

**Universitatea "Lucian Blaga" din Sibiu
Facultatea de Medicină "Victor Papilian"**

**CORELAȚII CLINICO-BIOLOGICE ȘI EVOLUTIVE
ÎN LEUCEMIA LIMFATICĂ CRONICĂ**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC
PROF.DR. IOAN MANIȚIU**

**DOCTORAND
GABRIELA ARIADNA COCIȘIU**

Sibiu – 2014

CUPRINS

I. PARTEA GENERALĂ

Capitolul 1: Introducere - definiție, clasificare 5
Capitolul 2: Originea celulei leucemice din leucemia limfatică cronică 5
Capitolul 3: Epidemiologie 8
Capitolul 4: Etiologia 9
Capitolul 5: Manifestări clinice 10
Capitolul 6: Explorări biologice 11
6.1. SÂNGELE PERIFERIC 11
6.2. MĂDUVA OSOASĂ 13
6.3. GANGLIONII LIMFATICI 13
6.4. IMUNOFENOTIPAREA 14
6.5. EVALUAREA RADIOLOGICĂ 15
6.6. MODIFICĂRI CITOGENETICE 15
6.7. PROTOCOL DE INVESTIGAȚII ÎN DIAGNOSTICUL ȘI URMĂRIREA EVOLUȚIEI LLC 15
Capitolul 7 : Evoluție 17
7.1. Stadiul clinic după Binet si Rai 17
7.2. Factori de prognostic 18
Capitolul 8: Complicații 20
8.1. Complicații infecțioase 20
8.2. Complicații autoimune 21
Capitolul 9: Tratamentul 25
9.1. Tratament medical 25
9.2. Transplantul de celule hematopoetice 32
9.3. Terapia genică, vaccinarea și imunomodularea 33
9.4. Terapia chirurgicală 35
9.5. STRATEGIE TERAPEUTICĂ PENTRU PACIENȚII CU LLC 35
9.6. Boala minimă reziduală MDR 38
9.7. Evoluția bolii în lipsa tratamentului 39
9.8. Concluzie cu privire la arsenalul terapeutic 40

II. PARTEA SPECIALĂ

1. Motivația și obiectivele studiului ..	. 41
2. Metodologia studiului .	. 41
3. Studiul 1 - Caracteristicile clinico-biologice ale lotului de pacienți cu LLC studiat pe o perioadă de 7 ani .	. 43
4. Studiul 2 - Evaluarea parametrilor clinico-biologici în dinamică și identificarea unor factori predictivi .	. 63
5. Studiul 3. Tratamentul actual în leucemia limfatică cronică .	. 73
6. Concluzii generale .	. 143
7. Limitele studiului ..	. 144
8. Ce aduce nou acest studiu .	. 144
REFERINȚE .	. 145

Cuvinte cheie: LLC, corelații clinice, colesterol, evoluție, tratament

SINTEZA PĂRȚII GENERALE

Leucemia limfatică cronică se caracterizează prin acumularea progresivă de limfocite monoclonale, având fenotip specific (CD5⁺, CD19⁺, CD23⁺, FMC7^{dim}, CD20^{dim}, SmIg^{dim}) în sângele periferic, măduva osoasă și țesuturile limfoide.

Sistemele de clasificare a sindroamelor limfoproliferative cronice s-au dezvoltat odată cu evoluția tehnicilor de diagnostic. Clasificarea REAL din 1990 se baza pe criterii morfologice, imunologice și clinice. Din anul 2009 majoritatea hematologilor au adoptat sistemul WHO 2008, în care apar prima dată și aspectele moleculare.

LLC este cea mai comună formă de leucemie în rândul adulților în vârstă din țările occidentale, reprezentând aproximativ 30% din totalul leucemiilor și având o incidență de 3,7 la 100.000 de indivizi pe an în Statele Unite. Vârsta medie la stabilirea diagnosticului este de 72 de ani, dar în ultimii ani, o treime din cazurile noi sunt diagnosticate înainte de vârsta de 55 de ani. Având în vedere rata medie lungă de supraviețuire (în jur de 10 de ani), prevalența LLC este între 0,03% și 0,05%. Raportul între incidența bolii la bărbați și femei este de aproximativ 1.5-2:1. Sexul masculin constituie un important factor de risc pentru afecțiunile maligne hematologice, dar factorii cauzali care stau la baza acestei asocieri sunt necunoscuți. Expunerile ocupaționale ar putea fi totuși incriminate.

Etiologia LLC este în cea mai mare parte necunoscută, deși vârsta înaintată, rasa caucaziană și istoricul familial de afecțiuni maligne sau alte boli limfoproliferative au fost în mod constant recunoscute ca fiind factori de risc pentru LLC. Rudele de gradul I ale pacienților cu LLC au un risc de a dezvolta aceeași boală de 2-7 ori mai mare decât populația generală. Un risc crescut pentru LLC au agricultorii și alte ocupații agricole, precum și cei expuși la solvenți organici și alte substanțe chimice (benzen, butadienă).

Manifestările clinice cele mai frecvente sunt hipertrofia ganglionilor limfatici (87%), splenomegalia (54%) și hepatomegalia (14%). La un număr mai mic de pacienți se raportează simptome de tip "B" (astenie, febră, scădere în greutate sau transpirații nocturne), iar 25% din pacienți sunt asimptomatici. Hipertrofiile amigdaline se asociază uneori cu cele ale glandelor salivare și lacrimale (sindrom Mikulicz). Dacă numărul leucocitelor depășește 500.000/mm³ apare sindromul de hipervâscozitate (cefalee, amețeli, nistagmus, tulburări de vedere).

Dacă diagnosticul de LLC este relativ simplu de făcut, evoluția bolii este extrem de variabilă. Unii pacienți nu au simptome sau simptomatologia este minimă și pot avea o durată de viață normală, în timp ce la alții progresia se face rapid și duce la deces.

Markerii biologici asociați cu o formă mai agresivă de LLC sunt: timpul de dedublare rapidă a limfocitelor, modificările citogenetice, beta-2 micro-globulina din ser, expresia CD38 și ZAP70, gena fără mutație pentru lanțurile grele de imunoglobuline, anomaliile cromozomiale, lungimea și statusul mutațional al telomerelor.

Cele mai frecvente complicații specifice bolii sunt infecțiile și fenomenele autoimune. Mai rar se întâlnesc transformările în forme agresive sau apariția celei de-a doua neoplazii.

În momentul diagnosticului, majoritatea pacienților cu LLC nu necesită chimioterapie până când devin simptomatici sau există dovezi de progresie rapidă a bolii. Tratamentul în LLC devine tot mai personalizat și necesită o cunoaștere detaliată a opțiunilor actuale de tratament: chimioterapia, imunoterapia, transplantul de celule hematopoetice, terapia genică, vaccinarea și imunomodularea sau terapia chirurgicală (splenectomia).

Exceptând cazul în care decesul survine datorită altei boli, LLC netratat progresează inexorabil spre exitus, indiferent că acesta survine în 12 luni sau în 20 de ani.

SINTEZA PĂRȚII SPECIALE

SCOPUL LUCRĂRII

Scopul lucrării este de a identifica parametrii clinico-biologici cu rol prognostic în evoluția pacienților cu leucemie limfatică cronică. Voi analiza, de asemenea, datele epidemiologice, parametrii clinici și biologici în dinamică, modalitatea de răspuns la tratament în funcție de diferitele scheme terapeutice aplicate și stadiul bolii. În urma acestei analize doresc să identific schemele terapeutice cu efecte benefice asupra calității vieții și cu un efect optim în ceea ce privește supraviețuirea pacienților. De asemenea, voi verifica în ce măsură datele obținute sunt în concordanță cu datele din literatura de specialitate.

MATERIAL ȘI METODĂ

Studiul este de tip analitic, observațional, transversal - pacienții au fost preluați și evaluați la momentul diagnosticului, de tip longitudinal prospectiv - pacienții au fost urmăriți până în momentul încheierii studiului și cu o componentă retrospectivă. Studiul s-a întins pe o perioadă de 7 ani și cuprinde 74 de pacienți internați în Secția de Hematologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Sibiu între anii 2008-2014, diagnosticați cu LLC.

Au fost incluși pacienții pentru care s-a realizat îndeplinirea condițiilor de diagnostic pentru LLC: examen clinic, de laborator, imagistic, imunofenotiparea sângelui periferic sau a maduvei osoase și uneori, biopsie cu imunohistochimie.

S-au exclus din studiu cazurile de limfocitoză monoclonală cu celule B sau limfom limfocitic.

Pentru fiecare pacient s-a întocmit o fișă de monitorizare pornind de la datele de identificare, cercetarea foii de observație, a buletinelor de analize și de imunofenotipare, a dosarului medical al pacientului de la admiterea în secția de hematologie și până la terminarea studiului, decesul sau pierderea pacientului din evidență. Exemenul citogenetic s-a putut realiza la o singură persoană.

Probele de sânge pentru hemoleucogramă și examenul imunofenotipic s-au recoltat în tuburi vidate cu anticoagulant tip EDTA K₃ și s-au analizat prin numărare automată cu analizor tip Sysmex XT 2000i, respectiv Cytomic FC 500 Beckman-Coulter. Pentru probele de biochimie, sângele s-a recoltat în tub fără anticoagulant, cu gel separator și analizate după centrifugare, cu ajutorul analizorului Arhitect.

Datele clinice și paraclinice ale fiecărui pacient au fost organizate în baza de date și prelucrate statistic utilizându-se Microsoft Office Excel pentru Windows XP, SPSS (Statistical Program for Social Sciences) versiunea 20.0. Pentru grafice am folosit programul Excel, iar SPSS-ul pentru analiza descriptivă (frecvențe, crosstabulation, etc), corelația Pearson (pentru două variabile ale aceluiași grup), testul T pentru variabile independente (comparație între două grupuri), testul ANOVA (pentru trei sau mai multe grupuri), testul Kaplan-Mayer, testul T, Fischer și Chi-Squared pentru analiza supraviețuirii. S-a considerat că există diferențe cu semnificație statistică la o valoare a parametrului mai mică de 0,05. Pentru Kaplan-Mayer semnificația este dată de Log Rank Test.

Studiul 1 -Caracteristicile clinico-biologice ale lotului de pacienți cu LLC studiat pe o perioadă de 7 ani

Material și metodă

Din fișele de monitorizare ale celor 74 de pacienți cu LLC am extras datele referitoare la vârstă, sex, mediul de proveniență, județul de proveniență, stadiul bolii la diagnostic, statusul metabolic (obezitate, diabet zaharat), hipertensiunea arterială, existența comorbidităților asociate, simptome și semne la diagnostic, statusul biochimic (colesterol, trigliceride, transaminaze, GGT, acid uric, creatinină, fosfataza alcalină, LDH) și hematologic (număr absolut de leucocite, număr absolut de limfocite, hemoglobină, număr de trombocite, infiltrarea medulară cu limfocite) la momentul diagnosticului.

Datele obținute le-am prelucrat statistic utilizând analiza descriptivă pentru frecvențe, medii și mediane, valori maxime și minime, deviația standard, testul T, Chi-Squared, test Pearson.

Rezultate și concluzii

Date demografice

Au fost incluși în studiu un număr de 74 de pacienți care au îndeplinit criteriile de diagnostic pentru LLC. Toți pacienții au fost încadrați imunofenotipic sau imunohistochimic în tipul cu celulă B.

Vârsta medie a pacienților a fost de $67,15 \pm 10,37$ ani (cu o vârstă minimă de 40 ani și o maximă de 89 ani), fără diferențe semnificative între bărbați și femei ($p=0,400$). Proporția cea mai mare de pacienți (65 pacienți, 88%) au peste 55 ani și doar o minoritate (9 pacienți, 12%) au vârsta la diagnostic sub 55 ani ($p < 0,0001$).

În lotul studiat predomină femeile- 54% (40 femei), comparativ cu bărbații- 46% (34 pacienți bărbați), iar raportul bărbați/femei este de 0,85. Nu există diferențe semnificativ statistic între incidențele LLC la femei și bărbați în lotul studiat ($p=0,560$).

Un număr de 50 de pacienți proveneau din mediul urban și 24 din mediul rural ($p=0,004$), majoritatea (88%) din județul Sibiu și doar 12% din județele limitrofe.

S-a analizat relația dintre vârstă sau sex și stadiul bolii și nu am găsit diferențe semnificativ statistice ($p=0,491$, respectiv $p=0,427$).

Date clinice

Din lotul studiat, un număr de 40 de pacienți (54,1%) s-au prezentat la medic în stadiul de boală incipient (0, I sau A), 27 pacienți (36,5%) în stadii intermediare (II sau B) și un număr mic, 7 pacienți (9,5%) în stadiul avansat al bolii (III, IV sau C) ($p=0,011$).

Stadiile incipiente de boală au fost asociate mai frecvent sexului feminin (28 femei și 12 bărbați), raportul se inversează în stadiile intermediare (9 femei și 18 bărbați), iar în stadiile avansate raportul devine aproape unitar (3 femei și 4 bărbați) ($p=0,01$).

În stadiul precoce de boală, vârstele medii la diagnostic ale femeilor și bărbaților sunt foarte apropiate (67,68 ani la femei și respectiv 68,42 ani la bărbați), în stadiile intermediare vârsta medie a femeilor este ușor mai mare (66,89 ani la femei față de 65,33 ani la bărbați) și în stadiul avansat vârsta femeilor este cu mult sub vârsta la diagnostic a bărbaților (65,5 ani la femei și 71 ani la bărbați) ($p=0,004$).

Mai mult de 50% din pacienți se aflau la momentul diagnosticului în stadii incipiente de boală (0, I sau A), aproximativ 1/3 prezentau simptome sistemice de boală (astenie, febră, scădere în greutate sau transpirații nocturne) și 36,8% erau asimptomatici. Hipertrofia ganglionară (52,7%) rămâne semnul cel mai stabil în rândul pacienților cu LLC (52,7%), față de hepatomegalie (27%) sau splenomegalie (29,7%).

Un procent însemnat de pacienți s-au prezentat la diagnostic fără adenopatii (47,3%) sau cu o singură grupă ganglionară afectată (16,2%) și numai un singur pacient avea 6 teritorii ganglionare hipertrofiate.

În ordinea frecvenței afectării, ariile ganglionare se grupează astfel: cea mai frecvent afectată este cea axilară (41,56%), urmează cea latero-cervicală (23,38%), ganglionii submandibulari (10,39%) și cei supraclaviculari (7,79%).

Numărul de grupe ganglionare afectate la momentul diagnosticului se corelează cu stadiul bolii ($p=0,030$), dar nu și cu dimensiunile acestor grupe ($p=0,170$).

Dimensiunea medie a adenopatiilor se situează la $2,10\pm 1,09$ cm, cu un maxim de 5 cm și un minim de 0,5 cm la diagnostic. Unul dintre pacienți s-a prezentat în momentul diagnosticării cu blocuri mari adenopatică. Dimensiunile ganglionilor hipertrofiați nu se corelează cu stadiul bolii ($p=0,060$).

Majoritatea pacienților studiați (77,0%) prezintă boli asociate: cardiopatie ischemică cronică, insuficiențe valvulare cardiace, cord pulmonar cronic, boală cronică obstructivă pulmonară, hepatopatii cronice, pielonefrită cronică, sechele post infarct miocardic, adenom de prostată, insuficiență renală cronică ($p < 0,001$).

Cu istoric de alte neoplazii în antecedente s-au remarcat un număr de 5 pacienți (6,8%), și anume: 2 cancere mamare operate și chimiotratate, 1 cancer cutanat operat, 1 cancer de vezică urinară operat și radiotratat și o boală mieloproliferativă cronică, tratată chimioterapic.

Infiltrarea limfocitară a măduvei osoase la diagnostic se corelează semnificativ statistic cu numărul adenopatiilor ($p=0,004$), prezența splenomegaliei ($p=0,003$), prezența simptomelor - altele decât cele de tip B ($p=0,017$), hemoglobina ($p < 0,001$), numărul de trombocite ($p=0,009$) și stadiul bolii la diagnostic ($p=0,016$).

Referitor la tipul de infiltrare medulară cu limfocite avem, din păcate, date sărace. Doar la 5 pacienți avem descrierea tipului de infiltrare: 2 cazuri cu infiltrare de tip nodular și interstițial, la pacienți în stadii precoce și respectiv avansat de boală și 3 cazuri cu infiltrare difuză, în stadii de boală precoce și intermediar.

La diagnostic, majoritatea pacienților se prezintă cu valori serice normale pentru LDH (67,3%) și colesterol (64,7%), dar în ceea ce privește trigliceridele jumătate din pacienți au valori normale (50,0%) și celalaltă jumătate valori patologice (50,0%).

Stadiul de boală la diagnostic se corelează semnificativ statistic cu prezența hepatomegaliei, splenomegaliei, valoarea hemoglobinei, numărul de trombocite și nivelul colesterolului. De asemenea, cu semnificație statistică sunt și corelațiile între prezența

splenomegaliei, valoarea hemoglobinei, colesterolului și hepatomegalie. Colesterolul se corelează cu nivelul trigliceridelor, iar LDH-ul cu valoarea hemoglobinei.

În sângele periferic, procentul mediu de leucocite la diagnostic era de 57,19%, cu media limfocitelor de 49,94% și o infiltrare limfocitară medie medulară cu de 73,02%. În limitele normalului se situau la diagnostic media valorilor hemoglobinei și a trombocitelor (13,03g/dl și respectiv $178,89 \times 10^3 / \mu\text{l}$), la fel ca și mediile colesterolului și trigliceridelor (192,96 mg/dl și respectiv 154,75 mg/dl). Tot în domeniul normal se situau și mediile celorlalți parametrii biochimici studiați (TGO, TGO, uree, creatinină, acid uric, LDH, GGT, fosfataza alcalină).

- S-a observat că vârsta mediană de debut a LLC este în ușoară scădere față de datele din literatură, iar vârsta medie în stadiile mai avansate de boală este mai mică la femei față de bărbați.
- În zona noastră geografică avem un procent mai mic de pacienți diagnosticați la un stadiu precoce de boală.
- Stadiul bolii la diagnostic se corelează cu nivelul colesterolului sangvin și infiltrarea măduvei osoase cu limfocite.
- Majoritatea pacienților prezintă diferite grade de obezitate, hipertensiune arterială, comorbidități ceea ce îngreunează decizia terapeutică și influențează rata supraviețuirii.
- Dat fiind faptul că mulți pacienți sunt asimptomatici, nu prezintă adenopatii periferice palpabile sau hepato-splenomegalie este de remarcat rolul în creștere al asocierii hemoleucogramei de rutină, cu examenul imunofenotipic sau imunohistochimia pentru diagnosticul stadiilor precoce de boală.

Studiul 2-Evaluarea parametrilor clinico-biologici în dinamică și identificarea unor factori predictivi

Material și metodă

La lotul de 74 pacienți cu LLC, s-au preluat din fișele de monitorizare ale pacientului datele de identificare, sexul, vârsta, stadiul bolii, datele referitoare la statusul bichimic și hematologic înainte și după aplicarea tratamentului chimioterapic.

Lotul a fost subîmpărțit în două grupuri: grupul I- pacienți care nu au primit tratament chimioterapic și grupul II- pacienți care au primit chimioterapie. S-au codificat stadiile de boală cu 0 pentru 0, I și A, cu 1 pentru II și B, cu 2 pentru III, IV și C.

Rezultatele au fost evaluate statistic prin valoarea medie, mediana, deviația standard, minim și maxim. Comparațiile univariabile au fost realizate cu ajutorul testului log-rank.

Variabilele categoriale și continue au fost evaluate folosind testul χ^2 . Toate p -urile au fost considerate semnificative statistic la valoare mai mică sau egală cu 0,05.

Rezultate și concluzii

Grupul I

Date demografice

Grupul I include un număr de 30 de pacienți care nu au beneficiat de tratament chimioterapic. În acest grup vârsta medie la diagnostic a fost de $66,70 \pm 11,67$ ani, iar distribuția pe sexe este următoarea: 22 femei (73,3%) și 8 bărbați (26,7%). Pacienții acestui lot au avut un stadiu mediu de boală de $0,066 \pm 0,253$.

Profilul biochimic și hematologic

În acest lot, colesterolul se corelează direct cu nivelul trigliceridelor ($r=0,257$) și invers cu LDH-ul ($r = -0,303$) și stadiul bolii ($r = -0,253$), dar nu am găsit corelații cu gradul de infiltrare al măduvei cu limfocite, hepato-splenomegalia, numărul și dimensiunile adenopatiilor, hemoglobina și numărul de trombocite.

Grupul II

Date demografice

Grupul II include un număr de 44 de pacienți care au beneficiat de tratament chimioterapic. În acest grup, vârsta medie la diagnostic a fost de $67,45 \pm 9,51$ ani, iar distribuția pe sexe este următoarea: 18 femei (40,9%) și 26 bărbați (59,1%). Stadiul mediu de boală în lotul de pacienți tratați este de $0,860 \pm 0,639$.

Profilul biochimic și hematologic

În urma tratamentului chimioterapic aplicat, în lotul nostru de pacienți parametrii hematologici și biochimici au suferit variații semnificativ statistic în cazul colesterolului ($p=0,028$), ureei ($p= 0,019$), acidului uric ($p <0,001$) și evident leucocitelor ($p <0,001$) și limfocitelor ($p <0,001$). Pentru toți ceilalți parametrii studiați nu se înregistrează variații semnificativ statistic.

Nivelul colesterolului seric a crescut ($p=0,028$) de la o valoare medie de $180,16 \pm 42,2$ mg/dl înaintea aplicării tratamentului chimioterapic, la valoarea medie $196,53 \pm 51,93$ mg/dl, înregistrându-se o creștere medie de $27,17 \pm 45,72$ mg/dl. Trigliceridele au înregistrat, de asemenea, o creștere de la o valoare medie de $157,16 \pm 82,85$ mg/dl la valoarea medie de $167,44 \pm 105,76$ mg/dl, dar creșterea este fără semnificație statistică ($p=0,204$).

Valoarea serică a colesterolului înainte de cura chimioterapică se corelează invers cu stadiul bolii ($p=0,040$), la stadii de boală precoce valoarea medie este de $204,95 \pm 56,53$ mg/dl, iar în stadiile avansate coboară la o valoare medie de $180,53 \pm 37,48$ mg/dl.

Colesterolul sangvin înainte de tratament se corelează direct cu nivelul trigliceridelor ($r=0,436$), mai puternic chiar decât la lotul fără tratament și invers cu stadiul bolii ($r=-0,265$) și procentul de infiltrare medulară cu limfocite ($r=-0,467$), dar nu se corelează cu nivelul LDH-ului. Colesterolul înaintea tratamentului se mai corelează direct cu hemoglobina ($r=0,290$) și numărul de trombocite ($r=0,307$) înaintea tratamentului. Cu cât stadiul bolii este mai avansat și implicit masa tumorală mai mare cu atât nivelul colesterolului sangvin este mai scăzut. Constatarea este în concordanță cu datele din literatură și ipoteza consumului colesterolului de către celulele tumorale pentru propria proliferare.

Colesterolul măsurat după tratament se corelează invers cu stadiul bolii ($r=-0,245$) și numărul adenopatiilor ($r=-0,242$) și direct cu nivelul trigliceridelor ($r=0,280$), hemoglobina ($r=0,245$) și numărul trombocitelor ($r=0,272$).

Tot lotul

La tot lotul de pacienți, având vârsta medie de $67,15 \pm 10,3$ ani, colesterolul se corelează invers cu stadiul bolii ($r=-0,291$) și hepatomegalia ($r=-0,234$) și direct cu trigliceridele ($r=0,318$). Corelația colesterolului cu hepatomegalia are semnificație statistică ($p=0,048$).

În întreg lotul de pacienți se constată diferențe semnificativ statistice între colesterolul pacienților netratați, considerați a fi într-un stadiu de boală inactiv și colesterolul determinat înaintea aplicării tratamentului celor considerați în faza activă a bolii și având o masă tumorală mai mare ($p=0,008$). La subplotul pacienților netratați colesterolul are valori superioare (valoare medie $211,93 \pm 56,11$) față de subplotul pacienților care urmează să fie supuși curelor chimioterapice (valoare medie $180,16 \pm 42,2$).

Nu am găsit corelații ale colesterolului cu splenomegalia, numărul și dimensiunile adenopatiilor.

- În concluzie, colesterolul sangvin scade cu creșterea masei tumorale și a activității bolii. Trigliceridele se corelează cu colesterolul în toate stadiile bolii și urmează variațiile acestuia. Colesterolul ar putea fi un parametru de urmărire a răspunsului la terapie și un marker de evolutivitate al bolii.

Studiul 3. Tratamentul actual în leucemia limfatică cronică

Material și metodă

S-a lucrat cu fișele de monitorizare ale celor 74 de pacienți cu LLC din care s-au extras datele referitoare la vârsta, sex, stadiul bolii la diagnostic, statusul metabolic (obezitate, diabet zaharat), hipertensiunea arterială, existența comorbidităților asociate, interval de timp fără tratament, tip de tratament administrat anterior, timpul de cură administrată, timpul de obținere

a răspunsului la tratament, tipul de răspuns obținut, recăderi, tratamentul recăderilor, numărul recăderilor, complicații, a doua neoplazie, deces și cauze de deces, statusul biochimic (colesterol, trigliceride, transaminaze, GGT, acid uric, creatinină, fosfataza alcalină, LDH) și hematologic (număr absolut de leucocite, număr absolut de limfocite, hemoglobină, număr de trombocite, infiltrarea medulară cu limfocite) la momentul diagnosticului/ administrarea curei și la 2-3 luni după administrarea tratamentului.

S-au grupat pacienții din stadiile 0, I și A de boală în categoria 1, cei din stadiile B și II în categoria 2 și stadiile III, IV și C în categoria 3.

Supraviețuirea fără progresia bolii și supraviețuirea globală (OS) au fost calculate de la data administrării primului tratament la momentul progresiei sau a decesului. Curbele supraviețuire au fost realizate folosind metoda Kaplan-Meier. Comparățiile univariabile au fost realizate cu ajutorul testului log-rank. Am folosit testul de regresie Cox pentru supraviețuire în analiza multivariabilă. Variabilele categoricale și continue au fost evaluate folosind testul χ^2 . Toate p -urile au fost considerate semnificative statistic la valoare mai mică sau egală cu 0,05. Numai factorii care au fost semnificativ statistic ($p \leq 0,05$) în analizele univariabile au fost folosite pentru a dezvolta modele multivariabile. De asemenea, rezultatele au fost evaluate statistic prin valoarea medie și deviația standard.

Rezultate și concluzii

Evaluarea răspunsului la tratament

Evaluarea răspunsului la tratament se face după 6 cicluri de terapie, pe baza criteriilor definite de grupul de studiu LLC al Institutul Național American de Cancer (*National Cancer Institute*, NCI), prin examen clinic, examene de laborator periodice (hemoleucograma și biopsia medulară), radiografie toracică și ecografie abdominală sau examen computer tomografic, numai la pacienții în remisiune completă.

Stratificarea lotului în funcție de necesitatea terapiei

În lotul de 74 de pacienți studiați, un număr de 30 de pacienți se aflau în stadii incipiente de boală care nu necesitau terapie ci doar supraveghere („*watch and wait*”) și un număr de 44 aveau stadii de boală cu manifestări clinice care impuneau terapia cu chimioterapie. Necesitatea aplicării terapiei se corelează direct semnificativ statistic cu stadiul bolii ($p < 0,0001$), dar nu se corelează cu sexul ($p = 0,291$) sau vârsta pacienților ($p = 0,954$).

În rândul pacienților care au necesitat tratament există o predominanță masculină: 26 bărbați (59%) față de 18 femei (18%).

Intervalul de timp fără tratament, definit ca interval de timp de la diagnostic la momentul aplicării unui tratament, a avut o valoare medie de $16,3 \pm 28,3$ luni. Acest parametru se corelează invers cu stadiul de boală ($p=0,005$). Intervalul mediu de timp fără tratament este mai lung la femei ($33,87$ luni) față de bărbați ($12,9$ luni) în lotul global de pacienți ($p=0,06$).

În lotul celor chimiotratați intervalul mediu fără tratament este de $26,36 \pm 38,66$ luni la femei și $9,38 \pm 17,23$ luni la bărbați ($p=0,272$).

Intervalul de timp fără tratament scade de la stadiile incipiente de boală ($44,83 \pm 41,25$ luni) la cele intermediare ($11,5 \pm 20,56$ luni) și avansate ($0,16 \pm 0,31$ luni) unde practic terapia se impune în momentul diagnosticului ($p=0,010$, $r=-0,512$).

Opțiunile terapeutice în lotul studiat au fost următoarele:

- Tratamentul cu anticorpi monoclonali + chimioterapie (agenți alchilanți, analogi purinici) ± corticosteroizi: FCR, FCD-R
- Tratament cu antracicline și purine: FC, FCD, Litak, FC-Mabcamph
- Tratament polichimioterapic cu agenți alchilanți±corticosteroizi: COP, CVP, CHOP, Leukeran-corticosteroizi
- Polichimioterapie cu anticorpi monoclonali: COP-R, CHOP-R

S-au luat în considerare numai tratamentele chimioterapice, nu și cele chirurgicale.

Cura de tip anticorpi monoclonali+chimioterapie s-a aplicat cu precădere pacienților din stadiile II și B de boală (11 pacienți), cea de tip antracicline + purine mai mult la cei aflați în stadiile 0, I și A (6 pacienți). De polichimioterapie cu agenți alchilanți±corticosteroizi au beneficiat pacienți în stadiile II și B cam în egală măsură cu 0, I și A (4 și respectiv 3 pacienți), iar tipul de polichimioterapie cu anticorpi monoclonali s-a aplicat în stadiile II, B și III, IV, C (6 și respectiv 4 pacienți).

Pacienții aflați în stadiul precoce de boală au beneficiat cu precădere de cure tip antracicline și purine (50%) și în măsură mai mică de cure cu anticorpi monoclonali și chimioterapic (25%) sau polichimioterapic și agenți alchilanți±corticosteroizi (25%).

În stadiile cu risc intermediar predomină curele de tip anticorpi monoclonali și chimioterapie (44%) și polichimioterapie cu anticorpi monoclonali (24%), față de cura cu antracicline și purine (16%) sau agenți alchilanți±corticosteroizi (16%).

Stadiile de boală cu risc crescut au beneficiat de polichimioterapie și anticorpi monoclonali în proporție de 57%, de cure cu antracicline și purine 29%, de cure polichimioterapice cu agenți alchilanți±corticosteroizi 14% și nu a existat niciun pacient care să fi beneficiat de asocierea antracicline și purine.

Majoritatea pacienților au beneficiat de o singură linie de tratament (29 pacienți, 65,9%), un număr mai mic au beneficiat de 2 linii (12 pacienți, 27,3%) și de 3, 4 și respectiv 5 linii au beneficiat câte 1 pacient (2,3%). Numărul liniilor de chimioterapie se corelează invers cu durata răspunsului la terapie ($r=-0,253$) și direct semnificativ statistic cu durata supraviețuirii ($r=0,299$, $p=0,048$) și recăderile de boală ($r=0,469$, $p=0,002$), dar nu se corelează cu timpul de obținere a răspunsului la terapie ($p=0,882$).

În lotul de 44 pacienți care au primit tratament, au putut fi evaluați în ceea ce privește răspunsul la terapie un număr de 40 de pacienți. Rata de răspuns global inițial la terapie a fost de 97% (remisiune completă și parțială), din care 25% răspuns parțial și 72% răspuns complet. Supraviețuirea medie a pacienților cu răspuns la terapie a fost de $51,88 \pm 25,74$ luni. Durata medie a răspunsului la tratament este de $21,13 \pm 15,19$ luni, cu valori extreme între 0 luni și 50 de luni.

Corelații între tipul de cura chimioterapică și răspunsul la tratament

Pacienții tratați cu anticorpi monoclonali în asociere cu chimioterapie (agenți alchilanți, analogi purinici)±corticosteroizi (cura tip 1) față de cei cu antraciline și purine (cura tip 2) prezintă diferențe semnificative statistic în ceea ce privește intervalul de timp fără tratament ($p=0,040$), durata de supraviețuire ($p=0,042$) și stadiul bolii ($p=0,022$). Între ceilalți parametri studiați și anume: numărul liniilor de cure, timpul de obținere a răspunsului la tratament, durata răspunsului, necesitatea administrării de eritropoietină, apariția recăderilor, testul Coombs pozitiv, riscul de deces sau vârsta la diagnostic nu există diferențe semnificativ statistic între cele 2 tipuri de cure.

Se observă că, pacienții care au primit cura tip 1, au un timp mediu de obținere a răspunsului (6,8 luni) mai lung în medie cu 2,3 luni față de cei cu tratament de tip 2 (4,5 luni). Pacienții cu tipul de cură 1 se situează în stadiile 0, I, II, A, B de boală, pe când cei cu tipul 2 de tratament în stadii mai incipiente 0, I, A. După terapia tip 1 un procent de 12,5% pacienți au necesitat stimularea eritropoezei, față de 20% după tipul 2.

Între loturile de pacienți care au primit polichimioterapie asociată cu agenți alchilanți±corticosteroizi (cura tip 3) și cei cu polichimioterapie asociată cu anticorpi monoclonali (cura tip 4) se remarcă corelații semnificativ statistic pentru timpul de obținere a răspunsului la tratament ($p=0,010$), necesitatea administrării de eritropoietină ($p=0,013$) și stadiul bolii la diagnostic ($p=0,038$).

Timpul de obținere a răspunsului la tratament este mult mai mic după tipul 3 de cură (2,75 luni) față de tipul 4 (7,20 luni), stadiul bolii la diagnostic este mai avansat la cei cu tipul 4 de cură (stadii medii și avansate), față de tipul 3 unde întâlnim pacienți în toate stadiile (de

la incipient la avansat). Un procent de 70% din pacienți tratați cu tipul 4 de cură au necesitat administrare de eritropoietină, față de numai 12,5% după curele de tip 3.

Corelații între cura chimioterapică și variațiile parametrilor biochimici și hematologici

În urma tratamentului chimioterapic aplicat, în lotul nostru de pacienți unii parametrii hematologici și biochimici au suferit variații semnificativ statistice: colesterolul ($p=0,028$), ureea ($p=0,019$), acidul uric ($p<0,001$) și evident leucocitele ($p<0,001$) și limfocitele ($p<0,001$). Pentru toți ceilalți parametri studiați variațiile nu sunt semnificativ statistic.

Tipul 1 de cură chimioterapică a fost administrat la 16 pacienți, cu precădere în stadiile de boală II și B (11 pacienți, 69%) ($p=0,010$). Răsunetul biologic al acestui tip de cură se manifestă prin variații semnificativ statistice ale valorilor LDH ($p=0,035$), creatininei ($p<0,001$), acidului uric ($p<0,001$), leucocitelor ($p<0,001$), trombocitelor ($p<0,001$), înainte și după cură. Fără semnificație statistică sunt variațiile colesterolului, trigliceridelor, TGO, TGP, ureei, GGT, hemoglobinei, trombocitelor.

Analiza lotului de pacienți (10 pacienți) care au primit chimioterapie cu tipul 2 de cură relevă faptul că administrarea s-a făcut mai ales pacienților cu forme incipiente și intermediare de boală, fără diferențe semnificative statistic între cele 2 stadii de boală ($p=0,754$). În stadiile 0, I și A un număr de 6 pacienți (60%) au primit acest tip de cură, iar în stadiile II, B alți 4 pacienți (40%). După cura de tip 2 se constată că acidul uric ($p<0,001$), GGT ($p=0,044$), leucocitele ($p=0,026$) și limfocitele ($p=0,028$) au prezentat variații semnificative statistic înainte și după tratament. Ceilalți parametri: colesterol, trigliceride, TGO, TGP, creatinină, uree, hemoglobină, trombocite nu au avut variații foarte mari.

Tratamentul chimioterapic cu cure tip 3 s-a administrat la un număr de 8 pacienți, aflați în toate stadiile de boală ($p=0,417$). Doar acidul uric a prezentat variații semnificative statistic între începutul și sfârșitul tratamentului ($p<0,001$).

Cei 10 pacienții care au beneficiat de chimioterapie tip 4 s-au încadrat în stadiile medii și avansate de boală ($p=0,754$). În acest lot, variații biologice semnificative statistic au prezentat acidul uric ($p<0,001$), leucocitele ($p=0,001$) și limfocitele ($p=0,001$).

Recăderi

Din lotul de 40 pacienți tratați, care au fost urmăriți post chimioterapie, un număr de 7 pacienți (17%) au prezentat recăderi ale bolii. Supraviețuirea fără progresia bolii a fost de $20,8 \pm 16,43$ luni.

Majoritatea pacienților au prezentat o singură recădere (5 pacienți, 71%), doar 2 pacienți (29%) au avut 2 recăderi. Vârsta medie a pacienților cu recădere este $61,88 \pm 7,52$ ani.

La frecvența recăderilor nu s-au semnalat diferențe semnificative statistic între pacienții diferite stadii de boală. Nu există diferențe semnificative statistic în ceea ce privește frecvența recăderilor între tipurile 1 și 2 de cură chimioterapică ($p=0,200$), nici între tipurile 3 și 4 ($p=0,333$).

Tratamentul recăderii s-a făcut cu tipul 1 de cură la un număr de 4 pacienți (57%), tipul 2 de cură la 1 pacient (19%) și tipul 3 de cură la 2 pacienți (27%). În urma tratamentului recăderilor s-au obținut 43% remisii complete (3 pacienți), 29% remisii parțiale (2 pacienți), 14% boală progresivă (1 pacient) și 1 pacient (14%) este în continuare sub tratament.

Nu s-au observat corelații între incidența recăderilor și intervalul liber de tratament ($p=0,421$), timpul de obținere a răspunsului ($p=0,317$), durata răspunsului ($p=0,165$) și supraviețuirea globală ($p=0,052$). Nu există corelație nici între recăderi și decese ($p=0,176$).

Complicații

Anemia hemolitică

Din totalul pacienților luați în studiu un număr de 4 cazuri, reprezentând 5,40%, au prezentat cel puțin un puseu de anemie hemolitică, cu test Coombs pozitiv. Unul dintre pacienți a avut 2 puse de anemie hemolitică în evoluția bolii.

Citopenii

Prezența citopeniilor (anemie sau trombocitopenie) se asociază cu administrarea tratamentului chimioterapic ($p=0,001$). Dacă în lotul de 30 pacienți netratați majoritatea nu prezintă citopenii (25 pacienți, 83%), în lotul de 41 pacienți tratați predomină cei cu citopenii periferice (32 pacienți, 78%).

În lotul pacienților tratați, 30% din pacienți asociază anemia și trombocitopenia, 35% au doar trombocitopenie și 12,5% prezintă doar anemie.

Între diferitele tipuri de tratament chimioterapic și prezența citopeniilor (anemie, trombocitopenie) nu există corelație semnificativ statistică ($p=0,870$). Incidența anemiei se corelează cu stadiul de boală ($p=0,012$), dar trombocitopenia nu se corelează ($p=0,665$).

Infecții

În lotul nostru global (74 pacienți), 28% din pacienți au avut cel puțin un episod infecțios în cursul evoluției bolii.

În sublotul pacienților chimiotratați (44 pacienți), 38,6% (17 pacienți) au prezentat infecții în decursul bolii. Cei mai mulți (8 pacienți, 47%) au făcut complicații infecțioase de un singur tip (microbiene, virale sau fungice), 3 pacienți (18%) au prezentat toate 3 tipurile,

tot 3 pacienți (17%) au avut infecții microbiene și fungice, 2 (12%) au asociat infecții microbiene și virale și unul singur (6%) infecții virale și fungice.

Cele mai frecvente complicații infecțioase sunt infecțiile microbiene, reprezentând aproape jumătate (48%) din totalul complicațiilor infecțioase, apoi urmează cele fungice (28%) și cele virale (24%).

În lotul de pacienți netratați (30 pacienți) frecvența infecțiilor este mult mai mică (4 pacienți, 13,3%) și nu se întâlnesc episoade multiple infecțioase. Pe tipuri de infecții, situația se prezintă astfel: cu 1 episod de infecție microbială avem 3 pacienți (10%), cu 1 episod de infecție virală 1 pacient (3,3%) și 1 pacient (3,3%) cu o infecție fungică. Unul din pacienți a avut două tipuri diferite de infecție succesiv (microbiană și fungică).

Deși în rândul pacienților netratați complicațiile infecțioase sunt rare, se observă că și în acest lot predomină complicațiile de tip microbial (60%), față de cele virale (20%) sau fungice (20%).

A doua neoplazie

S-a constatat că un număr de 9 pacienți (12%) din totalul de 74 pacienți cu LLC luați în studiu au dezvoltat în cursul evoluției a doua neoplazie. Vârsta medie a celor care au dezvoltat a doua neoplazie este de $65,22 \pm 5,38$ ani, iar repartitia pe sexe a acestor pacienți este egală. Intervalul mediu de timp de la administrarea tratamentului până la apariția celei de-a doua neoplazii este de $49,33 \pm 20,5$ luni.

În lotul de pacienți tratați 9 pacienți au evoluat spre a doua neoplazie (20%).

Ca tipuri de cancer, la a doua neoplazie se întâlnesc cancere cutanate (67%), cu localizare pe față, torace sau în zona auriculară, cancer bronhopulmonar (22%) și cancer ovarian (11%).

Unul dintre pacienți a dezvoltat și a treia neoplazie, ceea ce în lotul general reprezintă un procent de 2% și 1% în lotul pacienților tratați. Cea de-a treia neoplazie s-a dovedit a fi, la fel ca și cea de-a doua neoplazie, tot un cancer cutanat. Apariția celui de-al treilea cancer a survenit la 82 luni de la administrarea primei cure chimioterapice.

Dintre cei 9 pacienți diagnosticați cu al doilea cancer, 6 pacienți (67%) supraviețuiesc și 3 pacienți au decedat (33%). Cei trei pacienți decedați au prezentat cancer cutanat (2 pacienți) și respectiv neoplasm bronhopulmonar (1 pacient).

A doua neoplazie este mai frecventă la pacienții care au primit tipul 2 de cură (40%) și tipul 4 de cură (20%).

Prezența celei de-a doua malignități nu se corelează nici cu supraviețuirea ($p=0,883$) și nici cu stadiul bolii ($p=0,088$).

Decese

În lotul global de pacienți studiat, un număr de 16 pacienți (22%) au decedat în perioada desfășurării studiului, numărul cel mai mare de decese fiind în anii 2014 (4 decese, 25%) și 2012 (4 decese, 25%).

În sublotul pacienților tratați (44 pacienți) au survenit 12 decese (27%), iar în sublotul de pacienți netratați (30 pacienți) au survenit doar 4 decese (13%).

Analizând lotul pacienților netratați se constată că toți pacienții decedați sunt femei, având vârsta medie $73,25 \pm 7,97$ ani, se află în stadiul 0, I sau A de boală, iar cauzele de deces sunt următoarele: la 2 cazuri edemul pulmonar acut, la cel de-al treilea pacient accidentul vascular cerebral și în sfârșit, sepsis de etiologie neprecizată.

În rândul pacienților care au primit chimioterapie, decesele au survenit la un număr de 7 bărbați (58%) și 5 femei (42%), vârsta medie a grupului era de $68,58 \pm 8,71$ ani și stadiul de boală I, A, B, C sau IV. Cauzele de deces în acest grup au fost următoarele: 5 pacienți au decedat cu sepsis de diferite etiologii, 5 pacienți din cauze cardiace (infarct miocardic acut, aritmii, insuficiență cardiacă), 1 pacient datorită unei tumori maligne pulmonare de lob stâng superior, cu multiple diseminări secundare și alt pacient din cauza transformării blastice a unui sindrom mieloproliferativ cronic. Vârsta medie a pacienților decedați prin cauze infecțioase a fost $66,8 \pm 5,38$ ani.

Majoritatea pacienților decedați din lotul celor chimiotratați se aflau în stadiul B de boală 42% iar cauza cea mai frecventă de deces (42%) a fost sepsisul, cu punct de plecare o complicație infecțioasă microbiană.

Supraviețuirea

În lotul nostru global de pacienți cu LLC supraviețuirea mediană este de 43 de luni. La sublotul de pacienți netratați supraviețuirea este de 28 luni, iar la sublotul tratat 52,5 luni. Având în vedere că în sublotul pacienților netratați există un număr mare de pacienți diagnosticați în ultimul an și care au beneficiat de o perioadă scurtă de urmărire, este impropriu să se facă interpretari.

Rata de supraviețuire la 5 ani este de 35,2% în lotul global și de 47,6% în lotul celor care au primit chimioterapie.

Analizând supraviețuirea mediană pe stadii de boală se constată că în stadiile de boală incipiente și intermediare supraviețuirea mediană este la fel de bună, indiferent de tipul de cură administrat. În stadiile cu boală agresivă, supraviețuirea mediană cea mai bună este asigurată de regimurile care asociază rituximab.

Graficele de supraviețuire și de hazard de decese pentru pacienții cu LLC la 5 ani relevă un risc mai mare de deces în primele 10 luni de la diagnostic, după care acest risc diminuează. Analiza statistică de supraviețuire și hazardul de decese la 5 ani nu evidențiază diferențe semnificative statistice între cele două sexe ($p=0,305$).

În stadiul precoce al bolii analiza statistică și aspectul curbei de supraviețuire arată că nu există diferențe semnificativ statistice de între tipurile de cură administrate ($p=0,656$), dar în stadiul intermediar și avansat al bolii există diferențe semnificative statistice de între tipurile de cură administrate ($p=0,050$ și respectiv $p=0,047$).

- Se observă că femeile au o evoluție mai benignă și mai îndelungată a bolii comparativ cu bărbații iar recăderile sunt mult mai frecvente la bărbați.
- Două treimi din pacienți prezintă citopenie în evoluția bolii, probabil autoimună, care nu influențează prognosticul și nu se corelează cu administrarea chimioterapicelor.
- Infecțiile au o rată ridicată de incidență și influențează morbiditatea și mortalitatea.
- Frecvența apariției celei de-a doua malignități este crescută după 4 ani de evoluție a bolii. A doua neoplazie a avut frecvență mai mare la pacienții tratați cu analogi purinici și antracicline. Cea mai frecventă a doua neoplazie a fost cancerul cutanat.
- Orice simptom nou apărut, aparent fără legătură cu boala de bază, trebuie investigat atent pentru că ridică suspiciunea apariției celei de-a doua neoplazii primare. Riscul de deces este mai mare în primele 10 luni de la diagnosticul bolii. Nu există diferențe semnificative între sexe cu privire la supraviețuire și hazardul de deces la 5 ani. Cauzele de deces cele mai frecvente sunt infecția și a doua neoplazie.
- Asocierea rituximabului în curele citostatice ale pacienților cu stadiu avansat de boală îmbunătățește supraviețuirea mediană, timpul mediu fără progresia bolii, durata medie de supraviețuire și rata de răspuns la tratament.

Concluzii generale

1. În zona noastră geografică, vârsta mediană de debut a LLC este în ușoară scădere față de datele din literatură și numărul de pacienți diagnosticați în stadii mai precoce de boală este mai mic.
2. Femeile au o evoluție a bolii mai lentă și mai blândă, cu mai puține recăderi. Totuși, vârsta medie în stadiile mai avansate de boală este mai mică la femei comparativ cu cea a bărbaților.
3. Deoarece o mare parte din pacienți sunt asimptomatici, nu prezintă adenopatii periferice sau hepato-splenomegalie palpabile, este de subliniat rolul în creștere al hemoleucogramei de

rutină corelată cu examenul imunofenotipic sau imunohistochimia pentru diagnosticul precoce de boală.

4. Stadiul bolii la diagnostic se corelează cu nivelul colesterolului sangvin și infiltrarea maduvei osoase cu limfocite. Colesterolul sangvin scade cu creșterea masei tumorale și a activității bolii.
5. Trigliceridele se corelează cu colesterolul în toate stadiile bolii și urmează variațiile acestuia.
6. Colesterolul poate fi un marker de evolutivitate al bolii și un parametru de urmărire a răspunsului la terapie, rapid și ușor de evaluat cu costuri minime.
7. Citopeniile sunt un eveniment frecvent în evoluția bolii, dar nu se corelează cu tipul tratamentului administrat și nu influențează prognosticul de boală.
8. Infecțiile sunt o complicație frecventă și reprezintă o cauză principală de deces.
9. A doua cauză principală de deces este apariția celui de-al doilea cancer, mai frecvent după 4 ani de la administrarea primei cure chimioterapice și la pacienții care au beneficiat de analogi purinici și antraciline.
10. Orice simptom nou apărut, chiar aparent fără legătură cu boala de bază, trebuie investigat cu atenție pentru că ridică suspiciunea celei de-a doua neoplazii primare.
11. Asocierea rituximabului în curele chimioterapice îmbunătățește atât timpul mediu fără progresia bolii, durata medie de supraviețuire cât și rata de răspuns la tratament și supraviețuirea mediană a pacienților cu boală avansată.

Ce aduce nou acest studiu

- Este primul studiu din România și din Europa de Est care evaluează relația dintre colesterol, trigliceride și volumul masei tumorale la diagnostic, precum și relația cu răspunsul la tratament la pacienții cu leucemie limfatică cronică.

- Propunem colesterolul ca factor de evolutivitate al bolii și parametru de urmărire al răspunsului la tratament datorită evaluării rapide, la îndemână și cu costuri minime în orice laborator din țară.

- S-au obținut date cu semnificație statistică cu privire la corelațiile dintre diferiți factori demografici, clinico-biologici, ratele de supraviețuire și răspunsul la terapie.

- S-a demonstrat eficacitatea asocierii rituximabului tratamentului chimioterapic în anumite condiții de boală.