

UNIVERSITATEA DE MEDICINA SI FARMACIE  
“CAROL DAVILA” BUCURESTI

## **TEZA DE DOCTORAT**

**Concepte actuale privind  
limfoamele maligne non-Hodgkin la copil**

**- REZUMAT -**

Conducator stiintific

Prof. Dr. CONSTANTIN ARION

Doctorand

Dr. ADRIANA SĂRSAN

BUCURESTI

2008

Limfoamele reprezinta afectiuni maligne care intereseaza celulele si organele sistemului imun. [ Transformarea maligna poate apare in oricare subpopulatie morfologica si functionala distincta de celule limfocitare ale sistemului imun si in oricare organ limfoid central sau periferic, ceea ce conduce la heterogenitatea morfologica, imunologica si clinica a limfoamelor maligne, ca si frecventa crescuta a bolii diseminate.

Limfoamele maligne sunt impartite in 2 tipuri: limfoame Hodgkin si limfoame non-Hodgkin.

Limfoamele maligne non-Hodgkin reprezinta proliferari clonale ale celulelor sistemului imunitar.

Cea mai importanta celula a tesutului limfoid este limfocitul, care apartine liniei albe. Exista 2 tipuri principale de limfocite: limfocitul B si limfocitul T. Acestea au roluri diferite in imunitatea organismului uman. Desi limfoamele pot deriva din ambele tipuri celulare, limfoamele de tip B sunt mai frecvente decat cele de tip T.

60% din limfoamele copilului sunt LMNH. Acestea reprezinta 7% din cancerele varstei < 20 ani.

Afecteaza cel mai frecvent sexul masculin, cu un raport M / F = 3 / 1.

LMNH sunt rare la copilul sub 5 ani, frecventa lor crescand odata cu varsta.

## **ETIOPATOGENIE**

LMNH reprezinta proliferari clonale necontrolate ale precursorilor limfoizi imaturi, care isi pierd capacitatea de diferentiere si se acumuleaza progresiv in diversele tesuturi ale gazdei.

Cauza exacta a multor LMNH nu este cunoscuta. Totusi, oamenii de stiinta au descoperit faptul ca acest tip de cancer este asociat cu prezenta unor factori de risc pe care ii voi enumera in cele ce urmeaza. Multi dintre copiii cu LMNH nu prezinta insa un factor de risc cunoscut, etiologia afectiunii lor ramanand in acest moment necunoscuta.

Studiile au demonstrat ca polimorfismul comun al genelor citokinelor Th1 si Th 2 pot altera expresia genica, pot modula balanta raspunsului Th1/Th 2 si pot influenta susceptibilitatea pentru boli autoimune, infectii si cancer. SNPs = single nucleotide polymorphisms. Polimorfismele nucleotidice singulare la nivelul IL4, IL5, IL6 si IL10 au fost asociate cu riscul de aparitie a LMNH. Analiza a 4 SNPs a promoterului IL10 a evidentiat ca ambele haplotipuri AGCC si TATA s-au asociat cu risc crescut pentru limfoamele B. In contrast, alela IL4-1098G s-a corelat cu risc crescut pentru limfoamele T. Aceste rezultate sugereaza ca SNPs la nivelul genelor citokinei Th 2 se poate asocia cu risc de LMNH.

Un nou mecanism al activitatii celulelor T reglatoare a fost descoperit. Zhao si colaboratorii descriu faptul ca celulele regulatorii T anuleaza proliferarea celulelor B prin inducerea directa a apoptozei celulelor B prin 2 cai: granzim- si perforin-dependenta. Proliferarea celulelor B este controlata intr-o maniera complet diferita fata de proliferarea celulelor T. Celulele T CD4+ CD25+ activate produc si elibereaza granzima B, similar celulelor T CD8, activitate ce nu e regasita la nivelul celulelor T CD4+ CD25-. Apoptoza celulelor B mediata de celulele CD4+ CD25+ poate fi antigen-dependenta. Acest mecanism implica direct inducerea (antigen-selectiva) a apoptozei celulelor B.

Un studiu multicentric BFM efectuat pe 487 de copii cu varsta < 18 ani, sugereaza asocierea unor particularitati ale metabolismului folatilor cu anumite subtipuri de LMNH la copil.

Polimorfismele genelor factorului de necroza tumorală TNF-308 (G→A) si a limfotoxinei α LT-a+252 (A→G) sunt factori de prognostic prost in limfomul Burkitt si leucemia acuta limfoblastica B.

## FACTORII DE RISC:

**Definitie:** factorul de risc reprezinta orice ar putea creste probabilitatea ca o persoana sa dezvolte cancer.

Factorii de risc sunt legati de:

1. **Stilul de viata:** - expunerea excesiva la soare  
- dieta  
- obiceiuri daunatoare ca fumatul si consumul de alcool
2. **Genetici:**
  - a. **Rasa:** LMNH sunt mai frecvente la copiii negri, cu un raport albi / negri de 1 / 4.
  - b. **Sindroame de imunodeficienta:** congenitale, dobandite, induse iatrogen.
3. **Factorii de mediu**

## STUDII CITOGENETICE:

In ultimii ani s-au facut progrese mari in a intelege cum anumite modificari la nivelul ADN pot influenta transformarea limfocitelor normale in limfoame.

Unele gene (parti ale ADN-ului) contin instructiuni de control asupra momentului cresterii si dezvoltarii celulare. Anumite gene care stimuleaza diviziunea celulara sunt numite oncogene. Altele, care incetinesc diviziunea celulara sau induc moartea celulara la un anumit moment, sunt numite gene supresoare. Cancerale pot fi cauzate de mutatiile (defectele) ADN care determina activarea oncogenelor si inhibarea genelor supresoare.

Anumite translocatii cromozomiale sunt intalnite in diferite tipuri de LMNH. Acestea pot avea implicatii etiologice. In limfomul Burkitt, oncogenul c-myc de pe cromozomul 8q24 este juxtapusa cu o gena a unui lant imunoglobulinic de pe cromozomii 2, 14 sau 22. Translocatiile genelor receptorilor celulei T de pe cromozomii 7 si 14 apar in limfomul limfoblastic cu celule T precursorale. LMNH anaplastic cu celule mari Ki-1 pozitiv se asociaza cu rearanjarea si fuzionarea genei NPM de pe cromozomul 5 cu gena ALK de pe cromozomul 2, ceea ce conduce la formarea unei proteine chimerice ce determina fosforilarea anormala a substraturilor implicate in cresterea si proliferarea celulara.

Celulele maligne din limfoamele B exprima numai unul din lanturile usoare ale imunoglobulinelor –  $\kappa$  sau  $\lambda$  - si studiul rearanjarii genelor pentru imunoglobuline in LMNH cu celule B si a genelor pentru TCR in LMNH cu celule T, arata configuratii specifice ale genelor in toate celulele maligne.

Demonstrarea anomaliilor citogenetice in limfoamele liniilor celulare B si T sugereaza faptul ca unele din aceste translocatii par a reprezenta **erori in procesul normal de rearanjare a genelor pentru imunoglobuline (LMNH cu celule B), ca si a genelor pentru lanturile  $\alpha$ ,  $\beta$  si  $\delta$  ale TCR (LMNH cu celule T).**

Ca o consecinta a acestor rearanjamente in LMNH cu celule B, protooncogenul c-myc este pus sub influenta reglatoare a genelor constitutive exprimate pentru imunoglobuline; rezultatul este transcriptia constitutiva a genelor c-myc si mentinerea celulei in ciclul proliferativ, iesirea celulelor din ciclul celular fiind impiedicata de nivelurile inadecvat de mari ale produsului genei c-myc.

## HISTOPATOLOGIE

Din punct de vedere histopatologic limfoamele sunt clasificate pe baza structurii arhitecturale in 2 tipuri:

### 1. Forme foliculare:

- se caracterizeaza prin aranjarea celulelor maligne in agregate separate de celulele normale
- sunt foarte rare la copil, aparand in aproximativ 2,5% din cazuri
- se prezinta frecvent in stadii precoce si au un prognostic excelent.

### 2. Forme difuze:

- celulele maligne sunt grupate in travee care schimba complet aspectul tisular normal.
- reprezinta majoritatea formelor de LMNH la copil
- au gradul de malignitate intermediar sau inalt

LMNH sunt impartite **dupa gradul de malignitate**, in:

1. grad de malignitate **redus**
2. grad de malignitate **intermediar**
3. grad de malignitate **inalt**

Aproape toate LMNH la copil apartin unuia din urmatoarele tipuri histopatologice:

1. **Limfom limfoblastic**
2. **Limfom cu celule mici non-clivate**
3. **Limfom cu celule mari**
4. **Limfom cu celule mari anaplazice** – este mai rar, si este abordat la fel ca limfomul cu celule mari.

Deși toate tipurile sunt difuze și cu grad înalt de malignitate, este foarte important de a le deosebi deoarece tratamentul lor este diferit.

## IMUNOFENOTIPUL

Utilizarea tehnicilor de imunodiagnostic a LMNH a permis identificarea mai precisă a lineajului (= celule de origine a limfomului).

Studiul limfoamelor pediatrice folosind un panel de anticorpi monoclonali cunoscuți a interacționa cu anumite structuri ale limfocitelor normale, a demonstrat că limfoamele la copil exprimă mai degrabă imunofenotipuri ce corespund precursorilor limfocitelor B sau T, decât ale limfocitelor mature competente.

Transformarea malignă se poate produce fie la nivelul celulelor T sau B, fie în diferitele stadii de diferențiere (maturatie) a acestor lineaje.

Din punct de vedere statistic, studiile imunofenotipice evidențiază faptul că LMNH la copil derivă din urmatoarele linii celulare:

- 40-50% din cazuri lineaj T
- 40-50% din cazuri lineaj B exprimând Ig de suprafață
- < 10% neoplazii timpurii ale celulelor B, fără exprimarea Ig de suprafață

Imunofenotipul celulei maligne nu poate fi intotdeauna precizat doar pe baza aspectului histologic. Au fost identificate corelatii stranse intre subgrupele histopatologice , subtipurile imunologice si comportamentul biologic in LMNH.

De-a lungul timpului au fost folosite mai multe sisteme de clasificare pentru a descrie diferitele tipuri de LMNH.

**Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms (REAL):** clasificarea a fost introdusa in anul 1994 si descrie limfoamele ca entitati, coroborand datele morfologice, imunologice si genetice.

**World Health Organization (WHO):** reprezinta cel mai recent sistem de clasificare, fiind recunoscut ca standard international din 2001. Sunt utilizate cele mai noi date privind mecanismele de aparitie si crestere ale celulelor tumorale, precum si caracteristicile genetice.

## **Corelatii histopatologice, imunohistochimice, citogenetice si clinice**

### **Limfomul Burkitt**

Limfoamele cu celule mici neclivate (tip Burkitt) au fost descrise prima data ca si entitate clinica distincta de catre Dennis Burkitt , in timpul cercetarilor in Africa ecuatoriala unde aceasta tumora este endemica. Aceasta malignitate este intalnita insa in intreaga lume, reprezentand 40-50% din LMNH la copil in zonele non-endemice.

#### Variante morfologice:

- Burkitt-like
- Cu diferentiere plasmocitoida asociat cu sindromul de imunodeficienta

#### Subtipuri clinice de limfom Burkitt:

- Endemic (LBe)
- Sporadic (LBs)
- Asociat cu sindromul de imunodeficienta

Limfomul Burkitt are grad inalt de malignitate, fiind una din tumorile cu cea mai rapida crestere (timp potential de dublare de 24-48 de ore).

#### Histopatologie

LB este o proliferare de tip difuz. Pe sectiune apare aspect de “cer instelat”, prin intercalarea in plaja de celule “monotone” de macrofage cu resturi nucleare (“tingible body macrophages”). Se caracterizeaza prin aspectul omogen al celulelor cu nuclei rotunzi / ovalari, cu multipli nucleoli evidenti (2-5) si cromatina grosolana; aspect coeziv al celulelor. Celulele au dimensiuni medii (intermediare intre limfocit si centroblast). Citoplasma este abundenta, intens bazofila sau amfofila, cu vacuole lipidice (aspect caracteristic pe amprente). Prezinta indice mitotic mare (rata mare de proliferare tumorala). De asemenea, au rata crescuta de moarte celulara spontana (corpi apoptotici)

#### Imunofenotipul

Studiile imunologice privind limfoamele cu celule mici non-clivate au demonstrat faptul ca aceste tumori deriva invariabil din celulele B si ca exprima imunoglobuline de suprafata monoclonale (de obicei Ig M).

- sIgM+, IgM/IgD: 20/1
- Pan B (+): CD19+, CD 20+. CD 22+, CD 79a+, CD 10(CALLA+), Bcl-6+

- TdT-, CD5-, Cd23-
- HLA-DR +
- Ki-67+ (marker de proliferare celulara intensa ~ 100% +)
- Cd 21+ (CD 3d / VEB receptor)+ in LB endemic

#### Citogenetica

- anomalia cromozomiala primara este translocatia t(8;14)(q24;q32) ce apare la 60-70% din cazuri
- alte translocatii t(8;22)(q24;q11) si t(2;8)(p12;q24) ce au in comun ruptura 8q24, apar la 10-15% din cazuri, respectiv la 2-5% din cazuri.
- Un numar mic de cazuri pot prezenta o duplicatie a cromozomului 1, implicand segmentul 1q21-25 ca leziune unica detectabila.

### **Limfomul limfoblastic**

Limfomul limfoblastic reprezinta ~ 30% din LMNH la copil.

In majoritatea cazurilor, deriva din precursorii limfocitului T (origine timocitara). Un numar restrans de limfoame limfoblastice deriva din precursori ai limfocitului B.

#### **Limfom limfoblastic cu precursori ai limfocitului T**

##### Incidenta:

- apare in special la copiii mari si adolescenti (varsta medie=17 ani)
- predomina la baieti, cu un raport B / F: 2/1

##### Clinic:

- la ~75% din pacienti se prezinta ca formatiune tumorală mare localizata in mediastinul anterior, insotita de adenopatii cervicale, supraclaviculare sau axilare. Tabloul clinic se poate manifesta prin semne de insuficienta respiratorie acuta, compresii traheale sau sindrom de compresie de vena cava superioara. Pot exista, de asemenea, semne de tamponada pericardica (largirea mediastinului, prezenta pleureziei si a pericarditei).

##### Histopatologie

Celulele neoplazice limfoide monomorfe au dimensiuni medii (12-14 µm), cu:

- Nuclei sunt rotunzi sau convoluti
- Nucleoli putin evidenti
- Cromatina fina, cu aspect intunecat
  - Poate apare aspect de “cer instelat” (dat de macrofagele cu material fagocitat)
  - Sunt prezente mitoze frecvente (fractie de proliferare ridicata)
  - Amprenta evidentiaza:
    - aspectul convolut al cromatinei
    - ± vacuole
    - Reactia PAS +

Celulele nu pot fi distinse de blastii din LAL-L2 (FAB)

##### Imunofenotipul

Celulele limfomului limfoblastic tip T exprima antigene de suprafata caracteristice timocitelor corticale aflate in stadii de maturatie intermediare sau tardive, dupa cum urmeaza: TdT+, CD7+, CD3+, variabil CD2 si CD5, CD4 si CD8 (dublu pozitiv, dublu negativ), CD10+ (~10-15% din limfoamele limfoblastice au caracteristici imunologice non-T), CD16 si CD57 (asociate NK) asociate cu boala agresiva.

Exista o corelatie intre fenotip si stadiul de diferentiere timica:

- Stadiul I: CD1-, cCD3+, CD4-, CD8-
- Stadiul II: CD1+,cCD3+, CD4+ si CD8+
- Stadiul III: CD1-, sCD3+,CD4+ sau CD1-, sCD3+,CD8+

#### Citogenetica:

- Rearanjarea genelor TCR. Celula neoplazica exprima TCR  $\alpha/\beta$  sau  $\delta/\gamma$
- Rearanjarea IgH $\pm$
- Anomalii cromozomiale: > 30% translocatii care afecteaza locii genelor TCR: 14q11 (TCR-  $\alpha$ ), 7q35 (TCR  $\beta$ ), 7q15 (TCR  $\gamma$ ).
- Translocatia t(1;14)(p32;q11) juxtapune gena TAL (cr.1 p32) si gena TCR  $\alpha/\delta$  (cr. 14q11)  $\rightarrow$  formarea produsului proteina TAL1 care formeaza complexe cu o proteina E2A. Are loc activare anormala a unor gene tinta si transformare maligna.

### **Limfom limfoblastic cu precursori ai limfocitului B**

#### Incidenta:

- apare cu o frecventa mai mare la copii fata de adulti
- 2/3 dintre copii sunt baieti

#### Clinic:

- tumori solide cu localizare frecventa la nivelul pielii (tumori de scalp si fata)
- alte localizari: oase, SNC, ganglioni
- nu se prezinta ca masa mediastinala

#### Histopatologie:

- aspectul este de proliferare difuza, in care celulele tumorale au dimensiuni mici / intermediare (mai mari decat ale limfocitului mic si mai mici decat ale celulelor din limfomul malign B cu celula mare); mitoze frecvente; aspect de "cer instelat"; afectarea capsulei este frecvent intalnita la ganglion; nucleul este rotund sau convolut, cu nucleoli putin evidenti si cromatina fina; citoplasma este putina, bazofila.

#### Imunofenotipul:

Limfomul limfoblastic tip B deriva din precursori timpurii ai celulelor B, ce exprima antigene de suprafata pre-B si early pre-B, fara exprimarea Ig de suprafata.

- TdT + (TdT+ sIg-: precursori B fata de neoplasme cu celule B mature)
- CD19+, CD79a (util cand CD19 este absent), CD22+, CD20 $\pm$ , CD10+
- CD19, CD22, CD10 si CD79a ajuta la diferentierea de LLB-T si sarcoamele granulocitice
- HLA-DR+
- sIg-
- $\mu$   $\pm$
- CD34  $\pm$
- coexprima CD13 si / sau CD33
- varianta blastica a limfomului mantalei este sIg+, CD5+, CD10-, TdT- si prezinta histologic zone tipice de limfom al mantalei.
- Prognostic rezervat: absenta CD10 si CD34, prezenta CD3 si CD33.

#### Citogenetica:

- rearanjari ale lanturilor grele (H) si usoare (k, $\lambda$ ) de Ig
- rar: rearanjari ale genei receptorului TCR
- prognostic rezervat: t(1;19), t(9;22)
- prognostic favorabil: > 50 cromozomi

## **Limfomul difuz cu celula mare B**

Reprezinta 20-25% din LMNH la copil.

### **Subtipuri clinice:**

- Limfomul mediastinal (timic) cu celula mare B
- Limfomul primar al seroaselor
- Limfomul intravascular cu celula mare B

### **Clinica:**

Tabloul clinic de prezentare a LMNH difuz cu celula mare variaza si este putin predictibil in comparatie cu celelalte tipuri de LMNH la copil. Localizarile pot fi diferite, incluzand mediastinul, abdomenul, regiunea capului si gatului: 50% determinari ganglionare; 50% determinari extraganglionare: splina, timus, stomac, intestin subtire si gros, piele, tiroida, testicol, parti moi, creier

### **Histopatologie:**

Celulele sunt mari, cu nucleu veziculosi (avand dimensiuni de cel putin 2 ori mai mari decat nucleul unui limfocit mic). Celulele au diferite aspecte asemanatoare cu centroblastii si imunoblastii. In cazuri rare, celulele nu pot fi diferite morfologic de cele din limfomul anaplastic cu celule T sau cel de tip "null cell".

### **Imunofenotipul:**

Limfoamele difuze cu celula mare prezinta, de asemenea, o imunoheterogenitate. Mai mult de 1/3 din tumori au ca origine celula de tip B, 1/3 sunt derivate din celula T (ce exprima frecvent profile antigenice ale celulelor T activate post-timic), iar 30% au lineaj nedeterminat (non-B non-T). In situatii rare pot deriva din lineaje histiocite / macrofage si sunt cunoscute ca "limfoame histiocitare adevarate".

### **Citogenetica:**

- t(3;V)(q27;V) / rearanjamente al genei BCL-6: translocatii cromozomiale intre 3q27 si mai multi cromozomi care pot fi parteneri alternativi: 14q32(IgM), 2p11 (IgK), 22q11 (Igλ), 4p11, 6p21, 11q23. Aceste modificari apar in 5-10% din cazuri, dar incidenta rearanjamentelor genei BCL-6 poate fi de 20-30% cand se aplica tehnica Southern blotting si tehnica FISH, constand din insertia secventei IgH in partea reglatoare a genei BCL-6.
- t(14;18) cu hiperexpresia genei BCL2: apare in 15-20% din cazuri, care provine din transformarea unui limfom folicular.

## **LMNH anaplastic (ALCL)**

ALCL reprezinta ~ 15% din LMNH la copil si 20-30% din cazurile de limfom difuz cu celula mare.

Celulele exprima antigenul CD30 (Ki-1) – molecula apartinand familiei receptorului TNF (tumor necrosis factor), si EMA (antigen de membrana epitelial). Studiile de imunologie si biologie moleculara au evidentiat faptul ca majoritatea limfoamelor cu celule mari anaplastice Ki-1 + au ca origine celulele T activate, desi au fost descrise si cazuri ce deriva din celule B sau non-B non-T. Poate fii prezenta translocatia t (2;5)(p23;q35), ceea ce conduce la exprimarea proteinei de fuziune NPM / ALK.

ALCL poate fi clasificat in:

### **ALCL primar:**

- sistemic ALK +
- sistemic ALK –
- cutanat (frecvent intalnit la varste inaintate)

ALCL secundare: rezulta din transformarea altor limfoame, cel mai frecvent LMNH cutanate cu celula T

ALCL ALK+ afecteaza frecvent pacientii tineri de sex masculin (< 40 ani), in timp ce ALCL ALK- apare la cei varstnici de ambele sexe (media de varsta: 50 ani).

### Clinic:

ALCL ALK+ este o tumora agresiva, cu tablou clinic sistemic, cu localizare extraganglionara: maduva osoasa, piele, os, tesut moale, organe.

O simptomatologie mai putin zgomotoasa la prezentare o au cazurile de ALCL ALK-.

### Histopatologie:

Exista 3 tipuri histopatologice principale:

- tipul comun, caracterizat de celule limfoide mari, cu nucleu in forma de potcoava, cu nucleoli multipli si citoplasma abundenta (tipurile ALK+ sau - de ALCL).
- tipul cu celule mici: dimensiuni mici sau medii ( aproape in exclusivitate ALCL ALK +).
- tipul limfohistiocitic: contine un numar de histiocite reactive care pot conduce la un fals diagnostic de histiocitoza maligna ( intotdeauna ALCL ALK +).

ALCL ALK+ au un prognostic favorabil (rata de supravietuire la 5 ani este de 70-80%) fata de cele ALK- care au un prognostic nefavorabil (supravietuirea la 5 ani este de doar 30-40%).

### Citogenetica

- Modificarile genetice pentru cazurile ALK- raman necunoscute.
- Cazurile ALK+ sunt rezultatul formarii unei gene hibride intre ALK si:
  - NPM1 (in 70-80% din situatii)
  - TPM3 (in 20% din situatii)
  - Rar: MSN, ATIC, TFG, CLTC, ALO 17, MYH 9.
- In forma clasica, cu implicarea NPM 1 la nivelul cromozomului 5: t(2;5)(p23;q35).

## **STADIALIZAREA**

“ Stadiul ” este un termen utilizat pentru a descrie extensia unei tumori in organismul uman. Deseori se creeaza confuzii intre stadiul si gradul tumorii. Gradul insa reflecta diferentierea limfomului

Cel mai folosit sistem de stadializare este **Sistemul St’ Jude Children’ s Research Hospital**, care ia in considerare localizarea extranodala si prezenta diseminarii la nivelul maduvei osoase si SNC

### **Sistemul de stadializare St’Jude**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Stadiul I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <ul style="list-style-type: none"><li>• O singura tumora extranodala sau o singura localizare ganglionara (arie anatomica), cu exceptia mediastinului sau abdomenului</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Stadiul II                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <ul style="list-style-type: none"><li>• O singura tumora extranodala cu afectarea limfoganglionilor regionali</li><li>• Doua sau mai multe arii ganglionare afectate de aceeasi parte a diafragmului</li><li>• Doua tumori extranodale individualizate, fara afectarea limfoganglionilor locoregionali si situate de aceeasi parte a diafragmului</li><li>• Tumora cu localizare primitiva gastrointestinala, obisnuit in zona ileocecala ± afectarea limfoganglionilor mezenterici asociati</li></ul> |
| Stadiul III                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Doua tumori extranodale izolate, de ambele parti ale diafragmului</li><li>• Doua sau mai multe arii ganglionare afectate, de ambele parti ale diafragmului</li><li>• Toate tumorile cu localizare primitiva intratoracica (mediastinala, pleurala, timica)</li><li>• Toate tumorile intraabdominale extinse<sup>1</sup></li><li>• Tumorile paraspinale sau epidurale, indiferent de existenta sau nu a altei localizari</li></ul>                              |
| Stadiul IV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Oricare din localizarile de mai sus, in asociere cu afectarea initiala a SNC si / sau a maduvei osoase <sup>2</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

Conform celor mai multe sisteme de stadializare, copiii cu LMNH sunt clasificati in 2 categorii:

1. stadiul de boala **localizata** (stadiile I si II St' Jude): au un prognostic foarte bun cu terapia actuala; reprezinta 35-40% din LMNH.
2. stadiul de boala **diseminata** (stadiile III si IV St'Jude): au un prognostic rezervat chiar in conditiile unei terapii agresive; reprezinta 60-65% din LMNH.

Identificarea caracteristicilor limfoamelor este foarte importanta pentru urmarirea raspunsului terapeutic. Astfel, stadiul tumorii, nivelul LDH sunt cei mai importanti factori de prognostic pentru supravietuire. Stadiile de boala diseminata (III, IV St'Jude), nivelul LDH  $\geq 500$  UI/L si varsta  $< 5$  ani, sunt factori independenti ce se asociaza cu un prognostic nefavorabil. La pacientii diagnosticati cu limfom Burkitt, afectarea SNC la debut (diagnostic) se asociaza cu riscul cel mai mare de esec al terapiei. Copiii cu limfom cu celule mari au un prognostic nefavorabil daca prezinta invadarea maduvei osoase si apartin imunofenotipic lineajului T sau nedeterminat.

## TRATAMENTUL LMNH la copil

Rata de vindecare a copiilor diagnosticati cu LMNH a crescut dramatic in ultimele 2 decade datorita dezvoltarii marcate a regimurilor chimioterapice si a evaluarii lor in trialuri clinice. Terapiile actuale utilizeaza multiple droguri chimioterapice in functie de stadiul si subtipul histologic al LMNH.

Strategiile moderne de tratament au la baza urmatoarele elemente:

1. Desfasurarea rapida a studiilor diagnostice si pentru stadializare, in scopul inceperii cat mai rapide a tratamentului citostatic.
2. Tratamentul de urgenta al complicatiilor potential amenintatoare de viata, prezente deseori in momentul diagnosticului.
3. Alegerea terapiei definitive trebuie sa tina cont de caracterul histopatologic si imunofenotipic, cat si de gradul de extensie al bolii.

## CHIMIOTERAPIA

FORMELE LOCALIZATE DE BOALA- generalitati

Prognosticul pentru copiii cu LMNH in stadiile I si II este excelent, indiferent de subtipul histologic. Rata de supravietuire la 5 ani este de 85-95%, ceea ce a permis reducerea morbiditatii legate de tratament. Atitudinea actuala in aceste cazuri este de a incerca reducerea intensitatii si duratei chimioterapiei, in scopul minimalizarii efectelor toxice imediate si tardive, ca de exemplu cardiomiopatia indusa de antracicline sau sterilitatea asociata cu folosirea ciclofosfamidei.

STADIILE AVANSATE DE BOALA - generalitati

Prognosticul bolnavilor cu LMNH in stadiile III si IV (care reprezinta 60-65% din totalul cazurilor) s-a ameliorat considerabil prin folosirea unor protocoale de chimioterapie sistemica agresiva.

Cercetatorii din SUA au ales terapia in functie de subtipul histologic. Spre deosebire de ei, cercetatorii din Franta si Germania au orientat terapia in functie de caracterul imunofenotipic al tumorii.

Pot apare **efecte secundare imediate** ca: alopecie (caderea parului), mucozita, diaree, greata, scaderea rezistentei antiinfectioase datorata leucopeniei, sangerari si echimoze prin trombocitopenie, oboseala si astenie prin eritropenie.

Aceste manifestari sunt temporare si dispar dupa terminarea tratamentului. Exista o serie de modalitati de a minimaliza aceste efecte secundare prin utilizarea unor terapii adjuvante: terapie antiemetica, administrare de factori de crestere, tratamentul sindromului de liza tumoral.

Exista posibilitatea aparitiei **efectelor secundare tardive** ale chimioterapiei la diferite nivele: renale, hepatice, genitale, cerebrale, cardiace, pulmonare. Copiii diagnosticati cu cancer au un risc crescut de deces timpuriu datorita aparitiei celei de a 2<sup>a</sup> malignitati sau prin afectiuni cardiace sau pulmonare. Studiile arata ca aproximativ 2/3 din supravietuitori au cel putin o complicatie tardiva cronica si / sau postterapie citostatica, in timp ce 1/3 din ei au complicatii vitale grave. Aproape jumatate din adultii tineri supravietuitori diagnosticati cu cancer in perioada copilariei prezinta cel putin o reactie adversa importanta in evolutia postterapeutica.

**Chirurgia** are un rol limitat in tratamentul LMNH la copil. Cu exceptia scopului diagnostic, aceasta este indicata doar in cazurile in care se poate efectua o rezectie completa a unei tumori localizata gastrointestinal de exemplu, in urma careia boala este incadrata intr-un stadiu mai putin avansat, si implicit va fi folosit un regim chimioterapic mai putin dur.

**Radioterapia** de prima intentie este rezervata in anumite cazuri de urgenta pentru afectarea acuta a SNC sau / si obstructia unor vase sanguine mari.

Tratamentul radioterapic poate fi:

- curativ
- paleativ: pentru reducerea intensitatii simptomelor date de afectarea unor structuri (creier, maduva spinala) sau reducerea durerii datorita compresiei nervoase.

## **TRANSPLANTUL**

Se refera la transplantul de celule stem (recoltate fie din aspiratul medular, fie din sangele periferic). Este o modalitate terapeutica indicata in cazurile de LMNH refractare sau recurente. Protocolul consta dintr-o cura de citostatice dura asociata sau nu cu iradiere corporeala totala. Obiectivul acestui regim este de a distruge toate celulele de la nivelul maduvei osoase, atat cele canceroase, cat si cele normale. Imediat se incearca repopularea maduvei osoase cu celule stem, sub forma unei perfuzii. Celulele stem provin fie de la copilul diagnosticat cu LMNH (recoltate in perioada de remisiune), fie de la un alt donator familial sau non-familial HLA compatibil.

Pe langa mieloablatie, protocolul chimioterapic vizeaza si realizarea imunosupresiei care va permite grefarea.

Numarul celulelor stem periferice poate fi estimat prin numararea celulelor CD34+. Numarul celulelor CD34+ din sange poate fi crescut prin mobilizarea lor medulara cu ajutorul administrarii factorului de stimulare a coloniilor granulocitare (G-CSF). Acest lucru conduce la proliferarea neutrofilelor si eliberarea de proteaze. Proteazele degradeaza proteinele care ancoreaza celulele stem de stroma medulara si, impreuna cu mecanismele proteazo-independente, elibereaza celulele in circulatie.

## **TERAPIILE DE VIITOR**

- Utilizarea antagonistilor citokinelor sau a genelor "sinucigase", precum si perfuzia cu celule T reglatoare.
- Folosirea celulelor stem embrionare ca surse de celule stem hematopoetice.
- **ANTICORPII MONOCLONALI:** la 3 iunie 1998, la San Diego, Comisia Europeana aproba utilizarea Rituximab (MabThera) la pacientii cu limfom malign non-Hodgkin folicular tip B, formele cu recadere sau chimiorezistenta. Rituximab este un anticorp monoclonal ce interactioneaza specific cu antigenul CD 20 exprimat de celulele B. Are urmatoarele mecanisme de actiune:
  - induce citotoxicitatea mediata celular si umoral
  - efecte directe: inhiba proliferarea, induce apoptoza, sensibilizeaza celulele limfomului la efectele citostaticelor

Strategiile terapeutice viitoare in ceea ce priveste LMNH la copil vor tine cont de caracteristicile imunofenotipice, citogenetice si de genetica moleculara.

## **OBIECTIVELE STUDIULUI**

Principalele **obiective** ale acestei lucrari sunt:

1. Identificarea unor corelatii clinice, histopatologice si imunohistochimice care sa permita o diagnosticare cat mai corecta si precoce a cazurilor de LMNH la copil.
2. Alegerea protocolului terapeutic adecvat si adaptarea acestuia in functie de grupa de risc in care a fost incadrat pacientul.

**Scopul** acestei teze este:

1. Ameliorarea evolutiei si prognosticului LMNH la copil, cu imbunatatirea ratei de supravietuire pe termen lung.
2. Reducerea complicatiilor acute si tardive ale regimurilor terapeutice actuale

## **MATERIAL si METODA**

In perioada 1 ianuarie 2000 – 31 decembrie 2005 au fost internati in Clinica de Pediatrie a Institutului Clinic Fundeni 50 de copii diagnosticati cu LMNH. In functie de tipul histopatologic si imunofenotipul celular, cazurile au fost impartite in 2 loturi, notate A si B. Lotul A, in care au fost incluse tipurile de LMNH limfoblastic cu precursori B si T si LMNH anaplastic, a beneficiat de Protocolul LNH-BFM 90. Lotul B, in care au fost incadrate LMNH tip Burkitt si cele cu celula mare B, a beneficiat de Protocolul FAB LMB 96. Lotul A a cuprins 28 de pacienti, in timp ce lotul B 22 de pacienti.

Am efectuat un studiu de tip retrospectiv, avand ca sursa de documentare foaia de observatie clinica.

S-a analizat fiecare caz din punct de vedere al urmatoarelor parametrii:

- localizarea primara la debut (ganglionar, mediastinal, abdominal, cutanat, osos, craniocervical, renal, tesut limfatic Waldeyer, SNC)
- prezenta altor modificari clinice evidentiate la examenul obiectiv
- corelarea rezultatelor histopatologice cu cele imunohistochimice
- factorii de risc asociati: varsta, sex, tabloul hematologic periferic, valoarea LDH, afectarea maduvei osoase sau SNC la debut, stadializarea.
- evolutia si complicatiile aparute in cursul acesteia (supravietuirea la 1 an, 3 ani si  $\geq 5$  ani).

Incadrarea cazurilor pe grupe de risc s-a efectuat conform criteriilor internationale, iar schemele de chimioterapie aplicate au corespuns acestor grade de risc.

Prin datele consemnate la reinternari am apreciat:

- raspunsul la tratament (evaluat ca: remisiune completa sau partiala, refractar, non-responsiv)
- aparitia recaderilor si
- complicatiile legate de boala sau de tratament.

Informatiile obtinute, precum si concluziile asupra rezultatelor acestor corelatii au fost introduse intr-o baza de date care a fost folosita in prelucrarea statistica a lotului studiat din punct de vedere:

- descriptiv: incidenta si prevalenta factorilor si evenimentelor studiate
- al semnificatiei statistice a diferitilor factori de risc independenti sau asociati, suspicionati a avea valoare prognostica in ceea ce priveste supravietuirea globala

Rezultatele obtinute au fost prelucrate statistic conform programului SPSS 15.0  
Ambele loturi au urmat aceleasi etape de analiza clinica si paraclinica.

## REZULTATE

### 1. Caracteristici generale ale celor doua loturi

**Varsta la diagnosticare** a pacientilor inclusi in studiu a variat intre 3,42 ani (valoarea minima) si 17,25 ani (valoarea maxima), inregistrand o valoare medie de 10,82 ani, cea mai frecventa valoare a varstei la diagnosticare fiind de 8,33 ani.

In ceea ce priveste repartitia pe **grupe de varsta**, in ambele loturi s-a inregistrat o majoritate a pacientilor cu varste peste 5 ani: 89,3% in lotul BFM'90 si respectiv de 81,8% in lotul LMB'96 (diferente nesemnificative statistic  $\chi^2 = 0.571$ ,  $p = 0.450$ ).

**Structura pe sexe** a aratat o preponderenta masculina in ambele loturi: 67,9% in lotul BFM'90 si respectiv 72,7% in lotul LMB'96, in timp ce sexul feminin a fost minoritar: 32,1% in lotul BFM'90, respectiv 27,3% in lotul LMB'96 (diferente nesemnificative statistic  $\chi^2 = 0.139$ ,  $p = 0.709$ ). Pertotal raportul masculin – feminin al pacientilor inclusi in studiu (7/3) nu este semnificativ diferit fata de cel al intregii populatii de pacienti cu limfoame nonHodgkiniene citat in literatura (3/1) – test binomial  $p = 0,388$ ).

**Mediul de provenienta** al pacientilor a fost in cele mai multe cazuri cel urban: 71,4% in lotul BFM'90, respectiv 63,6% in lotul LMB'96.

**Intervalul debut – diagnostic** a inregistrat valori intre 7 zile (valoarea minima) si 720 (valoarea maxima), avand o valoare medie de 59,86 zile cu o deviatie standard de 106,092, cel mai frecvent intre debutul simptomatologiei si diagnosticarea afectiunii existand un interval de 30 de zile.

### 2. Manifestari la debut

Cea mai frecventa manifestare la debut a fost adenopatia, prezenta in total la jumatate din pacientii inclusi in studiu, urmata de compromiterea cailor respiratorii superioare, prezenta la 22% din cazuri, apoi de manifestarile abdominale, prezente la 14% din cazuri, si de manifestarile osoase, prezente la 6% din cazuri. Sindromul de vena cava superioara, manifestarile cervicale, renale sau cele cutanate la debutul bolii, au fost intalnite cu o frecventa mai mica (respectiv 4% pentru fiecare).

### 3. Examenul obiectiv

Cel mai frecvent, examenul clinic obiectiv a aratat prezenta adenopatiilor periferice, 72% din totalul pacientilor prezentind acest semn clinic, marea lor majoritate (38%) fiind constatate la pacientii lotului LMB'96, restul (34%) fiind prezente la pacientii lotului BFM'90. Pe locul doi ca frecventa, hepatosplenomegalia si manifestarile sistemice au fost identificate la examenul obiectiv al pacientilor din studiu, fiecare in proportie totala de 38%. In ordinea descrescatoare a frecventelor observate, la examenul clinic al pacientilor din studiu s-a mai evidentiat: prezenta hipertrofiei amigdalene la 12% din numarul total al cazurilor in proportii statistic similare la cele doua loturi si prezenta pleureziei la 12% din numarul total al cazurilor, toate fiind inregistrate la pacienti apartinand lotului BFM'90. Tumora abdominala palpabila a fost descoperita in 10% din cazuri la examenul obiectiv, in proportii statistic similare la cele doua loturi, in timp ce in numai 6% din totalul cazurilor tumora abdominala a fost descoperita chirurgical, de asemenea in proportii similare la cele doua loturi. Alte manifestari (cutanate, cardiace, renale, osoase) au fost gasite la examenul clinic in proportie totala de 14% , fara diferente statistic semnificative intre cele doua loturi.

#### 4. Rezultate de laborator

**Valoarea hemoglobinei la diagnosticare** a variat între 6,10 g/dl (valoarea minimă) și 15,20 g/dl (valoarea maximă) având o valoare medie de 12,02 g/dl și o deviație standard de 2,21; cel mai frecvent hemoleucograma pacienților din lotul de studiu a arătat o valoare a hemoglobinei de 12,60g/dl. **Valoarea leucocitelor la diagnosticare** a variat între 1600/mm<sup>3</sup> (valoarea minimă) și 70900/mm<sup>3</sup> (valoarea maximă) având o valoare medie de 13575,80 și o deviație standard de 15093,86. Cel mai frecvent hemoleucograma pacienților din studiu a arătat valoarea de 5000 leucocite/mm<sup>3</sup>.

**Valoarea trombocitelor la diagnosticare** a variat între 50000/mm<sup>3</sup> (valoarea minimă) și 745000 /mm<sup>3</sup> (valoarea maximă) având o valoare medie de 316300/mm<sup>3</sup> și o deviație standard de 146745. Cel mai frecvent hemoleucograma pacienților din lotul de studiu a arătat o valoare a trombocitelor de 200000/mm<sup>3</sup>.

**Funcția de coagulare la diagnosticare** a fost în majoritatea cazurilor (96%) normală, anomalii de coagulare fiind consemnate la numai 4% din pacienți care aparțin în totalitate lotului BFM'90.

**Sindromul biologic inflamator** a fost prezent la 58% din pacienți, din care majoritatea (40%) aparțin lotului BFM'90, restul (18%) aparținând lotului LMB'96. **Valoarea vitezei de sedimentare a hematiilor la diagnosticare** a variat între 2mm/h (valoarea minimă) și 130mm/h (valoarea maximă) având o valoare medie de 30mm/h cu o deviație standard de 31,18. Cel mai frecvent, valoarea VSH-ului la pacienții din studiu a fost de 30mm/h. **Valoarea fibrinogenului la diagnosticare** a variat între 192mg/dl (valoarea minimă) și 812mg/dl (valoarea maximă), având o medie de 453 mg/dl cu o deviație standard de 173,781. Cel mai frecvent valoarea fibrinogenului la diagnosticare a fost de 287 mg/dl.

**Funcția hepatică la diagnosticare** a fost în majoritatea cazurilor (96%) normală, atât la pacienții lotului BFM'90 (96,4%) cât și la pacienții lotului LMB'96. **Funcția renală la diagnosticare** a fost în majoritatea cazurilor (96%) normală atât la pacienții lotului BFM'90 (54%) cât și la pacienții lotului LMB'96 (42%) (95,5%). Comparând mediile valorilor LDH la diagnosticare obținute de pacienții celor două loturi de studiu, care au fost de 1045,64U/L la pacienții lotului BFM'90 (min = 369U/L, max = 3566 U/L, dev.std = 736,89) și respectiv de 801,36 U/L la pacienții lotului LMB'96 (min = 180U/L, max = 2250 U/L, dev.std = 444,984). În schimb, comparând proporțiile în care valorile crescute ale LDH la diagnosticare au fost înregistrate la pacienții celor două loturi, s-au observat diferențe statistice semnificative ( $\chi^2 = 7,380$ ,  $p = 0,007$ ), pacienții lotului BFM'90 prezentând de aproximativ două ori mai frecvent valori crescute ale LDH față de cei ai lotului LMB'96.

**Aspectul maduvei osoase la diagnosticare** a fost în majoritatea cazurilor (82%) normal. Doar 2 pacienți (4%), toți aparținând lotului BFM'90, au prezentat mai puțin de 25% blasti atipici la examinarea maduvei osoase, în timp ce 7 pacienți (14%), din care, 4 pacienți (8%) aparțin lotului BFM'90 și 3 pacienți (6%) aparțin lotului LMB'96, au prezentat o maduva osoasă conținând peste 25% blasti atipici.

**Aspectul lichidului cefalorahidian la diagnosticare** a fost în majoritatea cazurilor (98%) unul normal, prezenta blastilor atipici fiind consemnată în LCR la un singur pacient, care aparține lotului BFM'90

#### 5. Clasificarea histopatologică, fenotipică și stadializarea

Cel mai frecvent tip histopatologic de limfom prezentat de pacienții studiați a fost tipul limfoblastic în proporție de 52% din totalitatea cazurilor, urmat la egalitate de procente de tipul Burkitt și cel cu celula mare B, în proporție de 22% din totalul cazurilor. Din totalul celor 50 de pacienți studiați, 30 de pacienți, reprezentând 60% din total, au prezentat limfoame cu fenotip B, iar 20 de pacienți, reprezentând 40% din total, au prezentat limfoame cu fenotip T.

In ceea ce priveste stadializarea limfoamelor, cel mai frecvent pacientii studiatii au prezentat stadii avansate de evolutie a limfoamelor, stadiile III si IV fiind fiecare prezente in proportie de 32% din total; stadii incipiente de evolutie (std. I) au fost semnalate doar in 8% din totalul cazurilor.

## 6. Raspunsul terapeutic

**Raspunsul la tratament** al pacientilor studiatii a fost in majoritatea cazurilor unul favorabil, in 84% din cazuri acesta ducand la obtinerea unui remisiuni complete a bolii, 10% din totalul pacientilor intrand in remisiune partiala si numai 2% dintre ei neavand raspuns terapeutic.

Analizand comparativ raspunsul terapeutic la cele doua loturi de pacienti s-a observat ca, din totalul cazurilor de remisiune completa, 48% s-au inregistrat la pacientii lotului BFM'90, restul de 36% fiind consemnate la pacientii lotului LMB'96, iar din totalul cazurilor de remisiune partiala 4% au fost inregistrate la pacientii lotului BFM'90 iar 6% la pacientii lotului LMB'96; totalitatea cazurilor fara raspuns terapeutic au fost inregistrate in lotul BFM'90, diferente ce nu sunt statistic semnificative ( $\chi^2 = 1,357$ ;  $p = 0,716$ ), cele doua loturi nediferind semnificativ din punct de vedere al raspunsului la tratament.

**Recaderile** s-au inregistrat la 40% din numarul total al pacientilor, in proportii similare in cele doua loturi de studiu: 22% in lotul BFM'90 si respectiv 18% in lotul LMB'96. **Recaderile locale** au fost consemnate la 24% din totalitatea pacientilor, 18% dintre acestia apartinand lotului BFM'90 iar 6% apartinand lotului LMB'96. **Recaderi la nivelul sistemului nervos central** s-au inregistrat in 16% din numarul total de cazuri, 10% dintre acestea fiind la pacientii lotului BFM'90 iar 6% fiind la pacientii lotului LMB'96. **Recaderile la nivelul maduvei osoase** au fost inregistrate in intregime numai la pacientii lotului BFM'90, in proportie de 14%

## 7. Complicatii

**Aplazia post chimioterapie** s-a inregistrat in 80% din cazuri, ea fiind la fel de frecventa atat la pacientii lotului BFM'90, la care a aparut in proportie de 85,7%, cat si la pacientii lotului LMB'96, la care a aparut in proportie de 72,7%. In 20% din cazuri tratamentul aplicat s-a soldat cu **complicatii toxice**, 14% din pacientii lotului BFM'90 si respectiv 6% din pacientii lotului LMB'96 prezentand astfel de complicatii. In 14% din cazuri tratamentul aplicat s-a soldat cu **complicatii infectioase**, 10% din pacientii lotului BFM'90 si respectiv 4% din pacientii lotului LMB'96 prezentand astfel de complicatii. Numai 2% dintre pacienti au dezvoltat **a doua malignitate** postchimioterapie, acestia apartinand in intregime lotului BFM'90. In ceea ce priveste **complicatiile legate de boala**, 20% din pacienti au prezentat complicatii **neurologice** (14% in lotul BFM'90 si 6% in lotul LMB'96); 8% au prezentat complicatii **renale** (4% in fiecare lot), 14% prezentand tulburari de deglutitie, insuficienta cardiaca, insuficienta respiratorie, casexie sau dureri osoase (8% in lotul BFM'90 iar 6% in lotul LMB'96).

## 8. Supravietuirea

La pacientii lotului BFM'90 durata medie de supravietuire a fost de 45,32 luni, variind intre 5 luni (valoarea minima) si 96 luni (valoarea maxima) cu o deviatie standard de 32,25, iar la pacientii lotului LMB'96 durata medie de supravietuire fiind de 39,64 luni cu o variatie intre 8 luni (valoarea minima) si 102 luni (valoarea maxima). Supravietuirea pacientilor din studiu a fost de 66%, numarul pacientilor decedati fiind de aproximativ doua ori mai mic decat al supravietuitorilor.

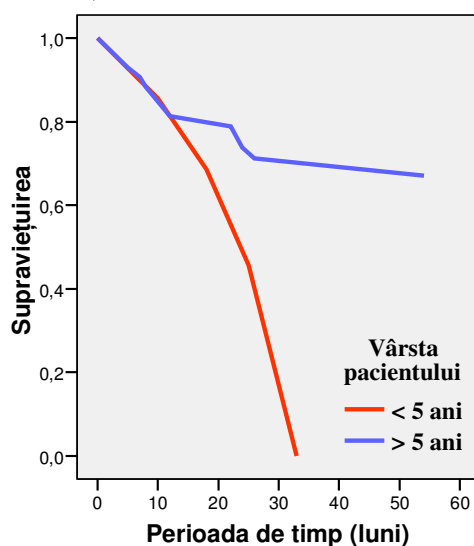
In lotul BFM' 90 supravietuirea pacientilor a fost de 64,3% iar in lotul LMB'96 supravietuirea a fost de 68,2%, numarul pacientilor decedati fiind in ambele loturi de aproximativ doua ori mai mic decat al supravietuitorilor. 47% dintre decese au survenit la mai putin de un an de la diagnosticare, fiind considerate decese precoce; dintre acestea 29% au fost consemnate la pacientii lotului BFM'90 iar

restul de 18% fiind consemnate la pacienții lotului LMB'96. În 24% din cazuri decesele au fost consecința complicațiilor toxice ale tratamentului, acestea fiind consemnate în proporții asemănătoare la pacienții celor două loturi, respectiv 12%, în timp ce în majoritatea cazurilor (76% din totalul deceselor) acestea s-au datorat bolii, 47% fiind consemnate la pacienții lotului BFM'90 iar restul de 29% fiind consemnate la pacienții lotului LMB'96.

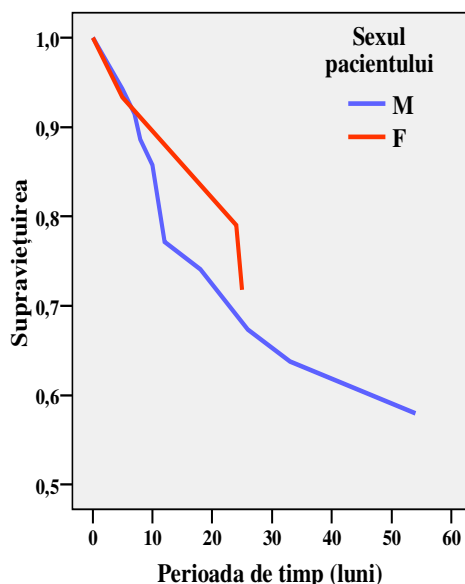
Cel mai mare procent de supraviețuitori s-a înregistrat în rândul pacienților cu limfom Burkitt (81,8%), procentul acestora fiind de 65,4% la pacienții cu limfom limfoblastic, de 54,5% la pacienții cu limfom cu celula mare B și de 50% la cei cu limfom cu celula anaplastică.

## ANALIZA PREDICTORILOR SUPRAVIEȚUIRII LA PACIENȚII ÎNROLAȚI ÎN STUDIU.

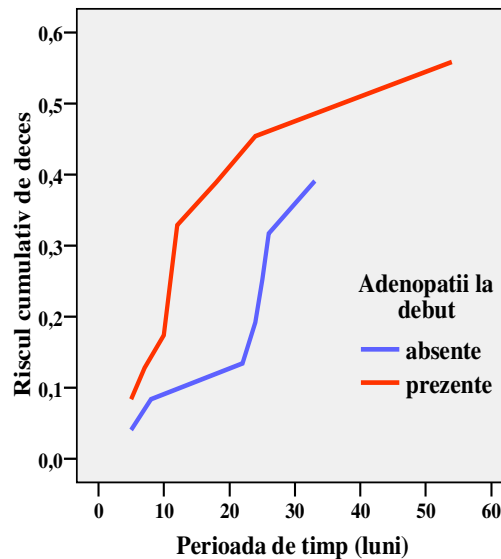
Probabilitatea de deces a pacienților cu **varste sub 5 ani la diagnosticare** este de 2.792 ori mai mare decât cea a celor cu varste peste 5 ani la diagnosticare [ $B = 1,027$ ,  $Wald = 2,818$ ,  $p = 0.093$ ,  $Exp(B) = 2.792$ , 95% CI = (0.842, 9,257)]



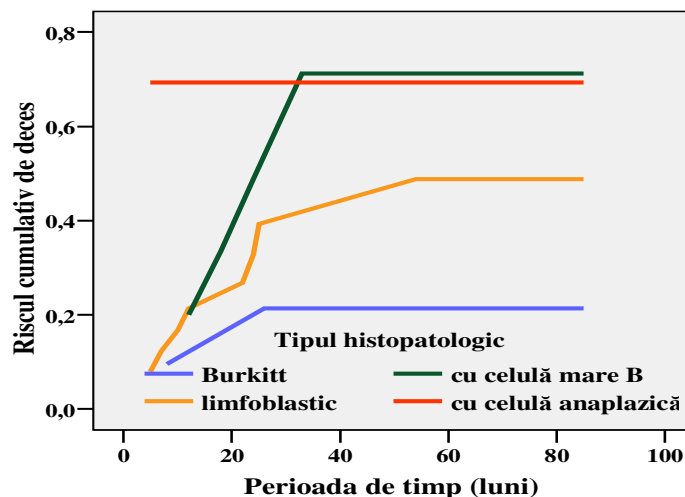
Probabilitatea de deces a **pacienților de sex masculin** este de 1,705 ori mai mare decât cea a pacienților de sex feminin [ $B = 0,534$ ,  $Wald = 0,851$ ,  $p = 0.356$ ,  $Exp(B) = 1,705$ , 95% CI = (0.549, 5,301)]



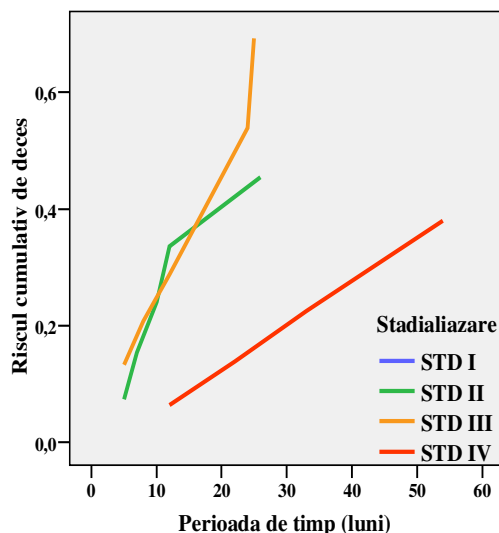
Probabilitatea de deces a pacientilor ce prezinta **debut prin adenopatii** este de 6,922 ori mai mare fata de a pacinetilor la care adenopatiile lipsesc la debut [B= 1,935, Wald = 2,052, p = 0.152, Exp(B) = 6,922, 95% CI = (0.490, 97,724)]



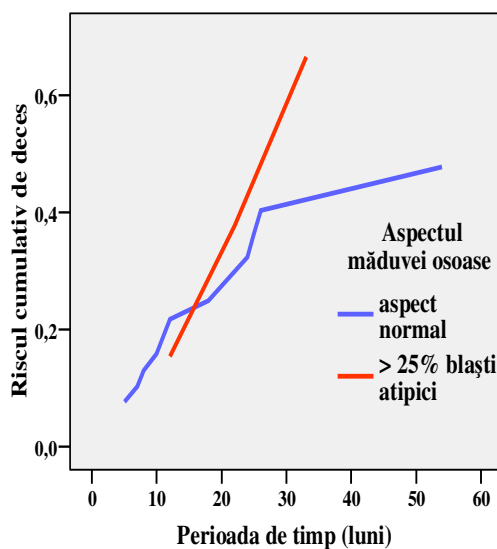
Pacientii cu **manifestari osoase la debut** au o probabilitate de deces de 12,398 ori mai mare decat a celor ce nu prezinta astfel de manifestari la debut. [B= 2,518, Wald = 2,630, p = 0.105, Exp(B) = 12,398, 95% CI = (0.591, 259,913)], in timp ce pacientii cu **manifestari abdominale la debut** au o probailitate de deces de 9,553 ori mai mare decat a celor fara astfel de manifestari [B= 2,257 Wald = 2,165, p = 0.677, Exp(B) = 0,141, 95% CI = (0,473, 193,131)]. Pacientii cu **manifestari renale la debut** au o probabilitate de risc de 8,837 ori mai mare comparativ cu cei la care acestea lipsesc [B= 2,179, Wald = 1,390, p = 0.238, Exp(B) = 8,837 95% CI = (0,236, 330,57)]. Pacientii ce **prezinta hepatosplenomegalie la debut** au o probabilitate de deces de 2,608 ori mai mare fata de cei la care ficatul si splina au dimensiuni normale la debut. [B= 0,959 Wald = 3,046, p = 0.081, Exp(B) = 2,608, 95% CI = (0,889, 7,652)]. Comparativ cu pacientii cu limfom tip Burkitt, cei cu **limfom cu celula mare B** au o probabilitate de deces de 3,492 ori mai mare [B = 1,250, Wald = 2,155, p = 0.142, Exp(B) = 3,492, 95% CI = (0.658, 18,540)], cei cu **limfom limfoblastic** au o probabilitate de deces de 3,119 ori mai mare [B = 1,138, Wald = 1,703, p = 0.192, Exp(B) = 3,119, 95% CI = (0,565, 17,222)], iar cei cu **limfom cu celua anaplazica** au o probabilitate de deces de 9,803 ori mai mare. [B= 2,283, Wald = 2,366, p = 0,124, Exp(B) = 9,803, 95% CI = (0.535, 179,673)]



Comparativ cu pacienti aflat i n stadiul I de evolu tie, pacienti aflat i n **stadiul II** au o probabilitate de deces de 1,983 ori mai mare [ $B = 0,685$ ,  $Wald = 0,345$ ,  $p = 0,552$ ,  $Exp(B) = 1,983$ ,  $95\% \text{ CI} = (0,208, 18,895)$ ], iar cei **in stadiul III** au o probabilitate de deces de 4,458 ori mai mare [ $B = 1,495$ ,  $Wald = 1,612$ ,  $p = 0,204$ ,  $Exp(B) = 4,458$ ,  $95\% \text{ CI} = (0,444, 44,790)$ ]

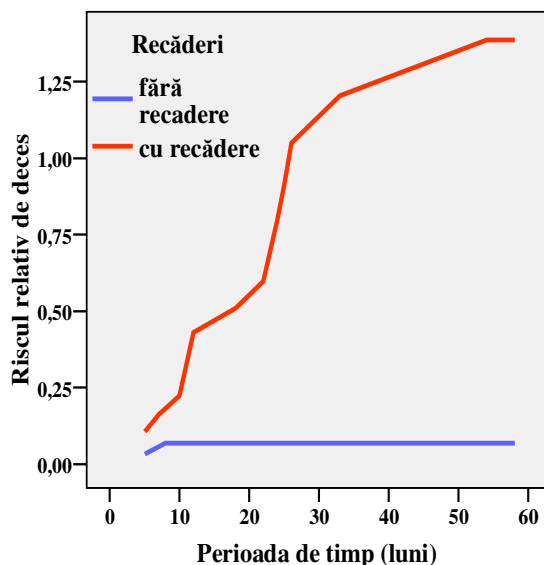


Pacienti cu **peste 25% blasti atipici in maduva oasoasa la debut** au o probabilitate de deces de 2,076 ori mai mare decat cei fara blasti atipici decelati la examinarea maduvei osoase [ $B = 0,731$ ,  $Wald = 0,431$ ,  $p = 0,511$ ,  $Exp(B) = 2,076$ ,  $95\% \text{ CI} = (0,235, 18,371)$ ]

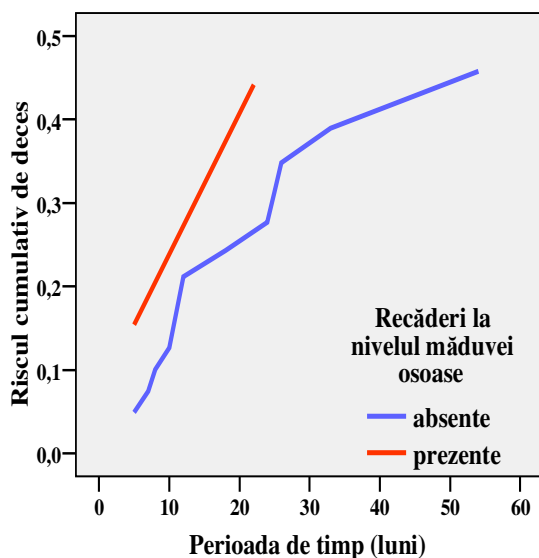


Probabilitatea de deces a **pacientilor la care nu s-a efectuat transplant de celule stem hematopoetice** este de 2,110 ori mai mare decat a pacientilor la care acesta s-a efectuat. [ $B = 0,747$ ,  $Wald = 0,962$ ,  $p = 0,327$ ,  $Exp(B) = 2,110$ ,  $95\% \text{ CI} = (0,474, 9,381)$ ]

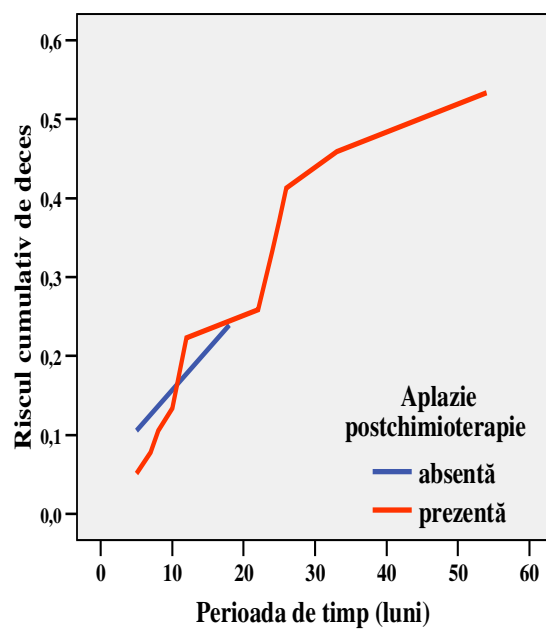
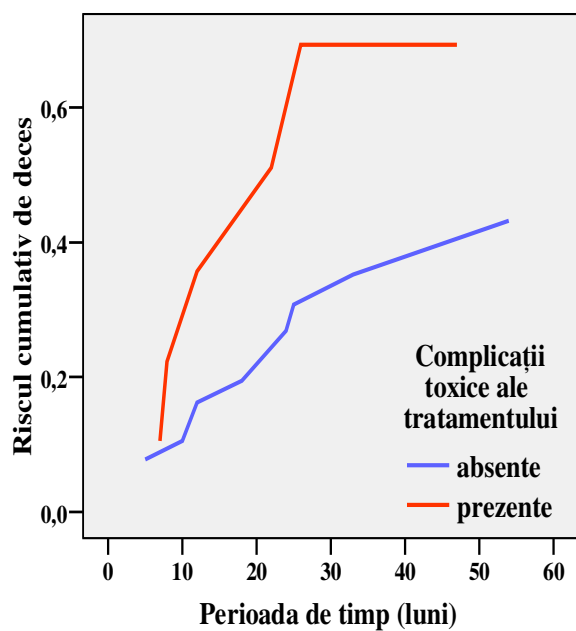
Pacientii care au **recăderi** au o probabilitate de deces de 14,468 ori mai mare decat cea a pacientilor fara recaderi. [ $B = 2,672$ ,  $Wald = 11,827$ ,  $p = 0.001$ ,  $Exp(B) = 14,468$ ,  $95\% CI = (3,155; 66,334)$ ].



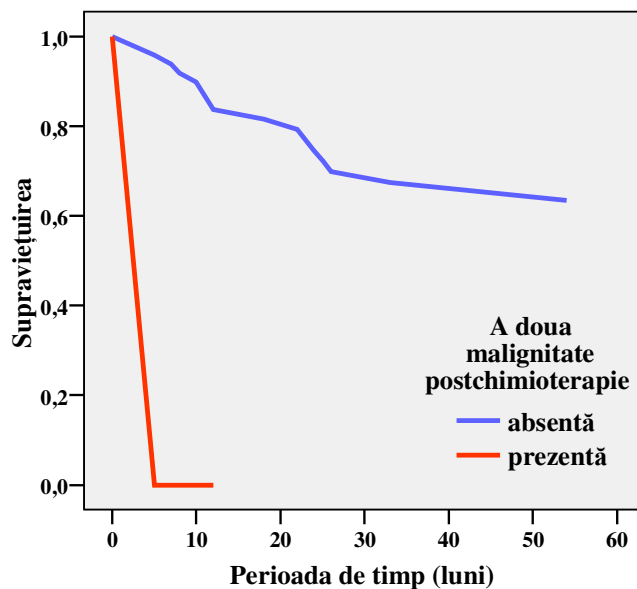
Pacientii cu **recăderi la nivelul măduvei osoase** au o probabilitate de deces de 5,474 ori mai mare decat la pacientii care nu prezinta acest tip de recaderi.[ $B = 1,700$ ,  $Wald = 1,708$ ,  $p = 0.191$ ,  $Exp(B) = 5,474$ ,  $95\% CI = (0.428, 70,053)$ ].



Prezenta **complicațiilor toxice ale tratamentului** determina o crestere a probabilitatii de deces a pacientilor de 2,662 ori [ $B = 0,979$ ,  $Wald = 0,402$ ,  $p = 0.526$ ,  $Exp(B) = 2,662$ ;  $95\% CI = (0.129, 54,940)$ ], in timp ce prezenta **aplaziei postchimioterapie** determina o crestere a probabilitatii de deces de 2,359 ori [ $B = 0,858$ ,  $Wald = 0,203$ ,  $p = 0.652$ ,  $Exp(B) = 2,359$ ;  $95\% CI = (0.056, 98,748)$ ].



Prezența celei de **a doua malignități postchimioterapie** determina o creștere a probabilității de deces de 64,853 ori [ $B = 4,172$ ,  $Wald = 7,068$ ,  $p = 0,008$ ,  $Exp(B) = 64,853$ ,  $95\% CI = (2,993, 1405,229)$ ]

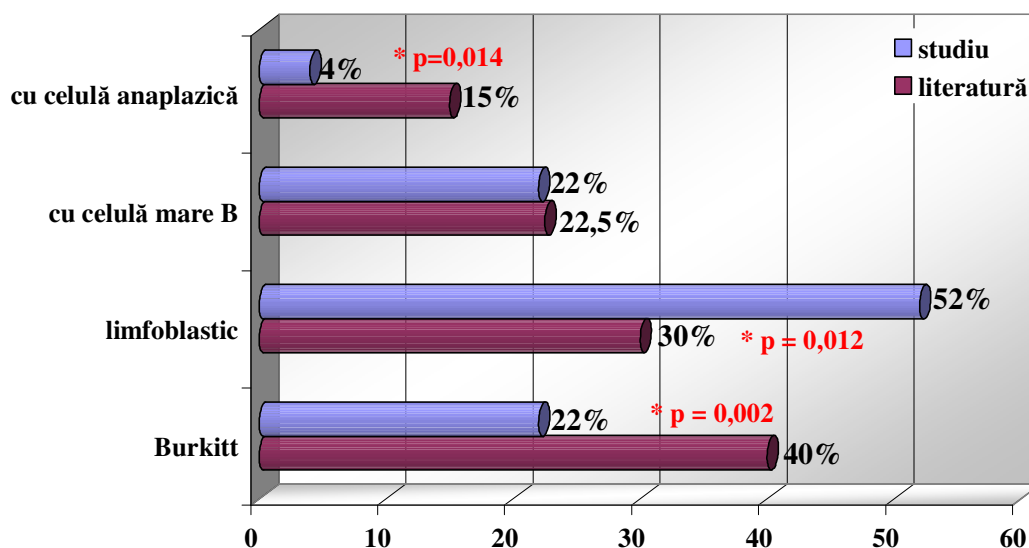


## DISCUTII

Cel mai frecvent tip histopatologic de limfom a fost cel limfoblastic, prezent la 52% din pacienti, urmat de limfoamele tip Burkitt si cu celula mare B, ambele prezente in proportie de 22% fiecare, cel mai rar tip de limfom fiind cel cu celula anaplastică, ce a fost prezent la numai 4% din pacienti.

Fata de datele citate in literatura de specialitate, proportia limfoamelor limfoblastice a fost statistic semnificativ mai mare la pacientii studiati (52% fata de 30%, test binomial:  $p = 0,012$ ), iar proportia limfoamelor Burkitt si a celor cu celula anaplastică a fost statistic semnificativ mai mica (22% fata de 30-50%, test binomial:  $p = 0,002$  si respectiv 4% fata de 15%, test binomial:  $p = 0,014$ ), in schimb proportia limfoamelor cu celula mare B nu a diferit statistic semnificativ fata de cea citata in literatura de specialitate (22% fata de 20 -25%, test binomial:  $p = 0,262$ ).

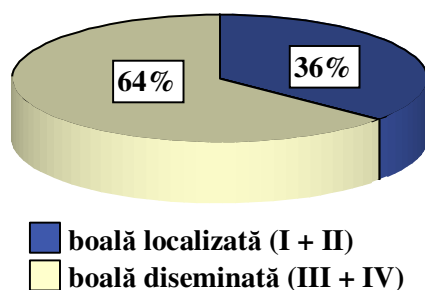
### Incidența limfoamelor

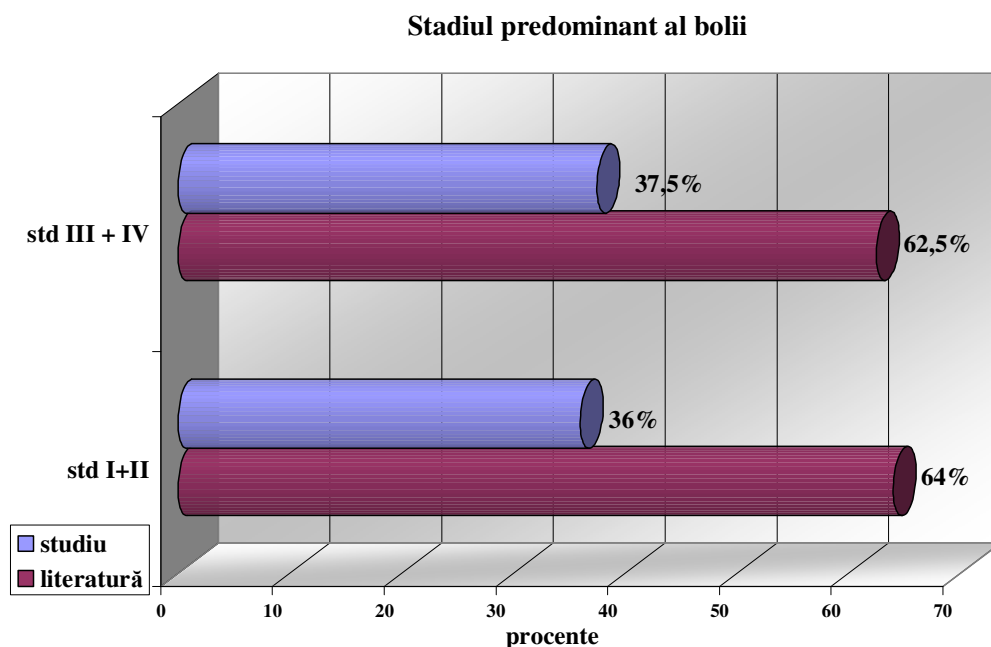


Formele de boala diseminata (stadiile III si IV) au fost predominante, acestea fiind prezente in 64% din cazuri, in timp ce formele localizate de boala au fost prezente in 36% din cazuri.

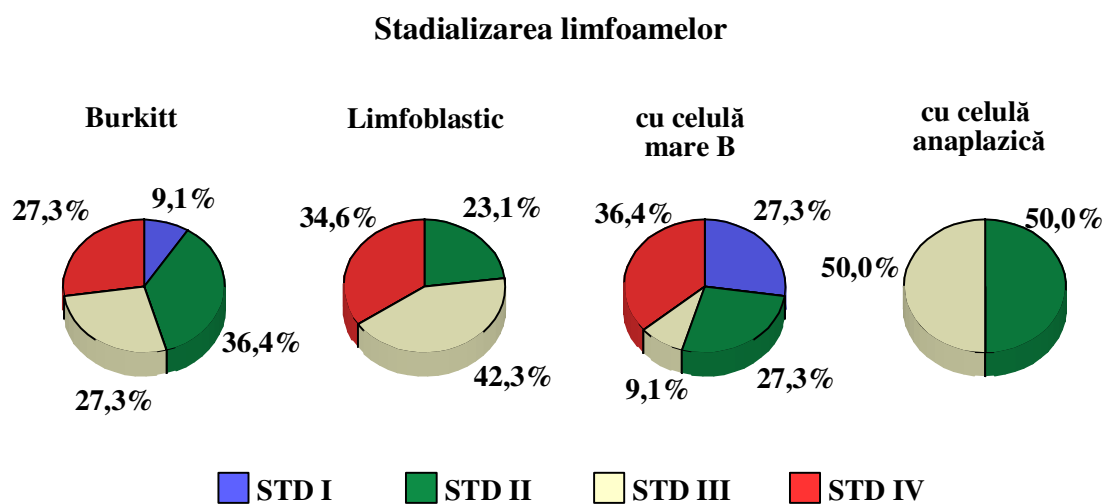
Proportia formelor de boala intalnita la pacientii inclusi in studiu nu difera statistic semnificativ de proportia in care acestea sunt citate in literatura (35-40% forme de boala localizata si respectiv 60 – 65% forme diseminate de boala) – test binomial ,  $p = 0,336$ .

### Stadializarea bolii



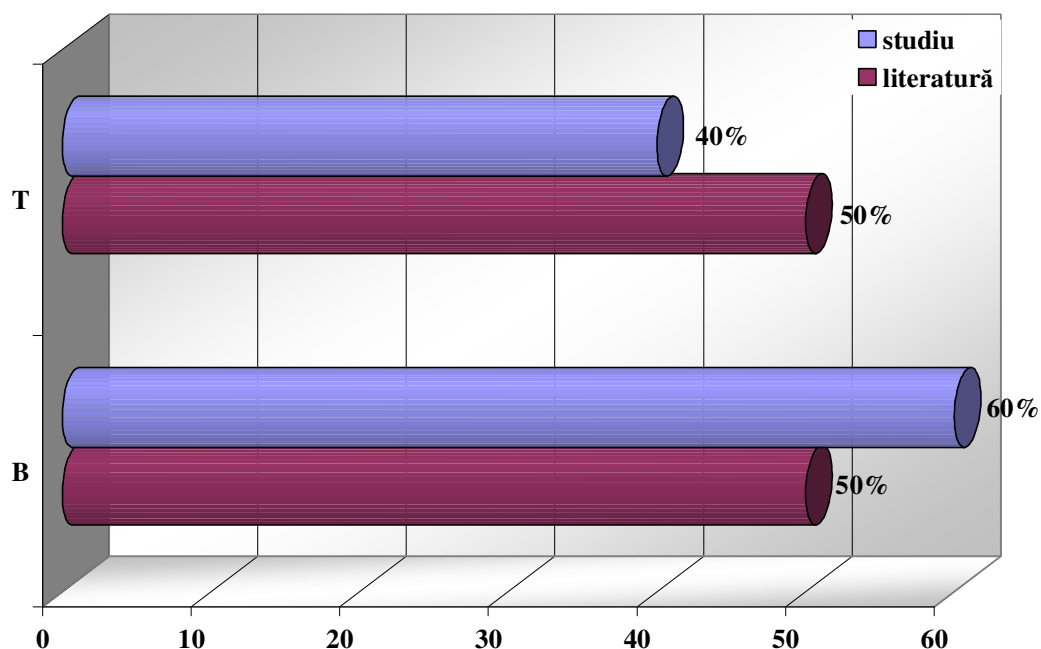


Stadiul predominant al bolii in randul pacientilor cu limfoame tip Burkitt a fost stadiul II (in proportie de 36,4%), in randul pacientilor cu limfoame limfoablastice a fost stadiul III ( in proportie de 42,3%), in randul pacientilor cu limfoame cu celula mare B a fost stadiul IV (in proportie de 36,4%) iar in randul pacientilor cu limfoame cu celula anaplazica stadiile II si III au fost inregistrate in proportii similare (50%), diferente cu nu sunt statistic semnificative ( $\chi^2 = 11,996$ ,  $p = 0.214$ )

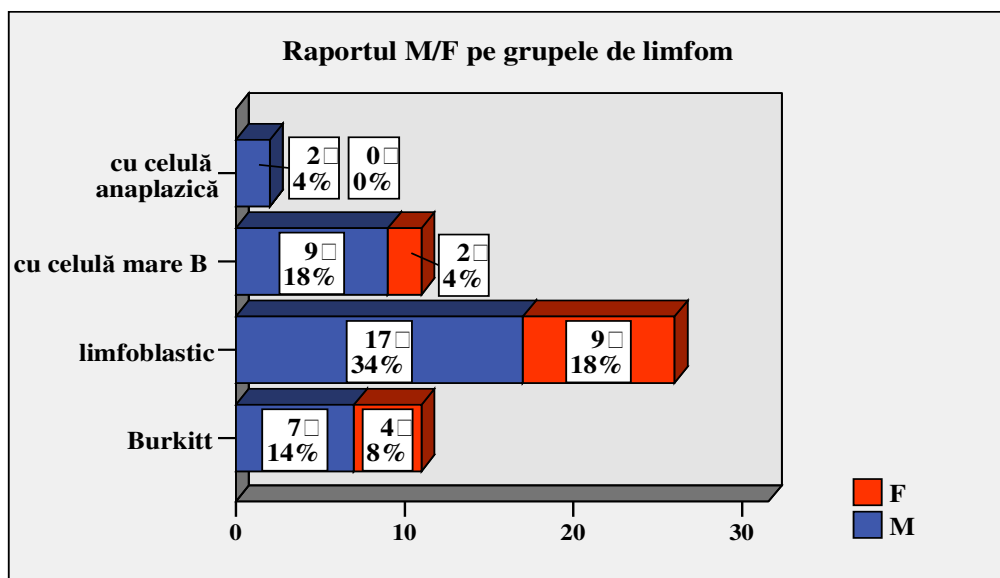


In 60% din cazuri limfoamele au prezentat fenotip B iar in 40% prezentand fenotip T, proportii statistic asemanatoare celor citate in literatura de specialitate (test binomial:  $p = 0,322$ ).

### Fenotipul limfoamelor

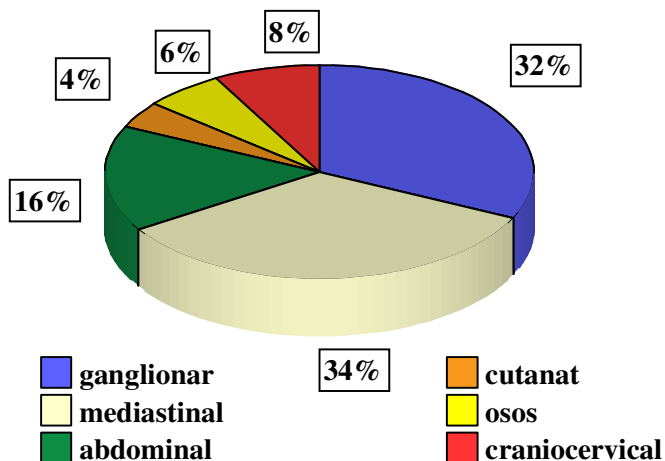


Raportul M/F la pacienții cu limfoame Burkitt a fost de 1,75/1, iar la pacienții cu limfoame limfoblastice a fost de 1,88, valori ce nu diferă statistic semnificativ de cele citate în literatura de specialitate (test binomial  $p_B = 0,401$  și respectiv  $p_{Lb1} = 0,547$ ).

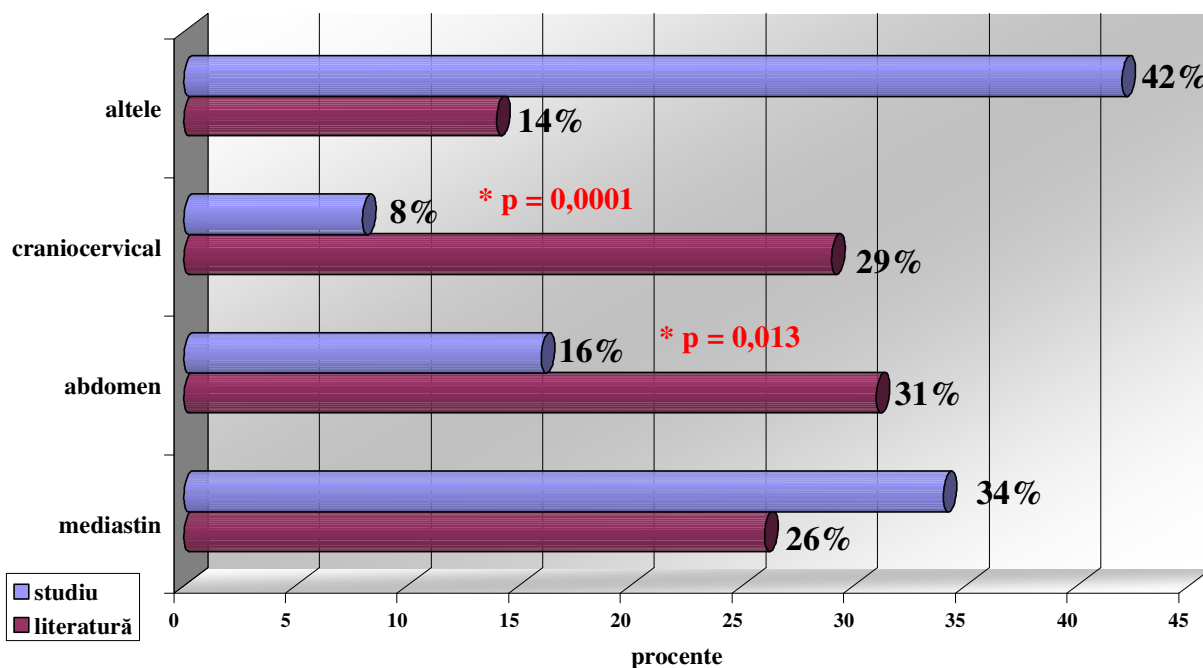


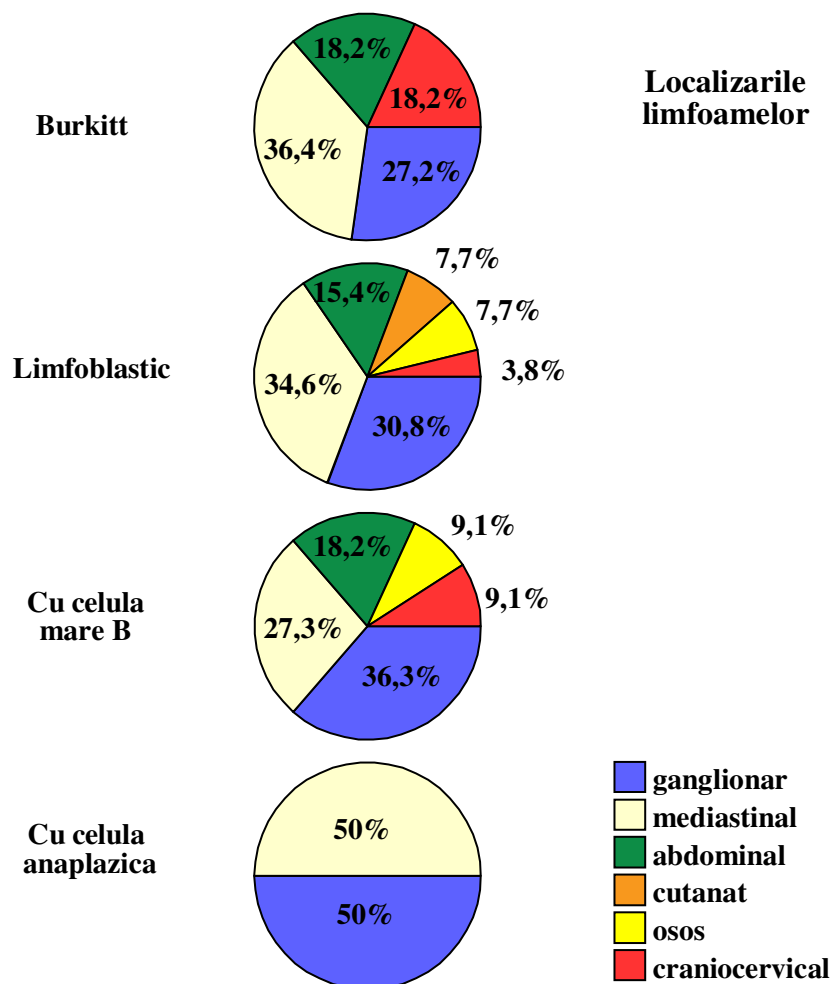
Cele mai frecvente localizări ale limfoamelor au fost cele mediastinale (34%) și ganglionare (32%), localizarea abdominală fiind prezentă în 16% din cazuri, celelalte localizări fiind identificate la un număr mic de cazuri: 8% pentru localizarea craniocervicală, 6% pentru cea osoasă și de 4% pentru cea cutanată. Spre deosebire de datele citate în literatura de specialitate, la pacienții din studiu localizările abdominală și respectiv craniocervicală au fost mai puțin frecvente (16% față de 31% și respectiv 8% față de 29% - diferențe statistice semnificative: test binomial  $p_a = 0.013$ ,  $p_{cc} = 0.0001$ ). Localizarea mediastinală a limfoamelor a fost întâlnită la pacienții din studiu în proporție statistic similară celei citate în literatura de specialitate. (34% față de 26%, test binomial  $p = 0.131$ ).

### Localizările limfoamelor



### Localizarea primară predominantă

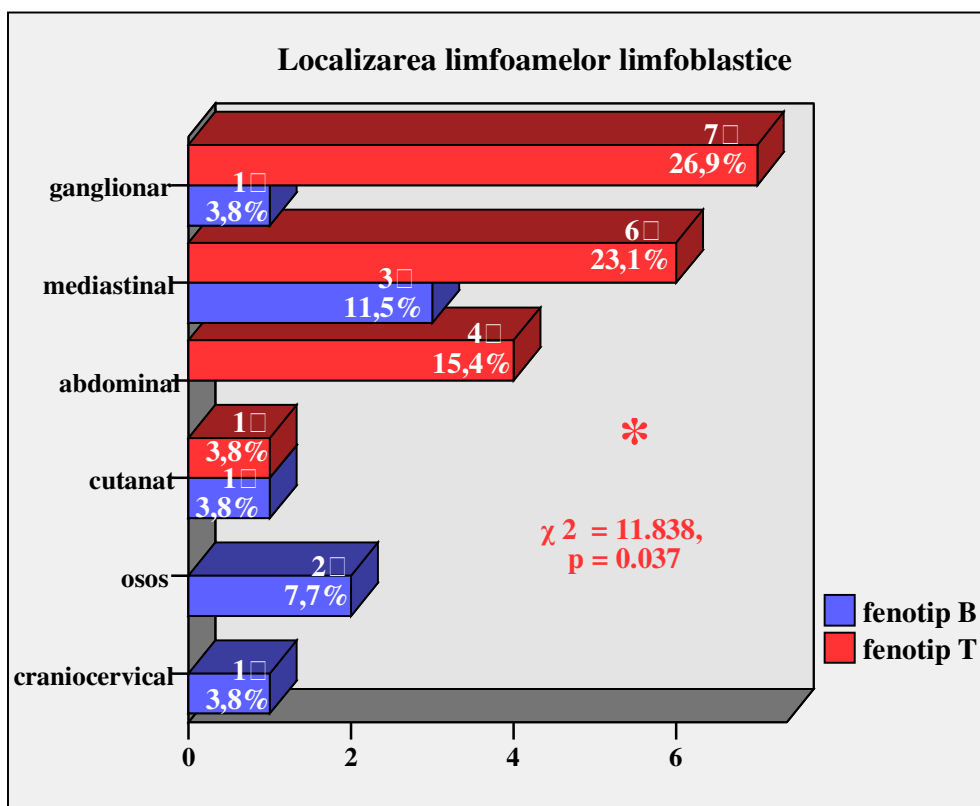




Localizarea limfoamelor Burkitt a fost in cele mai multe cazuri mediastinala (36,4%) in timp de localizarea abdominala (citata in literatura de specialitate cu o frecventa de 70%-90%) a fost prezenta numai la 18,2% din totalul pacientilor cu limfom Burkitt.

In cazul pacientilor cu limfoame limfoblastice, cea mai frecventa localizare la debut a fost cea mediastinala, prezenta in 34,6% din cazuri, urmata de cea ganglionara, prezenta in 30,8% din cazuri si cea abdominala, prezenta in 15,4% din cazuri; celelalte localizari au fost prezente in proportii reduse: 7,7% pentru cea osoasa si 3,8% pentru cea cutanata si respectiv craniocervicala.

Comparand proportia diferitelor localizari ale limfoamelor limfoblastice pe fenotipuri s-a remarcat ca in randul pacientilor cu fenotip T s-a inregistrat majoritatea localizarilor mediastinale (23,1%) si ganglionare (26,9%) precum si totalitatea localizarilor abdominale (15,4%), in timp ce in randul pacientilor cu fenotip B s-a inregistrat totalitatea localizarilor osoase (7,7%) si craniocervicale (3,8%), diferente ce sunt statistic semnificative ( $\chi^2 = 11,838$ ,  $p = 0.037$ ).

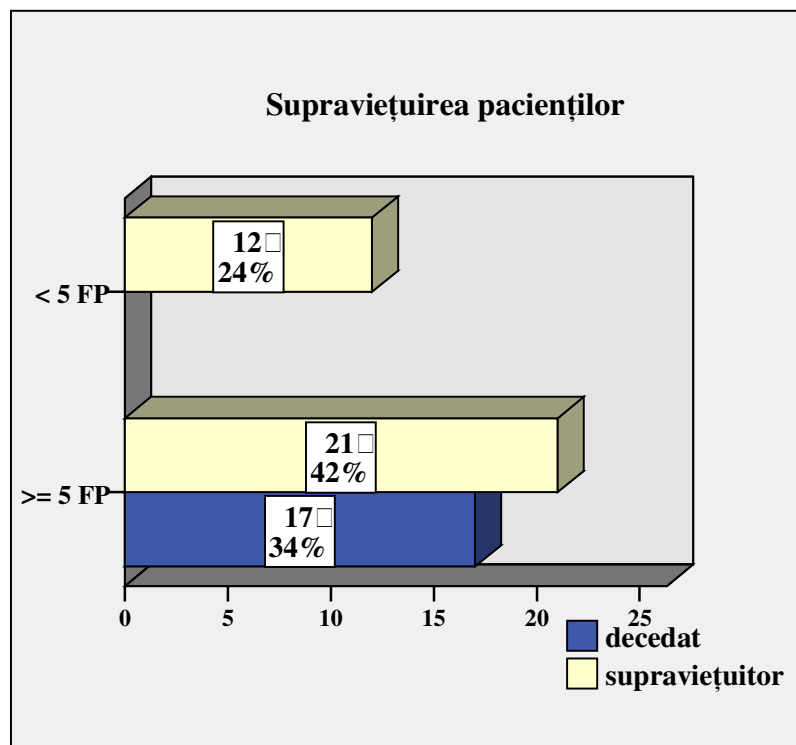
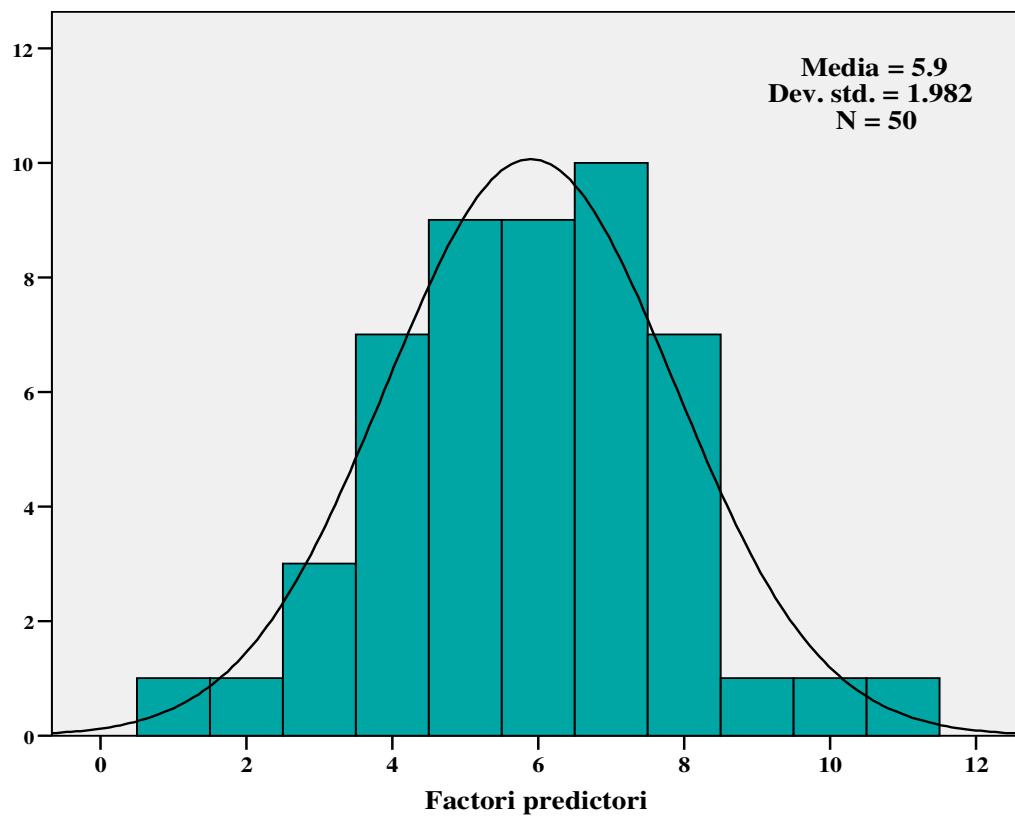


Limfoamele cu celula mare B au avut au fost cel mai frecvent localizate la nivel ganglionar (in proportie de 36,3%) si mediastinal (in proportie de 27,3%), localizarea abdominala fiind prezenta in proportie de 18,2% iar cea osoasa si respectiv craniocervicala fiind prezente in proportii egale de 9,1%.

Din cele doua cazuri de limfom cu celula anaplazica, unul a avut localizare mediastinala iar celalalt localizare ganglionara.

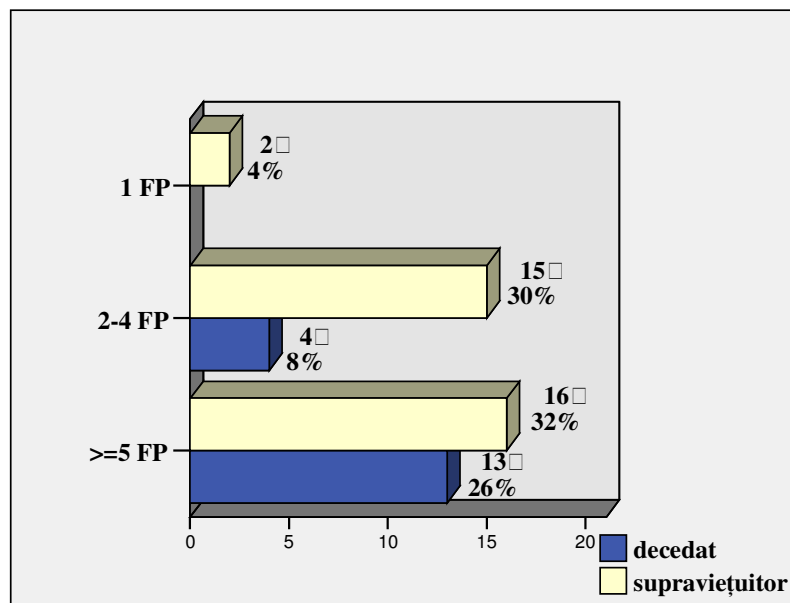
### Factorii predictori

Valoarea medie a factorilor de prognostic prezenti la pacientii din studiu a fost de 5,9, valoarea minima fiind de 1 iar cea maxima fiind de 11, cel mai frecvent pacientii prezentand 7 factori predictori negativi pentru supravietuire (20% din cazuri).



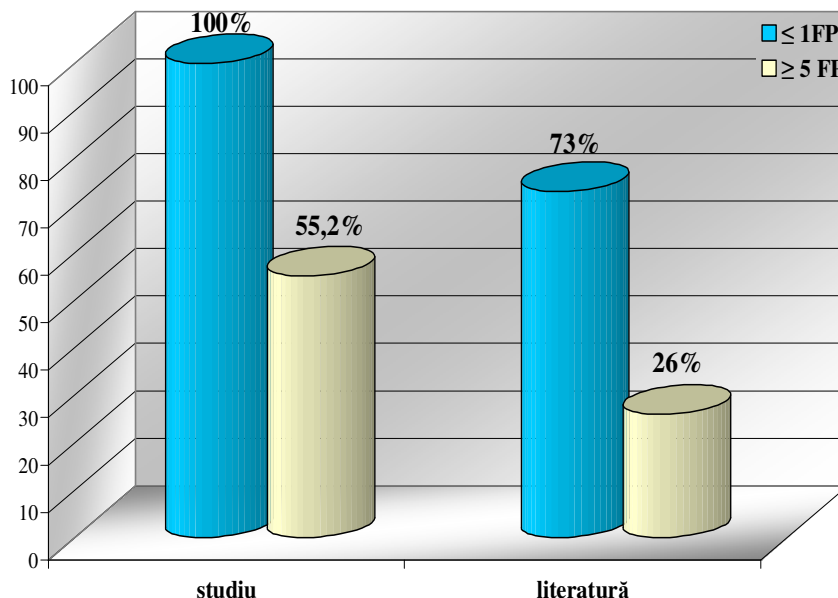
Pertotal supraviețuirea pacienților inclusi în studiu a fost de 66%.

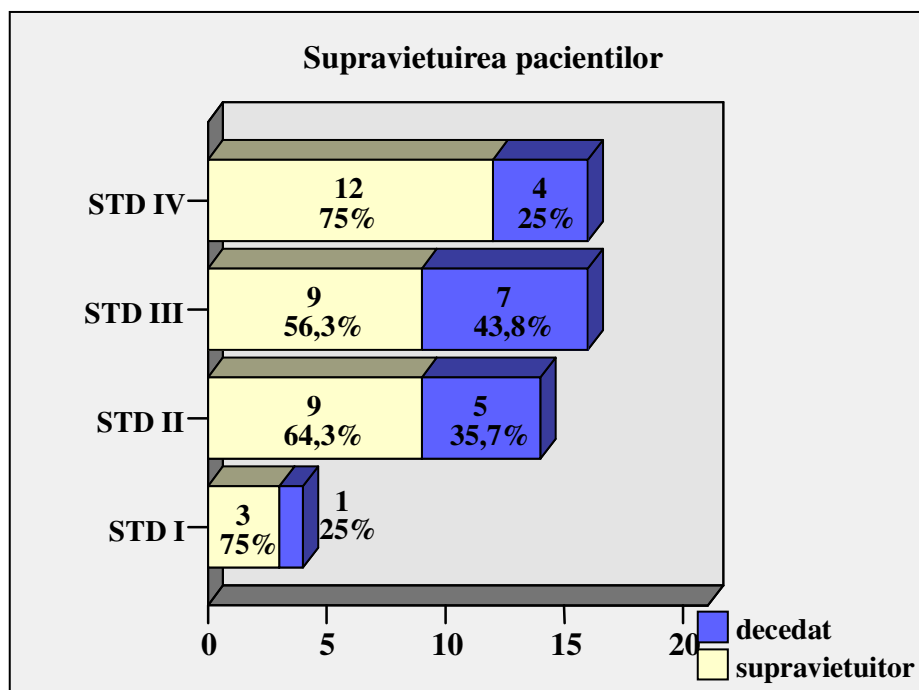
Analizand **supravietuirea** pacientilor **in functie de numarul de factori predictori** pe care l-au prezentat, s-a remarcat ca, in randul pacientilor ce au prezentat un singur factor predictor supravietuirea a fost de 100% (toti acesti pacienti erau in viata la finalul studiului), in randul pacientilor ce au prezentat intre 2 si 4 factori predictori, supravietuirea a scazut la 78,9%, in timp ce in randul pacientilor care au prezentat 5 si mai multi factori predictori, aceasta a scazut la 55,2%, **diferente statistic semnificative** ( $\chi^2 = 3,881$ ,  $p = 0.049$ ).



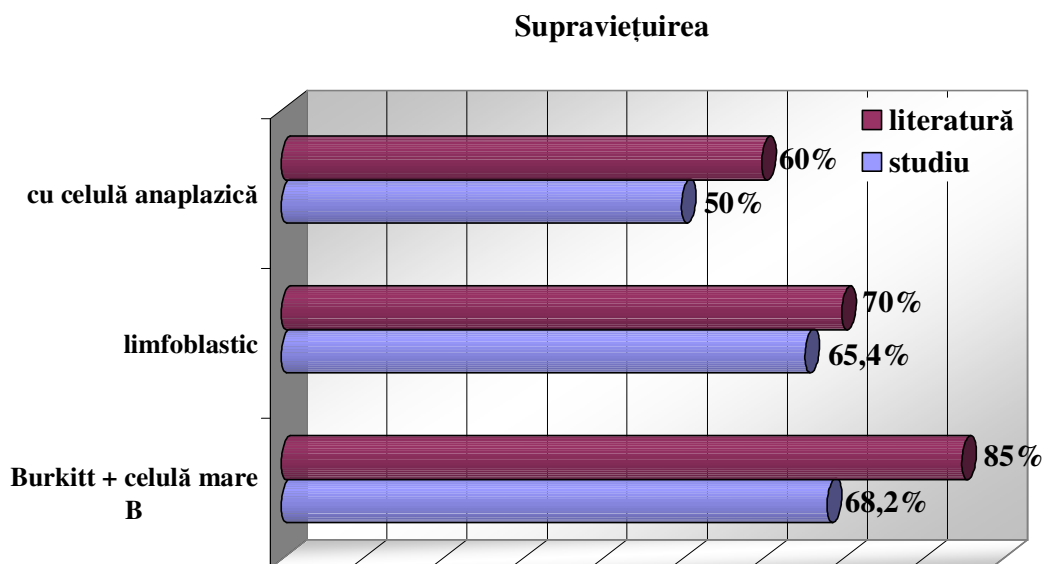
Fata de supravietuirea pacientilor la care s-a consemnat prezenta unui singur factor predictor negativ, si care a fost de 100%, supravietuirea pacientilor la care s-a consemnat prezenta a 5 sau mai multi factori predictori negativi, a scazut cu 44,8%, fiind de 55,2%, scadere similara celei citate in literatura de specialitate (de 47%), care consemneaza ca supravietuirea pacientilor cu un singur factor predictor negativ este de 73% in timp ce supravietuirea pacientilor cu 5 factori predictori negativi este de 26% (test binomial  $p = 0,533$ ).

#### Supraviețuirea





Cea mai mare rata a supraviețuirii s-a înregistrat în rândul pacienților aflați în stadiul I de evoluție, 75% dintre aceștia fiind supraviețuitori la finalul studiului iar cea mai scăzută rata a supraviețuirii s-a înregistrat la pacienții aflați în stadiul III de evoluție. Pacienții aflați în stadiul IV de evoluție au prezentat o rată de supraviețuire similară celor din stadiul I, acest paradox datorându-se faptului că în studiul nostru numărul pacienților aflați în stadiul I a fost mult mai mic decât cel al pacienților aflați în stadiul IV.



Cea mai mare rata a supravietuirii s-a inregistrat in randul pacientilor cu limfoame Burkitt și cu celula mare B, 68,2% din totalul acestor pacienti fiind supravietuitori la finalul acestui studiu (pentru tipul Burkitt supravietuirea a fost de 81,8%, iar pentru cel difuz cu celula mare B de 54,5%).

In randul pacientilor cu limfoame limfoblastice rata de supravietuire a fost de 65,4% iar in randul pacientilor cu limfoame cu celula anaplastică acesta a fost de 50%.

Ratele de supravietuire ale pacientilor cu diferite tipuri de limfoame au fost similare cu cele citate in literatura de specialitate.(test binomial: $p_{\text{lbl}}=0.373$ ,  $p_{\text{apl}}=0.640$ ,  $p_{\text{Burkitt+B}}=0.701$ )

## CONCLUZII

1. 60% din limfoamele copilului sunt **LMNH**. Acestea reprezinta **7%** din cancerele varstei **< 20 ani**.
2. **Limfoamele maligne non-Hodgkin** reprezinta proliferari clonale ale celulelor sistemului imun, care pot apare in oricare subpopulatie morfologica si functionala distincta de celule limfocitare ale sistemului imun si in oricare organ limfoid central sau periferic, ceea ce conduce la **heterogenitatea morfologica, imunologica si clinica** a limfoamelor maligne, ca si **frecventa crescuta a bolii diseminate**.
3. **Corelatii** histopatologice, clinice, imunologice si evolutive obtinute in studiul de fata:

| Tip histopatologic | Incidenta | Fenotip | Localizare primara              | Stadiu    | Supravietuire |
|--------------------|-----------|---------|---------------------------------|-----------|---------------|
| Burkitt            | 22 %      | B       | Mediastin<br>36,4 %             | II        | 81,8%         |
| Limfoblastic       | 52 %      | T       | Mediastin<br>34,6 %             | III       | 65,4%         |
| Celula mare B      | 22 %      | B       | Ganglionar<br>36,3 %            | IV        | 54,5%         |
| Anaplastic         | 4 %       | T       | Ganglionar 50%<br>Mediastin 50% | II<br>III | 50%           |

4. Pentru precizarea **diagnosticului** este **esential** un set complex de investigatii **histopatologice, imunofenotipice si imunohistochimice, citogenetice si de genetica moleculara**.
5. **Tehnici noi** de identificare a modificarilor genetice in celulele tumorale si a exprimarii profilului genic al genomului, vor juca un rol important in precizarea subtipurilor de limfom distincte biologic si a tintelor terapeutice. De aceea, atunci cand este posibil, ar fi utila prezervarea materialului patologic pentru cercetari viitoare.
6. **Diagnosticul pozitiv** al cazurilor din lotul studiat a fost precizat pe baza rezultatelor examenelor histopatologice, imunohistochimice sau imunofenotipice. Din pacate, doar aproximativ jumătate din numarul pacientilor au beneficiat de teste de imunodiagnostic, ceea ce m-a impiedicat sa realizez o analiza statistica reala privind corelarea supravietuirii cu prezenta diferitelor antigene specifice limfocitelor aflate in diferite stadii de maturatie. Nici unul din pacienti nu a beneficiat de studii de citogenetica.
7. Un obiectiv major l-a constituit identificarea cu acuratete a **factorilor de prognostic** care se coreleaza puternic cu o probabilitate mare de evolutie nefavorabila / deces si care permit incadrarea cazurilor pe grupe de risc:

- **Varsta < 5 ani** la diagnostic (probabilitatea de deces de 2,792 ori mai mare)
  - **Localizarea** la diagnostic: adenopatiile multiple la debut (probabilitatea de deces de 6,922 ori mai mare), manifestarile osoase la debut (probabilitatea de deces de 12,398 ori mai mare), manifestarile abdominale la debut (probabilitatea de deces de 9,553 ori mai mare), manifestarile renale la debut (probabilitatea de deces de 8,837 ori mai mare), hepatosplenomegalia la debut (probabilitatea de deces de 2,608 ori mai mare)
  - **Tipul histopatologic:** anaplazic (probabilitatea de deces de 9,803 ori mai mare) > celula mare B (probabilitatea de deces de 3,492 ori mai mare) > limfoblastic (probabilitatea de deces de 3,119 ori mai mare) > Burkitt.
  - **Stadiul bolii** la diagnostic: stadiile avansate III si IV (probabilitatea de deces de 4,458 ori mai mare) > stadiile incipiente I si II.
  - **Boala progresiva** sub chimioterapia initiala
  - **Recaderile bolii** (probabilitatea de deces de 14,468 ori mai mare) - (**p = 0,001**)
  - **A 2-a malignitate** postchimioterapie (probabilitatea de deces de 64,853 ori mai mare) - (**p = 0,008**)
8. Analizand **supravietuirea** pacientilor **in functie de numarul de factori predictori** pe care l-au prezentat, s-a remarcat ca, in randul pacientilor ce au prezentat un singur factor predictor, supravietuirea a fost de 100% (toti acesti pacienti erau in viata la finalul studiului), in randul pacientilor ce au prezentat intre 2 si 4 factori predictori, supravietuirea a scazut la 78,9%, in timp ce in randul pacientilor care au prezentat 5 si mai multi factori predictori, aceasta a scazut la 55,2%, **diferente statistic semnificative** ( $\chi^2 = 3,881$ , **p = 0.049**).
  9. Testele imagistice moderne de tipul **FDG-PET** reprezinta un pas nou, important, in **evaluarea precoce a raspunsului** la tratament.
  10. **Cele 4 subtipuri de limfom difera semnificativ** din punct de vedere **clinic, histopatologic, imunologic si molecular**, ceea ce este **crucial** pentru adoptarea **tratamentului adecvat**. **Diferente foarte importante** apar in ceea ce priveste **cinetica ciclului celular si predispozitia de invadare** a MO si a SNC, care este mai mare in limfomul limfoblastic si Burkitt.
  11. **Intensitatea** tratamentului depinde de stadiul bolii: stadiile I si II beneficiaza de protocoale reduse ca intensitate, fata de stadiile III si IV la care se aplica scheme mai dure.
  12. Pentru **limfoamele limfoblastice** se aplica protocoalele folosite pentru LAL (leucemie acuta limfoblastica), bazate pe principiul expunerii continue la citostatice pe o perioada lunga de timp.
  13. Pentru **limfomul Burkitt si limfomul difuz cu celula mare B** se folosesc protocoale rapide, cu repetarea unor scheme scurte si intensive.
  14. **Limfomul cu celula mare anaplazic** reprezinta un grup separat de tratament datorita factorilor de prognostic diferiti utilizati pentru incadrarea pe grupe de risc. Regimurile terapeutice sunt extrem de toxice, acest subtip avand si cea mai mare rata de aparitie a recaderilor.
  15. **Raspunsul la tratament** al pacientilor studiati a fost in majoritatea cazurilor unul favorabil, in 84% din cazuri acesta ducand la obtinerea unui remisiuni complete a bolii, 10% din totalul pacientilor intrand in remisiune partiala si numai 2% dintre ei neavand raspuns terapeutic. **Recaderile** s-au inregistrat la 40% din numarul total al pacientilor, in proportii similare in cele doua loturi de studiu. **Recaderile locale** au fost consemnate la 24% din totalitatea pacientilor. **Recaderi la nivelul sistemului nervos central** s-au inregistrat in 16% din numarul total de cazuri. **Recaderile la nivelul maduvei osoase** au fost inregistrate in intregime numai la pacientii lotului BFM'90, in proportie de 14%.

16. 47% dintre decese au survenit la mai puțin de un an de la diagnosticare, fiind considerate decese precoce; dintre acestea 29% au fost consemnate la pacienții lotului BFM'90 iar restul de 18% fiind consemnate la pacienții lotului LMB'96.
17. În 24% din cazuri decese au fost consecința complicațiilor toxice ale tratamentului, acestea fiind consemnate în proporții asemănătoare la pacienții celor două loturi, respectiv 12%, în timp ce în majoritatea cazurilor (76% din totalul deceselor) acestea s-au datorat bolii, 47% fiind consemnate la pacienții lotului BFM'90, iar restul de 29% fiind consemnate la pacienții lotului LMB'96.
18. **TCSH** autolog și allogeneic este rezervat următoarelor situații:
- Recidive chimiosensibile, în timpul remisiunii complete sau parțiale după chimioterapia de inducție
  - Limfom Burkitt cu remisiune parțială după terapia de inducție sau recădere izolată a SNC
  - În timpul primei remisiuni complete la cei cu risc crescut și prognostic prost sub terapia convențională.
  - În cazul recăderilor la cei cu prognostic favorabil sub chimioterapia convențională.
19. **Perspective terapeutice:**
- Sunt **în derulare** studii privind utilizarea **Anticorpilor monoclonali specifici anticelula B (CD 20) și anti CD 30** la copil. În prezent sunt utilizați cu succes la adult, dar la copil nu este clar dacă au efecte benefice similare (datorită diferențelor dintre caracterele biologice ale limfoamelor aparute la cele două categorii de vârstă).
  - **O nouă generație** de analogi ai nucleotidelor purinice și inhibitori ai fosforilazei nucleotidelor purinice au extins spectrul chimioterapicelor, în special pentru neoplasmelor cu celula T.
  - Alte **tinte noi** pentru tratamentele viitoare sunt **inhibitorii kinazici** (inhibitorii Alk) și **medicamentele ce interferează cu calea de activare a factorului nuclear kappa B (NF-KB)**.
  - Sunt **necesare studii biologice viitoare**, având în vedere faptul că s-a demonstrat că biologia tumorală la limfoamele de tip anaplastic și difuz cu celula mare B diferă cu vârsta. **Date biologice noi** vor ajuta atât la **îmbunătățirea prognosticului** și a **stratificării terapeutice**, cât și la **identificarea tintelor moleculare** specifice pentru terapie.
20. Monitorizarea periodică a pacienților după terminarea protocolului terapeutic este obligatorie și esențială pentru depistarea recidivelor precoce și tardive și a efectelor secundare tardive, inclusiv apariția celei de a 2-a malignități.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVA

1. National Cancer Institute: Childhood Non-Hodgkin's Lymphoma, 20.04.2007
2. Link M.P., Donaldson S.S. :The Lymphomas And Lymphadenopathy. Vol. II. Cap.XXXV. in Nathan D.G., Orkin S.H. (eds).Nathan and Orkin's Hematology of Infancy and Childhood, ed a 6-a, W.B.Saunders Co., Philadelphia 2003, p.1333-1374
3. Arion C., Dinu B.: Limfoame maligne in Tratat de Pediatrie, editia I, Ed. Medicala, Bucuresti 2001, sub red. Prof.Dr. E.P.Ciofu, Dr. C. Ciofu, Cap. 14, p. 904-922
4. Delia Mut Popescu: Hematologie clinica, ed. Medicala, 1994, p. 14-19.
5. Janet M.Decker,PhD: Immunology, [http://microvet.arizona.edu/Courses/MIC419/Tutorials/Bcell development.html](http://microvet.arizona.edu/Courses/MIC419/Tutorials/Bcell%20development.html), last modified January 26, 2007
6. Ralf Küppers, Ph.D., Ulf Klein, Ph.D., Martin-Léo Hansmann, M.D., and Klaus Rajewsky, M.D. , Cellular Origin of Human B-Cell Lymphomas, NEJM Volume 341:1520-1529, November 11, 1999, Number 20.
7. Janet M.Decker,PhD: Immunology, [http://microvet.arizona.edu/Courses/MIC419/Tutorials/Tcell development.html](http://microvet.arizona.edu/Courses/MIC419/Tutorials/Tcell%20development.html), last modified August 26, 2003.
8. Colita Dan: Introducere in imunologie, Editura Medicala, , Cap. VI, pag.57-65, 1993.
9. Pediatric Oncology, K.W.Chan and R.B. Raney, Jr.Eds, 2005.
10. American Cancer Society , Inc. 2006
11. National Cancer Institute, 02.2006
12. Qing Lan, Tongzhang Zheng, Nathaniel Rothman, Yawei Zhang, Sophia S. Wang, Min Shen, Sonja I. Berndt, Shelia H. Zahm, Theodore R. Holford, Brian Leaderer, Meredith Yeager, Robert Welch, Peter Boyle, Bing Zhang, Kaiyong Zou, Yong Zhu, and Stephen Chanock: Cytokine polymorphisms in the Th1/Th2 pathway and susceptibility to non-Hodgkin lymphoma. Blood, 15 May2006, Vol.107, No.10, pp.4101-4108.  
Prepublished online as a Blood First Edition Paper on January 31, 2006; DOI 10.1182/blood-2005-10-4160.
13. James J. Campbell, Zhao et al, T<sub>regs</sub> control B-cell life and death, Blood, 15 May 2006, Vol. 107, No. 10, pp. 3818-3819
14. Martin Stanulla, Kathrin Seidemann, Eckart Schnakenberg, Marion Book, Andrea Mehles, Karl Welte, Martin Schrappe, and Alfred Reiter, Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677 C > T polymorphism and risk of pediatric non-Hodgkin lymphoma in a German study population. Blood, 15 January 2005, Vol. 105, No. 2, pp. 906-907.
15. Skibola CF, Forrest MS, Coppede F, et al. Polymorphisms and haplotypes in folate-metabolizing genes and risk of non-Hodgkin lymphoma. Prepublished on June 15, 2004, as DOI 10.1182/blood-2004-02-0557. (Now available as Blood. 2004;104: 2155-2162).
16. Kathrin Seidemann, Martin Zimmermann, Marion Book, Ulrike Meyer, Birgit Burkhardt, Karl Welte, Alfred Reiter, Martin Stanulla, Tumor Necrosis Factor and Lymphotoxin Alfa Genetic Polymorphisms and Outcome in Pediatric Patients With Non-Hodgkin's Lymphoma: Results From Berlin-Frankfurt-Münster Trial NHL-BFM 95, Journal of Clinical Oncology, Vol 23, No 33 (November 20), 2005: pp. 8414-8421
17. Interpreting Epidemiologic Research: Lessons From Studies of Childhood Cancer by Martha S. Linet, MD, Sholom Wacholder, Ph D and Shelia Zahn, ScD – Pediatrics vol 112, No 1 July 2003, pp 218-232.
18. Nelson, Textbook of Pediatrics, 16<sup>th</sup> edition, 2000, cap. 503, p.1550-1552.
19. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. Pathology and genetics of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. In: Kleihues P, Sobin LH, eds. World Health Organisation Classification of Tumors. Lyons: IARC Press; 2001.

20. Neth O, Seidemann K, Jansen P, et al.: Precursor B-cell lymphoblastic lymphoma in childhood and adolescence: clinical features, treatment, and results in trials NHL-BFM 86 and 90. *Med Pediatr Oncol* 35 (1): 20-7, 2000
21. Cools J, Wlodarska I, Somers R, Mentens N, Pedeutour F, Maes B, De Wolf-Peeters C, Pauwels P, Hagemeijer A, Marynen P: Identification of novel fusion partners of ALK, the anaplastic lymphoma kinase, in anaplastic large-cell lymphoma and inflammatory myofibroblastic tumor. *Genes Chromosomes Cancer* 2002; 34: 354-362.
22. Ma Z, Hill DA, Collins MH, Morris SW, Sumegi J, Zhou M, Zuppan C, Bridge JA: Fusion of ALK to the Ran-binding protein 2 (RANBP2) gene in inflammatory myofibroblastic tumor. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 37: 98-105.
23. Von Schulthess, G.K., editor. *Clinical Positron Emission Tomography*. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 1999.
24. Anderson, H., and P. Price. "What Does Positron Emission Tomography Offer Oncology?" *European Journal of Cancer* 36 (October 2000): 2028–35.
25. Arulampalam, T. H., D.C. Costa, M. Loizidou, D. Visvikis, P.J. Ell, and I. Taylor. "Positron Emission Tomography and Colorectal Cancer." *British Journal of Surgery* 88 (February 2001): 176–89.
26. Roelcke, U., and K.L. Leenders. "PET in Neuro-oncology." *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 127 (January 2001): 2–8.
27. Ricketts RR: Clinical management of anterior mediastinal tumors in children. *Semin Pediatr Surg* 2001; 10:161-168.
28. James O. Armitage, MD: Staging Non-Hodgkin Lymphoma, *CA Cancer J Clin* 2005; 55 : 368-376 © 2005 American Cancer Society
29. Elizabeth Raetz, Sherrie Perkins, Virginia Davenport, Mitchell S. Cairo: B large-cell lymphoma in children and adolescents. *Cancer Treatment Reviews* 2003; 29:91-98.
30. Mitchell S. Cairo, Richard Sposto, Margo Hoover-Regan, Anna T Meadows, James R Anderson, et al: Childhood and adolescent large-cell lymphoma (LCL): A review of the children's cancer group experience. *American Journal of Hematology* 2003; 72: 53-63.
31. Cairo MS, Bishop M: Tumour lysis syndrome: new therapeutic strategies and classification. *Br J Haematol* 127 (1): 3-11, 2004.
32. Patte C, Auperin A, Michon J, et al: The Societe Francaise d'Oncologie Pediatrique LMB 89 protocol: Highly effective multiagent chemotherapy tailored to the tumor burden and initial response in 561 unselected children with B-cell lymphomas and L3 leukemia. *Blood* 2001; 97: 3370-3379.
33. Woessmann W, Seidemann K, Mann G, et al.: The impact of the methotrexate administration schedule and dose in the treatment of children and adolescents with B-cell neoplasms: a report of the BFM Group Study NHL-BFM95. *Blood* 105 (3): 948-58, 2005.
34. Reiter A, Schrappe M, Ludwig WD, et al.: Intensive ALL-type therapy without local radiotherapy provides a 90% event-free survival for children with T-cell lymphoblastic lymphoma: a BFM group report. *Blood* 95 (2): 416-21, 2000.
35. Burkhardt B, Woessmann W, Zimmermann M, et al.: Impact of cranial radiotherapy on central nervous system prophylaxis in children and adolescents with central nervous system-negative stage III or IV lymphoblastic lymphoma. *J Clin Oncol* 24 (3): 491-9, 2006.
36. Hinshaw M, Trowers AB, Kodish E, et al.: Three children with CD30 cutaneous anaplastic large cell lymphomas bearing the t(2;5)(p23;q35) translocation. *Pediatr Dermatol* 21 (3): 212-7, 2004 May-Jun.
37. Dalle JH, Mechinaud F, Michon J, et al.: Testicular disease in childhood B-cell non-Hodgkin's lymphoma: the French Society of Pediatric Oncology experience. *J Clin Oncol* 19 (9): 2397-403, 2001.

38. Burkhardt B, Zimmermann M, Oschlies I, et al.: The impact of age and gender on biology, clinical features and treatment outcome of non-Hodgkin lymphoma in childhood and adolescence. *Br J Haematol* 131 (1): 39-49, 2005.
39. Onciu M, Schlette E, Zhou Y, et al.: Secondary chromosomal abnormalities predict outcome in pediatric and adult high-stage Burkitt lymphoma. *Cancer* 107 (5): 1084-92, 2006
40. Vose JM, Link BK, Grossbard ML, et al.: Long-term update of a phase II study of rituximab in combination with CHOP chemotherapy in patients with previously untreated, aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 46 (11): 1569-73, 2005
41. Cairo MS, Children's Oncology Group: Phase II Pilot Study of Rituximab Added to the Induction and Consolidation Phases and Rasburicase Added to the Reduction Phase in Children With Newly Diagnosed Advanced B-Cell Leukemia or Lymphoma Treated With LMB/FAB Therapy, COG-ANHL01P1, Clinical trial, Temporarily closed
42. Abromowitch M, Children's Oncology Group: Phase III Randomized Study of Four Chemotherapy Regimens in Children or Adolescents With Newly Diagnosed Disseminated Stage III or IV Lymphoblastic Lymphoma or Localized Lymphoblastic Lymphoma (Closed to Accrual as of 10/2005), COG-A5971, Clinical trial, Active
43. Amylon MD, Shuster J, Pullen J, et al.: Intensive high-dose asparaginase consolidation improves survival for pediatric patients with T cell acute lymphoblastic leukemia and advanced stage lymphoblastic lymphoma: a Pediatric Oncology Group study. *Leukemia* 13 (3): 335-342, 1999.
44. Leung W, Sandlund JT, Hudson MM, et al.: Second malignancy after treatment of childhood non-Hodgkin lymphoma. *Cancer* 92 (7): 1959-66, 2001
45. Laver JH, Kravaka JM, Hutchison RE, et al.: Advanced-stage large-cell lymphoma in children and adolescents: results of a randomized trial incorporating intermediate-dose methotrexate and high-dose cytarabine in the maintenance phase of the APO regimen: a Pediatric Oncology Group phase III trial. *J Clin Oncol* 23 (3): 541-7, 2005
46. Rosolen A, Pillon M, Garaventa A, et al.: Anaplastic large cell lymphoma treated with a leukemia-like therapy: report of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) LNH-92 protocol. *Cancer* 104 (10): 2133-40, 2005.
47. Brugières L, Quartier P, Le Deley MC, et al.: Relapses of childhood anaplastic large-cell lymphoma: treatment results in a series of 41 children--a report from the French Society of Pediatric Oncology. *Ann Oncol* 11 (1): 53-8, 2000.
48. Cairo MS, Sposto R, Perkins SL, et al.: Burkitt's and Burkitt-like lymphoma in children and adolescents: a review of the Children's Cancer Group experience. *Br J Haematol* 120 (4): 660-70, 2003.
49. Atra A, Gerrard M, Hobson R, et al.: Outcome of relapsed or refractory childhood B-cell acute lymphoblastic leukaemia and B-cell non-Hodgkin's lymphoma treated with the UKCCSG 9003/9002 protocols. *Br J Haematol* 112 (4): 965-8, 2001.
50. Attarbaschi A, Dworzak M, Steiner M, et al.: Outcome of children with primary resistant or relapsed non-Hodgkin lymphoma and mature B-cell leukemia after intensive first-line treatment: a population-based analysis of the Austrian Cooperative Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 44 (1): 70-6, 2005.
51. Kobrinsky NL, Sposto R, Shah NR, et al.: Outcomes of treatment of children and adolescents with recurrent non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease with dexamethasone, etoposide,

cisplatin, cytarabine, and l-asparaginase, maintenance chemotherapy, and transplantation: Children's Cancer Group Study CCG-5912. *J Clin Oncol* 19 (9): 2390-6, 2001.

52. Levine JE, Harris RE, Loberiza FR Jr, et al.: A comparison of allogeneic and autologous bone marrow transplantation for lymphoblastic lymphoma. *Blood* 101 (7): 2476-82, 2003.
53. Ladenstein R, Pearce R, Hartmann O, et al.: High-dose chemotherapy with autologous bone marrow rescue in children with poor-risk Burkitt's lymphoma: a report from the European Lymphoma Bone Marrow Transplantation Registry. *Blood* 90 (8): 2921-30, 1997.
54. Sandlund JT, Bowman L, Heslop HE, et al.: Intensive chemotherapy with hematopoietic stem-cell support for children with recurrent or refractory NHL. *Cytotherapy* 4 (3): 253-8, 2002.
55. Gordon BG, Warkentin PI, Weisenburger DD, et al.: Bone marrow transplantation for peripheral T-cell lymphoma in children and adolescents. *Blood* 80 (11): 2938-42, 1992.
56. Woessmann W, Peters C, Lenhard M, et al.: Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in relapsed or refractory anaplastic large cell lymphoma of children and adolescents--a Berlin-Frankfurt-Münster group report. *Br J Haematol* 133 (2): 176-82, 2006.
57. Griffin TC, Children's Oncology Group: Phase II Study of Ifosfamide, Carboplatin, and Etoposide Combined With Rituximab in Pediatric Patients With Recurrent or Refractory B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma or Acute Lymphoblastic Leukemia, COG-ANHL0121, Clinical trial, Completed
58. Gross TG, Bucuvalas JC, Park JR, et al.: Low-dose chemotherapy for Epstein-Barr virus-positive post-transplantation lymphoproliferative disease in children after solid organ transplantation. *J Clin Oncol* 23 (27): 6481-8, 2005
59. Hayashi RJ, Kraus MD, Patel AL, et al.: Posttransplant lymphoproliferative disease in children: correlation of histology to clinical behavior. *J Pediatr Hematol Oncol* 23 (1): 14-8, 2001
60. Gross TG, Children's Oncology Group: Phase II Study of Cyclophosphamide, Rituximab, and Prednisone or Methylprednisolone in Patients With CD20-Positive Post-Transplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation, COG-ANHL0221, Clinical trial, Active
61. Hudson MM, Mertens AC, Yasui Y, et al. Health status of adult long-term survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *JAMA* 2003; 290: 1583–1592.
62. Sklar C. Reproductive physiology and treatment-related loss of sex hormone production. *Med Pediatr Oncol* 1999; 33: 2–8.
63. Bath LE, Wallace WH, Critchley HO. Late effects of the treatment of childhood cancer on the female reproductive system and the potential for fertility preservation. *BJOG* 2002; 109: 107–114.
64. Kenney LB, Laufer MR, Grant FD, et al. High risk of infertility and long term gonadal damage in males treated with high dose cyclophosphamide for sarcoma during childhood. *Cancer* 2001; 91: 613–621.
65. Longhi A, Macchiagodena M, Vitali G, et al. Fertility in male patients treated with neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25: 292–296.
66. Neglia JP, Friedman DL, Yasui Y, et al. Second malignant neoplasms in five-year survivors of childhood cancer: childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 618–629.
67. Bhatia S, Yasui Y, Robison LL, et al. High risk of subsequent neoplasms continues with extended follow-up of childhood Hodgkin's disease: report from the Late Effects Study Group. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4386–4394.

68. Skinner R, Cotterill SJ, Stevens MC. Risk factors for nephrotoxicity after ifosfamide treatment in children: a UKCCSG Late Effects Group study. United Kingdom Children's Cancer Study Group. *Br J Cancer* 2000; 82: 1636–1645.
69. Skinner R. Chronic ifosfamide nephrotoxicity in children. *Med Pediatr Oncol* 2003; 41: 190–197.
70. Sorensen K, Levitt GA, Bull C, et al. Late anthracycline cardiotoxicity after childhood cancer: a prospective longitudinal study. *Cancer* 2003; 97: 1991–1998.
71. Hinkle AS, Proukou CB, Deshpande SS, et al. Cardiovascular Complications: Cardiotoxicity Caused by Chemotherapy, in Wallace H, Green D, eds. *Late Effects of Childhood Cancer*. New York: Oxford University Press; 2004; 85–100.
72. Zecca M, Prete A, Rondelli R, et al. Chronic graft-versus-host disease in children: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Blood* 2002; 100: 1192–1200.
73. Edward A. Copelan: Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *NEJM* 27 april 2006 number 17; 357: 1813-1826.
74. Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, Paniagua D, Viswanathan A, Antin JH. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2001;19:3685-3691.
75. Stewart BL, Storer B, Storek J, et al. Duration of immunosuppressive treatment for chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2004;104:3501-3506.
76. Levesque J-P, Liu F, Simmons PJ, et al. Characterization of hematopoietic progenitor mobilization in protease-deficient mice. *Blood* 2004;104:65-72.
77. Flomenberg N, Devine SM, DiPersio JF, et al. The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone. *Blood* 2005;106:1867-1874.
78. McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, et al. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood* 2001;97:3390-3400.
79. Sandmaier BM, Storb R. Nonmyeloablative therapy and hematopoietic cell transplantation for hematologic disorders. In: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR, eds. *Thomas' hematopoietic cell transplantation*. 3rd ed. Malden, Mass.: Blackwell Publishing, 2004:1164-76.
80. Flomenberg N, Baxter-Lowe LA, Confer D, et al. Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. *Blood* 2004;104:1923-1930.
81. Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood* 2005;105:1343-1347.
82. Jarosca J, Goltry K, Smith A, et al. Augmentation of umbilical cord blood (UCB) transplantation with ex vivo-expanded UCB cells: results of a phase 1 trial using the AastromReplicell System. *Blood* 2003;101:5061-5067.
83. Fernandez MN, Regidor C, Cabrera R, et al. Unrelated umbilical cord blood transplants in adults: early recovery of neutrophils by supportive co-transplantation of a low number of highly purified peripheral blood CD34+ cells from an HLA-haploidentical donor. *Exp Hematol* 2003;31:535-544.
84. Spielberger R, Stiff P, Bensinger W, et al. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. *N Engl J Med* 2004;351:2590-2598.
85. Clouthier SG, Cooke KR, Teshima T, et al. Repifermin (keratinocyte growth factor-2) reduces the severity of graft-versus-host disease while preserving a graft-versus-leukemia effect. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003;9:592-603.

86. Kallianpur AR, Hall LD, Yadav M, et al. The hemochromatosis C282Y allele: a risk factor for hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005;35:1155-1164.
87. Srivastava A, Poonkuzhali B, Shaji RV, et al. Glutathione S-transferase M1 polymorphism: a risk factor for hepatic venoocclusive disease in bone marrow transplantation. *Blood* 2004;104:1574-1577.
88. Bornhauser M, Storer B, Slattery JT, et al. Conditioning with fludarabine and targeted busulfan for transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells. *Blood* 2003;102:820-826.
89. Hogan WJ, Maris M, Storer B, et al. Hepatic injury after nonmyeloablative conditioning followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation: a study of 193 patients. *Blood* 2004;103:78-84.
90. Cooke KR, Yanik G. Acute lung injury after allogeneic stem cell transplantation: is the lung a target of acute graft-versus-host disease? *Bone Marrow Transplant* 2004;34:753-765.
91. Metayer C, Curtis RE, Vose J, et al. Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia after autotransplantation for lymphoma: a multicenter case-control study. *Blood* 2003;101:2015-2023.
92. Taylor PA, Lees CJ, Blazar BR. The infusion of ex vivo activated and expanded CD4(+) CD25(+) immune regulatory cells inhibits graft-versus-host disease lethality. *Blood* 2002;99:3493-3499.
93. Hoffmann P, Eder R, Kunz-Schughart LA, Andreesen R, Edinger M. Large-scale in vitro expansion of polyclonal human CD4(+)CD25<sup>high</sup> regulatory T cells. *Blood* 2004;104:895-903.
94. Burt RK, Verda L, Kim DA, Oyama Y, Luo K, Link C. Embryonic stem cells as an alternate marrow donor source: engraftment without graft-versus-host disease. *J Exp Med* 2004;199:895-904.
95. Wang M, Zhou Y, Zhang L, Nguven CA, Romaguera J : Use of bortezomib in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2006 Jul; 6(7): 983-91.
96. Leonard JP, Furman RR, Coleman M: Proteasome inhibition with bortezomib: a new therapeutic strategy for non-Hodgkin's lymphoma. *Int J Cancer* 2006 Sep 1; 119(5): 971-9.
97. Maloney DG: Immunotherapy for non-Hodgkin's lymphoma: monoclonal antibodies and vaccines. *J Clin Oncol* 2005 Sep 10; 23(26):6421-8.