

ARTICOL DE CERCETARE

Aspecte clinice, hematologice și imunohistochimice ale limfoamelor non-Hodgkin foliculare: studiu prospectiv, descriptiv

Sanda Buruiană^{1*}

¹*Catedra de oncologie, hematologie și radioterapie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.*

Autor corespondent:

Sanda Buruiană, asistent universitar
Catedra de oncologie, hematologie și radioterapie
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
str. Nicolae Testemițanu, 30, Chișinău, Republica Moldova, MD-2025
e-mail: sandaburuiana69@gmail.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Diagnosticul limfoamelor non-Hodgkin (LNH), inclusiv, a celor foliculare, este bazat pe confirmarea histologică și imunohistochimică. Însă, manifestările clinice și hematologice ale LNH foliculare, în corelare cu modificările morfologice și imunohistochimice, conform Clasificării Maladiilor Sistemului Hematopoietic și Limfatic a OMS din 2008, sunt puțin studiate.

Ipoteza de cercetare

Morbiditatea LNH foliculare are o tendință de creștere globală, inclusiv, în Republica Moldova. Evidențierea particularităților clinico-hematologice în concordanță cu modificările morfologice și imunohistochimice ale LNH foliculare ar permite diagnosticul precoce și selectarea corectă, individualizată, a tratamentului.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Evidențierea particularităților clinico-hematologice, în concordanță cu modificările morfologice și imunohistochimice ale LNH foliculare a contribuit la extinderea cunoștințelor în aspect clinic, cu optimizarea conduitei de diagnostic, perfecționarea și individualizarea tratamentului.

Rezumat

Introducere. Una din cele mai frecvente variante ale limfoamelor non-Hodgkin (LNH) indolente este limfomul folicular. LNH foliculare sunt tumori maligne de origine B-celulară, care, deși au o evoluție relativ favorabilă se consideră incurabile la aplicarea programelor de tratament obișnuite. În ultimii ani, direcțiile principale în studierea LNH foliculare sunt orientate în plan morfologic, imunohistochimic, al biologiei moleculare. Însă, aspectele clinice sunt puțin studiate. De ace-

RESEARCH ARTICLE

Clinical, hematological and immunohistochemical aspects of follicular Non-Hodgkin lymphomas: descriptive and prospective study

Sanda Buruiana^{1*}

¹*Chair of oncology, hematology and radiotherapy, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.*

Corresponding author:

Sanda Buruiana, assistant professor
Chair of oncology, hematology and radiotherapy
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy
30, Nicolae Testemitanu str., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2025
e-mail: sandaburuiana69@gmail.com

What is not known, yet, about the topic

Non-Hodgkin's lymphomas (NHL), including follicular lymphomas, it is based on histological and immunohistochemical confirmation. But clinical and hematological manifestations of follicular non-Hodgkin's lymphomas, in correlation with morphological and immunohistochemical modifications according WHO Classification (2008), are poorly studied.

Research hypothesis

Follicular non-Hodgkin lymphomas morbidity has a tendency to global growth, including in Republic of Moldova. Evidence of the clinical and hematological manifestations in correlation with morphological and immunohistochemical modifications in non-Hodgkin follicular lymphomas would allow early diagnosis and selecting the correct individualized treatment.

Article's added novelty on this scientific topic

Evidence of the clinical and hematological manifestations in correlation with morphological and immunohistochemical modifications in non-Hodgkin follicular lymphomas contributed to broadening knowledge in the clinical aspect, optimizing conduct diagnostic improvement and individualizing therapy.

Abstract

Introduction. One of the most common variants of indolent non-Hodgkin's lymphomas (NHL) is follicular lymphoma. Follicular non-Hodgkin's lymphomas are malignant tumors B cell origin, though they have a relatively favorable evolution is considered incurable to application standard treatment. In recent years, the main directions in the study of NHL are oriented in morphological, immunohistochemical and molecular biology directions. But clinical manifestations are poorly stu-

ea, cercetarea particularităților clinice, în conformitate cu modificările morfologice și imunohistochimice, sunt actuale.

Material și metode. Datele clinice, hematologice și imunohistochimice ale limfomului non-Hodgkin folicular au fost studiate la 16 pacienți. Identificarea acestei variante de LNH s-a efectuat în conformitate cu Clasificarea Internațională Histologică și Citologică a Patologiilor Tumorale ale Țesutului Hematopoietic și Limfatic, propusă de OMS în anul 2008. În acest scop, au fost utilizate metode histologice și imunohistochimice ale biopsatului ganglionilor limfatici și ale altor țesuturi afectate. Gradul de răspândire al procesului tumoral a fost determinat în conformitate cu Clasificarea Clinică Internațională, elaborată în Ann-Arbor (SUA, 1971). În scopul stadializării procesului tumoral, au fost utilizate metode clinice și paraclinice.

Rezultate. LNH folicular s-a dezvoltat preponderent la persoanele cu vârsta de peste 50 de ani. La examenul imunohistochimic, CD19 și CD20 au fost pozitivi, care au confirmat apartenența liniei B-limfocitare, CD10 – pozitiv, iar CD5 și CD23 – negativi. Focarul tumoral primar s-a dezvoltat mai des în ganglionii limfatici periferici și splină. Măduva oaselor a fost interesată în 72,7% din cazuri. Supraviețuirea bolnavilor peste 2 ani a constituit 94,0%, iar peste 5 ani – 57,2%.

Concluzii. A fost identificat segmentul de vârstă și sexul persoanelor mai frecvent afectate în LNH foliculare. Au fost determinate zonele de metastazare inițială și la distanță, frecvența și localizarea metastazelor extranodale. A fost elaborat un algoritm de folosire a anticorpilor monoclonali specifici LNH folicular.

Cuvinte cheie: limfom non-Hodgkin, imunohistochimie, aspecte clinice.

Introducere

Una din cele mai frecvente variante ale limfoamelor non-Hodgkin (LNH) indolente este limfomul folicular. Limfomul folicular în SUA constituie 35% din toate LNH, 22% în lume și 70% din grupul limfoamelor periferice [1]. LNH folicular se dezvoltă, preponderent, la persoanele cu vârstă avansată. Acest limfom rar este diagnosticat la copii și adolescenți în vârsta de până la 20 de ani. Majoritatea pacienților vârstnici sunt diagnosticați în stadii avansate. Numai la 30% dintre pacienți, procesul tumoral este diagnosticat în stadiile I și II ale bolii [2, 3]. LNH foliculare sunt tumori maligne de origine B-celulară, care, deși au o evoluție relativ favorabilă, se consideră incurabile la aplicarea programelor de tratament obișnuite.

În 25-35% din cazuri, limfomul folicular se transformă în LNH difuz B-macrocelular [4, 5].

În Clasificarea OMS (2001 și 2008), sunt specificate 3 tipuri de creștere a tumorii în ganglionii limfatici: nodular, nodular-difuz și difuz [6, 7].

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

În funcție de proporția celulelor mari, sunt specificate 3 tipuri (grade) citologice ale limfoamelor foliculare, acceptate de OMS și care clinic sunt heterogene.

died. For this reason the studying of clinical aspects in correlation with morphological and immunohistochemical modifications are actuals.

Material and methods. The study included the analysis of clinical, hematological and immunohistochemical data in 16 patients with follicular non-Hodgkin's lymphoma. The identification of this NHL variant was conducted in accordance with the International histological and cytological Classification of the tumor pathologies of the hematopoietic and lymphatic tissue, proposed by the WHO in 2008. For this purpose, histological and immunohistochemical methods of the biopsates of lymph nodes and other tissues affected were used. The stage of the disease was determined in accordance with the International Clinical Classification, developed in Ann Arbor (USA, 1971).

Results. Follicular non-Hodgkin's lymphoma developed only in adults, mainly in people aged over 50 years. At immunohistochemistry, CD19 and CD20 were positive, confirming the relationship of the B-lymphocyte line with positive CD10 and negative CD23 and CD5. The primary tumor focus developed to the same extent in the peripheral lymph nodes (37.5%) and in the spleen (37.5%). During the process of tumor generalization, in 61.5% of cases bone marrow was affected. The survival of patients at 2 years was 94.0% and at over 5 years – 57.2%.

Conclusions. It was identified by age and sex of the segment most frequently affected in follicular NHL. They were determined areas of initial and distant metastasis, frequency and extra nodal metastasis location. An algorithm has been developed using specific monoclonal antibodies for follicular NHL.

Key words: non-Hodgkin's lymphoma, immunohistochemical, clinical picture.

Introduction

One of the most common variants of indolent non-Hodgkin's lymphoma (NHL) is follicular lymphoma. Among the indolent NHL, the prevailing one is also follicular lymphoma, which represents 35% of all NHL in USA, 22% in the world and 70% of the peripheral group lymphomas [1]. Most of the patients with follicular lymphomas are in advanced age and in generalized stages of the disease at addressing. This lymphoma is rarely diagnosed in children and adolescents aged up to 20 years. Most elderly patients are diagnosed in advanced stages. Only in 30% of patients, the tumor process is diagnosed in the stages I and II of the disease [2, 3]. Follicular lymphomas are B cells origin, though they have a favorable evolution, it is considered incurable.

In 25-35% of the cases of follicular lymphoma, the last one turns into B-macrocellular NHL [4, 5].

The WHO Classification (2001 and 2008) specified 3 types of tumor growth in the lymph nodes: nodular, nodular-diffuse and diffuse [6, 7].

This lymphoma represents a tumor that develops from the cells in the follicular centers: centrocytes – small cells with cleaved nucleus and centroblasts – large cells with uncleaved nucleus.

Depending on the proportion of the large cells, 3 cytologi-

Această clasificare a limfomului folicular are semnificație clinică. Creșterea conținutului de centroblaști se asociază cu un prognostic nefavorabil [8]. Peste 9-10 ani, acest limfom se poate transforma în limfom agresiv, care, în unele locuri, păstrează caracter folicular, în altele – nu se deosebește de B-limfomul difuz macrocelular [9, 10].

În ultimii ani, direcțiile principale în studierea LNH foliculare sunt orientate în plan morfologic, imunohistochimic, al biologiei moleculare. Însă, aspectele clinice sunt puțin studiate. De aceea, studierea particularităților clinice, în conformitate cu modificările morfologice și imunohistochimice, sunt actuale.

Material și metode

Este un studiu retrospectiv și descriptiv. Datele clinice, hematologice și imunohistochimice ale limfomului non-Hodgkin folicular au fost studiate la 16 pacienți, care erau la evidența medicului hematolog în cadrul Institutului Oncologic (Centrul Hematologic și Centrul Consultativ de Diagnostic al Institutului Oncologic). Datele au fost colectate din cartelele de ambulator și fișele din staționar. Identificarea acestei variante de LNH s-a efectuat în conformitate cu Clasificarea Internațională Histologică și Citologică a Patologiilor Tumorale ale Țesutului Hematopoietic și Limfatic, propusă de OMS în anul 2008 [7]. În acest scop, au fost utilizate metode histologice (colorație cu hematoxilina-eozină) și imunohistochimice, cu utilizarea anticorpilor monoclonali ale biopsatului ganglionilor limfatici și altor țesuturi afectate.

Gradul de răspândire al procesului tumoral a fost determinat în conformitate cu Clasificarea Clinică Internațională, elaborată în Ann-Arbor (SUA, 1971). În scopul stadializării procesului tumoral, au fost utilizate metode clinice și paraclinice.

Semnele clinice au cuprins anamneza, examenul fizic complet, semnele de intoxicație generală „B” (febră >38°C, scădere ponderală >10% în ultimele 6 luni, transpirații nocturne), simptomele de debut, factorii de prognostic (vârsta, stadiul bolii, prezența sau absența semnelor de intoxicație generală, metastaze extranodale, VSH), pe baza cărora s-a format IPI (Indexul Prognostic Internațional). Pentru determinarea gradului de răspândire al procesului tumoral, au fost folosite examenul ultrasonografic, radiografia pulmonară și tomografia mediastinului. Pentru depistarea afectării stomacului și intestinului, au fost efectuate examenul radiologic și endoscopic (fibrogastroduodenoscopia și fibrocolonoscopia), fibroepifaringoscopia, la prezența semnelor de afectare a nazofaringelui.

Examenul hematologic a inclus analiza generală a sângelui, mielograma (punctatul măduvei oaselor) și trepanobiopsia osului iliac.

Statistică descriptivă. Datele sunt prezentate sub formă de valori absolute și relative.

Rezultate

Astfel, această variantă a LNH a predominat la persoanele cu vârsta de 40-69 de ani (87,6%), preponderent 50-59 de ani (40%). Vârsta medie a bolnavilor a constituit 54,3 de ani (Tabelul 1). Examinarea imunohistochimică a depistat pozitivi clusterii de diferențiere (CD): CD19, CD20 și CD10, iar CD5 și CD23 au fost negativi, ceea ce este caracteristic pentru

cal types (grades) of follicular lymphomas, accepted by WHO, and are specified, which are clinically heterogeneous.

This classification of follicular lymphoma has a clinical significance. The increase of the number of centroblasts is associated with a poor prognosis [8]. After 9-10 years, this lymphoma can transform into an aggressive lymphoma that preserves its follicular nature in some places, and in other places is not different from other diffuse macrocellular B-lymphomas [9, 10].

In last years the histological, immunohistochemical and molecular biology methods were main directions of studying of follicular non-Hodgkin's lymphoma. That is why the study of clinical aspects in complex with histological, immunohistochemical and molecular biology methods it is very important.

Material and methods

It is a prospective and descriptive study. The clinical, hematological and immunohistochemical data of follicular non-Hodgkin's lymphoma were studied in 16 patients, who were the obvious hematologist in the Oncology Institute (Hematology Center and Advisory Diagnostic Center). The information was collected from the outpatient cards and from the chips in inpatient. The identification of this NHL variant was conducted in accordance with the International histological and cytological Classification of the tumor pathologies of the hematopoietic and lymphatic tissue, proposed by the WHO in 2008 [7]. For this purpose, histological (hematoxylin-eosin stain) and immunohistochemical methods of the biopsates of lymph nodes and other tissues affected were used.

The stage of the disease was determined in accordance with the International Clinical Classification, developed in Ann-Arbor (USA, 1971). The clinical signs included the medical history and complete physical examination, the “B” signs of overall intoxication (fever >38°C, weight loss >10% in the last 6 months, night sweats), the early symptoms, the prognostic factors which formed the basis of IPI (International Prognostic Index). In order to determine the extent degree of the tumor process, ultrasound examination and chest radiography with tomography of the mediastinum were used. For detecting the damage of the stomach and intestines, radiological and endoscopic examination (fibrogastroduodenoscopy and fibrocolonoscopy) were performed, fibroepifaryngoscopy was made in the presence of the signs of nasopharyngeal affection.

The hematological examination included the general blood count, the myelogram (puncture of the bone marrow) and the histological investigation of the bone marrow obtained by means of trepanobiopsy of the iliac bone.

Descriptive statistics. Data are presented as absolute and relative values.

Results

The disease developed in adults and prevailed in people aged from 40 to 69 years (87.6%), preponderant 50-59 years (40%) and prevailed in women (62.5%). The mean age recorded was 54.3 years (Table 1). The diagnosis was established histologically and immunohistochemically with positive CD19, CD20, CD10, and negative CD23 and CD5.

The evaluation of the primary tumor localization showed that primarily at the onset of NHL, the peripheral lymph nodes

Tabelul 1. Distribuția pacienților cu LNH folicular în funcție de vârstă și repartizare pe sexe.

Vârsta (ani)	n (%)	Repartizarea pe sexe	
		Bărbați, n (%)	Femei, n (%)
30 – 39	1 (6%)	1 (100)	-
40 – 49	4 (25%)	2 (50,0)	2 (50,0)
50 – 59	7 (40%)	1 (14,2)	6 (85,8)
60 – 69	3 (20%)	1 (33,3)	2 (66,7)
70 – 80	1 (6,3%)	1 (100)	-
Total:	16 (100%)	6 (37,5)	10 (62,5)

Tabelul 2. Distribuția pacienților cu LNH folicular, în funcție de localizarea focarului tumoral primar.

Localizarea focarului primar tumoral	n	%
Ganglionii limfatici periferici	6	38,0
Splina	6	38,0
Țesuturile moi	2	12,0
Glanda mamară	1	6,0
Colonul	1	6,0
Total	16	100

limfomul folicular. Focarul tumoral primar al LNH foliculare s-a dezvoltat, cel mai frecvent, în ganglionii limfatici periferici (6 bolnavi) și în splină (6 bolnavi). În celelalte 4 cazuri, au fost primar afectate țesuturile moi (2 bolnavi), glanda mamară și colonul (câte 1 pacient) (Tabelul 2). Este necesar de menționat că majoritatea pacienților cu LNH folicular (81,0%) au fost diagnosticați în stadiile generalizate (III-IV), preponderent în stadiul IV. Doar 3 bolnavi (18,0%) au fost diagnosticați în stadiile locale (I-II). Stadiul III a fost diagnosticat la 2 pacienți, stadiul IV – la 11 pacienți. Stadiul I a fost constatat numai la 2 bolnavi, iar stadiul II – la 1 pacient (Tabelul 3).

Tabelul 3. Distribuția pacienților cu LNH folicular, în funcție de stadiul clinic.

Stadiul clinic	n	%
I	1	6,0
I E*	1	6,0
II	-	-
II E	1	6,0
III	2	12,0
III E	-	-
IV	11	70,0
Total	16	100

Notă: *- extranodal.

Repartizarea pacienților în funcție de localizarea focarului primar și stadiul maladiei ne-a indicat că în stadiile locale (I-II) a fost diagnosticat doar câte un pacient cu debutul LNH în ganglionii limfatici periferici, și anume, cervicali, glanda mamară și țesuturile moi (Tabelul 4). La majoritatea bolnavilor cu afectarea primară a ganglionilor limfatici periferici (83,0%) și la toți bolnavii cu LNH lienale (100%), diagnosticul a fost stabilit

Table 1. Distribution of the patients with follicular NHL by age and gender.

Age (years)	n (%)	Gender	
		Men, n (%)	Women, n (%)
30 – 39	1 (6%)	-	1 (100)
40 – 49	4 (25%)	2 (50.0)	2 (50.0)
50 – 59	7 (40%)	1 (14.2)	6 (85.8)
60 – 69	3 (20%)	1 (33.3)	2 (66.7)
70 – 80	1 (6.3%)	1 (100)	-
Total	16 (100%)	6 (37.5)	10 (62.5)

Table 2. Distribution of the patients with follicular NHL according to the localization of the primary tumor focus.

Localization of the primary tumor focus	n	%
Peripheral lymph nodes	6	38.0
Spleen	6	38.0
Soft tissues	2	12.0
Mammary gland	1	6.0
Colon	1	6.0
Total	16	100

(6 patients) and spleen (6 patients) were equally affected. More rarely, the onset of follicular NHL occurred in the soft tissues (2 patients), colon and mammary gland (1 patient each, respectively) (Table 2).

Most patients (81.0%) were diagnosed in generalized stages (III and IV), predominantly stage IV. Only in 3 cases (18.0%), at the time of diagnosis establishment local stages (I and II) were determined. Stage III was diagnosed in 2 patients, stage IV – in 11 patients. Stage I has been found only in 2 patients, and stage II – in 1 patient (Table 3). The distribution of the patients according to the localization of the primary

Table 3. Distribution of the patients with follicular NHL according to the clinical stage.

Clinical stage	n	%
I	1	6.0
I E*	1	6.0
II	-	-
II E	1	6.0
III	2	12.0
III E	-	-
IV	11	70.0
Total	16	100

Note: *- extra nodal.

focus and stage of the disease has shown that in local stages (I-II) only one patient with the onset of NHL in the peripheral lymph nodes and namely the cervical ones, in the mammary gland and soft tissues was diagnosed in each group (Table 4).

Most patients with the primary affection of the peripheral lymph nodes (83.0%) and all patients with lienal NHL (100%) at diagnosis establishment were found with gener-

Table 4. Distribuția pacienților cu LNH foliculare, în funcție de localizarea focarului primar tumoral și stadiul clinic.

Localizarea focarului primar tumoral	n	Stadiul clinic			
		I	II	III	IV
		abs. (%)	abs. (%)	abs. (%)	abs. (%)
Ganglionii limfatici periferici	6	1 (17,0)	-	2 (33,0)	3 (50,0)
Splina	6	-	-	-	6 (100)
Țesuturile moi	2	1 (50,0)	-	-	1 (50,0)
Glanda mamară	1	-	1 (100)	-	-
Colonul	1	-	-	-	1 (100)
Total	16	2 (13,0)	1 (6,0)	2 (13,0)	11 (68,0)

în stadiile generalizate (III-IV). LNH foliculare, independent de localizarea primară a focarului tumoral, au un debut lent, care, inițial, nu provoacă disconfort pacienților; însă, ulterior, are loc o generalizare rapidă, din cauza căreia pacienții se adresează la medic.

Deși majoritatea pacienților au fost diagnosticați în stadiile generalizate, simptomele de intoxicație generală au fost înregistrate doar la 3 (19,0%) pacienți. La toți 3 bolnavi cu simptome de intoxicație, focarul primar tumoral a fost localizat în ganglionii limfatici periferici.

La majoritatea pacienților (11 din 13 – 77,0%), urmăriți până la stadiul II, la etapa inițială procesul tumoral s-a răspândit în ganglionii limfatici din zonele vecine. Însă, este necesar de menționat, că metastazarea în ganglionii limfatici regionali este în funcție de localizarea focarului primar. În cazul afectării primare a splinei, răspândirea LNH în ganglionii limfatici regionali a fost depistată doar la jumătate din bolnavi (50%), iar, în cazul celorlalte localizări, la toți bolnavii (100%) au fost depistate metastaze în ganglionii limfatici din zonele vecine.

Răspândirea procesului tumoral, rar, s-a limitat doar la ganglionii limfatici din zonele vecine. Din numărul pacienților urmăriți mai mult de stadiul II (13 bolnavi), în scurt timp, la 6 (47,0%) dintre ei, au fost depistate metastaze în ganglionii limfatici la distanță, la 4 (31,0%) – în ganglionii limfatici regionali și, ulterior, extranodale. În 3 (23,0%) cazuri, cu afectarea primară a splinei, metastazele extranodale au fost diagnosticate fără afectarea ganglionilor limfatici regionali și la distanță (Tabelul 5).

După metastazarea în ganglionii limfatici regionali, procesul tumoral s-a răspândit în alte organe și țesuturi. În 50% din cazuri de LNH cu afectare primară a splinei, au fost determinate metastaze extranodale direct în măduva oaselor, chiar și fără afectarea ganglionilor limfatici regionali.

Apariția formațiunilor tumorale în afara ganglionilor limfatici a avut loc frecvent. La majoritatea bolnavilor (11 din 16), au fost înregistrate metastaze extranodale. Până la stadiul IV, au fost urmăriți 11 bolnavi. Celelalte 5 cazuri rămân sub supraveghere în stadiile I, II și III. Așa, un număr mare de pacienți, la care au avut loc metastaze extranodale, arată că pentru această variantă a LNH este caracteristică interesarea în procesul de generalizare a tumorii a diferitor organe și țesuturi. Una dintre cele mai frecvente zone de metastazare extrano-

Table 4. Distribuția pacienților cu folicular NHL according to the localization of the primary tumor focus and the clinical stage.

Localization of the primary tumor focus	n	Clinical stage			
		I	II	III	IV
		abs. (%)	abs. (%)	abs. (%)	abs. (%)
Peripheral lymph nodes	6	1 (17.0)	-	2 (33.0)	3 (50.0)
Spleen	6	-	-	-	6 (100)
Soft tissues	2	1 (50.0)	-	-	1 (50.0)
Mammary gland	1	-	1 (100)	-	-
Colon	1	-	-	-	1 (100)
Total	16	2 (13.0)	1 (6.0)	2 (13.0)	11 (68.0)

alized stages (III-IV). These data allow us to assume that follicular NHLs, independently of the localization of the primary tumor focus, have a slow onset that initially does not cause discomfort to the patients, but later there is a rapid generalization which makes them seek medical attention.

Although most patients were diagnosed in generalized stages, the symptoms of general intoxication were registered only in 3 patients (19.0%). The symptoms of poisoning were manifested by weight loss in 2 patients and abundant sweating in one case. In all 3 patients with symptoms of poisoning, the primary tumor focus was located in the peripheral lymph nodes.

In the majority of patients (11 out of 13 – 77.0%), followed up to stage II, at the initial phase the tumor process has spread to the lymph nodes in the adjacent areas. But it is worth mentioning that metastasis in the regional lymph nodes depends on the localization of the primary focus. In patients with primary impairment of the spleen, the spread of NHL in the regional lymph nodes occurred in only half of the patients (50%), while in all the other localizations, metastases in the lymph nodes from the surrounding areas were observed in all the cases (100%).

The spreading of the tumor process was rarely limited only to the lymph nodes in the adjacent areas. Among the patients followed during stage II and more (13 patients), in 6 (47.0%) metastasis in the distant lymph nodes took place shortly, and in 4 (31.0%) of them, immediately after the regional lymph nodes extranodal metastases were found. In 3 (23.0%) cases with the primary affection of the spleen, extranodal metastases were diagnosed without the affection of the regional and distant lymph nodes (Table 5).

Thus, it can be concluded that in cases of primary impairment of the peripheral lymph nodes, there is a consecutive order in the spreading of the tumor process in the lymph nodes to the adjacent areas, and later to the distant ones. In patients with follicular NHLs with primary extranodal localization, the distant lymph nodes were not affected in any way. Immediately after the metastases in the regional lymph nodes, the tumor process has spread to other organs and tissues. And in cases of NHL with primary affection of the spleen, half (50%) of the patients had extranodal metastases directly in the bone marrow even without the affection of the regional lymph nodes.

The occurrence of the tumor masses outside the lymph nodes was frequent. In the majority of the patients, extranodal metastases were recorded: 11 of 16 patients. There were 11

Tabelul 5. Frecvența afectării ganglionilor limfatici la distanță și a zonelor extranodale după apariția metastazelor în ganglionii limfatici regionali, în funcție de localizarea focarului primar.

Zonele de metastazare (numărul de bolnavi)	Localizarea focarului primar (%)	Localizarea focarului primar			
		Ganglionii limfatici periferici, abs. (%)	Splina, abs. (%)	Țesuturi moi, abs. (%)	Colonul, abs. (%)
Ganglionii limfatici la distanță după metastazele în ganglionii limfatici regionali (n=6)	46,0	5 (100)	1 (17,0)	-	-
Metastaze extranodale apărute după ganglionii limfatici regionali fără ganglionii limfatici la distanță (n=4)	31,0	-	2 (33,0)	1 (100)	1 (100)
Metastaze extranodale fără ganglionii limfatici regionali și la distanță (n=3)	23,0	-	3 (50,0)	-	-
În total (n=13)	100	5 (100)	6 (100)	1 (100)	1 (100)

dală a fost măduva oaselor (73,0%), după care a urmat ficatul (36,0%), mai rar splina, nazofaringele, intestinul și țesuturile moi, care au fost identificate cu aceeași frecvență (9,0%) (Tabelul 6). S-a observat că zonele de metastazare extranodală au fost în funcție de localizarea focarului primar. Măduva oaselor a fost interesată la toți pacienții cu afectarea primară a splinei (100%) și în 40% din cazuri, când focarul primar a fost localizat în ganglionii limfatici periferici. Metastaze în ficat, splină, de asemenea, au fost înregistrate în LNH foliculare ale splinei și ganglionilor limfatici periferici.

La pacienții cu debut al LNH în țesuturile moi și colon nu au fost constatate metastaze în măduva oaselor. Însă, în cazurile de afectare primară a țesuturilor moi, procesul tumoral s-a răspândit în oase, iar a colonului – în alte zone ale intestinului.

Tabelul 6. Frecvența metastazelor extranodale în funcție de localizarea focarului primar tumoral.

Localizarea metastazelor extranodale	n (%)	Localizarea focarului primar tumoral, n (%)			
		G/l periferici (n=3)	Splina (n=6)	Țes. moi (n=1)	Colonul (n=1)
Măduva oaselor	8 (73,0)	2 (67,0)	6 (100)	-	-
Ficatul	3 (36,0)	1 (33,0)	3 (50,0)	-	-
Splina	1 (9,0)	2 (67,0)	-	-	-
Țesuturile moi	1 (9,0)	1 (33,0)	-	1 (100)	-
Nazofaringele	1 (9,0)	2 (67,0)	-	-	-
Intestin	1 (9,0)	-	-	-	1 (100)

În cazurile de afectare a măduvei oaselor, modificările hematologice au fost diverse. La 5 (63,0%) pacienți a fost depistată anemia, la 4 dintre ei – de gradul I și într-un caz – de gradul II. La pacientul dat, splina a fost primar afectată; ea ocupa aproape toată cavitatea abdominală. Numărul mediu al eritrocitelor a fost de $4,0 \times 10^{12}/l$ (extreme: $3,1-4,5 \times 10^{12}/l$), iar valoarea medie a hemoglobinei a fost de 119 g/l (extreme: 90–140 g/l).

Table 5. Frequency of affection of the distant lymph nodes and extra nodal regions after the development of metastases in the regional lymph nodes according to the localization of the primary tumor focus.

Areas of metastasis (number of patients)	Localization of the primary focus (%)	Localization of the primary focus			
		Peripheral lymph nodes, abs. (%)	Spleen, abs. (%)	Soft tissues, abs. (%)	Colon, abs. (%)
Distant lymph nodes after metastases in the regional lymph nodes (n=6)	46.0	5 (100)	1 (17.0)	-	-
Extra nodal metastases developed after the affection of the regional lymph nodes without the distant lymph nodes (n=4)	31.0	-	2 (33.0)	1 (100)	1 (100)
Extra nodal metastases without the affection of the regional and distant lymph nodes (n=3)	23.0	-	3 (50.0)	-	-
Total (n=13)	100	5 (100)	6 (100)	1 (100)	1 (100)

patients followed up to stage IV. The other 5 cases remained under supervision in stages I, II and III. Thus, the large number of patients who had extranodal metastases shows that for this NHL variant the involvement in the process of tumor generalization of different organs and tissues is characteristic. One of the most common areas of extranodal metastasis was the bone marrow (73.0%), followed by the liver (36.0%), more rarely the spleen, nasopharynx, intestine and the soft tissues that have been identified with the same frequency (9.0%) (Table 6).

Table 6. Frequency of extra nodal metastases according to the localization of the primary tumor focus.

Localization of extra nodal metastases	n (%)	Localization of the primary tumor focus, n (%)			
		Peripheral lymph nodes (n=3)	Spleen (n=6)	Soft tissues (n=1)	Colon (n=1)
Bone marrow	8 (73.0)	2 (67.0)	6 (100)	-	-
Liver	3 (36.0)	1 (33.0)	3 (50.0)	-	-
Spleen	1 (9.0)	2 (67.0)	-	-	-
Soft tissues	1 (9.0)	1 (33.0)	-	1 (100)	-
Nasopharynx	1 (9.0)	2 (67.0)	-	-	-
Intestine	1 (9.0)	-	-	-	1 (100)

It was observed that the areas of extranodal metastasis were based on the localization of the primary tumor focus. Bone marrow was involved in all the patients with primary spleen affection (100%) and in 40% of cases when the primary focus was localized in the peripheral lymph nodes. Metastases in the liver, spleen were also recorded in follicular NHLs of the spleen and peripheral lymph nodes.

In patients with NHL onset in the soft tissues and colon, metastases in the bone marrow never occurred. However, the tumor process has spread in the cases of primary affection of the soft tissues to the bones, and of the colon – to other parts of the intestine.

Numărul de leucocite a fost redus ($<4,0 \times 10^9/l$) la 1 pacient și a constituit $1,6 \times 10^9/l$. Numărul de leucocite a fost majorat ($>9,0 \times 10^9/l$) în 3 (37,5%) cazuri și a constituit $11,0 \times 10^9/l$, $13,6 \times 10^9/l$ și $31,9 \times 10^9/l$, din contul limfocitelor. Limfocitoza la acești bolnavi a constituit 71%, 79% și 66%, respectiv. La 3 (37,5%) pacienți numărul de leucocite a fost în limitele normei. Valoarea medie a leucocitelor a fost de $8,0 \times 10^9/l$ (extreme: $1,6-31,9 \times 10^9/l$), iar valoarea medie a limfocitelor din formula leucocitară a fost de 32,5% (extreme: 7,0-79,0%).

Trombocitopenie ($77,4 \times 10^9/l$) a fost numai la 1 (12,5%) pacient. Valoarea medie a trombocitelor a fost de $258,1 \times 10^9/l$ (extreme: $77,4-370,0 \times 10^9/l$).

În punctatul măduvei oaselor, limfocitoză în mielogramă a fost depistată numai la pacienții cu limfocitoză în sângele periferic. Limfocitoza în mielogramă a variat de la 56% până la 85%. La 5 (63,0%) pacienți, care n-au avut limfocitoză în sângele periferic și în punctatul sternal, afectarea măduvei oaselor a fost depistată doar prin trepanobiopsie. Celularitatea cantitativă a fost obișnuită. Pe acest fundal, erau diseminate celule limfoide mici și de dimensiuni medii, pe alocuri s-au observat grupuri de celule limfoide fără formarea unor structuri. Numai într-un caz, un grup de celule limfoide aminteau structura unui folicul.

Repartizarea pacienților conform Indexul Prognostic Internațional a arătat că, în majoritatea cazurilor, a fost constatat risc intermediar (44,0%) și risc înalt (44,0%). Un risc redus a fost determinat la doar 2 (12,0%) bolnavi.

Supraviețuirea generală a pacienților peste 2 și 5 ani a constituit 94,0% și 57,2%, respectiv.

Discuții

Limfoamele non-Hodgkin (LNH) includ un grup de tumori maligne ale țesutului limfatic, neomogene după structura morfologică, proprietățile imunohistochemice, citogenetice, ale biologiei moleculare, clinico-morfologice, răspunsul la tratament și prognostic. Una dintre cele mai frecvente variante a LNH indolente este limfomul folicular. În structura LNH indolente, de asemenea, predomină limfomul folicular, care în SUA constituie 35% din toate LNH, 22% în lume și 70% din grupul limfoamelor periferice [11]. LNH foliculare prezintă o patologie cu tendința sporită de creștere a morbidității în toată lumea și, în același timp, în Republica Moldova. LNH foliculare s-au dezvoltat, preponderent, la persoanele cu vârsta de peste 50 de ani, ceea ce corespunde datelor din literatura internațională [12]. Acest limfom rar este diagnosticat la copii și adolescenți în vârsta de până la 20 de ani, ceea ce a fost evidențiat și în studiul nostru.

Deoarece substratul morfologic al LNH indolente este foarte asemănător, stabilirea diagnosticului cu identificarea variantelor poate fi determinat prin utilizarea metodelor imunohistochemice. Pentru efectuarea diagnosticului diferențial este necesar de selectat o componentă rațională de markeri imunologici, care permit deosebirea unor sau altor variante ale LNH indolente histologic similare [13]. Pentru limfomul folicular sunt pozitive CD19, CD20, CD22 – antigene pan B-celulare și CD10, lipsesc CD5, CD23, CD38.

În acest scop, ar fi utile și particularitățile clinice ale ma-

In cases of impairment of the bone marrow, the hematological changes were different. In 5 (63.0%) patients anemia was diagnosed, 4 of them had anemia of the Ist grade and 1 patient had anemia of the IInd grade. In this patient, the spleen was primarily affected, it occupied almost the entire abdominal cavity. It might be possible that the hemoglobin content in this patient was reduced not only as a result of the bone marrow affectation, but also as a result of the RBC destruction in their passage through the enlarged spleen. The average value of RBC was $4.0 \times 10^{12}/l$ (extreme: $3.1-4.5 \times 10^{12}/l$), and the average hemoglobin value was 119 g/l (extreme: 90-140 g/l).

WBC count was low ($<4.0 \times 10^9/l$) in 1 patient and constituted $1.6 \times 10^9/l$. WBC count was increased ($>9.0 \times 10^9/l$) in 3 (37.5%) cases and amounted to $11.0 \times 10^9/l$, $13.6 \times 10^9/l$ and $31.9 \times 10^9/l$ on the account of lymphocytes. Lymphocytosis in these patients was 71%, 79% and 66%, respectively. In 3 (37.5%) patients, the white blood cell count was within the normal range. The average value of WBC was $8.0 \times 10^9/l$ (extreme: $1.6-31.9 \times 10^9/l$), and the average lymphocyte blood count was 32.5% (extreme: 7.0-79.0%).

Thrombocytopenia ($77.4 \times 10^9/l$) was detected in only 1 (12.5%) patient. The average value of platelets was $258.1 \times 10^9/l$ (extreme: $77.4-370.0 \times 10^9/l$).

In the bone marrow puncture, lymphocytosis was found in the myelogram only in patients with peripheral blood lymphocytosis. Lymphocytosis in the myelogram ranged from 56% to 85%. In 5 (63.0%) patients who did not have lymphocytosis in the peripheral blood and in the sternal puncture, bone marrow affectation was detected only by trepanobiopsy. These data show the importance of examining patients with malignant lymphomas, including follicular lymphomas. Quantitative cellularity was common. On this background, there were disseminated small and medium size lymphoid cells, locally groups of lymphoid cells without the formation of structures were determined. Only in one case, a group of lymphoid cells resembled the structure of a follicle.

The distribution of patients according to the International Prognostic Index showed that in most of the cases, intermediate risk (44.0%) and high risk (44.0%) was found. Low risk was determined in only 2 patients (12.0%).

The overall survival for more than 2 and 5 years was 94.0% and 57.2%, respectively.

Discussion

Non-Hodgkin's lymphomas (NHL) are a group of malignant tumors of the lymphatic tissue, inhomogeneous after morphological structure, immunohistochemistry, cytogenetics, molecular biology, treatment response and prognosis. One of the most common variants of indolent non-Hodgkin's lymphoma (NHL) is follicular lymphoma. Among the indolent NHL, the prevailing one is also follicular lymphoma, which represents 35% of all NHL in USA, 22% in the world and 70% of the peripheral group lymphomas [11]. Follicular non-Hodgkin lymphoma is a pathology with increased trend of increasing morbidity worldwide including in Republic of Moldova. Follicular non-Hodgkin's lymphoma developed only in adults, mainly in people aged over 50 years, corresponding data from the international literature [12]. This lymphoma is rarely diagnosed in

lădiei (localizarea focarului primar tumoral, evoluția clinică, zonele de metastazare) și hematologice, în cazurile de afectare a măduvei oaselor (hemograma, medulograma, tabloul histologic al măduvei oaselor) ale variantelor LNH foliculare. Însă, în literatură, astfel de studii lipsesc. Aceste date ar reprezenta un criteriu, în baza căruia ar fi posibil de selectat mai rațional anticorpii monoclonali pentru confirmarea imunohistochemică a variantelor LNH indolente și ar simplifica, în anumite cazuri, complexul vast și costisitor de investigații. Majoritatea pacienților cu limfoame foliculare sunt de vârstă avansată și la adresare sunt în stadii generalizate ale bolii. Majoritatea pacienților vârstnici sunt diagnosticați în stadii avansate. Numai la 30% dintre pacienți, procesul tumoral este diagnosticat în stadiile I și II ale bolii [2, 3]. În perioada de generalizare a procesului tumoral, măduva oaselor a fost implicată frecvent (72,7%), fapt manifestat prin leucemizare. Supraviețuirea pacienților cu LNH foliculare peste 2 ani a constituit 94,0%, iar peste 5 ani – 57,2%, ceea ce corespunde cu datele literaturii internaționale [14].

Concluzii

- 1) Limfomul non-Hodgkin folicular s-a dezvoltat, preponderent, la persoanele cu vârsta de peste 50 de ani.
- 2) La examenul imunohistochemic, au fost pozitive CD19 și CD20, care au confirmat apartenența liniei B-limfocitare cu CD10 pozitiv, iar CD5 și CD23 – negative.
- 3) Focarul primar tumoral s-a dezvoltat mai des în ganglionii limfatici periferici și splină.
- 4) În perioada de generalizare a procesului tumoral, măduva oaselor a fost implicată frecvent (72,7%), fapt manifestat prin leucemizare.
- 5) Supraviețuirea bolnavilor peste 2 ani a constituit 94,0%, iar peste 5 ani – 57,2%.

Referințe / references

1. Воробьев А., Кременецкая А. Атлас. Опухоли лимфатической системы. Издательство Ньюдиамед, Москва. 2007, С. 292.
2. Bastion Y, Sebban C, Berger F. *et al.* Incidence, predictive factors, and outcome of lymphoma transformation in follicular lymphoma patients. *J. Clin. Oncol.*, 1997, 15 (4): 1587-94.
3. Ferry J., Harris N. Atlas of lymphoid hyperplasia and lymphoma. In: Day L., editor. 1st ed. Philadelphia, PA: W. B. Saunders Company, 1997; p. 273.
4. Anderson J., Armitage J., Weisenburger D. Epidemiology of the non-Hodgkin's lymphomas: distributions of the major subtypes differ by geographic locations. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Ann. Oncol.*, 1998; 9 (7): 717-20.
5. Junlen H., Peterson S., Kimby E., *et al.* Follicular lymphoma in Sweden: nationwide improved survival in the rituximab era, particularly in elderly women: a Swedish Lymphoma Registry study. *Leukemia*, 2015; 29 (3): 668-676.
6. Diebold J. The WHO classification of malignant lymphomas. *Exp. Oncol.*, 2001; 23: 101.
7. Campo E., Swerdlow S., Harris N., Pileri S., Stein H., Jaffe E. The 2008 WHO Classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concept and practical applications. *Blood*, 2011; 117: 5019-5032.
8. Martinez A., Lin L., Dumphy C. Grading of follicular lymphoma comparison of routine histology with immunohistochemistry. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2007; 131 (7): 1084-1088.
9. Lossos I., Gascone R. Transformation of follicular lymphoma. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, 2011; 24 (2): 147-63.

children and adolescents aged up to 20 years, as it has been highlighted in our study.

The morphological substrate of indolent NHL is very similar, and in this case the establishment of types of NHL can be determined using immunohistochemical methods [1]. At immunohistochemistry, CD19 and CD20 were positive, confirming the relationship of the B-lymphocyte line with positive CD10 and negative CD23 and CD5.

Would be useful the clinical signs (localization of the primary tumor focus, clinical evolution, metastasis areas) and blood particularities, then it is affected the bone marrow (the general blood count, the myelogram and the histological investigation of the bone marrow obtained by means of trepan biopsy of the iliac bone) of follicular non-Hodgkin lymphomas. But in literature, such studies are lacking. These figures represent a criterion based on which it would be possible to select more rational monoclonal antibodies for confirmation types of non-Hodgkin lymphomas. Most patients are in advanced age and address are generalized stages of the disease. Only in 30% of patients, the tumor process is diagnosed in the stages I and II of the disease [2, 3]. One of the most common areas of extra nodal metastasis was the bone marrow (73.0%). The overall survival for more than 2 and 5 years was 94.0% and 57.2%, respectively, corresponding data from the international literature [13].

Conclusions

- 1) Follicular non-Hodgkin's lymphoma developed only in adults, mainly in people aged over 50 years.
 - 2) The tumor lymphoid cells from the germinal centers of the lymph node follicles form follicles, but there are rarely encountered cases of diffuse affectation. At immunohistochemistry, CD19 and CD20 were positive, confirming the relationship of the B-lymphocyte line with positive CD10 and negative CD23 and CD5.
 - 3) The primary tumor focus developed to the same extent in the peripheral lymph nodes and in the spleen.
 - 4) During the process of tumor generalization, in 72.7% of cases bone marrow was affected, which was manifested by leukemisation.
 - 5) The survival of patients at 2 years was 94.0% and at over 5 years – 57.2%.
10. Lerch K., Meyer A., Stroux A. *et al.* Impact of prior treatment on outcome of transformed follicular lymphoma and relapsed de novo diffuse large B cell lymphoma: a retrospective multicentre analysis. *Ann. Haematol.*, 2015; 94 (6): 981-8.
 11. Воробьев И., Худолева О., Ращупкина Т., Грецов Е. Иммунофенотипирование опухолей системы крови и лимфатических опухолей. Часть I. Зрелоклеточные лимфомы и лимфосаркомы. *Гематология и трансфузиология*, 2005; 50 (1): 7-12.
 12. Frizzera G., Murphy S. Follicular (nodular) lymphoma in childhood. A rare clinicopathological entity. Report of eight cases from four cancer centres. *Cancer*, 1979; 44: 2218-2235.
 13. Воробьев А., Кременецкая А. Атлас. Опухоли лимфатической системы. Издательство Ньюдиамед, Москва, 2007; с. 292.
 14. Сидоренко Ю., Айрапетов К., Верховцева А. Исследование качества жизни больных с неходженскими лимфомами и его клиническое значение. I Национальный Конгресс по Онкологии, Кишинёв, 2000, с. 294.