

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „IULIU HATIEGANU”  
CLUJ-NAPOCA**

# **Implicații patogenetice și terapeutice ale infecțiilor virale în limfoamele nonhodgkin**

**TEZĂ DE DOCTORAT  
REZUMAT**

**Doctorand: Tünde Tórók-Vistai**

**Conducător de doctorat: Prof.Dr. Ljubomir Petrov**

**Cluj-Napoca  
2012**

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	11
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	13
<b>1.Introducere</b>	15
<b>2. Limfoamele nonhodgkin: clasificare, factori etiologici, diagnostic, prezentare, stadializare, factori de prognostic și principii de tratament</b>	15
<b>3. Corelația patogenetică dintre infecțiile virale și limfoamele nonhodgkin</b>	18
3.1. Virusuri cu acțiune oncogenică directă	20
3.1.1. HHV-8	20
3.1.2. EBV	20
3.1.3. HTLV-1	24
3.2. Virusuri cu acțiune indirectă în limfomageneză	25
3.2.1. HIV	25
3.2.2. HCV	26
3.2.3. HBV	28
<b>4. Probleme de tratament a limfoamelor nonhodgkin asociate cu infecții virale cronice</b>	28
4.1. Tratamentul limfoamelor asociate cu HCV	28
4.2. Tratamentul limfoamelor asociate cu HBV	30
4.3. Tratamentul limfoamelor asociate infecției HIV	32
4.4. Tratamentul limfoamelor asociate cu EBV	33
4.5. Tratamentul limfoamelor asociate cu HTLV-1	34

4.6. Tratamentul limfoamelor asociate cu herpesvirusuri	36
<b>CONTRIBUȚIA PERSONALĂ</b>	39
<b>1. Ipoteza de lucru</b>	41
<b>2. Studiul 1: Infecția cu HBV și HCV la pacienții cu LNH-B: prevalență, particularități clinice, biologice, evolutive și terapeutice</b>	43
2.1. Introducere	43
2.2. Obiective	43
2.3. Material și metodă	44
2.4. Rezultate	45
2.5. Discuții	77
2.6. Concluzii	80
<b>3. Studiul 2: Limfocitoza monoclonală B la pacienții cu infecție HCV</b>	81
3.1. Introducere	81
3.2. Obiective	82
3.3. Material și metodă	82
3.4. Rezultate	84
3.5. Discuții	110
3.6. Concluzii	111
<b>4. Concluzii generale</b>	113
<b>REFERINȚE</b>	115

**Cuvinte cheie:** limfoame nonhodgkin, infecții virale, virusuri hepatitice, limfocitoză monoclonală B.

## Introducere

Dintre virusurile asociate cu limfoamele nonhodgkin cele mai răspândite sunt virusurile hepatitice B și C (HBV și HCV), acestea reprezentând o problemă majoră de sănătate publică în România. În ultimul deceniu s-au efectuat numeroase studii care au demonstrat prevalența crescută a acestor virusuri în limfoamele nonhodgkin cu celule B (LNH-B), dovedind implicarea lor patogenetică în apariția lor. Utilizarea din ce în ce mai frecventă a curelor de chimioterapie agresive și a imunoterapiei cu Rituximab a ridicat o problemă majoră în tratamentul limfoamelor asociate cu virusuri hepatitice prin reactivările virale apărute în urma tratamentului.

În lumina acestor date, mi-am propus să efectuez un studiu retrospectiv pe cazuistica Clinicii de Hematologie, pentru a studia prevalența virusurilor hepatitice la pacienții cu LNH-B, a identifica particularități clinice, paraclinice, evolutive și terapeutice și a stabili impactul asocierii virusurilor hepatitice asupra prognosticului acestor bolnavi.

În a doua parte a tezei am cercetat prezența limfocitozei monoclonale B (LMB) la pacienții cu infecție HCV. LMB este o condiție "preneoplazică", întâlnită și la indivizii sănătoși, cu o prevalență în medie de 3,5%. Prevalența LMB este mult mai mare la pacienții cu infecție HCV decât la populația generală. În literatură există doar câteva studii care au cercetat prevalența LMB la pacienții cu HCV, iar în România nu s-a efectuat nici un studiu de acest gen. Pornind de la aceste date, am efectuat un studiu prospectiv pe pacienți cu hepatită cronică sau ciroză hepatică virală C internați la Institutul Regional de Gastroenterologie și Hepatologie Prof.Dr.Octavian Fodor. Am determinat prevalența LMB și am căutat identificarea unor corelații dintre prezența LMB și parametrii demografici, clinici și paraclinici ale acestor pacienți. Deasemenea, am studiat prevalența subtipurilor de LMB și corelația lor cu diverși parametri.

## Stadiul actual al cunoașterii

### 1.Corelația patogenetică dintre infecțiile virale și limfoamele non-Hodgkin

Mecanismele patogenetice ale transformării limfomatoase sub acțiunea antigenelor virale sunt: unul direct, caracteristic virusurilor oncogenice ca EBV, HTLV-1 și HHV-8, celălalt indirect, caracteristic celorlalte virusuri implicate în limfomageneză. În cazul mecanismului direct, transcripția oncogenelor virale latente duce la imortalizarea limfocitelor B infectate și proliferarea acestora. În condițiile unui sistem imun normal, această proliferare este ținută sub control. În situația unui deficit imun sau a unei mutații oncogenice adiționale, apare transformarea în limfom malign. În cazul mecanismului indirect, infecția virală cronică stimulează limfocitele B antigen-specifice direct sau prin intermediul limfocitelor T helper, putând să apară expansiunea clonală a acestora și ducând, în cele din urmă, la limfoproliferare malignă.

### 2. Probleme de tratament a limfoamelor non-Hodgkin asociate cu infecții virale cronice

**2.1. Tratamentul LNH asociate cu HCV:** în cazul limfoamelor indolente tratamentul antiviral singur poate să ducă la regresia limfomului, în timp ce, în limfoamele agresive, este necesară chimioterapia. Pacienții trebuie evaluați înainte de chimioterapie prin PCR și puncție-biopsie hepatică, iar pe parcursul tratamentului probele hepatice trebuie monitorizate atent. Tratamentul antiviral profilactic nu este indicat sistematic, doar la cazurile bine selectate, fiind preferată administrarea ei după terminarea chimioterapiei.

**2.2. Tratamentul LNH asociate cu HBV:** La toți pacienții cu HBV care urmează să efectueze chimio-și/sau imunoterapie, trebuie inițiat tratamentul antiviral profilactic cu un analog nucleozidic și administrat cel puțin 6 luni după terminarea tratamentului, iar la pacienții care efectuează tratament de menținere cu Rituximab, tratamentul antiviral profilactic trebuie continuat și în această perioadă.

Este necesară monitorizarea frecventă a probelor hepatice atât în timpul cât și după terminarea tratamentului.

**2.3. Tratamentul LNH asociate cu HIV:** depinde de gradul de imunodepresie, fiind necesară asocierea la schemele de chimioterapie și a tratamentului antiretroviral. Tratamentul este îngreunat de complicațiile infecțioase și interacțiunile medicamentoase.

**2.4. Tratamentul LNH asociate cu EBV:** tratamentul antiviral este ineficient în cazul LNH asociate cu EBV, nefiind exprimată timidinkinaza virală care este ținta tratamentului antiviral. Pe lângă chimioterapie, în unele cazuri, se utilizează și imunoterapia.

**2.5. Tratamentul LNH asociate cu HTLV-1:** constă în administrarea de chimioterapie convențională sau chimioterapie intensivă urmată de transplant autolog de celule stem. În unele forme se administrează și tratament antiviral.

**2.6. Tratamentul limfoamelor asociate cu herpesvirusuri:** constă în administrarea de Acyclovir pentru herpesvirusurile 1 și 2, Gancyclovir sau Foscarnet pentru herpesvirusurile 6 și 7, Ciclofovir pentru herpesvirusul 8, iar pentru virusul citomegalic Ganciclovir sau Foscarnet.

## Contribuția personală

### 1. Studiul 1: Infecția cu HBV și HCV la pacienții cu LNH-B: prevalență, particularități clinice, biologice, evolutive și terapeutice

**1.1. Obiective, material și metodă:** stabilirea prevalenței infecției cu HBV și HCV la pacienții cu LNH-B, identificarea particularităților clinice, biologice, evolutive și terapeutice ale pacienților cu infecție virală asociată, analiza comparativă a pacienților cu virusologie pozitivă față de cei cu virusologie negativă și cercetarea impactului infecției cu HBV sau HCV asupra prognosticului limfoamului. Am efectuat un studiu retrospectiv pe 200 pacienți neconsecutivi cu LNH-B diagnosticați și tratați la Clinica de Hematologie Cluj-Napoca în perioada 2001-2010, la care s-a făcut screening virusologic pentru HBV și HCV, pe baza datelor din foile de observație ale pacienților. Pentru analiza statistică a datelor, în cazul datelor cu distribuție normală s-a utilizat testul Student pentru probe independente, variațiile fiind testate cu testul Levene pentru variație.

**1.2. Rezultate:** prevalența infecției cu HBV și HCV în lotul de pacienți studiați a fost de 15% pentru HBV, 20% pentru HCV și 3% pentru infecția dublă. Am identificat astfel 2 loturi de pacienți: lotul 1- 74 de pacienți cu virusologie pozitivă și lotul 2- 126 de pacienți cu virusologie negativă.

#### Caracteristicile pacienților cu infecție HBV și/sau HCV asociată (lotul 1)

Lotul 1 a cuprins 74 de pacienți cu serologie pozitivă pentru HBV și/sau HCV, cu vârsta cuprinsă între 25 și 78 de ani, media de vârstă 53,959 ani, cu o ușoară preponderență a cazurilor la sexul feminin. 29 de pacienți au prezentat infecție cu HBV, 40 infecție cu HCV iar 5 pacienți au prezentat dublă infecție. Am găsit mai multe limfoame indolente decât agresive. Atât în cazul HBV cât și în cazul HCV se constată o frecvență mai mare a limfoamelor indolente. În cazul limfoamelor cu infecție dublă, au fost ceva mai frecvente tipurile histologice agresive. 60% dintre pacienți au fost diagnosticați în stadiu avansat. Semne generale de tip B au prezentat 58%. Debut extranodal au prezentat 35% din pacienți. Organul cel mai frecvent afectat în cazul debutului extranodal a fost splina. LDH mărit s-a întâlnit la 62% din pacienții. Diagnosticul hepatopatiei cronice a fost de hepatită cronică inactivă la aproape jumătate din cazuri, restul fiind cu hepatită cronică activă și ciroză hepatică. Înainte de tratament, doar 46% din pacienți au prezentat hepatocitoliză și 22% colestază, iar după tratament 74% au avut hepatocitoliză și 38% colestază. Analizând corelația dintre tipul virusului hepatitic prezent și apariția sau accentuarea hepatocitolizei după tratament, am găsit o asociere statistic semnificativă cu prezența HBV în limfoamele agresive ( $p < 0,05$ ). În cazul HBV hepatocitoliza severă s-a observat mai frecvent, această diferență nu a fost însă semnificativă statistic. Apariția sau accentuarea colestazei după tratament nu s-a corelat cu tipul virusului hepatitic

prezent. Nu a existat o asociere statistic semnificativă între creșterea bilirubinei totale după tratament și tipul histologic, în schimb, creșterea FAS a fost mai importantă la pacienții cu LNH indolent ( $p < 0,05$ ). Tratament antiviral s-a administrat la 17 pacienți.

### **Caracteristicile pacienților fără infecție cu HBV și/sau HCV asociată (lotul 2)**

Lotul 2 a cuprins 126 de pacienți cu serologie negativă pentru HBV și HCV, cu vârsta cuprinsă între 18 și 87 de ani, media de vârstă 54,095 ani, cu o preponderență a cazurilor la sexul feminin. Au fost mai frecvent întâlnite tipurile histologice agresive decât cele indolente. Peste jumătate dintre pacienți au fost diagnosticați în stadii avansate de boală. Semne generale tip B au prezentat 56% din pacienți. 36% din pacienți au prezentat debut extranodal. Organul cel mai frecvent afectat în cazul debutului extranodal a fost stomacul. LDH mărit s-a întâlnit la 41% din pacienții. VSH accelerat s-a evidențiat la 56% din cazuri.

### **Analiza comparativă a pacienților cu și fără infecție cu virus hepatitic (lot 1 versus lot 2)**

Nu am găsit diferență semnificativă statistic în ceea ce privește vârsta ( $p = 0,9427$ ) și sexul ( $p = 0,9739$ ) pacienților cu sau fără infecție cu virus hepatitic. Asocierea virusurilor hepatitice cu LNH la diverse grupe de vârstă, a fost mult mai mare ( $p < 0,05$ ) la pacienții cu vârsta cuprinsă între 41-50 de ani. Analizând corelația între vârstă și caracterul indolent sau agresiv al limfomului cu sau fără infecție virală asociată, nu am găsit diferență statistic semnificativă. Analizând asocierea virusurilor hepatitice la limfoame (indiferent de tipul histologic) în funcție de sex și grupe de vârstă, la grupa de pacienți cu vârsta între 41-50 ani, în cazul celor de sex feminin am găsit o asociere semnificativ mai mare a virusurilor hepatitice la limfoame față de restul pacienților ( $p < 0,05$ ). Analiza corelației între asocierea infecției cu virusuri hepatitice la LNH-B în funcție de vârstă, sex și tipul histologic a relevat o asociere cu virus hepatitic semnificativ mai mare la pacienții cu limfom indolent, de sex masculin și vârsta cuprinsă între 41-50 ani ( $p < 0,05$ ) și o asociere semnificativ mai mică a virusurilor la pacienții cu limfom indolent, de sex masculin și vârsta cuprinsă între 51-60 ani ( $p < 0,001$ ). În ambele loturi de pacienți diagnosticul s-a pus, în majoritatea cazurilor, în stadii avansate. Semne generale tip B au prezentat aproximativ jumătate din pacienți, debut extranodal au prezentat cca. o treime din pacienți în ambele loturi, în lotul cu infecție virală asociată cel mai frecvent întâlnindu-se limfoamele splenice iar în lotul fără infecție virală asociată au fost mai frecvente limfoamele debutate la nivelul tubului digestiv. Asocierea între VSH crescut și prezența virusului hepatitic nu este statistic semnificativă ( $p = 0,4743$ ). În cazul limfoamelor indolente există o asociere statistic foarte semnificativă între coexistența virusului hepatitic și valorile crescute ale LDH ( $p < 0,05$ ). În ceea ce privește răspunsul la tratament, nu am găsit o asociere statistic semnificativă între coexistența virusurilor hepatitice și rata remisiunilor complete. Rata reșutelor, în schimb, a fost semnificativ mai mare la pacienții cu limfom agresiv și virus asociat comparativ cu pacienții fără virus ( $p < 0,05$ ). Nu am găsit o corelație între supraviețuirea la 2 ani fără semne de boală și coexistența virusului hepatitic ( $p = 0,08553$ ), indiferent de tipul histologic și stadiu.

### **Discuții, concluzii**

1. Prevalența infecției cu HBV și HCV la pacienții cu limfoame non-Hodgkin cu celule B este semnificativ mai mare decât la populația generală.
2. Este necesar screeningul virusologic al tuturor pacienților cu LNH de linie B, mai ales că, o mare parte din bolnavi nu prezintă semne de afectare hepatică înainte de tratament.
3. La pacienții cu HBV și/sau HCV asociat valorile postterapeutice ale transaminazelor sunt statistic semnificativ mai mari decât cele preterapeutice. În limfoamele agresive prezența HBV s-a corelat cu frecvența mai mare a apariției hepatocitolizei posttratament față de cazurile în care a fost asociat doar HCV. Deasemenea, hepatocitoliza severă a fost mai frecvent constatată în cazul HBV decât în cazul HCV, deși această asociere este statistic nesemnificativă.
4. Asocierea profilactică a tratamentului antiviral la chemo-imunoterapie putea reduce incidența complicațiilor hepatice și permite administrarea corectă a tratamentului. La lotul

nostru de pacienți, totuși, rata răspunsului la tratament și a supraviețuirii la 2 ani fără semne de boală nu a fost influențată de asocierea sau nu a tratamentului antiviral.

5. Comparând pacienții cu virusologie pozitivă cu cei cu virusologie negativă, am găsit o asociere statistic semnificativ mai mare a virusurilor hepatitice la pacienții cu LNH-B de sex feminin cu vârsta cuprinsă între 41-50 de ani. Din punct de vedere al tipului histologic, la pacienții de sex masculin cu limfom indolent, cu vârsta între 41-50 de ani am găsit o asociere semnificativ mai mare a virusurilor și semnificativ mai mică între 51-60 ani. În limfoamele indolente există o asociere statistic semnificativă între coexistența virusurilor hepatitice și LDH-ul crescut. În ceea ce privește răspunsul la tratament, nu există diferențe semnificative statistic între rata remisiunilor complete și a supraviețuirii la 2 ani fără semne de boală, dar rata reșetelor este semnificativ mai mare la pacienții cu limfom agresiv și virus asociat.

## **Studiul 2: Limfocitoza monoclonală B la pacienții cu infecție HCV**

**1. Obiective, material și metodă:** stabilirea prevalenței limfocitozei monoclonale B la pacienții cu infecție HCV și stabilirea fenotipului monoclonal, identificarea unor particularități demografice, clinice și paraclinice a pacienților cu LMB asociată infecției HCV, cercetarea existenței unor corelații între fenotipul monoclonal și caracteristicile demografice, clinice și paraclinice ale pacienților cu LMB asociată infecției cu HCV. Studiul a inclus 50 de pacienți cu infecție HCV diagnosticați și tratați la Institutul Regional de Gastroenterologie-Hepatologie "Prof. Dr. Octavian Fodor" Cluj-Napoca. Evaluarea datelor demografice și paraclinice, a tratamentului și evoluției s-a realizat pe baza foilor de observație a pacienților. LMB a fost detectată prin citometrie în flux în patru culori. Pentru analiza statistică a datelor am folosit programele Microsoft Excel XP, pentru organizarea bazei de date, și SPSS.

**2. Rezultate:** Lotul studiat a cuprins 50 de pacienți cu vârsta între 21 și 76 ani. Am găsit o incidență ceva mai mare la sexul feminin. 34 de pacienți au fost cu hepatită cronică iar 16 cu ciroză hepatică. Timpul scurs de la diagnosticul infecției cu HCV a fost între 6 și 156 de luni. 8 pacienți au prezentat număr scăzut de leucocite, trombocitopenie au prezentat 9 pacienți iar anemie 9 pacienți. VSH accelerat au avut 30 de pacienți. Timpul de protrombină a fost prelungit la 26 de pacienți. Valori crescute ale TGO au prezentat 28 de pacienți, iar ale TGP 34 de pacienți. Hiperbilirubinemie s-a întâlnit la 10 cazuri. Valori crescute ale FA au avut 6 bolnavi. La examinarea prin citometrie de flux s-a decelat limfocitoză monoclonală B la 11 pacienți. 5 din 16 pacienți cu ciroză hepatică și 6 din 34 pacienți cu hepatită cronică au prezentat LMB. 2 din cei 11 pacienți cu LMB au prezentat fenotip non-LLC, 3 fenotip de LLC iar 6 pacienți fenotip de LLC atipic. Toți cei 11 pacienți au prezentat expresie crescută de lanțuri ușoare kappa. Cca. jumătate din cazuri au prezentat ecostructură inomogenă, ecogenitate crescută a ficatului și hepatomegalie. Cca. 1/3 din bolnavi au avut dimensiuni crescute ale calibrului venei porte, mezenterice superioare și splenice. Splenomegalie s-a găsit la cca. 1/3 din pacienți. La Fibroscan 36% din bolnavi au fost diagnosticați cu fibroză avansată, restul având fibroză incipientă.

**Analiza comparativă a pacienților cu HCV cu și fără LMB:** În lotul fără LMB au fost mai multe femei, în timp ce în lotul cu LMB au fost mai mulți pacienți de sex masculin. Această diferență nu a fost statistic semnificativă. Vârsta pacienților a fost asemănătoare în ambele grupuri. În grupul cu LMB am găsit un procent mai mare de cazuri de ciroză hepatică decât în grupul fără LMB dar fără ca această diferență să fie semnificativă statistic. Nu am găsit diferențe statistice semnificative în ceea ce privește vechimea afecțiunii hepatice între cele două grupuri de pacienți. Valorile leucocitelor au fost statistic semnificativ mai mari în grupul fără LMB. Valorile limfocitelor, trombocitelor și hemoglobinei, VSH, TQ, TGO, TGP, BT, FAS și GGT nu au prezentat diferențe semnificative între cele două grupuri. Ecogenitatea hepatică la ultrasonografie a fost semnificativ mai mare în grupul cu LMB.

**Analiza comparativă a pacienților cu LMB în funcție de fenotipul monoclonal:** Nu am găsit diferențe statistic semnificative între cele trei fenotipuri în ceea ce privește parametrii demografici, de laborator și imagistici, cu excepția numărului de limfocite care a fost semnificativ mai mare în cazul fenotipului de LLC ( $p=0,01$ ) și a fosfatazei alcaline care a fost semnificativ mai mare în grupul cu fenotip non-LLC ( $p=0,04$ ).

### **Discuții, concluzii**

1. Limfocitoza monoclonală B este mult mai frecvent întâlnită la pacienții cu infecție HCV decât la populația generală, confirmând teoria stimulării antigenice continue. În timp ce, în cadrul populației generale, este cunoscut faptul că rata de transformare a LMB spre limfoproliferare malignă cu celule B este de cca.1,1% pe an, în cazul pacienților cu infecție cronică cu HCV nu s-au efectuat studii în acest sens. O altă întrebare, care poate fi ridicată, este dacă la toți pacienții cu infecție HCV la care apare limfom nonhodgkin, acesta este precedat de prezența limfocitozei monoclonale B. Demonstrarea acestei corelații ar putea duce la utilizarea imunofenotipizării limfocitelor din sângele periferic ca metodă de screening pentru a surprinde precoce apariția unui limfom nonhodgkin .

2. Numărul semnificativ mai mic al leucocitelor la pacienții cu LMB, precum și ecogenicitatea hepatică crescută, se datorează, probabil, stadiului mai avansat al bolii hepatice la acești pacienți.

3. Constatarea, la analiza subtipurilor de LMB, a unui număr semnificativ mai mare de limfocite în cadrul subgrupului cu fenotip de leucemie limfatică cronică este în corelație cu caracteristicile acestei limfoproliferări cronice de linie B.



**UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY “TULIU  
HATIEGANU” CLUJ-NAPOCA**

**Pathogenetical and therapeutical implications of viral  
infections in nonhodgkin lymphomas**

**PhD Thesis**

**Resume**

**PhD candidate: Tünde Tőrők-Vistai**

**Scientific coordinator: Prof. Dr. Ljubomir Petrov**

**Cluj-Napoca**

**2012**

## TABLE OF CONTENTS

<b>Introduction</b>	11
<b>Current stage of knowledge</b>	13
<b>1. Introduction</b>	15
<b>2. Nonhodgkin lymphomas: clasification, etiology, diagnosis, presentation, staging, prognostic factors and principles of treatment</b>	15
<b>3. Pathogenetical correlations between viral infections and lymphomas</b>	18
3.1. Viruses with direct oncogenic effect	20
3.1.1. HHV-8	20
3.1.2. EBV	20
3.1.3. HTLV-1	24
3.2. Viruses with indirect effect in lymphomagenesis	25
3.2.1. HIV	25
3.2.2. HCV	26
3.2.3. HBV	28
<b>4. Therapeutical issues of chronic viral infection-associated nonhodgkin lymphomas</b>	28
4.1. Treatment of HCV-associated lymphomas	28
4.2. Treatment of HBV-associated lymphomas	30
4.3. Treatment of HIV-associated lymphomas	32
4.4. Treatment of EBV-associated lymphomas	33

4.5. Treatment of HTPV-1-associated lymphomas	34
4.6. Treatment of herpesvirus-associated lymphomas	36
<b>PERSONAL CONTRIBUTION</b>	39
<b>1. Working hypothesis</b>	41
<b>2. Study number 1: HBV and HCV infection in patients with B-cell nonhodgkin lymphoma: prevalence, clinical, biological, evolutive and therapeutical features</b>	43
2.1. Introduction	43
2.2. Aims	43
2.3. Material and method	44
2.4. Results	45
2.5. Discussions	77
2.6. Conclusions	80
<b>3. Study number 2: Monoclonal B lymphocytosis in patients with HCV infection</b>	81
3.1. Introduction	81
3.2. Aims	82
3.3. Material and method	82
3.4. Results	84
3.5. Discussions	110
3.6. Conclusions	111
<b>4. General conclusions</b>	113

**Key words:** nonhodgkin lymphomas, viral infections, hepatitis viruses, monoclonal B lymphocytosis

## Introduction

Among the viruses associated with nonhodgkin lymphomas, the most common are the hepatitis viruses B and C (HBV and HCV). These infections represent a public health problem in Romania. There were a lot of studies in the last decade that have demonstrated a high prevalence of these viruses in B-cell nonhodgkin lymphomas (B-NHL), providing evidence for pathogenetical implication of HBV and HCV in these lymphomas. The increasing use of highly aggressive chemotherapy regimens and of immunotherapy with Rituximab raised a major therapeutical issue in viral-associated lymphomas, due to the risc of viral-reactivation after therapy.

Considering these datas, I aimed to perform a retrospectiv study on patients with B-cell nonhodgkin lymphomas admitted in the Hematology Department, in order to determine the prevalence of hepatitis viruses, to identify clinical, biological, evolutive and therapeutical features and to determine the prognostic impact of these viruses in B-NHL.

In the second part of the thesis I studied the presence of monoclonal B lymphocytosis (MBL) in patients with HCV infection. MBL is a "pre-neoplastic" disorder with a prevalence of about 3,5% among healthy individuals. Its prevalence is much higher in patients with HCV infection. There are only a few studies searching the prevalence of MBL in HCV infected patients and none of them was performed in Romania. In the light of these datas, I conducted a prospective study on patients with HCV- chronic hepatitis or chirrosis admitted at the Institute of Gastroenterology and Hepatology Prof.Dr.Octavian Fodor. I determined the prevalence of MBL and searched for correlations between MBL and demographycal, clinical and biological parameters. I also studied the prevalence of different subtypes of MBL and their correlations with different parameters.

## Current stage of knowledge

### 1.Pathogenetical correlations between viral infections and nonhodgkin lymphomas

There are two pathogenetical mechanisms of viral-induced lymphomagenesis: a direct one, characteristic for EBV, HTLV-1 and HHV-8 and an indirect one, characteristic for other viruses implicated in lymphomagenesis. In the case of the direct mechanism, transcriptions of viral oncogenes leads to immortalisations and proliferations of the infected B lymphocytes. In the presence of a normal immune system, this proliferation is held under control. If the presence of an immune-defficiency or additional oncogenic mutations, the malignant transformation appears. In the case of the indirect mechanism, the chronic viral infection stimulates directly the antigen-specific B lymphocytes or through the helper T lymphocytes, clonal expansion of B lymphocytes could appear and, eventually, it leads to malignant lymphoproliferation.

### 2. Therapeutical issues of chronic viral infection-associated nonhodgkin lymphomas

**2.1. Treatment of HCV-associated NHL:** in case of indolent lymphomas, antiviral therapy alone could lead to lymphoma remission, but in aggressive lymphomas, chemotherapy is mandatory. Prior to therapy, patients should be evaluated by PCR and liver biopsy and during therapy liver function

tests should be monitored carefully. Prophylactic antiviral treatment is usually not indicated, only in selected cases and preferably after stopping the chemotherapy.

**2.2. Treatment of HBV-associated NHL:** In all patients who will undergo chemotherapy, prophylactic antiviral treatment should be initiated with nucleosidic analogs and it should be administered at least 6 months after cessation of chemotherapy. In patients under maintenance therapy with Rituximab, antiviral treatment should also be given in this period. Liver function should be monitored frequently during and after stopping the chemotherapy.

**2.3. Treatment of HIV-associated NHL:** it depends on the grade of immunodepression and antiretroviral therapy should be associated to chemotherapy. Treatment is difficult due to infectious complications and drug-interactions.

**2.4. Treatment of EBV-associated lymphomas:** antiretroviral treatment is inefficient because the thymidine-kinase, which is the target for therapy, is not activated in these cases. Sometimes immunotherapy is associated to chemotherapy in these NHLs.

**2.5. Treatment of HTLV-1 associated NHL:** options are conventional chemotherapy or high dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation. In some forms, also antiviral treatment is used.

**2.6. Treatment of herpesvirus-associated NHL:** Acyclovir should be given in HHV-1 and 2 infection, Gancyclovir or Foscarnet in HHV-6 and 7 infection, Cyclofivir for HHV-8 and Gancyclovir or Foscarnet for CMV infection.

## PERSONAL CONTRIBUTION

### **1. Study number 1: HBV and HCV infection in patients with B-NHL: prevalence, clinical, biological, evolutive and therapeutical features**

**1.1. Aims, material and method:** to determine the prevalence of HBV and HCV infection in patients with B-NHL and to identify clinical, biological, evolutive and therapeutical features, to compare patients with positive and negative virology and to determine the prognostic impact of HBV and HCV infection in B-NHL. I performed a retrospective study on 200 nonconsecutive patients with B-NHL admitted at the Hematology Clinic Cluj-Napoca between 2001-2010, in whom virological screening was made, based on the medical records of the patients. For statistical analysis, for a data with normal distribution, the Student test was used and variations were tested with the Levene test.

**1.2. Results:** the prevalence of HBV and HCV infection in our study group was 15% for HBV, 20% for HCV and 3% for the double infection HBV+HCV. I identified 2 groups of patients: group 1, 74 patients with positive virology and group 2, 126 patients with negative virology.

#### **Characteristics of patients with HBV and/or HCV infection (group 1)**

Group 1 included 74 patients with positive virology, aged between 25 and 78 years, with an average of 53,959 years. There was a slight predominance of female patients. 29 patients had HBV infection, 40 HCV infection and 5 had double infection. In patients with HBV or HCV infection there were more cases of indolent lymphomas than aggressive lymphomas, and in patients with double infection the aggressive lymphomas were predominant. 60% of the cases were in advanced stages at diagnosis. Constitutional symptoms presented 58% of the patients. Extranodal onset was present in 35% of cases, the spleen being the most often involved organ in these situations. LDH was elevated in 62% of the patients. Almost half of the patients had inactive chronic hepatitis at the time of diagnosis of the lymphoma, the rest having active chronic hepatitis or cirrhosis. Before treatment, 46% of the patients had elevated liver enzymes and 22% had cholestasis and after chemotherapy, the

percentages were 74 and 38%. Analysing the correlation between the type of hepatitis virus and the appearance or increase of hepatocytolysis after chemotherapy, I've found a statistically significant correlation with the presence of HBV ( $p < 0,05$ ). Although there wasn't statistically significant, severe hepatocytolysis was more often seen in patients with HBV infection. The appearance or increase of cholestasis markers wasn't correlated with the type of hepatitis virus. There was no statistically significant correlation between the histological type and the increasing of bilirubin after treatment, but the increase of alkaline phosphatase was more important in patients with indolent lymphoma ( $p < 0,05$ ). Antiviral treatment was given in 17 patients.

### **Characteristics of patients without HBV or HCV infection (group 2)**

Group 2 included 126 patients with negative virology, aged between 18 and 87 years, average 54,095 years, with a slight predominance of female patients. Aggressive lymphomas were predominant. More than half of the patients were diagnosed in advanced stage. Constitutional symptoms presented 56% of the patients. 36% of the cases had extranodal onset, the stomach being the most often involved organ. Elevated LDH had 41% and increased ESR had 56% of the cases.

### **Comparative analysis of patients with and without hepatitis virus (group 1 versus group 2)**

There wasn't any statistically significant difference regarding the age and gender ( $p = 0,9427$  and  $0,9739$ ). The association of viruses was significantly higher in patients aged between 41 and 50 years ( $p < 0,05$ ). Analysing the correlation between age, histological type and the type of hepatitis virus, there wasn't any statistically significant difference. I've found a positive association of viruses in female patients aged between 41 and 50 years, comparative to the rest of the cases ( $p < 0,05$ ). There was also a significantly higher association of the viruses in male patients aged between 41-50 years with indolent lymphoma and a significantly lower association in male patients aged between 51 and 60 years, with indolent lymphoma. In both groups patients were diagnosed in advanced stages. Constitutional symptoms presented about half of the cases in both groups. Extranodal onset was present in about 1/3 of the cases in both groups, the only difference was regarding the organ involved: the spleen in group 1 and the stomach in group 2. There wasn't a statistical correlation between the presence of viruses and the elevated ESR. In case of indolent lymphomas, I've found a statistically significant correlation between the presence of viruses and the elevated LDH. There was no difference in term of response to treatment, nor in the 2-year disease free survival between this two groups, but the rate of relapse was significantly higher in patients with aggressive lymphoma and positive hepatitis virus.

### **Discusions, conclusions**

1. The prevalence of HBV and HCV infection in patients with B-NHL is significantly higher than in the general population.
2. Virological screening is mandatory in patients with NHL, especially because many patients don't have any sign of hepatitis before chemotherapy.
3. Posttherapeutical values of liver enzymes are significantly higher than before treatment. In aggressive lymphomas the presence of HBV was correlated with a higher frequency of post-treatment hepatocytolysis than in patients with HCV infection and also, more severe hepatocytolysis was observed in patients with HBV-associated lymphoma.
4. Prophylactic antiviral treatment can prevent liver damage and permits the administrations of the scheduled chemotherapy. However, in our study group, outcome wasn't influenced by the association of antiviral treatment.
5. Comparing patients with and without hepatitis virus infection, there is a statistically higher association of viruses in female patients with age between 41 and 50 years. In male patients

with indolent lymphomas, there was a significantly higher association of viruses at the age group of 41-50 years and a significantly lower association at the age group of 51-60 years. In indolent lymphomas, there is a statistically significant association between the presence of viruses and the elevated LDH. There was any significant difference in term of response to treatment but the rate of relapse was significantly higher in patients with aggressive lymphoma associated with hepatitis virus.

## **Study number 2: Monoclonal B lymphocytosis in patients with HCV infection**

**1. Aims, material and method:** to determine the prevalence of MBL in patients with HCV, the subtype of MBL, identification of demographic, clinical and biological features of patients with HCV-associated MBL, searching for a correlation between the monoclonal phenotype and different datas. The study included 50 patients with HCV infection diagnosed and treated at the Regional Institute of Gastroenterology and Hepatology Prof. Dr. Octavian Fodor. Datas were collected from the medical records of the patients. MBL was detected using a 4-colour flowcytometry. For statistical analysis Microsoft Excel XP programme and SPSS were used.

**2. Results:** the study group included 50 patients aged between 21 and 76 years, with a slight predominance of female cases. 34 patients had chronic hepatitis and 16 cirrhosis. Time from the diagnosis of HCV infection was between 6 and 156 month. 8 patients had leucopenia, 9 had thrombocytopenia and 9 had anemia. 30 patients had elevated ESR. Prothrombin time was increased in 26 patients. ASAT was elevated in 28 patients and ALAT in 34 patients. Increased bilirubin was found in 10 patients, elevated ALP in 6 patients. Flowcytometry detected MBL in 11 cases, 5 from 16 patients with cirrhosis and 6 from 34 with chronic hepatitis. Monoclonal phenotype was: non-CLL-type- 2 cases, CLL-type- 3 cases and atypical CLL-type 6 cases. All of those 11 patients presented elevated kappa/lambda ratio. About half of the cases had hepatomegaly, increased liver ecogenity and inhomogen liver structure at ultrasonography. About 1/3 of patients had increased dimensions of the portal vein, the superior mesenteric vein and the splenic vein. 36% of the patients had advanced fibrosis at Fibroscan.

**Comparative analysis of patients with and without MBL:** there were more female patients in the group without MBL, while in the MBL-group there were more male patients but this difference wasn't statistically significant. The age of the patients was comparable in this two groups. There were more cases of cirrhosis in the MBL-group but there was no statistically significant difference, nor regarding the duration of HCV infection. The leucocyte count was significantly higher in the non-MBL group. There were no significant differences in the lymphocyte count, platelet count, hemoglobin value, ESR, ASAT, ALAT, bilirubin, ALP and GGT between the two groups. Liver ecogenity was significantly higher in the MBL-group.

**Comparative analysis of patients with MBL according to the monoclonal phenotype:** there were no differences regarding the demographical, laboratory and imagistical datas, except for the lymphocyte count which was significantly higher in the CLL-phenotype group ( $p=0,01$ ) and the ALP which was significantly higher in the non-CLL phenotype group ( $p=0,04$ ).

## **Discussions, conclusions**

1. The prevalence of MBL is significantly higher in patients with HCV infection than in the general population, supporting the theory of chronic antigenic stimulation. In the general population, the rate of transformation of MBL into malignant B- lymphoproliferation it is known to be about 1,1% per year, but there were no studies performed on patients with HCV infection. Another question that could be raised is if in all patients with HCV the appearance of B-NHL is preceded by MBL. If this would be the case, the detection of MBL could become a screening method for early detection of lymphoma in patients with HCV.

2. The significantly lower leucocyte count and the higher liver ecogenity in the MBL- group could be atributted to the more advanced liver disease in these cases.
3. The finding of a significantly higher lymphocyte count in the CLL-like type MBL group could be explained by the characteritics of this chronic B lymphoproliferative disorder.



**L'UNIVERSITÉ DE MÉDECINE ET PHARMACIE „IULIU HATIEGANU”  
CLUJ-NAPOCA**

**Les implications pathogénétiques et  
thérapeutiques des infections  
virales dans les lymphomes non  
hodgkiniens**

**THÈSE DE DOCTORAT  
RÉSUMÉ**

**Doctorant: Tünde Tórók-Vistai**

**Coordinateur du doctorat: Prof. Dr. Ljubomir Petrov**

**Cluj-Napoca  
2012**

## TABLE DES MATIÈRES

<b>INTRODUCTION</b>	11
<b>STADE ACTUEL DE CONNAISSANCE</b>	13
<b>1. Introduction</b>	15
<b>2. Les lymphomes non hodgkiniens: classification, facteurs étiologiques, diagnostique, présentation, stadialisation, facteurs de pronostic et principes de traitement</b>	15
<b>3. La corrélation pathogénétique entre les infections virales et les lymphomes non hodgkiniens</b>	18
3.1. Les virus avec action oncogénique directe	20
3.1.1. HHV-8	20
3.1.2. EBV	20
3.1.3. HTLV-1	24
3.2. Les virus avec action indirecte dans la lymphomagenèse	25
3.2.1. HIV	25
3.2.2. HCV	26
3.2.3. HBV	28
<b>4. Des aspects de traitement des lymphomes non hodgkiniens associés aux infections virales chroniques</b>	28
4.1. Le traitement des lymphomes associés à HCV	28
4.2. Le traitement des lymphomes associés à HBV	30
4.3. Le traitement des lymphomes associés à l'infection HIV	32
4.4. Le traitement des lymphomes associés à EBV	33
4.5. Le traitement des lymphomes associés à HTLV-1	34
4.6. Le traitement des lymphomes associés aux herpès virus	36
<b>CONTRIBUTION PERSONNELLE</b>	39
<b>1. L' hypothèse de travail</b>	41

<b>2. Stade 1: l'infection par HBV et HCV aux patients LNH-B: prévalence, particularités cliniques, biologiques, évolutives et thérapeutiques</b>	43
2.1. Introduction	43
2.2. Objectifs	43
2.3. Matériel et méthode	44
2.4. Résultats	45
2.5. Discussions	77
2.6. Conclusions	80
<b>3. Stade 2: la lymphocytose monoclonale B aux patients infectés par HCV</b>	81
3.1. Introduction	81
3.2. Objectifs	82
3.3. Matériel et méthode	82
3.4. Résultats	84
3.5. Discussions	110
3.6. Conclusions	111
<b>4. Conclusions générales</b>	113
<b>RÉFÉRENCES</b>	115

**Mots-clés:** lymphomes non hodgkiniens, infections virales, virus hépatitiques, lymphocytose monoclonale B.

## **Introduction**

Parmi les virus associés aux lymphomes non hodgkiniens les plus répandus sont les virus des hépatites B et C (HBV și HCV), qui posent un problème majeur de santé publique en Roumanie. Au cours de la dernière décennie on a fait de nombreuses études qui ont démontré la prévalence augmentée de ces virus dans les lymphomes non hodgkiniens à cellules B (LNH-B), confirmant leur implication pathogénétique dans l'apparition de ceux-ci. L'utilisation de plus en plus fréquente des traitements agressifs de chimiothérapie et de l'immunothérapie à Rituximab a posé un problème majeur dans le traitement des lymphomes associés aux virus des hépatites par les réactivations virales qui ont survenu après le traitement.

Dans le contexte de ces dates, je me suis proposée de réaliser une étude rétrospective sur la casuistique de la Clinique de Hématologie afin d'étudier la prévalence des virus des hépatites aux patients à LNH-B, d'identifier des particularités cliniques, paracliniques, évolutives et thérapeutiques et d'établir l'impact de l'association des virus des hépatites sur le pronostic de ces malades.

Dans la deuxième partie de ma thèse j'ai étudié la présence de la lymphocytose monoclonale B (LBM) aux patients infectés par HCV. LMB est une condition "prénéoplasique", présente aussi chez les personnes saines, avec une prévalence moyenne de 3,5%. La prévalence de LMB est beaucoup plus grande aux patients infectés par HCV qu'à la population générale. Dans la littérature il n'y a que quelques études qui ont recherché la prévalence de LMB chez les patients infectés par HCV, lorsqu'en Roumanie on n'a fait pas une étude de ce type. À partir de ces dates j'ai fait une étude prospective sur des patients souffrant d'hépatite chronique ou de cirrhose hépatique virale hospitalisés à l'Institut Régional de Gastroentérologie et Hépatologie Prof. Dr. Octavian Fodor. J'ai établi la prévalence de LMB et j'ai essayé d'identifier de certaines corrélations entre la présence de LMB et les paramètres démographiques, cliniques et paracliniques de ces patients. Aussi ai-je étudié la prévalence des sous-types de LMB et leur corrélation avec de divers paramètres.

## **Le stade actuel de connaissance**

### **1. La corrélation pathogénétique entre les infections virales et les lymphomes non hodgkiniens**

Les mécanismes pathogénétiques de la transformation lymphomateuse sous l'action des antigènes viraux sont : un mécanisme direct, typique aux virus oncogènes comme le EBV, HTLV-1 et HHV-8, et un mécanisme indirect, typique aux autres virus impliqués dans la lymphomagenèse. Dans le cas du mécanisme direct, la transcription des oncogènes viraux latents mène à l'immortalisation des lymphocytes B infectés et leur prolifération. Dans le contexte d'un système immunitaire normal, cette prolifération est tenue sous contrôle. Dans le cas d'un déficit immunitaire ou d'une mutation oncogène additionnelle, surgit la transformation en lymphome malin. Dans le cas du mécanisme indirect, l'infection virale chronique stimule les lymphocytes B antigène-spécifiques soit directement ou à travers les lymphocytes T helper, l'expansion clonale de ceux-ci pouvant apparaître, ce qui mène enfin à la lymphoprolifération maline.

### **2. Des aspects de traitement des lymphomes non hodgkiniens associés aux infections virales chroniques**

**2.1. Le traitement de LNH associé à HCV:** dans le cas des lymphomes indolents le traitement antiviral seul peut mener à la régression du lymphome, lorsque pour les lymphomes agressifs la chimiothérapie est nécessaire. Les patients sont évalués avant la chimiothérapie par PCR et ponction-biopsie hépatique, et au cours du traitement il faut attentivement monitoriser les épreuves hépatiques. Le traitement antiviral prophylactique n'est pas indiqué de manière systématique, seul dans les cas bien sélectionnés, on en préfère l'administration à la fin de la chimiothérapie.

**2.2. Le traitement de LNH associé à HBV:** pour tous les patients infectés par HBV qui vont subir de la chimiothérapie et/ou de l'immunothérapie on doit initier le traitement antiviral prophylactique avec un analogue nucléosidique administré au moins 6 mois après l'achèvement du traitement, lorsque pour les patients qui font le traitement de maintenance avec Rituximab, le traitement antiviral prophylactique doit être continué pendant toute cette période aussi. Il est nécessaire de monitoriser fréquemment les épreuves hépatiques tant au cours du traitement qu'après l'achèvement du traitement.

**2.3. Le traitement de LNH associé à HIV:** celui-ci dépend du degré d'immunodépression; il est bien nécessaire d'associer aussi le traitement antirétroviral aux programmes de chimiothérapie. Le traitement est bien difficile à cause des complications infectieuses et des interactions médicamenteuses.

**2.4. Le traitement de LNH associé à EBV:** le traitement antiviral est inefficace dans le cas des LNH associés à EBV, lorsque la timidinkinase virale qui est le cible du traitement antiviral n'est pas exprimée. Outre la chimiothérapie on utilise aussi parfois l'immunothérapie.

**2.5. Le traitement de LNH associé à HTLV-1:** consiste dans l'administration de chimiothérapie conventionnelle ou de chimiothérapie intensive suivie par une greffe autologue de cellules stem. Dans de certaines formes on administre aussi du traitement antiviral.

**2.6. Le traitement des lymphomes associés aux hypervirus:** consiste dans l'administration de Acyclovir pour les herpès virus 1 et 2, Gancyclovir ou Foscarnet pour les herpès virus 6 et 7, Cciclofovir pour le herpès virus 8, et Ganciclovir ou Foscarnet pour le virus cytomégalyque.

## **La contribution personnelle**

### **1. L'étude 1: l'infection par HBV et HCV chez les patients à LNH-B: prévalence, particularités cliniques, biologiques, évolutives et thérapeutiques**

**1.1. Objectifs, matériel et méthode:** établir la prévalence de l'infection par HBV et HCV chez les patients à LNH-B, identifier les particularités cliniques, biologiques, évolutives et thérapeutiques des patients avec infection virale associée, l'analyse comparative des patients avec virusologie positive vs. les patients avec virusologie négative et l'investigation de l'impact de l'infection par HBV ou HCV sur le pronostic du lymphome. J'ai fait une étude rétrospective sur un nombre de 200 patients non consécutifs à LNH-B diagnostiqués et traités à la Clinique de Hématologie de Cluj-Napoca durant la période 2001-2010, auxquels on a fait du screening virusologique pour le HBV et HCV sur la base des informations des fiches d'observation des patients. Pour l'analyse statistique des dates, dans le cas des dates à distribution normale, on a utilisé le test Student pour des épreuves indépendentes, lorsqu'on a testé les variations avec le test de Levene pour la variation.

**1.2. Résultats:** la prévalence de l'infection par HBV et HCV dans le lot de patients étudiés a été de 15% pour le HBV, 20% pour le HCV et 3% pour l'infection double. Ainsi ai-je identifié 2 lots de patients: le lot 1-74 patients avec virusologie positive et le lot 2- 126 patients avec virusologie négative.

#### **Les caractéristiques des patients avec infection par HBV et/ou HCV associée (lot 1)**

Le lot 1 comprend 74 patients avec sérologie positive pour le HBV et/ou HCV, âgés entre 25 et 78 ans, l'âge moyenne 53,959 ans, avec une légère prépondérance des cas chez le sexe féminin.

29 patients ont présenté l'infection par HBV, 40 l'infection par HCV et 5 patients ont présenté une double infection. J'ai trouvé plus de lymphomes indolents qu'agressifs. Tant pour le HBV que pour le HCV on peut constater une fréquence plus grande des lymphomes indolents. Dans le cas des lymphomes à double infection les types histologiques agressifs ont été un peu plus fréquents. 60% des patients ont été diagnostiqués à un stade avancé. 58% ont manifesté des signes généraux B. 35% des patients ont présenté un début extranodal. L'organe le plus fréquemment affecté dans le cas du début extranodal fut la rate. La LDH augmentée fut établi chez 62% des patients. Le diagnostic de la hépatopathie chronique fut hépatite chronique inactive dans presque une demie des cas, le reste étant diagnostiqués avec hépatite chronique active et cirrhose hépatique. Avant le traitement, uniquement 46% des patients ont présenté de l'hépatocytolise et 22% de la cholestase, lorsqu'après le traitement 74% ont présenté de la hépatocytolise et 38% de la cholestase. Ayant analysé la corrélation entre le type de virus hépatitique présent et l'apparition ou l'accentuation de la hépatocytolise après le traitement, j'ai trouvé une association statistiquement significative avec la présence de HBV dans les lymphomes agressifs ( $p < 0,05$ ). Dans le cas de HBV l'hépatocytolise sévère a été plus fréquemment observée, mais cette différence n'a pas été statistiquement significative. L'apparition ou l'accentuation de la cholestase après le traitement ne s'est pas corrélée au type du virus hépatitique présent. Il n'y a pas eu aucune association statistiquement significative entre l'augmentation de la bilirubine totale après le traitement et le type histologique, mais d'autre part l'augmentation de FAS fut bien plus significative chez les patients à LNH indolent ( $p < 0,05$ ). Le traitement antiviral fut administré aux 17 patients.

#### **Les caractéristiques des patients sans infection par HBV et/ou HCV associée (lot 2)**

Le lot 2 a inclu un nombre de 126 patients avec serologie négative pour le HBV et HCV, âgés entre 18 et 87 ans, l'âge moyenne 54,095 ans, avec une prépondérance des cas chez les femmes. On a rencontré plus fréquemment les types histologiques agressifs que ceux indolents. Plus d'une demie des patients ont été diagnostiqués à des stades avancés de la maladie. 56% des patients ont présenté des signes généraux de type B. 36% des patients ont présenté du début extranodal. L'organe le plus fréquemment affecté dans le cas du début extranodal fut l'estomac. La LDH augmentée fut établie chez 41% des patients. Le VSHaccélééré fut mis en évidence dans 56% des cas.

### **L'analyse comparative des patients avec et sans une infection par le virus hépatitique (lot 1 vs. lot 2)**

Je n'ai pas trouvé une différence statistiquement significative en ce qui concerne l'âge ( $p=0,9427$ ) et le sexe ( $p=0,9739$ ) des patients avec ou sans infection par le virus hépatitique. L'association des virus hépatitiques avec le LNH à de divers groupes d'âge fut bien plus significative ( $p<0,05$ ) chez les patients âgés entre 41-50 ans. Ayant analysé le corrélation entre l'âge et le caractère indolent ou agressif du lymphome avec ou sans infection virale associée, je n'ai pas trouvé une différence statistiquement significative. Ayant analysé l'association des virus hépatitiques aux lymphomes (mis à part le type histologique) en fonction du sexe et des groupes d'âge, au groupe de patients âgés 41-50 ans, femmes, j'ai établi une association bien plus significative des virus hépatitiques aux lymphomes que pour le reste des patients ( $p<0,05$ ). L'analyse de la corrélation entre l'association de l'infection avec des virus hépatitiques au LNH-B en fonction de l'âge, le sexe et le type histologique, a relevé une association avec le virus hépatitique bien plus significative chez les patients à lymphome indolent, de sexe masculin et âgés entre 41-50 ans ( $p<0,05$ ) et une association moins significative des virus chez les patients à lymphome indolent, de sexe masculin et âgés entre 51-60 ans ( $p<0,001$ ). Pour les deux lots de patients on a mis le diagnostique dans la plupart des cas à des stades avancés. Environ une demie des patients ont manifesté des signes généraux de type B, environ un tiers des patients des deux lots ont présenté le début extranodal, dans le lot avec infection virale associée on peut plus fréquemment rencontrer les lymphomes spléniques, lorsque dans le lot sans infection virale associée les lymphomes débutés au niveau du tube digestif sont plus fréquents. Je n'ai pas trouvé une association statistiquement significative entre la coexistence du virus hépatitique et le début extranodal de la maladie ( $p=0,9439$ ). L'association entre le VSH augmenté et la présence du virus hépatitique n'est pas statistiquement significative ( $p=0,4743$ ). Dans le cas des lymphomes indolents il y a une association statistiquement très significative entre la coexistence du virus hépatitique et les valeurs augmentées de la LDH ( $p<0,05$ ). En ce qui concerne la réponse au traitement, je n'ai pas trouvé une association statistiquement significative entre la coexistence des virus hépatitiques et le taux des rémissions complètes. Mais d'autre part le taux des rechutes a été bien plus significative chez les patients au lymphome agressif et du virus associé comparatif aux patients sans le virus ( $p<0,05$ ). Je n'ai pas trouvé une corrélation entre la survie à l'âge de 2 ans sans des signes de la maladie et la coexistence du virus hépatitique ( $p=0,08553$ ), quelque soit le type histologique et le stade.

### **Discussions, conclusions**

1. La prévalence de l'infection par HBV et HCV chez les patients aux lymphomes non-Hodgkiniens avec des cellules B est bien plus grande qu'à la population générale.
2. Il est nécessaire de faire le screening virusologique de tous les patients avec LNH B, surtout dans le contexte où la plupart des malades ne présentent pas des signes d'affection hépatitique avant le traitement.
3. Chez les patients avec HBV et/ou HCV associé les valeurs post-thérapeutique des transaminases sont statistiquement bien plus significatives que les valeurs pré-thérapeutiques. Dans les lymphomes agressifs on a corrélé la présence de HBV avec la fréquence bien plus grande de l'apparition de l'hépatocytolise post-traitement par comparaison aux cas où l'on a associé uniquement le HCV. Aussi l'hépatocytolise sévère a été plus fréquemment constatée dans le cas de HBV que dans le cas de HCV, bien que cette association soit statistiquement insignifiante.

4. L'association prophylactique du traitement antiviral à la chimio- et immunothérapie aurait pu diminuer l'incidence des complications hépatiques et permettre l'administration correcte du traitement. Néanmoins pour notre lot de patients le taux de la réponse au traitement et le taux de la survie à l'âge de 2 ans sans des signes de la maladie n'ont pas été influencés par l'association ou non du traitement antiviral.
5. En faisant un comparaison entre les patients avec virusologie positive et ceux avec virusologie négative j'ai trouvé une association statistiquement bien plus significative des virus hépatitiques chez les patients avec LNH-B de sexe féminin âgés entre 41-50 ans. Du point de vue du type histologique, chez les patients de sexe masculin au lymphome indolent âgés entre 41-50 ans j'ai constaté une association bien plus significative des virus et bien moins significative entre 51-60 ans. Pour ce qui est des lymphomes indolents il y a une association statistiquement significative entre la coexistence des virus hépatitiques et la LDH augmentée. En ce qui concerne la réponse au traitement il n'y a pas de différences statistiquement significatives entre le taux des remissions complètes et la survie à l'âge de 2 ans sans des signes de la maladie, mais le taux des rechutes est bien plus significative chez les patients au lymphome agressif et virus associé.

## **Étude 2: La lymphocytose monoclonale B chez les patients avec infection par HCV**

**1. Objectifs, matériel et méthode:** établir la prévalence de la lymphocytose monoclonale B chez les patients avec infection par HCV, établir le phénotype monoclonal, identifier des particularités démographiques, cliniques et paracliniques dans le cas des patients à LMB associé à l'infection par HCV, rechercher l'existence de corrélations entre le phénotype monoclonal et les caractéristiques démographiques, cliniques et paracliniques des patients à LMB associé à l'infection par HCV. L'étude a compris un nombre de 50 patients avec infection par HCV, diagnostiqués et traités à L'Institut Régional de Gastroentérologie – Hépatologie "Prof. Dr. Octavian Fodor" de Cluj-Napoca. L'évaluation des dates démographiques et paracliniques, du traitement et de l'évolution fut réalisée sur la base des fiches d'observation des patients. On a détecté le LMB par la cytométrie en flux en quatre couleurs. Pour l'analyse statistique des dates on a utilisé les programmes Microsoft Excel XP, pour l'organisation de la base de données, et SPSS.

**2. Les résultats:** le lot étudié a compris un nombre de 50 patients âgés entre 21 et 76 ans. J'ai établi une incidence un peu plus grande au sexe féminin. Un nombre de 34 patients ont eu de l'hépatite chronique et 16 patients ont eu de la cirrhose hépatique. L'intervalle de temps écoulé depuis le diagnostic de l'infection par HCV a été de 6 et 156 mois. 8 patients ont présenté un nombre réduit de leucocytes, 9 patients ont présenté de la thrombocytopénie et 9 patients ont présenté de l'anémie. 30 patients ont eu le VSH accéléré. Le temps de prothrombine fut prolongé chez 26 patients. 28 patients ont présenté des valeurs augmentées du TGO, et 34 patients ont présenté des valeurs augmentées du TGP. Dans 10 cas on a rencontré l'hyperbilirubinémie. 6 malades ont présenté des valeurs augmentées du FA. A l'examen par la cytométrie en flux on a détecté la lymphocytose monoclonale B à un nombre de 11 patients. 5 des 16 patients avec cirrhose hépatique et 6 des 34 patients avec hépatite chronique ont présenté du LMB. 2 des 11 patients avec LMB ont présenté un phénotype non-LLC, 3 patients un phénotype LLC et 6 patients un phénotype LLC atypique. Tous les 11 patients ont présenté une fréquence accentuée des chaînes légères de type Kappa. Plus d'une demie des cas ont présenté une écostructure inhomogène et une échogénicité augmentée de la foie. Presqu'une demie des patients ont eu de l'hépatomégalie. Environ 1/3 des malades ont présenté des dimensions augmentées du calibre de la veine porte, mésentérique supérieure et splénique. On a établi la splénomégalie chez environ 1/3 des patients. Au Fibroscan 36% des malades ont été diagnostiqués avec fibrose avancée, le reste avec fibrose incipiente.

**L'analyse comparative des patients à HCV avec et sans LMB:** dans le lot sans LMB il y a eu plus de femmes, lorsque dans le lot avec LMB il y a eu plus d'hommes. Cette différence n'a pas été statistiquement significative. L'âge des patients a été similaire dans les deux groupes. Dans le groupe avec LMB j'ai établi un pourcentage plus grand de cas de cirrhose hépatique que dans le groupe sans

LMB mais cette différence n'est pas statistiquement significative. Je n'ai pas trouvé des différences statistiquement significatives en ce qui concerne l'âge de l'affection hépatique entre les deux groupes de patients. Les valeurs des leucocytes ont été statistiquement plus grandes dans le groupe sans LMB. Les valeurs des lymphocytes, des thrombocytes et de la hémoglobine, VSH, TQ, TGO, TGP, BT, FAS et GGT n'ont pas présenté des différences significatives entre les deux groupes. Par la comparaison des résultats des explorations imagistiques des deux groupes on a mis en évidence une différence statistiquement significative uniquement dans le cas de l'échogénicité hépatique à l'ultra-sonographie, celle-ci étant bien plus significative dans le groupe avec LMB.

**L'analyse comparative des patients avec LMB en fonction du phénotype monoclonal:** je n'ai pas trouvé des différences statistiquement significatives entre les trois phénotypes en ce qui concerne les paramètres démographiques et de laboratoire, excepté le nombre de lymphocytes qui a été bien plus grand dans le cas du phénotype de LLC et la phosphatase alcaline qui a été bien plus grande dans le groupe au phénotype non-LLC. A l'analyse post hoc Tukey pour les lymphocytes j'ai déterminé l'existence d'une différence statistiquement significative entre les patients non-LLC et ceux à phénotype LLC ( $p=0,01$ ). A l'analyse post hoc Tukey pour FAS, j'ai déterminé l'existence d'une différence statistiquement significative entre les patients à phénotype non-LLC et les patients à phénotype LLC atypique ( $p=0,04$ ). Je n'ai pas trouvé des différences statistiquement significatives entre les trois phénotypes LMB en ce qui concerne les paramètres ultrasonographiques ou le degré de la fibrose hépatique mesurée par le fibroscan.

### **Discussions, conclusions**

1. La lymphocytose monoclonale B est bien plus fréquemment rencontrée chez les patients avec infection par HCV qu'à la population générale, ce qui confirme la théorie de la stimulation antigénique continue. Lorsque, dans la population générale, on connaît le fait que le taux de transformation de LMB en lymphoprolifération maligne avec des cellules B est d'environ 1,1% par an, dans le cas des patients avec infection chronique par HCV on n'a pas fait des études dans ce sens. Une autre question qu'on peut poser est si chez tous les patients avec infection par HCV auxquels le lymphome nonhodgkinien surgit celui-ci est précédé par la présence de la lymphocytose monoclonale B. La démonstration de cette corrélation pourrait mener à l'utilisation de l'immunophénotypisation des lymphocytes du sang périphérique comme une méthode de screening afin de surprendre de manière précoce l'apparition d'un lymphome non hodgkinien.

2. Le nombre bien plus réduit de leucocytes chez les patients avec LMB, ainsi que l'échogénicité hépatique accrue sont probablement dues au stade plus avancé de la maladie hépatique chez ces patients.

3. La constatation, suivant l'analyse des sous-types de LMB, d'un nombre bien plus significatif de lymphocytes au cadre du sous-groupe avec du phénotype de leucémie lymphatique chronique est en corrélation avec les caractéristiques de cette lymphoprolifération chronique de ligne B.



