelor non-Hodgkin indolente. Conferința științifică anuală a cadrelor științifico-didactice, doctoranzilor, masteranzilor și studenților a IP USMF „Nicolae Testemițanu”. În: Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2013, vol.3, p. 470-477. ISSN 1857-1719.
 6. Musteață L., Corcimar I., Robu M., Musteață V., **Bururiană S.,** ș.a. Probleme actuale de diagnostic ale limfoamelor non-Hodgkin în Republica Moldova. Simpozionul „Vigilența oncologică în activitatea medicală; depistarea precoce și tratamentul tumorilor”, dedicat aniversării – 40 de ani de activitate a Catedrei de oncologie, hematologie și radioterapie a IP USMF „Nicolae Testemițanu”. În: INFO-MED. Chișinău, 2016, nr. 2(28), p. 91-93. ISSN 1810-3936.
 7. **Buruiană S.** Aspectele clinice, hematologice și imunohistochimice ale Limfoamelor non-Hodgkin limfocitare din limfocite mici. Simpozionul „Vigilența oncologică în activitatea medicală; depistarea precoce și tratamentul tumorilor”, dedicat aniversării – 40 de ani de activitate a Catedrei de oncologie, hematologie și radioterapie a IP USMF „Nicolae Testemițanu”. În: INFO-MED. Chișinău, 2016, nr.2(28), p. 52-58. ISSN 1810-3936.
 8. **Buruiană S.** Aspectele clinice, hematologice și imunohistochimice ale limfoamelor non-Hodgkin foliculare: studiu prospectiv, descriptiv. În: Moldovan Journal of Health Sciences. Revista de Științe ale Sănătății din Moldova. Chișinău, 2016, nr. 10(4), p. 53-60. ISSN 2345-1467.
- **Teze la forumurile științifice internaționale (peste hotare):**
 9. **Буруянэ С.,** Робу М., Киу М. и др. Клинические проявления индолентных неходжкинских лимфом в зависимости от возраста. В: Материалы VI^{-го} съезда онкологов и радиологов стран СНГ. Душанбе, Таджикистан, 2010, с. 282.
 10. Робу М., Корчмару И., Мустьяцэ Л., Гладыш В., Мустьяцэ, В., **Буруянэ С.** и др. Клинико-морфологические особенности первичной локализации опухолевого очага при неходжкинских лимфомах у больных разных возрастных групп. В: Материалы VII^{-го} съезда онкологов и радиологов стран СНГ. Астана, Казахстан, 2012, с. 462-463
 11. **Buruiană S.,** Robu M. Clinical aspects of indolent non-Hodgkin's lymphomas. În: CONFER 2016. Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași. Volum de rezumate. Iași, România, 2016, p. 112.

ADNOTARE

Buruiană Sanda, „Limfoamele non-Hodgkin indolente (aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice)”, teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2017. Teza este expusă pe 121 de pagini și include: introducere, 4 capitole, sinteza rezultatelor obținute, concluzii, bibliografie din 174 de surse, 3 anexe, 31 figuri, 42 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 11 lucrări științifice, inclusiv 5 fără coautori.

Cuvinte - cheie: limfom non-Hodgkin, metastaze, ganglioni limfatici, splină, măduva oaselor, hemogramă, cercetările morfologice și imunohistochimice.

Domeniul de studiu: Hematologie

Scopul studiului: Studiarea aspectelor clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfoamelor non-Hodgkin indolente pentru a identifica unele particularități de diagnostic și evoluție a fiecărui tip de LNH indolent.

Obiectivele studiului: Evaluarea aspectelor clinice ale variantelor LNH indolente. Studiarea particularităților LNH indolente în funcție de vârstă și sex. Estimarea caracterului metastazării LNH indolente. Determinarea zonelor de metastazare extranodală la etapele de generalizare a procesului tumoral în LNH indolente. Studiarea indicilor hematologici ai sângelui periferic și măduvei oaselor în funcție de varianta LNH indolente. Analizarea modificărilor morfologice, imunohistochimice conform variantelor LNH indolente. Evaluarea indicilor de supraviețuire a pacienților în funcție de varianta LNH indolente.

Noutatea și originalitatea științifică: De pe pozițiile unui studiu analitic au fost evaluate în ansamblu tabloul clinic și paraclinic al pacienților cu diverse variante ale LNH indolente. O inițiativă de premieră a fost evaluarea aspectelor clinico-hematologice în corelare cu cercetările morfologice și imunohistochimice în conformitate cu Clasificarea Internațională a hemopatiilor maligne ale țesutului hemopoietic și limfatic a OMS din 2008. Lucrarea a delimitat și specificat spectrul cercetărilor imunohistochimice și evoluția clinică pentru fiecare variantă a LNH indolente.

Problema științifică soluționată în teză a constat în evidențierea particularităților clinice și hematologice a fiecărei variante a LNH indolente. A fost elucidat rolul cercetărilor morfologice, imunohistochimice în diagnosticul diferențial al formelor LNH indolente.

Semnificația teoretică a lucrării: Evidențierea particularităților clinico-hematologice în corelare cu cercetările morfologice și imunohistochimice vor contribui la lărgirea orizontului cunoștințelor în aspect clinic cu optimizarea conduitei de diagnostic, perfecționarea și individualizarea tratamentului.

Valoarea aplicativă a lucrării: Rezultatele studiului au argumentat utilitatea și informativitatea metodelor complexe de cercetare contemporană a pacienților cu diverse variante ale LNH indolente, ce includ cercetările hematologice, morfologice și imunohistochimice. A fost identificat segmentul de vârstă și sexul persoanelor mai frecvent afectate în LNH indolente. Au fost determinate zonele de metastazare inițială și la distanță, frecvența și localizarea metastazelor extranodale în funcție de varianta morfologică și imunohistochimică a LNH indolente. A fost elaborat un algoritm de folosire a anticorpilor monoclonali pentru determinarea variantei LNH indolente.

Implementarea rezultatelor științifice: Rezultatele obținute în studiu au fost implementate în practica cotidiană a Departamentului Hematologic și Centrului Consultativ Diagnostic al IMSP Institutul Oncologic, Republica Moldova și în procesul de instruire a studenților, rezidenților și medicilor, DECMF la Catedra oncologie, hematologie și radioterapie a IP USMF „Nicolae Testemițanu”. În baza acestui studiu a fost elaborată metoda unui algoritm de folosire a anticorpilor monoclonali pentru determinarea variantei LNH indolente, care a fost oformată ca inovație (№ 17/14 din 14.11.2014).

АННОТАЦИЯ

Буруянэ Санда, „Неходжкинские индолентные лимфомы (клинико-гематологические, морфологические и иммуногистохимические аспекты)”, на соискание научной степени кандидата медицинских наук, Кишинэу, 2017. Диссертация состоит из 121 страниц, содержит введение, 4 главы, заключение, выводы, список использованной литературы, который включает 174 источника, 31 графиков, 42 таблицы. Результаты исследований изложены в 11 публикациях, из них 5- без соавторов.

Ключевые слова: Неходжкинская лимфома, лимфатические узлы, селезёнка, костный мозг, анализ периферической крови, морфологические и иммуногистохимические исследования. **Область исследования:** Гематология

Цель исследования: Изучение клинико-гематологических, морфологических и иммуногистохимических особенностей индолентных неходжкинских лимфом для идентификации некоторых особенностей в диагностике и эволюции каждого из вариантов индолентных НХЛ. **Задачи исследования:** Оценка клинических проявлений всех вариантов индолентных неходжкинских лимфом (НХЛ). Изучение особенностей индолентных НХЛ с учётом возраста и пола. Оценка характера метастазирования индолентных НХЛ. Определение зон экстранодального метастазирования в процессе распространения индолентных НХЛ. Изучение показателей периферической крови и костного мозга в зависимости от варианта индолентных НХЛ. Анализ морфологических и иммуногистохимических изменений при различных формах индолентных НХЛ. Оценка показателей выживаемости пациентов с учётом варианта индолентных НХЛ. **Научная новизна и оригинальность исследования:** С точки зрения аналитического исследования были оценены клиническая картина и лабораторные особенности у больных, с различными вариантами индолентных НХЛ. Новизна диссертационной работы состоит в комплексной оценке клинико-гематологических, морфологических и иммуногистохимических аспектов индолентных НХЛ в соответствии с Международной классификацией злокачественных гематологических заболеваний кроветворной и лимфатической тканей ВОЗ (2008). **Решенная научная проблема:** Были выявлены клинические и гематологические особенности каждого варианта индолентных НХЛ. Была определена роль морфологического и иммуногистохимического исследования для дифференциальной диагностики различных форм индолентных НХЛ.

Теоретическая значимость работы: Обнаруженные клинические и гематологические особенности в сочетании с морфологическими и иммуногистохимическими исследованиями, позволят расширить представления об индолентных НХЛ, оптимизировать их диагностику, улучшить и индивидуализировать тактику лечения.

Практическая значимость: результаты работы подтвердили информативность и необходимость комплексного использования современных методов исследования, включающих гематологические, морфологические и иммуногистохимические исследования. Доказано наличие корреляции между возрастом и полом и различными морфологическими формами индолентных НХЛ. Определён характер первичного и последующего метастазирования, частота и локализация вовлечения в опухолевый процесс различных органов и тканей с учётом морфологического иммуногистохимического варианта индолентных НХЛ. Разработан алгоритм использования моноклональных антител для определения вариантов индолентных НХЛ.

Внедрение результатов исследования: Результаты диссертационной работы внедрены в повседневную практику Гематологического центра и Консультативного диагностического центра онкологического института Республики Молдова, в преподавание дисциплины „Гематология” студентам, резидентам и врачам факультета постдипломного образования на кафедре онкологии, гематологии и радиотерапии Государственного университета медицины и фармации именем "Николая Тестемицану". На основе данного исследования разработан метод алгоритма с использованием моноклональных антител для определения вариантов индолентных НХЛ.

SUMMARY

Buruiana Sanda, „Indolent non-Hodgkin's lymphomas (clinical, hematological, morphological and immunohistochemical aspects)”, the thesis of Doctor of Medical Sciences (MD), Chisinau, 2017. The present thesis is exposed on 121 pages and included: introduction, 4 chapters, synthesis results, conclusions, bibliography of 174 literary sources, 3 annexes, 31 figures, 42 tables. The achieved results are published in the 11 scientific sources, including 5 articles without co-autors.

Keywords: non-Hodgkin lymphoma, metastases, lymph nodes, spleen, bone marrow, blood count, morphological and immunohistochemical researches.

The studied domain: Hematology

The aim of the study: Clinical, hematological, morphological and immunohistochemical study of indolent non-Hodgkin's lymphomas for to identify some facts of diagnostic and evolution of each type of indolent NHL.

The objectives of the study: Evaluation of clinical aspects of indolent NHL variants. Studying peculiarities indolent NHL by age and sex. Estimation of indolent NHL character metastasis. Determining the areas of extranodal metastasis stages of generalizied tumor process in indolent NHL patients. Haematological indices have studied peripheral blood and bone marrow depending on the variant indolent NHL. Analyze morphological changes, immunohistochemical according variants indolent NHL. Evaluation indices patient survival depending on the variant indolent NHL.

Novelty and originalty of the study: From the standpoint of an analytical study were assessed overall clinical picture and laboratory features of patients with different variants of indolent NHL. A first initiative was to assess the clinical and hematological aspects in conjunction with morphological and immunohistochemical investigations in accordance with International Classification of hematological malignancies hemopoietic and lymphatic tissue of WHO in 2008. The work delineated and specified immunohistochemical spectrum of research and clinical development for each variant indolent NHL.

The scientific problem solved in the thesis: They have highlighted the clinical and hematologic each variant of indolent NHL. A research elucidated the role of morphological, immunohistochemical differential diagnosis of indolent NHL forms.

Theoretical significance: Highlighting the clinical and hematological correlated with morphologic and immunohistochemical research will contribute to broadening the knowledge aspect conduct clinical diagnostic optimization, improvement and individualizing therapy.

Applicable value of this study: Results of the study argued informativly, utility and contemporary research complex methods for patients with indolent NHL different variants, including hematologic, morphological and immunohistochemical research. It was identified by age and sex of the segment most frequently affected in indolent NHL. They were determined areas of initial metastasis and remote metastasis frequency and location depending on the morphological and immunohistochemical variant extranodal indolent NHL. It was developed an algorithm for determining the use of monoclonal antibodies variant indolent NHL.

The results have been introduced: The results obtained in the study were implemented in everyday practice of the Department of Hematology and Consultative Diagnostic Center of Oncologic Institute, Republic of Moldova and the training of students, residents and doctors to perfecting Department Oncology, Hematology and Radiotherapy in "N.Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy. Based on this study was developed an algorithm method of using monoclonal antibodies to determine variant indolent NHL, which was registered as innovation.

Buruiană Sanda

**LIMFOAMELE NON-HODGKIN INDOLENTE (ASPECTE
CLINICO-HEMATOLOGICE, MORFOLOGICE ȘI
IMUNOHISTOCHIMICE)**

321.10-Hematologie și Hemotransfuzie

Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale

Aprobat spre tipar:

Hârtie ofset. Tipar ofset.

Coli de tipar.:

Formatul hârtiei 60x84 1/16

Tiraj ex

Comanda nr.