

**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

Teză de doctor în științe medicale

Conducător științific:

Maria Robu,

doctor în științe medicale,

conferențiar universitar.

Consultant științific:

Iraida Iacovlev,

doctor habilitat în științe medicale,

profesor universitar.

Autor:

Sanda Buruiană

CHIȘINĂU, 2017

© Buruiană Sanda, 2017

CUPRINS

ADNOTARE (în limbile română, rusă, engleză).....	5
LISTA ABREVIERILOR.....	8
INTRODUCERE.....	10
1 CONCEPȚIILE CONTEMPORANE DESPRE LIMFOAMELE NON-HODGKIN	
1.1 Progres în clasificarea limfoamelor non-Hodgkin.....	16
1.2 Cerințele moderne de identificare a variantelor limfoamelor non-Hodgkin.....	26
1.3 Actualități în studierea limfoamelor non-Hodgkin indolente.....	31
1.4 Concluzii la capitolul 1.....	41
2 MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE	
2.1 Caracteristica materialului clinic.....	42
2.2 Metodele de cercetare aplicate în loturile de studiu.....	47
2.3 Metodele utilizate la analiza rezultatelor obținute.....	55
2.4 Concluzii la capitolul 2.....	57
3 ASPECTE CLINICO-HEMATOLOGICE, MORFOLOGICE ȘI IMUNOHISTOCHIMICE ALE LIMFOMULUI LIMFOCITAR DIN LIMFOCITE MICI ȘI ALE LIMFOMULUI DIN CELULELE ZONEI MARGINALE	
3.1 Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfomului limfocitar din limfocite mici.....	58
3.2 Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfomului din celulele zonei marginale.....	72
3.3 Concluzii la capitolul 3.....	84
4 ASPECTE CLINICO-HEMATOLOGICE, MORFOLOGICE ȘI IMUNOHISTOCHIMICE ALE LIMFOMULUI FOLICULAR ȘI ALE LIMFOMULUI DIN CELULELE ZONEI DE MANTA	
4.1 Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfomului folicular	86
4.2 Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfomului din celulele zonei de manta	99
4.3 Concluzii la capitolul 4.....	110
SINTEZA REZULTATELOR OBTINUTE.....	113

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE.....	119
BIBLIOGRAFIA.....	122
ANEXE (BREVET DE INOVAȚIE, ACT DE IMPLIMENTARE, ANCHETA UTILIZATĂ PENTRU COLECTAREA DATELOR DESPRE PACIENȚI).....	135
Anexa 1 (Ancheta utilizată pentru colectarea datelor despre pacienți).....	136
Anexa 2 (Brevet de inovație).....	138
Anexa 3 (Act de implimentare).....	139
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII.....	140
CV AL AUTORULUI.....	141

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, cercetare morfologică și imunohistochimică.

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: Studiarea modificărilor morfologice, imunohistochimice conform variantelor LNH indolente. Evaluarea aspectelor clinice ale variantelor LNH indolente în funcție de vârstă, localizarea focarului primar tumoral. Estimarea caracterului metastazării inițiale și la etapa de generalizare a LNH indolente. Studiarea indicilor hematologici ai sângelui periferic și măduvei oaselor în funcție de varianta 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 constă 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 (Nr 17/14 din 14.11.2014).

АННОТАЦИЯ

Буруянэ Санда, „Неходжкинские индолентные лимфомы (клинико-гематологическое, морфологическое и иммуногистохимическое 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 распространении 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 ткани 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 lymphomas (clinical, hematological, morphological and immunohistochemical aspects)”, the thesis of doctor in medicine, Chisinau, 2017. The present thesis is exposed on 121 pages and included: introduction, 4 chapters, synthesis results, conclusions, bibliography from 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, researchs morphological, researchs immunohistochemical.

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 variants indolent NHL. Studying peculiarities indolent NHL by age and sex. Estimation of indolent NHL character metastasis. Determining the areas of extranodal metastasis stages of generalizing the tumor process in indolent NHL. 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 originality 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 haematological 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 informativity, 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 Oncological Institute, Republic of Moldova and the training of students, residents and doctors to perfecting Department Oncology, Hematology and Radiotherapy Medical University "N.Testemițanu". Based on this study was developed an algorithm method of using monoclonal antibodies to determine variant indolent NHL, which was registered as innovation.

LISTA ABREVIERILOR

ALCL – Limfom anaplastic din cellule mari

CD – Cluster de diferențiere

DLBCL – Limfomul B-celular difuz din cellule mari

ECOG – The Eastern Cooperative Oncology Group

FLIPI – Indexul de prognostic internațional al LNH foliculare

HLA-DR – Human leukocyte antigen

IPI - Indexul de prognostic internațional

LNH – Limfom non-Hodgkin

MALT – Mucosa associated lymphoid tissue

NK – Kileri naturali

OMS – Organizația Mondială a Sănătății

REAL – A Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms

WF – Working Formulation

LDH - Lactat dehidrogenaza

Î - intervalul de încredere

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.

LNH prezintă o patologie cu tendința sporită de creștere a morbidității în toată lumea și în acelaș timp și în Republica Moldova. Conform datelor lui I.Corcimaru, 2007, indicele morbidității a LNH în Republica Moldova constituie 4,1 la 100 000 de populație [1]. 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 [2]. 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% [3, 4]. Până în prezent tratamentul LNH rămâne o problemă complicată.

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 [5]. Însă un factor important în individualizarea programelor de tratament poate fi: aspectul clinic, localizarea focarului primar tumoral, zonele de metastazare inițială și la etapele de generalizare ale 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 [6]. Ulterior au apărut în multe publicații sub denumirea de reticulosarcom. Una din primele clasificări care a permis de a explica particularitățile evoluției clinice ale LNH poate fi menționată Clasificarea propusă în anul 1966 de către Rappaport [7]. El a numit tumorile țesutului limfatic prin termenul de „limfoame maligne”, propus în anul 1883 de Billroth [8], termen recunoscut și utilizat până în prezent de toți hematologii. Ulterior au fost elaborate și utilizate un șir de clasificări: Clasificarea lui Lukes și Collins (1974 și 1975) [9], Clasificarea lui Lennert (1974) [10], Clasificarea Britanică (1974) [11], Clasificarea lui Dorfman (1974) [11], Clasificarea internațională histologică și citologică a maladiilor tumorale ale țesuturilor hematopoietic și limfatic (OMS, 1976) [11], Clasificare REAL (A Revise European-American Clasification of Lymphoid

Neoplasms) [12, 13], Clasificare OMS din anul 2001 [14] și Clasificarea propusă de O.M.S. în anul 2008 [15, 16].

În ultima Clasificare a OMS din anul 2008 se menționează diagnosticarea complexă a LNH, care include caracteristica morfologică, imunohistochimică, citogenetică, biologie moleculară. În această clasificare au fost evidențiate noi variante ale LNH, îndeosebi cele indolente. Acest grup de LNH a fost completat cu limfoame din celulele zonei de manta, limfoame din celulele zonei marginale, limfoame foliculare, limfoame limfocitare din limfocite mici [15, 16].

Deși evoluția clinică a LNH indolente era diversă, până la evidențierea acestor variante morfologice, ele toate erau interpretate ca o singură formă – LNH prolimfocitare, deoarece celulele, care formează substratul morfologic al acestor variante la studierea lor microscopică nu diferă esențial. Doar studierea detaliată a fiecărei variante a LNH indolente va putea explica diversitatea lor clinică și hematologică. Este necesar de menționat, că LNH indolente la general cât și subtipurile acestora 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%, limfomul din celulele zonei de manta – 5-6%, limfomul folicular – 20% [17].

Deoarece substratul morfologic al LNH indolente este foarte asemănător, stabilirea diagnosticului cu identificarea variantelor poate fi determinat prin utilizarea metodelor imunohistochimice. 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 [18].

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 imunohistochimică 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 imunohistochimice 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 imunohistochimice prezintă o problemă actuală.

Scopul:

Studierea 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:

1. Studiarea modificărilor morfologice, imunohistochimice 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. Studiarea 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 prin investigarea citologică și histologică a măduvei oaselor), 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 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 hematopoietic 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 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 variantei 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 variantei LNH indolente.
4. Principiile de diagnostic diferențial al variantelor LNH indolente.
5. Criteriile de prognostic ale diverselor variante ale LNH indolente bazate pe determinarea IPI (Indexul Prognostic Internațional), statusului de performanță clinică ECOG (the Eastern Cooperative Oncology Group), indicilor de supraviețuire.

Implementarea rezultatelor științifice:

Rezultatele obținute în studiu au fost implementate în practica cotidiană a Departamentului Hematologie 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 variantei 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, Chișinău.
- 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 al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, (proces verbal № 3 din 22.03.2017).

Publicații la tema tezei:

Ideile de suport și mesajul aplicativ al studiului efectuat 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 tematice (Capitolul 1), prezentarea materialului clinic și a metodelor de cercetare (Capitolul 2), prezentarea datelor proprii

(Capitolele 3, 4), analiza și sinteza rezultatelor, concluzii, recomandări practice și anexe. Teza este expusă pe 121 de pagini dactilografiate. Materialul iconografic include 31 figuri, 42 tabele. Lucrarea dată este fundamentată pe 174 surse bibliografice.

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

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 și valoarea aplicativă a rezultatelor obținute, importanța lor științifică și în practica medicală.

În **Capitolul 1- „Conceptiile contemporane despre Limfoamele non-Hodgkin”**- sunt relatate informațiile contemporane selectate din literatura de specialitate cu referire la limfoamele Non-Hodgkin. Sunt menționate progresele în clasificarea limfoamelor non-Hodgkin cu interpretarea aplicării lor practice. S-au analizat cerințele moderne de identificare a variantelor limfoamelor non-Hodgkin cu argumentarea lor. Au fost relevate actualitățile în studierea limfoamelor non-Hodgkin indolente, aspectele imunohistochimice ale fiecărui tip de LNH indolent. Acest capitol conține o sinteză a rezultatelor expuse în literatura de specialitate privind LNH.

În **Capitolul 2- „Material și metode de cercetare”**- sunt expuse metodologia utilizată, metodele și materialele de cercetare folosite în cadrul studiului științific efectuat. În studiu au fost incluși 82 de pacienți cu limfoame non-Hodgkin indolente, cu diferite variante morfologice (limfocitare din limfocite mici, foliculare, din celulele zonei de manta și din celulele zonei marginale) confirmate morfologic și imunohistochimic. Sunt descrise metodele utilizate în diagnosticul LNH indolente, determinarea gradului de răspândire a procesului tumoral, evaluarea aspectelor clinice, hematologice, analiza rezultatelor obținute.

În **Capitolul 3- „Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfomului non-Hodgkin limfocitar din limfocite mici și ale limfomului non-Hodgkin din celulele zonei marginale”**- sunt descrise aspectele morfologice și imunohistochimice, caracteristica clinică în funcție de vârstă, sex, localizare a focarului primar tumoral, gradul de răspândire a procesului tumoral, interesarea ganglionilor limfatici la etapa inițială și de generalizare,

metastazarea extranodală, modificările hematologice. A fost determinată supraviețuirea pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici și a pacienților cu LNH din celulele zonei marginale.

În Capitolul 4- „Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfomului non-Hodgkin folicular și ale limfomului non-Hodgkin din celulele zonei de manta”- sunt descrise aspectele morfologice și imunohistochimice, caracteristica clinică în funcție de vârstă și localizare a focarului primar tumoral, stadiul maladiei, interesarea ganglionilor limfatici la etapa inițială și de generalizare, metastazarea extranodală, modificările hematologice în lotul de pacienți cu LNH folicular, LNH din celulele zonei mantalei. A fost determinată supraviețuirea pacienților cu aceste tipuri de LNH.

Rezultatele studiului și importanța lor au fost expuse în **sinteză, concluzii generale și recomandări practice.**

1.CONCEPȚIILE CONTEMPORANE DESPE LIMFOAMELE NON-HODGKIN

1.1. Progres în clasificarea limfoamelor non-Hodgkin

Limfoamele non-Hodgkin (LNH) prezintă un grup neomogen de tumori limfoproliferative, care se deosebesc prin proprietățile biologice, structura morfologică, manifestările clinice, prognostic și răspuns la tratament [16, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30]. Limfoamele până în prezent rămân una din principalele cauze ale mortalității în toată lumea. Conform datelor literaturii anual se înregistrează 450.000 de cazuri noi ale maladiei și 225.000 din ele cu sfârșit letal [31, 32].

În ultimii 20-30 de ani au fost obținute succese remarcabile în studierea limfoamelor non-Hodgkin. Au fost argumentate multiple variante și subvariante ale acestor patologii reflectate în clasificările contemporane ale LNH – REAL din 1994 [12, 13] și OMS din 2001 [33] și 2008 [15, 16, 29], care ne obligă să identificăm varianta respectivă a limfoamele non-Hodgkin cu utilizarea metodelor morfologice, imunohistochimice și citogenetice [34].

Clasificarea REAL [12, 13] și bazate pe ea Clasificările Internaționale a tumorilor țesutului hematopoietic și limfatic OMS [16, 29, 33] au fost determinate în temei de succesele în studierea mecanismelor de diferențiere a limfocitelor [35, 36].

Aceste tumori pentru prima dată au fost descrise de Virchow în anul 1863 [6, 37] cu denumirea de „limfosarcom”. Ulterior aceste tumori au fost numite „reticulosarcom” de Oberling [38] și Штерн [39, 40, 41, 42], „reticuloze” de Краевский cu coautorii [43], deoarece se considera că celulele limfoide se dezvoltă din celula reticulară – celula stem pentru celulele hematopoietice [44], dar nici o denumire nu corela cu evoluția clinică diversă a bolii.

Printre primele clasificări care au permis de a explica particularitățile evoluției clinice a LNH poate fi menționată clasificarea elaborată în anul 1966 de Rappaport [7, 37]. El a numit tumorile țesutului limfatic prin termenul de „limfoame maligne”, propus în anul 1883 de Billroth [8]. Clasificarea propusă de Rappaport [7] s-a bazat pe principiile morfologice. Variantele LNH au fost elaborate în funcție de substratul celular al tumorii, gradul de diferențiere a celulelor tumorale și forma de creștere (nodulară sau difuză).

Semnificația clinică a clasificării Rappaport a fost confirmată prin examinări comparative clinico-morfologice. S-a constatat că prognosticul LNH depinde de componența celulară și

caracterul de creștere a lor – difuz sau nodular. La bolnavii cu acelaș substrat celular supraviețuirea este mai înaltă în caz de creștere nodulară [7].

Însă Clasificarea Rappaport [7] conține unele noțiuni contraversate. De exemplu, se identifică noțiunile „reticulosarcom” și „sarcom histiocitar”, pe când conform teoriei moderne a hemopoiezei [44] celulele reticulare sunt stromale, iar histiocitele aparțin rândului monocitar al hemopoiezei. Din această cauză nu este rațional de a avea în clasificare varianta mixtă limfocitară – histiocitară.

O importanță semnificativă în perfecționarea clasificărilor LNH au avut datele despre corelarea schimbărilor morfologice în ganglionul limfatic și funcția imunologică a elementelor lui celulare. Importante în acest aspect au fost investigațiile lui Lukes și Collins [9, 45, 46], care au demonstrat, că unele semne morfologice ale celulelor limfatice reflectă diferite etape ale fenomenului de blasttransformare a limfocitelor. Lukes și Collins [45] au constatat, că blasttransformarea B-limfocitelor are loc în centrele germinative ale foliculilor ganglionilor limfatici. Conform datelor acestor autori [9, 45, 46], B-limfocitele mici, sosite din măduva oaselor și situate lângă foliculi, sub influența celulelor perifoliculare dendritice purtătoare de antigene se mișcă spre centrul foliculului. Concomitent cu aceasta, nucleul limfocitului mic se clivează și se formează așa-numitele celule mici clivate (small cleaved cells), care, mărindu-se în dimensiuni, se transformă în celule mari cu nucleu clivat (large cleaved cells). Citoplasma acestor celule este îngustă. În stadiul următor nucleul obține o formă rotundă sau puțin ovală, apar nucleoli, citoplasma devine mai pronunțată și pironinofilă (celule mici neclivate). Aceste celule continuă să se mărească și ating dimensiunea de patru și mai multe ori mai mare comparativ cu limfocitul mic primar și se numesc celule mari cu nucleu neclivat, în care nucleolii se văd clar. Celulele mari neclivate din nou nimeresc în zona interfoliculară sub formă de imunoblast de origine B-celulară. Aici ele pot să prolifereze ca imunoblaști din B-celule sau să se transforme în B-limfocit mic, celule plasmocitare. T-limfocitele mici, de asemenea, sunt supuse blasttransformării, dar ultima are loc în țesutul interfolicular și fără stadiul de clivare a nucleului [9, 37, 46].

Conform datelor lui Lukes și Collins [9, 45], LNH se dezvoltă din celule limfatice la diferite etape de blasttransformare a B- și T-limfocitelor în urma blocului transformărilor la nivelul uneia din celule (limfocitul mic, celule mici și mari clivate, celule mici și mari neclivate, imunoblastul, celula limfoplasmocitară). Oricare din celulele enumerate poate deveni substratul morfologic al tumorii, din care se formează una din variantele LNH. Ținând cont de principiul morfofuncțional și particularitățile imunologice ale limfocitelor, Lukes și Collins au propus o clasificare proprie a LNH [46]. Conform acestei clasificări LNH pot fi B-limfocitare, T-limfocitare și histiocitare. Este separată și grupa de limfoame neclasificabile, care include procesele tumorale asemănătoare cu

limfomul, însă din cauze tehnice semnele lor citologice sunt discutabile și ele nu pot fi cu exactitate incluse în grupul celorlalte tipuri de limfoame. Majoritatea LNH conform datelor acestor autori sunt de origine B-celulară [46]. Autorii au dedus că limfoamele histiocitare sunt la fel de origine limfatică [47].

Concepția lui Lukes și Collins despre patogenia LNH este apropiată principiilor prezentate în lucrările lui Lennert, care a ajuns la concluzia, că centrele foliculilor constau din două tipuri de bază de celule – herminoblaști și herminocite, care se deosebesc prin structura nucleului și caracterul citoplasmei. Autorul menționează că herminoblaștii și herminocitele sunt celule limfoide care prezintă limfocite transformate [9, 45].

Prin efectuarea cercetărilor citologice, histologice, citochimice, imunologice Lennert cu coaut. [48] ca și Lukes și Collins au dovedit originea B-celulară a LNH în majoritatea cazurilor. Recunoașterea, că majoritatea LNH se dezvoltă din celulele centrelor foliculilor și că aceste tumori pot fi nodulare și difuze, a contribuit la progresul de bază în elaborarea clasificărilor LNH și de asemenea, au permis de a conștientiza mai profund variantele morfologice ale LNH [49].

Clasificările LNH elaborate după Clasificarea lui Rappaport [7] reies din datele expuse mai sus și sunt create conform unui principiu comun. Denumirea diferită a celulelor limfoide la diferite stadii de blasttransformare a condus la denumirea diferită a variantelor LNH și, în temei, la o deosebire terminologică formală a variantelor în clasificările LNH.

Dacă vom compara, luând în considerare aceste sinonime, Clasificarea lui Lennert cu cea a lui Lukes și Collins devine clar că, variantele principale ale LNH în ele sunt similare. Corespunderea acestor două Clasificări ale LNH confirmă, că deosebirile dintre ele sunt minimale.

În Clasificarea Britanică [50] și Clasificarea lui Dorfman [11] variantele morfologice de bază corespund cu variantele autorilor precedenți. Denumirea limfoamelor în aceste două Clasificări nu este așa de reușită. De exemplu, ele conțin varianta din celule limfoide mari care poate include limfoame din celule mari clivate, mari neclivate și din imunoblaști. În Clasificarea Britanică [50] limfomul din celule cu nucleu convolut este numit limfom mediastinal, deși această variantă nu întotdeauna este asociată cu afectarea ganglionilor limfatici mediastinali [51, 52]. Tot în această Clasificare nu sunt incluse sindromul Sezary și mycosis fungoides, deși ele provin din T-limfocite. Sindromul Sezary și limfomul imunoblastic nu sunt separate nici în Clasificarea lui Dorfman [11].

În anul 1976 a fost publicată „Clasificarea internațională histologică și citologică a maladiilor tumorale ale țesuturilor hematopoietic și limfatic” adoptată de OMS, în care LNH sunt incluse în compartimentul „Tumori”. Este utilizat termenul limfosarcom, care include procesele maligne dezvoltate din celule limfoide [53].

Pentru denumirea variantelor limfosarcomului în această Clasificare este utilizată terminologia hematologică - limfoblast, prolimfocit, limfocit. De menționat, că noțiunea de limfoblast, prolimfocit etc. în Clasificarea OMS (1976) nu corespunde stadiilor de maturizare a celulelor limfoide, dar se au în vedere etapele de blasttransformare a celulelor limfoide [53].

Vorbind de prolimfocite și limfoblaști în cazul de LNH trebuie să constatăm că, cu acești termeni numim celulele, care se deosebesc de prolimfocitele și limfoblaștii reflectați în schema hemopoiezei morfologic mult mai variați. O confirmare a celor spuse poate servi termenul de prolimfocit, care include nu numai prolimfocitele cu nucleu rotund, dar și celulele mici și mari cu nucleu clivat din centrele foliculilor, care după structura sa nu se includ în noțiunea hematologică de prolimfocit. Reieșind din cele expuse, trebuie de conștientizat, că în Clasificarea OMS (1976) este folosită nomenclatura hematologică a celulelor, ce prevede morfologia celulelor în corespundere cu etapele de blasttransformare.

În Clasificarea OMS (1976) [53] mycosis fungoides, plasmocitomul și limfoamele neclasificabile formează grupuri separate, deși ele se dezvoltă din celule limfoide și prin urmare trebuie incluse în componența limfosarcoamelor. Este păstrată denumirea de „reticulosarcom” pentru tumorile dezvoltate din histiocite și celule reticulare, ce histogenetic nu este argumentat.

Clasificarea OMS (1976) care reflectă concepțiile despre însușirile funcționale ale limfocitelor și blasttransformarea lor în organele limfatice, nu trebuie contrapusă celorlalte clasificări și celei a lui Lennert, tot așa cum Clasificarea lui Lennert nu poate fi considerată principial diferită de Clasificarea OMS. În ambele clasificări deosebim limfoame limfocitare, limfoblastice, limfoplasmocitare și neclasificabile. Analogul limfomului centrocitar în Clasificarea OMS sunt limfosarcoamele prolimfocitare din celulele clivate mici și mari, iar analogul centroblaștilor – varianta limfoblastică.

Clasificarea OMS (1976) a fost acceptată în multe țări și a fost folosită până nu demult.

Analiza clasificărilor menționate ne convinge că clasificările LNH, propuse după Clasificarea lui Rappaport [7] se bazează pe o concepție unică despre patogenia acestor tumori, care apar ca rezultat al blocadei unei etape de blasttransformare a limfocitelor. Dar aceasta nu înseamnă că problema clasificării LNH a fost hotărâtă definitiv [54]. Se păstrează până în prezent întrebări discutabile .

După propunerea de către OMS a clasificării LNH (1976) timp mai mult de 10 ani în diferite țări au fost utilizate alte clasificări, ce crea dificultăți în efectuarea analizei comparative a importanței clinice a clasificărilor existente.

O importanță deosebită în depășirea contrazicerilor clasificărilor LNH au avut cercetările efectuate de Institutul Național al Cancerului (SUA, 1982) [55]. Pe baza analizei morfologice a

preparatelor histologice de la 1153 de bolnavi primari de LNH de către grupa specialiștilor experți (Dorfman, Henry, Lennert, Lukes, O’Conor, Rappaport) a fost stabilită comparabilitatea variantelor LNH cu cele șase clasificări ale LNH mai frecvent utilizate.

Tot pe baza acestor cercetări a fost propusă „Formula de lucru a limfoamelor non-Hodgkin pentru utilizare în clinică”, care în literatură prescurtat se numește „Working Formulation” (WF). Importantă în această clasificare a fost propunerea de a deosebi trei grupe de LNH cu semnificație clinică cu menționarea gradului de malignitate – jos, intermediar, înalt [55].

LNH cu grad jos de malignitate includ variantele:

- din limfocite mici,
- foliculară din celule mici clivate,
- mixtă din celule mici și mari clivate.

LNH cu grad intermediar de malignitate include limfoamele:

- folicular din celule mari,
- difuz din celule mari clivate
- neclivate.

În LNH cu grad înalt de malignitate sunt incluse variantele: imunoblastică, limfoblastică limfomul Burkitt [55].

Deoarece WF se bazează mai mult pe morfologie, ea nu a cuprins spectrul complex al LNH, excluzând importante subtipuri, cum ar fi limfomul din celulele din zona mantalei, din zona marginală, limfoamele T/NK.

Datorită cunoașterii tot mai profunde a proceselor de diferențiere a limfocitelor au fost obținute mari succese în studierea aspectelor biologice ale LNH. Aceste date au contribuit la perfecționarea clasificării LNH și la ameliorarea calității tratamentului LNH.

În anul 1994 Grupul Internațional pentru studierea limfoamelor a publicat o clasificare nouă a LNH cunoscută ca clasificarea REAL (A Revise European-American Clasification of Lymphoid Neoplasms – REAL), reieșind din aceea că, după publicarea în anul 1982 a WF s-a acumulat multă informație nouă, au fost propuse noi variante ale LNH, noi corective a variantelor deja descrise. În afară de aceasta, în clasificările recunoscute în Europa și SUA, de asemenea și în WF, unele și aceleași tipuri ale LNH aveau diferite denumiri, iar uneori și diferite criterii de diagnostic [12, 13].

Autorii Clasificării REAL au considerat că, este rațional de formulat variantele bine conturate pe baza caracteristicilor morfologice, de imunofenotipare, citogenetice și clinice. Conform Clasificării REAL toate limfoamele au fost divizate în două categorii principale : B- și

T-celulare, fiecare din ele la rândul său fiind din celule predecesoare și tumori din celule periferice. Pentru denumirea lor sunt utilizați termeni, care reflectă localizarea în țesutul limfatic, proprietățile citologice și funcția în răspunsul imun [12, 13].

În clasificarea REAL de rând cu limfoamele sunt incluse și leucemiile din celulele limfatice. Aceasta se explică prin faptul, că nu întotdeauna aceste tumori pot fi diferențiate între ele, reieșind din afectarea măduvei oaselor cu leucemizare în limfoame și posibilitatea locală tumorală în leucemii.

Un progres semnificativ ce ține de clasificarea REAL constă în posibilități imunologice de a deosebi tumorile din celulele B-mature. Aceste procese limfoproliferative sunt: leucemia limfocitară cronică, limfomul limfocitar, prolimfocitar, limfoamele din celulele zonei mantalei și zonei marginale [12, 13].

Ulterior, odată cu progresul în cercetările LNH: imunologice, citogenetice, biologiei moleculare, în anul 2001 OMS a propus o altă clasificare a tumorilor țesutului limfoid [14].

Clasificarea tumorilor țesutului limfoid (OMS, 2001)

Tumori ale precursorului limfocitului B

Leucemie acută limfoblastică cu precursor B

Limfom limfoblastic cu precursor B

Tumori ale limfocitului B matur (periferic)

Leucemie limfocitară cronică

Limfom limfocitic cu celulă mică

Leucemie prolimfocitară cu celula B

Limfom limfoplasmocitic

Limfom splenic cu celula B din zona marginală ($\pm$ limfocite viloase)

Leucemie cu celulă păroasă

Mielom / plasmocitom

Limfom extraganglionar cu celula B din zona marginală tip MALT

Limfom ganglionar cu celula B din zona marginală ($\pm$ celula B monocitoide)

Limfom folicular

Limfomul celulelor mantalei

Limfom difuz cu celula mare B

Limfom mediastinal cu celula mare B

Limfom primar al seroaselor
Limfom Burkitt / leucemie cu celule Burkitt

Proliferarea celulelor B cu posibilitate de transformare tumorală.

Granulomatoză limfomatoidă
Deregări limfoproliferative polimorfe post-transplant

Tumori ale celulelor T și NK cu precursor T

Leucemie acută limfoblastică cu precursor T
Limfom limfoblastic cu precursor T

Tumori ale celulei T și NK mature (periferică)

Leucemie prolimfocitară T
Limfom limfocitar cu celulă T mare granulară
Leucemie / limfom cu celula T a adultului ATLL
Leucemie agresivă cu celula NK
Limfom extraganglionar, tip nazal, cu celulă T/NK
Limfom tip enteropatie cu celula T
Limfom hepatosplenic cu celula T gamma delta
Limfom tip paniculită subcutanată cu celula T
Mycosis fungoides / Sindrom Sezary
Limfom primar cutanat anaplazic cu celula mare T sau celula nulă
Limfom cu celula T periferică
Limfom anaplazic cu celulă mare T/nulă cu determinare primar sistemică
Limfom angioimunoblastic cu celulă T

Pentru clasificarea exactă a LNH și stabilirea diagnosticului este necesar de utilizat un algoritm complex de investigații, care include examinare morfologică, imunologică, citogenetică. Clasificarea OMS din anul 2001 [14] nu conține forme noi nozologice comparativ cu Clasificarea REAL. Lista tumorilor limfoide în ambele clasificări practic coincide. În același timp, câteva unități nozologice rar întâlnite, care în Clasificarea REAL se considerau ca forme temporare, în Clasificarea OMS sunt transferate în cele permanente.

Ele sunt următoarele: din rândul tumorilor T-celulare

- limfomul T-celular al ficatului și splinei
- limfomul T-celular de tip paniculită subcutanată.

Din grupa limfoamelor B-celulare

- limfomul din celulele zonei marginale a ganglionilor limfatici.

În afară de aceasta câteva boli, considerate în Clasificarea REAL ca forme nozologice comune, în Clasificarea OMS sunt separate. De exemplu, în Clasificarea OMS se consideră separate și se discută leucemia prolimfocitară și tumorile din limfocite mici, plasmocitomul și mielomul multiplu, sindromul Sezary și mycosis fungoides. La formularea ei pe baza Clasificării REAL s-a ținut cont de toate datele cunoscute în prezent despre biologia tumorilor limfoide [14].

În Clasificarea OMS în compartimentul limfoamelor au fost utilizate principiile de bază de clasificare cu mici modificări și sistematizarea tumorilor acceptate cu clasificarea REAL [12, 13, 14]. La elaborarea variantelor LNH s-au luat în considerație nu numai particularitățile morfologice, dar și manifestările clinice, imunofenotipul celulelor tumorale, anomaliile genetice. Fără exagerare putem afirma, că principalul în clasificarea contemporană a LNH constă în principiul comparărilor morfo-imunologice. Pe baza acestui principiu LNH sunt divizate în tumori din celulele predecesoare și tumori din celulele cu fenotipul elementelor limfoide din organele periferice ale sistemului imun (celule mature). Ultimele constituie majoritatea limfoamelor. Fiecare din aceste două categorii sunt B- și T-celulare [56].

Rezultatele acumulate ulterior în studierea LNH au condus la perfecționarea clasificării LNH din anul 2001. Analiza detaliată și multilaterală a LNH a contribuit la unele modificări incluse în ultima clasificare a LNH. Aceste modificări au fost reflectate în Clasificarea LNH propusă de OMS în anul 2008 [15, 16, 29].

Clasificarea tumorilor țesutului limfatic (OMS, 2008)

Tumorile mature B-celulare (periferice)

Leucemia limfocitară cronică / limfom limfocitic cu celulă mică

Leucemie prolimfocitară B-celulară

Limfom splenic cu celula B din zona marginală

Leucemie cu celule păroase (trihice)

Limfom / leucemie splenică, neclasificabilă.

Limfom limfoplasmocitar

Boala lanțurilor grele

Mielom plasmocitar
 Plasmocitom solitar al oaselor
 Plasmocitom extraosos
 Limfom extranodal cu celula B din zona marginală tip MALT
 Limfom nodal din zona marginală
 Limfom pediatric nodal din zona marginală
 Limfom folicular
 Tipul pediatric al limfomului folicular
 Limfomul din celulele zonei mantalei
 Limfomul B-celular difuz din celule mari (DLBCL), MOS.
 Limfom T-celular bogat în celule B mari
 Limfom DLBCL al sistemului nervos central
 DLBCL primar al pielei
 EBV pozitiv a persoanelor în vârstă
 DLBCL asociat cu inflamație cronică
 Granulomatos limfoid
 Limfom mediastinal din celule B mari
 Limfom intravascular din celule B mari
 ALK limfom pozitiv din celule B mari
 Limfom plasmoblastic
 Limfom din celule B mari dezvoltat în HHVB asociat multicentric
 Boala Castleman
 Limfom primar al seroaselor
 Limfomul Burkitt
 Limfom B-celular neclasificabil cu semne intermediare dintre limfomul difuz din B-celule mari și limfomul Burkitt
 Limfom B-celular neclasificabil cu semne intermediare dintre limfomul din B celule mari și limfomul classic Hodgkin
 Unități nozologice provizorii

Tumori ale precursorului limfocitului B

Leucemie acută B limfoblastică / limfom limfoblastic cu B-precursor

Leucemie B limfoblastică cu anomalii genetice recurente

Neoplasme T-celulare și NK celule mature

Leucemie prolimfocitară din T-celule
 Limfom limfocitar cu celulă mare T granulară
 Patologie cronică limfoproliferativă a NK cellule
 Leucemie agresivă din NK celule
 Patologie limfoproliferativă T-celulară la copii
 Sistemică EBV pozitivă
 Leucemie / limfom T-celulară la adult
 Limfom asemănător cu hidrona după vaccinare
 Limfom extraganglionar, tip nasal, cu cellule T/NK
 Limfom T-celular asociat cu enteropatie
 Limfom hepatosplenic T-celular
 Limfom tip paniculit subcutanat cu celula T
 Mycosis fungoides / Sindromul Sezary
 Patologie limfoproliferativă T-celulară CD 30 pozitivă cu afectarea primară a pielii
 papulosis lymphomatoid
 Limfom primar cutanat anaplazic cu celulă mare T
 Limfom T-celular primar cutanat gama-delta
 Limfom primar cutanat CD-8 pozitiv agresiv epidermotrofic citotoxic
 Limfom T-celular primar cutanat CD 4 celulă mică / medie
 Limfom din T-celule, periferic
 Limfom angioimunoblastic T-celular
 Limfom anaplastic din celule mari (ALCL), ALK positive
 Limfom anaplastic din celule mari, ALK negative
 Unități nozologice provizorii

În această clasificare se menționează ideia despre diagnosticul complex al LNH, care include caracteristica morfologică, imunohistochimică, genetică, biologie moleculară și clinică a tumorii. Se menționează de asemenea o concepție unică, care se referă la necesitatea studierii importanței localizării primare a focarului tumoral.

În clasificările amintite au suferit modificări esențiale, în deosebi, LNH indolente. Acest grup de limfoame a fost completat cu limfoame din celulele zonei mantale, limfoame din zona marginală, limfoame foliculare gradul I și gradul II, limfoame din limfocite mici. Până la evidențierea acestor variante morfologice ele toate erau interpretate ca limfoame prolimfocitare, deoarece celulele care formează substratul morfologic al acestor variante la studierea lor

microscopică nu diferă esențial. Probabil prin aceasta se poate explica diversitatea clinică și hematologică a așa numitor limfoame prolimfocitare.

Este necesar de menționat, că atât variantele prolimfocitare în sensul adevărat al denumirii, cât și subtipurile descrise mai sus sunt puțin studiate. Din această cauză LNH indolente nu sunt studiate pe deplin nici clinic și nici hematologic.

Analiza clasificărilor expuse ne convinge, că pe măsura acumulării datelor despre celulele, care constituie substratul morfologic al acestor patologii au fost modificate clasificările LNH, au fost conștientizate mai profund patogenia LNH, evoluția clinică și răspunsul la tratament. Diferențierea variantelor LNH argumentată anterior doar pe particularitățile morfologice ale tumorii în prezent este complexă și se bazează pe caracteristicile imunologice, citogenetice ale celulelor tumorale.

1.2. Cerințele moderne de identificare a variantelor limfoamelor non-Hodgkin

În ultimii 20-30 de ani au fost obținute succese remarcabile în studierea limfoamelor non-Hodgkin (LNH). Au fost argumentate multiple variante și subvariante ale acestor patologii reflectate în clasificările moderne ale LNH – REAL din 1994 [12], OMS din 2001 [14, 33] și 2008 [15, 16, 29], care ne obligă să identificăm varianta respectivă a LNH cu utilizarea metodelor morfologice, imunohistochimice și citogenetice.

Clasificarea REAL [12] și bazate pe ea Clasificările Internaționale ale tumorilor țesutului hematopoietic și limfatic OMS din 2001 [14, 33] și 2008 [15, 16, 29] au fost determinate în temei de succesele în studierea mecanismelor de diferențiere a limfocitelor [35, 36, 57]. A fost stabilit că celulele limfoide au anumite etape de dezvoltare. Pe suprafața membranei și în citoplasma lor sunt fixate antigene care permit de a identifica etapa de dezvoltare a celulei limfoide.

Antigenele de pe suprafața celulelor implicate în diferențiere se numesc „claster de diferențiere” (CD) („claster-of-differentiation”) și pot fi depistate cu ajutorul anticorpilor monoclonali specifici. Profilul antigenelor este diferit pentru T- și B-limfocite, în afară de aceasta antigenele se modifică la diferite stadii de diferențiere a limfocitelor [58].

Stadiile de diferențiere ale limfocitelor foarte bine au fost sistematizate de C.A. Лыговская cu coaut. [59]. Este cunoscut că limfocitele se dezvoltă din celulele stem ale măduvei oaselor, unde B-limfocitele petrec etapa de diferențiere antigen independentă. Etapa cea mai precoce de diferențiere a B-limfocitelor are denumirea de pro-B-limfocit. La acest stadiu pe membrana celulei apare CD19, care este un marker comun pentru toate B-limfocitele. Apariția CD19 are loc în

celulele cu expresia moleculelor HLA-DR deseori în asociere cu CD38, CD34, TdT [59]. La următoarea etapă de diferențiere pe membrana limfocitelor apare CD10 [60]. Acest stadiu are denumirea de pre-pre-B-limfocit. Ulterior, pe membrană apare molecula CD20 și celula obține imunofenotipul pre-B-limfocitului. Această etapă corespunde stadiului B-limfocitului matur. Procesul de diferențiere antigenindependentă a B-limfocitelor se finalizează cu expresia IgD, care coexistă cu IgM. Prezența pe membrană a IgM+IgD, CD19, CD20 permit de a considera B-limfocitul celulă matură (naivă). Din momentul când B-celula are complexul de receptor format, ea poate reacționa cu antigenele [59].

Limfocitele-B mature părăsesc măduva oaselor, nimeresc în circulația sanguină și sunt duse în organele limfatice periferice (ganglionii limfatici, splina etc), unde la întâlnire cu antigenele petrec etapa de diferențiere antigendependentă. În aceste organe ele își îndeplinesc funcțiile sale. Sursa de bază de reînnoire a B-limfocitelor este măduva oaselor [59].

În ganglionii limfatici B-limfocitele mature nimeresc în foliculile primare fără centru germinativ. Foliculile secundare se deosebesc de cele primare prin prezența centrului germinativ.

Morfologia celulelor din foliculul primar corespunde limfocitului mic, majoritatea din ele sunt fără semne de activare. Limfocitele expresează pe membrană CD19, CD20, CD22, CD24, CD37, așa dar, au fenotipul B- celulelor periferice. Antigenele activatoare CD23, CD5, CD10, CD38 de regulă lipsesc [60]. Antigenele CD5, CD23-B-limfocite fiind activate migrează în folicul, structura căruia în urma proliferării accelerate se modifică și apare centrul germinativ și așa numita zona mantalei. O parte din celule migrează și formează zona marginală, care înconjoară foliculii, ele rămân acolo în calitate de B-celule „de memorie” [59].

În centrul germinativ are loc procesul de maturare antigendependentă și diferențiere a B-celulelor. În centrul germinativ B- celulele pierd CD23 și se transformă în centroblaști, care activ proliferază. Pentru centroblaști este caracteristică expresia CD77, CD10, CD19, CD20, CD38 [59]. La fel aici, în centrul germinativ o parte din centroblaști se diferențiază în centrocite – celule mici cu nucleu clivat [59].

Din centrocite se formează B- celule „de memorie” - celulele plasmocitare. Celulele plasmocitare mature secretă imunoglobuline, care asigură funcția humorală a organismului. Ele pierd majoritatea receptorilor B- celulari cu păstrarea numai a CD38 [59].

Celulele zonei marginale a foliculilor din ganglionii limfatici, comparativ cu splina și țesutul limfatic al mucoaselor, sunt în cantități mici – așa numitele B- celule monocitoide. Denumirea reflectă asemănarea lor morfologică cu elementele monocitoide [59].

Imunofenotipul acestor celule corespunde B- celulelor activate aproape de stadiile terminale de diferențiere (CD19, CD20, CD22, CD37, CD40). Expresia CD21, CD23, CD24 de obicei

lipsește, prin ce ele se deosebesc de celulele centrelor germinative și din zona mantalei a foliculilor. Acest tip de celule mai mult se aseamănă cu limfocitele din zona marginală a splinei, dar se deosebește de ele prin expresia mai permanentă a CD20, CD39, CD38 [61].

Kilerii naturali (NK-celule) prezintă fracția limfocitelor lipsite de markerii T- și B-celulelor. Fenotipul lor este CD3+, CD16+, CD56+. Conținutul lor este mai mare în ficat și splină, în număr mic se depistează în ganglionii limfatici, măduva oaselor, plămâni, în foliculii limfatici ai intestinului subțire. Morfologic ele corespund limfocitelor mari granulare. Funcția lor de bază constă în citoliza de contact a virusilor, celulelor care intensiv proliferază [61].

Așadar, limfocitele diferențiate rămân morfologic mature în ganglionii limfatici, splină, submucoasa intestinului și alte organe până la întâlnirea cu antigene. Dacă a avut loc acțiunea antigenului atunci se începe un ciclu nou de multiplicare și diferențiere a limfocitelor care din nou trec prin stadiile morfologice de prolimfocit, celule blastice, imunoblaști. A. И. Воробьев și A. М. Кременецкая [62] menționează că din toate celulele hematopoietice numai limfocitele pot să treacă de câteva ori prin stadiul de blast. B-limfocitele trec prin acest stadiu cel puțin de 3 ori:

- a) la nivelul clasei celulelor stem
- b) la stadiul de răspuns imun primar
- c) la stadiul de răspuns imun secundar când celula „de memorie” se transformă în imunoblast și în final – în plasmocit.

La toate aceste nivele de diferențiere celulară se pot dezvolta tumori. Celulele blastice pot fi prezentate de celule de la aceste trei nivele și se deosebesc una de alta după imunofenotip. Nu se exclude, că aceste celule se deosebesc și morfologic, însă semnele morfologice ce le deosebesc nu sunt încă stabilite.

Stadiile de diferențiere a limfocitelor permanent se precizează. În rezultat, s-au stratificat liniile celulare (B-, T- și NK celule). Fiecare din aceste linii de celule constă din limfocite antigendependente și antigenindependente (corespunzător limfocite „imunologic mature” și „imunologic tinere”) [62].

De repetate ori, s-a menționat faptul că, fiecare celulă tumorală are analogul său – celula normală, care după malignizare formează substratul morfologic al variantei respective a LNH. Din această cauză minuțios se studiază transformările limfocitelor în organele periferice și se identifică celulele limfoide la diferite stadii de dezvoltare [62].

Importanța studierii morfologice cu identificarea variantelor LNH este destul de semnificativă. Însă doar studierea morfologică nu întotdeauna este suficientă, deoarece ea nu permite de a diferenția cu precizie variantele LNH. Sunt necesare datele imunogenezei, care reflectă procesul de transformare a celulelor limfoide din stare imatură în stare imunologic diferențiată. Fără

exagerare, se poate afirma, că la baza stabilirii variantelor LNH se află principiul de comparare morfoimunologică [57]. Pe baza acestui principiu toate LNH se împart în:

1. Tumori din celule predecesoare (aici sunt incluse și tumorile din celulele timusului – organul central al sistemului imun pentru T-limfocite)
2. Tumori din celulele cu fenotipul elementelor limfoide ale organelor periferice ale sistemului imun și constituie majoritatea LNH [57].

Diagnosticul imunologic al LNH constă în studierea detaliată a antigenelor membranei și citoplasmei celulelor tumorale pentru determinarea provenienței limfomului (B- sau T-celulară) și stadiul la care a fost stopată dezvoltarea normală. Se compară imunofenotipul celulelor tumorii cu imunofenotipul analogului celular normal [57, 58].

S-a dovedit că, LNH mai frecvent (85-90%) sunt B-celulare cu expresia antigenelor pan-B-celulare: CD19, CD20, CD22 de obicei, în complex cu HLA/DR. Celelalte antigene B-celulare (CD5, CD10, CD23, CD38) permit de a identifica subvariantele B-celulare. Pentru tumorile T-celulare este caracteristică prezența CD4, CD7, CD8 [57, 58, 63].

Determinarea particularităților imunofenotipice a diferitor variante morfologice ale LNH sunt de importanță prioritară, deoarece prezintă un component foarte informativ în diagnosticul complex al LNH [57, 63].

Ca regulă, LNH sunt tumori din celulele periferice ale sistemului imun. Leucemiile acute limfoblastice și o mică parte din limfoame (limfoamele limfoblastice) se dezvoltă din celulele imunologic tinere sau din celulele predecesoare antigenindependente. Aceste celule în normă se află în organele centrale ale imunogenezei – măduva oaselor și timusul. Limfoamele din B- și T-celule predecesoare în esență corespund manifestărilor extramedulare ale leucemiei acute limfoblastice [56].

Atenția principală în Clasificările OMS (2001) [14, 33] și (2008) [15, 16, 29] este consacrată posibilităților de perfecționare a diagnosticului limfoamelor și leucemiilor din celule limfoide mature cu utilizarea criteriilor imunologice. Acest grup de maladii limfoproliferative predomină la adulți. Limfoamele din celule mature periferice se dezvoltă din celule imunocompetente antigendependente ale organelor limfoide periferice (ganglionii limfatici, splina, țesutul limfoid al mucoaselor etc).

Până în prezent la descrierea imunofenotipului practic pentru toate variantele LNH se determină lista markerilor celulelor tumorale [5, 63].

Utilizarea listei markerilor permite de a determina forma nozologică, când celulele tumorale constituie majoritatea sau sunt pozitive nu mai puțin de 30% din celule și nu este eficace în cazurile

procentului mic de celule tumorale. În aceste cazuri importanța decisivă o are expresia concomitentă (coexpresia) a diferitor markeri pe aceleași celule [5, 64].

И. А. Воробьев cu coaut. [18, 65] consideră că, problema principală a imunofenotipării în hematologie constă în determinarea formei nozologice a maladiei pentru a indica tratamentul optimal pentru pacientul concret.

În scopul diagnosticului diferențial este necesar de a selecta o componență rațională a paneei markerilor imunologici, care permite de a deosebi variantele LNH histologic asemănătoare [18, 61].

Principiile generale ale investigațiilor imunohistochimice în diagnosticul LNH prevăd utilizarea în fiecare caz a paneei de anticorpi constituită în corespundere cu ipoteza de diagnostic care a apărut în rezultatul examinării histologice de rutină, dar nu al unui anticorp. Trebuie de ținut cont de combinația rezultatelor pozitive și negative în corespundere cu informația cunoscută a morfologiei tumorii și imunofenotipul celulelor tumorale [61, 63, 64].

După cum a fost menționat, în Clasificarea internațională a tumorilor sistemului hematopoietic și limfatic (2008), variantele LNH sunt evidențiate în corespundere cu analogul celular normal. În afară de aceasta unele variante în denumire includ și structurile din organele limfatice. De aceea în lista formelor nozologice figurează așa denumiri ca:

- ✓ limfomul din celulele centrului foliculului,
- ✓ din zona mantalei,
- ✓ din zona marginală [15, 16, 29].

Diagnosticul tumorii țesutului limfatic trebuie să se bazeze pe investigațiile histologice și imunohistochimice a biopsatului. Examinarea imunohistochimică a tumorilor țesutului limfatic este metoda de elecție în cazurile de diagnostic diferențial cu tumorile care au modificări histologice similare [18, 63].

Depistarea echivalentului normal al celulelor tumorale în hemopatiile maligne prezintă unul din succesele importante în ultimii ani. Ea este cheia în imunodiagnostic și deschide noi direcții de cercetare, bazate pe căutarea căilor de alternativă (necitotoxice) de reglare a proliferării și diferențierii celulelor tumorale. Necesitatea de determinare a echivalentului normal al celulelor limfomului se explică și prin aceea că caracteristicile creșterii tumorale, progresarea, activitatea proliferativă, sensibilitatea celulelor tumorale la chimioterapie în mare măsură depind de particularitățile biologice ale acestor celule și în primul rând de apartenența liniei celulare și nivelul de diferențiere.

1.3. Actualități în studierea limfoamelor non-Hodgkin indolente

Limfoamele non-Hodgkin (LNH) prezintă un grup heterogen de tumori limfoproliferative, care se deosebesc prin proprietățile biologice, structura morfologică, manifestările clinice, prognostic și răspuns la tratament [19, 20, 21, 22, 23, 28, 62, 66, 67]. Variantele LNH cunoscute în prezent sunt sistematizate în Clasificarea OMS (2001, ulterior în cea din 2008) a tumorilor țesutului hematopoietic și limfatic [14, 33, 68, 29]. Conform datelor literaturii s-a observat că, mai frecvent se dezvoltă limfomul difuz macrocelular, care constituie 30-40% [69, 70], după care urmează limfomul folicular, care este diagnosticat în 20% cazuri [69]. Restul variantelor se întâlnesc mult mai rar. Limfomul din celulele zonei marginale constituie 8%, limfomul B-microcelular și T-celular periferic – 7%, limfomul din celulele zonei mantalei – 5%, limfomul Burkitt – 3%, limfomul macrocelular anaplastic – 2%, alte variante – 12% [17, 21, 71]. Din numărul total de decese cauzate de tumorile maligne, 5% revin LNH [72]. În 2001 în SUA LNH au reprezentat a patra cauză de deces în rândul tumorilor maligne la bărbați în vârstă aptă de muncă (20-39 ani) [73].

Posibil frecvența joasă a unor variante ale LNH este una din cauzele studierii insuficiente a tipurilor LNH incluse în ultimii ani în clasificarea tumorilor țesutului limfoid.

Pentru determinarea tacticii de tratament și a prognosticului are o importanță semnificativă cunoașterea gradului de malignitate a tipurilor LNH. În funcție de agresivitatea procesului tumoral LNH sunt divizate în:

1. variante indolente (cu grad jos de malignitate)
2. variante agresive (cu grad înalt de malignitate) [21].

LNH indolente includ:

- limfomul limfocitar din limfocite mici / leucemia B-limfocitară cronică,
- limfomul din celulele zonei marginale,
- limfomul folicular gradul I și II,
- limfomul limfoplasmocitar.

LNH indolente se caracterizează prin progresare lentă, supraviețuire înaltă, sensibilitate moderată la chimioterapie și absența posibilității de vindecare prin utilizarea chimioterapiei standarde. Însă nu sunt cercetate aspectele clinice pentru fiecare tip de LNH separat, studierea căroră, posibil, vor evidenția unele particularități ce vor contribui la individualizarea tratamentului.

În LNH agresive evoluția este mult mai agresivă, supraviețuirea în unele cazuri este de scurtă durată și constituie câteva luni. Aceste tipuri de LNH deseori sunt înalt sensibile la

chimioterapie și pacienții diagnosticați în stadiile locale pot fi vindecați prin aplicarea metodelor standarde de chimioterapie. Supraviețuirea variază în funcție de varianta morfologică. De exemplu, în cazurile de LNH difuz din celulă mare B supraviețuirea de peste 5 ani constituie 38%, dar în limfomul folicular gradul III-68% [14, 21].

Cristian Buske [74] menționează diferența dintre LNH indolente și agresive prin următoarele criterii (vezi tabelul 1.1.).

Tabelul 1.1. Diferența dintre LNH indolente și agresive

Criteriul	LNH indolente	LNH agresive
Raportul	40 – 50%	50 – 60%
Dezvoltarea și creșterea tumorii	În general lentă	De obicei rapidă
Simptomele	Deseori asimptomatice la stabilirea diagnosticului, se depistează în multe cazuri ocazional	Simptomele sunt mai evidente
Tratamentul	Se efectuează la apariția simptomelor „B”. Strategia de obicei este „watch-and-wait”	Se începe la stabilirea diagnosticului
Răspunsul la tratament	Răspund bine la tratament, dar se păstrează riscul de recidivă. Rar se obține vindecare.	Necesită tratament agresiv cu posibilitate de vindecare.

În literatură sunt puține lucrări consacrate aspectelor clinice ale LNH și în ele manifestările clinice ale LNH indolente sunt descrise fără specificarea variantelor. Semnele clinice de bază ale acestor LNH conform datelor lui Cristian Buske [74] sunt expuse în următoarea modalitate:

- Adenopatia periferică cu progresare lentă este cea mai comună prezentare clinică la acești pacienți.
- Poate avea loc regresia spontană a ganglionilor limfatici măriți ceea ce poate servi ca o confuzie cu un proces benign infecțios.
- Afecțiunea primară extranodală și B-simptomele (febra $>38^{\circ}\text{C}$, transpirații abundente nocturne, pierderea în pondere 10% și mai mult în ultimele 6 luni) nu sunt evidente la prima

adresare, ele se depistează la pacienții cu avansare sau la transformarea malignă (evoluția din low-grade în intermediare – sau high grade lymphoma), ori în ultimul stadiu al bolii.

- Măduva oaselor este frecvent afectată și se poate asocia cu citopenii.
 - Fatigabilitatea și slăbiciunea sunt mai caracteristice pentru pacienții în stadii avansate.
 - Limfoamele indolente constituie 37% din LNH la pacienții în vârstă de 35-64 de ani și numai 16% la pacienții mai tineri de 35 de ani.
 - Limfoamele indolente extrem de rar afectează copiii.
-

Pentru a evidenția particularitățile menționate ale limfoamelor non-Hodgkin indolente, vom face o comparație cu aspectele clinice ale variantelor agresive ale LNH, care pot fi sistematizate astfel:

- Manifestările clinice ale acestor limfoame sunt mai variate.
- Majoritatea pacienților se adresează cu limfadenopatie.
- Mai mult de o treime din pacienți se adresează cu localizări extranodale, cele mai frecvente fiind tractul gastrointestinal, inelul Waldeyer, pielea, sinusurile paranazale, glanda tiroidă, sistemul nervos central.
- Pacienții cu limfomul Burkitt, deseori se prezintă cu mase tumorale mari abdominale și simptome de ocluzie intestinală.
- Aceste limfoame pot conduce la hidronefroză secundară obstructivă a ureterelor cauzată de limfadenopatia masivă retroperitoneală.
- Afectarea primară a sistemului nervos central se observă în LNH cu grad înalt de malignitate de origine B-celulară.
- Majoritatea limfoamelor cu afectarea sistemului nervos central sunt macrocelulare, ele se dezvoltă mai frecvent la bolnavii cu imunodeficit (transplant de organe, HIV/SIDA etc) [21, 73, 74, 75].

Astfel particularitățile clinice expuse permit de a suspecta într-o măsură oricare LNH indolente sau cele agresive, ce pot contribui la selectarea mai rațională a anticorpilor monoclonali pentru identificarea imunohistochimică a variantelor LNH.

Este cunoscut faptul că LNH indolente sunt microcelulare cu creștere difuză a celulelor tumorale. În majoritatea cazurilor LNH indolente sunt B- celulare și foarte rar pot fi de origine T-celulară. În cazurile când examinarea imunohistochimică cu CD pan-B (CD19, CD20, CD22, CD79a) confirmă originea B-celulară cu celule mici diagnosticul diferențial se limitează între limfomul limfocitar, limfomul zonei marginale, limfomul din celulele zonei mantalei, limfomul limfoplasmocitar și limfomul folicular de gradul I cu caracter difuz de creștere. În scopul

diferențierii acestor variante se utilizează anticorpii monoclonali CD5, CD23, CD10, CD38. Caracterul folicular de afectare a țesutului limfoid indică că procesul tumoral este B-celular [21, 76].

În LNH indolente examinarea imunohistochimică prin urmare, pentru identificarea tipului este absolut necesară. Deoarece tabloul morfologic al diverselor tipuri de LNH indolente este asemănător, în diagnosticul lor imunohistochimic se utilizează un număr mare de anticorpi monoclonali. Determinarea unor particularități clinice și hematologice, vor contribui la o selectare a anticorpilor monoclonali în funcție de varianta morfologică. Astfel, identificarea corectă a variantelor LNH indolente și evidențierea aspectelor clinice și hematologice vor crea posibilități pentru personalizarea tratamentului.

Principiile generale de investigare imunohistochimică în diagnosticul LNH, inclusiv și celor indolente, prevăd utilizarea individualizată a paneei de anticorpi (alcătuită în corespundere cu ipoteza diagnosticului care a apărut în rezultatul examenării histologice. E necesar de luat în calcul combinația rezultatelor pozitive și negative în conformitate cu informația cunoscută despre structura morfologică a tumorii și imunofenotipul celulelor tumorale [21, 77].

Experiența Centrului Oncologic al Academiei de Științe Medicale a Federației Ruse denotă că imunofenotiparea în diagnosticul LNH este rațional de efectuat pe materialul histologic obținut din tumoare [78]. Aceasta permite de a studia celulele limfomului în interrelații naturale cu celulele netumorale ale ganglionului limfatic, de a stabili caracterul de creștere a tumorii (nodular sau difuz). Studierea celulelor LNH pe frotiul histologic la microscopia obișnuită permite de a aprecia componentul macrocelular și microcelular [21].

Prin urmare, cele expuse se referă și la LNH indolente, care sunt de obicei microcelulare. Microscopic se poate de presupus că LNH sunt indolente sau agresive. Însă este destul de dificil de a determina tipul concret a LNH indolente deoarece citologic și histologic ele sunt mult asemănătoare. Din aceste considerente efectuarea cercetărilor imunohistochimice pentru determinarea variantelor LNH indolente sunt obligatorii și rămân actuale.

În prezent sunt cunoscute unele criterii de identificare a formelor LNH indolente, care vor fi analizate separat pentru fiecare variantă.

Limfomul B limfocitar din celule mici figurează în Clasificarea OMS (2001 și 2008) sub denumirea de **leucemie limfocitară cronică / limfom limfocitar din limfocite mici**. Majoritatea autorilor [57, 79, 80, 81, 82, 83] consideră, că limfomul limfocitar din limfocite mici prezintă manifestarea tumorală extramedulară a leucemiei limfocitare cronice și că primar acest limfom afectează ganglionii limfatici, dar nu măduva oaselor, însă frecvent și în scurt timp se include în proces și măduva oaselor cu pătrunderea celulelor limfoide tumorale în sângele periferic

(leucemizare). La etapa de leucemizare tabloul hematologic al limfomului limfocitar este în multe aspecte analogic celui observat în leucemia limfocitară cronică [84]. Posibil din aceste considerente frecvența reală a limfomului limfocitar rămâne necunoscută.

A.И. Воробьев și A.M. Кременецкая [62] menționează, că pentru acest tip al LNH sunt caracteristice celulele leucolizei (așa numitele umbre Botkin-Gumprecht) – nuclee semidistruse ale limfocitelor care se observă în frotiurile pregătite din sângele periferic. În alte tumori limfoide așa celule lipsesc. În preparatele histologice și în sângele periferic sunt prezente în număr diferit prolimfocite și celule mari numite paraimunoblaști. Pot fi și celule limfoide cu diferențiere plasmocitară. Pentru confirmarea diagnosticului în această variantă importantă este pozitivă coexpresia CD5 și CD23 [21, 85, 86, 87, 88, 89].

În literatură n-au fost găsite studii comparative clinico-hematologice, citologice, histologice și imunohistochimice ale leucemiei limfocitare cronice cu dezvoltarea primară în măduva oaselor și limfomul limfocitar microcelular cu debutul primar extramedular. Este rațional efectuarea acestor cercetări, care posibil vor depistata unele deosebiri esențiale ce vor permite individualizarea tratamentului.

O altă variantă a LNH indolente este **limfomul limfoplasmocitar**, substratul morfologic al căruia îl constituie B-limfocitele cu diferențiere în celulele plasmocitare cu creștere difuză [90]. În cazurile de afectare parțială a ganglionului limfatic afecțiunea se localizează parafolicular. În majoritatea cazurilor limfomul limfoplasmocitar corespunde bolii Waldenstrom [21]. Este necesar de menționat că și în alte variante de LNH din limfocite mici se observă diferențierea plasmocelulară, care poate fi deosebită de limfomul limfoplasmocitar pe baza cercetărilor imunohistochimice.

Cercetările imunohistochimice arată că celulele tumorale au semnele limfocitelor mature (CD19, CD20, CD22, CD79a). Însă pe membrana celulelor limfoplasmocitare lipsesc CD10, CD5, CD23, ce permit efectuarea diagnosticului diferențial cu leucemia limfocitară cronică, limfomul zonei mantalei, limfomul folicular. Pentru limfomul limfoplasmocitar este caracteristică expresia CD38 [21].

Unul din cele mai frecvente tipuri ale LNH indolente este **limfomul folicular**. Conform datelor literaturii LNH folicular constituie 20-25% din totalul LNH [69, 91, 92] și 70% din cazurile de LNH indolente [91].

În LNH foliculare majoritatea pacienților sunt diagnosticați la o vârstă avansată și frecvența lor crește cu vârsta. Mediana vârstei constituie 60 de ani [93]. La stabilirea diagnosticului sunt des depistate stadiile generalizate ale bolii [69, 89, 94]. Doar în 20-30% cazuri procesul tumoral este

diagnosticat în stadiile I și II ale bolii [95, 96]. Limfoamele foliculare se caracterizează printr-o evoluție lentprogresivă, cu răspuns inițial bun la tratament, dar cu frecvente recăderi [91, 97].

Este cunoscut că LNH folicular se poate transforma în variante mai agresive ale tumorii, care în mediu constituie 3% anual [98, 99, 100, 101].

Este necesar de menționat că celulele limfomului folicular în dezvoltarea sa evoluează prin stadiile benigne și maligne, modificânduși morfologia. Peste 9-10 ani acest limfom se poate transforma în limfom agresiv, care în unele locuri păstrează caracter folicular, în alte nu se deosebește de B-linfom difuz macrocelular [102, 103, 104, 105, 106, 107]. Mai frecvent, în 25-35% din cazuri, are loc transformarea în LNH difuz din celule mari B, mai rar în limfomul Burkitt [99, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114]. Transformarea LNH folicular se confirmă prin cercetări histologice în care se depistează majorarea numărului de centroblaști și pierderea completă a creșterii nodulare a tumorii [100]. Caracteristica clinicomorfologică la momentul stabilirii diagnosticului primar reflectă una din etapele intermediare de transformare a tumorii cu modificarea aspectelor biologice [115].

Prognosticul LNH foliculare în cazurile de transformare în variantele agresive este foarte nefavorabil. Mediana supraviețuirii constituie 1-2 ani [113].

În Clasificarea OMS (2001 și 2008) sunt specificate 3 tipuri de creștere a tumorii în ganglionii limfatici:

1. nodular
2. nodular-difuz
3. difuz.

În LNH foliculare celulele tumorale își păstrează capacitatea de a forma structuri foliculare (nodulare). Însă pe măsura avansării creșterii tumorale focarele foliculare se unesc unul cu altul formând câmpuri de creștere difuză. În literatură sunt propuneri de determinare a caracterului creșterii tumorale, reieșind din următoarele criterii: atunci când numărul foliculelor tumorale depășesc 75% din suprafața ganglionului limfatic caracterul creșterii de considerat nodular, 25-75% - nodular - difuz, iar în cazurile când foliculele ocupă mai puțin de 25% din suprafața ganglionului limfatic se poate constata că procesul tumoral are o creștere difuză [21, 81].

Astfel, în LNH foliculare poate fi și caracter difuz de creștere. Mai frecvent LNH folicular difuz mai frecvent are loc în cazurile prezenței celulelor mici cu nucleu clivat.

Conform investigațiilor complexe efectuate de Н.Н. Тупицын [78] caracterul creșterii limfoamelor foliculare din celule mici poate fi diferit. În 60% din cazuri celulele tumorale formează structuri nodulare. Nodulii, ca regulă, au granițe bine delimitate, situați uniform pe secțiunea ganglionului limfatic. În 25,7% de cazuri creșterea tumorală este mixtă nodular-difuză. În 14,3% de

cazuri celulele tumorale cresc difuz. Tendința de creștere difuză se consideră un semn nefavorabil [21].

Este necesar de menționat, că criteriile imunomorfologice au o importanță semnificativă pentru diagnosticul diferențial al LNH foliculare din celule mici cu limfoamele din celulele zonei mantalei, leucemiei limfocitare cronice / limfomul limfocitar din limfocite mici și limfoamele din zona marginală. Imunohistochimic pentru LNH foliculare sunt pozitive CD19, CD20, CD22 – antigene pan B-celulare și CD10. Lipsesc CD5, CD23, CD38 [21, 94].

Acest limfom prezintă o tumoare care se dezvoltă din celulele centrelor foliculare: centrocite – celule mici cu nucleu clivat și centroblaști – celule mari cu nucleu neclivat.

Conform Clasificării tumorilor țesutului hematopoietic și limfatic OMS (2008) în funcție de componența celulară a LNH foliculare sunt împărțite în 3 grade citologice (tab. 1.2.).

Tabelul 1. 2. Clasificarea OMS a limfomului folicular

Gradele limfomului folicular în funcție de numărul centroblaștilor	
Gradul	Numărul de centroblaști
Gradul 1	0-5 centroblaști
Gradul 2	6-15 centroblaști
Gradul 3	> 15 centroblaști
3A	> 15 centroblaști, dar încă sunt prezente centrocite
3B	Centroblaștii formează câmpuri fără rămășiți de centrocite

Divizarea LNH foliculare în tipurile citologice 1, 2 și 3A, poate fi considerată condițional, deoarece manifestări clinice care ar confirma deosebirea lor biologică nu sunt. Însă evidențierea tipului citologic 3B este argumentată, fiindcă evoluția clinică agresivă și răspunsul rezervat la terapia efectuată determină distribuția acestei forme într-un grup separat [101, 116].

Spre deosebire de LNH foliculare de tip 1-3A, la care în rezultatul chimioterapiei standart se pot obține remisiuni de lungă durată și supraviețuirea generală poate atinge 70%, în cazurile tipului 3B supraviețuirea generală în aceeași termeni nu depășește 45% [97, 101, 107]. Aceste date confirmă evoluția agresivă și prognosticul mai puțin favorabil al LNH foliculare 3B.

Diagnosticul de LNH foliculare 3B se stabilește în cazurile când în preparatele histologice sunt doar câmpuri cu celule tumorale morfologic centroblaști și lipsesc centrocitele. Centroblaștii pot forma sectoare de creștere difuză cu dispariția structurilor foliculare [101].

Pentru diagnosticul limfomului folicular sunt relevante câteva aspecte cheie. În primul rând este necesar de efectuat diferențierea limfomului folicular cu hiperplazia foliculară reactivă benignă. În diagnosticul diferențial au însemnătate unele semne morfologice ca: densitatea mai joasă a foliculelor pe o unitate de suprafață, prezența polarității în cadrul foliculelor și absența tabloului monomorf în foliculele care sunt caracteristice pentru hiperplazia reactivă [21].

Imunohistochimic pentru LNH folicular CD10 este pozitiv, iar în hiperplazia reactivă a foliculelor, are loc absența CD10 în zonele interfoliculare. Prezența clonalității este un semn important în favoarea diagnosticului limfomului folicular [21, 81, 82]. În caz de hiperplazie foliculară se observă elemente limfoide de diferit grad de maturare cu forme tinere, mitoze în unele celule, prezența celulelor macrofagale cu semne de fagocitoză inclusiv în structurile foliculare [21, 81, 82].

Foliculele tumorale în limfoamele foliculare se depistează în toate zonele anatomice ale ganglionului limfatic. Foliculele au o formă analogică și aproximativ au aceleași dimensiuni spre deosebire de procesele reactive în ganglionii limfatici. Foliculele tumorale sunt situate unul lângă altul deformându-se și unele din ele capătă o formă poligonală. În același timp printre foliculele în limfomul folicular aproape întotdeauna se poate evidenția T-zona care conține limfocite mici [21].

Foliculele tumorale nu sunt înconjurate de un strat din limfocite mici a așa numitei zone a mantalei. Straturi clare concentrice din limfocite mici sunt un semn caracteristic pentru un proces hiperplastic. Centroblaștii și centrocitele formează un complex omogen de celule. Celulele macrofagale din foliculul limfomului practic nu fagocitează, iar în procesele reactive ușor se depistează fagocitoza bucățelelor de nuclee distruse [21].

În LNH indolente sunt incluse și **limfoamele din celulele zonei marginale** care se dezvoltă din B-limfocite din zona marginală a foliculelor. Denumirea de „limfoame ale zonei marginale” pentru prima dată a fost folosită în Clasificarea REAL (1994) [12]. Ulterior în Clasificarea OMS (2001 și 2008) au fost evidențiate 3 variante ale limfomului zonei marginale: limfoamele nodale ale zonei marginale cunoscute și ca limfoame monocitoide B-celulare, limfoamele marginale ale splinei, limfoamele extranodale de tipul MALT (mucosa associated lymphoid tissue) – limfomul țesutului limfoid asociat cu tunica mucoasă [14, 15, 16, 29, 117]. LNH din celulele zonei marginale constituie nu mai mult de 10-15% din toate LNH [118]. Cea mai frecventă formă a LNH din celulele zonei marginale este limfomul MALT, care se dezvoltă în 7-8% cazuri din numărul total al LNH. Mai rar se întâlnește forma nodală (2%) și lienală (0,8-2%) [69, 119]. MALT - limfomul constituie 8% din toate LNH B-celulare [120] și aproximativ 50% din toate LNH cu afectarea primară a stomacului [121]. Aceste LNH se dezvoltă extranodal în tractul gastrointestinal și alte

organe, care conțin epitelii glandulare, în glanda tiroidă, glandele salivare, plămâni, glanda mamară, ficat, amigdale [21, 122].

Infecțiile cronice și procesele autoimune prezintă un risc în dezvoltarea limfomului MALT. Aceasta a fost confirmat prin depistarea *Helicobacter pylori* în mucoasa gastrică în 90% de cazuri de MALT limfom gastric [117]. Limfomul MALT, cât și forma lienală și nodală a LNH din celulele zonei marginale frecvent sunt asociate cu HCV [123, 124].

Evoluția limfomului MALT este indolentă. Supraviețuirea generală de peste 10 ani a pacienților cu stadii locale variază 79-87%, în unele cazuri poate atinge 98% [125, 126].

Transformarea LNH din celulele zonei marginale în LNH difuz din celula mare B are loc mai rar decât în LNH foliculare și constituie până la 10% [127].

LNH nodal din celulele zonei marginale (așa numitul limfom B-celular monocitoid) este o formă rară, care clinic se manifestă prin limfadenopatie [128, 129].

În ultimii ani este o tendință de creștere a LNH nodal din celulele zonei marginale. Din 2001 incidența lor a crescut cu 41% [130, 131]. În literatură există opinii că factorul etiologic principal în dezvoltarea LNH din celulele zonei marginale este infecția cronică, frecvent se asociază cu HVC [132]. În această formă frecvent au loc recăderi [130]. Rar are loc transformarea în LNH difuz din celule mari B [133].

LNH nodal din celulele zonei marginale prezintă un tablou morfologic heterogen din punct de vedere al arhitecturii [134]. LNH marginal nodal din punct de vedere morfologic se aseamănă mult cu subtipurile lienale și MALT, dar diferă prin prezentarea clinică, moleculară, tratament și prognostic [134].

Celulele tumorale infiltrează zona marginală și centrele foliculelor. Se poate observa diferențierea plasmocitară și colonizarea foliculelor [21]. Studiarea insuficientă, posibil din cauza frecvenței joase a acestor limfoame nu a permis depistarea particularităților clinico-hematologice pentru elaborarea unei tactice de tratament mai adecvat.

LNH lienal este o formă rar întâlnită, care se dezvoltă din celulele zonei marginale ale splinei [135]. Această formă se întâlnește preponderent la persoanele cu vârsta de peste 50 de ani. Vârsta medie fiind 69 de ani [136]. În tabloul clinic simptomul principal al bolii este splenomegalia, care frecvent este însoțită de afectarea măduvei oaselor cu leucemizare [135]. Deseori acest tip de LNH este diagnosticat în stadii generalizate [135]. Evoluția de obicei, este lentă. Mediana supraviețuirii constituie 8-10 ani [130]. LNH lienale din celulele zonei marginale în 5-10% se pot transforma în LNH difuz din celule mari B [137, 138]. LNH lienal din celulele zonei marginale se dezvoltă în pulpa albă a splinei, B- celulele monocitoide sunt aranjate ca un inel în jurul foliculului, iar centrocitele parcă ar umbri zona de manta și ocupă centrele germinative [139].

LNH tip nodal și lienal din celulele zonei marginale este necesar de efectuat diagnosticul diferențial cu alte tipuri ale LNH indolente: limfomul limfocitar din limfocite mici, limfomul folicular gradul I, limfomul zonei mantalei, limfomul limfoplasmocitar.

În diagnosticul diferențial au o importanță semnificativă metodele imunohistochimice, care depistează expresia CD19, CD20, CD79a și absența expresiei CD5 și CD10. Lipsa CD5 permite de a exclude limfomul limfocitar din celule mici și limfomul din celulele zonei mantalei. Excluderea limfomul folicular permite absența expresiei CD10 [21, 22].

Limfomul din celulele zonei mantalei este o patologie heterogenă atât din punct de vedere clinic cât și biologic. Este bine determinată prin genetica moleculară [140]. LNH din celulele zonei mantalei este un limfom de origine B- celulară, care se întâlnește destul de rar. Acest tip al LNH constituie 4-7% [69, 133, 141, 142, 143, 144, 145] din totalul LNH. Pentru prima dată acest tip de limfom a fost descris în anii 70 de către C. Berard [146] și K. Lennert [10] și a fost inclusă în clasificarea REAL în 1994 [13].

LNH din celulele zonei mantalei se dezvoltă preponderent la o vârstă avansată și predomină la bărbați [141, 144, 147]. Majoritatea cazurilor de LNH din celulele zonei mantalei prezintă o evoluție agresivă asociată de o progresare rapidă cu un prognostic nefavorabil [140, 144, 148, 149]. Mediana supraviețuirii constituie 4-5 ani [148, 150, 151, 152]. Doar în 10-15% de cazuri se caracterizează printr-o evoluție indolentă [140, 141]. Conform datelor literaturii clinic și biologic LNH din celulele zonei mantalei sunt divizate în 2 subtipuri: microcelular și blastoid [69, 153, 154].

Imunohistochimic celulele tumorale în LNH din celulele zonei mantalei sunt cu expresia markerilor pan - B celulari CD19, CD20, mai slab CD22. Caracteristic pentru această variantă este expresia CD5. Lipsește expresia antigenelor CD10 și CD23, care permite diferențierea acestui limfom de LNH folicular la care CD10 este pozitiv și de LNH limfocitar din limfocite mici cu prezența CD5 și CD23 [89, 113, 115].

Manifestările clinice sunt diverse. Majoritatea pacienților se diagnostică în stadii generalizate cu limfadenopatie, splenomegalie, frecvent are loc interesarea măduvei oaselor, tractului gastrointestinal [69, 115, 144, 155, 156]. În tipul blastoid pot avea loc determinări în sistemul nervos central cu prezența semnelor neurologice și se confirmă prin cercetarea lichidului cefalorahidian [157, 158]. În unele cazuri LNH din celulele zonei mantalei se pot transforma în variante agresive ale LNH [153, 159].

Rar, LNH din celulele zonei mantalei pot fi diagnosticate în stadiile incipiente ale procesului tumoral [160].

Deși sunt criterii imunohistochimice, citogenetice clare pentru diagnosticul LNH din celulele zonei mantalei, luând în considerație tabloul clinic divers, cercetările îndreptate spre

determinarea unor particularități clinice care ar contribui la individualizarea tratamentului sunt actuale.

Analiza surselor bibliografice autohtone și internaționale ne-a permis să formulăm scopul și obiectivele studiului.

Scopul: Studierea 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: studierea modificărilor morfologice, imunohistochimice conform variantelor LNH indolente; evaluarea aspectelor clinice ale variantelor LNH indolente în funcție de vârstă, localizarea focarului primar tumoral; estimarea caracterului metastazării inițiale și la etapa de generalizare a LNH indolente; studierea indicilor hematologici ai sângelui periferic și măduvei oaselor în funcție de varianta LNH indolente; evaluarea indicilor de supraviețuire a pacienților în funcție de varianta LNH indolente.

1.4. Concluzii la capitolul 1

1. Progresul considerabil în cercetările morfologice, imunohistochimice, citogenetice și introducerea biologiei moleculare a permis o mai bună cunoaștere a formelor deja cunoscute ale limfoamelor non-Hodgkin, precum și punerea în evidență a noilor entități. Pe parcursul anilor au fost elaborate un șir de clasificări ale LNH, care au fost modificate aproape la fiecare deceniu. Cu toate acestea, nu există o clasificare ideală a LNH, deoarece este imposibil de obținut așa ceva în condițiile varietății de forme a entităților incluse în această categorie a neoplaziilor limfoide, care sunt în continuă cercetare în diverse aspecte, iar imperfecțiunile ei nu reflectă decât nivelul de cunoaștere a acestei patologii.

2. În clasificarea OMS din anul 2008 au fost evidențiate noi tipuri ale LNH, îndeosebi cele indolente. Acest grup de LNH a fost completat cu LNH limfocitar din limfocite mici, LNH folicular, LNH din celulele zonei marginale și LNH din celulele zonei mantalei. Aceste tipuri ale LNH indolente sunt studiate din punct de vedere morfologic, imunohistochimic, în ultimii ani se face accent îndeosebi pe cercetările citogenetice, biologiei moleculare. Însă aspectele clinico-hematologice ale fiecărui tip rămân puțin studiate. Deaceia determinarea unor particularități clinice și hematologice ale fiecărui tip de LNH indolent în conformitate cu clasificarea OMS din 2008 prezintă interes atât din punct de vedere teoretic cât și practic și este actuală.

2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

2.1. Caracteristica materialului clinic

În conformitate cu scopul și sarcinile investigaționale trasate au fost studiate aspectele clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice la 82 de pacienți cu limfoame non-Hodgkin indolente în vârstă de la 27 de ani până la 79 ani, care s-au aflat la tratament și evidență în Centrul Hematologic și Centrul Consultativ Diagnostic al IMSP Institutul Oncologic în perioada anilor 2007-2011.

Criterii de includere în studiu:

1. Vârsta pacientului > de 18 ani
2. Obținerea acordului informat al pacientului
3. Confirmarea morfologică și imunohistochimică a diagnosticului de LNH indolent
4. Evidența în dinamică a pacientului.

Criterii de excludere din studiu:

1. Vârsta pacientului < de 18 ani
2. Refuzul pacientului
3. Confirmarea incompletă a diagnosticului: morfologic sau imunohistochimic
4. Lipsa posibilității evidenței în dinamică a pacientului din motivul neprezentării.

Pentru persoanele incluse în studiu au fost completate fișele de cercetare elaborate de noi, adaptate specificului patologiei studiate:

- numele, prenumele
- sexul;
- numărul fișei medicale ambulatorii sau de staționar;
- anul nașterii;
- vârsta la momentul stabilirii diagnosticului;
- diagnosticul cu enumerarea zonelor de afectare și stadiul clinic;
- confirmarea diagnosticului (citologic, histologic, imunohistochimic);
- maladiile concomitente;

- data debutului maladiei;
- data stabilirii diagnosticului;
- termenul de stabilire a diagnosticului după apariția primelor semne clinice;
- termenul de stabilire a diagnosticului din momentul adresării la medic;
- primele semne clinice (acuzele, datele obiective, focarul primar, zonele de metastazare inițială, zonele de metastazare la distanță);
- durata remisiunii;
- recăderile sau/și avansările;
- durata vieții de la primele semne clinice ale maladiei.

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, trepanobiopatul osului iliac.

Investigațiile hematologice: hemograma, medulograma cu interpretarea citologică și histologică au fost efectuate în laboratorul hematologic al IMSP Institutul Oncologic.

Hemograma apreciază:

- numărul de globule roșii din sânge - eritrocite (RBC),
- numărul de globule albe din sânge - leucocite (WBC),
- cantitatea totală de hemoglobina din sânge (HGB),
- procentul de globule roșii (hematocrit) (HCT),
- media volumului globulelor (MCV) - mărimea globulelor roșii,
- media globulară a hemoglobinei (MCH),
- concentrația medie a hemoglobinei (MCHC),
- numărul de trombocite (PLT).

Medulograma apreciază parametrii măduvei oaselor: celularitatea (normocelulară, hipocelulară, hipercelulară), eritropoeza, granulopoeza, megacariopoeza, limfocitele, monocitele, prolimfocitele, limfoblaștii.

Trepanobiopsia apreciază: celularitatea (normocelulară, hipocelulară, hipercelulară), raportul dintre țesutul hematopoietic și țesuturile din micromediul lui, modul de afectare a măduvei oaselor (focar sau difuz).

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

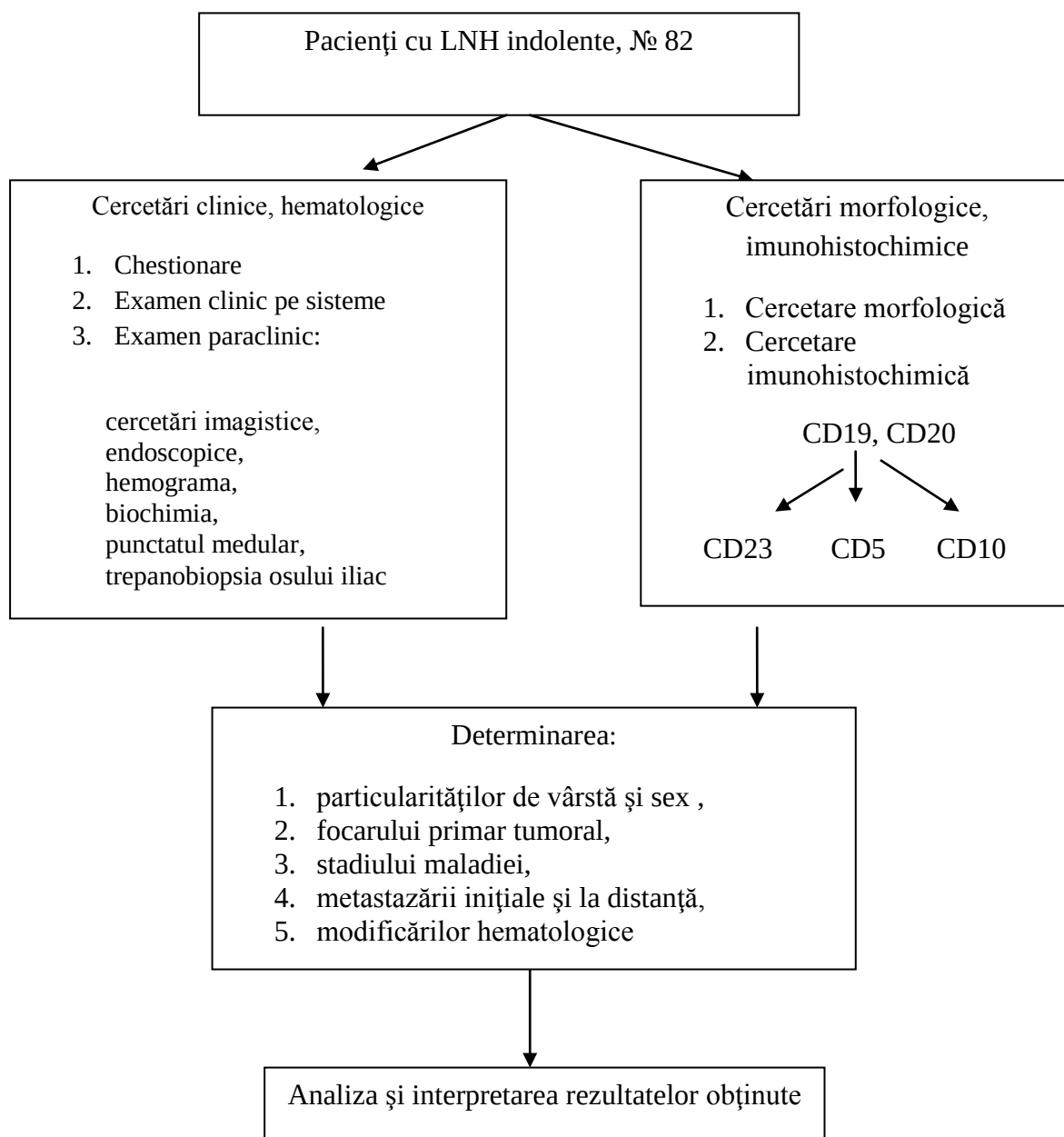


Fig. 2.1. Dizainul studiului.

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.)

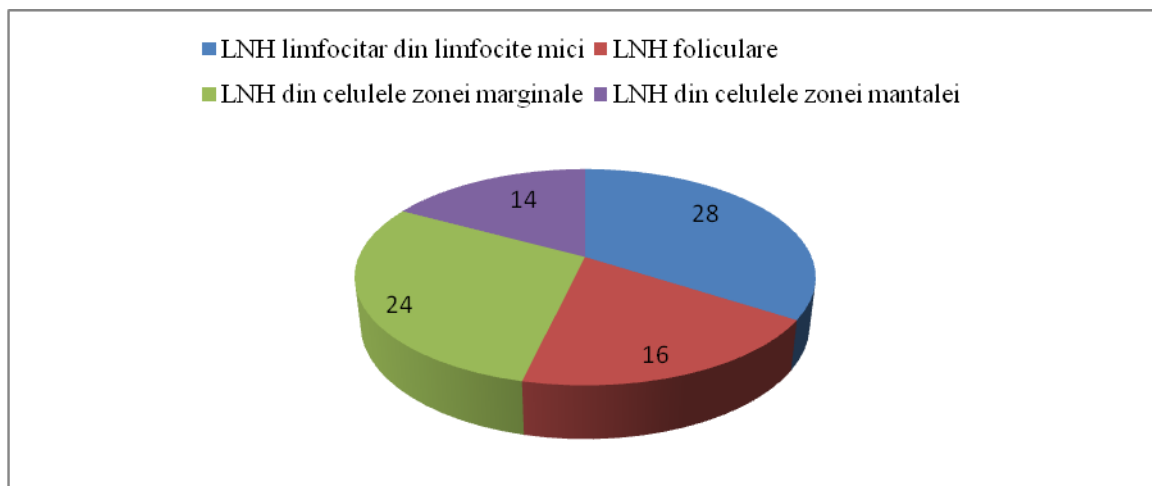


Fig. 2.2. Numărul de pacienți în funcție de tipurile morfologice incluse în studiu.

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.).

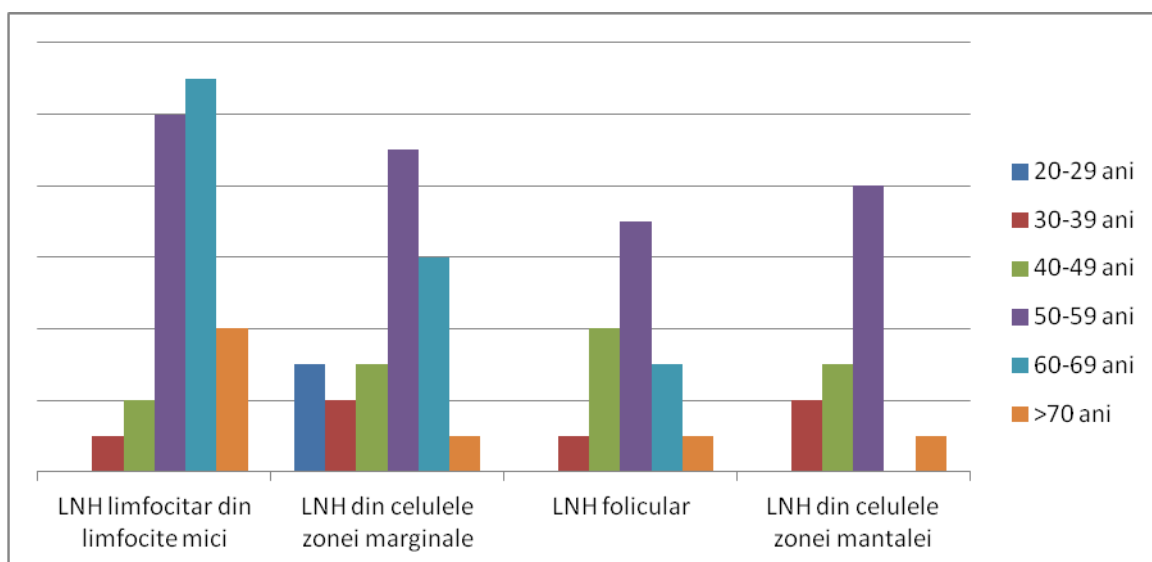


Fig. 2.3. Distribuția pacienților cu LNH indolente în funcție de vârstă.

Din 82 de pacienți incluși în studiu bărbați au fost 45, femei – 37. Distribuția pacienților cu LNH indolente în funcție de sex a fost diferită. LNH din celulele zonei marginale au predominat la bărbați, LNH foliculare – la femei, iar LNH limfocitar din limfocite mici și LNH din celulele zonei mantalei au avut loc aproximativ cu aceeași frecvență la bărbați și femei (Fig. 2.4.).

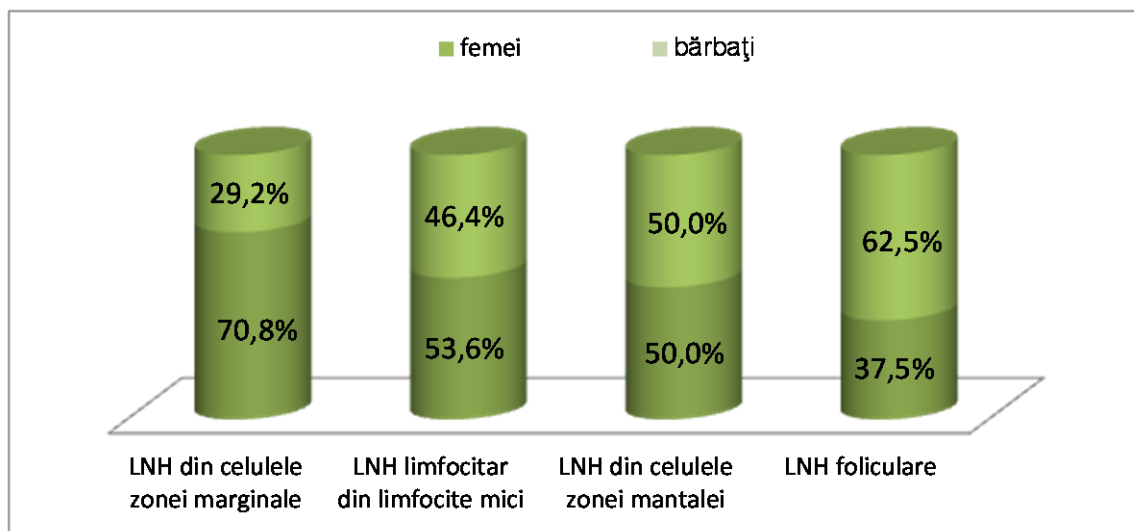


Fig. 2.4. Distribuția pacienților cu LNH indolente în funcție de sex.

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. 2.5.).

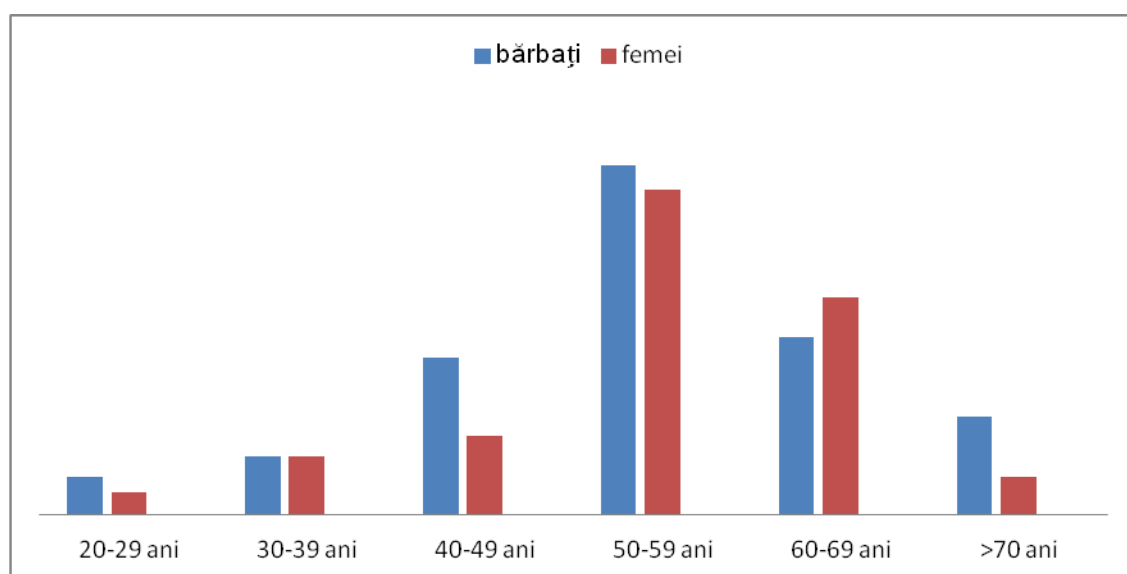


Fig.2.5. Distribuția pacienților cu LNH indolente în funcție de vârstă și sex.

La stabilirea diagnosticului, indiferent de tipul limfomului non-Hodgkin indolent la majoritatea pacienților (84,1%) au fost constatate stadiile generalizate (III și IV), preponderent stadiul IV (71,9%). (fig. 2.6.).

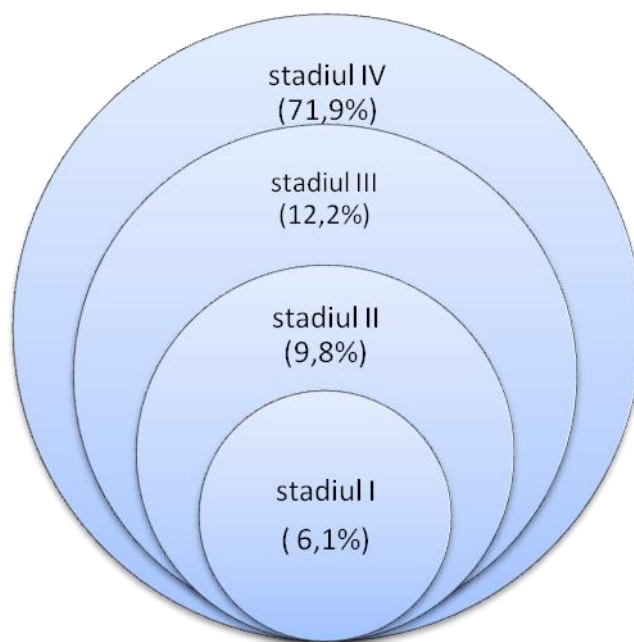


Fig. 2.6. Distribuția pacienților cu LNH indolente în funcție de stadiu.

2.2. Metodele de cercetare

Identificarea variantelor LNH indolente 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 [15].

Diferențierea variantelor LNH indolente s-a bazat nu numai ținând cont de particularitățile morfologice ale tumorii, dar și prin studierea caracteristicilor imunohistochimice ale celulelor tumorale. În acest scop au fost utilizați anticorpi monoclonali în corespundere cu ipoteza de diagnostic presupusă în rezultatul examenării histologice a preparatelor pregătite din materialul obținut prin biopsia ganglionilor limfatici sau al altui țesut afectat.

Pentru diagnosticul diferențial al LNH indolente a fost selectată o componentă rațională de markeri imunologici - anticorpi monoclonali, care permit să deosebim una din variantele LNH histologic similare.

Preparatele histologice au fost studiate sub conducerea doamnei profesor universitar, om emerit în știință I. Iacovlev, iar metodele imunohistochimice au fost studiate de profesorul universitar A. Cernâi în laboratorul patomorfologic al IMSP Institutului Oncologic, Chișinău, Republica Moldova.

Pentru identificarea imunohistochimică a LNH indolente au fost folosiți:

- anticorpii monoclonali anti CD19, CD20, care confirmă linia B-celulară a limfocitelor,
- CD5 caracteristice pentru varianta din celulele zonei mantalei,
- CD10 – pentru LNH folicular,
- coexpresia CD5/CD23 pentru varianta din limfocite mici.

În LNH din celulele zonei marginale CD5, CD10 și CD23 sunt negative (fig. 2.7.).

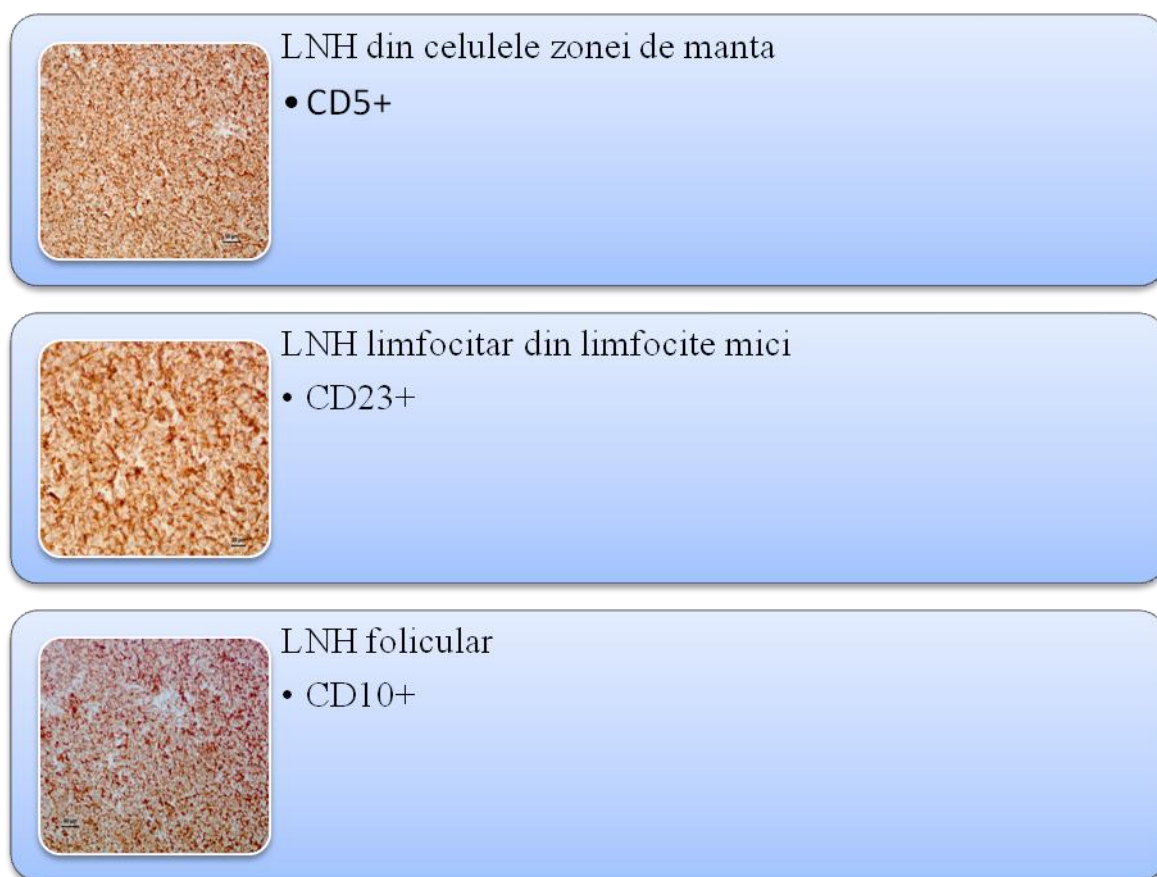


Fig. 2.7. Cercetarea imunohistochimică a LNH indolente.

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. Reșind 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.2.8):

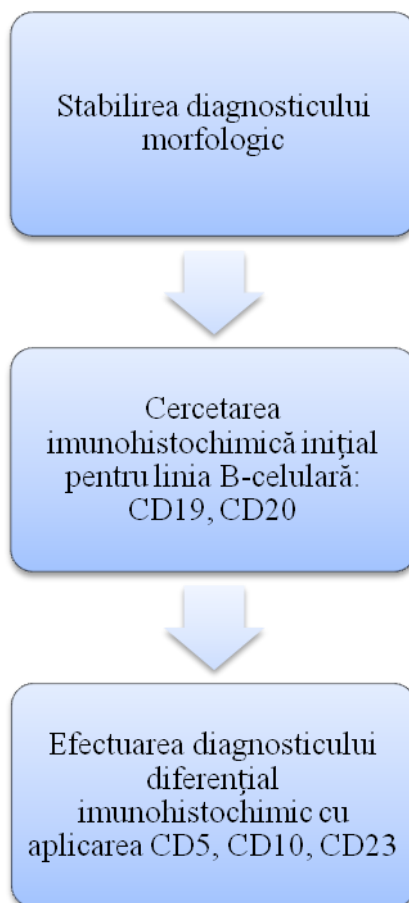


Fig. 2.8. Algoritmul de folosire rațională a anticorpilor monoclonali pentru stabilirea diagnosticului de LNH indolent.

Stadiul bolii a fost determinat în conformitate cu Clasificarea Clinică Internațională elaborată în Ann Arbor (SUA, 1971) [89, 161].

În conformitate cu această clasificare se deosebesc 4 stadii clinice:

Stadiul I. Afectarea unei singure regiuni de ganglioni limfatici (I) sau a unui singur organ extranodal (I E).

Stadiul II. Afectarea a două sau a mai multor regiuni de ganglioni limfatici de aceeași parte a diafragmului (II) sau afectarea primară localizată a unui organ extranodal și a unei sau a mai multor regiuni de ganglioni limfatici de aceeași parte a diafragmului (II E).

Stadiul III. Afectarea a două sau a mai multor regiuni de ganglioni limfatici pe ambele părți ale diafragmului (III) sau afectarea primară localizată a unui organ extranodal și a două sau a mai multor regiuni de ganglioni limfatici pe ambele părți ale diafragmului (III E).

Stadiul IV. Afectarea difuză a unui sau a mai multor organe sau țesuturi cu ori fără ganglionii limfatici.

Fiecare stadiu clinic este subîmpărțit în funcție de prezența sau absența simptomelor de intoxicare generală, în **A** (fără simptome de intoxicare generală) și **B** (cu simptome de intoxicare generală) (fig. 2.9.).

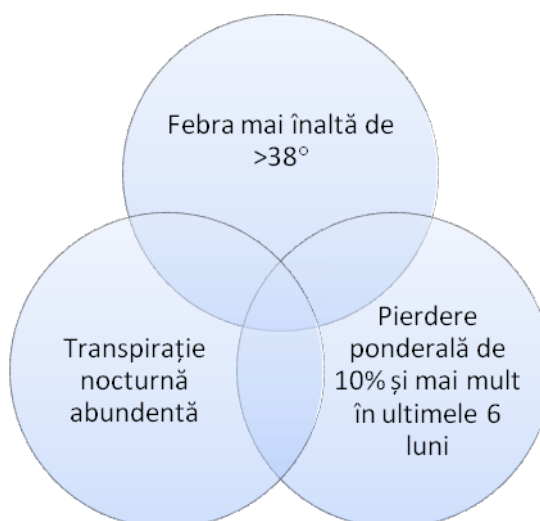


Fig. 2.9. Semnele de intoxicare generală.

În funcție de prezența semnelor biologice de activitate a procesului patologic fiecare stadiu este împărțit în **a** (absența semnelor biologice de activitate) și **b** (prezența semnelor biologice de activitate a procesului tumoral):

- a. VSH > 30 mm/oră
- b. Hiperfibrinogenemie (> 5,0 g/l)
- c. Hiper α_2 globulinemia (> 10 g/l).
- d. Ceruloplasmina (> 0,4 Un)
- e. Haptoglobina (> 1,5 mg%).

Pentru constatarea activității maladiei e suficient ca cel puțin doi din acești indici să depășească cifrele indicate.

În scopul stadializării procesului tumoral au fost utilizate metode clinice și paraclinice.

Semnele clinice au cuprins:

- anamneza,
- simptomele de intoxicare generală „B”,
- semnele și simptomele de debut,
- examenul clinic general amănunțit (examenul ganglionilor limfatici, ficatului, splinei, altor organe interne),
- factorii de prognostic pe baza cărora s-a format IPI (Indexul prognostic internațional) caracteristic pentru toate tipurile de LNH indolente cu excepția LNH folicular, pentru care se determină Indexul prognostic internațional pentru limfoamele foliculare (FLIPI), statusul de performanță clinică ECOG (the Eastern Cooperative Oncology Group).

Din metodele paraclinice pentru determinarea gradului de răspândire a procesului tumoral au fost folosite :

- ultrasonografie,
- radiografie pulmonară cu tomografia mediastinului,
- tomografia nazofaringelui,
- fibroepifaringolaringoscopia la prezența semnelor de afectare a nasofaringelui.
- tomografia computerizată la necesitate,
- pentru depistarea afectării stomacului și intestinului au fost efectuate examenul radiologic (radioscopia stomacului cu pasaj, irigoscopia) și endoscopic (fibrogastroduodenoscopia și fibrocolonoscopia),
- examenul hematologic a inclus:
 - a. analiza generală a sângelui periferic,
 - b. investigarea citologică- mielograma (punctatul măduvei oaselor),
 - c. investigarea histologică a măduvei oaselor obținută prin trepanobiopsia osului iliac.

Rezultatele hematologice au fost studiate în funcție de tipul limfoamelor non-Hodgkin indolente.

Punctatul medular reprezintă cercetarea citologică a măduvei oaselor. Măduva osoasă se aspiră prin puncția osului stern sau cristei iliace prin introducerea unui ac cu un stilet (fig. 2.10.)



Fig. 2.10. Ac cu stilet pentru aspirarea măduvei oaselor.

Odată pătruns în măduva osoasă, stiletul este îndepărtat și se atașează o seringă. Se aspiră 2-5 ml de măduvă osoasă și se efectuează frotiuri. Aspirarea măduvei permite colectarea unor eșantioane lichide celulare de la nivelul măduvei osoase prin intermediul unui ac. Eșantioanele sunt studiate ulterior prin intermediul examenului microscopic cu scopul detectării problemelor celulare sanguine de la nivelul măduvei osoase.

Trepanobiopsia osului iliac reprezintă cercetarea histologică a măduvei oaselor. Această procedură constă în îndepărtarea unei porțiuni osoase care conține măduvă osoasă. Monstrele de măduvă osoasă se prelevează de regulă de la nivelul cristei iliace posterioare sau anterioare. Zona respectivă este dezinfectată, în jurul ei se așează prosoape sterile și se anesteziază local. Pacienții sunt așezați în decubit lateral sau ventral (fig. 2.11.).

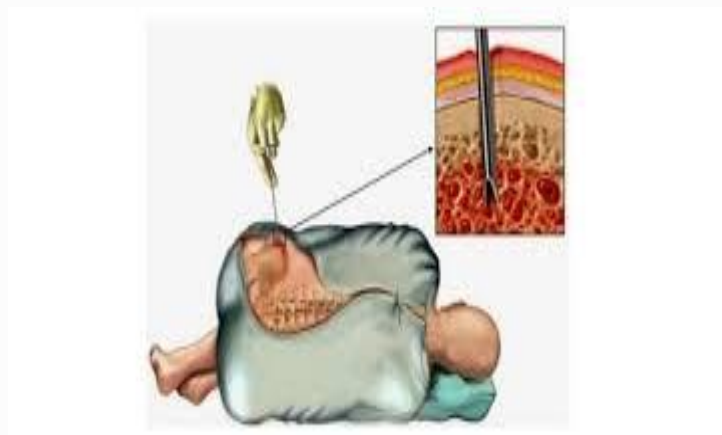


Fig. 2.11. Poziția pacientului în momentul efectuării trepanobiopsiei osului iliac.

După aplicarea anesteziei locale, se înșurubează în interiorul osului instrumentul cu care se efectuează biopsia (fig. 2.12.)



Fig. 2.12. Instrumentariul pentru efectuarea trepanobiopsiei osului iliac.

Ca rezultat se obține o probă ce va fi transmisă la laborator. Se aplică un pansament steril. Trepanobiopsia nu substituie examinarea citologică a măduvei oaselor. Aceste două metode se completează reciproc.

Au fost analizați factorii clinici și de laborator, care influențează prognosticul LNH indolente:

- simptomele de intoxicare generală (febra $>38^{\circ}$, pierdere ponderală de 10% și mai mult în ultimele 6 luni, transpirații abundente nocturne și în unele cazuri pruritul cutanat),
- gradul de răspândire al LNH (stadiul bolii),
- dimensiunile tumorii,
- consistența tumorii,
- includerea în proces a diferitor organe și țesuturi (focare extranodale),
- vârsta.

S-au utilizat doi indici cu importanță prognostică. Indexul prognostic internațional (IPI) [162, 163, 164, 165] caracteristic pentru toate tipurile de LNH indolente cu excepția LNH folicular, pentru care se determină Indexul prognostic internațional pentru limfoamele foliculare (FLIPI) [165, 166, 167, 168, 169].

Factorii de prognostic nefavorabil, care au servit ca bază pentru crearea IPI sunt:

- vârsta > 60 ani,
- stadiile generalizate (III-IV) conform Clasificării clinice Ann Arbor,
- prezența a mai multor focare extranodale (decât un focar),
- starea generală a pacientului în conformitate cu gradele propuse de ECOG (gradele 2-4) [170, 171],
- majorarea nivelului LDH.

Fiecare factor constituie un punct. Conform sumei tuturor punctelor pacienții se includ în una din 4 grupe de risc:

risc jos – absența sau prezența numai al unui factor nefavorabil (0-1 puncte),

risc intermediar – jos, prezența a 2 factori (2 puncte),

risc intermediar – înalt, prezența a 3 factori (3 puncte),

risc înalt – prezența a 4 și mai mulți factori (4-5 puncte).

Prezența la 2 și mai mulți factori clar evidențiază influența negativă asupra prognosticului independent de varianta morfologică a bolii.

FLIPI include:

- vârsta mai mare de 60 de ani,
- stadiile clinice III-IV conform Clasificării Clinice Internaționale elaborate în Ann Arbor (SUA, 1971),
- conținutul hemoglobinei mai jos de 120 g/l,
- numărul de regiuni ganglionare afectate mai mare de 4,
- majorarea nivelului LDH.

Conform numărului semnelor nefavorabile se formează trei grupe prognostice:

- **risc jos** (0-1 semne de prognostic nefavorabil),
- **risc intermediar** (2 semne),
- **risc înalt** (3 și mai multe semne nefavorabile).

IPI nu se folosește pentru LNH foliculare de gradul I-II, deoarece numai 10-15% de bolnavi nimeresc în grupa de risc jos.

Tabelul 2.1. ECOG Statusul de performanță

Statusul	Definiție
0	Activitate normală
1	Sunt simptome, dar bolnavul se deserveste ambulator
2	< 50% de timp îl petrece în pat
3	mai mult de 50% de timp îl petrece în pat
4	100% bolnav de pat

Notă explicativă-ECOG (the Eastern Cooperative Oncology Group).

Supravegherea în dinamică a pacienților pe tot parcursul bolii a permis de a urmări caracterul de răspândire a procesului tumoral de la stadiile locale până la generalizarea procesului patologic. S-a acordat atenție la caracterul de metastazare la etapele precoce și tardive ale bolii.

2.3. Metodele utilizate la analiza rezultatelor obținute

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. [172]. Curba de supraviețuire a avut particularități scalariforme:

1. Fiece treaptă corespunde producerii unuia sau mai multor evenimente prestabilite (durata vieții în luni...).
2. Nivelul de supraviețuire este de 100% la originea curbei, până la momentul producerii primului deces, unde se prăbușește până la noua valoare calculată.

Semnificația statistică a supraviețuirii s-a determinat conform criteriilor Wilcoxon [173]. Rezultatele la distanță sunt urmărite până la 5 ani.

Pentru aprecierea variabilității parametrilor hematologici din cadrul hemogramei (valorile minime, medii și maxime) a fost aplicată metoda Custom Tables.

Analiza datelor obținute a fost realizată cu ajutorul programelor EXCEL în cadrul Microsoft Office (Crosstabs, Hypothesis Test Summary).

La fel în baza acestor aplicații a fost determinată o probabilitate de semnificație a testului statistic, numită și nivel de semnificație observat (p). Stabilirea semnificației testului pe baza valorii lui p se face frecvent cu următoarea regulă empirică (considerăm nivelul ales $\alpha=0,05$):

1. Dacă $0,01 \leq p < 0,05$, rezultate semnificative.
2. Dacă $0,001 \leq p < 0,01$, rezultate înalt semnificative.
3. Dacă $p < 0,001$, rezultate foarte înalt semnificative.
4. Dacă $p \geq 0,05$, rezultate nesemnificative statistic.
5. Dacă $0,05 \leq p < 0,1$, se notează o oarecare tendință spre considerarea unei semnificații statistice.

Verificarea indicilor obținuți a fost efectuată prin calcularea erorilor standart și a intervalului de încredere [174].

EROAREA STANDART PENTRU VALORILE RELATIVE (2.1.)

$$ES = \sqrt{\frac{Pq}{n}}$$

ES - eroare standart

Pq - probabilitatea evenimentului

q - contraprobabilitatea evenimentului , $q=100-P$

n- numărul de observații

INTERVALUL DE ÎNCREDERE (2.2.)

$$I\hat{t} = Pq \pm 1,96 \times ES$$

I $\hat{t}$ - intervalul de încredere

Pq- probabilitatea evenimentului

ES- eroare standart

Intervalul de încredere reprezintă un interval ce definește un nivel maxim și unul minim, numite nivele de încredere cu o anumită probabilitate asociată.

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

2.4. Concluzii la capitolul 2

1. Rezumând datele expuse mai sus, putem menționa că studiul dat este bazat pe analiza investigațiilor clinice și paraclinice a 82 de pacienți cu LNH indolente (limfocitare din limfocite mici, foliculare, din celulele zonei marginale și din celulele zonei de manta).
2. În scopul stabilirii diagnosticului, gradului de răspândire a procesului tumoral, estimării caracterului metastazării inițiale și la etapa de generalizare au fost utilizate metode eficiente și performante în domeniu.
3. Analiza datelor obținute a fost efectuată cu ajutorul funcțiilor și modulelor unor programe statistice competente, precum Epi Info 7 și EXCEL din pachetul Microsoft Office la calculatorul personal.

3. ASPECTE CLINICO-HEMATOLOGICE, MORFOLOGICE ȘI IMUNOHISTOCHIMICE ALE LIMFOMULUI LIMFOCITAR DIN LIMFOCITE MICI ȘI ALE LIMFOMULUI DIN CELULELE ZONEI MARGINALE

3.1. Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfomului limfocitar din limfocite mici

În ultimele variante ale Clasificării Internaționale a tumorilor țesutului hematopoietic și limfatic propusă de OMS 2001 [14, 33, 68], 2008 [15, 16] limfomul non-Hodgkin limfocitar din limfocite mici este descris împreună cu leucemia limfocitară cronică reieșind din considerentele că substratul morfologic, datele imunohistochimice sunt identice și nu pot fi acceptate ca criteriu de diagnostic diferențial dintre aceste două boli limfoproliferative [81].

În cazurile studiate de noi (28 pacienți) pentru varianta limfocitară din limfocite mici a LNH a fost caracteristică creșterea difuză constituită din limfocite mici.

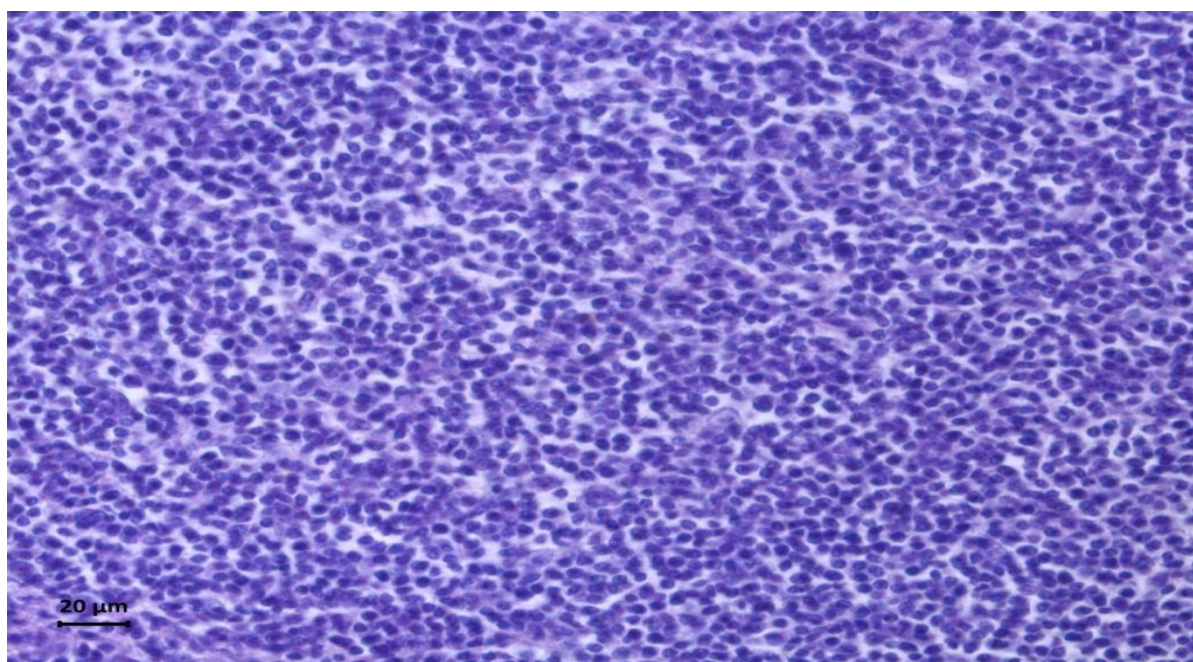


Fig. 3.1. Varianta limfocitară din limfocite mici cu creștere difuză. Colorație hematoxinil și eozin, X 110. (foto proprie).

Morfologic tumoarea 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.).

Autorii Clasificării OMS (2008) propun de stabilit diagnosticul de limfom non-Hodgkin limfocitar din limfocite mici pe baza studierii tabloului histologic al țesutului afectat, absenței afectării măduvei oaselor și lipsei celulelor tumorale în sângele periferic. Cazurile cu infiltrația ganglionilor limfatici, splinei sau măduvei oaselor fără limfocitoză în sângele periferic de asemenea se clasifică ca limfom limfocitar din limfocite mici. Nu se exclude că studierea mai profundă a aspectelor clinico-hematologice va evidenția unele semne de confirmare a diagnosticului de limfom limfocitar din limfocite mici care vor permite elaborarea tratamentului diferențiat pentru acest limfom.

Imunohistochimic au fost pozitive reacțiile la CD 19, CD 20, ce denotă originea B celulară a substratului tumoral și CD 5, CD23, ce sunt caracteristice tipului de LNH limfocitar din limfocite mici. (fig. 3.2.).



Fig. 3.2. Varianta limfocitară din limfocite mici cu creștere difuză. Cercetarea imunohistochimică CD 23+. (Foto proprie).

Aspectele clinice au fost studiate la 28 pacienți, vârsta cărora a variat de la 37 de ani până la 71 de ani (tabelul 3.1.). Vârsta medie a constituit 60 de ani.

Tabelul 3.1. Distribuția pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici în funcție de vârstă

Vârsta (ani)	Numărul de bolnavi	Frecvența (%)	Indicele de încredere
20 – 29	-	-	-
30 – 39	1	3,6	10,46±-3,3
40 – 49	2	7,1	10,6±3,6
50 – 59	10	35,7	53,3±18,1
60 – 69	11	39,3	57,3±21,3
70-79	4	14,3	57, ±21,3
Total	28	100	

Din tabel se observă că au predominat bolnavii cu vârsta 50-69 de ani (75,0%): 50-59 de ani (35,7%) și 60-69 de ani (39,3%). LNH limfocitar din limfocite mici mai rar s-a dezvoltat la persoanele cu vârsta de peste 70 de ani (14,3%) și foarte rar până la 50 de ani (tabelul 3.1.1).

LNH limfocitar din limfocite mici a fost constatat aproximativ cu aceeași incidență la bărbați și femei (15 și 13 respectiv). Aceste date sunt prezentate în figura 3.3.

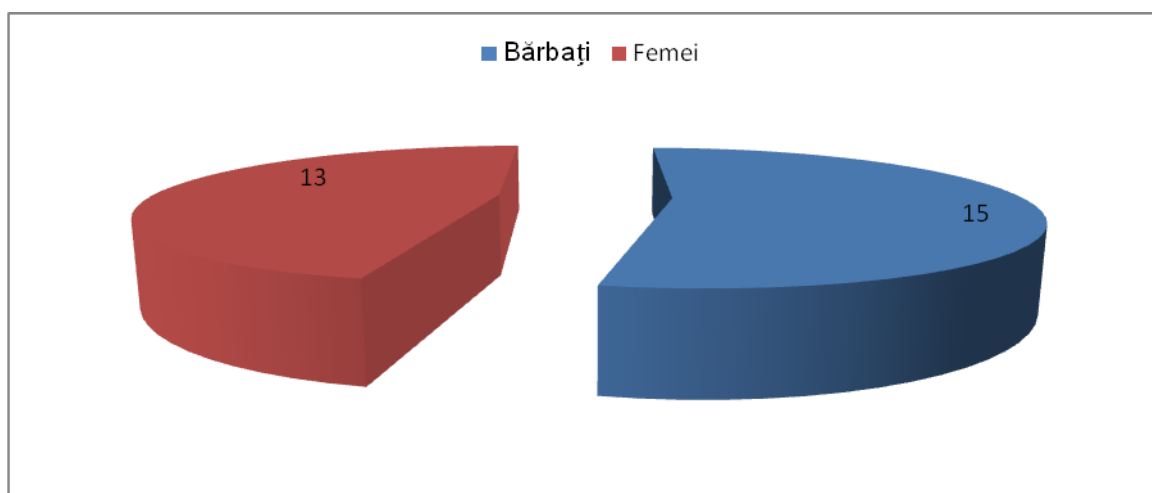


Fig. 3.3. Distribuția pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici în funcție de sex.

Analiza datelor obținute în urma distribuirii pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici în funcție de vârstă și sex a stabilit, că în perioada vârstei de 50-59 de ani frecvența dezvoltării maladiei a fost identică la bărbați și la femei (50% și 50%, respectiv), iar la persoanele cu vârstă de 60-69 de ani maladia mai frecvent s-a dezvoltat la femei spre deosebire de bărbați (54,5% și 45,5%, corespunzător). La pacienții cu vârstă de peste 70 de ani mai frecvent LNH limfocitare din limfocite mici s-a dezvoltat la bărbați decât la femei (75,0% și 25%, respectiv). La vârstă de 20-39 de ani LNH limfocitare din limfocite mici s-a dezvoltat rar și a fost diagnosticat doar la o singură femeie. La persoanele cu vârstă de 40-49 de ani au fost înregistrate doar 2 cazuri de LNH limfocitar din limfocite mici și ambii pacienți au fost bărbați. Aceste date sunt expuse în figura 3.4..

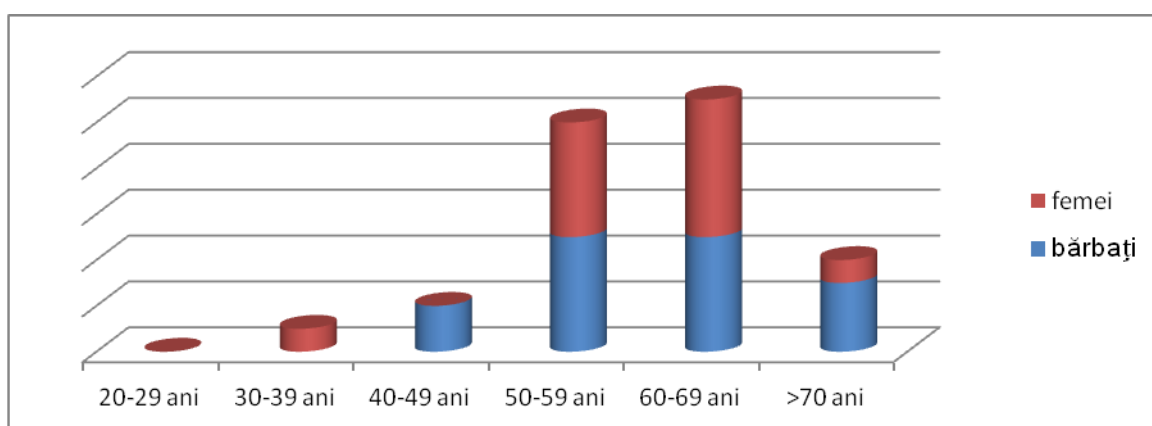


Fig. 3.4. Distribuția pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici în funcție de vârstă și sex.

Evaluarea localizării focarului primar a arătat, că mai frecvent au fost afectați ganglionii limfatici (50,0%), preponderent cei periferici (32,1%). Se poate de menționat că frecvent primar a

fost afectată splina (32,1%), care a avut loc cu aceeași frecvență ca și ganglionii limfatici periferici. Mai rar debutul LNH limfocitar din limfocite mici a avut loc în ganglionii limfatici abdominali (14,3%), foarte rar – ganglionii limfatici mediastinali (3,6%). LNH limfocitare din limfocite mici primar s-au dezvoltat în inelul limfatic Waldeyer și anume în amigdala nazofaringiană în 10,7% cazuri. Alte organe și țesuturi în acest tip al LNH au fost afectate primar foarte rar (tabelul 3.2.). Parametrii reprezentați în tabel au o valoare statistică înaltă (**p=0,003).

Tabelul 3.2. Distribuirea pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici în funcție de localizarea focarului primar tumoral

Localizarea focarului primar	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
Ganglionii limfatici:	14	50,0	68,4±31,6
periferici	9	32,1	
abdominali	4	14,3	
mediastinali	1	3,6	
Splina	9	32,1	49,3±14,9
Amigdala nazofaringiană	3	10,7	22,1±0,7
Glanda salivară	1	3,6	10,5±-3,3
Intestinul subțire	1	3,6	10,5±-3,3
Total	28	100	

Conform Clasificării Clinice Internaționale, adoptată în Ann-Arbor (1971) majoritatea pacienților (89,3%) au fost diagnosticați din stadiile generalizate (III și IV, preponderent stadiul IV (78,6%). Doar în 3 cazuri (10,7%) la momentul stabilirii diagnosticului au fost determinate stadiile locale I-II (tabelul 3.3.). Parametrii reprezentați în tabel au o valoare statistică înaltă (**p<0,001).

Atrage atenția că stadiile locale au fost constatate doar în cazurile de debut extranodal al LNH limfocitar din limfocite mici (splină, glanda salivară, intestin – câte 1 pacient). Toți pacienții cu afectarea primară a ganglionilor limfatici, amigdala nazofaringiană și 8 din 9 – 88,9% cazuri cu debut în splină au fost diagnosticați în stadiile generalizate (tabelul 3.4.). Acești parametri reprezentați în tabelul 4 au valoare foarte înalt semnificativă cu **p<0,001 .

Tabelul 3.3. Distribuția pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici în funcție de stadiul clinic

Stadiul clinic	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
I	-	-	
I E	1	3,6	10,5±-3,3
II	-	-	-
II E	2	7,1	16,7±-2,5
III	2	7,1	16,7±-2,5
III E	1	3,6	10,5±-3,3
IV	22	78,6	93,9±63,3
Total	28	100	

Notă explicativă: E-extranodal

Astfel se poate de menționat că această variantă are o tendință de generalizare rapidă a procesului tumoral.

Simptomele de intoxicație generală (B- pierdere în greutate de 10% și mai mult în ultimele 6 luni, transpirație abundentă nocturnă și febră $>38^{\circ}$) au avut loc doar la 6 (21,4%) pacienți dintre care unul a fost în stadiul III și 5 – în stadiul IV. S-a observat că simptomele de intoxicație generală au fost înregistrate în cazurile de afectare primară a ganglionilor limfatici – 3 bolnavi, a splinei – 2 bolnavi și a amigdalei nazofaringiene – 1 bolnav. Simptomele de intoxicație generală s-au manifestat prin pierdere în greutate – la 3 pacienți, transpirație abundentă nocturnă – la 2 bolnavi și febră $>38^{\circ}$ – într-un singur caz.(tab.3.5.).

Tabelul 3.4. Distribuirea pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici în funcție de localizarea focarului primar tumoral și stadiul clinic

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi	Stadiul clinic			
		I	II	III	IV
		abs. (%) indicele de încredere	abs. (%) indicele de încredere	abs. (%) indicele de încredere	abs. (%) indicele de încredere
Ganglionii limfatici:	14	-	-	2 (14,3) 27,2±1,4	12(85,7) 98,6±72,8
periferici	9	-	-	1 (11,1)	8 (88,9)
abdominali	4	-	-	1 (25,0)	3 (75,0)
mediastinali	1	-	-	-	1 (100)
Splina	9	-	1 (11,1) 22,7±0,5	-	8 (88,9) 100,5±77,3
Inelul limfatic Waldeyer	3	-	-	1 (33,3) 50,7±15,9	2 (66,7) 84,1±49,3
Glanda salivară	1	-	1 (100)	-	-
Intestinul subțire	1	1 (100)	-	-	-
Total	28	1 (3,6) 10,5±-3,3	2 (7,1) 16,7±-2,5	3 (10,7) 22,1±-0,7	22 (78,6) 93,9±63,3

Tabelul 3.5. Frecvența simptomelor de intoxicare generală al LNH limfocitare din limfocite mici în funcție de localizarea focarului primar tumoral

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi	Numărul de bolnavi cu simptome de intoxicare generală	
		abs. (%)	intervalul de încredere
Ganflionii limfatici:			
periferici	9	2 (22,2)	37,7±6,7
abdominali	4	1 (25,0)	41±9,0
mediastinali	1	-	-
Splina	9	2 (22,2)	37,7±6,7
Intestinul subțire	1	-	-
Inelul limfatic Waldeyer	3	1 (33,3)	50,7±15,9
Glanda salivară	1	-	-
Total	28	6 (21,4)	36,7±6,1

Până la stadiul II al maladiei au fost urmăriți 27 de bolnavi. La majoritatea pacienților (24 din 27 – 88,9%) – la etapele inițiale în procesul tumoral au fost afectați ganglionii limfatici din zonele vecine. A lipsit afectarea ganglionilor limfatici regionali doar la 3 (11,1%) bolnavi cu afectarea primară a splinei.

La pacienții urmăriți mai mult de stadiul II (25 bolnavi) în scurt timp după apariția ganglionilor limfatici regionali în 19 (77,0%) cazuri au fost determinate metastaze în ganglionii limfatici la distanță. La 3 (11,5%) bolnavi după afectarea ganglionilor limfatici din zonele vecine LNH limfocitar din limfocite mici s-a răspândit extranodal fără să fie interesați ganglionii limfatici la distanță. În 2 cazuri a fost afectarea primară a splinei, iar la 1 pacient – mediastinul ($p>0,005$) (tabelul 3.6.).

Tabelul 3.6. Frecvența afectării diverselor grupuri de ganglioni limfatici și zone extranodale după sau fără metastaze în ganglionii limfatici regionali în funcție de localizarea focarului primar al LNH limfocitare din limfocite mici

Localizarea metastazelor extranodale	Număr de bolnavi	Frecvența % Intervalul de încredere	Localizarea focarului primar tumoral				
			Ganglionii limfatici			Splina abs. (%), iî	Amigdala nazofaringiană abs. (%), iî
			Periferici abs. (%)	mediastinali abs. (%)	abdominali abs. (%)		
Ganglionii limfatici la distanță după metastazele în zonele vecine de ganglioni limfatici	19	77,0 93,5±60,5	9 (100)	-	4 (100)	3 (37,5) 71±4,0	3 (100)
Ganglionii limfatici la distanță fără afectarea ganglionilor limfatici regionali	3	11,5 24,0±-1,0	-	-		3 (37,5) 71±4,0	-
Zonele extranodale după afectarea ganglionilor limfatici regionali fără cei de la distanță	3	11,5 24,0±-1,0	-	1 (100)	-	2 (25,0) 45,3±14,7	-
În total	25	100	9 (100)	1 (100)	4 (100)	8 (100)	3 (100)

Astfel, în cazurile de afectarea primară a ganglionilor limfatici periferici, abdominali, inelului limfatic Waldeyer a avut loc o consecutivitate în răspândire a procesului tumoral: inițial au fost afectați ganglionii limfatici regionali, ulterior cei de la distanță. În cazurile LNH limfocitare din limfocite mici cu afectarea primară a splinei această consecutivitate a lipsit. Din 8 bolnavi cu LNH lienale, urmăriți mai mult de stadiul II, doar la 3 pacienți (37,5%) procesul tumoral s-a răspândit în

ganglionii limfatici regionali, apoi în ganglionii limfatici de la distanță. În 3 cazuri (37,5%) au fost afectați ganglionii limfatici de la distanță fără ganglionii limfatici regionali, iar la 2 bolnavi (25,0%) după afectarea ganglionilor limfatici regionali au apărut metastaze extranodale fără afectarea ganglionilor limfatici la distanță.

Se poate de constatat, că în procesul de generalizare a procesului tumoral aproximativ cu aceeași frecvență au fost afectați ganglionii limfatici cervicali, axilari și 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%) (tabelul 3.7.).

Tabelul 3.7. Frecvența metastazelor în diverse grupuri de ganglioni limfatici în LNH limfocitar din limfocite mici

Localizarea metastazelor	Numărul de bolnavi	Frecvența %	Indicele de încredere
Ganglionii limfatici:			
cervicali	20	80,0	94,9±65,1
axilari	18	72,0	88,7±55,3
inghinali	18	72,0	88,7±55,3
mediastinali	7	28,0	44,7±11,3
abdominali	12	48,0	66,4±29,6

Aceste date ne permit să menționăm, că LNH limfocitar din limfocite mici nu doar mai rar au debutul în mediastin, dar și mai rar decât în alte grupe de ganglioni limfatici, are loc metastazarea în această zonă.

Apariția formațiunilor tumorale în afara ganglionilor limfatici a avut loc destul de frecvent. Până la stadiul IV au fost urmăriți 22 din 28 din bolnavi. 6 pacienți se află sub supraveghere în stadiile I, II și III. Așa număr mare de pacienți la care în scurt timp au apărut metastaze extranodale indică că LNH limfocitar din limfocite mici are o tendință înaltă de generalizare a procesului tumoral.

Atrage atenția afectarea frecventă a măduvei oaselor la pacienții cu LNH limfocitar din limfocite mici. Din 22 bolnavi urmăriți până la stadiul IV la 21 de pacienți (95,5%) a avut loc afectarea măduvei oaselor. Doar într-un singur caz n-au fost înregistrate metastaze în măduva oaselor. Afectarea măduvei oaselor n-a corelat cu localizarea focarului primar tumoral. Măduva oaselor a fost interesată în LNH limfocitar din limfocite mici cu aceeași frecvență înaltă (100%), indiferent de localizarea focarului primar. În cazul când n-a fost diagnosticată afectarea măduvei

oaselor, debutul LNH limfocitar din limfocite mici a avut loc în mediastin. Însă, deoarece a fost doar un singur pacient cu LNH limfocitar din limfocite mici mediastinal de făcut careva concluzii nu este posibil.

Metastaze extranodale au fost determinate deasemenea în ficat (27,3%), splină (22,7%) și țesutul pulmonar (9,1%). Afectarea ficatului, splinei și țesutului pulmonar au fost în funcție de localizarea focarului primar al LNH limfocitar din limfocite mici. Ficatul și splina frecvent au fost interesate în procesul tumoral în cazurile de debut al LNH limfocitar din limfocite mici în ganglionii limfatici abdominali. Metastaze în țesutul pulmonar au avut loc în cazurile de afectare primară a mediastinului și amigdalei nazofaringiene ($p > 0,005$) (tabelul 3.8.).

Tabelul 3.8. Frecvența metastazelor extranodale în funcție de localizarea focarului primar tumoral al LNH limfocitar din limfocite mici

Localizarea metastazelor extranodale	Număr de bolnav (22 de bolnav în st. IV)	Frecvența %, Intervalul de încredere	Localizarea focarului primar tumoral				
			Ganglionii limfatici			Splina (8 boln.) abs. %	Amigdala nazofaringiană (2 bolnavi) abs. %
			Periferic (8 boln.) abs. %	medi-astinali (1boln.) abs. %	abdominali (3 boln.) abs.%		
Măduva oaselor	21	95,5 103,1±87,9	8(100)	-	3 (100)	8 (100)	2 (100)
Ficat	6	27,3 43,8±10,8	1(12,5)	-	2 (66,7)	3 (37,5)	-
Splină	5	22,7 38,3±7,1	2 (25,0)	-	2 (66,7)	-	1 (50,0)
Țesutul pulmonar	2	9,1 19,7±-1,5	-	1	-	-	1

La pacienții fără afectarea măduvei oaselor modificări în analiza generală a sângelui punctatul medular și trepanobiopsia n-au avut loc. În cazurile de afectare a măduvei oaselor modificările hematologice au fost diverse (tab 3.9.).

La stabilirea diagnosticului la 9 (42,8%) pacienți a fost depistată anemia: de gradul I- la 4, de gradul II - la 2 și de gradul III - la 3 pacienți. În toate aceste cazuri anemia a fost de origine metaplastică. Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a eritrocitelor a fost de $3,8 \times 10^{12} / l$ (min- $2,4 \times 10^{12} / l$, max- $4,9 \times 10^{12} / l$), iar valoarea medie a hemoglobinei a fost de 117,1g/l (min-68g/l, max-150g/l).

Tabelul 3.9. Analiza sângelui periferic
la pacienții cu LNH limfocitar din limfocite mici cu afectarea măduvei oaselor

Hb (g/l)	Eritrocite ($\times 10^{12} / l$)	Leucocite ($\times 10^9 / l$)	Nesegment. (%)	Segmentate (%)	Eozinofile (%)	Limfocite (%)	Monocite (%)	Reticulocite (%)	Trombocite ($\times 10^9 / l$)	VSH(mm/h)
137	4,4	9,0	8	51	1	27	13	8	308,0	12
112	2,9	9,7	5	45	2	47	1		355,0	8
123	4,2	6,9	1	43	4	35	17		252,0	36
133	4,5	21,4	2	40		58			292,5	2
68	2,4	170,0	2	1		97		35	144,0	20
80	2,9	52,5	1	3		96		20	197,0	30
133	4,4	46,2	1	11		87	1		220,0	2
122	4,2	12,5	1	14	2	80	3	10	294,0	6
113	3,9	7,9	6	30	1	55	8	22	257,4	21
84	2,9	27,0	1	9		87	3		174,0	32
143	4,5	12,4	2	46		48	4		216,0	6
120	4,0	25,2	5	9	2	81	3		200,0	3
138	4,6	58,6	1	10		85	4		460,0	2
68	2,4	53,7	2	5		88	5	10	160,0	14
100	3,6	7,3	10	56	2	21	11	3	576,0	47
120	4,0	24,7	1	34		60	5		168,0	10
130	4,0	3,5	1	31		64	4		89	30
107	3,6	103		3		96	1	33	180	10
124	4,1	13,0	2	39	2	55	2		258,3	32
150	4,8	32,5	1	12		75	12	9	249,6	10
70	2,4	170,0	0	2		94	4	24	60,0	73

Cele mai pronunțate modificări hematologice s-au depistat la o parte din pacienți prin numărul de leucocite și gradul de limfocitoză în sângele periferic. Acești indici de laborator pot fi sistematizați în felul următor:

- Numărul de leucocite normal cu formula leucocitară fără modificări 3 (14,2%) cazuri
- Numărul de leucocite normal cu limfocitoză în hemogramă – 3 (14,2%) pacienți
- Numărul de leucocite majorat până la $20,0 \cdot 10^9/l$ cu limfocitoză în hemogramă – 3 (14,2%) pacienți
- Numărul de leucocite de la $20,0 \cdot 10^9/l$ până la $100,0 \cdot 10^9/l$ cu limfocitoză în hemogramă – 9 (43,2%) bolnavi
- Numărul de leucocite $> 100,0 \cdot 10^9/l$ cu limfocitoză – 3 (14,2%) bolnavi.

Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a leucocitelor a fost de $32,5 \cdot 10^9/l$ (min- $3,55 \cdot 10^9/l$, max- $170,0 \cdot 10^9/l$), iar valoarea medie a limfocitelor din formula leucocitară a fost de 58,6% (min-21%, max-97%).

Numărul de trombocite a fost micșorat la 2 (9,5%) pacienți și au constituit $60,0$ și $89,0 \cdot 10^9/l$. Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a trombocitelor a fost de $252,6 \cdot 10^9/l$ (min- $60,0 \cdot 10^9/l$, max- $576,0 \cdot 10^9/l$).

Este necesar de menționat că la pacienții la care a fost înregistrată limfocitoză a lipsit corelarea dintre numărul de leucocite și formațiunile tumorale. Au predominat dimensiunile mari ale formațiunilor tumorale față de numărul de leucocite.

În punctatul medular limfocitele au variat de la 41% până la 98%. În cazurile când numărul de leucocite a fost normal și formula leucocitară fără modificări afectarea măduvei oaselor a fost confirmată la 2 pacienți prin punctatul medular în care limfocitele au constituit – 56% și 60% respectiv. La 1 bolnav interesarea măduvei oaselor a fost diagnosticată doar la efectuarea trepanobiopsiei, deoarece atât formula leucocitară cât și punctatul medular au fost în normă.

La cercetarea mielogramei s-a observat că celulele limfoide din punctatul măduvei oaselor sunt mici, majoritatea din ele cu citoplasma foarte îngustă, sunt rotunde, cu nucleu fără nucleoli, cu cromatina condensată. Aceste date crează un tablou citologic omogen. Rareori printre aceste celule mature se observă puține prolimfocite, câte un imunoblast. În preparatele histologice pregătite din măduva oaselor prin trepanobiopsie celulele limfoide sunt mici cu citoplasma îngustă, nucleul cu cromatina condensată, care crează focare foliculare de diferite dimensiuni. Aceste focare sunt situate în cavitățile medulare. Tabloul creat de celulele limfoide arată foarte omogen. Focarele sunt bine limitate. Țesutul din jurul lor constă din elementele mieloide la diferite stadii de diferențiere.

Astfel de tablou morfologic în celelalte LNH indolente a lipsit. Semnificația diagnostică a focarelor de celule limfoide este foarte importantă în cazurile de afectare primară a splinei, a ganglionilor limfatici abdominali, retroperitoneali fără acces liber de dobândire a materialului pentru examinarea histologică, pentru constatarea diagnosticului.

Evoluția clinică în majoritatea cazurilor este nefavorabilă, ce reiese din studierea Indexului prognostic internațional (tabelul 3.10.).

Tabelul 3.10. Indexul prognostic internațional

Grupa de risc	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
Risc jos	2	10,7	22,1±0,7
Risc intermediar jos	3	20,0	27,6±5,1
Risc intermediar înalt	9	32,1	47,0±14,9
Risc înalt	14	50,1	68,5±31,7
Total	28	100	

Supraviețuirea pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici peste 2 ani și 5 ani a constituit – 87,3% și 65,1% respectiv. (fig. 3.5.). Din această figură se observă, că decesul pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici preponderent a avut loc în al 2-lea, 4-lea și al 5-lea an de la debutul maladiei.

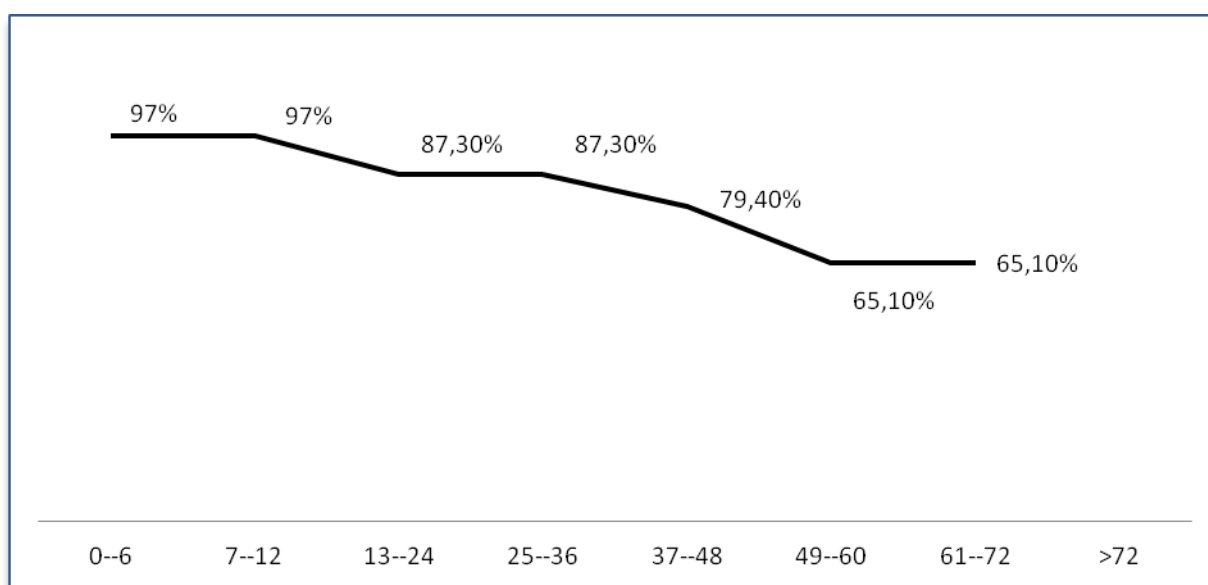


Fig. 3.5. Supraviețuirea pacienților cu LNH limfocitar din limfocite mici.

3.2. Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfoamelor non-Hodgkin din celulele zonei marginale

Limfoamele non-Hodgkin, care se dezvoltă din celulele zonei marginale, conform Clasificării Internaționale histologice și citologice a patologiilor tumorale ale țesutului hematopoietic și limfatic propusă de OMS în anul 2008, sunt incluse în grupa limfoamelor indolente. Denumirea acestor limfoame provine de la celulele din zona marginală al ganglionilor limfatici. Aspectele morfologice și imunohistochimice au fost studiate la 24 bolnavi cu LNH din celulele zonei marginale. În cazul 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, ceea ce este caracteristic pentru MALT cu includerea în proces a structurilor glandulare. În cazul afectării tumorale primare al ganglionilor limfatici a fost caracteristică predominarea celulelor monocitoide printre limfocite mici, unici centroblaști și imunoblaști. Fig. 3.6.

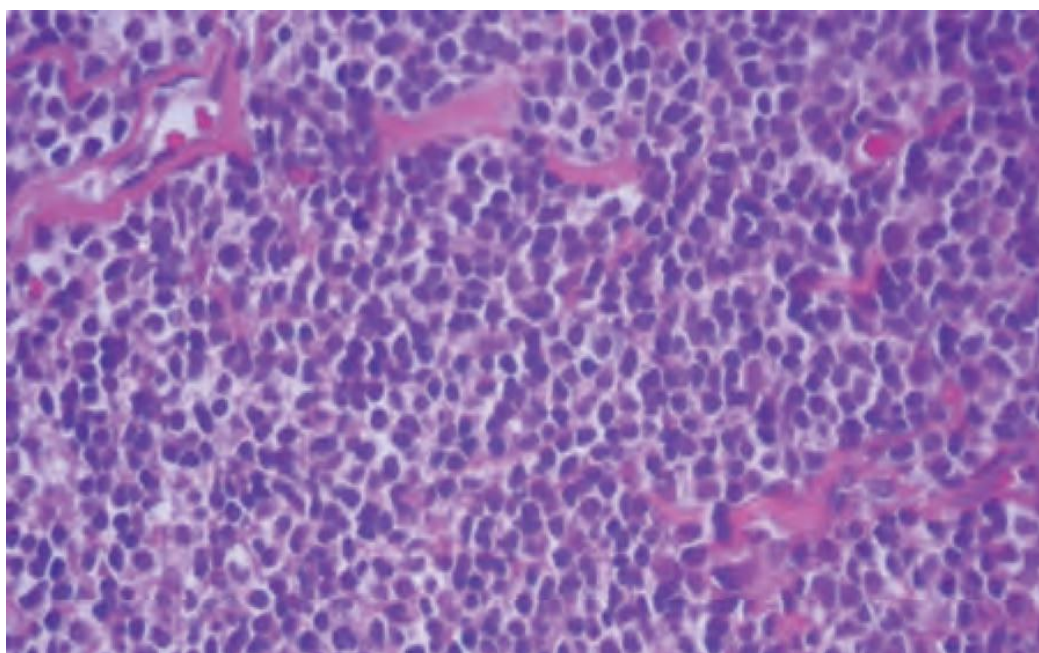


Fig. 3.6. LNH din celulele zonei marginale. Colorație hematoxiniln și eozin, X 110. (foto proprie).

La examenul imunohistochimic au fost depistate CD19 și CD20 pozitive, care au confirmat apartenența liniei B-limfocitară cu CD5, CD10 și CD23 negative. Acest complex imunologic este caracteristic pentru LNH din celulele zonei marginale.

Datele clinice, hematologice, morfologice și imunohistochimice al limfomului non-Hodgkin din celulele zonei marginale au fost studiate la 24 pacienți în vârstă de la 27 de ani până la 74 de ani. Vârsta medie a bolnavilor a constituit 52 de ani. Această variantă a LNH s-a dezvoltat numai la adulți și a predominat la persoanele cu vârstă de 50-59 de ani (37,5%), după care a urmat vârstă de 60-69 de ani (25,0%). LNH din celulele zonei marginale rar au fost diagnosticate în grupurile de vârstă până la 50 de ani și de peste 70 de ani. Aceste date sunt reflectate în tabelul 3.11.

Tabelul 3.11. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de vârstă

Vârsta, (ani)	Numărul de bolnavi	Frecvența %,	intervalul de încredere
20 – 29	3	12,5	25,8±0,8
30 – 39	2	8,3	19,3±2,7
40 – 49	3	12,5	25,85±0,8
50 – 59	9	37,5	56,9±18,1
60 – 69	6	25,0	42,2±7,8
70 – 79	1	4,2	12,2±3,8
Total	24	100	

Din 24 pacienți cu LNH din celulele zonei marginale bărbați au fost 17, iar femei-7. Această variantă a LNH mai frecvent a fost înregistrată la bărbați decât la femei (fig.3.7.).

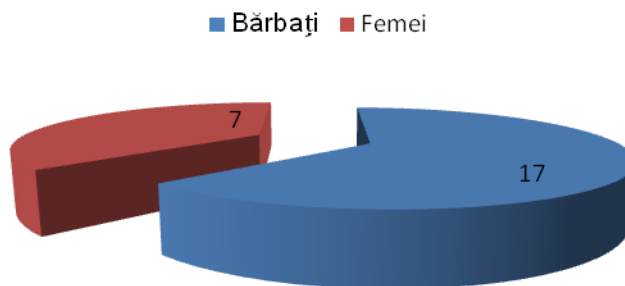


Fig. 3.7. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de sex.

Analiza datelor obținute ca rezultat al distribuirii pacienților cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de vârstă și sex s-a observat că la pacienții cu vârsta cuprinsă între 50-59 de ani cu mult mai frecvent maladia s-a dezvoltat la bărbați decât la femei (88,9% și 11,1% respectiv). La persoanele de vârsta 20-29 de ani și 40-49 de ani, de asemenea LNH din celulele zonei marginale a predominat la bărbați spre deosebire de femei și a avut loc cu aceeași frecvență în ambele grupuri de vârstă (66,7% și 33,3% respectiv). La vârsta de 60-69 de ani LNH din celulele zonei marginale au fost diagnosticate cu aceeași frecvență la bărbați și femei (50,0% și 50,0%, corespunzător). În grupul de vârstă 30-39 de ani maladia a fost constatată doar la 2 pacienți și ambii au fost bărbați, iar la vârsta de peste 70 de ani a fost doar un singur caz- o femeie. (fig. 3.8.).

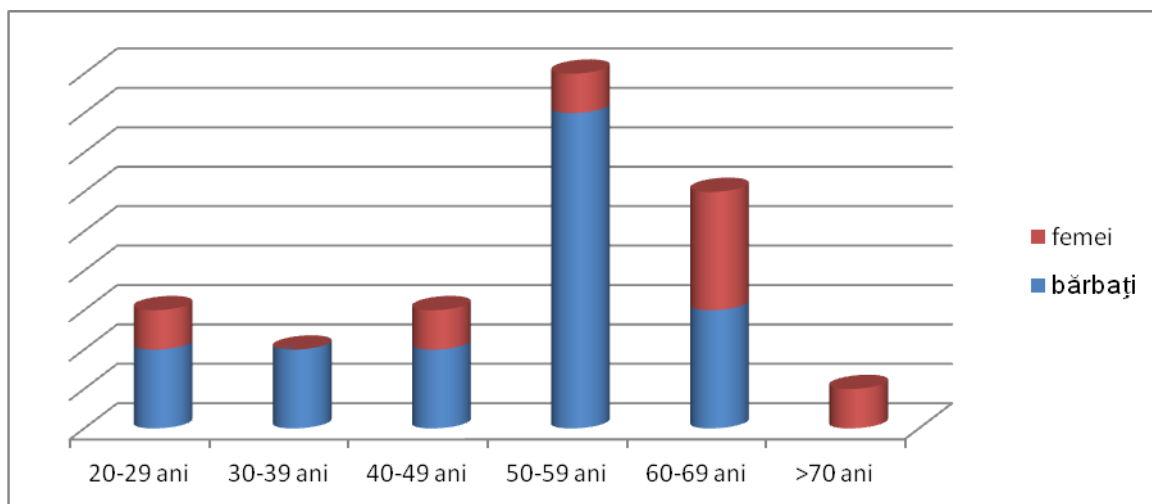


Fig. 3.8. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de vârstă și sex.

Studierea LNH din celulele zonei marginale în funcție de localizarea focarului primar tumoral a arătat că debutul LNH a avut loc mai frecvent în ganglionii limfatici (54,5%),

preponderent în ganglionii limfatici periferici (46,1%) dintre care la jumătate din ei au fost cei cervical (54,5%). Rar procesul tumoral s-a dezvoltat primar în ganglionii limfatici mediastinali și abdominali – doar câte 1 pacient (4,2% respectiv). Atrage atenția frecvența comparativ înaltă de dezvoltare primară acestei forme de LNH în splină (36,5%). În alte organe și țesuturi LNH din celulele zonei marginale au debut rar (tabelul 3.12). Parametrii reprezentați în tabel au o valoare statistică foarte înalt semnificativă (**p<0,001).

Tabelul 3.12. Distribuirea pacienților cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de localizarea focarului primar tumoral

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
Ganglionii limfatici:	13	54,5	74,5±34,5
periferici	11	46,1	73,1±19,1
mediastinali	1	4,2	15,2±-6,8
abdominali	1	4,2	15,2±-6,8
Splina	9	36,5	55,7±17,3
Stomacul	1	4,5	12,4±-3,7
Glanda mamară	1	4,5	12,4±-3,7
Total	24	100	

La stabilirea diagnosticului majoritatea pacienților (79,1%) au fost diagnosticați în stadiile generalizate (III-IV), preponderent stadiul IV (70,8%). Stadiile locale au fost determinate doar în 5 (20,9%) cazuri (tabelul 3.13.). Parametrii reprezentați în tabel au o valoare statistică foarte înalt semnificativă (**p<0,001).

S-a observat că stadiile locale au fost înregistrate doar în cazurile cu debut al LNH din celulele zonei marginale în ganglionii limfatici periferici (4 bolnavi – stadiul II) și în stomac (1 pacient – stadiul I). Mai mult de jumătate din pacienții cu afectarea primară a ganglionilor limfatici

periferici și toate celelalte localizări primare au fost diagnosticați în stadiile generalizate (tabelul 3.14.). Parametrii reprezentați în tabel au o valoare statistică înalt semnificativă (**p<0,01).

Tabelul 3.13. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de stadiul clinic

Stadiul clinic	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
I	-	-	-
I E	1	4,2	12,2±3,8
II	4	16,7	31,6±1,8
II E	-	-	-
III	2	8,3	19,3±2,7
III E	-	-	-
IV	17	70,8	89,0±52,6
Total	24	100	

Notă explicativă: E-extranodal

Aceste date ne indică că pentru această variantă este caracteristică o tendință de generalizare rapidă a procesului tumoral independent de localizarea primară a LNH din celulele zonei marginale.

Simptomele de intoxicare generală B (febră 38°, scăderea ponderală 10% și mai mult în ultimele 6 luni, transpirațiile abundente nocturne) au fost prezente la 10 (41,7%) pacienți dintre care unul a fost în stadiul III și 9 – în stadiul IV.

Se poate de menționat, că simptomele de intoxicare generală au avut loc în cazurile de afectare primară a splinei, ganglionilor limfatici mediastinali, abdominali și ganglionilor limfatici periferici (p>0,005) (tabelul 3.15.).

Tabelul 3.14. Distribuirea pacienților cu LNH din celulele zonei marginale în funcție de localizarea focarului primar tumoral și stadiul clinic

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi	Stadiul clinic			
		I	II	III	IV
		abs.,(%), intervalul de încredere	abs.,(%), intervalul de încredere	abs.,(%), intervalul de încredere	abs.,(%), intervalul de încredere
Ganglionii limfatici:					
periferici	11	-	4 (36,4) 64,8±8,0	2 (18,2) 40,9±-4,5	5 (45,4) 74,8±16,1
mediastinali	1	-	-	-	1 (100)
abdominali	1	-	-	-	1 (100)
Splina	9	-	-	-	9 (100)
Stomacul	1	1 (100)	-	-	-
Glanda mamară	1	-	-	-	1 (100)
Total	24	1 (4,2) 12,2±-3,8	4 (16,7) 31,2±2,2	2 (8,3) 19,3±-2,7	17 (70,8) 89,0±52,6

Atrage atenția frecvența înaltă a simptomelor de intoxicare generală la pacienții cu LNH lienale (7 din 9 bolnavi – 77,7%). În cazurile de afectare primară a ganglionilor limfatici periferici simptomele de intoxicare au fost înregistrate rar – doar într-un singur caz din 11 bolnavi. Din simptomele de intoxicare generală au predominat febră (90%), pierdere ponderală (40%).

Tabelul 3.15. Frecvența simptomelor de intoxicare generală în funcție de localizarea focarului primar tumoral în LNH din celulele zonei marginale

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi	Numărul de bolnavi cu simptome de intoxicare generală abs., (%), intervalul de încredere
Ganglionii limfatici:		
periferici	11	1 (9,1) 26,1±7,9
mediastinali	1	1 (100)
abdominali	1	1 (100)
Splina	9	7 (77,7) 94,4±61,0
Stomacul	1	-
Glanda mamară	1	-
Total	24	10 (41,7) 61,5±21,9

Studierea răspândirii LNH din celulele zonei marginale la 23 bolnavi urmăriți până la stadiul II a arătat că la etapele inițiale în procesul tumoral la mai mult de jumătate din pacienți (15 din 23 – 65,2%) au fost afectați ganglionii limfatici din zonele vecine. Se poate de menționat că majoritatea pacienților (11 din 15 bolnavi – 73,3%) la care au avut loc metastaze în ganglionii limfatici regionali au fost cu localizarea focarului primar tumoral în ganglionii limfatici:

- 10 – periferici
- 1 – abdominali.

La pacienții urmăriți mai mult de stadiul II (19 bolnavi) în scurt timp după apariția ganglionilor limfatici regionali la 12 (63,1%) bolnavi au fost constatate metastaze și în ganglionii limfatici la distanță. La majoritatea din ei (70,0%) focarul tumoral primar al LNH din celulele zonei marginale a fost localizat în ganglionii limfatici periferici. Răspândirea LNH în ganglionii limfatici la distanță fără afectarea ganglionilor limfatici din zonele vecine a avut loc la 4 (21,1%) pacienți și toți au fost cu afectarea primară a splinei ($p > 0,005$) (tabelul 3.2.7.).

La 3 (15,8%) pacienți au fost determinate metastaze extranodale fără afectarea ganglionilor limfatici regionali și la distanță. La 1 pacient focarul primar a LNH a fost în mediastin, la altul – în splină și într-un caz în glanda mamară.

Analiza acestor date arată că în LNH din celulele zonei marginale cu afectarea primară a ganglionilor limfatici periferici în majoritatea cazurilor are loc o consecutivitate în răspândirea

procesului tumoral spre deosebire de LNH cu debut extranodal. În aceste LNH se pot dezvolta metastaze extranodale fără afectarea ganglionilor limfatici la distanță și chiar și cei regionali.

Se poate de menționat, că aproximativ cu aceeași frecvență au fost interesați în procesul de generalizare a LNH ganglionii limfatici cervicali, axilari și inghinali (63,2%, 57,9% și 63,2% respectiv), după care au urmat ganglionii limfatici abdominali (47,4%). Mai rar au fost afectați ganglionii limfatici mediastinali (21,1%) (tabelul 3.16.).

Tabelul 3.16. Frecvența metastazelor în diferite grupuri de ganglioni limfatici în LNH din celulele zonei marginale

Localizarea metastazelor	Numărul de bolnavi	Frecvența %	Intervalul de încredere
Ganglionii limfatici:			
cervicali	12	63,2	85,0±41,1
axilari	11	57,9	80,0±35,8
inghinali	12	63,2	85,0±41,1
mediastinali	4	21,1	39,5±2,7
abdominali	9	47,4	69,9±24,9

Tabelul 3.17. Frecvența afectării diverselor grupuri de ganglioni limfatici și zone extranodale după sau fără metastaze în ganglionii regionali în funcție de localizarea focarului primar tumoral în LNH din celulele zonei marginale

Zonele de metastazare	Numărul de bolnavi	Frec-vența %, interval de încredere	Localizarea focarului primar tumoral				
			Ganglionii limfatici			Splina abs. (%)	Glanda mamară abs. (%)
			peri-ferici abs. (%)	medi-astinali abs. (%)	abdo-minali abs. (%)		
Ganglioni limfatici la distanță după metastazele în zonele vecine de ganglioni limfatici	12	63,1 84,9±41,3	7 (100)	-	1 (100)	4 (44,4)	-
Ganglioni limfatici la distanță fără afectarea ganglionilor limfatici regionali	4	21,1 39,5±2,7	-	-	-	4 (44,4)	-
Zonele extranodale fără afectarea ganglionilor limfatici regionali și la distanță	3	15,8 32,3±0,7	-	1 (100)	-	1 (11,2)	1 (100)
În total	19	100	7 (100)	1 (100)	1 (100)	9 (100)	1 (100)

Apariția formațiunilor tumorale în afara ganglionilor limfatici a avut loc destul de frecvent. Din 24 bolnavi până la stadiul IV au fost urmăriți 17 pacienți, restul se află sub supraveghere în stadiile I, II, III. Așa număr mare de pacienți indică la o tendință înaltă de generalizare a procesului tumoral cu implicarea diferitor organe și țesuturi în această formă a LNH ($p>0,005$) (tabelul 3.18.).

Tabelul 3.18. Frecvența metastazelor extranodale
în funcție de localizarea focarului primar tumoral al LNH din celulele zonei marginale

Localizarea metastazelor extranodale	Număr de bolnavi (17 bolnavi în st.IV)	Frecvența %, intervalul de încredere	Localizarea focarului primar tumoral				
			Ganglionii limfatici			Splina (9 bolnavi) abs.	Glanda mamară (1 bolnav) abs.
			peri-ferici (5 bolnavi) abs.	medi-astinali (1 bolnav) abs.	abdo-minali (1 bolnav) abs.		
Măduva oaselor	14	82,4 100,4±64,4	5	-	-	8	1
Ficat	7	41,2 64,5±17,9	1	-	-	6	-
Splina	2	11,8 27,1±-3,5	1	-	1	-	-
Țesutul pulmonar	2	11,8 27,1±-3,5	-	1	-	1	-
Regiunea cecală	1	5,9 1,19±-0,8	-	-	1	-	-

Din tabelul 3.18. se observă predominarea afectării măduvei oaselor, care s-a diagnosticat la 14 (82,4%) din 17 pacienți urmăriți până la stadiul IV. Este necesar de menționat că afectarea măduvei oaselor a avut loc la toți 5 pacienți cu afectarea primară a ganglionilor limfatici periferici urmăriți până la stadiul IV și la 8 din 9 bolnavi cu debutul LNH în splină. Despre celelalte localizări primare este dificil de-a face careva concluzii deoarece a fost doar câte un singur caz. Alte

metastaze extranodale au fost în ficat (41,2%), splină (11,8%), țesutul pulmonar (11,8%) și intestine (regiunea cecală) (5,9%).

Ficatul frecvent a fost interesat în procesul de generalizare a LNH în cazurile de afectare primară a splinei (66,6%) și ganglionilor limfatici periferici (40,0%).

În cazurile de afectare a măduvei oaselor de către LNH din celulele zonei marginale modificările hematologice au fost diverse (tab.3.19.).

Tabelul 3.19. Analiza sângelui periferic la depistarea bolii

Hb (g/l)	Eritrocite (x 10 ¹² /l)	Leucocite (x 10 ⁹ /l)	Promielocite	Mielocite	Metamielocite	Nesegment. (%)	Segmentate (%)	Eozinofile (%)	Limfocite (%)	Monocite (%)	Reticulocite	Trombocite (x 10 ⁹ /l)	VSH(mm/h)
100	3,5	6,9				6	58	1	27	8		175,0	37
94	3,3	2,8				18	50	1	13	18	68	99,0	5
86	3,0	25,0				3	12		81	4	67	180,0	35
120	4,0	29,0				1	18	1	76	4		220,0	12
72	2,5	4,4		2		10	45	1	28	14	3	112,3	30
135	4,5	80,6					13		86	1		220,0	4
158	4,9	6,4				1	62		32	5		269,0	59
90	3,1	51,2		1		1	4		93	1	20	124,0	23
130	3,6	5,6				1	74	1	13	11		342,0	30
119	4,0	13,4				5	17	10	61	7		320,0	10
124	4,4	9,0				3	48	3	43	3		220,0	20
126	4,1	14,2			1	5	13		72	9		213,2	18
89	3,7	3,0				9	52	6	19	14	8	94,0	58
121	4,1	4,0				8	45	2	27	18		278,8	2

În 7 (50,0%) cazuri s-a dezvoltat anemie de diferit grad conform conținutului hemoglobinei. Anemie de gradul I (Hb 91-110 g/l) s-a depistat la 3 pacienți, de gradul II (Hb 71-90 g/l) la 4 bolnavi. Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a eritrocitelor a fost de $3,9 \times 10^{12} / l$ (min- $2,5 \times 10^{12}/l$, max- $4,9 \times 10^{12}/l$), iar valoarea medie a hemoglobinei a fost de 119,0g/l (min-72g/l, max-158g/l).

Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a leucocitelor a fost de $13,0 \times 10^9/l$ (min- $2,8 \times 10^9/l$, max- $80,6 \times 10^9/l$), iar valoarea medie a limfocitelor din formula leucocitară a fost de 38,3% (min-10%, max-93%).

Leucopenia s-a constatat la 2 (14,9%) bolnavi, leucocitoză a fost la 6 (42,9%) bolnavi. Numărul de leucocite la acești 6 bolnavi a constituit 25,0, 29,0, 80,6, 51,2, 13,4 și $14,2 \cdot 10^9/l$ din contul limfocitozei. La restul 6 (42,9%) pacienți numărul de leucocite a fost în limitele normale.

Trombocitopenia s-a constatat la 4 (28,5%) pacienți și a constituit 94,0, 99,0, 112,0, $112,0 \cdot 10^9/l$. Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a trombocitelor a fost de $231,1 \times 10^9/l$ (min- $94,0 \times 10^9/l$, max- $342,0 \times 10^9/l$).

În cazurile de afectare a măduvei oaselor s-au depistat focare de infiltrare a măduvei oaselor cu celule limfoide care atât în punctatul măduvei oaselor cât și în trepanobiopat au avut caracter de celule mature cu cromatina nucleului compactă, fără nucleoli, cu citoplasma îngustă.

Prognosticul acestui LNH în majoritatea cazurilor este nesatisfăcător (tabelul 3.20.).

Tabelul 3.20. Indexul prognostic internațional pentru LNH din celulele zonei marginale

Grupa de risc	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
Risc jos	3	12,5	$25,8 \pm 0,8$
Risc intermediar jos	6	25,0	$42,2 \pm 7,8$
Risc intermediar înalt	2	8,3	$19,3 \pm 2,7$
Risc înalt	13	54,2	$74,5 \pm 34,5$
Total	24	100	

Datele prezentate în tabel denotă risc înalt la majoritatea (15 din 24 bolnavi – 62,5%) pacienților. În 2 cazuri se constată risc intermediar înalt, în 13 cazuri – risc înalt. La 3 (12,5%) pacienți a fost risc jos, la 6 (25,0%) risc intermediar jos.

Supraviețuirea generală a pacienților cu LNH din celulele zonei marginale peste 2 și 5 ani a fost egală cu 88,4% și 44,3% corespunzător (fig. 3.9.).

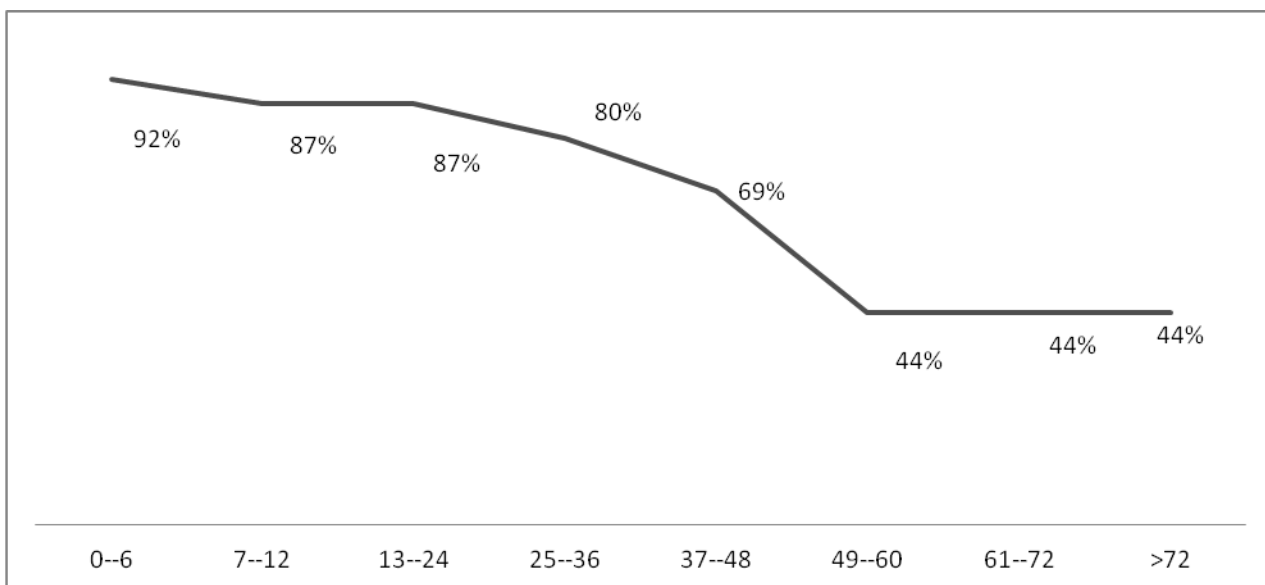


Fig. 3.9. Supraviețuirea generală a pacienților cu LNH din celulele zonei marginale.

3.3. Concluzii la capitolul 3

1. Pentru limfomul non- Hodgkin limfocitar din limfocite mici morfologic tumoarea 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 importante sunt morfologia limfocitelor. Ele sunt mici cu citoplasma foarte îngustă și cromatina condensată. În LNH din celulele zonei marginale în cazul afectării primare a stomacului, glandei mamare au fost constatate modificări tipice pentru MALT limfom, spre deosebire de cazul dezvoltării focarului primar în ganglionii limfatici-predominarea celulelor monocitoide printre limfocite mici, unici centroblaști și imunoblaști.
2. LNH limfocitare din limfocite mici și LNH din celulele zonei marginale sunt B-celulare (CD19+, CD20+). Imunohistochimic specific pentru LNH este pozitivă coexpresia CD23/CD5, pentru LNH din celulele zonei marginale CD5, CD23 și CD10 sun negative.
3. Debutul LNH limfocitare din limfocite mici și LNH din celulele zonei marginale a avut loc mai frecvent în ganglionii limfatici și aproximativ cu aceeași frecvență (50,0% și 54,5%, respectiv). Atrage atenție frecvența înaltă de afectare primară a splinei în ambele tipuri de LNH indolente (32,1% și 36,5%, corespunzător).
4. LNH limfocitare din limfocite mici și LNH din celulele zonei marginale preponderent s-au dezvoltat la vârsta 50-69 de ani (75,0% și 62,5%, respectiv).

5. LNH limfocitare din limfocite mici și LNH din celulele zonei marginale în majoritatea cazurilor, inițial s-au răspândit în ganglionii limfatici regionali (88,9% și 65,2%, corespunzător).
6. În LNH limfocitar din limfocite mici la etapa de generalizare a procesului tumoral măduva oaselor a fost interesată mai frecvent decât în LNH din celulele zonei marginale (95,5% și 82,4%, respectiv).
7. În ambele tipuri ale LNH indolente afectarea măduvei oaselor în hemograma sângelui periferic s-a manifestat preponderent prin leucocitoză cu limfocitoză: în LNH limfocitare din limfocite mici - (71,4%), iar în LNH din celulele zonei marginale a constituit 42,9%. Anemia s-a dezvoltat aproximativ la jumătate din pacienți indiferent de tipul LNH indolent (42,8% și 50,0%). Trombocitopenia a fost mai frecvent constatată la pacienții cu LNH din celulele zonei marginale spre deosebire de pacienții cu LNH limfocitar din limfocite mici (28,5% și 9,5%, respectiv).
8. Supraviețuirea pacienților de peste 5 ani a fost mai înaltă în varianta LNH limfocitar din limfocite mici (65,1%), spre deosebire de supraviețuirea pacienților cu LNH din celulele zonei marginale în același termen (44,3%), ceea ce indică la un prognostic mai favorabil pentru pacienții cu LNH limfocitar din limfocite mici.

4.ASPECTE CLINICO-HEMATOLOGICE, MORFOLOGICE ȘI IMUNOHISTOCHIMICE ALE LIMFOMULUI FOLICULAR ȘI ALE LIMFOMULUI DIN CELULELE ZONEI DE MANTA

4.1. Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfoamelor non- Hodgkin foliculare

Substratul morfologic al limfomului folicular îl constituie celulele B-limfoide ale centrelor germinative ale foliculelor ganglionilor limfatici, care fiind maligne își păstrează capacitatea de a forma structuri foliculare (nodulare). Aceste celule sunt prezentate de centrocite (celule mici de dimensiuni medii cu nucleie clivate) și centroblaști (celule mari cu nucleie neclivate).

Aspectele morfologice și imunohistochimice au fost studiate la 16 pacienți cu LNH folicular. Conform tabloului morfologic în preparatele histologice colorate cu hematoxin-eozin, deja a fost posibil de stabilit afirmativ diagnosticul histologic de LNH folicular.

Morfologic caracteristic pentru această variantă a fost 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.

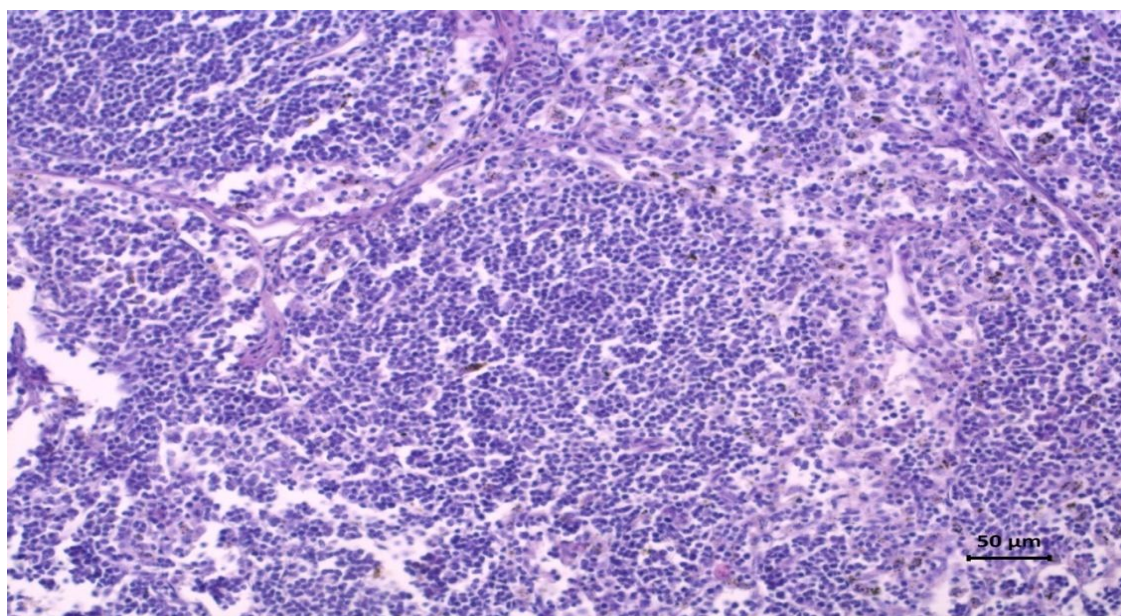


Fig. 4.1. Limfom non-Hodgkin folicular cu formarea pseudofoliculilor. Colorația hematoxin și eozin, X 100. (foto proprie).

Examinarea imunohistochimică a depistat pozitive CD19, CD20, ce denotă originea B- celulară a substratului tumoral și CD 10 pozitiv. Au fost negative CD5, CD23. Prezența de CD 10 pozitiv a fost în favoarea LNH folicular (fig. 4.2.).

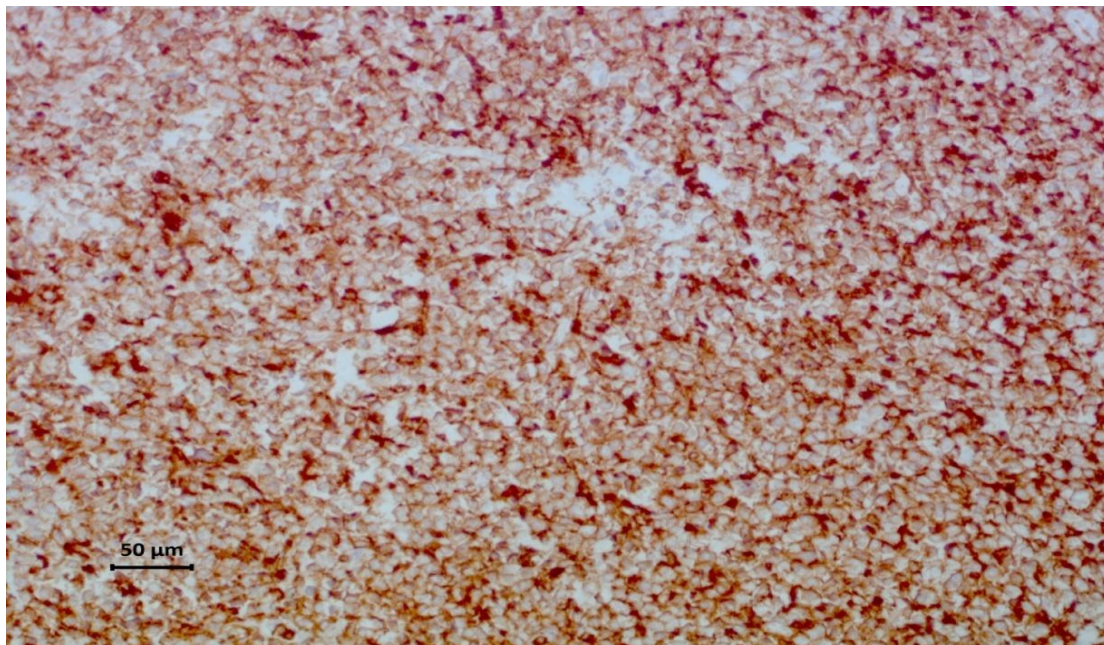


Fig. 4.2. Limfom non-Hodgkin folicular, CD 10 pozitiv. Colorația imunofermentativă. (foto proprie).

Datele clinice, hematologice, morfologice și imunohistochimice ale acestor limfoame au fost studiate la 16 pacienți cu vârstă de la 33 de ani până la 70 de ani (tabelul 4.1.).

Vârsta medie a constituit 54,3 ani.

La distribuirea pacienților cu limfom non-Hodgkin folicular în funcție de vârstă s-a observat o frecvență mai înaltă în grupul de pacienți cu vârstă de 50-59 de ani (43,8%). Limfoamele non-Hodgkin foliculare s-au dezvoltat mai rar la persoanele cu vârstă de 40-49 de ani și 60-69 de ani (25,0%, și 18,8% respectiv). Foarte rar, doar câte 1 (6,2%) pacient, a fost diagnosticat în grupurile de vârstă 30-39 de ani și 70-79 de ani. La persoanele tinere de 20-29 de ani n-a fost înregistrat limfomul non-Hodgkin folicular nici într-un caz.

Tabelul 4.1. Repartizarea bolnavilor de LNH folicular în funcție de vârstă

Vârsta (ani)	Numărul de bolnavi	Frecvența %	Intervalul de încredere
20-29	-	-	-
30-39	1	6,2	18,0±-5,6
40-49	4	25,0	46,2±3,8
50-59	7	43,8	68,1±19,5
60-69	3	18,8	38,0±-0,4
70-79	1	6,2	18,0±-5,6
Total	16	100	

Astfel, această variantă a LNH a predominat la persoanele cu vârsta de 40-69 de ani (87,6%), preponderent 50-59 de ani (43,8%). Din 16 pacienți incluși în studiu cu LNH foliculare bărbați au fost 6, iar femeii-10. Aceste date sunt prezentate în figura 4.3.

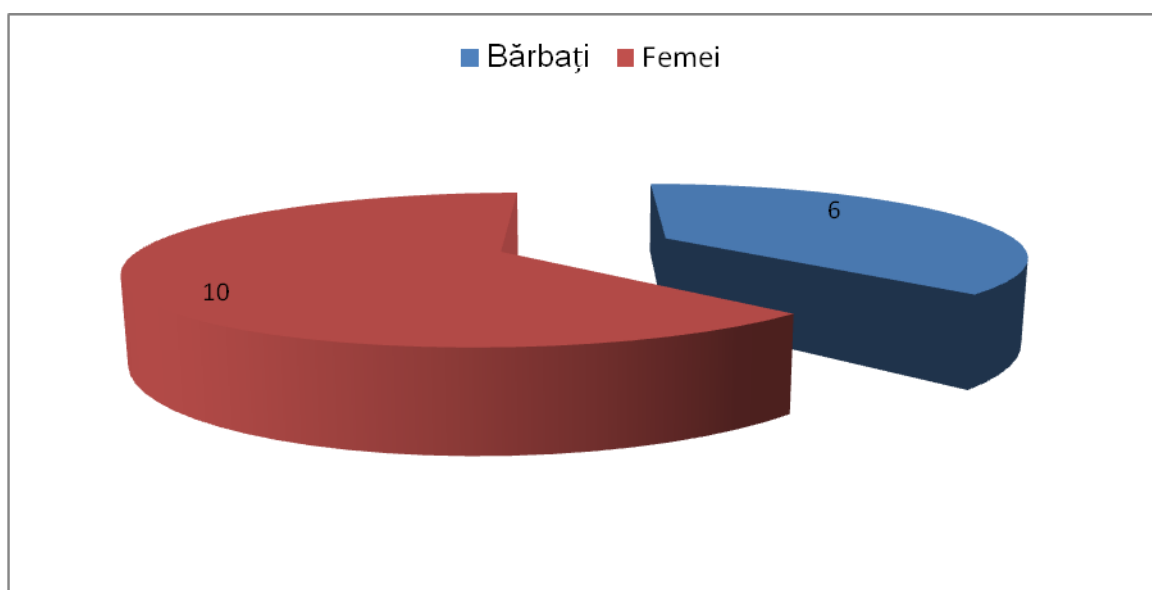


Fig. 4.3. Distribuirea pacienților cu LNH foliculare în funcție de sex.

Studierea LNH foliculare în funcție de vârstă și sex a arătat că în grupurile de vârstă 50-59 și 60-69 de ani s-a dezvoltat mai frecvent la femei decât la bărbați (85,7% și 66,7%, respectiv). La vârsta de 40-49 de ani frecvența dezvoltării procesului tumoral a fost aceeași la ambele sexe 950,0% și 50,0%, corespunzător). La vârsta de 30-39 de ani și 70-79 de ani LNH foliculare au fost diagnosticate doar câte 1 pacient și în ambele cazuri au fost bărbați (fig. 4.4.). Din cauza numărului mic de bolnavi în aceste grupuri de vârstă nu este posibil de făcut careva concluzii.

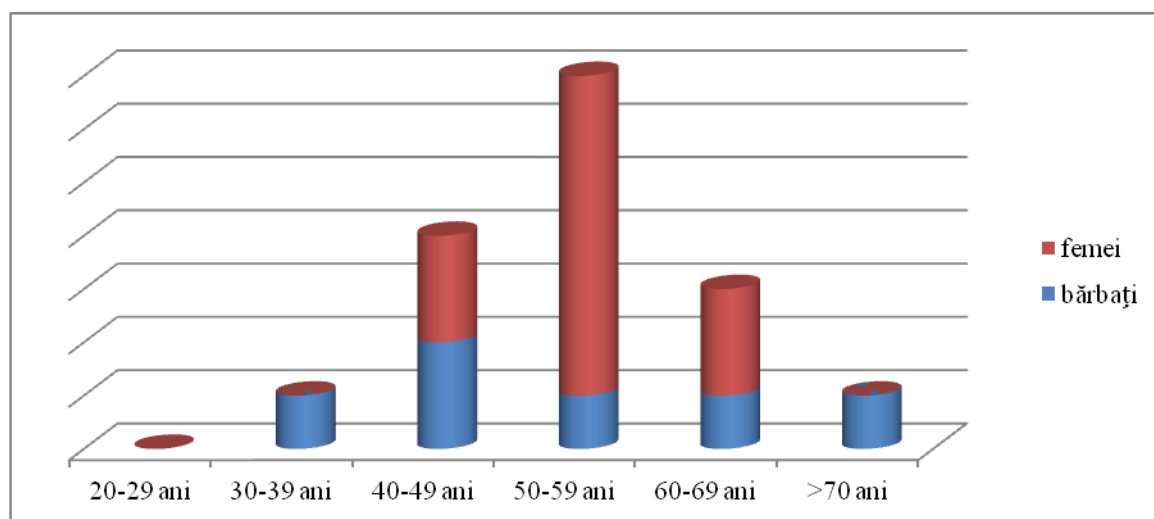


Fig. 4.4. Distribuția pacienților cu LNH foliculare în funcție de vârstă și sex.

Focarul tumoral primar al LNH foliculare s-a dezvoltat cel mai frecvent în ganglionii limfatici periferici (6 bolnavi) și în splină (6 bolnavi) care a avut loc cu aceeași frecvență (37,5% și 37,5%, respectiv) (tabelul 4.2.). Au predominat ganglionii limfatici cervicali (66%). Acești parametri au o valoare semnificativ statistică (*p=0,05).

Tabelul 4.2. Distribuția pacienților cu LNH folicular în funcție de localizarea focarului primar tumoral

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
Ganglionii limfatici periferici	6	37,5	61,2±13,8
Splina	6	37,5	61,2±13,8
Țesuturile moi	2	12,4	28,5±-3,7
Glanda mamară	1	6,3	18,3±-5,7
Colonul	1	6,3	18,3±-5,7
Total	16	100	

În celelalte 4 cazuri au fost primar afectate țesuturile moi (2 bolnavi), glanda mamară și colonul (câte 1 pacient). Este necesar de menționat că LNH foliculare mai frecvent s-au dezvoltat extranodal (62,5%).

Conform Clasificării Clinice Internaționale, primite în Ann-Arbor (1971) majoritatea pacienților cu LNH foliculare (81,1%) au fost diagnosticați în stadiile generalizate (III-IV), preponderent în stadiul IV (68,8%) (tabelul 4.3.). Doar 3 bolnavi (18,9%) au fost diagnosticați în stadiile locale (I-II). Acești parametri au o valoare înalt semnificativ statistică (**p=0,01).

Stadiul III a fost diagnosticat la 2 pacienți, stadiul IV – la 11 pacienți. Stadiul I a fost constatat numai la 2 bolnavi, iar stadiul II – la 1 pacient.

Repartizarea pacienților în funcție de localizarea focarului primar și stadiul maladiei ne-a arătat, că în stadiile locale (I-II) au fost diagnosticați doar câte un pacient cu debutul LNH folicular în ganglionii limfatici periferici și anume cervicali, glanda mamară și țesuturile moi (tabelul 4.4.). Acești parametri au o valoare semnificativ statistică (*p=0,05). Majoritatea bolnavilor cu afectarea primară a ganglionilor limfatici periferici (83,3%) și toți bolnavii cu LNH lienale (100%) la stabilirea diagnosticului au fost constatate stadiile generalizate (III-IV). Aceste date ne permit să presupunem că LNH foliculare independent de localizarea primară a focarului tumoral au un debut lent care inițial nu provoacă discomfort pacienților însă ulterior are loc o generalizare rapidă care și îi face să se adreseze la medic.

Tabelul 4.3. Distribuția pacienților cu LNH folicular în funcție de stadiul clinic

Stadiul clinic	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
I	1	6,3	18,3±5,7
I E	1	6,3	18,3±5,7
II	-	-	-
II E	1	6,3	18,3±5,7
III	2	12,3	28,3±3,7
III E	-	-	-
IV	11	68,8	91,3±46,1
Total	16	100	

Notă explicativă: E-extranodal

Tabelul 4.4. Distribuirea pacienților cu LNH foliculare în funcție de localizarea focarului primar tumoral și stadiul clinic

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi	Stadiul clinic			
		I	II	III	IV
		abs. (%)	abs. (%)	abs. (%)	abs. (%)
Ganglionii limfatici periferici	6	1 (16,7) 46,5±-13,1	-	2 (33,3) 70,9±-4,3	3 (50,0) 90,0±10,0
Splina	6	-	-	-	6 (100)
Țesuturile moi	2	1 (50,0) 119,2±-19,2	-	-	1 (50,0) 119,2±-19,2
Glanda mamară	1	-	1(100)	-	-
Colonul	1	-	-	-	1 (100)
Total	16	2 (12,6) 28,8±-3,8	1 (6,3) 18,3±-5,7	2 (12,3) 28,8±-3,8	11 (68,8) 91,4±46,0

Deși, majoritatea pacienților au fost diagnosticați în stadiile generalizate (III și IV) simptomele de intoxicare generală B (pierdere în greutate 10% și mai mult în ultimele 6 luni, transpirație nocturnă abundentă și febră >38°) au fost înregistrate doar la 3 pacienți (18,8%) (stadiul III – la 1 bolnav, stadiul IV – la 2). Simptomele de intoxicare generală s-au manifestat prin pierdere ponderală la 2 pacienți și transpirație abundentă nocturnă într-un caz.

La toți 3 bolnavi cu simptome de intoxicare generală B focarul primar tumoral a fost localizat în ganglionii limfatici periferici (tab.4.5.).

Tabelul 4.5. Frecvența simptomelor de intoxicare generală în funcție de localizarea focarului primar tumoral ale LNH foliculare

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi	Numărul de bolnavi cu simptome de intoxicare generală abs., (%), intervalul de încredere
Ganglionii limfatici periferici	6	3 (50,0) 90,0±10,0
Splina	6	-
Țesuturile moi	2	-
Colonul	1	-
Glanda mamară	1	-
Total	16	3 (18,8) 38,0±0,4

La majoritatea pacienților (10 din 13 – 76,9%), urmăriți până la stadiul II, la etapa inițială procesul tumoral s-a răspândit în ganglionii limfatici din zonele vecine. Însă, este necesar de menționat că metastazarea în ganglionii limfatici regionali este în funcție de localizarea focarului primar tumoral. La pacienții cu afectarea primară a splinei răspândirea LNH în ganglionii limfatici regionali a avut loc doar la jumătate (50,0%) din bolnavi, pe când la toate celelalte localizări metastaze în ganglionii limfatici din zonele vecine au fost constatate în toate cazurile ($p > 0,005$) (tabelul 4.6.).

Tabelul 4.6. Frecvența metastazelor în ganglionii limfatici regionali la pacienții cu LNH foliculare în funcție de localizarea focarului primar tumoral

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi	Ganglionii limfatici regionali abs. (%), iî
Ganglionii limfatici periferici	5	5
Splina	6	3
Glanda mamară	1	1
Colonul	1	1
Total	13	10 (76,9) 103,0±50,8

Răspândirea procesului tumoral rar s-a limitat doar la ganglionii limfatici din zonele vecine. Din numărul pacienților urmăriți mai mult de stadiul II (13 bolnavi) în scurt timp la 6 (46,1%) din ei a avut loc metastazarea în ganglionii limfatici la distanță, însă la 4 (30,8%) îndată după ganglionii limfatici regionali au fost constatate metastaze extranodale. În 3 (23,1%) cazuri cu afectarea primară a splinei metastazele extranodale au fost diagnosticate fără afectarea ganglionilor limfatici atât regionali cât și la distanță ($p>0,005$) (tabelul 4.7).

Deci, se poate de constatat că, în cazurile de afectare primară a ganglionilor limfatici periferici este o consecutivitate în răspândirea procesului tumoral în ganglionii limfatici din zonele vecine, ulterior și la cei de la distanță. La pacienții cu LNH foliculare cu localizare primară extranodală ganglionii limfatici la distanță n-au fost afectați nici într-un caz. Îndată după metastazele în ganglionii limfatici regionali procesul tumoral s-a răspândit în alte organe și țesuturi. Iar în cazurile LNH cu afectare primară a splinei la jumătate (50,0%) din pacienți au avut loc metastaze extranodale direct în măduva oaselor chiar și fără interesarea ganglionilor limfatici regionali.

Frecvent au fost afectați în procesul de metastazare ganglionii limfatici cervicali, axilari, abdominali (câte 61,5%, respectiv), mai rar ganglionii limfatici inghinali (38,5%) și foarte rar ganglionii limfatici mediastinali (15,4%) (tabelul 4.8.).

Tabelul 4.8. Frecvența afectării diferitor grupuri de ganglioni limfatici în LNH foliculare

Zonele de ganglioni limfatici	Numărul de bolnavi	Frecvența (%)	Intervalul de încredere
Cervicali	8	61,5	87,8±35,2
Axilari	8	61,5	87,8±35,2
Inghinali	5	38,5	65,0±12,0
Mediastinali	2	15,4	35,0±4,2
Abdominali	8	61,5	87,8±35,2

Tabelul 4.7. Frecvența afectării ganglionilor limfatici la distanță și zonelor extranodale după apariția metastazelor în ganglionii limfatici regionali în funcție de localizarea focarului primar ale LNH foliculare

Zonele de metastazare	Numărul de bolnavi	Frecvența %, interval de încredere	Localizarea focarului primar			
			Ganglionii limfatici periferici abs. (%), î	Splina abs. (%), î	Țes. moi abs. (%),î	Colonul abs. (%),î
Ganglioni limfatici la distanță după metastazele în ganglionii limfatici regionali	6	46,1 73,1±19,1	5 (100)	1(16,7) 46,5±13,1	-	-
Metastaze extranodale apărute după ganglionii limfatici regionali fără ganglionii limfatici la distanță	4	30,8 91,2±29,6	-	2(33,3) 70,9±4,3	1 (100)	1 (100)
Metastaze extranodale fără ganglionii limfatici regionali și la distanță	3	23,1 46,0±0,2	-	3(50,0) 90,0±10,0	-	-
În total	13	13 (100)	5(100)	6 (100)	1 (100)	1 (100)

Apariția formațiunilor tumorale în afara ganglionilor limfatici a avut loc frecvent. La majoritatea bolnavilor au fost înregistrate metastaze extranodale 11 din 16 pacienți (68,8%). Până la stadiul IV au fost urmăriți 11 bolnavi. Celelalte 5 cazuri rămân sub supraveghere în stadiile I, II și III. Așa un număr mare de pacienți la care au avut loc metastaze extranodale arată că pentru această variantă a LNH este caracteristică interesarea în procesul de generalizare a tumorii a diferitor organe și țesuturi. Una din cele mai frecvente zone de metastazare extranodală a fost măduva oaselor (72,7%), după care a urmat ficatul (36,4%), mai rar splina (9,1%), inelul limfatic Waldeyer, țesuturile moi și intestinul, care au fost identificate cu aceeași frecvență (9,1%) ($p > 0,005$) (tabelul 4.9.).

Tabelul 4.9. Frecvența metastazelor extranodale în funcție de localizarea focarului primar tumoral în LNH foliculare

Localizarea metastazelor extranodale	Număr de bolnavi (11 bolnavi în st.IV)	Frecvența %, intervalul de încredere	Localizarea focarului primar tumoral			
			Ganglionii limfatici periferici % (3 bolnavi) abs.	Splina% (6bolnavi) abs.	Țesuturile moi % (1bolnav) abs.	Colonul% (1 bolnav) abs.
Măduva oaselor	8	72,7 99,0±46,4	2 (66,7)	6 (100)	-	-
Ficatul	4	36,4 64,8±8,0	1 (33,3)	3(50,0)	-	-
Splina	1	9,1 26,2±-8,0	2 (66,7)	-	-	-
Țesuturile moi	1	9,1 26,2±-8,0	1 (33,3)	-	1 (100)	-
Inelul limfatic Waldeyer	1	9,1 26,2±-8,0	2 (66,7)	-	-	-
Colonul	1	9,1 26,2±-8,0	-	-	-	1 (100)

S-a observat că zonele de metastazare extranodală au fost în funcție de localizarea focarului primar. Măduva oaselor a fost interesată la toți pacienții cu afectarea primară a splinei (100%) și în 40,0% cazuri când focarul primar a fost localizat în ganglionii limfatici periferici. Metastaze în

ficat, splină de asemenea au fost înregistrate în LNH foliculare ale splinei și ganglionilor limfatici periferici. La pacienții cu debut al LNH în țesuturile moi, colon, metastaze în măduva oaselor n-a avut loc nici într-un caz. Însă procesul tumoral s-a răspândit în cazurile de afectare primară a țesuturilor moi în oase, iar a colonului în alte zone ale intestinului.

În cazurile afectării măduvei oaselor modificările hematologice au fost diverse (tabelul 4.10.). La 5 (62,5%) pacienți a fost depistată anemia, la 4 din ei anemia a fost de gradul I, la 1-anemia a fost de gradul II. La acest pacient splina a fost primar afectată, ea ocupa aproape toată cavitatea abdominală. Nu se exclude că conținutul hemoglobinei la acest bolnav a fost micșorat nu doar în rezultatul afectării măduvei oaselor dar și a destrucției eritrocitelor la trecerea lor prin această splină mare. Distrucția sporită a eritrocitelor este confirmată prin prezența reticulocitozei. Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a eritrocitelor a fost de $4,0 \times 10^{12} / l$ (min- $3,1 \times 10^{12} / l$, max- $4,5 \times 10^{12} / l$), iar valoarea medie a hemoglobinei a fost de 119g/l (min-90g/l, max-140g/l).

Numărul de leucocite a fost redus ($< 4,0 \cdot 10^9 / l$) la 1 (12,5%) pacient și a constituit $1,6 \cdot 10^9 / l$. Leucopenia în acest caz a fost constatată la pacientul cu splenomegalie masivă, la care a fost și anemie de gradul II (Hb 90g/l).

Tabelul 4.10. Analiza sângelui periferic la depistarea bolii

Hb (g/l)	Eritrocite ($\times 10^{12} / l$)	Leucocite ($\times 10^9 / l$)	Nesegment. (%)	Segmentate (%)	Eozinofile (%)	Limfocite (%)	Monocite (%)	Reticulocite(%)	Trombocite ($\times 10^9 / l$)	VSH(mm/h)
118	3,1	13,6	6	9	1	79	5		158,1	30
140	4,5	7,1	1	56	9	22	12		315	2
114	3,8	8,9	5	65	6	7	17	20	285	3
120	4,0	11,0	1	22	1	72	4		200	3
132	4,5	7,7	2	61	2	30	5		102	12
119	3,9	31,9	2	25		66	7		370	10
90	3,2	1,6	12	52	1	26	9	30	217,6	46
104	3,6	6,9	1	74	1	19	5		342	5

Numărul de leucocite a fost majorat ($>9,0 \cdot 10^9/l$) în 3 (37,5%) cazuri și a constituit $11,0 \cdot 10^9/l$, $13,6 \cdot 10^9/l$ și $31,9 \cdot 10^9/l$ din contul limfocitelor. Limfocitoza la acești bolnavi a constituit 71%, 79% și 66% respectiv. La 4 (50,0%) pacienți numărul de leucocite a fost în limitele normale. Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a leucocitelor a fost de $8,0 \cdot 10^9/l$ (min- $1,6 \cdot 10^9/l$, max- $31,9 \cdot 10^9/l$), iar valoarea medie a limfocitelor din formula leucocitară a fost de 32,5% (min-7%, max-79,0%).

Trombocitopenia ($102,0 \cdot 10^9/l$) a fost confirmată doar la 1 (12,5%) pacient. Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a trombocitelor a fost de $258,1 \cdot 10^9/l$ (min- $77,4 \cdot 10^9/l$, max- $418,0 \cdot 10^9/l$).

În punctatul măduvei oaselor limfocitoză în mielogramă a fost depistată doar la 3 pacienți, la care a fost prezentă limfocitoza în sângele periferic. Limfocitoza în mielogramă a variat de la 56% până la 85%. La 5 (62,5%) pacienți care n-au avut limfocitoză în sângele periferic și în punctatul medular afectarea măduvei oaselor a fost depistată doar prin trepanobiopsie.

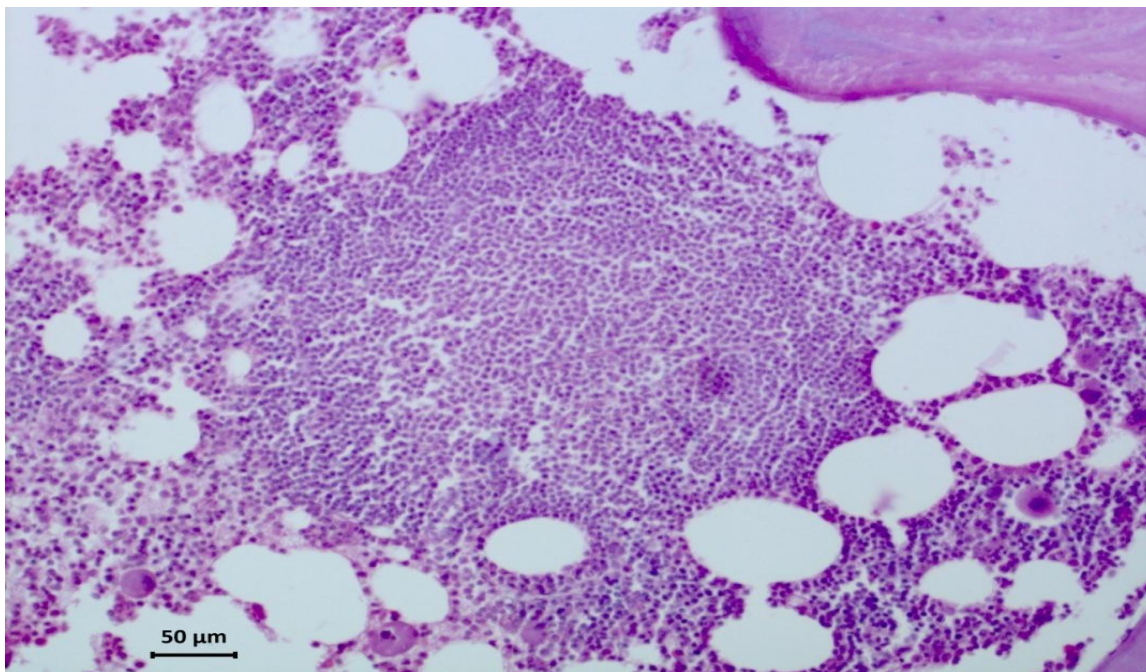


Fig. 4.5. Metastaze ale LNH folicular în măduva oaselor. Formarea pseudofoliculilor. Colorația hematoxilin și eozin, X 70. (Foto proprie)

Aceste date denotă importanța efectuării trepanobiopsiei în examinarea pacienților cu limfoame maligne inclusiv și limfomul folicular. Celularitatea cantitativă a fost obișnuită. Pe acest fondal erau diseminate celule limfoide mici și de dimensiuni medii, pe alocuri sau observat grupuri

de celule limfoide fără formarea unor structuri. În unele cazuri un grup de celule limfoide amintea structura unui folicul (fig. 4.5.).

Repartizarea pacienților conform Indexul Prognostic Internațional a arătat că în majoritatea cazurilor a fost constatat risc intermediar (43,8%) și risc înalt (43,8%). Risc jos a fost determinat doar la 2 bolnavi (12,4%) (tabelul 4.11.).

Tabelul 4.11. Distribuția pacienților cu LNH foliculare conform Indexului prognostic internațional

Grupa de risc	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
Risc jos	2	12,4	28,5±3,7
Risc intermediar	7	43,8	68,1±19,5
Risc înalt	7	43,8	68,1±19,5
Total	16	100	

Supraviețuirea generală a pacienților cu LNH foliculare peste 2 și 5 ani a constituit 94,0% și 57,2% respectiv) (fig. 4.6.). Se poate de constatat, că la majoritatea pacienților care au decedat, decesul a avut loc în al 3-lea și al 4-lea an de la debutul maladiei.

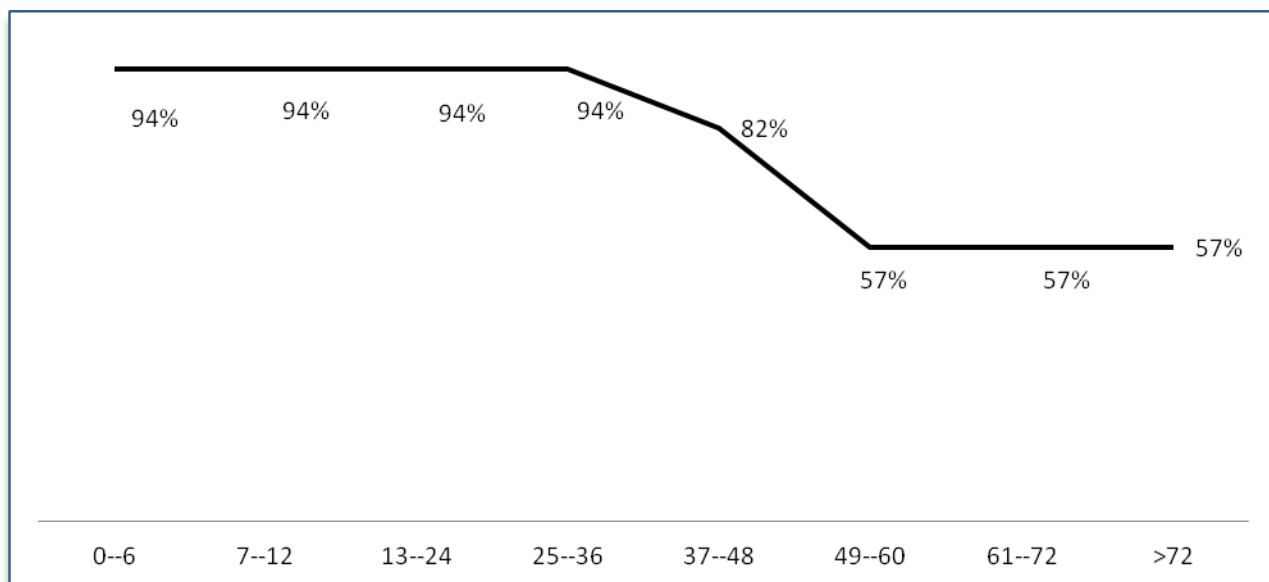


Fig.4.6. Supraviețuirea generală a pacienților cu LNH foliculare.

4.2. Aspecte clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice ale limfoamelor non-Hodgkin din celulele zonei mantalei

Denumirea acestui limfom provine de la localizarea celulelor limfoide maligne în zona mantalei care înconjoară centrul foliculelor ganglionilor limfatici.

Identificarea acestei variante de 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 [15, 16]. În acest scop au fost utilizate metode histologice și imunohistochimice ale bioptatului ganglionilor limfatici și altor țesuturi afectate la 14 pacienți cu LNH din celulele zonei mantalei.

Din cele două subtipuri de celule (tipice și blastoide), care constituie substratul morfologic al acestui limfom, în toate cazurile noastre s-a depistat varianta din celule mici, care au dimensiuni intermediare dintre limfocitele mici și mari. Caracterul de creștere a celulelor tumorale a fost 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-a răspândit și spre centrul foliculelor cu păstrarea rămășițelor centrelor foliculare.(fig.4.7.)

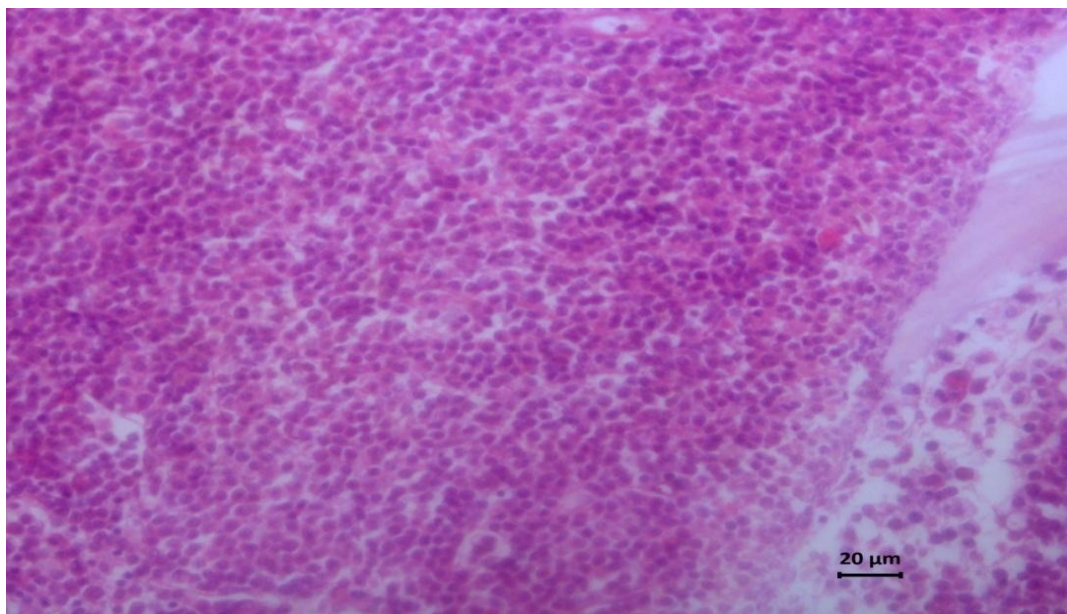


Fig. 4.7. Limfom non-Hodgkin din celulele zonei de manta, ganglion limfatic cu, pseudofolicul cu tendința de creștere difuză. Colorația hematoxinilin și eozin, X 160.(foto proprie)

Diagnosticul a fost confirmat imunohistochimic. Au fost pozitive CD19, CD20, care au confirmat linia B-limfocitară a substratului tumoral, iar CD10 și CD23 – negative.

CD5 a fost pozitiv (fig. 4.8.). Acest complex imunohistochimic este caracteristic pentru LNH din celulele zonei mantalei.



Fig. 4.8. Limfom non-Hodgkin din celulele zonei de manta, CD 5 pozitiv. Colorația imunofermentativă, X110. (foto proprie).

Datele clinice au fost studiate la 14 pacienți în vârstă de la 32 de ani până la 76 ani, la care a fost stabilit diagnosticul de LNH din celulele zonei mantalei. Vârsta medie a constituit 52 de ani.

La stabilirea diagnosticului s-a observat o frecvență mai înaltă la persoanele cu vârstă 50-59 de ani (57,2%). LNH din celulele zonei mantalei rar s-au dezvoltat la vârstă de 40-49 și 30-39 de ani (21,4% și 14,3% respectiv). Foarte rar această formă a fost diagnosticată la vârstă de peste 60 de ani (7,1%) (tabelul 4.12.).

Tabelul 4.12. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei mantalei în funcție de vârstă

Vârsta (ani)	Numărul de bolnavi	Frecvența (%),	intervalul de încredere
20 – 29	-	-	-
30 – 39	2	14,3	32,7±-4,1
40 – 49	3	21,4	43,0±-0,2
50 – 59	8	57,2	83,1±31,3
60 – 69	-	-	-
70 – 79	1	7,1	20,6±-6,4
Total	14	100	

Din 14 pacienți cu LNH din celulele zonei de manta bărbați au fost 7 și femeii de asemenea – 7. (fig. 4.9.).

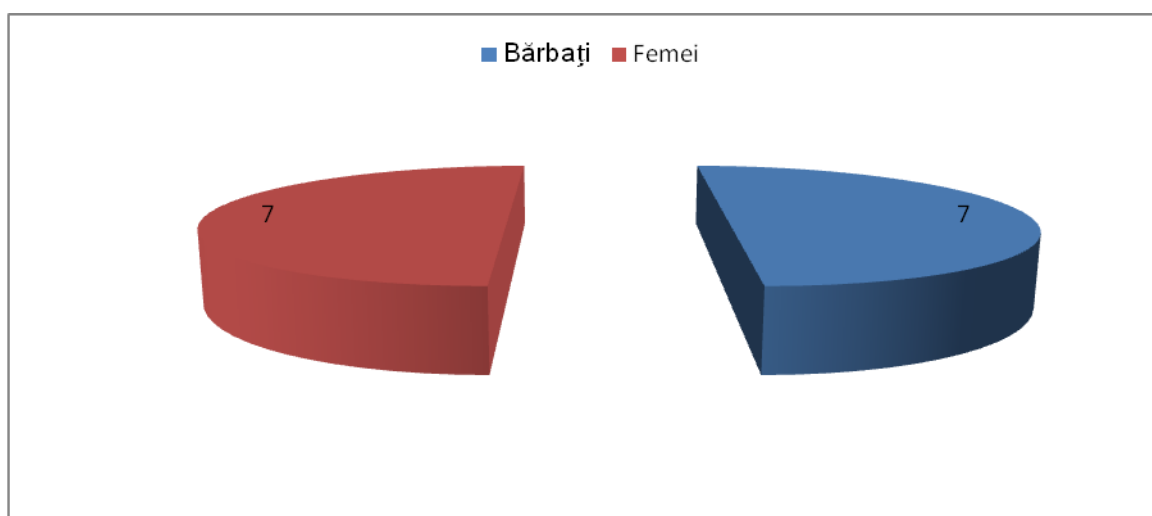


Fig.4.9. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei de manta în funcție de sex.

La distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei de manta în funcție de vârstă și sex s-a constatat, că grupul de vârstă 50-59 de ani, la care mai frecvent s-a dezvoltat LNH din celulele zonei mantalei, maladia s-a dezvoltat cu aceeași frecvență la bărbați și femei (50,0% și 50,0%, respectiv) (fig. 4.10.). În celelalte grupuri de vârstă este dificil de-a face careva concluzii în acest aspect deoarece numărul de bolnavi a fost mic.

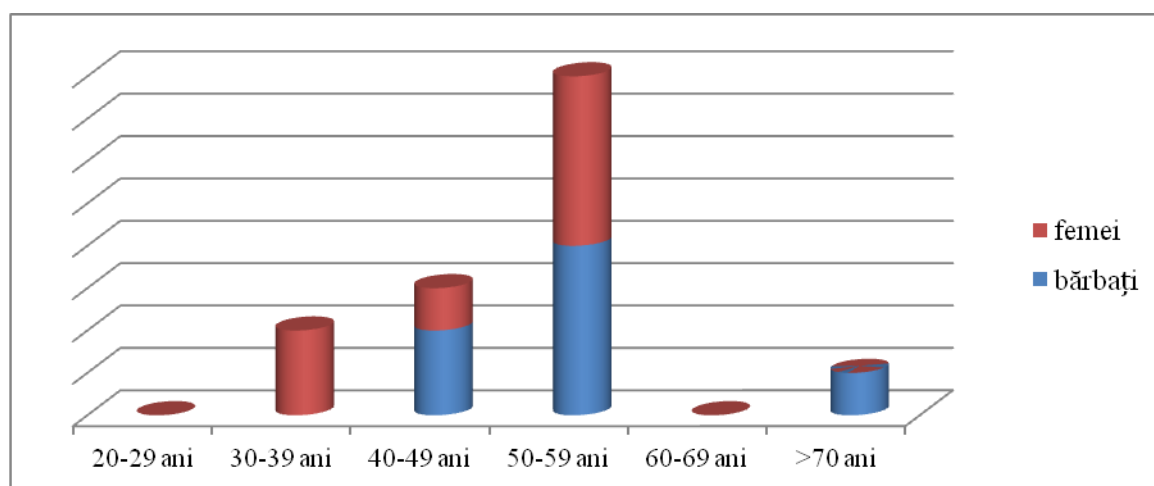


Fig. 4.10. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei de manta în funcție de vârstă și sex.

Focarul tumoral primar cel mai frecvent s-a dezvoltat în ganglionii limfatici (64,3%). A predominat afectarea primară a ganglionilor limfatici periferici (50,0%), doar în 2 (14,3%) cazuri debutul LNH a avut loc în ganglionii limfatici abdominali. În celelalte 5 cazuri primar au fost afectate inelul limfatic Waldeyer - 2 (14,3%) bolnavi, splina – 2 (14,3%) pacienți și stomacul într-un singur caz (7,1%) ($p > 0,005$) (tabelul 4.13.).

Tabelul 4.13. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei mantalei în funcție de localizarea focarului primar tumoral

Localizarea focarului primar	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
Ganglionii limfatici:	9	64,3	89,4±39,2
periferici	7	50,0	72,7±17,3
abdominali	2	14,3	37,2±8,6
Inelul limfatic Waldeyer	2	14,3	32,7±4,1
Splina	2	14,3	32,7±4,1
Stomac	1	7,1	20,6±6,4
Total	14	100	

Stadiul bolii a fost determinat în conformitate cu Clasificarea Clinică Internațională elaborată în Ann Arbor (SUA, 1971) [58]. În scopul stadializării procesului tumoral au fost utilizate metode clinice și paraclinice.

La stabilirea diagnosticului la majoritatea pacienților (85,8%) au fost constatate stadii generalizate (III-IV), preponderent stadiul IV (64,4%). Stadiile locale au fost determinate doar în 2 (14,2%) cazuri (tabelul 4.14.). Parametrii reprezentați în tabel au o valoare statistică înaltă (**p<0,001).

Tabelul 4.14. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei mantalei în funcție de stadiul clinic

Stadiul clinic	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
I	-	-	-
I E	1	7,1	20,6±-6,4
II	-	-	-
II E	1	7,1	20,6±-6,4
III	3	21,4	43,0±-0,2
III E	-	-	-
IV	9	64,4	89,4±39,2
Total	14	100	

Notă explicativă: E-extranodal

Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei mantalei în funcție de localizarea focarului primar și stadiul clinic a arătat, că toți bolnavii cu afectarea primară a ganglionilor limfatici atât periferici cât și abdominali au fost diagnosticați în stadiile generalizate, deși ganglionii limfatici periferici sunt localizări vizuale. Aceste date denotă că în această formă a LNH are loc o generalizare rapidă a procesului tumoral. În stadiile locale (I-II) au fost depistați doar câte 1 pacient cu debutul LNH în inelul limfatic Waldeyer (stadiul I) și în stomac (stadiul II) (tabelul 4.15). Acești parametri reprezentați în tabelul 4 au valoare înalt semnificativă cu ***p<0,01.

Tabelul 4.15. Distribuția pacienților cu LNH din celulele zonei mantalei în funcție de localizarea focarului primar tumoral și stadiul clinic

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi	Stadiul clinic			
		I abs. (%), intervalul de încredere	II abs.(%), intervalul de încredere	III abs.(%), intervalul de încredere	IV abs. (%), intervalul de încredere
Ganglionii limfatici periferici	7	-	-	2	5
Ganglionii limfatici abdominali	2	-	-	1	1
Inelul limfatic Waldeyer	2	1	-	-	1
Splina	2	-	-	-	2
Stomac	1	-	1	-	-
Total	14	1 (7,1) 20,6±-6,4	1 (7,1) 20,6±-6,4	3 (21,4) 4,3±-0,2	9 (64,4) 89,4±39,2

Simptomele de intoxicație generală B (pierdere în greutate 10% și mai mult în ultimele 6 luni, transpirație nocturnă abundentă și febră >38°) au fost prezente la 6 (42,8%) pacienți (stadiul II – 1 bolnav, stadiul IV – 5). Ele s-au manifestat prin transpirație abundentă nocturnă la 4 (66,6%) pacienți, pierdere în greutate – la 4 (66,6%) și febră – în 2 (33,3%) cazuri. Prezența simptomelor de intoxicație n-a corelat cu localizarea primară a LNH. La 3 pacienți focarul primar tumoral a fost în ganglionii limfatici periferici și câte 1 caz – în inelul limfatic Waldeyer, splină și stomac (tab.4.16.).

Tabelul 4.16. Frecvența simptomelor de intoxicare generală
în funcție de localizarea focarului primar tumoral ale LNH din celulele zonei mantalei

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi	Numărul de bolnavi cu simptome de intoxicare generală abs. (%), intervalul de încredere
Ganglionii limfatici:		
periferici	7	3
abdominali	2	-
Splina	2	1
Stomacul	1	1
Inelul limfatic Waldeyer	2	1
Total	14	6 (42,8) 67,6±15,8

La majoritatea pacienților (11 din 13 – 84,6%) urmăriți până la stadiul II, primele zone de metastazare a procesului tumoral au fost ganglionii limfatici regionali. Doar la afectarea primară a splinei LNH din celulele zonei mantalei s-a răspândit mai mult de stadiul II fără interesarea ganglionilor limfatici din zonele vecine ($p>0,05$) (tabelul 4.17.).

Tabelul 4.17. Frecvența metastazelor în ganglioni limfatici regionali la pacienții cu LNH din celulele zonei mantalei în funcție de localizarea focarului primar tumoral

Localizarea focarului primar tumoral	Numărul de bolnavi	Ganglionii limfatici regionali abs. (%), intervalul de încredere
Ganglionii limfatici:		
periferici	7	7
abdominali	2	2
Inelul limfatic Waldeyer	1	1
Splina	2	-
Stomac	1	1
Total	13	11 (84,6) 104,2±65,0

La pacienții urmăriți mai mult de stadiul II (12 bolnavi) la mai mult de jumătate din ei (66,6%) în scurt timp după dezvoltarea metastazelor în ganglionii limfatici din zonele vecine a fost

constatată și afectarea ganglionilor limfatici la distanță. Doar în 2 (16,7%) cazuri procesul tumoral s-a răspândit în ganglionii limfatici la distanță fără interesarea ganglionilor limfatici din zonele vecine. La acești 2 pacienți după cum a fost menționat anterior primar a fost afectată splina. La 2 pacienți (1 cu afectarea primară a inelului limfatic Waldeyer, și anume amigdala nazofaringiană, altul cu debutul LNH în ganglionii limfatici periferici) îndată după afectarea ganglionilor limfatici regionali fără interesarea ganglionilor limfatici la distanță au avut loc metastaze extranodale ($p>0,05$) (tabelul 4.18.).

S-a observat că în procesul de metastazare frecvent au fost afectați ganglionii limfatici cervicali, axilari și inghinali (76,9%, 69,2% și 76,9% respectiv). Rar au fost înregistrate metastaze în ganglionii limfatici mediastinali și abdominali (15,4% și 23,1% corespunzător) (tabelul 4.19.).

Tabelul 4.18. Frecvența afectării diverselor grupuri de ganglioni limfatici și zone extranodale după sau fără metastaze în ganglionii limfatici regionali în funcție de localizarea focarului primar tumoral

Zonele de metastazare	Număr de bolnavi	Frecvența %, intervalul de încredere	Localizarea focarului primar tumoral			
			Ganglionii limfatici		Amigdal nazofaringiană abs.	Splina abs.
			periferici abs.	abdominali abs.		
Ganglioni limfatici la distanță după metastazele în zonele vecine de ganglioni limfatici	8	66,6 93,3±39,9	6	2	-	-
Ganglionii limfatici la distanță fără afectarea ganglionilor limfatici regionali	2	16,7 37,9±-4,4	-	-	-	2
Zonele extranodale fără afectarea ganglionilor limfatici la distanță	2	16,7 37,9±-4,4	1	-	1	-
În total	12	100	7	2	1	2

Este necesar de menționat că în majoritatea cazurilor de LNH cu afectarea primară a ganglionilor limfatici periferici a avut loc o consecutivitate în răspândirea procesului tumoral: inițial au fost interesați ganglionii limfatici regionali, ulterior cei de la distanță. Această consecutivitate a lipsit la pacienții cu afectarea primară a splinei.

Tabelul 4.19. Frecvența afectării diverselor grupuri de ganglioni limfatici la pacienții cu LNH din celulele zonei mantalei

Zonele de ganglioni limfatici	Numărul de bolnavi	Frecvența %	Intervalul de încredere
Cervicali	10	76,9	99,8±54,0
Axilari	9	69,2	94,3±44,1
Inghinali	10	76,9	99,8±54,0
Mediastinali	2	15,4	35,0±-4,2
Abdominali	3	23,1	46,0±0,2

Metastaze extranodale s-au dezvoltat destul de frecvent. Până la stadiul IV au fost urmăriți 9 bolnavi din 14. Ceilalți 5 se află sub supraveghere în stadiul I – 1 bolnav, stadiul II – 1 și în stadiul III – 3. Așa un număr mare de pacienți la care procesul tumoral s-a dezvoltat până la stadiul IV în scurt timp denotă o tendință înaltă de generalizare a procesului tumoral cu implicarea diferitor organe și țesuturi în această formă de LNH.

Studierea zonelor de metastazare extranodală a arătat că la etapa de generalizare a procesului tumoral cel mai frecvent a fost afectată măduva oaselor (88,9%), după care a urmat ficatul (55,6%) și splina (22,2%). Metastaze în alte organe și țesuturi n- au fost determinate.

Independent de localizarea focarului primar al LNH măduva oaselor a fost afectată frecvent ($p>0,05$) (tabelul 4.20.). Metastaze în ficat au avut loc în cazurile de afectare a ganglionilor limfatici periferici și splinei. Afectarea splinei a fost doar la pacienții cu debutul LNH în ganglionii limfatici periferici. Însă luând în considerație numărul mic de pacienți cu alte localizări primare ale LNH nu este posibil de făcut careva concluzii în acest aspect.

Tabelul 4.20. Frecvența metastazelor extranodale
în funcție de localizarea focarului primar tumoral

Localizarea metastazelor extranodale	Numărul de bolnavi (9 bolnavi în st.IV)	Frecvența %, intervalul de încredere	Localizarea focarului primar tumoral			
			Ganglionii limfatici		Amigdala nazofaringiană (1bolnav) abs.	Splina (2 bolnavi) abs.)
			Periferici (5 bolnavi) abs.	abdominali (1bolnav) abs.		
Măduva oaselor	8	88,9 109,5±68,3	5	1	1	1
Ficat	5	55,6 88,1±23,1	3	-	-	2
Splină	2	22,2 49,4±-5,0	2	-	-	-

În cazurile de afectare a măduvei oaselor modificările hematologice au fost diverse (tabelul 4.21.). Atrage atenția că la momentul stabilirii diagnosticului în analiza generală a sângelui anemia a fost prezentă la 5 (62,5%) bolnavi:

- de gradul I – la 2,
- de gradul II – la 2
- gradul III – la 1 pacient.

Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a eritrocitelor a fost de $2,6 \times 10^{12} / l$ (min- $2,3 \times 10^{12}/l$, max- $4,4 \times 10^{12}/l$), iar valoarea medie a hemoglobinei a fost de 106,3g/l (min-66g/l, max-128g/l). Anemia la acești bolnavi a fost de origine metaplastică deoarece celulele limfoide la cercetarea punctatului măduvei oaselor a constituit de la 64,71% până la 73,0%. Numărul de leucocite la 4 (50,0%) pacienți cu afectarea măduvei oaselor a fost normal, iar în 4 (50,0%) cazuri majorat. La acești pacienți cifrele leucocitelor au fost egale cu $16,1 \times 10^9/l$, $17,0 \times 10^9/l$, $18,0 \times 10^9/l$ și $50,0 \times 10^9/l$ respectiv. Leucocitoza în aceste cazuri a fost din contul limfocitelor. Limfocitoză în hemogramă s-a observat și la 3 pacienți cu numărul de leucocite normal. Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a leucocitelor a

fost de $11,8 \times 10^9/l$ (min- $4,5 \times 10^9/l$, max- $50,0 \times 10^9/l$), iar valoarea medie a limfocitelor din formula leucocitară a fost de 49,6% (min-31%, max-97%).

Tabelul 4.21. Analiza sângelui periferic la depistarea bolii

Hb (g/l)	Eritrocite ($\times 10^{12}/l$)	Leucocite ($\times 10^9/l$)	Nesegment. (%)	Segmentate (%)	Eozinofile (%)	Limfocite (%)	Monocite (%)	Trombocite ($\times 10^9/l$)	VSH(mm/h)
124	4,3	4,5	5	48		31	16	322,5	2
90	3,2	10,5	1	38	1	55	5	217,6	30
99	4,0	18,0	1	23	1	71	4	165	2
66	2,3	9,3	1	46	1	48	4	156,4	10
72	2,4	16,1	7	15	1	68	9	110,4	50
128	4,4	50,0	1	2		97		176,0	50
96	3,8	6,5	4	30		56	10	300	24
124	4,3	17,0	2	21	1	71	5	258	3

Numărul de trombocite a fost micșorat doar la 1 (12,5%) bolnav și au constituit $110,4 \times 10^9/l$. La toți ceilalți pacienți numărul de trombocite a fost în limitele normei. Conform metodei statistice Custom Tables s-a determinat că valoarea medie a trombocitelor a fost de $231,4 \times 10^9/l$ (min- $110,4 \times 10^9/l$, max- $322,5 \times 10^9/l$).

Celulele limfoide în punctatul medular au corespuns celor tipice și au variat de la 37% până la 93%. Este interesant cazul la care în punctatul măduvei oaselor au fost depistate 93% limfocite, iar în sângele periferic leucocitele au constituit $9,3 \times 10^9/l$ și limfocitele doar 40%. Într-un caz afectarea măduvei oaselor a fost confirmată prin punctatul medular și trepanobiopsie. Analiza generală a sângelui periferic la acest pacient a fost în normă. În preparatul măduvei oaselor obținut prin trepanobiopsie s-au observat câmpuri de celule limfoide mai mari decât limfocitele mici difuz răspândite.

Noi am calculat indexul prognostic internațional (IPI), care la 5 bolnavi denotă risc intermediar înalt (7 pacienți) și risc înalt (1 pacient). În celelalte cazuri a fost risc jos (1 bolnav) și risc intermediar jos (3 pacienți) (tabelul 4.22.).

Tabelul 4.22. Indexul prognostic internațional pentru LNH din celulele zonei mantale

Grupa de risc	Numărul de bolnavi		
	abs.	%	Intervalul de încredere
Risc jos	1	7,1	20,6±-6,4
Risc intermediar jos	5	35,7	60,8±10,6
Risc intermediar înalt	7	50,1	76,4±23,8
Risc înalt	1	7,1	20,6±-6,4
Total	14	100	

Supraviețuirea generală a pacienților cu LNH din celulele zonei mantalei peste 2 și 5 ani a constituit 39,8% și 39,8% respectiv (fig. 4.11.).

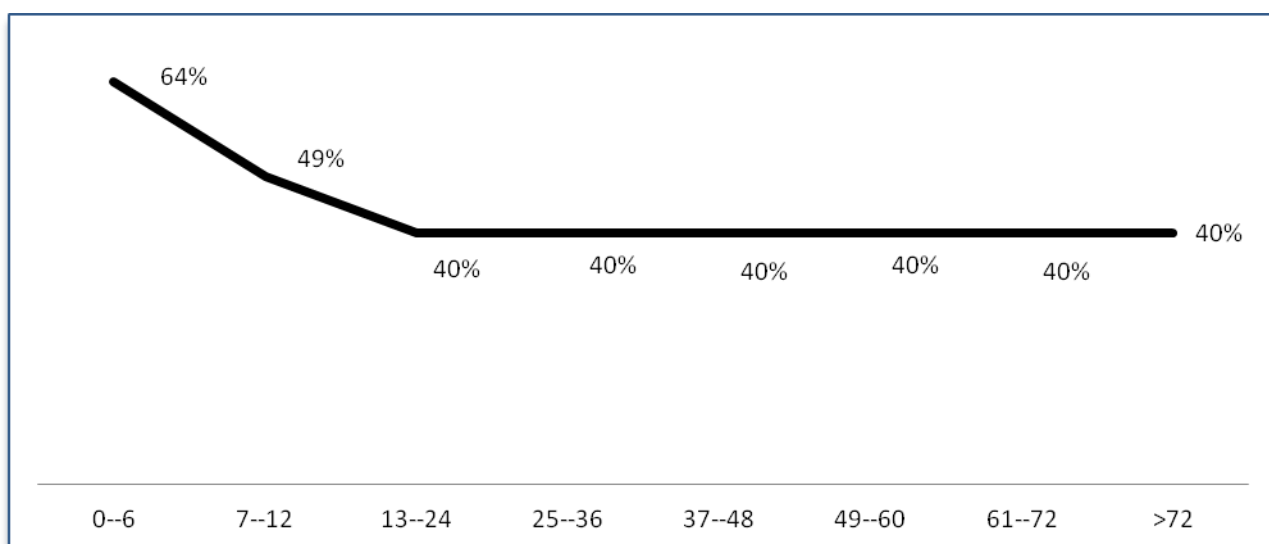


Fig.4.11. Supraviețuirea generală a pacienților cu LNH din celulele zonei mantalei.

LNH din celulele zonei de manta au o evoluție agresivă deoarece mai mult de jumătate din pacienți cu LNH din celulele zonei de manta au decedat în primii 2 ani ai bolii.

4.3. Concluzii la capitolul 4

1. Morfologic caracteristic pentru LNH foliculare este pierderea structurii histoarhitectonice normale cu prezența celulelor mici și medii cu nucleu clivat și celule mari cu nucleu

neclivat, care și-au păstrat capacitatea de formare a pseudofoliculilor. În cazul LNH din celulele zonei de manta substratul morfologic a fost reprezentat de subtipul de celule cu dimensiuni intermediare dintre limfocitele mici și mari cu caracter de creștere difuz. Aceste celule au infiltrat nu doar structurile periferice ale ganglionilor limfatici, dar s-a răspândit și spre centrul foliculelor cu păstrarea rămășițelor centrelor foliculare.

2. LNH foliculare și LNH din celulele zonei de manta imunohistochimic au fost confirmate ca B-celulare (CD19+, CD20+). Pentru LNH foliculare specific a fost pozitiv CD 10, iar pentru LNH din celulele zonei de manta – CD5+.
3. Debutul LNH foliculare a avut loc mai frecvent în ganglionii limfatici periferici și splină (37,5% și 37,5%, respectiv). Debutul LNH din celulele zonei mantalei preponderent a avut loc în ganglionii limfatici (64,3%), rar primar a fost afectată splina (14,3%).
4. LNH foliculare s-au dezvoltat preponderent la persoanele cu vârsta de 40-69 de ani (87,6%) și au predominat la femei (62,5%). LNH din celulele zonei mantalei s-au dezvoltat preponderent la persoanele cu vârsta 40-59 de ani (78,6%) și au avut loc cu aceeași frecvență la femei și la bărbați (50,0% și 50,0%, corespunzător).
5. În LNH foliculare primele zone de metastazare la majoritatea pacienților (84,6%) au fost în zonele vecine de ganglioni limfatici. În LNH foliculare cu afectarea primară a ganglionilor limfatici periferici s-a observat o consecutivitate în răspândirea procesului tumoral: inițial în ganglionii limfatici regionali, ulterior în cei de la distanță. La pacienții cu LNH foliculare cu localizare primară extranodală această consecutivitate a lipsit: după afectarea ganglionilor limfatici din zonele vecine LNH s-au răspândit în alte organe și țesuturi fără afectarea ganglionilor limfatici la distanță. La jumătate (50,0%) din pacienții cu LNH lienale au avut loc metastaze extranodale fără afectarea ganglionilor limfatici regionali și la distanță. În LNH din celulele zonei mantalei în cazurile de afectare primară a ganglionilor limfatici periferici a avut loc o consecutivitate în răspândirea procesului tumoral: inițial LNH din celulele zonei de manta s-a răspândit în ganglionii limfatici regionali, ulterior în cei de la distanță.
6. La etapa de generalizare a LNH foliculare afectarea măduvei oaselor a avut loc în 72,7% cazuri, iar a LNH din celulele zonei mantale metastaze în măduva oaselor au fost înregistrate la 88,9% pacienți.
7. În cazurile de afectare a măduvei oaselor la pacienții cu LNH foliculare în hemograma sângelui periferic a avut loc leucocitoză și limfocitoză la 37,5% pacienți, iar în LNH din celulele zonei mantalei – la 50,0% bolnavi. Anemia a fost constatată cu aceeași frecvență în

ambele tipuri ale LNH indolente (50,0% și 50,0%, corespunzător). Leucopenia și trombocitopenia s-a dezvoltat rar.

8. Supraviețuirea de peste 5 ani a pacienților cu LNH folicular a fost mai mare în comparație cu supraviețuirea în aceeași termeni a pacienților cu LNH din celulele zonei de manta (57,2% și 39,8%, respective).

SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE

Limfoamele non-Hodgkin (LNH) includ un grup de procese maligne ale țesutului limfatic neomogene din punct de vedere morfologic, citogenetic, biologiei moleculare, clinico-hematologic, răspunsul la tratament și prognostic [19, 20, 21, 22, 23, 28, 62, 66, 67].

LNH prezintă o patologie cu tendință de creștere a morbidității în ultimii ani [2]. În același timp indicii de supraviețuire a limfoamelor non- Hodgkin sunt nesatisfăcători și rămân insuficient studiate.

Frecvența destul de joasă a unor variante ale LNH probabil este una din cauzele studierii insuficiente a variantelor LNH incluse în clasificarea proceselor limfoproliferative. De exemplu, limfomul din celulele zonei marginale constituie în structura LNH - 8%, limfomul B-microcelular și T-celular periferic – 7%, limfomul din celulele zonei mantalei – 5%, limfomul Burkitt – 3%, limfomul macrocelular anaplastic – 2%, alte variante – 12% [17, 21, 71]. Manifestările clinico-hematologice ale LNH, inclusiv și ale celor indolente, deseori sunt descrise fără specificarea subtipurilor. Cele expuse se referă și la limfoamele cu evoluție clinică indolentă. În literatura modernă practic lipsesc publicații, în care să fie studiate aspectele clinice ale LNH indolente în conformitate cu Clasificarea tumorilor țesutului hematopoietic și limfatic propusă de OMS în anul 2008 [15].

În legătură cu aceasta, scopul acestei lucrări constă în studierea aspectelor clinice, hematologice și imunohistochimice ale limfoamelor non-Hodgkin indolente pentru a identifica unele particularități de diagnostic și evoluție a fiecărui tip de LNH indolent.

Aspectele clinico-hematologice, morfologice și imunohistochimice au fost studiate la 82 de pacienți cu LNH indolente în vârstă de la 27 de ani până la 76 de ani, care s-au aflat la evidență și tratament în Centrul Hematologic și Centrul Consultativ de Diagnostic al IMSP Institutul Oncologic, Chișinău, Republica Moldova în anii 2007-2011. Bărbați au fost 45, femei 37.

Menționăm că, LNH indolente au afectat preponderent persoanele cu vârstă de peste 40 de ani. Cel mai tânăr bolnav a avut 27 de ani.

Identificarea variantelor LNH indolente incluse în studiu 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.

Diferențierea variantelor LNH indolente s-a bazat nu numai ținând cont de particularitățile morfologice ale tumorii, dar și prin studierea caracteristicilor imunohistochimice ale celulelor tumorale.

În acest scop au fost utilizați anticorpi monoclonali în corespundere cu ipoteza de diagnostic presupusă în rezultatul examinării histologice a preparatelor pregătite din materialul obținut prin biopsia ganglionilor limfatici sau a alt țesut afectat.

Pentru diagnosticul diferențial al LNH indolente a fost selectată o componență rațională de markeri imunologici, care au permis să deosebim una din variantele LNH indolente histologic similare.

Pentru identificarea imunohistochimică a LNH indolente au fost folosiți anticorpii monoclonali anti CD19, CD20, care confirmă linia B-celulară a limfocitelor, CD5 - caracteristice pentru varianta LNH din celulele zonei mantalei, CD10 – pentru LNH folicular, coexpresia CD5/CD23 pentru varianta LNH limfocitar din limfocite mici, CD4 și CD8 caracteristice pentru LNH T-limfocitare.

Prin metodele expuse au fost identificate următoarele variante ale LNH indolente: limfocitare din limfocite mici la 28 bolnavi, din celulele zonei marginale la- 24 bolnavi, din celulele zonei mantalei la -14 bolnavi, foliculare la -16 bolnavi. LNH limfocitare din limfocite mici și LNH din celulele zonei marginale s-au dezvoltat preponderent la persoanele cu vârsta de 50-69 de ani (75,0% și 62,5% respectiv), LNH din celulele zonei de manta și LNH foliculare – la vârsta de 40-59 de ani (78,6% și 68,8% corespunzător). LNH din celulele zonei marginale au predominat la bărbați (70,8%), LNH foliculare – la femei (62,5%), iar LNH limfocitare din limfocite mici și LNH din celulele zonei de manta au avut loc aproximativ cu aceeași frecvență la bărbați (53,6% - 50,0%, respectiv) și femei (46,4% - 50,0% corespunzător).

Studiile pentru identificarea variantelor LNH indolente au fost descriptive și comparative. S-au comparat:

1. Aspectele morfologice (dimensiunile celulei, forma celulei, caracterul creșterii – nodular sau difuz)
2. Rezultatele imunohistochimice.

A fost stabilit că LNH din limfocite mici cu caracter de creștere difuz au fost de origine B-celulară. Dacă imunohistochimic se confirmă limfom B-celular diagnosticul diferențial se efectuează dintre LNH limfocitar din limfocite mici, limfomul din celulele zonei mantale, limfomul din celulele zonei marginale, limfomul folicular gradul 1 cu caracterul difuz de creștere. Pentru a diferenția aceste variante au fost utilizați anticorpii monoclonali CD5, CD10, CD23.

Respectarea acestor date a permis de alcătui un algoritm cu folosirea rațională a anticorpilor monoclonali formulat de noi în propunerea de inovație înregistrată cu Nr. 17/14 din 11.10.2014.

O corelare evidentă între varianta morfologică a LNH indolente și localizarea focarului primar tumoral nu s-a identificat. Independent de forma LNH indolente debutul limfomului non-Hodgkin a avut loc mai frecvent în ganglionii limfatici (51,2%), preponderent în cei periferici (78,5%). Rar au fost primar afectați ganglionii limfatici abdominali (16,7%) și foarte rar – doar în 2 (4,8%) cazuri ganglionii limfatici mediastinali. Atrage atenția frecvența înaltă de afectare primară a splinei (32,2%). Însă este necesar de menționat că în cazurile de LNH din celulele zonei marginale, LNH foliculare și LNH limfocitare din limfocite mici afectarea primară a splinei a avut loc aproximativ cu aceeași frecvență (36,5%, 37,5% și 32,1%, respectiv), spre deosebire de LNH din celulele zonei mantalei la care debutul în splină a fost doar în 14,3% cazuri. Rar procesul tumoral s-a dezvoltat în alte organe și țesuturi, cum ar fi inelul limfatic Waldeyer (6,1%), tractul gastrointestinal (4,9%), țesuturile moi (2,6%), glanda mamară (2,6%), glanda salivară (1,2%).

La stabilirea diagnosticului, indiferent de forma LNH la majoritatea pacienților (84,1%) au fost constatate stadiile generalizate III și IV, preponderent stadiul IV (71,8%). La mai mult de jumătate din pacienți LNH primar s-a dezvoltat în ganglionii limfatici periferici (78,5%), care sunt localizări vizuale cu posibilități de diagnostic cu mult mai mari față de LNH cu sediul în ganglionii limfatici mediastinali și abdominali. Aceste date denotă că, în toate variantele LNH indolente independent de localizarea focarului primar tumoral, are loc o generalizare rapidă a procesului tumoral.

Frecvența semnelor de intoxicare generală B (febra mai mare de 38⁰, transpirație abundentă nocturnă, pierdere în greutate de 10% și mai mult în ultimele 6 luni) a fost în funcție de tipul LNH indolente. Astfel, semnele de intoxicare generală au fost înregistrate mai frecvent în LNH din celulele zonei mantalei și în LNH din celulele zonei marginale (42,8% și 41,7% respectiv). În LNH limfocitare din limfocite mici și în LNH foliculare semnele de intoxicare au fost constatate mai rar (21,4% și 18,7% corespunzător). Frecvența mai înaltă a semnelor de intoxicare generală la pacienții cu LNH din celulele zonei mantalei și cu LNH din celulele zonei marginale indică la un prognostic mai puțin favorabil în aceste forme, decât în LNH limfocitare din limfocite mici și în LNH foliculare.

În LNH din celulele zonei mantalei, LNH limfocitare din limfocite mici și LNH foliculare prezența semnelor de intoxicare generală n-a corelat cu localizarea focarului primar tumoral. Însă, în LNH din celulele zonei marginale s-a observat că, semnele de intoxicare generală au fost în funcție de localizarea primară a LNH și au avut loc mai frecvent în cazurile de afectare primară a

splinei (77,7%). Este necesar de accentuat că semnele de intoxicare generală preponderent au fost constatate în stadiul IV al bolii (21 din 25 pacienți – 84,0%).

Studierea răspândirii procesului tumoral, evoluției clinice a LNH indolente a permis de-a evidenția unele particularități clinice. S-a observat că, în majoritatea cazurilor (61 din 77 pacienți urmăriți mai mult de stadiul II al bolii – 75,3%), la etapele inițiale au fost afectați ganglionii limfatici din zonele vecine. Însă este necesar de menționat că în LNH din celulele zonei mantalei, LNH limfocitare din limfocite mici și LNH foliculare procesul tumoral s-a răspândit în ganglionii limfatici regionali aproximativ cu aceeași frecvență (84,6%, 88,9% și 78,5% respectiv), iar în LNH din celulele zonei marginale primele zone de metastazare în ganglionii limfatici din zonele vecine au avut loc mai rar (65,2%).

Independent de forma LNH indolente la etapele de generalizare frecvent au fost afectați ganglionii limfatici cervical, axilari, inghinali, care au avut loc aproximativ cu aceeași frecvență (72,4%, 66,7%, 65,2% corespunzător). Mai rar au fost interesați în procesul tumoral ganglionii limfatici abdominali (44,9%) și mediastinali (23,2%).

Atrage atenția că, răspândirea procesului tumoral n-a corelat evident cu varianta LNH indolente, dar a fost în funcție de localizarea focarului primar tumoral.

În toate formele studiate ale LNH indolente în cazurile de afectare primară a ganglionilor limfatici s-a observat o consecutivitate în extinderea procesului tumoral în ganglionii limfatici din zonele vecine, ulterior și la cei de la distanță. Însă la pacienții cu debutul LNH extranodal a lipsit această consecutivitate: după afectarea ganglionilor limfatici regionali, LNH s-a răspândit în alte organe și țesuturi fără afectarea ganglionilor limfatici la distanță. Iar în cazurile de afectare primară a splinei în 32,0% cazuri au avut loc metastaze extranodale fără afectarea ganglionilor limfatici regionali și la distanță.

Pe măsura avansării maladiei la majoritatea bolnavilor (62 din 82 – 75,6%) au fost depistate metastaze extranodale. Ceilalți pacienți se află sub supraveghere în stadiile I-III ale bolii. Așa număr mare de bolnavi demonstrează, că interesarea în procesul tumoral al organelor interne și altor zone extranodale este caracteristică pentru LNH indolente.

Afectarea diferitor zone extranodale n-a fost identică. Mai frecvent a fost interesată măduva oaselor (86,4%), după care a urmat ficatul (37,2%), splina (16,9%). Alte organe și țesuturi au fost antrenate în procesul tumoral rar.

Frecvența metastazelor în măduva oaselor a fost cea mai înaltă și a variat în funcție de forma LNH indolente. În LNH limfocitare din limfocite mici interesarea măduvei oaselor a avut loc la 95,5% pacienți, în LNH din celulele zonei marginale – la 82,4%, în LNH din celulele zonei

mantalei – 88,9% și în LNH foliculare – 72,7%. Se poate de constatat o afectare mai joasă a măduvei oaselor în LNH foliculare.

Frecvența afectării măduvei oaselor a fost și în funcție de localizarea focarului primar. Cel mai frecvent metastaze în măduva oaselor au avut loc în cazurile de debut al LNH în splină (96,2%). Măduva oaselor a fost interesată destul de frecvent și în LNH cu afectarea primară a ganglionilor limfatici (80,0%). Este necesar de menționat că metastaze în măduva oaselor au avut loc frecvent, însă în nici într-un caz n-au fost înregistrate determinările în sistemul nervos central.

Au fost evidențiate unele particularități hematologice în cazurile de afectare a măduvei oaselor în funcție de forma LNH indolente.

S-a observat că la jumătate (50,0%) din pacienți la care a fost diagnosticată afectarea măduvei oaselor în analiza sângelui periferic a avut loc anemie de diferit grad. Se poate de menționat că frecvența anemiei a fost mai înaltă la pacienții cu LNH din celulele zonei mantalei și cu LNH foliculare, dar cu aceeași frecvență (62,5% și 62,5% respectiv). La bolnavii cu LNH din celulele zonei marginale anemia a fost înregistrată la jumătate din pacienți (50,0%), iar în LNH limfocitare din limfocite mici – în 42,8% cazuri.

Numărul de leucocite mai frecvent a fost majorat (54,9%) și a variat de la $10,5 \cdot 10^9/l$ până la $170,0 \cdot 10^9/l$. Leucopenia a avut loc doar la 4 (7,8%) bolnavi. În 18 (35,3%) cazuri numărul de leucocite a fost în limitele normei. În toate cazurile, la care a fost majorat numărul de leucocite, în hemogramă a avut loc limfocitoză. Însă este necesar de menționat că indiferent de forma LNH la acești pacienți a lipsit corelarea dintre numărul de leucocite și formațiunile tumorale. Au predominat dimensiunile mari ale formațiunilor tumorale față de numărul de leucocite.

Cel mai frecvent numărul de leucocite a fost majorat la pacienții cu LNH limfocitar din limfocite mici (71,4%). În LNH din celulele zonei mantalei majorarea numărului de leucocite a avut loc la jumătate (50,0%) din bolnavii cu această variantă. Mai rar, aproximativ cu aceeași frecvență numărul de leucocite a fost majorat în cazurile de LNH din celulele zonei marginale și LNH foliculare (42,9% și 37,5% corespunzător).

Leucopenia a fost prezentă rar și a fost înregistrată doar la pacienții cu LNH din celulele zonei marginale și LNH foliculare (câte 2 bolnavi – 14,3% și 25,0% respectiv). Leucocitele au variat de la $1,6 \cdot 10^9/l$ până la $3,0 \cdot 10^9/l$.

Trombocitopenia a fost constatată rar și a avut loc doar la 8 (15,7%) din 51 pacienți cu afectarea măduvei oaselor. Numărul de trombocite a variat de la $60,0 \cdot 10^9/l$ până la $124,0 \cdot 10^9/l$. S-a observat că trombocitopenia a fost înregistrată puțin mai frecvent la pacienții cu LNH din celulele zonei marginale (28,5%). Cu aceeași frecvență numărul de trombocite a fost micșorat la bolnavii de

LNH din celulele zonei mantalei și LNH foliculare (12,5% și 12,5%, respectiv). Mai rar trombocitopenia a fost depistată în cazurile de LNH limfocitare din limfocite mici (9,5%).

La pacienții cu modificări în analiza sângelui periferic celulele limfoide în medulogramă au variat de la 37% până la 98%. La 7 (13,7%) pacienți, fără modificări în hemogramă, afectarea măduvei oaselor a fost confirmată prin cercetarea punctatului sternal și trepanobiopsie, iar în 7 (13,7%) cazuri doar prin trepanobiopsie. Aceste date ne confirmă necesitatea efectuării punctatului sternal și trepanobiopsiei osului iliac în scopul determinării gradului de răspândire a procesului tumoral și anume interesarea măduvei oaselor în procesul de generalizare a LNH. Afectarea măduvei oaselor a fost confirmată doar prin trepanobiopsie mai frecvent la pacienții cu LNH foliculare (5 din 7 bolnavi – 71,4%).

Au fost evidențiate și unele particularități în tabloul morfologic al celulelor limfoide din medulogramă și trepanobiopsat, care diferă în funcție de varianta LNH indolente.

În cazurile de afectare a măduvei oaselor în LNH din celulele zonei marginale au fost depistate focare de infiltrare a măduvei oaselor cu celulele limfoide care atât în punctatul medular cât și în trepanobiopsat au avut caracter de celulele mature cu cromatina compactă fără nucleoli cu citoplasma îngustă (celule mai mari decât limfocitele mici).

La pacienții cu LNH limfocitar din limfocite mici la cercetarea medulogramei s-a observat că celulele limfoide din punctatul măduvei oaselor sunt mici, majoritatea din ele cu citoplasma foarte îngustă, rotunde, cu nucleu fără nucleoli, cu cromatina condensată. Aceste date crează un tablou citologic omogen. Rareori printre aceste celule mature se observă puține prolimfocite. În preparatele histologice pregătite din măduva oaselor prin trepanobiopsie celulele limfoide sunt mici cu citoplasma foarte îngustă și nucleu cu cromatina condensată, care crează focare foliculare de diferite dimensiuni. Aceste focare sunt situate în cavitățile medulare. Focarele sunt bine delimitate. Țesutul din jurul lor constă din elemente mieloide la diferite stadii de diferențiere.

În LNH din celulele zonei mantalei celulele limfoide în medulogramă au corespuns limfocitelor tipice. În preparatul măduvei oaselor obținut prin trepanobiopsie s-au observat câmpuri de celule limfoide mai mari decât limfocitele mici difuz răspândite.

Celulele limfoide în LNH foliculare au fost de dimensiuni mici și medii, pe alocuri s-au observat grupuri de celule limfoide fără formarea unor structuri. În unele cazuri un grup de celule limfoide aminteau structura unui folicul.

Diferă și indicii supraviețuirii pacienților în funcție de forma LNH indolente.

Supraviețuirea de peste 5 ani a pacienților a fost mai înaltă în LNH limfocitare din limfocite mici (65,1%) după care au urmat LNH foliculare (57,2%) și LNH din celulele zonei marginale (44,3%). Supraviețuirea în acești termeni a fost mai joasă în LNH din celulele zonei de manta

(39,8%). Conform acestor date supraviețuirea pacienților este în funcție de varianta LNH indolente și se poate de determinat o evoluție mai favorabilă a LNH limfocitare din limfocite mici și mai agresivă a LNH din celulele zonei mantalei. Nu este exclus faptul că la acumularea a mai multor date despre LNH din celulele zonei mantalei, la următoarea revizuire a Clasificării Internaționale a tumorilor țesutului hematopoietic și limfatic această variantă va fi inclusă în subgrupul LNH agresive.

În concluzie se poate de estimat, că fiecare variantă a LNH indolente este o formă clinică și morfologică de sinestătătoare cu unele particularități ale evoluției clinice. Aceste date au importanță atât teoretică cât și practică.

Particularitățile clinice, morfologice, imunohistochimice și hematologice evidențiate largesc spectrul cunoștințelor în domeniul acestor patologii și vor contribui la individualizarea și elaborarea programelor diferențiate de tratament.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE

CONCLUZII GENERALE

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 trepanobioptatul 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 imunohistochimice 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 Oncology 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. Corcimaru I. Limfoamele nehodgkiniene. Hematologie. 2007 : 252-279.
2. Groves E., Linet M., Dovesa S. Cancer survullance series: Non- Hodgkin's lymphoma by histologic subtype in United States from 1978 through 1993 INCI. Cancer spectrum. 2000; 92 (15) : 1240-1251.
3. Воробьев А. И., Яхина Е. И., Самойлова Р.С. Принципы дифференциальной диагностики злокачественных лимфатических опухолей. Терапевтический архив. 1995; 7 : 3.
4. Qasi R., Aisenberg A., Long J. The natural history of nodular of lymphoma. Cancer. 1976; 37 (4) : 1923-1927.
5. 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.
6. Virchow R. Die krankheite Geschwiilste. Berlin. 1864-1865; Bd. 21 : 728-738.
7. Rappaport H. Tumors of the hematopoietic system. Atlas of tumor pathology sect. 3. Fasicle S. Washington: DC Armed Forces Institute of pathology. 1966: 97-161.
8. Billroth Th. Die allgemeine chirurgische. Patologie and Therapie. Berlin. 1983:643-647.
9. Lukes R., Collins R. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. Cancer. 1974; 34 (4) : 1488-1503.
10. Lennert K., Stein H., Kaiserling E. Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphoma. Brit. J. Cancer. 1975; 31: 29.
11. 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.

12. 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.
13. Brinker H., Pedersen N., Bendix-Hansen K., et al. Non- Hodgkin lymphoma subtypes over time in an unselected population of 646 patients: a study of clinicopathological data and incidence based on a review using the REAL Classification. *Leukemia and lymphoma*. 2000; 39 (5-6).
14. Turner J., Hughes A., Krickler A. Use of the WHO lymphoma. Classification in a population based epidemiological study. *Ann Oncol*. 2004; 15 (4) : 631-637.
15. 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.
16. Campo E., Swerdlow S., Harris N., et al. The 2008 WHO Classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concept and practical applications. *Blood*. 2011; 117: 5019-5032.
17. Harris N., Stein H., Coupland S., et al. New approaches to lymphoma diagnosis. *Hematology*. 2001; 1 : 194-220.
18. 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.
19. Buruiană S., Corcimar I., Robu M., ș.a. Aspectele clinice ale limfoamelor non-Hodgkin indolente. *Anale științifice ale USMF “ N. Testemițanu”*. 2010; Ediția XI. (3) : 335-339.
20. Buruiană S., Robu M., Iacovleva I., ș.a. Progresul în clasificarea limfoamelor non-Hodgkin. *Curierul medical*. 2011; 4 (322) : 16-20.
21. 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.
22. Buruiană S. Aspectele clinice, hematologice și imunohistochimice ale limfomului Non-Hodgkin din celulele zonei marginale. *Buletinul AȘM*. 2015; 3(48) : 383-388.
23. Vlădăreanu A. Actualități în limfoamele maligne non-Hodgkiniene. Editura medicală Amaltea. 2002; 395 p.
24. Shankland R., Armetage J., Hancore B. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet*. 2012; 380 (9844): 848-857.

25. Perna S. K., Huve I., Savoldo B. Management of patients with non- Hodgkin's lymphoma: focus on adoptive T cell- therapy. *Immunotargets Ther.* 2015; 19 (4) : 55-63.
26. Глузман Д. Ф., Скляренко Л. М., Надгорная В. А. Опухоли кроветворной и лимфоидной тканей (цитоморфология, иммуноцитохимия, алгоритмы диагностики). ДИА. Киев. 2008; 196 стр.
27. Глузман Д. Ф., Скляренко Л. М., Крачок И. А., и др. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей. Киев. Морион. 2003; 156 стр.
28. Jaffe E., Harris N., Stein H., et al. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC. Press. 2001: 351.
29. Ott M.M., Muller-Hermelink H.K. Splenic marginal zone B cell lymphomas. *Pathologie.* 2008; 29 (2) : 143-147.
30. Zahm S. Lymphoma rate raise to baffie researchers. *International National Cancer Institute USA.* 2001; 93: 494.
31. Немцова М., Майорова М. Использование достижений современных геномных технологий при лимфомах. *Клиническая онкогематология.* 2016; 9 (3) : 265-270.
32. Intlekofer A., Younes A. Precision therapy for lymphoma – current state and future directions. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2014; 11(10) : 585-596.
33. Diebold J. The WHO classification of malignant lymphomas. *Exp. Oncol.* 2001; 23: 101-103.
34. Lennert K., Feller A. Histopathology of Non- Hodgkin's lymphomas. 2nd ed. New York. Springer-Verlag. 1992; 683.
35. Camara N., Lepique A. and Basso A. Lymphocyte Defferentiation and Effector Functions. *Clinical and Developmental Immunology.* 2012 (2012); ID 510603.
36. Swerdlow S., Berger F., Isaacson P., et al. Manthe cell lymphoma. Lyon. IARC Press. 2001:168.
37. Aisenberg A. C. Historical review of lymphomas. *Br. J. Of Hematology.* 2000; 109 : 466-476.
38. Oberling Ch. Des reticulosarcomes et les reticuloendotheliosarcomes de la moelle osseuse (sarcomes d'Ewing). 1928 ; 17: 258-297.
39. Штерн Р. Д. Современное состояние вопроса о ретикулобластоматозах. *Клиническая медицина.* 1975; 6 : 16-21.
40. Штерн Р. Д. О ретикулосаркоме. *Арх. Патологии.* 1970; 6 : 9-24.
41. Штерн Р. Д. К проблеме ретикулёзов. *Арх. Патологии.* 1960; 10 : 3-16.

42. Штерн Р. Д. Патологоанатомическая характеристика важнейших форм Неходжкинских злокачественных лимфом (на основе Кильской классификации). Арх. Патологии. 1980; 11: 71-80.
43. Краевский Н. А., Неменова Н. М., Хохлова М. П. Ретикулосаркома (ретикулосаркоматоз). Патологическая анатомия и вопросы патогенеза лейкозов. Медицина. 1965; 239-245.
44. Чертков И. Л., Воробьев А. И. Современная схема кроветворения. Проблемы гематологии и переливания крови. 1973; 10 : 3-14.
45. Lukes R., Collins R. New observations of follicular lymphoma. Gann. Monograph of Cancer Research. 1973; 15 : 209-215.
46. Lukes R., Collins R. New approaches to the classification of the lymphoma. Brit. J. Cancer. 1975; 31(supplement II) : 1-28.
47. Braylan R., Jaffe E., Berard C. Malignant lymphomas : current classification and new observtion. Phatol. Ann. 1975; 10 : 213-270.
48. Lennert K., Mohry M., Stein H., et al. The histopathology of malignant lymphomas. Brit. J. hematology. 1975; 31 (supliment) : 193-203.
49. Lennert K., Collins R., Lukes R. Concordance of the Kiel and Lukes- Collins classification of non- Hodgkin's lymphomas. Histopathology. 1983; 7 : 549-599.
50. Bennet M. H., Furrer-Brown C., Henry K. et al. Classification of non- Hodgkin's lymphomas. Lancet. 1974 ; 2: 405-406.
51. Dorfman R.F. Pathology of the non-Hodgkin's Lymphomas. New classifications. Cancer treatm. Rep. 1977; 61 (6) : 945-951.
52. Nathwani B.N., Kim H., Rappaport H. Malignant lymphoma lymphoblastic. Cancer. 1976; 38: 964-983.
53. Manthe G., Rappoport H., O'Connell G., et al. Histologycal and Cytological Typing of neoplastic Disease of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. International Histological Classification of Tumors. WHO. Geneva. 1976; 14 : 14-42.
54. Яковлева И. А., Корчмару И. Ф. Современные классификации неходжкинских лимфом. Обзор литературы. Вопросы онкологии. 1986; 6 : 3-17.
55. National Cancer Institute sponsored study of classification of non- Hodgkin's lymphomas. Summary and description of a working formulation of clinical usage. The non- Hodgkin's lymphoma Nathologic classification project. Cancer. 1982 ; 49 : 2112-2135.
56. Feller A., Diebold J. Histopathology of nodal and extranodal non- Hodgkin's lymphomas. Berlin. Springer. 2004 : 440.

57. Rehg Jerold E., Bush D. and Ward Jerrold M. The Utility of Immunohistochemistry for the Identification of Hematopoietic and Lymphoid Cells in Normal Tissues and Interpretation of Proliferative and Inflammatory Lesions of Mice and Rats. *Toxicologic Pathology*. 2012; 40 : 345-374.
58. Kumar G. L., Rudbeck L., Pace G. E. Оптимизация иммуногистохимических исследований. Руководство. Иммуногистохимические методы. 2011: 157-166.
59. Луговская С. А., Почтарь М. Е., Тупицин Н. Н. Иммунофенотипирование в диагностике гемобластозов. Москва. 2005; 166 стр.
60. Джаилилов А. Ф. Неходжкенские лимфомы: основы классификации и иммуноцитохимической диагностики. *Онкология*. 2013; 15 (4) : 264-272.
61. Marquardt N., Beziat V., Nystrom S. Cutting Edge: Identification and Characterization of Human Intrathepatic CD⁴⁹⁺ NK Cells. *The Journal of Immunology*. 2015; 194 (6) : 2467-2471.
62. Воробьев А. И., Кременецкая А. М. Атлас. Опухоли лимфатической системы. Издательство Ньюдиамед. Москва. 2007; 292.
63. Calvo K., Mc CoyCS, Stetler- Stevenson M. Flow cytometry immunophenotyping of hematolymphoid neoplasia. *Methods Mol Biol*. 2011; 699 : 295-316.
64. Sharma M., Mannan R., Madhukar M., et al. Immunohistochemical (IHC) Analysis of Non-Hodgkin's Lymphoma (NHL). Spectrum According to WHO/ REAL Classification: A single Centre Expeience from Punjab, India. *J. Clin. Diagn. Res*. 2014; 8 (1) : 46-49.
65. Кременецкая А.М., Воробьев И.А., Сидоров Ю.В. Морфология лимфоцитов. . Терапевтический архив. 1988; 7 : 37-39.
66. Coleman M., Leonard J. (Eds). *Hodgkin's and non- Hodgkin's lymphomas*. Heidelberg. Springer. 2005; 292.
67. Cucuianu A. Protocoale de diagnostic și tratament în hematologie. Institutul Oncologic « Ion Chiricuță'' Cluj-Napoca, secția Hematologie. 2014.
68. Jaffe E., Harris N., Stein H., et al. WHO classification of Tumours: Tumours of hematopoietic and Lymphoid Tissues. Liyon. 2001 : 109- 185.
69. Поддубная И., Савченко В. Неходжкенские лимфомы. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. Современная Онкология. 2013; 16-51.
70. Мисюрина А., Мисюрин В., Барях Е. и др. Роль экспрессии генов с –МУС, BCL2 и BCL6 в патогенезе диффузной В-крупноклеточной лимфомы. Клиническая онкогематология. 2014; 7 (4) : 512-521.

71. Harris N., Stein H., Coupland S., et al. New approaches to lymphoma diagnosis. *Hematology*. 2001; 1 : 194-220.
72. Greenlee R., Murray T., Bolden S., Wingo P. Cancer statistics. 2000. *CA Cancer J. Clin*; 50 : 7-33.
73. Corti M., Villatane M. F. Linfomas No Hodgkin asociados al SIDA. *Hematologia*. 2013; 17 (2) : 153-158.
74. Buske C. Rituximab and Non-Hodgkin's lymphoma. 2007: 96.
75. Namas Rajaie A., Olugbemiga J., Shafique I., et al. Primary Central Nervous System Lymphoma in Aquired Immunodeficiency Syndrome Patient. *Ibnosina J. Med. BS*. 2012; 4 (2) : 53-59.
76. Buruiană S. Updated requirements for the identification of morphological types of non-Hodgkin's lymphomas. *Curierul medical*. 2012; 1 (325) : 61-64.
77. Caleb Ho, MD, Scott J. Rodig, MD. Immunohistochemical markers in lymphoid malignancies: protein correlates of molecular alterations. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2015; 32 (5) : 381-391.
78. Тупицин Н. Н. Иммунодиагностика острых лейкозов и неходжкинских лимфом. Клиническая онкогематология (под редакцией профессора Волковой М. А.). Москва. Медицина. 2007; 338-369.
79. De Vito N., Mui K., Jassam Y. Small Lymphocytic Lymphoma Presenting As a Paraneoplastic Syndrom with Acute Central Nervous System Demyelination. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*. 2014; 14 (4) : 131-135.
80. Thomas L., Maida M., Martinez- Outschoom U. Chronic Lymphocytic Leukemia/ Small Lymphocytic Lymphoma with Pancytopenia and Chylothorax. *Seminars in Oncology*. 2011; 38 (12) : 165-170.
81. Morris T., Mazzola R., Berry B. Small Lymphocytic Lymphoma with florid perniosis- like features: a case report. *BMC Dermatology*. 2015;15 : 11.
82. Gibson Sarah E, Swerdlow S. H., Ferry Judith A. Reassessment of small lymphocytic lymphoma in the era of monoclonal B- cell lymphocytosis. *Haematologica*. 2011; 96 (8) : 1144-1152.
83. Eichhorst B., Dreyling M., Roba T., et al. Leucemia limfocitară cronică: Ghidurile ESMO de practică clinică pentru diagnostic, tratament și urmărire. *Journal of Radiotherapy & Medical Oncology*. 2014; 1-5.
84. Buruiană S. Aspectele clinice, hematologice și imunohistochimice ale limfoamelor non-Hodgkin limfocitare din limfocite mici. *INFO-MED*. 2016; 2(28) : 52-58.

85. Norin S., Kimby E. Lymphomas. Essentials for clinicians. ESMO. 2012; 43-49.
86. Семёнова Н., Бессмельцев С., Багомедов М. и др. Метод иммуногистохимии в оценке состояния паренхимы и стромы костного мозга и лимфатических узлов при хроническом лимфолейкозе. Вестник гематологии. 2014; X (1) : 85-86.
87. Волкова С., Боровков Н. Основы клинической гематологии. Нижегородская Государственная Медицинская Академия. Учебное пособие. 2013; 276-323.
88. Andrew D. Zelenetz, Leo I. Gordon, William G. Wierda, et al. Chronic lymphocytic leukemia/ small lymphocytic lymphoma, version 1. 2015. J. Natl. Compr. Netw. 2015; 13 (3) : 326-362.
89. Miron L. Limfoamele maligne Non-Hodgkiniene. Suport de curs. Facultatea de Medicină. Oncologie. UMF. IAȘI. 2014; 46-88.
90. Butryum A., Prochorec- Sobieszek M., Dzietzemia J., et al. Unclassifiable small B-cell lymphoma with marked plasmacytic differentiation and Mott cell formation. Leukemia & lymphoma. 2013; 55 : 1681-1683.
91. Beveridge R., Satram- Hoang S., Sail R., et al. Economic impact of disease progression in follicular non- Hodgkin lymphoma. 2011; 52 ; 2117-2123.
92. Luminari S., Bellei M., Biasoli I., et al. Follicular lymphoma- treatment and prognostic factors. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2012; 34 (1) : 54-59.
93. Ginna G. Laport. Changing role of stem cell transplantation in follicular lymphoma. J. Hematology. 2012; 1 : 417-425.
94. Smith A., Crouch S., Lax S., et al. Lymphoma incidence, survival and prevalence 2004-2014: sub-type analyses from the UK's Haematological Malignancy Research Network. Br. J. Cancer. 2015; 112 (9) : 1575-1584.
95. Pulsoni A., Starza I., D'Urso P. Treatment of Early Stage Follicular Lymphoma with involved Field Radiotherapy and Rituximab. Blood. 2013; 122 : 1813.
96. Michallet A. S., Lebras L., Bauwens D., et al. Early stage follicular lymphoma: what is the clinical impact of the first-line treatment strategy? Journal of Hematology & Oncology. 2013; 6 : 45.
97. Buruiană S. Aspectele clinice, hematologice și imunohistochimice ale limfoamelor non-Hodgkin foliculare: studio prospective, descriptive. Moldovan Journal of Health Sciences. Revista de Științe ale Sănătății din Moldova. 2016; 10 (4) : 53-60.
98. Тумян Т.С. Неходжкенские лимфомы. Клиническая онкогематология. 2015; 8 (4) : 455-470.

99. Casulo C., Burak R. And Freidberg M. Transformed follicular non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2015; 125 : 40-47.
100. Тумян Т. Фолликулярная лимфома. Современные тенденции и мой выбор. *Клиническая онкогематология*. 2013; 6 (1) : 20-33.
101. Звонков Е., Табива Н., Фирсова М. и др. Высокодозная химиотерапия при рецидиве фолликулярной лимфомы цитологического типа 3BC делецией локусов генов BCL6 (3q27) и TP53 (17p13): собственное наблюдение и обзор литературы. *Клиническая онкогематология*. 2015; 8 (1) : 36-43.
102. Lossos I.S., Gascone R.D. Transformation of follicular lymphoma. *Best Pract. Res. Clin. Haematol*. 2011; 24 (2) : 147-63.
103. Lerch K., Meyer A.H., Stroux A., et al. Impact of prior treatment on outcome of transformed follicular lymphoma and relapsed de novo diffuse large B cell lymphoma: a retrospective multicentre analysis. *Ann. Haematol*. 2015; 94 (6) : 981-988.
104. Link B.K., Maurer M.J., Nowakowski G.S., et al. Rates and outcomes of follicular lymphoma transformation in the immunochemotherapy Era: a report from the University of Iowa/MayoClinic Specialized Program of Research Excellence Molecular Epidemiology Resource. *J. Clin. Oncol*. 2013; 31 (26) : 3272-8.
105. Kridel R., Sehn I., Gascony R. Pathogenesis of follicular lymphoma. *J. Clin. Invest*. 2012; 122 (10) : 3424-3431.
106. Brad S. and Yang David T. Follicular lymphoma: evolving therapeutic strategies. *Blood*. 2016; 127 : 2055-2063.
107. Wahlim B., Yri O., Kimby E., et al. Clinical significance of the WHO grades of follicular lymphoma in a population- based cohort of 505 patients with long follow- up times. *Br. J. Haematol*. 2012; 156 (2) : 225-233.
108. Bains P., Al Tourah A., Campbell B. A., et al. Incidence of transformation to aggressive lymphoma in limited – stage follicular lymphoma treated with radiotherapy. *Ann Oncol*. 2013; 24 (2) : 428-432.
109. Green M. R., Gentles A. J., Nair R. V., et al. Hierarchy in somatic mutations arising during genomic evolution and progression of follicular lymphoma. *Blood*. 2013; 121 (9) : 1604-1611.
110. Bachy E., Houot R., Morschhauser F., et al. Long-term follow up of the FL2000 study comparing CHVP-interferon to CHVP-interferon plus rituximab in follicular lymphoma. *Haematologica*. 2013; 98 (7) : 1107-14.

111. 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.
112. Wagner - Johnston Nina D., Link Brian K., Byrtek Michelle et al. Outcomes of transformed follicular lymphoma in the modern era: a report from the National Lympho Care Study (NLCS). *Blood*. 2015; 126 : 851-857.
113. Montolo S., Fitzgibbons. Transformation of indolent B- cell lymphomas. *Clin. Oncol*. 2011; 29 (14) : 1827-1834.
114. Kridel R., Mottok A., Farinha P., et al. Cell of origine of transformed follicular lymphoma. *Blood*. 2015; 126 : 2118-2127.
115. Pasqualucci L., Khiabani H., Fanqazio M., et al. Genetics of follicular lymphoma transformation. *Cell Repp*. 2014; 6 (1) : 139-140.
116. Harris N., Kluin P. Follicular lymphoma grade 3B is it a real disease? *Haematologica*. 2011; 96 (9) : 1244-1246.
117. Zucca E. and Bertoni F. The spectrum of MALT lymphoma at different sites biological and therapeutic relevance. *Blood*. 2016; 127 : 2082-2092.
118. Морозова А., Табеева Н., Звонков Е. MALT- лимфома с поражением лёгкого: клиническое наблюдение и обзор литературы. *Клин. Онкогематология* . 2013; 6 (3) : 282-288.
119. Zucca Emanuele, MD, Stathis Anatosios, MD. and Bertoni Francesco, MD. The management of nongastric MALT lymphomas. *Oncology*. 2014; 28 (1) :86-93.
120. Kiesswetter B. and Raderer M. Antibiotic therapy in nongastrointestinal MALT lymphoma: a review of the literature. *Blood*. 2013; 122 : 1350-1357.
121. Zullo A., Hassan C., Ridola L., et al. Gastric MALT lymphoma: old and new insights. *Ann Gastrointerol*. 2014; 27 (1) : 27-33.
122. Vannata B., Zucca E. Primary extranodal B- cell lymphoma: current concept and treatment strategies. *Chin. Clin. Oncol*. 2015; 4 (1) :10.
123. Bracei P., Benavente Y., Turner G., et al. Medical hystory lifestyle, family history, and occupational rest factors for marginal zone lymphoma the inter Lymph Non- Hodgkin Lymphoma subtypes Project. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr*. 2014; 48 : 52-65.
124. Arcaini L., Merli M., Volpetti S., et al. Indolent B cell lymphomas associated with HCV infection: clinical and virological features and role of antiviral therapy. *Clin. Dev. Immunol*. 2012; 2012: 63-185.

125. Goala J. S., Gospodarowicz M., Pintilie M., et al. Long-term outcome in localized extranodal mucosa- associated lymphoid tissue lymphomas treated with radiotherapy. *Cancer*. 2010; 116 (16) : 3815-3824.
126. Teckie S., Lovie S., Yahalom Y. Clinical outcomes and patterns with early and advanced stage marginal zone lymphoma: the role of radiotherapy. *Hematol. Oncol*. 2013; 31 (51) :130.
127. Rusconi C., Guerrera M., Tedeschi A., et al. Outcome of transformed marginal zone lymphomas treated in the rituximab. *Blood*. 2015; 126 (23) : Abstract 5098.
128. Michiel van den Brand and J. Han JM van Krieken. Recognizing nodal marginal zone lymphoma: recent advances and pitfalls. A systematic review. *Haematologica*. 2013; 98 (7) : 1003-1013.
129. Thieblemont Catherine, Molina Thierry, Davi Frederic. Optimizing therapy for nodal marginal zone lymphoma. *Blood*. 2016; 127 : 2064-2071.
130. Olszewski Aj., Castillo Jj. Survival of patients with marginal zone lymphoma: analysis of the Surveillance, Epidemiology, and End results database. *Cancer*. 2013; 119 (3) : 629- 638.
131. Kuper- Hommel M., Van de Schans S., Vreugdentil G., et al. Trends in incidence, therapy and outcome of localized nodal and extranodal marginal zone lymphomas: declining incidence and inferior outcome for gastrointestinal sites. *Leuk. Lymphoma*. 2013; 54 (9) : 1891-1897.
132. Arcaini L., Vallisa D., Rattotti S., et al. Antiviral treatment in patients with indolent B- cell lymphomas associated with HCV infection: a study of the Fondazione Italiana Linfomi. *Ann Oncol*. 2014; 25 (7) : 1404- 1410.
133. Villiams M. Transplantation for mantle cell lymphoma is it the right thing to do? *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. 2013; 568-574
134. Traverse- Glehen A., Bertoni F., Thieblemont C., et al. Nodal marginal zone B- cell lymphoma: a diagnostic and therapeutic dilemma. *Oncology (Willisten Park)*. 2012; 26 (1) : 92-99, 103-104.
135. Arcaini Luca, Rossi Davide and Paulli Marco. Splenic marginal zone lymphoma: from genetics to management. *Blood*. 2016; 127 : 2072-2081.
136. Liu L., Wang H., Chen Y., et al. Splenic marginal zone lymphoma: a population- based study on the 2001-2008 incidence and survival in the United States. *Leuk. Lymphoma*. 2013; 54 (7) : 1380-1386.

137. Lenglet J., Traulle C., Mounier N., et al. Long- term follow- up analysis of 100 patients with splenic marginal zone lymphoma treated with splenectomy as first- line treatment. *Leuk. Lymphoma*. 2014; 55 (8) : 1854-1860.
138. Conconi A., Franceschetti S., Aprile von Hohenstaufen K., et al. Histologic transformation in marginal zone lymphomas. *Ann. Oncol.* 2015; 26 (11) : 2329-2335.
139. Baseggio L., Traverse- Glehen A., Petinataud F., et al. CD5 expression identifies a subset of splenic marginal zone lymphomas with higher lymphocytosis: a clinico-pathological, cytogenetic and molecular study of 24 cases. *Haematologica*. 2010; 95 (4) :604-612.
140. Dreyling M., Ferrero S., and Hermine O. How to manage mantle cell lymphoma. *Leukemia*. 2014; 28 : 2117-2130.
141. Воробьев В. И., Кравсенко С. К., Темджян Э.Т. и др. Мантийноклеточная лимфома: программное лечение первичных больных в возрасте до 65 лет. *Клин. Онкогематол*. 2013; 6 (3) : 274-281.
142. Chem R., Sanchez J., and Rosen S. Clinical Management Updates in Mantle cell Lymphoma. *Oncology*. 2016; 30 (4) : 353-360.
143. Smith A., Alowell D., Patmore R., et al. Incidence of haematological malignancy by subtype a report, from the Haematological Malignancy Research Network. *Br. J. Cancer*. 2011; 105 (11) : 1684-1692.
144. Лорие Ю. Ю. Лимфома из клеток мантийной зоны: клинические формы, морфологические варианты, диагностика и лечение. Автореферат диссертации кандидата медицинских наук. 2005.
145. Inwards D., Witzig Th. Initial therapy of mantle cell lymphoma. *Ther. Adv. Hematol*. 2011; 2 (6) : 381-392.
146. Berard C., Dorfman R. Histopathology of malignant lymphomas. *Clinical hematology*. 1986; 43 : 39.
147. Campo Elias and Rule Simon. Mantle cell lymphoma evolving management strategies. *Blood*. 2015; 125 : 48-55.
148. Robar Tadeusz, MD, Huang Huiqiang , MD, Jin J., MD et al. Bortezomib-Based Therapy for Newly Diagnosed Mantle- cell lymphoma. *N. Engl. J. Med*. 2015; 372 : 944-953.
149. Dreyling M., Jurezac W., Jerkeman M., et al Ibrutinib versus temsirolimus in patients with relapsed or refractory mantle- cell lymphoma: an international randomised open-label, phase 3 study. *The Lancet*. 2016; 387 (10020) : 770-778.
150. Vose J. Mantle cell lymphoma: 2013 update on diagnosis, risk stratification, and clinical management. *Am. J. Hematol*. 2013; 88 : 1082-1088.

151. Vose J. Mantle cell lymphoma: 2015 update on diagnosis, risk stratification, and clinical management. *Am. J. Hematol.* 2015; 90 : 739-745.
152. Vose J. Mantle cell lymphoma: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and clinical management. *Am. J. Hematol.* 2012 Jun.; 87 (6) : 604-609.
153. Jares P., Colomer D., Campo E. Molecular patogenesis of mantle cell lymphoma. *J. Clin. Invest.* 2012; 122 (10) : 3416-3423.
154. Navarro A., Clot J., Royo C., et al. Molecular subset of mantle cell lymphoma defined by the IGHV metatational status and SOX11 expression have distinct biologic and clinical features. *Cancer Res.* 2012; 72 (20) : 5307-5316.
155. Hosein P., Pastorini V., Paes F., et al. Utility of positron emission tomography scans in mantle cell Lymphoma. *Am. J. Hematol.* 2011; 86 : 841-845.
156. Cohen J., Hall N., Ruppert A., et al. Association of pretransplantation positron emission tomography computed tomography and outcome in mantle cell lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2013; 48 : 1212-1217.
157. Conconi A., Francescheti S., Lobelti- Bodoni C., et al. Risc factors of central nervous system relapse in mantle cell lymphoma. *Leuk. Lymphoma.* 2013; 54 : 1908-1914.
158. Cheah C., george a., Gine E., et al. Central nervous system involvement in mantle cell lymphoma: clinical features, prognostic factors and outcomes from the European Mantle Cell Lymphoma. Network. *Ann. Oncol.* 2013; 24 : 2119-2123.
159. Royo C., Navarro A., Clot G., et al. Non- nodal type of mantle cell lymphoma is a specific biological and clinical subgroup of the disease. *Leukemia.* 2012; 26 (8) : 1895-1898.
160. Bernard M., Tsang R., Le LW et al. Limited- stage mantle cell lymphoma: treatment outcomes at the Princess Margaret Hospital. *Leuk. Lymphoma.* 2013; 54 : 261-267.
161. Rhone-Alpes. Lymphomes non hodgkiniens. Etude qualitative exploratoire molphy. Modes de vie, hemopathies lymphoides, hygiene. 2014. Avril; 17-20.
162. Zhou Z., Sehn LH., Rademaker AW., et al. An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse large B- cell lymphoma treted in the rituximab era. *Blood.* 2014; 123 (6) : 837-842.
163. 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.
164. Huang HH, Xiao F., Chen f., et al. Reassessment of the prognostic value of the International Prognostic Index and the International revised. *Exp. Ther Med.* 2012; 4 (3) : 475-480.

165. Ndiaye Faton Samba Diago , Seynabou Fall, Atoumane Faye et al. Prognostic factors of non- Hodgkins lymphoma: retrospective study in unit blood service of the internal medicine dantec in Dakar (Senegal). Open Journal of hematology. 2015; 6 :1-6.
166. Maeng Chi Hoon, Ahn Sung Woo, Seong- Yoon Ryu, et al. Treatment outcomes and clinical reverance of the Follicular Lymphoma. International Prognostic Index in Korean follicular lymphoma patients treated with chemotherapy. Korean J. Intern Med. 2016; 31 (3) : 560-569.
167. Lopez- Guillermo Armando . A novel clinicogenetic prognostic score for follicular lymphoma. The Lancet. 2015; 16 (9) : 1011-1012.
168. Sehn Laurie H., Fenske Timothy S., Laport Ginna G. Follicular Lymphoma: Prognostic Factors, Conventional Therapies, and Hematopoetic cell Transplantation. Biology of Blood and Marrow Transplantation. 2012; 18 (1) : 82-91.
169. W Hiddemann and B D Cheson. How we manage follicular lymphoma. Leukemia. 2014; 28 : 1388-1395.
170. Kelly Ciara M. and Shahrokni Armin. Moving beyond Karnofsky and ECOG Performance Status Assessments with New Technologies. J. Oncol. 2016; 2016 : 61886543.
171. West Howard (Jack), MD; Jin Jill O., MD. Performance Status in Patients with cancer. JAMA Oncol. 2015; 1 (7) : 998.
172. Kaplan E., Meier P. Non parametric estimation from incomplete observation. J. Am. Statist. Ass. 1958; 457-481.
173. Jehan E. Generalized Wilcoxon test for comparing arbirtrarily singly-sensored samples. Biometrika. 1965; 53: 203-223.
174. Spinei L., Lozan O., Badan V. Biostatistica. Chişinău. 2006; 69-72.

ANEXE

ANCHETA UTILIZATĂ PENTRU COLECTAREA DATELOR DESPRE PACIENȚI

Ancheta №

1. Familia, numele, prenumele
2. Sex
3. Numărul fișei de observație
Numărul fișei de ambulator
4. Anul nașterii
5. Vârsta la momentul stabilirii diagnosticului
6. Diagnosticul cu enumerarea zonelor de afectare și stadiul maladiei
7. Diagnosticul confirmat
 - Citologic
 - Histologic
 - Imunohistochimic
8. Maladii concomitente
9. Data debutului maladiei
10. Data stabilirii diagnosticului
11. Termenul de stabilire a diagnosticului după apariția primelor semne clinice
12. Primele semne clinice
 - Focarul primar

- Acuzele
- Datele obiective
- Zonele de metastazare inițială
- Zonele de metastazare la distanță

13. Starea generală

14. Constituția

15. Ganglionii limfatici periferici

16. Aparatul locomotor

17. Sistemul respirator

18. Sistemul cardiovascular

19. Sistemul digestiv. Ficatul

20. Sistemul digestiv. Splina

21. Sistemul ORL

22. Sistemul nervos

23. Rezultatele cercetărilor imagistice

24. Rezultatele cercetărilor USG

25. Hemograma

26. Biochimia

27. Punctatul medular

28. Trepanobioptatul

29. Durata remisiunii

30. Recidive

31. Progresări



Republica Moldova
Ministerul Sănătății
Academia de Științe

CERTIFICAT DE INOVATOR

Nr.17/14

Pentru inovația cu titlul

Algoritmul de utilizare a
anticorpilor monoclonari pentru identificarea
variantelor limfoamelor Non-Hodgkin indolente

Inovația a fost înregistrată pe data de 11.10.2014
în Institutul Oncologic din Republica Moldova

Se recunoaște calitatea de autor(i)

Buruiana Sanda,
Iacovleva Iraida,
Robu Maria

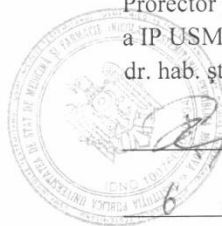
Data eliberării 14.11.2014

L.Ș.

(Semnătura autorizată)

APROB

Prorector pentru activitate științifică
a IP USMF „Nicolae Testemițanu”,
dr. hab. șt. med., profesor universitar



Gheorghe Rojnovanu

6 aprilie 2017

ACTUL nr.

de implementare a inovației

1. **Denumirea inovației:** Algoritmul de utilizare a anticorpilor monoclonali pentru identificarea variantelor limfoamelor Non-Hodgkin indolente.
2. **Autorii:** Sanda Buruiană, Iraida Iacovlev, Maria Robu
3. **Unde și când a fost implementată:** 2014-2017, în activitatea științifică și didactică a Catedrei de oncologie, hematologie și radioterapie a IP USMF „Nicolae Testemițanu”.
4. **Lucrarea brevetată:** Certificat de Inovator Nr. 17/14.
5. **Scurtă prezentare:** Stabilirea diagnosticului de limfom non-Hodgkin (LNH) indolent va fi efectuată inițial pe baza cercetării morfologice a biopsatului tumoral. Ulterior se determină linia celulară-B sau T. Având în vedere, că LNH indolente aproximativ în 90% de cazuri sunt B-celulare, se inițiază cu cercetarea CD19 și CD20, specifice liniei B-celulare. Ca rezultat deja nu se consumă markerii T-celulari. Ulterior se utilizează anticorpii specifici pentru LNH indolente: CD5, CD10, CD23, CD38. Reacțiile pozitive la coexpresia CD5/CD23 confirmă varianta LNH din limfocite mici, CD10- LNH folicular, CD5- LNH din zona mantalei, CD38-LNH limfoplasmocitar. Dacă nici unul din markerii CD5, CD10, CD23 nu se determină este vorba de LNH din zona marginală.
6. **Eficacitatea implementării:** Este argumentată consecutivitatea utilizării diverselor metode de diagnostic pentru simplificarea complexului vast și costisitor de investigații ce va contribui la implementarea în practica medicală Clasificarea OMS (2008) a tumorilor țesutului hematopoietic și limfatic.
7. **Domeniul de aplicabilitate:** Medicina.
Șef Catedră de oncologie, hematologie și radioterapie
Prof. univ., dr. hab. șt. med.

Șef Departament Știință
Prof. univ., dr. hab. șt. med.

Ion Mereuță

Ghenadie Curocichin

DECLARAȚIE PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnata, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Buruiană Sanda

Semnătura

Data-----

CV AL AUTORULUI

Nume: Buruiană

Prenume: Sanda

Data și anul nașterii: 28 noiembrie 1977

Locul nașterii: Republica Moldova , or. Chișinău

Naționalitatea: moldoveancă

Adresa: 2043, or. Chișinău , Bd. Traian 21/1, ap. 21

Telefon: (693) 84040- mobil

(022) 741405- domiciliu

(022) 852357-serviciu

Starea civilă: căsătorită

Studii:



<i>No</i>	<i>Perioada</i>	<i>Denumirea</i>	<i>Locul</i>
1.	2007-2010	Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Doctorat-Hematologie și Hemotransfuzie	Chișinău, Republica Moldova
2.	2004-2006	Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Secundariat-Hematologie	Chișinău, Republica Moldova
3.	2001-2004	Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Rezidențiat- Medicina Internă	Chișinău, Republica Moldova
4.	1994-2001	Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”- Facultatea Medicină Generală	Chișinău, Republica Moldova
5.	1984-1994	Liceul „Gh. Asachi”	Chișinău, Republica Moldova

Calificări:

№	Perioada	Denumirea	Locul
1.	2016	Institutul Regional de Oncologie Iași, cursul-„Actualități oncologice în anul 2016”	Iași, România
2.	2010	Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, perfecționare-„Diagnosticul și tratamentul anemiilor”	Chișinău, Republica Moldova
3.	2009	Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, perfecționare-„Diagnosticul și tratamentul anemiilor”	Chișinău, Republica Moldova
4.	2004	Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, programul-„Psihopedagogia școlii superioare”	Chișinău, Republica Moldova

Experiența profesională:

№	Perioada	Denumirea	Locul
1.	2014-prezent	Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, asistent universitar, catedra” Oncologie, Hematologie și Radioterapie”	Chișinău, Republica Moldova
2.	2007-2014	IMSP Institutul Oncologic, medic hematolog, secția Hematologie №2	Chișinău, Republica Moldova

Abilități de lucru la calculator:

Windows 1995; 1998; 2000; Microsoft Office 1995; 1998; 2000; Microsoft Excel, Internet, E-mail, Statistica 6.0.

Limbi străine: română (limba maternă), rusă (fluent), franceză (fluent), engleză (la nivel de comunicare).

Lucrări științifice publicate: la tema tezei sunt publicate 11 lucrări științifice, inclusive 5 fără coautori, 1 certificat de inovator.

Participări la foruri științifice, seminare naționale și internaționale:

№	Perioada	Denumirea	Locul
1.	25-26.04.2017.	I Міжнародна конференція „ Як покращити лікування лімфом: роль ПЕТ і морфологічної діагностики”	Kiev, Ucraina
2.	06.04.2017.	Conferința științifico-practică „Hepatitele toxice. Afecțiunile toxice ale ficatului pe fon de chimioterapie”	Chișinău, Republica Moldova
3.	24.03.2017.	Simpozionul științific cu genericul „Noi strategii de diagnostic și tratament în managementul limfoamelor non-Hodgkin”	Chișinău, Republica Moldova
4.	24-27.11.2016	CONFER 2016 Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași	Iași, România
5.	18-21.10.2016	Conferința științifică anuală a cadrelor științifico-didactice, doctoranzilor, masteranzilor, rezidenților și studenților IP USMF „Nicolae Testemițanu”	Chișinău, Republica Moldova
6.	13-14.10.2016	Simpozionul consacrat aniversării de 40 de ani ai Catedrei de oncologie, hematologie și radioterapie cu participare internațională „Vigilența oncologică în activitatea medicală, depistarea precoce și tratamentul tumorilor”	Chișinău, Republica Moldova

7.	08-09.10.2015	Congresul IV al oncologilor din RM cu participare internațională „Modernizarea serviciului oncologic în contextul integrării europene”	Chișinău, Republica Moldova
8.	05.10.2015	Conferința științifică anuală a cadrelor științifico-didactice, doctoranzilor, masteranzilor, rezidenților și studenților IP USMF „Nicolae Testemițanu”	Chișinău, Republica Moldova
9.	21.11.2014	Conferința științifico-practică „Abordări contemporane în diagnosticul și tratamentul maladiilor digestive”	Chișinău, Republica Moldova
10.	15-17.10.2014	Conferința științifică anuală a cadrelor științifico-didactice, doctoranzilor, masteranzilor, rezidenților și studenților IP USMF „Nicolae Testemițanu”	Chișinău, Republica Moldova
11.	11.09.2014	Conferința științifico-practică „Rezultatele implementării noilor tehnologii în depistarea și tratamentul cancerului în RM”	Chișinău, Republica Moldova
12.	16-18.10.2013	Conferința științifică anuală a cadrelor științifico-didactice, doctoranzilor, masteranzilor, rezidenților și studenților IP USMF „Nicolae Testemițanu”	Chișinău, Republica Moldova
13.	10.09.2013	Conferința științifico-practică „Managementul chirurgiei miniinvazive în oncologie”	Chișinău, Republica Moldova
14.	17-19.10.2012	Conferința științifică anuală a cadrelor științifico-didactice, doctoranzilor, masteranzilor, rezidenților și studenților IP USMF „Nicolae Testemițanu”	Chișinău, Republica Moldova
15.	14.09.2012	Conferința științifico-practică „Noi tehnologii în tratament și reabilitare în oncologie”	Chișinău, Republica Moldova
16.	11.09.2012	Conferința științifico-practică „Managementul modern în diagnosticul, tratamentul și reabilitarea în oncologie”	Chișinău, Republica Moldova

17.	19-21.10.2011	Conferința științifică anuală a cadrelor științifico-didactice, doctoranzilor, masteranzilor, rezidenților și studenților IP USMF „Nicolae Testemițanu”	Chișinău, Republica Moldova
18.	19-20.05.2011	Conferința națională în Medicina Internă din Republica Moldova cu participare internațională	Chișinău, Republica Moldova
19.	13-15.10.2010	Conferința științifică anuală IP USMF „Nicolae Testemițanu”, consacrată celor 65 de ani ai învățământului medical superior din Republica Moldova	Chișinău, Republica Moldova
20.	01-04.10.2010	VI Congres al oncologilor și radiologilor țărilor CSI	Dușambe, Tadjichistan
21.	14-16.05.2008	V Congres al oncologilor și radiologilor țărilor CSI	Tașchent, Uzbechistan