

GIUSEPPE AMADORI (*)

I LINFOMI NON-HODGKIN,
ovvero
UN ESEMPIO DI UTILE APPLICAZIONE DELLA
BIOLOGIA MOLECOLARE ALLA CLINICA

INTRODUZIONE

La storia dei linfomi maligni vede il suo inizio con la descrizione da parte di Tommaso Hodgkin, nel 1832, di alcuni casi di ingrossamento linfoghiandolare e splenico con decorso progressivo e fatale. Da allora le conoscenze riguardanti queste affezioni si sono sviluppate lentamente, attraverso fasi di accese controversie, fino agli inizi degli anni '70; si entra quindi in un'era di affascinante sviluppo, legato sia all'enorme espansione delle conoscenze immunologiche – ed i linfomi non-Hodgkin sono neoplasie del sistema immunitario – sia per il prospettarsi, via via più concreto, di sostanziali successi terapeutici.

I linfomi non-Hodgkin rappresentano uno dei problemi più attuali e difficili della medicina. Sebbene siano relativamente rari, la loro incidenza è in rapido aumento in tutto il mondo per motivi solo parzialmente noti, tra i quali vanno sicuramente annoverati l'uso prolungato di terapie immunodepressive ed il diffondersi di infezioni da virus linfotropi.

Se la gran mole di lavori comparsi nell'ultimo decennio riflette da un lato l'importante progresso delle cognizioni raggiunto a proposito della morfologia, citochimica, caratterizzazione immunologica e funzione delle cellule dell'apparato immunitario, dall'altro è anche espressione di divergenze di opinioni talvolta sostanziali, la maggior parte superate con l'applicazione di metodiche sempre più sofisticate. Le incertezze e l'opinabilità

(*) Professore Associato di Ematologia dell'Università di Padova.

che a lungo hanno caratterizzato questa materia sono espresse anche dalla difficoltà di classificare tali tumori, notevolmente diversi tra loro sul piano istologico, secondo uno schema facilmente applicabile. Solo recentemente, infatti, è stata applicata in campo internazionale la cosiddetta «working formulation», proposta e concordata dai promotori delle sei principali classificazioni precedentemente usate. Tuttavia una non trascurabile e crescente percentuale di casi sicuramente ascrivibili ai linfomi maligni sfugge ancora all'attribuzione ad un preciso tipo istologico.

Una varietà di linfomi non-Hodgkin rappresenta la prima e unica neoplasia umana a sicura eziologia virale, come dimostrato dai brillanti studi del gruppo di Gallo, ed altre riconoscono probabilmente come causa l'attivazione di particolari sequenze del genoma cellulare, normalmente represses, chiamate «oncogeni» per il loro possibile rapporto con la trasformazione neoplastica.

Per tutte queste ragioni e per l'ampia problematica connessa, la patologia in questione è di grande interesse sia da un punto di vista speculativo che da quello pratico ed offre l'occasione, non frequente, di applicare vantaggiosamente alla clinica alcune recenti acquisizioni della biologia molecolare.

IL PROBLEMA DELLA CLASSIFICAZIONE

Mentre l'elemento neoplastico del linfoma (o linfogranuloma) di Hodgkin, più comune e più facilmente dominabile dalla terapia, è probabilmente la cellula macrofagica, i linfomi non-Hodgkin rappresentano tumori costituiti da linfociti in varia fase di differenziazione. Per la corretta comprensione della loro biologia e per l'adeguato approccio terapeutico è indispensabile classificare le singole entità in base a criteri attendibili.

In passato ogni tentativo di sistematica in tale materia si basava esclusivamente su caratterizzazioni morfologiche, talvolta elaborate e raffinate, fino alla ben nota proposta classificativa di Rappaport ⁽¹⁾ del 1966, ancora molto in uso nei Paesi Anglosassoni. Dall'inizio degli anni '70 si è dovuto tener conto delle fondamentali acquisizioni riguardanti l'orga-

⁽¹⁾ RAPPAPORT H.: *Tumors of hematopoietic system*. In: Atlas of tumor Pathology, sect. III, Armed Forces Inst. of Pathology, Washington 1966.

nizzazione funzionale delle cellule linfatiche e della possibilità di distinguere stadi maturativi precedentemente sconosciuti (²).

Prima di entrare nel vivo del problema, si ritiene opportuno riportare alcuni importanti dati storici, al fine di fornire una traccia dello sviluppo delle conoscenze in materia.

- Hodgkin nel 1832 descrisse la varietà oggi indicata con l'eponimo «morbo di Hodgkin», ma in alcuni casi corrispondenti a linfomi non-Hodgkin;
- Virchow, nel 1845 coniò e definì il concetto di leucemia e nel 1863 quello di linfo sarcoma;
- Billroth, Chirurgo, definì nel 1871 il concetto di linfo ma maligno;
- Kundrat nel 1893 e Paltauf nel 1896 distinsero le caratteristiche del linfo sarcoma da quelle del linfo granuloma di Hodgkin;
- Sternberg nel 1898 e Reed nel 1902 definirono il quadro istologico del linfo granuloma maligno, caratterizzato dalle cellule giganti;
- Brill, Baher e Rosenthal nel 1925 e Symmers nel 1927 descrissero il tumore linfo ndale follicolare definendolo «iperplasia follicolare gigante»;
- Roulet nel 1930 distinse l'endotelio sarcoma dai comuni linfomi;
- Callender nel 1934 attribuì all'iperplasia follicolare gigante carattere di malignità, concetto confermato nel 1941 da Gall, Morrison e Scott;
- Waldenström nel 1944 riportò i primi casi di crioglobulinemia e
- Rappaport nel 1956 sostenne la tesi secondo la quale i linfomi follicolari erano varianti strutturali di linfomi diffusi, negandone la natura peculiare;
- nel 1958 Burkitt descrisse il linfo ma africano che prese il suo nome, ed infine
- Rappaport nel 1966 pubblicò la classificazione divenuta in seguito famosa.

L'importanza delle osservazioni di Bianco, Raff, Basten e Jondal (²), secondo le quali le popolazioni linfo citarie T e B, già note da studi sperimentali, possedevano particolari caratteristiche di membrana che ne permettevano l'identificazione, rese necessario che ogni classificazione successiva dovesse tenere conto di queste realtà. Sul piano pratico ciò cominciò ad essere attuato dapprima nel campo delle leucemie linfatiche e successivamente in quello dei linfomi non leucemici, a causa di difficoltà metodologiche (figg. 1 e 2).

(²) JONDAL M.: *Surface Markers on human B and T Lymphocytes. Distribution of Surface Markers on resting and Blast transformed Cells*. Scand. J. Immunol. 1974; 3: 739.

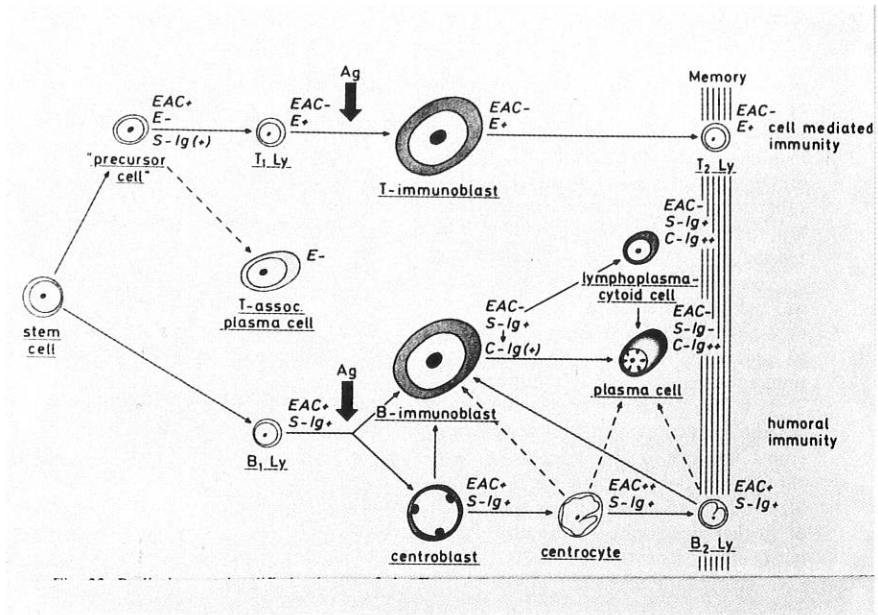


Fig. 1 - Dicotomia differenziativa delle cellule immunocompetenti e stadi maturativi identificati dai primi markers in uso prima dell'applicazione degli anticorpi monoclonali. Dalla cellula staminale linfatica traggono origine:

a) la linea dei linfociti T (= timo-dipendenti), che diventano tali dopo essere stati «educati» nel timo ed acquisiscono immunocompetenza specifica in seguito a contatto con determinati antigeni, dopo di che possono vivere fino a vent'anni e mantenere memoria di reazione verso l'antigene incontrato. Loro ruolo principale è la difesa verso virus, miceti, micobatteri, cellule eterologhe trapiantate, e la modulazione della produzione anticorpale da parte dei linfociti B e plasmacellule, inizialmente promossa e successivamente frenata. Sono identificate per la capacità di legare emazie di montone, di formare cioè le cosiddette «rosette E»;

b) la linea dei linfociti B (= Borsa-dipendenti) il cui elemento più differenziato è la plasmacellula, specializzata nella produzione di anticorpi, o immunoglobuline, di varie classi (IgG, IgA, IgD, IgM, IgE). Negli uccelli esiste un organo specifico nel quale il linfocito primitivo viene «educato» a cellula B, la Borsa di Fabrizio. Si ritiene che tale funzione nei mammiferi sia svolta dal tessuto linfatico dell'intestino. La differenziazione in plasmacellula può avvenire nei follicoli dei linfonodi e della milza, attraverso la fase di centroblasto e centrocito, o al di fuori di essi. La difesa anticorpale è rivolta principalmente verso i batteri e le tossine da essi prodotte. I linfociti B sono identificati principalmente dalla presenza di immunoglobuline sulla superficie cellulare.

Esiste infine una terza popolazione di linfociti maturi, privi dei markers T e B: sono i cosiddetti linfociti «null».

EAC = recettore per il complemento;
 E = capacità di formare rosette E;
 S-Ig = immunoglobuline di superficie;
 C-Ig = immunoglobuline di citoplasma;
 Ag = stimolazione antigenica;
 Ly = linfocito.

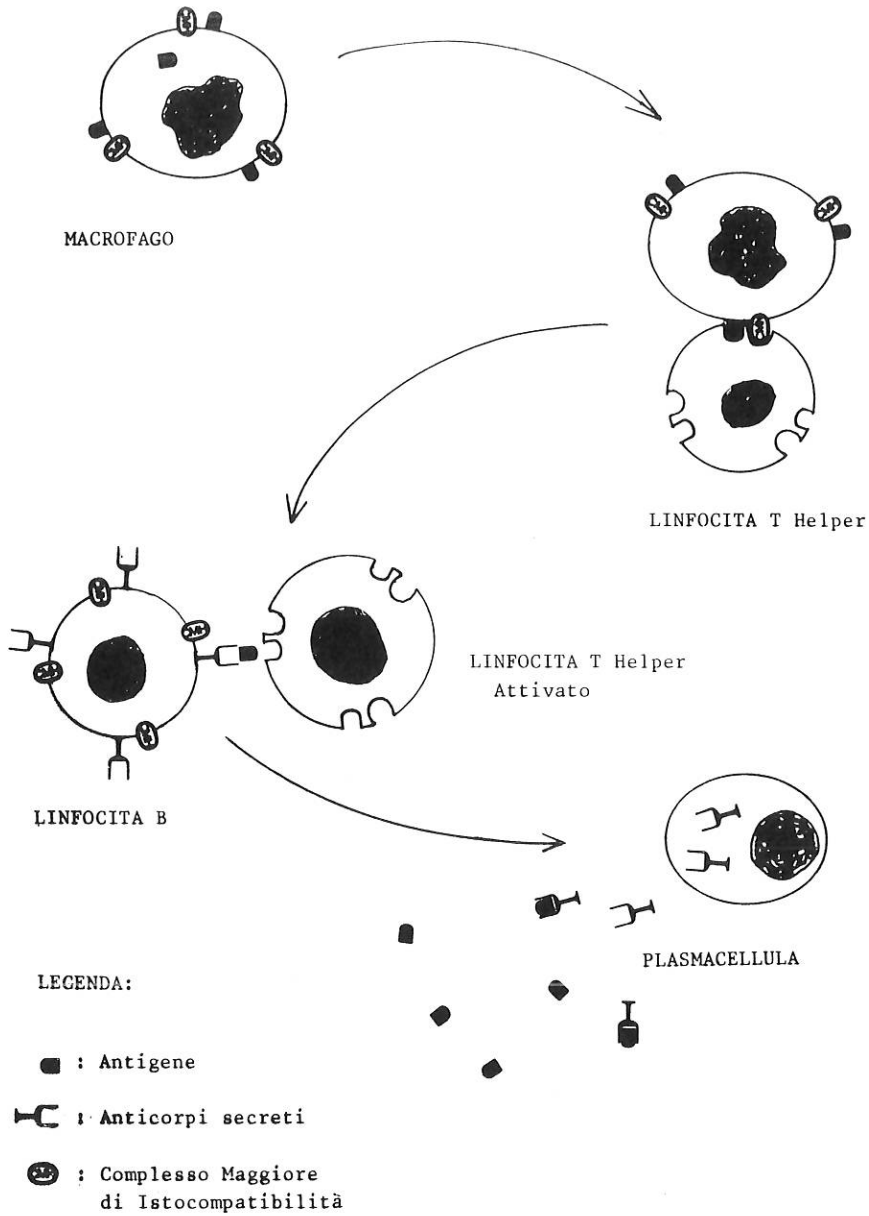


Fig. 2 - Interazioni cellulari nella risposta immune di tipo B. L'antigene è dapprima captato dalla superficie di un macrofago (elemento non linfatico, chiamato impropriamente anche cellula reticolare), dove esistono molecole facenti parte della costellazione antigenica denominata «complesso maggiore dell'istocompatibilità» (MCH), diversa da individuo a individuo e responsabili, tra l'altro, del rigetto dei trapianti. Il complesso antigene-MCH viene presentato dal macrofago ad un linfocita «helper», capace di indurre maturazioni del linfocito B a plasmacellula, il quale, oltre a possedere il recettore per l'MCH, riconosce ad un tempo l'antigene. Il linfocita helper sceglie e stimola il linfocito B sulla cui superficie esista l'anticorpo specifico per l'antigene in questione: ne risulta sdifferenziazione, moltiplicazione e maturazione di un clone di plasmacellule, uguali tra loro in quanto derivate da un unico linfocito B.

I risultati di una prima analisi sistematica comparativa basata su metodi immunologici, condotta a Kiel, dimostrarono inequivocabilmente come i precedenti concetti classificativi fossero insufficienti. Da questa ricerca trasse origine la classificazione che prese il nome della città e di Lennert, proposta nel 1973 ⁽³⁾.

Nel 1974 Dorfman pubblicò una nuova classificazione che rappresentava un compromesso tra quella di Kiel, Rappaport e la successiva di Lukes e Collins ⁽⁴⁾. Lo stesso si può dire per quella di Bennett, comparsa poco dopo ⁽⁵⁾. Nel 1975 Lukes e Collins proposero un altro schema, basato anch'esso su dati morfologici ed immunologici, simile in molti punti a quello di Kiel ⁽⁶⁾.

Lo schema di Kiel fu adottato dalla maggior parte dei Patologi Europei. In esso viene cambiata la terminologia riguardante le cellule dei centri germinativi, che da germinoblasti e rispettivamente germinociti diventano centroblasti e centroцити; corrispondentemente il linfoma follicolare o germinoblastoma diventa centroblastico-centrocitico, il germinocitoma centrocitico ed il sarcoma germinoblastico linfoma centroblastico.

Successivamente apparvero molte revisioni e modificazioni. Tra il 1976 ed il 1980 diversi Oncologi e Patologi di quattro importanti Istituti, dopo avere riclassificato 1.175 casi secondo gli schemi di Rappaport, Dorfman, Kiel, Bennett, W. H. O. e Lukes e Collins, conclusero che ciascuno dei sei principi classificativi aveva una sua validità, senza che nessuno fosse palesemente superiore agli altri. L'attribuzione di ciascun caso ad una determinata categoria delle sei classificazioni era peraltro problematica e pertanto i partecipanti allo studio ritennero di proporre un nuovo schema unitario («Working Formulation») per scopi clinici ⁽⁷⁾, il quale riassume gli aspetti più validi delle precedenti classificazioni (Tabelle IA, IB, IC, ID, IE, IF; II).

⁽³⁾ LENNERT K., STEIN H., KAISERLING E.: *Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphoma*. Br. J. Cancer 1975; 31 (suppl. 2): 29-43.

⁽⁴⁾ DORFMAN R. F.: *Classification of non-Hodgkin's Lymphoma*. Lancet 1974; 1: 1295-1296.

⁽⁵⁾ BENNETT M. H., FARRER-BROWN G., HENRY K. et al.: *Classification of non-Hodgkin's Lymphomas*. Lancet 1974; 2: 404-406.

⁽⁶⁾ LUKES R. J., COLLINS R. D.: *New approaches to the classification of the lymphomata* - Br. J. Cancer 31, suppl. II, 1, 1975.

⁽⁷⁾ NATIONAL CANCER INSTITUTE SPONSORED STUDY OF CLASSIFICATION ON NON-HODGKIN'S LYMPHOMAS: *Summary and description of a working formulation for clinical usage*. Cancer 1982; 49: 2112-2135.

Tab. I - CLASSIFICAZIONE DI 1.175 CASI DI LINFOMA NON-HODGKIN
SECONDO SEI PRINCIPI CLASSIFICATIVIA) *Classificazione di Rappaport*

— Linfocitico nodulare scarsamente differenziato	216
— Nodulare misto linfocitico e istiocitico	93
— Istiocitico nodulare	20
— Linfocitico diffuso, ben differenziato, con e senza aspetti plasmocitoidi	47
— Linfocitico diffuso, scarsamente differenziato, con e senza aspetti plasmocitoidi	107
— Linfoblastico diffuso con e senza convoluzioni nucleari	97
— Diffuso misto, linfocitico e istiocitico	52
— Istiocitico diffuso senza sclerosi	293
— Istiocitico diffuso con sclerosi	34
— Tumore di Burkitt e forme indifferenziate	24
TOTALE	983

B) *Classificazione di Kiel*

Forme a prognosi relativamente favorevole:

— Linfoplasmacitoide / immunocitoma	49
— Linfocitico, leucemia linfatica cronica	20
— Centrocitico	120
— Centroblastico / centrocitico con e senza sclerosi, follicolare e follicolare e diffuso	313
— Centroblastico / centrocitico diffuso	38

Forme e prognosi sfavorevole:

— Centroblastico	47
— A cellule linfoblastiche convolute	24
— Linfoblastico di altro tipo	73
— Immunoblastico	128
TOTALE	812

C) *Classificazione di Dorfman*

— Linfoma follicolare a piccole cellule con o senza sclerosi	230
— Linfoma follicolare con cellule piccole e grandi, con e senza sclerosi	74
— Linfoma follicolare a grandi cellule	47
— Diffuso a piccoli linfociti con e senza differenziazione plasmacitoide	57
— Diffuso a piccoli linfociti atipici	74
— Diffuso linfoblastico con e senza convoluzioni nucleari	62
— Diffuso linfoide a grandi cellule, con o senza differenziazione plasmacitoide	229
— Diffuso a grandi cellule, con o senza differenziazione plasmacitoide, con sclerosi	75
— Diffuso misto, a cellule piccole e grandi	50
— Indifferenziato	33
TOTALE	931

D) *Classificazione di Lukes e Collins*

— Linfocitico a cellule convulse T	30
— Sarcoma immunoblastico a cellule T o B	58
— Linfocitico a piccole cellule B e linfoplasmacitoide	39
— A piccole cellule clivate del centro germinativo, follicolare, follicolare e diffuso, e sclerotico con follicoli	267
— A cellule grandi follicolari clivate, follicolari e follicolare diffuso	21
— A grandi cellule non clivate del centro follicolare, follicolare e follicolare e diffuso	21
— Diffuso a cellule piccole clivate del centro germinativo	93
— Diffuso a cellule grandi clivate del centro germinativo	26
— A cellule piccole non clivate del centro germinativo, diffuso	76
— A cellule grandi non clivate del centro germinativo, diffuso	74
TOTALE	724

E) *Classificazione di Bennet*

— Follicolare con predominanza di piccole cellule follicolari	292
— Follicolare con cellule piccole e grandi	64
— Diffuso ben differenziato, linfocitico	65
— Linfocitico diffuso a differenziazione intermedia	132
— Linfocitico diffuso poco differenziato, non-Burkitt, senza differenziazione plasmacitoide	89
— Come il precedente, con differenziazione plasmacitoide	35
— Linfocitico diffuso misto, a cellule piccole e grandi	62
— Diffuso a grandi cellule indifferenziate	216
— A plasmacellule	24
TOTALE	979

F) *Classificazione della W.H.O.*

— Linfosarcoma nodulare, prolinfocitico	212
— Linfosarcoma nodulare, prolinfocitico-linfoblastico	152
— Linfosarcoma diffuso, linfocitico e linfoplasmacitico	62
— Linfosarcoma diffuso, prolinfocitico	157
— Linfosarcoma diffuso, prolinfocitico-linfoblastico	80
— Linfosarcoma diffuso, linfoblastico	101
— Linfosarcoma diffuso, immunoblastico	157
— Reticolosarcoma	39
TOTALE	957

Tab. II - «WORKING FORMULATION» DEI LINFOMI NON-HODGKIN
PER SCOPI CLINICI

Linfomi a basso grado di malignità

- A piccoli linfociti
del tipo leucemia linfatica cronica
del tipo plasmacitoide
- Follicolare, con predominanza di cellule piccole clivate
con aree diffuse
con sclerosi
- Follicolare misto, con cellule piccole clivate e grandi
con aree diffuse
con sclerosi

Linfomi a grado di malignità intermedio

- Follicolare, con predominanza di cellule grandi
con aree diffuse
con sclerosi
- Diffuso a cellule piccole clivate
con sclerosi
- Diffuso misto con cellule piccole e grandi
con sclerosi
con componente epitelioido
- Diffuso a grandi cellule
a cellule clivate
a cellule non clivate
con sclerosi

Linfomi ad alto grado di malignità

- A grandi cellule, immunoblastico
plasmacitoide
a cellule chiare
polimorfo
con componente epitelioido
 - Linfoblastico
a cellule convolute
a cellule non convolute
 - A piccole cellule non clivate
Burkitt
con aree follicolari
-

CONFRONTO TRA LE PIU' IMPORTANTI CLASSIFICAZIONI

La differenza tra le vecchie e le nuove classificazioni dipende essenzialmente dal fatto che un tempo si conosceva assai poco sull'origine, sviluppo e destino delle cellule linfatiche. Si riteneva inoltre che la cellula reticolare fosse elemento multipotente dalla quale potessero trarre origine i grandi linfociti e le plasmacellule.

Un importante limite alla corretta interpretazione istopatologica e citologica, fonte di frequentissimi errori, era rappresentato dall'impossibilità di distinguere le cellule linfoidi da quelle mieloidi altamente immature e dalla linea monocitica, tanto che i termini «reticulosi» e «reticolosarcoma» erano allora largamente usati. Dopo l'introduzione da parte di Leder ⁽⁸⁾ dei metodi citochimici, divenne evidente che la maggior parte delle «reticulosi», particolarmente quelle a grandi cellule, erano in realtà leucemie monocitiche, classificabili quindi tra le mieloidi. Nello studio citochimico dei linfomi all'inizio si crearono degli equivoci per il fatto che alcune cellule di questi tumori, fortemente positive alla colorazione per le fosfatasi alcaline ed esterasi aspecifiche, furono interpretate come neoplastiche, prospettandosi così la derivazione di queste da elementi monocitico-macrofagici. In seguito però apparve chiaro che esse erano in realtà normali cellule di accompagnamento e non di natura tumorale; queste ultime, invece, risultavano negative alle colorazioni predette ed erano attribuibili, secondo criteri immunologici, alla serie linfatica.

I linfomi a cellule linfoplasmacellulari furono inizialmente attribuiti a diverse entità delle varie classificazioni, per il fatto che non era ancora assodato il concetto che solo alcuni di essi si accompagnano a macroglobulinemia. Per quanto riguarda i cosiddetti linfosarcomi, divenne presto chiaro come la maggior parte di essi non rappresentasse proliferazione diffusa delle piccole cellule dei centri germinativi.

La classificazione di Rappaport dimostra alcuni difetti interpretativi legati a motivi storici. In essa fondamentalmente si negava l'esistenza di tumori dei centri germinativi, poiché si interpretava la proliferazione follicolare non come espressione di imitazione organoide di tali strutture (figg. 3 e 4), ma come caratteristica proliferativa di cellule linfomatose fondamentalmente non diverse rispetto a quelle delle forme diffuse. Peraltro sul piano morfologico vennero distinti, per la prima volta, linfomi maligni diffusi e nodulari.

(8) LEDER L. D.: *Der Blutmonozyt*. Springer 1967, Berlin-Heidelberg-New York.

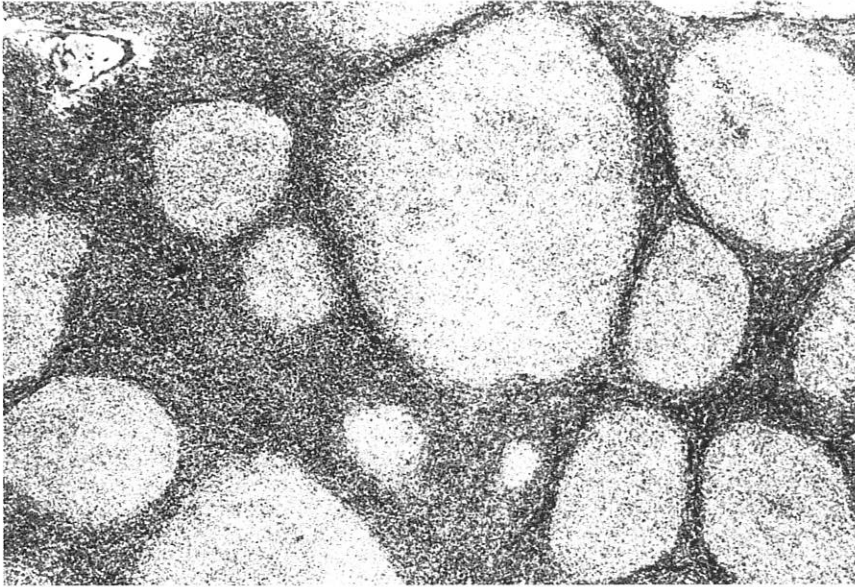


Fig. 3 - Aspetto di linfoma follicolare (centroblastico-centrocitico secondo Lennert) a piccolo ingrandimento (x 30). Le zone chiare rappresentano aree di tessuto neoplastico.

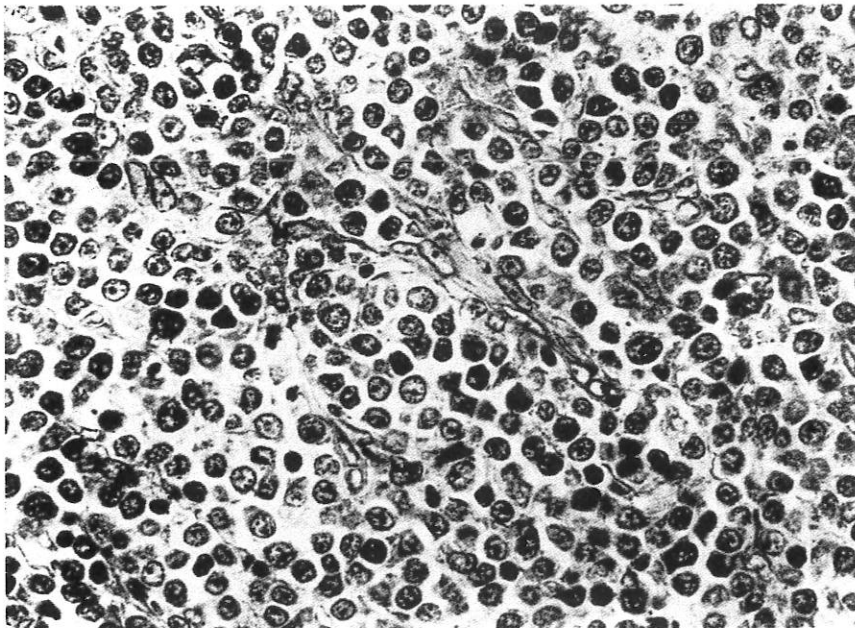


Fig. 4 - Linfoma di tipo aggressivo a crescita diffusa (linfoblastico, x 560).

IL CONCETTO DI LINFOMA NODULARE

Attualmente, sulla base delle conoscenze immunologiche, non c'è alcun dubbio che il linfoma nodulare rappresenti l'equivalente neoplastico del centro germinativo.

I linfomi nodulari della classificazione di Rappaport possono essere equiparati a quelli follicolari della classificazione di Kiel. La varietà centroblastico-centrocitica è la più comune ed a essa spetta la prognosi più favorevole.

La posizione nosologica di tale forma tumorale ha subito nel tempo importanti variazioni. Ritenuta originariamente entità biologica distinta, sullo stesso piano del linfosarcoma, reticulosarcoma e linfogranuloma di Hodgkin, cominciò ad essere demarcata meno nettamente in un primo tempo con la suddivisione dei linfomi in Hodgkin e non-Hodgkin e soprattutto, in seguito, dalla constatazione di come molti casi di iperplasia linfoide follicolare fossero stati erroneamente diagnosticati come linfomi, per alcuni decenni. Sorgevano quindi dubbi sulla reale possibilità di interpretare e classificare tali forme.

Anche i primi studi di Rappaport ⁽⁹⁾ contribuirono non poco a sminuire il concetto peculiare. Come precedentemente accennato, egli suggerì che tali neoplasie rappresentassero un particolare tipo di crescita di diversi linfomi, indistinguibili sul piano citologico da quelli diffusi; era infatti impossibile, con le metodiche disponibili all'epoca, cogliere quelli aspetti cellulari caratteristici della crescita organoide del linfoma follicolare. Si poteva al più sostenere che esso era costituito da noduli tumorali crescenti l'uno accanto all'altro, i quali davano luogo ad aspetto follicolare ritenuto allora «spurio». In alcuni casi la composizione cellulare appariva linfo-citica, in altri «istiocitica» (o reticolare), in altri mista; sia il tipo cellulare ed ancor più l'architettura istologica erano ritenuti importanti per la prognosi.

Nonostante i limiti nell'interpretazione del linfoma nodulare, la classificazione di Rappaport, più diffusa in assoluto per un certo periodo, consentì di stabilire in ampie casistiche una soddisfacente delimitazione dalle forme reattive e di confermare la superiorità prognostica di questa varietà.

Karl Lennert riportò il linfoma follicolare al suo rango appropriato,

⁽⁹⁾ RAPPAPORT H., WINTER W. J., HICKS E. B.: *Follicular lymphoma. A reevaluation of its position in the scheme of malignant lymphoma, based on survey of 253 cases.* Cancer 1956; 9: 792-821.

dimostrando che in tutti i casi i noduli rappresentavano realmente strutture follicolari, in quanto sempre contenevano i tre costituenti cellulari peculiari, cioè centrociti, centroblasti e cellule reticolari dendritiche. La diversa proporzione tra centroblasti e centrociti dava luogo ad aspetti istologici differenti ⁽¹⁰⁾.

Dal punto di vista biologico esso ha molte caratteristiche che lo distinguono da altri linfomi con prognosi relativamente favorevole. In tutte le casistiche, ad esempio, la percentuale di femmine è maggiore e la malattia si manifesta più frequentemente nella terza decade della vita. In un'alta percentuale di casi si nota la caratteristica traslocazione cromosomica t(14; 18).

In certi casi è il solo linfoma scarsamente aggressivo nel quale i singoli linfonodi ingrossati possono comparire ad intervalli durante un periodo di molti anni, nella stessa sede o diversa; se sono stati tutti biopsiati, la revisione degli aspetti istologici normalmente dimostra gli stessi quadri follicolari, anche se talvolta il primo linfonodo prelevato evidenziava semplice quadro di iperplasia reattiva benigna. Anche quando il tumore diventa generalizzato, la progressione può essere così lenta da risultare impercettibile per anni; occasionalmente si verifica regressione parziale o apparentemente totale, che può durare a lungo.

Il linfoma follicolare è squisitamente sensibile alla terapia radiante. Recentemente è stato messo a punto un sistema di irradiazione sequenziale a basso dosaggio dei linfonodi interessati e delle altre sedi, secondo l'ordine cronologico della comparsa dell'infiltrazione. Non è certo se questo tipo di trattamento abbia influenza sulla sopravvivenza, per la citata caratteristica della neoplasia di presentare lunghe remissioni spontanee. Pazienti che dopo trattamento non avevano manifestazioni evidenziabili sono ricaduti anche a distanza di 20 anni. Solo una minoranza dei casi ha sintomi generali dall'inizio e decorso rapidamente progressivo che non risente della terapia.

A volte è malattia infida in quanto si trasforma in varietà istologica diffusa più aggressiva in un singolo sito e si dissemina quindi rapidamente. «Post mortem» si possono trovare linfomi follicolari invariati nella loro originale localizzazione, assieme a disseminazione di linfoma aggressivo di tipo diffuso; in certi casi può essere identificato il punto di trasformazione e di partenza della disseminazione.

⁽¹⁰⁾ LENNERT K., MOHRI N., STEIN H. et al.: *The histopathology of malignant lymphoma*. Br. J. Hematol. 1975; 31 (suppl.): 193-203.

CONTRADDIZIONI TRA CLASSIFICAZIONI DIVERSE

Come nelle precedenti, anche nella classificazione di Rappaport si trovano i termini «indifferenziato», «poco differenziato» e «ben differenziato». Questi aggettivi, come oggi è noto, sono poco appropriati e ambigui per le cellule linfatiche, nelle quali sembra non esistere sempre correlazione tra maturità ed aspetto morfologico. Ma la principale lacuna di questo schema consiste nel comprendere tra le stesse entità forme B, T e «null», fatto attualmente non accettabile. Inoltre Rappaport, diversamente da Lennert, non comprende tra i linfomi non-Hodgkin la leucemia linfatica cronica, la cui frequenza nel registro di Kiel ammonta al 20% di tali neoplasie.

La maggior differenza tra lo schema di Lukes e Collins e quello di Kiel consiste nella definizione del tumore a piccole cellule del centro germinativo, definito nel primo come «linfoma maligno a cellule B piccole clivate del centro germinativo» nel secondo come «linfoma centrocitico». Mentre il concetto di linfoma centrocitico è quello di una entità ben definita, costituito da proliferazione quasi sempre diffusa di centrociti, Lukes e Collins comprendono in questo concetto un tumore prevelentemente di centrociti, ma anche di grandi cellule germinali o centroblasti; esso corrisponde, pertanto, anche al linfoma centroblastico-centrocitico di Lennert, in cui, come è noto, prevale di regola la componente centrocitica. Le altre entità catalogate nelle due classificazioni corrispondono ampiamente.

FREQUENZA DISTRIBUTIVA DELLE CLASSI DI LINFOMA
NON-HODGKIN

Lo studio del National Cancer Institute ⁽⁷⁾ per la classificazione dei linfomi non-Hodgkin prese in considerazione 1.175 casi che risultarono così suddivisi, dopo avere escluso gruppi di meno di 20 pazienti, forme non classificabili e composite (tab. 1a, 1b, 1c, 1d, 1e). Il numero dei casi non classificabili, o con altre diagnosi, o con meno di 20 pazienti per categoria, risultò variabile secondo le varie classificazioni: 174 per quella di Bennett, 222 per quella di Dorfman, 341 per quella di Kiel, 429 per quella di Lukes e Collins, 170 per quella di Rappaport e 196 per quella della World Health Organisation (WHO). Le differenze tra queste cifre documentano chiaramente, come è ovvio, le diverse possibilità applicative dei sei schemi classificativi.

In un precedente studio su 405 casi Jones e coll. ⁽¹⁾ trovarono la distribuzione di varietà istologiche, secondo lo schema di Rappaport, riportata nella Tab. III. È curioso notare come la frequenza dei linfomi non classificabili sembri aumentare nel tempo. Ad esempio, mentre all'epoca della presentazione dello schema di Kiel si riteneva che essa potesse oscillare attorno al 5%, successivamente fu valutata al 10% e poi al 20% per arrivare, in occasione dello studio del N.C.I., al 29,5%.

Tab. III - DISTRIBUZIONE DELLE VARIE CLASSI ISTOLOGICHE
TRA 405 LINFOMI NON-HODGKIN CLASSIFICATI
SECONDO LO SCHEMA DI RAPPAPORT

Linfocitico nodulare ben differenziato	6 (1,5%)
Linfocitico nodulare scarsamente differenziato	69 (17%)
Misto linfocitico-istiocitico nodulare	74 (18,3%)
Istiocitico nodulare	29 (7,2%)
TOTALE	178 (44%)
<hr/>	
Istiocitico diffuso	116 (28,7%)
Misto istiocitico linfocitico diffuso	43 (10,5%)
Linfocitico scarsamente differenziato diffuso	44 (10,8%)
Linfocitico ben differenziato diffuso	10 (2,5%)
Diffuso indifferenziato	14 (3,5%)
TOTALE	227 (56%)

MARKERS DELLE CELLULE LINFOMATOSE

La precisa definizione delle varietà istologiche di un linfoma può oggi essere utilmente completata dallo studio citologico del clone proliferante e dalla sua attribuzione ad una definita sottopopolazione linfocitaria, e ad un determinato stadio differenziativo. A tale scopo ci si avvale dello studio dei markers di superficie, di enzimi, immunoglobuline intracellulari, dell'assetto citogenetico e di proprietà funzionali.

⁽¹⁾ JONES S. E., FUCKS Z., KADIN M. et al.: *Non-Hodgkin's lymphomas. IV - Clinicopathological correlation in 405 cases.* Cancer 1973; 31: 806-23.

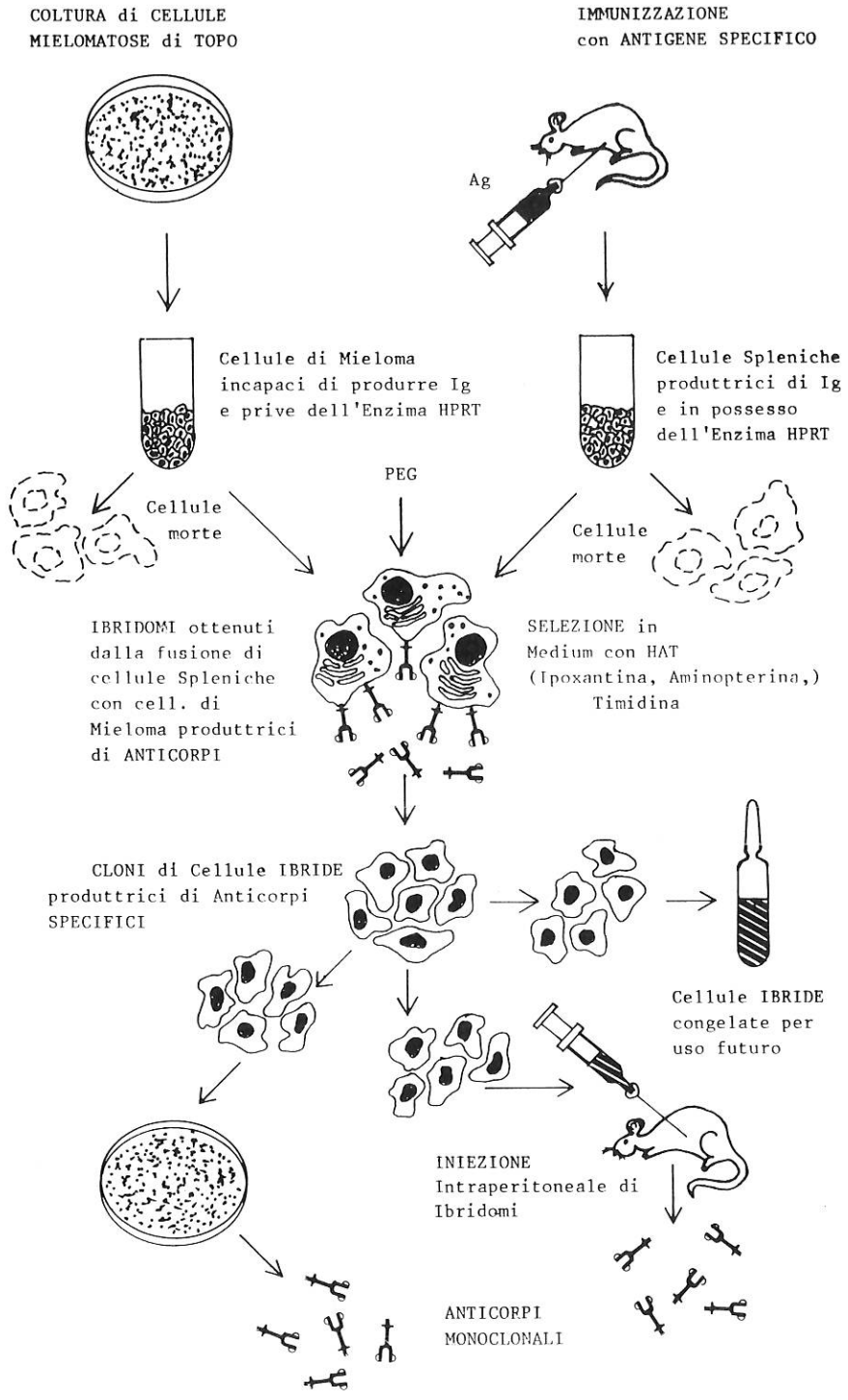
Oggi, oltre a valutare la presenza del recettore superficiale per le emazie di montone e delle immunoglobuline di superficie, che definiscono rispettivamente i T ed i B linfociti, sono usati vantaggiosamente un crescente numero di anticorpi monoclonali in grado di identificare una serie di antigeni della superficie cellulare (fig. 5). Essi consentono l'accurata analisi dei profili fenotipici di cellule normali e maligne, che ha portato a nuove importanti acquisizioni sulla differenziazione linfocitaria e sull'origine cellulare dei linfomi e leucemie (tab. IV).

MARKERS PER I LINFOCITI B

I linfociti B sono classicamente identificati dalla presenza di immunoglobuline di superficie. I loro progenitori, chiamati pre-B e pre-pre-B, sono presenti in piccola percentuale nel midollo osseo e caratterizzati rispettivamente da catene pesanti delle immunoglobuline M nel citoplasma e da riarrangiamento dei cromosomi per le immunoglobuline (figg. 6, 7); sia i linfociti B maturi che i pre-B hanno anche il recettore per il terzo componente del complemento e per la frazione Fc delle immunoglobuline. Questi due ultimi markers non sono specifici, in quanto presenti anche su monociti, macrofagi ed altre cellule extraematologiche. Le plasmacellule, stadio differenziativo terminale dei linfociti B, posseggono immunoglobuline solo di citoplasma e non sulla superficie.

Sulla superficie dei B linfociti si trova anche l'antigene Ia, una glicoproteina composta da una catena di 35.000 e da una di 27.000

Fig. 5 - Tecnologia degli anticorpi monoclonali. Si co-coltivano linfociti splenici di topo immunizzato con l'antigene prescelto e plasmacellule di mieloma murino, incapaci di produrre immunoglobuline e carenti di ipoxantina-guanina-fosforibosil-trasferasi (HPRT), enzima essenziale della via di salvataggio intracellulare delle purine. La presenza di glicole polietilenico (PEG) favorisce la fusione ed ibridizzazione dei due tipi cellulari. Le cellule ibride vitali sono solo all'incirca 1 su 200.000 ed è pertanto necessario isolarle da quelle non fuse con un particolare accorgimento. Allo scopo, si usa un terreno di cultura selettivo contenente ipoxantina, ametopterina e timidina (HAT); le cellule mielomatose, prive di HPRT, non possono usare l'ipoxantina esogena per la sintesi di nucleotidi purinici, mentre l'ametopterina blocca la sintesi endogena di purine e pirimidine, e pertanto muoiono; le cellule normali per definizione perdono vitalità dopo un certo tempo di cultura; le cellule ibride contengono sufficiente quantità di enzima HPRT per usufruire dell'ipoxantina e timidina esogene e, possedendo inoltre genoma di natura tumorale, sopravvivono e producono illimitatamente anticorpi «monoclonali», cioè assolutamente eguali nella loro specificità in quanto ogni colonia cellulare deriva da un'unica cellula ibrida e rappresenta pertanto un «clone» di elementi omogenei. ►



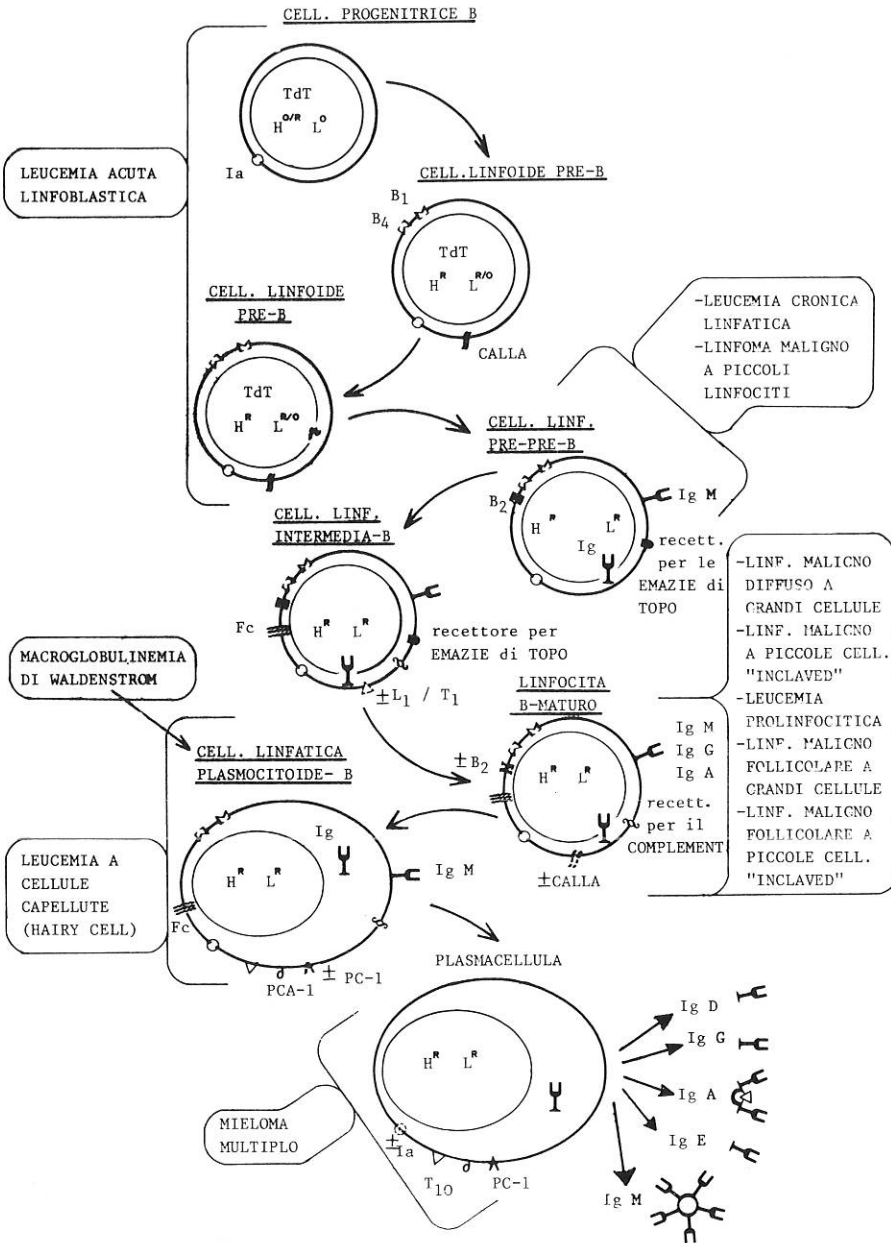


Fig. 6 - Differenziazione dei linfociti B, in dettaglio, e tipi di linfoma originati dai singoli stadi. H^r, L^o = geni per le catene pesanti (H) e leggere (L) delle immunoglobuline, non riarrangiati; H, L = stessi geni riarrangiati.

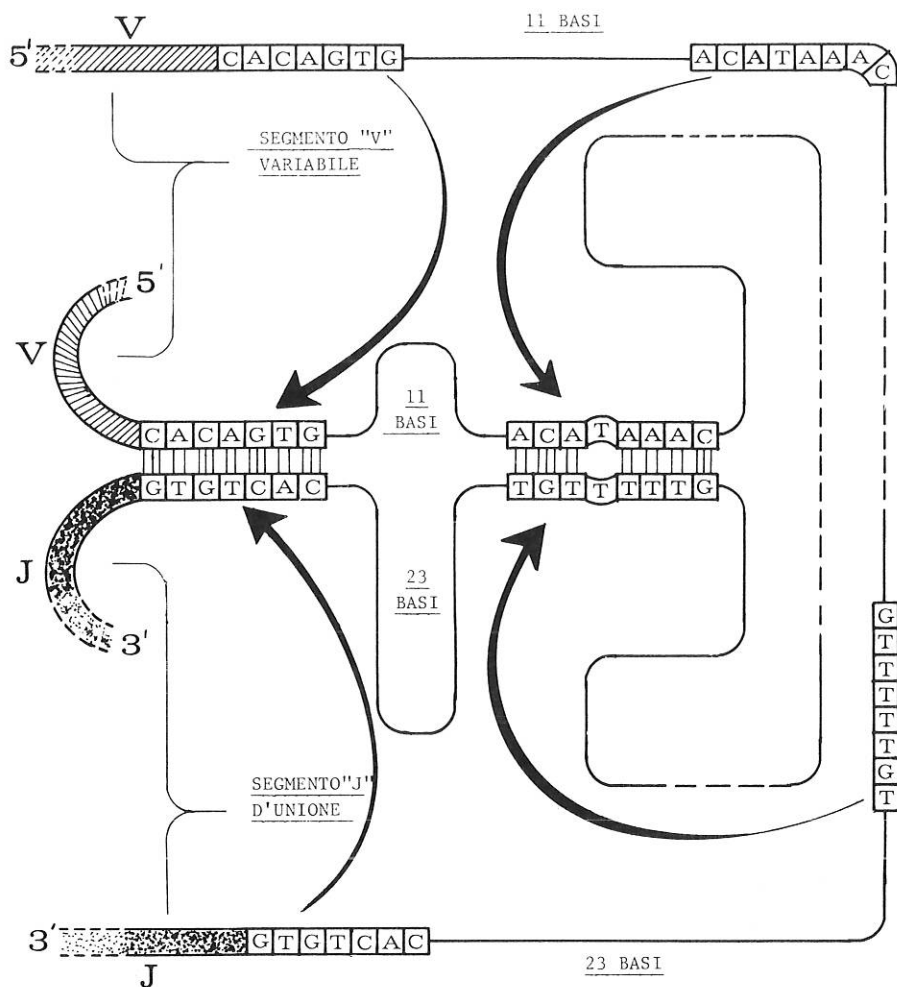


Fig. 7 - Esempio di ricombinazione di sequenze nucleotidiche che porta alla formazione del gene codificante la porzione variabile delle catene leggere, costituenti parte della molecola immunoglobulinica. A livello dei cromosomi 2 e 22 esistono numerosi segmenti «V» (tra 100 e 1000) e 5 segmenti «J» dal cui congiungimento, causale e flessibile, trae origine la sequenza per la porzione variabile dell'anticorpo, responsabile della specificità verso un certo antigene. Essa si unisce poi alla sequenza per la porzione costante «C» della catena leggera, presente nello stesso cromosoma. Affiancate alle sequenze «V» e «J» esistono gruppi di 7 e 8 nucleotidi complementari, cioè in grado di legarsi reciprocamente, la cui distanza nell'ambito del cromosoma è di 1 e 2 giri d'elica di DNA, cioè 11 ± 1 o 23 ± 1 basi, il che comporta sovrapposizione diretta o alterna nelle spire dell'elica. Questa disposizione rende le sequenze di 7 e 8 basi facilmente aggredibili all'enzima ricombinasi, che favorisce la loro unione complementare ed in ultima analisi la saldatura tra un segmento «V» ed uno «J». In tal modo inizia il riarrangiamento cromosomico che contraddistingue la fase più precoce della differenziazione B.

Daltons (¹², ¹³), presente anche sulla superficie di monociti, cellule mieloidi immature (¹⁴), forse di cellule eritroidi e di linfociti T attivati (¹⁵) e di diversi tessuti non emopoietici quali sperma e cellule epiteliali. Sembra esistere una stretta relazione tra antigeni Ia e quelli prodotti dal locus HLA-D, parte del complesso genetico codificante gli antigeni dell'istocompatibilità.

Di recente sono stati introdotti eteroantisieri ed anticorpi monoclonali in grado di identificare antigeni delle cellule B diversi dal sistema Ia, dalle immunoglobuline e dai recettori per il complemento e per la porzione Fc delle immunoglobuline (¹⁶). Essi si sono dimostrati di grande utilità non solo nel delineare l'intera popolazione B, ma anche i vari sottotipi funzionali compresi in essa, e sono inoltre in grado di precisare gli stadi differenziativi, di attivazione ed in certi casi di trasformazione maligna.

MARKERS PER I LINFOCITI T

I linfociti T possono essere identificati in base alla loro capacità di legare spontaneamente le emazie di montone e di reagire con antisieri specifici nei loro confronti o con anticorpi monoclonali. Gli antisieri anti T sono abitualmente prodotti da coniglio, iniettando in esso linfociti T umani o timociti (¹⁷). Con la tecnica degli ibridomi prima descritta si sono ottenuti vari anticorpi monoclonali anti-T, i più noti e studiati dei quali sono quelli della serie OK e Leu. L'OKT6, OKT9 ed OKT10 identificano antigeni presenti su timociti e certe cellule leucemiche e non sono del

(¹²) BILLING R. J., SAFANI M., PETERSON P.: *Isolation and characterisation of human B cell alloantigens*. J. Immunol. 1976; 117: 1589-93.

(¹³) BILLING R. J., RAFIZADEH B., DREW I. et al.: *Human B-lymphocyte antigens expressed by lymphocytic and myelocytic leukemia cells. I° Detection by rabbit antisera*. J. Exp. Med. 1976; 114: 167-178.

(¹⁴) WINCHESTER R., ROSS G. D., JAROWSKI C. J. et al.: *Expression of I_a antigens on human granulocytes during early phases of differentiation*. Proc. Natl. Aca. Sci. USA 1977; 74: 4012-4016.

(¹⁵) EVANS R. I., FALDETTA T. J., HUMPHREYS R. E. et al.: *Peripheral T cells sensitized in mixed leukocyte culture synthesized and express I_a-like antigens*. J. Exp. Med. 1978; 148: 1440-1445.

(¹⁶) BROOKS D. A., BECKMAN I., BRADLEY J., et al.: *Lymphocyte markers defined by antibody derived from somatic cell hybrids. IV-A monoclonal antibody reacting specifically with a subpopulation of human B lymphocytes*. J. Immunol. 1981; 126: 1373-1377.

(¹⁷) SMITH R. W., TERRY W. D., BUELL D. N. et al.: *An antigen marker for human thymic lymphocytes*. J. Immunol. 1973; 110: 884-887.

tutto specifici per la serie T⁽¹⁸⁾; l'OKT6 ed OKT9 non reagiscono con i linfociti circolanti, mentre l'OKT10 reagisce con una buona percentuale di questi (meno del 15%), di natura sia T che B, e con un'elevata percentuale di linfociti T in corso di alcune infezioni virali ed immunodeficienze⁽¹⁹⁾. L'OKT1 ed il Leu-1, l'OKT3 ed il Leu-4 e l'OKT11 ed il Leu-5 reagiscono con tutti i linfociti T periferici normali⁽²⁰⁾, l'OKT4 ed il Leu 3 identificano il sottotipo helper-inducer (55-65% dei linfociti T circolanti), mentre l'OKT5-8 ed il Leu-2 identificano il sottotipo suppressor-citotossico⁽²¹⁾ (20-30% dei linfociti T circolanti).

La distribuzione di questi antigeni varia considerevolmente tra linfociti del sangue periferico, midollari, linfonodali e della linfa. Mentre nel midollo la maggior parte dei linfociti T esprime gli antigeni del tipo suppressor/citotossico⁽²²⁾, quelli linfonodali presentano per lo più fenotipo di helper/inducer⁽²³⁾. L'OKT10 reagisce con i precursori midollari positivi per la Terminal-deoxynucleotidyl-Transferase (TdT), con mieloblasti e linfociti B midollari.

MARKERS BIOCHIMICI

Sui linfoblasti di leucemie non-B, non-T e solo in queste forme è stato descritto un particolare glicolipide, l'asialo-GMI⁽²⁴⁾. L'enzima cellulare più ampiamente studiato è la TdT⁽²⁵⁾. Si tratta di una polimerasi per il DNA presente in cellule altamente immature, nei timociti ed in

⁽¹⁸⁾ REINHERZ E. L., KUNG P. C., GOLDSTEIN G. et al.: *Discrete stage of human intrathymic differentiation: analysis of normal thymocytes and leukemia lymphoblast of T-cell lineage*. Proc. Natl. Aca. Sci. USA 1980; 77: 1588-1592.

⁽¹⁹⁾ DE BRUIN H. G., ASTALDI A., LEUPERS T. et al.: *T-lymphocyte characteristic in bone marrow transplanted patients: II. Analysis with monoclonal antibodies*. J. Immunol. 1981; 127: 244-251.

⁽²⁰⁾ REINHERZ E. L., SCHLOSSMANN S. F.: *Regulation of the immune response. Inducer and suppressor T-lymphocyte subsets in human beings*. N. Engl. J. Med. 1980; 303: 370-373.

⁽²¹⁾ REINHERZ E. L., KUNG P. C., GOLDSTEIN G. et al.: *A monoclonal antibody reactive with human cytotoxic-suppressor T-cell subsets previously defined by hetero-antisera termed TH2*. J. Immunol. 1980; 124: 1301-1307.

⁽²²⁾ JANOSSY G., TIDMAN N., PAPAGEORGIOU E. S. et al.: *Distribution of T lymphocyte subsets in the human bone marrow and thymus. An analysis with monoclonal antibodies*. J. Immunol. 1981; 126: 1608-1613.

⁽²³⁾ POPPEMA S., BAHN A. K., REINHERZ E. L. et al.: *Distribution of T cells subsets in human lymphnodes*. J. Exp. Med. 1981; 153: 30-41.

⁽²⁴⁾ NAKAHARA K., OHASHI T., ODA T. et al.: *Asialo GMI as a cell surface marker detected in acute lymphoblastic leukemia*. N. Engl. J. Med. 1980; 302: 674-677.

⁽²⁵⁾ BOLLUM F. J.: *Terminal deoxynucleotidyl Transferase*. In: Boyer R. D. (ed.): *The enzymes*. New York, Academic Press, 1974, pp. 147-171.

una piccola percentuale di cellule midollari, ma non nei linfociti maturi; è quindi marker prevalente di precursori T.

Altri enzimi cellulari utili nell'identificazione e caratterizzazione dei linfoblasti sono: l'esoaminidasi, l'adenina deaminasi, la 5'-nucleotidasi e la fosfatasi acida. La determinazione della loro attività può essere di utilità nella classificazione dei linfoblasti della leucemia linfatica acuta. La TdT, ad esempio, è elevata nelle «non classificabili», nelle «common», «pre-B», «T», ma non nelle forme «B»⁽²⁶⁾. Il livello di isoenzima I della esoaminidasi è più alto nella leucemia linfoblastica «common», nella maggior parte delle forme «non classificabili» e nelle «pre-B»⁽²⁷⁾. L'adenosina deaminasi è elevata nelle leucemie linfoblastiche T⁽²⁸⁾, mentre la 5-nucleotidasi e la purino-nucleotide-fosforilasi sono più basse del normale nei linfoblasti non-T e normali nella maggior parte dei linfoblasti T⁽²⁹⁾. La positività citochimica per le fosfatasi acide con aspetti «a goccia» è peculiarità dei linfociti e dei linfoblasti T⁽³⁰⁾.

MARKERS CELLULARI DI LEUCEMIE E LINFOMI LINFOBLASTICI

Va premesso che non è sempre agevole la netta distinzione tra leucemia e linfoma leucemico, essendo possibili forme intermedie. I linfoblasti della maggior parte dei pazienti con leucemia linfatica acuta non posseggono immunoglobuline nè sulla membrana nè nel citoplasma, non formano rosette con emazie di montone nè reagiscono con anticorpi anti-T. Nell'ambito delle leucemie che rispondono a queste caratteristiche sono identificabili due varietà: la «non classificabile», le cui cellule posseggono l'antigene Ia, di solito reagiscono con gli antisieri monoclonali BA-1 e

(26) MC CAFFREY R., HARRISON T. A., PARKMAN R.: *Terminal deoxynucleotidyl-Transferase activity in human leukemia cells and in normal thymocytes*. N. Engl. J. Med. 1975; 292: 775-779.

(27) ELLIS R. B., RAPSON N. T., PATRICK A. D., GREAVES M. F.: *Expression of hexosoaminidase isoenzymes in childhood leukemia*. N. Engl. J. Med. 1978; 298: 476-480.

(28) SMYTH J. F., POPLACK D. G., HOLEMAN B. J.: *Correlation of adenosine deaminase activity with cell surface markers in acute lymphoblastic leukemia*. J. Clin. Invest. 1978; 62: 710-721.

(29) NADLER L., RITZ J., HARD R., PESANDO J. M., SCHLOSSMAN S. F.: *A unic cell surface marker identifying lymphoid malignancies of B cell origin*. J. Clin. Invest. 1981; 67: 134-140.

(30) GREAVES M. F.: *Analysis of the clinical and biologic significance of lymphoid phenotypes in acute leukemia*. Cancer Res. 1981; 41: 4752-66.

BA-2, ed hanno elevati livelli citoplasmatici di TdT, isoenzima 1 della esosaminidasi, di 5'-nucleotidasi e purino-nucleotide-fosforilasi; e la «common», molto meno rara, definita dall'antisiero contro un particolare antigene di superficie, il «CALLA». Questa forma possiede anche l'antigene Ia, gli stessi enzimi citoplasmatici della precedente e reagisce abitualmente con gli antisieri monoclonali B1 e talvolta BA-1^(31, 32, 33).

Un terzo gruppo è quello identificato dalla presenza di sole catene citoplasmatiche μ ⁽³⁴⁾, oltre che dagli antigeni di membrana CALLA, BA-1 e B1 e da alti livelli di TdT, e prende la denominazione di «pre-B».

La quarta forma, cosiddetta a cellule B, caratterizzata da immunoglobuline di membrana, positività per Ia, B1, BA-2, comprende solo l'1-5% delle leucemie linfoblastiche ed è interpretata da molti come fase leucemica di linfomi ed in particolare del Burkitt⁽³⁵⁾.

I linfoblasti della quinta varietà, la T, formano spesso rosette E, reagiscono con anticorpi monoclonali pan-T quali l'OTK1 e Leu-1 e OKT11 e Leu-5, posseggono alti livelli di TdT e di adenosina deaminasi e, se non altamente immaturi, sono positivi alla colorazione per le fosfatasi acide in forma granulare⁽³⁰⁾ e formano rosette con emazie di montone sia a + 4° che a + 37°, mentre i linfociti T maturi hanno questa capacità solo a + 4°⁽³⁶⁾; solo raramente posseggono gli antigeni Ia e CALLA. I linfoblasti T che non sono in grado di rosettare, ma reagiscono con anticorpi monoclonali, vengono indicati come cellule pre-T, in grado, talvolta, di acquisire capacità di rosettazione dopo esposizione ad esteri di forbole o a demetilsolfossido. È possibile sottoclassificare le leucemie linfoblastiche T secondo lo schema di Reinherz e coll.⁽¹⁸⁾ che si basa sull'identificazione, per mezzo degli anticorpi monoclonali precedentemente citati, di alcuni

⁽³¹⁾ BROUET J. C., VALENSI F., DANIEL M. T., FLANDRIN G. et al.: *Immunologic classification of acute lymphoblastic leukemias: evaluation of its clinical significance in a hundred patients*. Br. J. Hematol. 1976; 33: 319-382.

⁽³²⁾ POPLACK D. G., BLATT J., REAMAN G.: *Purine pathway enzyme abnormalities in acute lymphoblastic leukemia*. Cancer Res. 1981; 41: 4824-32.

⁽³³⁾ ABRAMSON C. S., KERSEY J. H., LEBIEN T. W.: *A monoclonal antibody (BA-1) reactive with cells of human B lymphocyte lineage*. J. Immunol. 1981; 126: 83-87.

⁽³⁴⁾ VOGLER L. B., CRIST W. M., BOCKMAN D. E. et al.: *Pre-B cell leukemia. A new phenotype of childhood lymphoblastic leukemia*. N. Engl. J. Med. 1978; 298: 972-978.

⁽³⁵⁾ FLANDRIN G., BROUET J. C., DANIEL M. T. et al.: *Acute leukemia with Burkitt's tumor cells. A study of six cases with special reference to lymphocyte surface markers*. Blood 1975; 45: 813-818.

⁽³⁶⁾ BORELLA L., SENL: *E-receptor on blast from untreated acute lymphoblastic leukemia (ALL): comparison of temperature dependence of E-rosettes formed by normal and leukemic cells*. J. Immunol. 1975; 114: 187-190.

gradi di differenziazione intratimica. Il timocita primitivo (protimocita o timocita in stadio I) comprende circa il 10% delle cellule timiche; esse reagiscono con gli antisieri OKT9 ed OKT10. Il successivo livello di differenziazione timica include la maggioranza dei timociti, classificati come stadio II, i quali ammontano a circa il 20% delle neoplasie timiche; essi hanno l'antigene definito dall'OKT10 e Leu-1 ed hanno acquisito positività per l'OKT6 e rispettivamente per l'OKT4/Leu-3 o per l'OKT5/Leu-2, se si sono differenziati in helper o suppressor. Con l'ulteriore maturazione in stadio III i timociti perdono la reattività per l'OKT6 e la popolazione cellulare risulta definitivamente dicotomizzata nella linea positiva per l'OKT4/Leu-3 o per l'OKT5/Leu-2, del tutto simili, quindi, ai linfociti periferici. Raramente i linfoblasti T leucemici mostrano tale tipo differenziato.

MARKERS CROMOSOMICI

Già prima dell'introduzione della tecnica del «banding» era noto che la maggior parte dei pazienti con linfoma non-Hodgkin aveva cariotipo anomalo, senza peraltro che le stesse varietà istologiche presentassero identiche alterazioni⁽³⁷⁾. Questa particolare colorazione è stata applicata assai meno ai linfomi che alle leucemie, ed in generale è stato osservato un cariotipo complesso con diversi riarrangiamenti strutturali.

La varietà più studiata da questo punto di vista è il linfoma di Burkitt. Esso si localizza raramente al mediastino⁽³⁸⁾; le sue cellule, classificabili come L₃ secondo lo schema French-American-British per le leucemie acute⁽³⁹⁾ sono di natura B, in quanto esprimono gli antigeni di superficie CALLA, Ia e le immunoglobuline M. La maggior parte delle forme Africane, ma solo una minoranza di quelle sporadiche, contiene gli antigeni del virus di Epstein-Barr (EBV)⁽⁴⁰⁾. Sulla superficie cellulare

(37) MARK J.: *Chromosomal abnormalities and their specificity in human neoplasms: an assessment of recent observations by banding techniques*. Adv. Cancer. res. 1977; 24: 165-222.

(38) MAJOLINO I., MARCENÒ R., MAGRIN S. et al.: *Burkitt's cell leukemia with mediastinal mass and unusually good prognosis*. Hematologica 1983; 68: 287-288.

(39) GRALNICK H. R. (moderator): *Classification of acute leukemia*. Ann. Intern. Med. 1977; 87: 740-753.

(40) MAGRATH I.: *Lymphocytic precursor and neoplastic counterparts in vivo and in vitro*. In: Berard C. W.: (moderator): *A multidisciplinary approach to non-Hodgkin's lymphoma*. Ann. Intern. Med. 1981; 94 218-235.

è stato inoltre identificato l'antigene B1 mentre risulta assente il B2, che generalmente manca durante l'ultima fase di differenziazione⁽⁴¹⁾. Recenti ricerche con anticorpi monoclonali hanno inoltre identificato sulla loro superficie un antigene comune con cellule immature del centro germinativo⁽⁴²⁾. Già le prime indagini citogenetiche condotte da Manolov e Manolova portarono alla descrizione di una banda cromosomica sovrannumeraria all'estremità del braccio lungo del cromosoma 14 (14q+) nella maggior parte dei pazienti⁽⁴³⁾. Nel 1976 Zech e coll.⁽⁴⁴⁾ sostennero che il materiale in più proveniva da una traslocazione, probabilmente reciproca, dal cromosoma 8, e contemporaneamente furono descritte altre anomalie, tra le quali +7, +X, +3, ed iperdiploidie. La traslocazione 8-14 è stata talvolta osservata anche in Burkitt non Africani⁽⁴⁵⁾, assieme ad altre anomalie [t(11; 14)].

I linfomi a grandi cellule comprendono le varietà istologiche cosiddette «istiocitica», «mista linfocitico-istiocitica» e «indifferenziata», che secondo Rappaport rappresentano stadi morfologici terminali di linfociti trasformati, di diverso tipo⁽⁴⁶⁾. Il 50-70% di essi sono a cellule B, con caratteri fenotipici cellulari simili ai nodulari; circa il 15% mostrano markers T ed il 15-25% sono a cellule «null». In ognuno dei 32 casi studiati da Reeves e Stathopoulos⁽⁴⁷⁾ si è dimostrato un clone cellulare anomalo dal punto di vista cromosomico, in qualche caso addirittura due cloni differenti. In alcuni pazienti si è dimostrato un quadro citogenetico estremamente complesso con 15 o più riarrangiamenti per cellula. Tutti i cromosomi possono essere coinvolti in delezioni, inversioni, formazioni di anelli, per quanto con frequenza notevolmente diversa.

(41) ZIEGLER J. L., MAGRATH I. T., GERBER P. et al.: *Epstein-Barr virus and human malignancy*. Ann. Intern. Med. 1977; 86: 323-336.

(42) MURRAY L. J., HABESHAW J. A., WIELS J. et al.: *Expression of Burkitt's lymphoma-associated antigen on both normal and malignant germinal-centre B cells*. Int. J. Cancer 1985; 36: 561-565.

(43) MANOLOV G., MANOLOVA Y.: *Marker band in one chromosome 14 from Burkitt's lymphoma*. Nature 1972; 237: 33-34.

(44) ZECH L., HAGLUND U., NILSSON K. et al.: *Characteristic chromosome abnormalities and lymphoid cell lines from patients with Burkitt's and non-Burkitt's lymphoma*. Int. J. Cancer 1976; 17: 47-56.

(45) ROWLEY J. D.: *Chromosome abnormalities in acute lymphoblastic leukemia*. Cancer Genet. Cytogenet. 1980; 1: 47-56.

(46) JAFFE E. S.: *Non-Hodgkin's Lymphomas as neoplasms of the immune System*. In: Berard C. W. (moderator): *A multidisciplinary approach to non-Hodgkin's Lymphomas*. Ann. Intern. Med. 1980; 94: 212-235.

(47) REEVES B. R., STATHOPOULOS G.: *Cytogenetic and cell surface markers studies in thirty two non-Hodgkin's Lymphomata of T-cell origin*. Human Genet. 1976; 31: 213-220.

Anche in questo caso l'anomalia più frequente è la traslocazione sul braccio lungo del 14, da provenienza diversa. Secondo osservazioni di Fukuhara e coll. ⁽⁴⁸⁾ i pazienti con 14q+ tendono ad avere cellule con grosso nucleo clivato; non è ancora possibile, invece, tracciare paralleli tra assetto cromosomico e markers immunologici.

In 21 di 22 pazienti con linfoma linfocitico scarsamente differenziato le cellule linfonodali hanno dimostrato acquisizione di cromatina da parte del cromosoma 14 (14+) da provenienza variabile ⁽⁴⁹⁾.

La maggior parte dei linfomi nodulari mostra traslocazione reciproca che coinvolge il braccio lungo dei cromosomi 14 e 18. È importante osservare che il punto di frattura del cromosoma 14 si trova allo stesso livello di quello osservato nel linfoma di Burkitt, cioè a livello della banda 32, che contiene, come è noto, il locus per le catene pesanti delle immunoglobuline. Finora non sono stati descritti oncogeni sul cromosoma 18 ma solo una sequenza di supposta natura retrovirale; di questi aspetti si parlerà più esaurientemente in seguito. In altre malattie linfoproliferative sono state descritte traslocazioni che coinvolgono egualmente la banda 32 del cromosoma 14 e diversi possibili cromosomi donatori.

La leucemia linfatica cronica, quella a cellule capellute ed il plasmocitoma sembrano avere per lo più cariotipo normale, probabilmente perché è difficile cogliere cellule neoplastiche in mitosi. Nella leucemia linfatica cronica e nel linfoma linfocitico diffuso ben differenziato è stato identificato un cromosoma addizionale nel 25% dei casi. Questa caratteristica è associata a malattia aggressiva e scarsa sopravvivenza, come se essa non fosse espressione dell'evento citogenetico iniziale ma di un ulteriore aggravamento. È anche nota una traslocazione 14; 11.

In 5 casi di linfoma linfocitico ben differenziato sono state descritte anomalie minori rispetto agli indifferenziati: perdite di sostanza da parte del cromosoma 8, acquisizione di cromatina da parte dei cromosomi 3 o 14 ⁽⁵⁰⁾.

⁽⁴⁸⁾ FUKUHARA S., ROWLEY J. D., VARAIKOJIS D. et al.: *Banding studies on chromosomes in «diffuse» histiocytic Lymphomas: correlations of 14+ marker chromosome with cytology.* Blood 1978; 52: 989-1002.

⁽⁴⁹⁾ ROWLEY J. D., FUKUHARA S.: *Chromosome studies in non-Hodgkin's Lymphoma.* Sem. Oncol. 1980; 7: 255-266.

⁽⁵⁰⁾ FUKUHARA S., ROWLEY J. D.: *Chromosome 14 translocation in non-Hodgkin's Lymphomas.* Int. J. Cancer 1978; 22: 14-21.

RECENTI ACQUISIZIONI IN TEMA DI CITOGENETICA
DEI LINFOMI

Nel linfoma di Burkitt il ruolo patogenetico del virus di Epstein-Barr, tanto spesso invocato come agente eziologico, è ancora oscuro. Attualmente si sono ottenuti nuovi importanti elementi con il riconoscimento e la caratterizzazione di oncogeni ed il loro preciso rapporto con determinate anomalie citogenetiche ⁽⁵¹⁾.

È necessaria una breve premessa circa i concetti sulla modalità di azione degli oncogeni. Si tratta di sequenze di acidi nucleici probabili causa di degenerazione neoplastica, dapprima ipotizzate dai genetisti in ceppi familiari con alta incidenza di tumori e poi identificate dai virologi in molti virus capaci di attività carcinogenetica in varie specie animali. Il primo ampiamente studiato fu il virus del sarcoma di Rous, un retrovirus RNA i cui geni sono immessi nel genoma della cellula ospitante dall'enzima trascrittasi inversa. Attraverso questa integrazione i geni di origine virale divengono a tutti gli effetti componenti del patrimonio genetico della cellula e sono in grado di esprimersi con la sintesi di proteine virali.

Gli oncogeni cellulari sono originariamente costituenti del genoma della cellula sulla quale esercitano funzione di controllo della crescita e della proliferazione. Si ritiene che, in caso di loro attivazione funzionale, si possa verificare sviluppo del tumore; questo avviene in seguito a certe traslocazioni delle quali si parlerà in seguito.

Nel corso delle ricerche sui tumori da virus RNA e sulla trasformazione di cellule di tessuti coltivati in presenza di DNA estratto da tumori (transfezione) sono stati descritti oltre 25 oncogeni, che risultano conservati nel corso dell'evoluzione dei vertebrati. Si ritiene che normalmente si trovino in condizione di sostanziale repressione; si postula che possa insorgere una neoplasia per loro espressione incontrollata. Sfortunatamente il ruolo della maggior parte di essi è più supposto che chiarito ⁽⁵²⁾.

È stato tuttavia chiaramente dimostrato che uno di essi, il «c-myc», è espresso ad un livello abnormalmente elevato in un tipo di linfoma aviario caratterizzato da una particolare anomalia citogenetica, cioè dalla

⁽⁵¹⁾ GALLO R. C., WONG-STAAI F.: *Human T-cell leukemia-lymphoma virus (HTLV) and human viral onc-gene homologues*. In: *Oncogenes and retroviruses: Evaluation of basic findings and clinical potential*. O'Connor T. E., Rauscher F. I. Jr. (eds.), Alan R., Inc., New York 1983, pp. 223-242.

⁽⁵²⁾ LAND H., PARADA L. F., WEINBERG R. A.: *Cellular oncogenes and multi-step carcinogenesis*. *Science* 1983; 222: 771-778.

trasposizione nelle sue immediate vicinanze di un «enhancer» retrovirale, cioè di una sequenza nucleotidica che aumenta marcatamente l'espressione di geni adiacenti⁽⁵³⁾. Pur essendo numerose le indagini in corso, non è ancora noto il meccanismo, in termini di genetica molecolare, attraverso il quale viene meno il controllo dell'attività del gene «c-myc» (fig. 8).

È invece ben conosciuta la caratteristica anomalia cromosomica del linfoma di Burkitt, cioè il passaggio di parte del braccio lungo del cromosoma 8 sul braccio lungo del cromosoma 14, con traslocazione reciproca di una piccola porzione di quest'ultimo. Questo marker si nota in circa il 90% dei casi e coinvolge sempre le stesse bande cromosomiche (q24 dell'8 e q32 del 14); nel restante 10% dei casi si osservano altri tipi di traslocazioni reciproche che interessano la banda q24 dell'8 e la banda p11 del 2, oppure la stessa banda dell'8 e la q11 del 22⁽⁵⁴⁾ (fig. 9).

Come accennato in precedenza, è stato possibile chiarire interessanti dettagli circa le anomalie cromosomiche che caratterizzano questo linfoma B quando si scoprì che i geni per le catene pesanti delle immunoglobuline erano localizzati sulla banda q32 del cromosoma 14, mentre i geni per le catene leggere κ e λ erano posti rispettivamente sulla banda p11 del cromosoma 2 e su quella q11 del cromosoma 22⁽⁵⁵⁾. L'attenzione fu allora focalizzata sul braccio lungo del cromosoma 8, che partecipa alla traslocazione sia comune che rara del Burkitt. Entro breve tempo dalla previsione di Klein⁽⁵⁶⁾, secondo la quale in questo punto del genoma sarebbe stato scoperto un oncogene, fu identificato sulla banda q24 del cromosoma 8 proprio il «c-myc», noto da precedenti ricerche sulla mieloblastosi aviaria.

Con il riconoscimento che le trasposizioni del linfoma di Burkitt portano il «c-myc» nelle vicinanze di uno dei geni per le immunoglobuline e con l'applicazione delle tecniche della genetica molecolare il progresso

⁽⁵³⁾ HATWARD W. S., NEEL B. G., ASTRIN S. M.: *Activation of a cellular oncogene by promoter insertion in ALV-induced lymphoid leukosis*. Nature 1981; 290: 475-480.

⁽⁵⁴⁾ KIRSCH I. R., MORTON C. C., NAKAHARA K. et al.: *Human immunoglobulin heavy chain map to a region of translocations in malignant B lymphocytes*. Science 1982; 216: 301-303.

⁽⁵⁵⁾ CROCE C. M., SHANDER M., MARTINIS J. et al.: *Chromosomal location of the genes for human immunoglobulin heavy chains*. Proc. Natl. Aca. Sci. USA 1979; 76: 3416-3419.

⁽⁵⁶⁾ KLEIN G.: *The role of gene dosage and genetic transpositions in carcinogenesis*. Nature 1981; 294: 313-317.

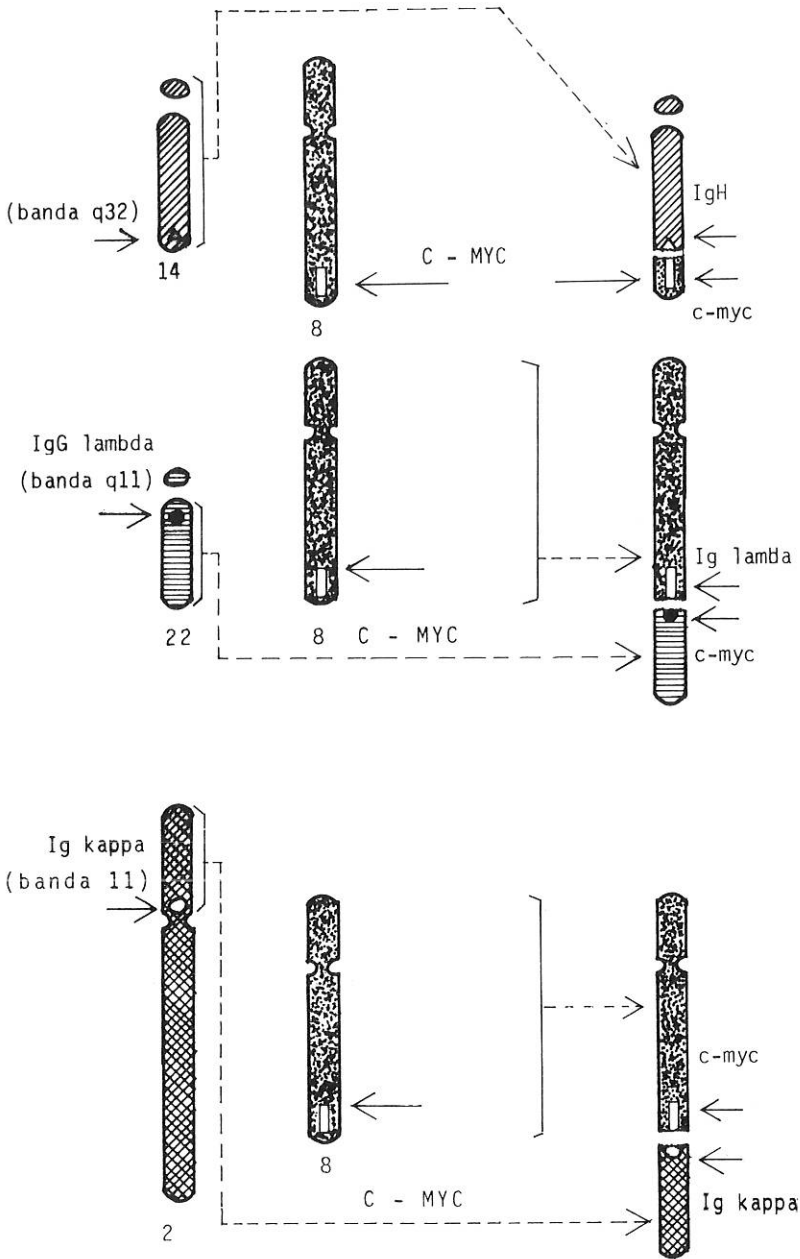


Fig. 9 - Traslocazione comune (8; 14, in alto) e rare (22; 8 e 2; 8, in mezzo ed in basso) del linfoma di Burkitt. Per la spiegazione vedi il testo.
 IgH = regione dei geni per le catene pesanti delle immunoglobuline;
 Igλ = regione dei geni per le catene leggere di tipo lamda;
 Igκ = regione dei geni per le catene leggere di tipo kappa.

delle conoscenze è divenuto sorprendente, tanto che in un certo numero di linfomi di Burkitt fu presto determinata la sequenza del «c-myc»⁽⁵⁷⁾.

Delle anomalie citogenetiche del Burkitt conviene considerare per prima la traslocazione 8; 14. L'oncogene «c-myc» consiste di tre segmenti (o exoni), interrotti da due sequenze nucleotidiche eliminate nel corso della trascrizione del RNA (o introni) (fig. 8). L'RNA messaggero serve da stampo per la proteina del «c-myc». Nella maggior parte, ma non in tutti i casi, il primo exone non viene traslocato e rimane sul cromosoma 8; ad esso viene attribuita funzione regolatrice che non viene pertanto trascritta⁽⁵⁸⁾. Se si studia la sequenza del DNA, il «c-myc» risulta invertito rispetto all'ordine delle normali triplette nucleotidiche, così che risulta posto «testa a testa» rispetto ai geni immunoglobulinici invece di «testa contro coda». Infine, i «c-myc» tumorali risultano costituiti da DNA identico a quelli non neoplastici, a dimostrazione del fatto che la degenerazione non presuppone traslocazioni di geni mutati⁽⁵⁹⁾.

La posizione del punto di rottura del locus per le immunoglobuline è variabile. Nella forma comune, cioè t(8; 14) il «c-myc» va abitualmente a localizzarsi nelle vicinanze di una estremità del gene per la regione costante delle catene pesanti delle IgM, nella direzione '5. Il punto di rottura del cromosoma può però essere anche alcune migliaia di basi al di là del gene per la regione costante, come pure, più raramente, al di qua.

In un certo numero di linfomi di Burkitt l'oncogene è direttamente attaccato al gene «swich» della regione costante IgM, una sequenza nucleotidica ripetitiva preposta al cambiamento della sintesi di IgM in quello di IgG⁽⁶⁰⁾.

Inizialmente fu ritenuta responsabile dell'attivazione del «c-myc» una certa sequenza in grado di aumentare l'espressione del gene per la regione costante delle IgM; ora è però chiaro che tale sequenza ordinariamente è traslocata sul cromosoma 8, privo di «c-myc».

⁽⁵⁷⁾ BATTEY J., MOULDING C., TAUB R. et al.: *The human c-myc oncogene: structural consequences of translocations into the IgH locus in Burkitt's Lymphoma*. Cell 1983; 34: 779-787.

⁽⁵⁸⁾ LEDER P., BATTEY J., LENOIR G. et al.: *Translocations among antibody genes in human cancer*. Science 1983; 222: 765-771.

⁽⁵⁹⁾ BERNARD O., CORY S., GERONDAKIS S. et al.: *Sequence of the murine and human cellular myc oncogenes and two modes of myc transcription resulting from chromosome translocation in B lymphoid Tumors*. EMBO J. 1983; 2: 2375-2383.

⁽⁶⁰⁾ HAMLYN P. H., RABBITS T. H.: *Translocations joins c-myc and immunoglobulin gamma 1 genes in Burkitt's lymphoma revealing a third exon in the c-myc oncogene*. Nature 1983; 304: 135-139.

I reperti ottenuti nei casi di linfoma con traslocazione t(2; 8) e t(8; 22) sono un po' differenti. In questi casi il «c-myc» rimane intatto sul cromosoma 8 mentre materiale genetico trasloca distalmente ad esso; le porzioni traslocate contengono i geni per le regioni costanti delle catene leggere e tra esse e la rimanente sequenza ordinariamente è mantenuto il normale ordinamento capo-coda ⁽⁶¹⁾.

Sembra probabile che molti dei dettagli ora descritti non siano essenziali per la genesi del Burkitt, ma che possano rappresentare epifenomeni citogenetici. Comunque, il minimo comune denominatore delle traslocazioni descritte è dato dal fatto che il gene «c-myc» si viene a collocare al di qua del gene per la regione costante di una immunoglobulina, nella direzione '5, anche se le due porzioni possono essere separate da una regione variabile «intervening» e da altre sequenze di varia, ma non eccessiva, lunghezza.

Sebbene la funzione del «c-myc» sia fondamentalmente sconosciuta, le tecniche di genetica molecolare permettono di monitorare accuratamente la sua attività misurando la quantità dell'RNA messaggero. La sintesi di proteine proprie dell'«c-myc» nel linfoma di Burkitt è aumentata da moderatamente a marcatamente rispetto a quanto si documenta in linfociti non neoplastici stimolati; l'oncogene traslocato sembra essersi svincolato dai normali meccanismi di controllo. Esso rimane attivo anche se trasferito in cellule plasmocitomatose ibride umane-murine, un ambiente che non consente espressione ad alleli trasformati. Il gene trasferito blocca anche l'espressione del suo allele normale in culture di cellule di tumore di Burkitt.

La traslocazione del gene «c-myc» in prossimità di una estremità di un gene per la regione costante delle immunoglobuline comporta la sua attivazione forse per la mancata traslocazione del primo exone. Mentre l'attivazione è evento costante del linfoma di Burkitt, essa non è necessariamente causa di degenerazione neoplastica, nella quale sembra essere coinvolto un secondo oncogene, forse il B-lymph ⁽⁶²⁾ o l'N-ras ⁽⁵²⁾. Diversamente dal «c-myc», che agisce a livello molecolare, gli altri sono in rapporto con la superficie cellulare. Il B-lymph è stato identificato nel corso della

⁽⁶¹⁾ CROCE C. M., THIERFELDER W., ERIKSON J. et al.: *Transcriptional activation of an unrearranged and untranslocated c-myc oncogene by translocation of a c-lambda locus in Burkitt's lymphoma cell*. Proc. Natl. Aca. Sci. USA 1983; 80: 6922-6926.

⁽⁶²⁾ DIAMOND A., COOPER G. M., RITZ J. et al.: *Identification and molecular cloning of the human B-lymph transforming gene activated in Burkitt's lymphoma*. Nature 1983; 305: 112-116.

trasformazione di cellule in cultura poste a contatto con DNA di linfoma di Burkitt (transfezione). Poiché il «c-myc» è attivato anche in linfociti non neoplastici trasformati dal virus di Epstein-Barr, si è supposto che esso sia responsabile della immortalizzazione cellulare e che un secondo oncogene sia richiesto per completare la trasformazione neoplastica. Tale cooperazione, anche se speculativa, è resa probabile da dati sperimentali vecchi e recenti, i quali suggeriscono come l'oncogenesi sia un processo quanto meno a due stadi.

Il ruolo del virus di Epstein-Barr nel linfoma di Burkitt resta oscuro. Diversamente dalle anomalie cromosomiche trovate costantemente sia nella forma africana che in quella sporadica, esso è abitualmente assente nel genoma di quest'ultima. L'ipotesi secondo la quale non sarebbe essenziale per la genesi del tumore, ma per predisporre la cellula alle note alterazioni cromosomiche, si accorda quindi con i dati già noti.

Quanto detto sopra sarebbe di limitato interesse per il lettore se le implicazioni valessero solo per il linfoma di Burkitt, un tumore raro. In realtà esistono dimostrazioni che meccanismi simili sono presenti anche nei comuni linfomi non-Hodgkin e nella maggioranza delle neoplasie del sistema emopoietico. Appare quindi evidente come i progressi tecnici nel campo della citogenetica permettano ora il riconoscimento di anomalie cromosomiche nella maggior parte dei linfomi ed inoltre reperti caratteristici in determinati sottotipi (⁴⁹).

Le attuali conoscenze sono troppo frammentarie per consentire una completa ricostruzione della patogenesi del Burkitt e ancor meno degli altri linfomi non-Hodgkin. È peraltro possibile che un cetro sottotipo di linfoma sia definito da uno specifico cambiamento di oncogeni in particolari cellule che si trovino in un certo stadio differenziativo e che diversi cambiamenti genetici in una cellula allo stesso stadio differenziativo possano portare a differenti tipi di linfoma. Le recenti acquisizioni chiariscono quindi certi aspetti patogenetici delle malattie in questione, ma pongono nuovi quesiti per la futura ricerca.

L'attivazione dell'oncogene «c-myc» conseguente alla trasposizione vicino al gene per la regione costante di una immunoglobulina è condizione necessaria nel linfoma di Burkitt. Non può essere un caso che questo tumore sia intimamente associato ad un grave sovvertimento genetico del più importante evento differenziativo B, cioè dell'assemblaggio della molecola immunoglobulinica. A questo riguardo va notato come i linfomi di Burkitt con traslocazioni varianti che coinvolgono il gene per la regione κ , t(2; 8), esprimono sulla superficie cellulare immunoglobuline con le sole

catene leggere κ , mentre i tumori che coinvolgono il gene per le catene λ , portatori della traslocazione 8; 22, esprimono le sole catene λ (⁶³, ⁶⁴).

Si può concludere ipotizzando che il difetto genetico determini il sottotipo di linfoma? Tra le speci animali ciò non è certamente vero, visto che la lesione del Burkitt è descritta anche nel plasmocitoma murino. Riguardo ad una determinata specie, comunque, ci sono validi motivi a sostegno di una risposta positiva. Ad esempio, due di tre altre neoplasie umane nelle quali si trova spesso la traslocazione tipica del Burkitt, cioè la variante «simil-Burkitt» della leucemia linfoblastica ed il linfoma diffuso indifferenziato di tipo Burkitt, sono clinicamente e morfologicamente molto simili alla varietà classica del tumore.

In altri linfomi non esistono elementi per incriminare l'attivazione del «c-myc» da parte di geni per le immunoglobuline, ma c'è ragione per sospettare che il locus per le catene pesanti delle immunoglobuline stesse, o un locus adiacente, coinvolto nella differenziazione linfocitaria, attivi un diverso oncogene. Così la banda che contiene il gene per le catene pesanti delle IgM (q32 del cromosoma 14) è coinvolta nella traslocazione regolarmente associata al linfoma nodulare, sebbene il presunto oncogene sul cromosoma accettore 18 resti da identificare. Come accennato in precedenza, la stessa banda sul cromosoma 14 è un sito di traslocazioni in linfomi T (⁶⁵) ed in altri linfomi B. Esistono quindi dimostrazioni convincenti che ulteriori elementi genetici in questa banda del cromosoma 14 siano responsabili di un certo numero di linfomi, anche se solo nel Burkitt è stato parzialmente identificato il meccanismo patogenetico.

Nei 16 casi di malattie linfoproliferative T descritti da Nowell e coll. si notarono marcate differenze, in accordo con le diversità clinico-morfologiche. Oltre all'anomalia riguardante il 14 + si rinvennero traslocazioni e delezioni per lo più a carico del braccio lungo dei cromosomi 2, 9, 13, 18 e traslocazioni in tandem a carico del 14 (⁶⁶).

(⁶³) HOLLIS G. F., MITCHELL K. F., BATTEY J. et al.: *A variant translocation places the lambda immunoglobulin genes 3' to the c-myc oncogene in Burkitt's lymphoma*. Nature 1984; 307: 753-755.

(⁶⁴) LENOIR G. M., PREUD'HOMME J. L., BERNHEIM A. et al.: *Correlation between immunoglobulin light chain expression and variant translocation in Burkitt's lymphoma*. Nature 1982; 298: 474-476.

(⁶⁵) MIYAMOTO K., SATO J., KITAZIMA K. et al.: *Adult T-cell leukemia. Chromosome analysis of 15 cases*. Cancer 1983; 52: 471-478.

(⁶⁶) NOWELL P., DANIELE R., ROWLANDS D. et al.: *Cytogenetics of chronic B and T cell leukemia*. Cancer Genet. Cytogenet. 1980; 1: 273-280.

Una spiegazione accettabile per la traslocazione che avviene nelle cellule T è che essa non coinvolga tanto il locus per le catene pesanti delle immunoglobuline, ma piuttosto geni vicini che codificano la differenziazione ⁽⁶⁵⁾. È noto, a supporto di questo punto di vista, che un cluster di geni strettamente uniti, posto distalmente al locus per le catene pesanti, codifica i determinanti della superficie cellulare che regolano la maturazione della cellula T e l'immunocompetenza ⁽⁶⁷⁾.

È opportuno dedicare qualche riga al rapporto tra anomalie citogenetiche e varietà istologica del linfoma. In precedenza si è parlato prevalentemente di un tipo di anomalia, la trasposizione reciproca del Burkitt. Un secondo tipo di anomalia consiste nella presenza di extracromosomi o di delezioni parziali o totali. Può un comune meccanismo essere alla base di tutte le anomalie cellulari, cioè dell'attivazione di un oncogene a causa dell'assenza di un gene bilanciante? L'appropriato uso dei markers di superficie e biochimici per stabilire l'appartenenza alle linee T, B o null e lo stadio maturativo ha fornito un grande mezzo al patologo per classificare i linfomi. La nuova genetica, sia citologica che molecolare, possiede forse il potenziale per completare ulteriormente e perfezionare l'inquadramento di tali neoplasie, talché è ipotizzabile che da queste nuove tecniche derivi una classificazione definitivamente soddisfacente ed una risposta alla precedente domanda.

LINFOMI E LEUCEMIE ACUTE CON PREDILEZIONE PER LA LOCALIZZAZIONE MEDIANISTICA

Una sola delle cinque varietà di leucemia linfoblastica, la T, mostra predilezione per la localizzazione medianistica, più precisamente per il timo. Essa comprende circa un quarto delle forme infantili, con maggiore incidenza nei maschi più grandicelli. Al momento della diagnosi di regola c'è un alto numero di blasti in circolo e nel decorso si osserva con maggiore frequenza meningosi. La prognosi non è delle migliori: nell'ambito delle leucemie linfoblastiche si ritiene che la malignità aumenti dalla forma «common» alla «pre-B», alla «non classificabile», alla «T» e infine alla «B», scarsamente sensibile ai mezzi terapeutici oggi a disposizione.

⁽⁶⁷⁾ AISENBERG A. C.: *New genetics of Burkitt's lymphoma and others non-Hodgkin's lymphomas*. Am. J. Med. 1984; 77: 1083-1090.

Il linfoma linfoblastico è entità clinico-patologica oggi distinta, peraltro assai simile alle leucemie linfoblastiche T ⁽⁶⁸⁾. Come in queste, i markers immunologici di superficie e citochimici riflettono lo stadio maturativo dei linfociti normali. Alcuni di essi, quale il recettore per il complemento, possono essere apparentemente dimostrati solo durante lo sviluppo fetale precoce, mentre altri, identificabili con anticorpi monoclonali, sono continuamente espressi durante la differenziazione ⁽⁶⁹⁾. È interessante notare come la dimostrazione del recettore per il complemento sulla superficie delle cellule di questo linfoma abbia consentito di riconoscere un corrispondente stadio maturativo, prima sconosciuto, nel timo fetale; questo è un esempio di come la precisa caratterizzazione immunologica delle cellule linfomatose sia stata un importante mezzo di acquisizioni nel campo della normale ontogenesi linfocitaria. Gli studi immunologici hanno potuto dimostrare alcune affinità tra leucemie linfoblastiche T e linfoma immunoblastico, d'ordinario T. Entrambe le varietà si accompagnano, come già detto, ad ingrossamento timico e spesso a versamento pleurico; le cellule risultano positive alla reazione per le fosfatasi acide (reazioni a goccia) e posseggono marcatori di superficie caratteristici della linea T. Ma mentre la leucemia mostra costellazione antigenica di membrana, definita dai vari anticorpi monoclonali, propria degli stadi differenziativi intratimici più precoci, il linfoma ha caratteristiche più mature o meglio intermedie, corrispondenti per lo più allo stadio II° dello sviluppo timico corticale ⁽⁷⁰⁾.

La peculiarità differenziativa del linfoma linfoblastico T è sottolineata anche dal fatto che i comuni regimi terapeutici, sebbene appropriati per la maggior parte dei linfomi B e null, sono in questo caso di limitato giovamento, mentre più sensibili benefici si hanno con i regimi antileucemici ⁽⁷¹⁾.

⁽⁶⁸⁾ NATHWANI B. N., KIM H., RAPPAPORT H.: *Malignant lymphoma, lymphoblastic*. Cancer 1976; 38: 964-983.

⁽⁶⁹⁾ GATIEN G. J., SCHNEEBERGER E. E., MERLER F.: *Analysis of human thymocytes subpopulations using discontinuous products of albumin: precursor lymphocytes in human thymus*. Eur. J. Immunol. 1975; 5: 312-17.

⁽⁷⁰⁾ WEISS L. M., BINDL J. M., PICOZZI V. J. et al.: *Lymphoblastic lymphoma: an immunophenotype study of 26 cases with comparison to T cell acute lymphoblastic leukemia*. Blood 1986; 67: 474-478.

⁽⁷¹⁾ WEINSTEIN H. J., VANCE Z. B., JAFFE E. et al.: *Improved prognosis for patients with mediastinal lymphoblastic lymphoma*. Blood 1979; 53: 687-693.

EPIDEMIOLOGIA DEI LINFOMI NON-HODGKIN

Come molti altri studi in materia, anche quelli epidemiologici si basano su classificazioni e terminologie diverse, alcune solo di interesse storico; spesso inoltre sono trascurate alcune entità meno frequenti, quali la micosi fungoide ed il linfoma di Burkitt.

I dati epidemiologici si riferiscono per lo più alla popolazione nord-americana. In essa il «linfosarcoma» risulta più comune rispetto al «reticolosarcoma» ed entrambi prediligono il sesso maschile.

Dal 1960 si nota chiara tendenza all'aumento di questa patologia, che nei paesi occidentali tende a frequenze triple rispetto alle precedenti. Negli U.S.A. in generale i linfomi non-Hodgkin sono relativamente infrequenti, essendo la loro incidenza di circa 15×10^3 casi/anno, cifra che, grosso modo, corrisponde al 2% delle neoplasie in generale⁽⁷²⁾. Secondo i dati del 1975 l'incidenza annuale media rapportata all'età è del $5,8/10^5$ per i maschi adulti bianchi, del $4,1/10^5$ per le femmine bianche e per i maschi negri, del $2,6/10^5$ per le femmine negre. Il rapporto maschio/femmina si aggira attorno all'1,4/1.

Riguardo all'età, nei maschi vi è un picco di incidenza in epoca pre-adolescenziale seguito da un secondo prima dei 20 anni; successivamente si nota aumento logaritmico rispetto all'età, con curva un po' meno ripida per il sesso femminile. Tra i nati del Connecticut e delle Haway negli anni tra il 1960 ed il 1972 si è osservato aumento di incidenza del 107% e rispettivamente del 120%. Parallelamente all'incidenza, anche la mortalità mostra progressivo aumento, con maggiore percentuale nei maschi bianchi e negli adulti e anziani; l'incremento osservato nelle femmine bianche è secondo solo al carcinoma polmonare e, nel maschio bianco, segue quello del carcinoma polmonare e pancreatico⁽⁷³⁾. L'incidenza del linfosarcoma varia dallo $0,3/10^5$ /anno per la Germania al $5,5/10^5$ /anno per la Nigeria⁽⁷⁴⁾; quella del reticolosarcoma dallo $0,1/10^5$ /anno per l'India al $5,9/10^5$ /anno per lo stato di New York.

La mortalità per i linfomi non-Hodgkin mostra gradiente positivo in rapporto alla posizione socio-economica ed alla residenza urbana. Questi due fattori determinano anche maggiore incidenza del «reticolosarcoma».

⁽⁷²⁾ CANCER STATISTIC, 1979. C. A. 1979; 29: 6-21.

⁽⁷³⁾ CANTOR K. P., FRAUMENI J. F. JR.: *Geographic and temporal patterns of non-Hodgkin's lymphomas mortality in U.S. countries. 1950-1975*. Cancer Res. 1980; 40: 2645-2652.

⁽⁷⁴⁾ WATERHOUSE J., MUIR C., CORREA P. et al.: *Cancer incidence in five continents*. Volume 13, IARC WHO 1976, Geneva, Switzerland.

EZIOLOGIA E FATTORI FAVORENTI AGGREGAZIONE FAMILIARE

Dalla revisione della letteratura risultano 38 famiglie con più casi di linfoma non-Hodgkin. Poiché in circa l'80% si tratta di fratelli germani, sembrerebbe esistere ereditarietà autosomica recessiva. In questi casi l'età media alla diagnosi risultò più bassa; non si è notata prevalenza di determinati tipi istologici⁽⁷⁵⁾ mentre risulta chiara, in alcuni casi, la presenza di disfunzioni immunitarie ereditarie. Nelle sorelle tende a prevalere il linfoma nodulare, nei fratelli di età inferiore ai 10 anni il linfoma primitivo del tratto gastroenterico.

SINDROMI DA IMMUNODEFICIENZA

Talvolta prima che si sviluppi un linfoma esistono chiare anomalie funzionali, anche su base genetica, delle cellule immunocompetenti. In alcuni casi la condizione preneoplastica si manifesta con proliferazione incontrollata, in altri come difetti funzionali dei linfociti⁽⁷⁶⁾.

Ciò tuttavia è dimostrabile solo in una minoranza di casi, mentre nella maggioranza non si apprezzano precedenti condizioni predisponenti. Si ritiene da molti, peraltro, che sempre prima dell'insorgenza di un linfoma vi siano anomalie funzionali linfocitarie, anche se clinicamente non percettibili, evidenziabili semmai da appropriate tecniche di laboratorio.

Se si considera la linfoproliferazione maligna come il risultato finale di una serie di eventi che traggono origine in cellule normali, è opportuno accennare ai processi che essa presuppone. Secondo il concetto di Jerne⁽⁷⁷⁾, accettato dai più, il funzionamento del sistema immunitario è guidato da segnali integrati, nel senso che alcuni stimolano la sintesi di anticorpi e la reazione cellulo-mediata, mentre altri frenano la risposta e tendono a riportare il sistema alle condizioni di partenza. Osservazioni sperimentali nel topo hanno dimostrato che la stimolazione antigenica cronica può portare allo sviluppo del linfoma, favorita da un eccesso di

⁽⁷⁵⁾ GREENE M. H., MILLER R. W.: *Familial non-Hodgkin's lymphoma: histologic diversity and relation to other cancers*. Am. J. Med. Gen. 1978; 1: 437-443.

⁽⁷⁶⁾ LOUIE S. L., SCHWARTZ R. S.: *Immunodeficiency and the pathogenesis of non-Hodgkin's lymphoma and leukemia*. Sem. Hematol. 1978; 15: 117-138.

⁽⁷⁷⁾ JERNE E. K.: *Towards a network theory of the immune system*. Annu. Immunol. 1974; 1250; 373.

segnali positivi per la proliferazione dei linfociti B. Nell'uomo esistono almeno due simili esempi: la reazione graft-versus-host (trapianto verso ospite) cronica, nella quale i normali antigeni di istocompatibilità possono far evolvere una condizione linfoproliferativa benigna in maligna, ed il linfoma di Burkitt in rapporto al virus di Epstein-Barr. Questo agente, come precedentemente accennato, ha due proprietà peculiari: accentuato tropismo per i linfociti B e spiccata capacità di indurre proliferazione policlonale. Se la reazione dei linfociti T suppressor è difettosa, come in caso di infezione malarica recente, lo sviluppo di un linfoma risulta facilitato ⁽⁷⁸⁾.

Alcune immunodeficienze congenite si accompagnano a maggiore incidenza di tumore ed in particolare di linfoma che, secondo l'Immunodeficiency Cancer Registry, ammonta in tali casi al 4% ⁽⁷⁹⁾. Si tratta per lo più di difetti genetici legati al cromosoma X, di immunodeficienza grave combinata, di sindrome di Wiskott-Aldrich, di atassia-teleangiectasia, di immunodeficienza comune variabili, di deficit delle IgA, di IgM o di altre forme ereditarie. La malattia di Duncan ⁽⁸⁰⁾ è un difetto genetico recessivo pure legato al cromosoma X, caratterizzato da malformazioni diverse ed immunodeficienza complessa e da proliferazione linfocitaria benigna o maligna, soprattutto dopo contatto con il virus di Epstein-Barr. Di tale reazione anomala al virus è stata individuata da Purtilo e coll. ⁽⁸¹⁾ un fenotipo aproliferativo, che si manifesta con agammaglobulinemia acquisita, agranulocitosi e anemia aplastica, ed un fenotipo proliferativo, nel quale si può verificare mononucleosi fatale, linfoma di Burkitt, linfoma immunoblastico B o plasmocitoma. Sia la risposta aproliferativa che il fenotipo proliferativo sarebbero espressione di attività eccessiva di sottoclassi diverse di linfociti T suppressor.

La facilitata insorgenza di linfomi in corso di immunodeficienza sembra mediata da instabilità cromosomica ⁽⁸²⁾. Una non rara anomalia delle

⁽⁷⁸⁾ TOSATO G., MAGRATH I., KOSKI I. et al.: *Activation of suppressor T cells deriving Epstein-Barr-virus induced infectious mononucleosis*. N. Engl. J. Med. 1979; 301: 1133-1137.

⁽⁷⁹⁾ GATTI R. A., GOOD R. A.: *Occurrence of malignancy in immunodeficiency diseases*. Cancer 1971; 28: 89-98.

⁽⁸⁰⁾ PURTILO D. T., CASSEL C. K., YANG J. P. S. et al.: *X-linked recessive progressive combined variable immunodeficiency (Duncan's disease)*. Lancet: 1975; 1: 935.

⁽⁸¹⁾ PURTILO D. T., PAQUIN L., DE FLORIO D. et al.: *Immunodiagnosis and immunopathogenesis of the X-linked recessive lymphoproliferative syndrome*. Sem. Hematol. 1979; 16: 309-343.

⁽⁸²⁾ CLEAVER J. E.: *Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum*. Nature 1968; 218: 652.

immunodeficienze è la traslocazione del braccio lungo del cromosoma 14, che si osserva di frequente nella atassia-teleangiectasia, nella quale il punto di rottura ha luogo in prossimità della banda q 12, con traslocazione più frequentemente sul cromosoma omologo. Un simile riarrangiamento, descritto nel 21% dei casi di tale immunodeficienza, si accompagna ad alterazioni ematologiche proprie della sindrome preleucemica. In un caso di deficit delle IgA è stato notato un cromosoma 18 ad anello⁽⁸³⁾, in un caso di deficit delle IgA e delle IgG delezione del braccio lungo del cromosoma 18.

Le anomalie citogenetiche delle immunodeficienze sono spesso accompagnate da difettoso metabolismo del DNA, quale diminuito repair dopo irradiazione. Al riguardo si è visto che la banda 12 del braccio lungo del cromosoma 14, punto di aberrazione citogenetica nella atassia-teleangiectasia, è in rapporto con il gene per l'enzima nucleotide-fosforilasi, il quale svolge importante ruolo nella riparazione delle lesioni che il DNA può avere subito per le più svariate cause. Si ritiene che ogni sua alterazione predisponga ad instabilità degli acidi nucleici e alle neoplasie linfatiche dell'atassia teleangiectasia. Alterazioni citogenetiche di simile significato sono causate dall'adenovirus oncogeno 12, il quale provoca danno a livello del cromosoma 17 in prossimità del locus per la timidino-chinasi, e del cromosoma 1, in prossimità del locus dell'adenilatochinasi.

LA CONDIZIONE DI PORTATORE DI TRAPIANTO

In un gruppo di 6.291 portatori di trapianto renale furono osservati 25 casi di linfoma, 21 dei quali furono classificati come reticolosarcoma⁽⁸⁴⁾. Si è calcolato che in questi pazienti la possibilità di malattie linfoproliferative sia da 25 a 250 volte superiore al normale.

Nei portatori di trapianto di cuore il rischio di linfoma è pure consistente, in particolar modo per quei pazienti precedentemente affetti da cardiomiopatia⁽⁸⁵⁾. In essi prima del trapianto è stato dimostrato

⁽⁸³⁾ JENSON K., CHRISTENSEN R., JACOBSEN P. et al.: *Ring chromosome 18 and gamma-M-globulin abnormality*. Lancet 1969; 2: 297.

⁽⁸⁴⁾ HOOVER R., FRAUMENI J. F.: *Risk of cancer in renal transplant recipients*. Lancet 1973; 2: 55.

⁽⁸⁵⁾ KRICKORIAN J. G., ANDERSON J. L., BIEBER C. P. et al.: *Malignant neoplasms following cardiac transplantation*. JAMA 1978; 240: 639.

difetto dell'attività suppressor mediata da mitogeni, diversamente dai portatori di cardiopatia ischemica.

In alternativa alla defaillance dei meccanismi di controllo immunologico antitumorale legati a fattori costituzionali o alla terapia, nella genesi dei linfomi dei pazienti portatori di trapianto va considerata anche la risposta linfoproliferativa agli alloantigeni del trapianto stesso. Essa può procedere incontrollata per il fatto che la terapia immunosoppressiva frena il feed-back inibitorio e perciò innesca un tumore costituito per lo più da linfociti stimolati da antigeni dell'istocompatibilità (linfoma immunoblastico). Il tumore prende origine in linea di massima da cellule dell'ospite, ma in caso di trapianto di midollo emopoietico sono stati descritti rari casi di linfoma e leucemie originati da cellule del donatore.

CONDIZIONI DI IMMUNODEPRESSIONE ACQUISITA

Secondo recenti revisioni della letteratura, pazienti con artrite reumatoide non trattata o lupus erythematoses sistemico mostrano maggiore incidenza di linfomi non-Hodgkin ⁽⁷⁶⁾. Uno studio finlandese valuta il rischio per l'artrite reumatoide superiore di 2,7 volte rispetto ai normali. Ciò vale anche per la sindrome di Sjögren ⁽⁸⁶⁾, per la sarcoidosi ⁽⁸⁷⁾ e per la celiachia ⁽⁸⁸⁾. La sensibilità al glutine è causa di stimolazione antigenica cronica locale e, di conseguenza, condizione predisponente a malattie linfoproliferative intestinali. Non è raro che pazienti che sviluppano linfoma primitivo gastroenterico presentino celiachia e/o dermatite erpetiforme in fase subclinica e pertanto misconosciuta. Da ciò deriva che probabilmente la celiachia e la dermatite erpetiforme si associano ad una significativa quota della cosiddetta «variante occidentale» del linfoma intestinale primitivo, malattia tipicamente dell'età media che colpisce il tratto distale del tenue ed il colon prossimale.

La linfadenopatia angioimmunoblastica è una malattia linfoproliferativa apparentemente benigna che può virare in linfoma ⁽⁸⁹⁾. In una

⁽⁸⁶⁾ KASSAN S. S., THOMAS T. L., MOUTSOPOULOS H. M. et al.: *Increased risk of lymphoma in sicca syndrome*. Ann. Intern. Med. 1978; 89: 888-892.

⁽⁸⁷⁾ FINKE R., LYDTIN H., PRECHTEL K.: *Sarcoidosis and immunocytoma*. Am. J. Med. 1986; 80: 939-942.

⁽⁸⁸⁾ HOLMES G. K. T., STOKES P. L., SOAHAN T. M. et al.: *Celiac disease, gluten free diet, and malignancy*. Gut 1976; 17: 612-619.

⁽⁸⁹⁾ FRIZZERA G., MORAN E. M., RAPPAPORT H.: *Angioimmunoblastic lymphadenopathy with dysproteinemia*. Lancet 1974; 1: 1070-1073.

nota casistica 16 di 84 pazienti svilupparono linfoma immunoblastico. Essa frequentemente si accompagna a storia di allergia a farmaci, malattie autoimmuni, gammapatia policlonale e sembra occupare posizione intermedia tra l'iperplasia linfoide benigna e le neoplasie maligne linfatiche. Mostra punti in comune con la graft-versus-host reaction.

Infine una certa prevalenza di linfomi è stata descritta nell'insufficienza renale cronica, condizione che si accompagna a depressione dell'immunità cellulo-mediata ⁽⁹⁰⁾.

Nei disordini immunitari e nelle collagenopatie trattate con terapia immunodepressiva sembra che il rischio aumenti ulteriormente. Nei pazienti immunodepressi il tumore assume aspetti peculiari ed interessanti. La maggior parte dei casi è inquadrabile tra i «reticolosarcomi» e mostra predilezione per la localizzazione primitiva nel sistema nervoso centrale, senza che il motivo sia chiaro ⁽⁹¹⁾.

ESPOSIZIONE A NOXAE CHIMICHE E FISICHE

Un certo aumento dell'incidenza di linfoma è stato descritto nelle persone esposte al cloruro di vinile ⁽⁹²⁾, negli addetti alla vulcanizzazione della gomma, nei lavoratori delle raffinerie di petrolio e, secondo alcuni, nei medici anestesisti. Non esiste definitiva dimostrazione che le radiazioni ionizzanti possano indurre tali tumori nell'uomo, anche se essi compaiono con maggiore frequenza negli irradiati per spondilite anchilopoiatica ⁽⁹³⁾; tali soggetti, d'altra parte, presentano precedenti anomalie immunitarie. Sembra documentato un lieve eccesso di linfomi nei sopravvissuti a bombardamento atomico ⁽⁹⁴⁾ o in soggetti giovani esposti ad oltre 100 rads; non esistono tuttavia convincenti statistiche riguardanti soggetti irradiati, anche pesantemente, in cui sia apparso eccesso di malattia.

⁽⁹⁰⁾ PIAZZA I., ALIBRANDI F., AMADORI G., et al.: *T-mediated immunity in patients undergoing periodic hemodialysis*. Boll. Ist. Sieroterap. Milanese 1978; 57: 631-636.

⁽⁹¹⁾ MARAS A. J., HERTEL B. F., ROSAI J. et al.: *Post-transplant malignant lymphoma: distinctive morphological features related to its pathogenesis*. Am. J. Med. 1976; 61: 716.

⁽⁹²⁾ CHIAZZI L. Jr., NICHOLS W. E., WONG O.: *Mortality among employees of PVC fabricators*. JOM 1977; 19: 623-628.

⁽⁹³⁾ COURT-BROWN W. M., DOLL R.: *Mortality from cancer and other causes after radiotherapy for ankylosing spondylitis*. Br. Med. J. 1965; 2: 1327-1332.

⁽⁹⁴⁾ BEEBE G. W., KATO H., LAND C.: *Studies of the mortality of A-bomb survivors*. Radiat. Res. 1978; 75: 138-201.

ASSUNZIONE CRONICA DI IDANTOINICI

Tra i pazienti che hanno sviluppato linfoma non-Hodgkin è stato documentato un certo eccesso di assunzione di idantoinici, farmaci anti-epilettici tra i principali. Sebbene essi si siano dimostrati carcinogeni nell'animale ed immunodepressori nell'uomo, non è del tutto certo se favoriscono l'insorgenza di neoplasie linfatiche. Dalla gran mole di studi pubblicati si può dedurre che il rischio è lievemente aumentato⁽⁹⁵⁾. Nel 1959 Saltzstein ed Ackermann⁽⁹⁶⁾ descrissero 7 casi di linfoma «idantoinico benigno», rivedendone altri 75 riportati precedentemente. Tale affezione imita da vicino vari tipi di patologia linfatica maligna e dal punto di vista istologico può essere indistinguibile dal linfogranuloma di Hodgkin. È di regola reversibile con la sospensione della terapia, anche se sono stati descritti casi di transizione in linfoma maligno.

La linfadenopatia idantoinica nella nostra esperienza (figg. 10, 11) è più frequentemente profonda e quindi può porre non facili problemi diagnostico-differenziali. È possibile la localizzazione medianistica con i relativi sintomi da compressione⁽⁹⁷⁾; si accompagna spesso a reazioni febbrili e dermatitiche, compromissione epato-splenica, talvolta anemia aplastica, sintomi di collagenopatia acuta del tipo panarterite nodosa o lupus sistemico. La patogenesi sembra in rapporto sia all'immunodeficienza che ad alterazioni di membrana cellulare tali da non consentire che l'apparato immunitario riconosca le strutture dell'organismo come proprie («self»).

VIRUS

Mentre già da tempo è possibile indurre linfomi in mammiferi ed uccelli con virus RNA del tipo C e con virus DNA erpetici, la dimostrazione di un'eziologia virale nell'uomo è recente, frutto di ricerche che si sono sviluppate lentamente⁽⁹⁸⁾. I primi studi si limitarono all'esame

⁽⁹⁵⁾ IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF THE CARCINOGENIC RISK OF CHEMICALS IN MAN: *Phenytoin and phenytoin sodium*. Lyon, IARC WHO Monograph. 13, 1977, pp. 201-215.

⁽⁹⁶⁾ SALTZSTEIN S. L., ACKERMANN L. V.: *Lymphadenopathy induced by anti-convulsant and mimicking clinically and pathologically malignant lymphomas*. Cancer 1959; 12: 164.

⁽⁹⁷⁾ AMADORI G., FIORE D.: *Problemi diagnostici dell'immunopatia idantoinica*. *Mind. Med.* 1984; 75: 2503-2519.

⁽⁹⁸⁾ KAPLAN H. S.: *Leukemia and lymphoma in experimental and domestic animals*. *Sem Hematol.* 1974; 7: 94-163.

elettromicroscopico di cellule leucemiche nella ricerca di immagini di retrovirus; i risultati furono incerti, ma non fu possibile dimostrare replicazione virale, come invece è possibile in certe leucemie dell'animale. Pure la ricerca di antigeni retrovirali e dei relativi anticorpi diede risultati limitati per il fatto che si basava sul presupposto di una sostanziale cross-reattività tra l'ipotetico virus umano e quello animale, presente in realtà solo per alcune proteine maggiori.



Fig. 10 - Radiografia del torace di un paziente con pseudolinfoma idantoico interessante i linfonodi ilari.

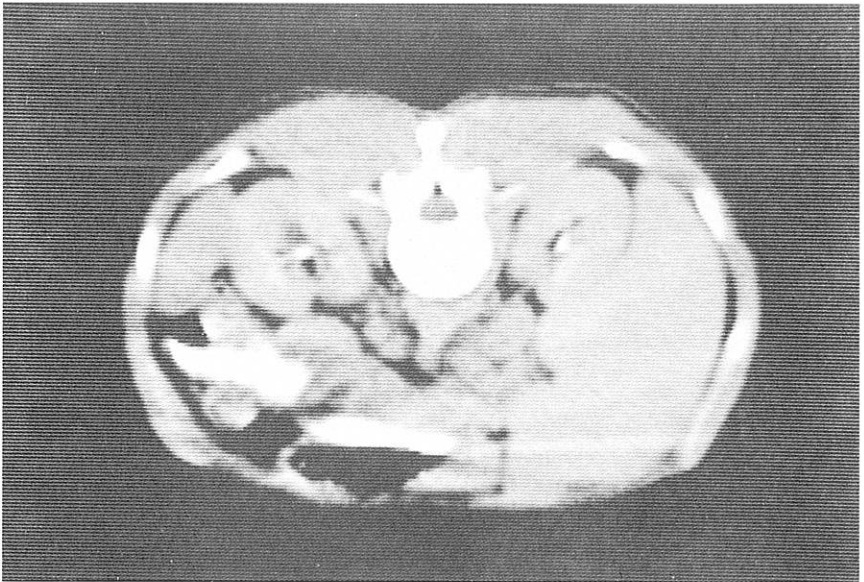


Fig. 11 - Tomografia assiale computerizzata addominale alta del caso precedente. In corso terapia (sopra) si notano linfonodi periaortici ingrossati, scomparsi dopo sospensione del farmaco (sotto).

All'inizio degli anni '70 risale l'isolamento del retrovirus della leucemia del gibbono ⁽⁹⁹⁾. A questa acquisizione seguirono sostanziali progressi nello studio della leucemia bovina che portarono dei dati di grande novità, contrastanti con alcune precedenti convinzioni ⁽¹⁰⁰⁾. Sulla base dell'assunzione che essa fosse dovuta ad un retrovirus esogeno, basata essenzialmente su osservazioni epidemiologiche, furono opportunamente variate le condizioni di esperimento, fino a raggiungere ragguardevoli risultati. Fino a questo periodo non era riuscita la dimostrazione di un agente eziologico trasmissibile, nè in cellule tumorali, nè nel siero in fasi di viremia.

Solo dopo culture in vitro è stato possibile isolare l'agente eziologico. Esso contiene un genoma RNA conformato ad elica semplice, che consiste, essenzialmente di tre geni: uno per la proteina del core, chiamato GAG, uno per la trascrittasi inversa, chiamato POL, ed uno per la proteina di superficie, chiamato ENV ⁽¹⁰¹⁾. Il genoma di retrovirus che causano rapida trasformazione neoplastica di cellule di vertebrati comprende geni responsabili di tali proprietà oncogene, chiamati oncogeni virali (v-onc). Tali virus, di grande interesse per lo studio dell'oncogenesi, sono rari in natura e non si ritiene siano causa comune di degenerazione neoplastica. Geni del tutto simili ai v-onc sono stati identificati nel genoma di varie speci animali e sono stati chiamati oncogeni cellulari (c-onc). Talvolta alcuni genomi virali posseggono sequenze di DNA di derivazione cellulare equivalenti a c-onc, le quali codificano informazioni che rendono il retrovirus oncogeno.

La possibilità dei retrovirus di infettare cellule dipende dall'integrazione tra superficie cellulare e rivestimento virale. Penetrati nel nucleo, essi vengono trascritti come provirus DNA dalla trascrittasi inversa ed in tal modo integrati nel DNA cellulare, senza che la cellula infetta sia sempre in grado di esprimerlo ⁽¹⁰²⁾. La tecnica di Southern permette di dimostrare la loro presenza nel nucleo, purché si abbiano a disposizione

⁽⁹⁹⁾ KAWAKAMI T. G., SUN L., MCDOWELL T. S.: *Distribution and transmission of primate type C-virus*. In: Bentvelzen P., Hilgers J., Yohn D. S. (eds.): *Advances in comparative leukemia reserch*, Amsterdam, Elsevier/North Holland 1978, pp. 33-46.

⁽¹⁰⁰⁾ KETTMANN R., MARBAIX G., BURNY A. et al.: *Genomic integration of bovine leukemia provirus*. In: Essex M., Todaro G., Zur Hausen H. (eds.): *Viruses in naturally occurring cancers*. Cold Spring Harbor, New York 1980, pp. 927-942.

⁽¹⁰¹⁾ DUESBERG P. H., WANG L. H., MELLON P. et al.: *The genetic map of Rous sarcoma virus*. In: Schultz J., Broda Z. (eds.): *Genetic manipulation as it affects the cancer problem*. New York, Academic Press, 1977, pp. 161-170.

⁽¹⁰²⁾ BALTIMORE D.: RNA-dependent DNA-polymerase in virions of RNA tumor viruses. *Nature* 1970; 226: 1209-1211.

campioni coltivati marcati con traccianti radioattivi in grado di ibridarsi e pertanto evidenziare analoghe strutture nel genoma in questione.

La possibile esistenza in cellule leucemiche umane del provirus sta alla base della scoperta dell'«human-T-leukemia-virus» (HTLV) da parte del gruppo di Gallo. Con il riconoscimento della trascrittasi inversa nel 1970, questi ricercatori iniziarono a sviluppare dei particolari approcci biologici allo scopo di evidenziare retrovirus a bassa espressività. Il più importante di questi tentativi fu la coltivazione prolungata di cellule tumorali, resa necessaria dall'ipotesi che non necessariamente nelle leucemie supposte virali avvenisse costantemente replicazione virale.

Nel 1976 la scoperta dei «T cell growth factor» rese possibile la coltivazione prolungata dei linfociti T leucemici sulla cui superficie fosse presente il recettore per il fattore di crescita, o di linfociti normali nei quali fosse stata indotta l'espressione del recettore per mezzo di mitogeni⁽¹⁰³⁾. Proprio da linee cellulari di linfociti umani leucemici coltivati a lungo vennero isolati per la prima volta dei retrovirus di tipo C, chiamati HTLV⁽¹⁰⁴⁾. Il primo fu identificato in due pazienti portatori di linfoma cutaneo leucemico aggressivo, in cellule linfoidali e di sangue periferico. Con la microscopia elettronica furono individuate sulla membrana cellulare particelle tipiche del retrovirus, delle quali è stato poi possibile dimostrare in mezzo di cultura attività di trascrittasi inversa. La caratterizzazione del virus avvenne per mezzo dell'ibridizzazione del DNA cellulare e della differenziazione immunologica della trascrittasi inversa virale da quella del nucleo della cellula ospite⁽¹⁰⁵⁾. Fu inoltre possibile escludere la presenza di sequenze di HTLV nel DNA di soggetti sani, dimostrando in tal modo che esso era esogeno.

Fu visto che il virus conteneva trascrittasi inversa, antigeni proteici ed RNA ad alto peso molecolare. La proteina maggiore, chiamata p 24, fu purificata fino all'omogeneità e di essa fu stabilita la sequenza aminoacidica. Furono prodotti anticorpi monoclonali ed allestiti sistemi RIA per il dosaggio dei costituenti e fu provato che il virus era unico, dimostrabile ripetutamente in pazienti positivi, non proveniente da contamina-

⁽¹⁰³⁾ MORGAN D. A., RUSCETTI F. W., GALLO R. C.: *Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal bone marrow*. Science 1976; 193: 1007-1008.

⁽¹⁰⁴⁾ POIESZ B. J., RUSCETTI F. W., GAZDAR A. F. et al.: *Detection and isolation of type C retrovirus particles from cultured and fresh lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma*. Proc. Natl. Aca. Sci. USA 1980; 77: 7415-7419.

⁽¹⁰⁵⁾ KALYAN ARAMAN V. S., SARNGADHARAN M. G., POIESZ B. J. et al.: *Immunological properties of a type C retrovirus isolated from cultured human T lymphoma cells and comparison to other mammalian retroviruses*. J. Virol. 1981; 48: 906-913.

zioni (fig. 12). Esso risulta diffuso in modo endemico tra la popolazione delle isole dei Caraibi e del Giappone meridionale, nelle quali causa una varietà di linfoma aggressivo con frequente coinvolgimento della cute, scheletro, midollo, linfonodi periferici; non è tipica la localizzazione mediastinica, mentre non è rara la partecipazione ilare. Attualmente sono noti più tipi di HTLV, isolati sia da cellule leucemiche T, da parenti apparentemente sani, da altre neoplasie e da pazienti con AIDS.

Quindi gli HTLV devono essere visti come una famiglia di retrovirus, il cui ceppo più comunemente isolato appartiene allo stesso sottogruppo per primo isolato dal gruppo di Gallo, chiamato HTLV I° e distinto ulteriormente dalle iniziali del paziente in cui fu dimostrato. Dei virus di questo tipo sono state confrontate la cross-reattività immunologica dei costituenti proteici e l' analogia delle sequenze con l'ibridazione molecolare ed i punti di clivaggio provocati da alcune endonucleasi ristrette. Un secondo sottogruppo è designato come HTLV II° ⁽¹⁰⁶⁾ ed è analogo al primo per meno del 10%.

Tutti i ceppi di HTLV isolati hanno in comune almeno quattro caratteristiche: derivano da linfociti maturi, sono in grado di infettare cellule T mature, posseggono una trascrittasi inversa con simili caratteristiche biochimiche e proteine del core che reagiscono in maniera crociata. Una loro peculiarità è quella di immortalare, infettandole, cellule T derivate da sangue di cordone ombelicale ⁽¹⁰⁷⁾ e dal midollo. Questo si può ottenere in laboratorio per mezzo della co-coltivazione con cellule infettate, inattivando queste ultime con irradiazione o mitomicina C. Gli elementi infettati in questo modo assumono aspetto simile a quello delle cellule leucemiche e potenziale di crescita indefinito, diversamente dai linfociti normali stimolati con mitogeni, nei quali compaiono crisi di crescita dopo un mese di cultura, anche in presenza di fattore di crescita. Essi posseggono maggior densità di recettori per il TCGF, e di conseguenza diminuito fabbisogno, e sono in grado di produrre linfocine.

Con l'eccezione della sindrome linfoproliferativa legata al cromosoma X e di altri rarissimi casi, non c'è convincente dimostrazione che il virus di Epstein-Barr induca linfomi. Questo virus erpetico linfotropo, isolato originariamente da cellule di linfoma di Burkitt africano colti-

⁽¹⁰⁶⁾ KALYAN ARAMAN V. S., SARNGAHARAN M. G., ROBERT-GUROFF M. et al.: *A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II°) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia*. Science 1982; 218: 571-73.

⁽¹⁰⁷⁾ POPOVICH H., SARIN P. S., ROBERT-GUROFF M. et al.: *Isolation and transmission of human retrovirus (human T-cell leukemia virus)*. Science 1983; 219: 856-859.

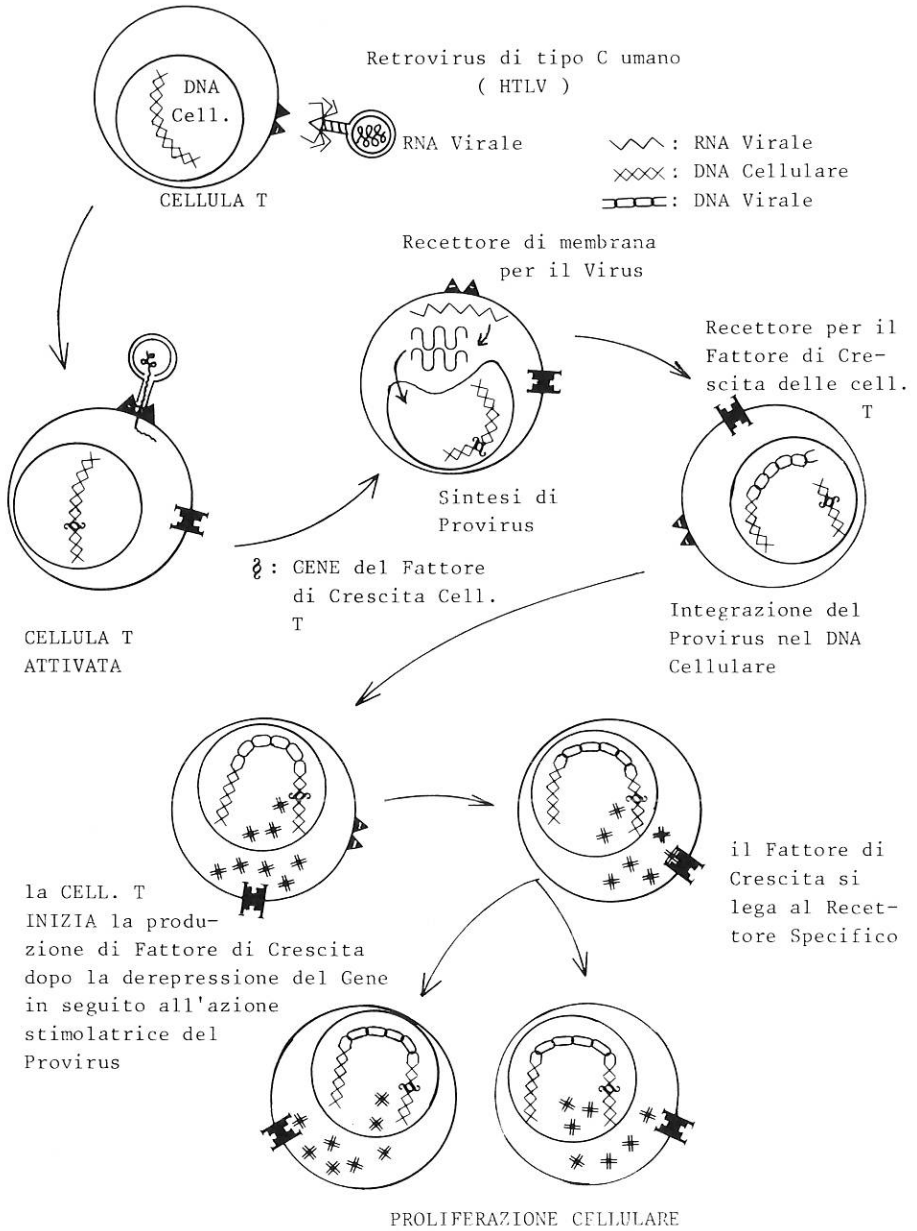


Fig. 12 - Trasformazione neoplastica del linfocita T da parte dell'HTLV-I.

vate (¹⁰⁸), infetta i B-linfociti, sulla cui superficie si trova il recettore specifico, provocando l'attivazione policlonale ed, in vitro, l'immortalizzazione di una certa percentuale di elementi. Dopo l'infezione, entro le cellule sono espressi una serie di antigeni determinati dal virus stesso, i più importanti dei quali sono:

a) antigene della capsula (VCA). Anticorpi anti-VCA sono presenti nella gran maggioranza degli adulti, ma sono significativamente elevati nei pazienti con linfoma di Burkitt o con carcinoma nasofaringeo, un tumore diffuso nella Cina meridionale;

b) antigene di membrana (MA). È espresso da cellule tumorali fresche o in linee linfoblastoidi infettate;

c) antigene precoce (EA). È espresso nel citoplasma di cellule infettate. I relativi anticorpi si trovano in corso di mononucleosi infettiva e nel Burkitt in fase di attività;

d) antigene nucleare del virus di Epstein-Barr (EBNA). Rinvenuto in biopsie di linfoma di Burkitt, in cellule di linee linfoblastoidi, l'EBNA è una proteina che si lega al DNA, la cui espressione è in relazione alla presenza del DNA virale. Gli anticorpi si rinvencono tardivamente nel corso della mononucleosi, quando presumibilmente non c'è più replicazione virale. L'espressione dell'EBNA è seguita da sintesi di DNA e divisione cellulare, la quale è associata con la sintesi e secrezione di Ig da parte della cellula infettata (¹⁰⁹);

e) antigene di membrana riconosciuto da linfociti T specifici (LYDMA).

Il virus di Epstein-Barr affascina il ricercatore come il medico pratico per la sua eccezionale capacità di provocare sia un'affezione benigna, quale la mononucleosi infettiva, o di essere implicato nella patogenesi di tumori maligni, quali il linfoma di Burkitt ed il carcinoma nasofaringeo. Come altri tipi di virus erpetici, ha la capacità di rimanere nell'organismo allo stato latente. Infatti soggetti sieropositivi continuano ad ospitarlo per tutta la vita; in effetti dalla maggior parte di essi possono essere isolate linee linfoblastoidi contenenti il virus (¹¹⁰). In caso di insufficiente sorve-

(¹⁰⁸) EPSTEIN H. A., HENLE G., ACHON B. G. et al.: *Morphological and biological studies on a virus in cultured lymphoblast from Burkitt's lymphoma*. J. Exp. Med. 1965; 121: 761-770.

(¹⁰⁹) SCHNIPPEL L. E.: *The Epstein-Barr virus and human lymphoproliferative disorders*. Sem. Hematol. 1979; 16: 309-343.

(¹¹⁰) HENLE G., HENLE W.: *Immunofluorescence, interference and complement fixation in the detection of the herpes-type virus in Burkitt tumor cells lines*. Cancer Res. 1967; 27: 2442-2446.

gianza immunologica da parte dei linfociti T, esso può riattivarsi; tale condizione può configurarsi in corso di immunodepressione farmacologica ⁽¹¹¹⁾ o in rapporto a particolari condizioni, quali malattie linfoproliferative.

L'incremento del titolo anticorpale osservato nel morbo di Hodgkin va considerato più come epifenomeno correlato alla depressione T che come aspetto eziologico, in quanto non tutti gli anticorpi aumentano ed, anzi, l'anti-VCA resta immutato, per lo meno nella varietà istologica «predominanza linfocitaria».

È comunque noto che le immunodeficienze generiche o specifiche per l'EBV possono dare luogo ad infezione primaria fatale. In tali condizioni sono stati osservati sia mononucleosi acute fatali che malattie linfoproliferative croniche che ipogammaglobulinemia secondaria; è caratteristica la proliferazione B policlonale di linfociti che contengono l'EBNA e frequentemente infiltrano vari organi.

Riguardo al linfoma di Burkitt, è noto che pazienti affetti dalla forma Africana mostrano significativo aumento dei titoli anticorpali verso determinanti antigenici del virus, che le cellule tumorali contengono molte copie di DNA virale ed esprimono l'EBNA in oltre il 90% dei casi ⁽¹¹²⁾, ma è altrettanto certo che non sempre l'infezione sfocia in linfoma. Si ritiene che cause favorenti siano la malaria ⁽¹¹³⁾ e l'immunodepressione cui essa si accompagna, e l'età infantile durante la quale viene contratta l'infezione virale. I linfoblasti del Burkitt sono monoclonali, come è dimostrato dalla sintesi e secrezione di immunoglobuline monoclonali e dallo studio degli isoenzimi della glucosio-6-fosfato-deidrogenasi ⁽¹¹⁴⁾.

Recentemente le conoscenze circa i rapporti tra virus di Epstein-Barr e proliferazione linfocitaria si sono notevolmente espanse con i risultati delle metodiche immunologiche e con l'identificazione di immunodeficienza selettiva per il virus. L'alta incidenza di linfomi in corso di atassia-teleangiectasia sembra in realtà dovuta al virus, il cui ruolo oncogeno sarebbe

⁽¹¹¹⁾ STRAUCH B., ANDREWS L., SIEGAL N. et al.: *Oropharyngeal excretion of Epstein-Barr virus by renal transplant recipients and in other patients with immunosuppressive drugs*. Lancet 1974; 1: 234-237.

⁽¹¹²⁾ LINDHAL T., KLEIN G., REEDMAN B. M. et al.: *Relationship between Epstein-Barr virus (EBV) DNA and the EBV determined nuclear antigen (EBNA) in Burkitt's lymphoma biopsies and other lymph proliferative malignancies*. Int. J. Cancer 1974; 13: 764-772.

⁽¹¹³⁾ WEDDERBURN N.: *Effect of concurrent malaria infection on development of virus-induced lymphoma in Balb-c mice*. Lancet 1970; 2: 1114-1116.

⁽¹¹⁴⁾ FIALKOW P. J., KLEIN G., GIBLETT R. E. et al.: *Clonal origin for individual Burkitt's tumors*. Lancet 1970; 1: 384-386.

facilitato sia dal difetto T sia da quello che coinvolge i meccanismi del DNA-repair (¹¹⁵, ¹¹⁶). Questi pazienti presentano netta predisposizione al riarrangiamento del cromosoma 14 che si rompe in un punto ben preciso, e sierologia positiva per il virus. Ma la risposta immune si caratterizza solo per gli alti titoli di anti-VCA ed anti-EA e denota invece difettosa sintesi di anticorpi anti-EBNA, come spesso si osserva nelle immunodeficienze selettive per l'EBV.

Il rapporto tra virus e linfoma sembra definitivamente stabilito in seguito alle seguenti osservazioni:

a) possibilità di produzione di una linea cellulare con traslocazione (8; 14) dopo avere infettato B linfociti con l'EBV;

b) riscontro di linfoma linfocitico con genoma EBV in corso di atassia-teleangiectasia e di un linfoma istiocitico monoclonale con genoma virale in corso di infezione primaria da EBV in un trapiantato di cuore in trattamento con ciclosporina e cortisone e con prolungata inversione del rapporto helper/suppressor (¹¹⁷).

Patologia linfoproliferativa, oltre che in condizioni di immunodeficienza generalizzata, è stata certamente descritta in un certo numero di casi con difetto immunologico selettivo per l'EBV. Purtilo e coll. (¹¹⁸) hanno riportato alcune famiglie con casi di infezione da EBV che inevitabilmente sfociava in malattia linfoproliferativa sulla base di una caratteristica ereditaria recessiva legata al cromosoma X (X-linked recessive syndrom, XLP). Circa il 40% dei maschi affetti sviluppa mononucleosi a decorso fulminante, il 40% linfoma maligno ed il 20% disgammaglobulinemia che può accompagnarsi ad infezione cronica da EBV. La mononucleosi in questi casi è caratterizzata da deplezione di linfociti T sia in periferia che nei linfonodi e nella milza, plasmocitosi midollare, infiltrazione linfoplasmacellulare di molti organi, compreso il cervello. I linfomi

(¹¹⁵) DALLA FAVERA R., BERGHI M., ERIKSON J. et al.: *Human c-myc onc-gene is located on the region of chromosome 8 that is translocated in Burkitt's lymphoma cells.* Proc. Natl. Aca. Sci. USA 1982; 79: 7824-7827.

(¹¹⁶) TAYLOR A. M. R., METCALF J. A., OXFORD J. H.: *Is chromatid damage in ataxia-teleangiectasia after irradiation at G₂ a consequence of defective repair?* Nature 1976; 260: 441-443.

(¹¹⁷) DUMMER J. S., BOUND L. M., SINGH G. et al.: *Epstein-Barr virus-induced lymphoma in a cardiac transplant recipient.* Am. J. Med. 1984; 77: 179-184.

(¹¹⁸) PURTILO D. T., PAQUIN L., DE FLORIO D. et al.: *Immunodiagnosis and immunopathogenesis of the X-linked recessive lymphoproliferative syndrome.* Sem. Hematol. 1979; 16: 309-343.

possono essere di tipo Burkitt o di tipo sarcoma immunoblastico⁽¹¹⁹⁾, caratterizzato da proliferazione policlonale di immunoblasti e da differenziazione in plasmacellule. Alcuni maschi dopo mononucleosi infettiva possono sviluppare ipogammaglobulinemia acquisita (fenotipo aproliferativo della XLP)⁽¹²⁰⁾ con meccanismo immunopatogenetico non chiaro. Poiché i T linfociti normalmente nella fase acuta della malattia bloccano la sintesi delle immunoglobuline mentre nella fase di convalescenza la facilitano, è stato ipotizzato che nella XLP l'ipogammaglobulinemia dipenda dalla incapacità della popolazione T di ristabilire la normale omeostasi tra T helper e T suppressor.

Tutti i soggetti sieropositivi continuano ad albergare un certo numero di cellule contenenti l'EBV. La terapia immunosoppressiva ed in particolare la ciclosporina, diminuiscono il controllo immunologico sul virus, tanto che oltre il 90% dei portatori di trapianto renale lo secernono con la saliva e una certa percentuale mostra elevazione del titolo anti-VCA⁽¹²⁰⁾. In un caso è stata diagnosticata malattia linfoproliferativa nel rene trapiantato e nel fegato; sorprendentemente dopo nefrectomia e sospensione della terapia immunodepressiva la malattia regredì.

A rigor di termini queste condizioni linfoproliferative non dovrebbero essere chiamate «linfoma», sia perché sono policlonali, sia perché non mostrano il tipico aspetto istologico. Per la loro peculiarità e la riattivazione sierologica verso antigeni dell'EBV è logico supporre il ruolo eziologico del virus, favorito dalla depressione immunitaria. Come già accennato, tali proliferazioni possono essere controllate dalla riduzione o sospensione dei farmaci immunodepressori, mentre la chemioterapia antitumorale peggiora la situazione.

In accordo con quanto stabilito da Klein⁽¹²¹⁾, nella eziopatogenesi dei linfomi da EBV si ipotizzano tre stadi. Nel primo si verifica l'attivazione ed immortalizzazione dei linfociti B da parte del virus nel corso dell'infezione primaria. Nella maggioranza degli individui il processo termina a questo punto e le cellule residue infettate rimangono in stato di latenza sotto il controllo del sistema immunitario. Nel secondo stadio la pro-

(119) PROVISOR A. J., IACUONE J. J., CHLCOTE R. R. et al.: *Acquired agammaglobulinemia after a life-threatening illness with clinical and laboratory features of infectious mononucleosis in three related male children*. N. Engl. J. Med. 1975; 293: 62-65.

(120) NAGINGTON J., GRAY J.: *Cyclosporin A immunosuppression, Epstein-Barr virus antibody, and lymphoma*. Lancet 1980; 1: 536-537.

(121) KLEIN G.: *The Epstein-Barr virus and neoplasia*. N. Engl. J. Med. 1975; 293: 1353-1357.

liferazione policlonale progredisce, o per difetto del sistema immunitario, o per la terapia immunodepressiva, o per combinazione dell'infezione virale con quella malarica e con fattori genetici presenti nell'area di endemia. Tali proliferazioni policlonali, come generalmente sottolineato, possono essere causa di grave malattia sul piano clinico, ma non per questo appartengono alle vere e proprie affezioni maligne. In questa fase, tuttavia, poiché si verifica rapida ed incontrollata proliferazione linfocitaria indotta dall'EBV, aumenta considerevolmente il rischio di alterazioni cromosomiche e dell'intervento di oncogeni responsabili a loro volta della degenerazione maligna. Nel terzo stadio il riarrangiamento cellulare, anche se di per sé non è stato sufficiente a creare una vera e propria popolazione neoplastica, conferisce alle cellule infettate vantaggio non solo sulla crescita ma anche sulla resistenza ai segnali che regolano sviluppo e differenziazione dei cloni.

In accordo con questo punto di vista, quindi, l'EBV non sembra direttamente oncogeno, ma procurerebbe l'ambiente adatto al verificarsi di alterazioni cromosomiche a caso, alcune responsabili di degenerazione neoplastica. Con questa ipotesi si concilia la rarità dei linfomi di Burkitt «sporadici» EBV-negativi, nei quali l'evento mutageno è avvenuto attraverso meccanismi sconosciuti, con il risultato di un identico tumore, sul piano clinico e morfologico.

STADIAZIONE

Con questo termine si intendono gli accertamenti diagnostici fisici, radiologici, isotopici e biotici rivolti ad accertare la diffusione della malattia. Ciascuno di questi procedimenti è finalizzato e necessario per l'opportuna scelta terapeutica. Non si ritiene di trattare per esteso le possibilità ed i limiti delle indagini in questione, ma si enunciano direttamente gli «stadi» nei quali i linfomi possono essere suddivisi, secondo il classico schema di Ann Arbor (122, tab. V), opportunamente modificato poi da Musshoff e Schmidt-Vallner (123, tab. VI).

(122) CARBONE P. P., KAPLAN H. S., MUSSHOF K. et al.: *Report of the committee on Hodgkin's disease staging classification*. Cancer 1971; 31: 1860-1861.

(123) MUSSHOF K., SCHMIDT-VALLNER H., LENNERT K. et al.: *Preliminary clinical findings on the Kiel classification of malignant lymphomas*. Z. Krebsforsch. 1976; 87: 229-238.

Tab. V - PROPOSTA DI SUDDIVISIONE IN STADI
DEI LINFOMI NON-HODGKIN
(schema di Ann Arbor modificato secondo Musshoff e coll.)

<i>Interessamento primitivo linfonodale</i>		<i>Localizzazione primitiva extralinfonodale</i>
<i>stadio</i>		
Interessamento di una regione linfonodale	I	Interessamento limitato di un organo
Interessamento di due regioni linfonodali contigue, al di sopra o al di sotto del diaframma (II ₁), o di una regione linfonodale con sconfinamento localizzato in organo o tessuto adiacente (II _{1E})	II ₁	Interessamento di un organo extralinfatico compresi i linfonodi regionali, o di un altro organo extralinfatico vicino, al di sopra o al di sotto del diaframma (II _{1E})
Interessamento di due o più di due regioni linfonodali non contigue al di sopra o al di sotto del diaframma (II ₂), compresa una limitata localizzazione in un organo o tessuto extralinfatico (II _{2E})	II ₂	Interessamento di un organo extralinfatico e di linfonodi al di là dei regionali, compreso il limitato interessamento di un secondo organo (II _{2E})
Interessamento di regioni linfonodali al di sopra e al di sotto del diaframma, (III), compresa la limitata localizzazione in un organo o tessuto extralinfatico (III _E), della milza (III _S) o di entrambi	III	Interessamento di un organo extralinfatico e di linfonodi al di sopra e al di sotto del diaframma, compresa la limitata localizzazione in un secondo organo extralinfatico (III _E) e della milza (III _S) o di entrambi
Localizzazione linfonodale con interessamento diffuso o disseminato di organi o tessuti extralinfatici	IV	Interessamento diffuso o disseminato di organi extralinfatici, con o senza localizzazione linfonodale

Tab. VI - STADIAZIONE DEI LINFOMI NON-HODGKIN DELL'INFANZIA

Stadio I	- Singolo tumore extralinfonodale o singola area anatomica linfonodale, esclusi mediastino ed addome.
----------	---

Stadio II	- Singolo tumore extralinfonodale con interessamento linfonodale regionale; due o più siti linfonodali dallo stesso lato del diaframma; due tumori extralinfonodali con o senza interessamento linfonodale regionale, dallo stesso lato del diaframma; tumore primitivo gastrointestinale resecabile, di solito nella zona ileocecale, con o senza interessamento dei soli linfonodi mesenterici.
-----------	---

Stadio III	- Due tumori extralinfonodali da entrambi i lati del diaframma; due o più aree linfonodali sopra e sotto il diaframma; ogni localizzazione intratoracica primitiva, ogni localizzazione addominale primitiva, estesa e non resecabile; ogni localizzazione paraspinale o epidurale, indipendentemente da lesioni in altre sedi.
------------	---

Stadio IV	- Ognuna delle localizzazioni sopra citate con coinvolgimento iniziale del sistema nervoso centrale, del midollo osseo o entrambi.
-----------	--

PROGNOSI

Se i risultati della stadiazione rappresentano elementi essenziali per il comportamento terapeutico e per la sopravvivenza, negli ultimi anni si è attribuito valore prognostico sempre più importante alla varietà istologica, definita secondo le recenti classificazioni.

Ai riguardo, ripetute osservazioni del gruppo di studio dei linfomi di Kiel (¹²⁴, ¹²⁵) e di altri (¹²⁶) hanno indicato come la suddivisione istologica in due gruppi principali secondo lo schema di Lennert, cosiddetti a bassa ed alta malignità, abbia implicazioni prognostiche (tab. 1b). Nello studio più recente di Brittinger e coll. (¹²⁵) del quale in questa

(¹²⁴) BRITTINGER G., BARTLES H., BREMER H. et al.: *Klinik der malignen non-Hodgkin Lymphome entsprechend der Kiel-Klassifikation: zentrozytisches Lymphom, immunoblastisches Lymphom*. In: Löffler H. (ed.): *Maligne Lymphome und monoklonale Gammopathien*. Hämatologie und Bluttransfusion, 1976, vol. 18, München, Lehmann, pp. 211-213.

(¹²⁵) BRITTINGER G., SCHMALHORST U., BARTLES H. et al.: *Principles and present status of a prospective multicenter study on the clinical relevance of the Kiel classification*. Blut 1981; 43: 155-166.

parte si riferisce ampiamente, durante i due primi anni di follow-up i linfomi a basso grado di malignità, cioè la leucemia linfatica cronica, i linfoplasmacitici-immunocitici, centroblastico-centrocitici e centrocitici si dimostrarono gruppo piuttosto uniforme, in quanto la curva di sopravvivenza mostrava lieve declino senza tendenza al plateau. Dopo questo periodo, peraltro, diveniva evidente una migliore prognosi del linfoma centroblastico-centrocitico e della leucemia linfatica cronica di tipo B rispetto alla varietà linfoplasmacitico-immunocitica e alla centrocitica, in quanto le curve di sopravvivenza mostravano netta differenziazione.

Nello stesso studio è anche apparso come esista una «life expectancy» costantemente in diminuzione in pazienti con linfoma non-Hodgkin cosiddetto «favorevole» secondo la classificazione di Rappaport (cioè linfocitico diffuso ben differenziato, linfocitico nodulare scarsamente differenziato, nodulare misto) i quali, per la maggior parte, rappresentano entità a bassa malignità secondo la classificazione di Kiel (¹²⁶). Tali osservazioni si accordano con le precedenti di Dühmke e Quäck (¹²⁷) i quali notarono, inoltre, come dopo dieci anni di osservazione non fossero più evidenti differenze prognostiche tra linfomi a basso ed alto grado di malignità.

Di questi ultimi è caratteristica una diversa curva di sopravvivenza, con declino più ampio durante il primo anno e successiva tendenza al plateau. Le forme comprese tra quelle ad elevata malignità secondo lo schema di Kiel corrispondono alla maggior parte di quelle note come ad istologia «sfavorevole» della classificazione di Rappaport, quali le istiocitiche diffuse, diffuse miste e diffuse indifferenziate. Comunque, il parallelo non è perfetto perché i linfomi con istologia sfavorevole secondo Rappaport comprendono un certo numero di forme ritenute a basso grado di malignità secondo Lennert (¹²⁶, ¹²⁸, ¹²⁹, ¹³⁰); ancora una volta, quindi, emerge

(¹²⁶) KRÜGER G. R. F., GRISAR T., LENNERT G. et al.: *Histopathological correlation of the Kiel with the original Rappaport classification of malignant non-Hodgkin's lymphomas*. Blut 1981; 43: 193-200.

(¹²⁷) DÜHMKE E., QUÄCK J.: *Retrospektive Analyse von malignen non-Hodgkin Lymphomerkrankungen der radiologischen Klinik der Universität Kiel von 1969 bis 1975*. Strahlentherapie 1977; 153: 229-231.

(¹²⁸) MUSSHOF K., LEOPOLD H.: *On the question on the tumoricidal dose in non-Hodgkin's Lymphomas*. In: Mathé G., Seligman M., Tubiana M. (eds.): *Lymphoid neoplasias. II. Clinical and Therapeutic Aspects*, Rec. Res. Cancer, Vol. 65, Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1978, pp. 201-206.

(¹²⁹) STRAUCHER J. A., YOUNG R. C., DE VITA et al.: *Clinical relevance of the histopathological subclassification of diffuse «histiocytic» lymphoma*. N. Engl. J. Med. 1978; 299: 1382-1388.

(¹³⁰) MEUSERS P., BARTELS H., BRITTINGER G. et al.: *Heterogeneity of diffuse «histiocytic» lymphoma according to the Kiel classification*. N. Engl. J. Med. 1979; 301: 384.

il problema della difficile «traducibilità» tra le diverse classificazioni.

Alcune approfondite valutazioni dei criteri prognostici suggeriscono ora come accanto ai linfomi ad istologia sfavorevole o favorevole possa esistere un terzo gruppo di forme a prognosi «intermedia», come accettato nella «working formulation». Ad esempio, anche nello studio di Brittinger in una fase tardiva del periodo di follow-up le curve di sopravvivenza dei pazienti con varietà linfoplasmacitica-immunocitica, centrocitica e centroblastica dimostravano andamento intermedio tra quelle dei centroblastico-centrocitici da un lato e quelle dell'immunoblastico e del linfoblastico dall'altro. Anche tra queste forme esistono peraltro differenze. Infatti l'aspetto delle curve di sopravvivenza dei linfoplasmacitico-immunocitici risultò diverso durante l'intero periodo di osservazione da quelle dei pazienti con tipo centroblastico, in accordo con la classificazione istopatologica che attribuisce loro basso grado di malignità. Esse mostrano declino piuttosto lento ed assenza di plateau, mentre nelle curve di sopravvivenza di pazienti con linfoma centroblastico appariva rapido declino iniziale e successiva tendenza al plateau. Quindi sembra probabile che queste differenze prognostiche, evidenziate dalle curve di sopravvivenza, riflettano meglio le caratteristiche nosologiche intrinseche di tali entità linfomatose rispetto all'attribuzione di un decorso genericamente intermedio.

Va sottolineato come il tipo di terapia adottato, spesso diverso da caso a caso nell'ambito dello stesso linfoma, sia in grado di influenzare radicalmente il decorso e la prognosi. Nello studio di Brittinger pazienti negli stadi III e IV di linfomi ad elevata malignità ricevettero chemioterapia di intensità relativamente bassa che portò a modesta percentuale di remissioni complete e quindi di sopravvivenza oltre i primi due anni dalla diagnosi. Dati recenti ottenuti in pazienti con linfoma non-Hodgkin di tipo istologico «sfavorevole» secondo lo schema di Rappaport (¹³¹, ¹³², ¹³³) e in pazienti con linfoma ad alto grado di malignità secondo la

(¹³¹) MCKELVEY E. M., GOTTLIEB J. A., WILSON H. E. et al.: *Hydroxyldaunomycin (adriamycin) combination chemotherapy in malignant lymphoma*. *Cancer* 1976; 38: 1484-1493.

(¹³²) DE VITA V. T., HUBBARD S. M.: *The curative potential of chemotherapy in the treatment of Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphomas: etiology, immunology, pathology and treatment*. New York-London, Academic Press 1982; pp. 379-418.

(¹³³) NEWCOMER L. N., CODMAN E. C., NERENBERG M. I. et al.: *Randomized study comparing doxorubicin, cyclophosphamide, vincristine, methotrexate with leucovorin rescue and cytarabine (ACOMLA) with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone and blemomycin (CHOP-Bleo) in the treatment of diffuse histiocytic lymphoma*. *Cancer Treat. Rep.* 1982; 66: 1279-1384.

classificazione di Kiel (¹³⁴) hanno dimostrato che la proporzione di casi che avevano ottenuto remissione completa stabile poteva essere significativamente aumentata con polichemioterapia più intensiva comprendente doxorubicina e/o methotrexate ad alte dosi. È quindi possibile aumentare considerevolmente il livello del plateau della curva di sopravvivenza ed incrementare la percentuale dei pazienti con possibilità di guarigione.

Tra i linfomi a bassa malignità la leucemia linfatica cronica di tipo B e la varietà linfoplasmacitica-immunocitica, per molti aspetti simili, si differenziano sia da un punto di vista clinico che prognostico. Mentre virtualmente tutti i pazienti del primo tipo si presentano con malattia generalizzata, una piccola parte dei secondi mostra stadio iniziale localizzato, I, II o III, potenzialmente curabile (¹³⁵). La sua diffusione è diversa da quella della leucemia linfatica cronica in quanto sono meno frequenti il coinvolgimento iniziale del midollo, senza o con cellule neoplastiche in circolo, e del fegato, mentre una maggiore percentuale mostra infiltrazione del tratto gastroenterico e della pelle. È interessante notare che anche in tale forma l'infiltrazione midollare iniziale non è talvolta dimostrabile allo striscio dell'aspirato ma solo nelle sezioni di biopsia. Quindi la tendenza apparentemente minore della forma linfoplasmacitica-immunocitica a sviluppare leucosi può essere in rapporto ad una più scarsa infiltrazione del midollo e a maggiore sessilità delle cellule neoplastiche.

Sebbene sia stato dimostrato che gammopatie monoclonali possono presentarsi in tutte le forme di linfoma non-Hodgkin di tipo B, questa caratteristica risulta più frequente nei linfoplasmacitici-immunocitici e sporadicamente può accompagnarsi ad osteolisi. Chi scrive ha potuto osservare un caso assolutamente eccezionale che nel lungo decorso sviluppò successivamente ben tre diverse paraproteine, IgG, IgA ed IgM, evidentemente a causa dello sviluppo di subcloni linfomatosi (fig. 13); a quanto consta, simili evenienze non sono finora segnalate in letteratura.

Con la rara eccezione di due su centottantadue casi di leucemia linfatica cronica B della casistica di Brittinger e coll. non si trovarono altre paraproteine in tale forma; nella nostra casistica compare un piccolo IgG tra centosessantadue pazienti (fig. 14).

(¹³⁴) PLAUMANN L., HAVERMANN K., DIEHL N. et al.: *Results of a study on the treatment of non-Hodgkin's lymphomas using a combined modality approach*. Ver. dtsch. Krebs. Ges. 1983; 4: 760.

(¹³⁵) HAGBERG H., GLIMELIUS B., SUNDSTROM C.: *Radiation therapy of non-Hodgkin's lymphoma stage I and II*. Acta Radiologica 1982; 21: 145-150.

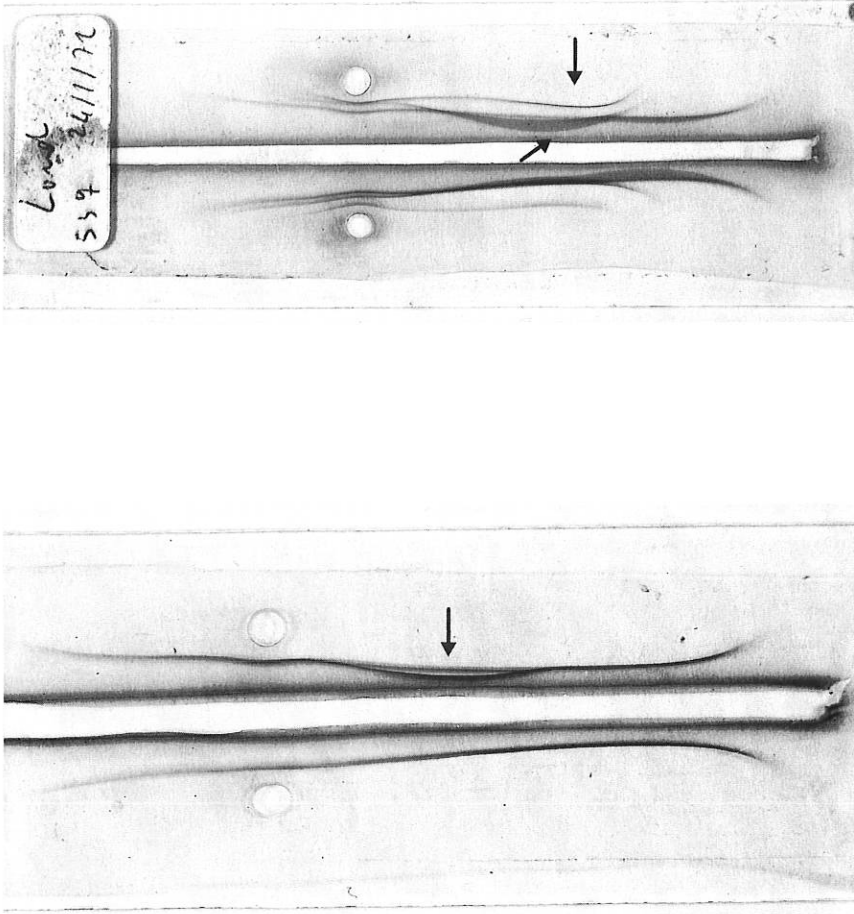


Fig. 13 - Immunolettroforesi del siero di un linfomatoso con tre paraproteine (o «picchi», o «componenti monoclonali» in quanto costituiti da immunoglobuline omogenee prodotte dallo stesso clone plasmacellulare). L'esame consiste di due momenti: a) migrazione delle sieroproteine in campo elettrico su gel con loro separazione in base alla carica elettrica e dimensioni molecolari; b) diffusione di antisiero-antiproteine del siero umano da un solco parallelo alla migrazione elettrica e precipitazione in linee nel punto di incontro tra antigene (sieroproteine umane) ed anticorpo (antisiero-antiproteine del siero umano). Quest'ultimo nel caso dell'esame 1° è del tipo specifico per IgG, IgA, IgM; nell'esame 2°; solo per le IgG. La deformazione ad arco con corto raggio di una linea di precipitazione sta ad indicare componente immunoglobulinica con identica migrazione elettrica, quindi omogenea o monoclonale. L'esame 1° documenta paraproteina IgM (freccia superiore) e paraproteina IgA (freccia inferiore); l'esame II° mostra anche una paraproteina IgG, che nella precedente immagine risultava sovrapposta alla IgA e quindi non visibile.

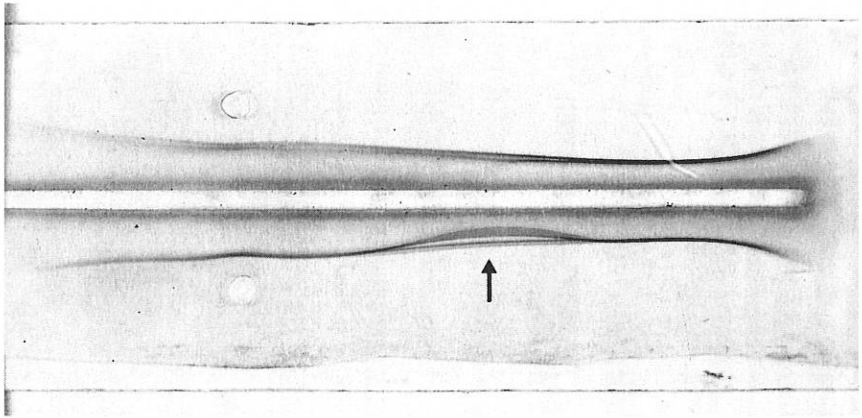


Fig. 14 - Paraproteina IgG di modesta entità in un caso di leucemia linfatica cronica (vedi didascalia della fig. 13).

Tali osservazioni sono in accordo con il concetto che nella maggior parte delle leucemie linfatiche croniche la differenziazione non raggiunge il livello di cellule secernenti immunoglobuline. Poiché i linfociti di tale linfoma sono caratterizzati da IgM ed IgD di superficie e solo molto raramente da IgG, la presenza di paraproteinemia di quest'ultimo tipo nel caso sopra riportato è compatibile più con la diagnosi di forma linfoplasmacitica-immunocitica, eventualmente associata alla leucemia, che con quella di semplice leucemia linfatica cronica di tipo B. Questo linfoma si differenzia dalla leucemia linfatica cronica anche per la maggior frequenza di disturbi autoimmuni, quali anemie emolitiche, e per altre differenze che rendono globalmente il rischio più elevato.

La prognosi peggiore che compete alla varietà linfoplasmacitoide rispetto alla leucemia linfatica cronica pone fondati dubbi sulla correttezza della terapia generalmente adottata, quasi sempre eguale in entrambe le varietà; si suggerisce pertanto un approccio più aggressivo nelle prime forme, considerando soprattutto il fatto che anche le fasi di malattia avanzata possono avere decorso sostanzialmente migliorato dall'induzione della remissione completa o anche parziale.

Il linfoma centrocitico, che non ha un unico correlato nella classificazione di Rappaport, può essere considerato vera e propria entità nosologica per le sue caratteristiche cliniche, oltre che morfologiche. Questo tumore delle cellule del centro germinativo, di malignità intermedia, è caratterizzato da evidente prevalenza del sesso maschile e tendenza alla progressione e generalizzazione precoce. Il rapido ingrossamento linfo-

nodale, che riflette l'attività proliferativa della malattia, e la compromissione iniziale del fegato indicano in realtà alto rischio. Rispetto alla leucemia linfatica cronica B e al linfoma linfoplasmacitico si trovano con minore frequenza linfociti atipici nel sangue periferico, anche quando è infiltrato il midollo; ciò è conseguenza dell'elevata sessilità delle cellule neoplastiche. Nei rari pazienti con malattia strettamente localizzata si può ottenere stabile remissione con la sola radioterapia.

In stadio avanzato le curve di sopravvivenza di questi pazienti calano con pendenza più ripida rispetto a quelle di pazienti con linfomi a basso grado di malignità, così che dopo 5 anni di follow-up la probabilità di sopravvivenza dello stadio IV è inferiore al 10%. È possibile che tali risultati siano in rapporto, almeno in parte, al fatto che un'alta proporzione di essi hanno avuto trattamento non aggressivo; oggi un simile approccio appare ingiustificato, visto che l'acquisizione di remissione sia completa che parziale migliora la prognosi anche in fase avanzata. Per quanto riguarda le possibili differenze tra sottotipi a piccole e grandi cellule non sembra esservi necessità di diversi approcci terapeutici, essendo la sopravvivenza fondamentalmente simile.

L'eterogeneità dei linfomi a cellule del centro germinativo è dimostrata dal fatto che il centrocitico differisce dal centroblastico-centrocitico sia per aspetti clinici che per la prognosi. L'età media di incidenza di quest'ultimo è più bassa rispetto ad altri linfomi e c'è una chiara prevalenza del sesso femminile. La tendenza a progredire e diffondersi al di fuori del sistema linfatico è minore rispetto al centrocitico, così che al momento della diagnosi un'alta proporzione è ancora negli stadi I, II o III. Esso può rimanere apparentemente limitato al sistema linfatico anche dopo avere superato la barriera diaframmatica.

I risultati ottenuti nei casi in stadio I/IE di linfoma centroblastico-centrocitico dimostrano che buona parte dei pazienti con malattia strettamente localizzata può essere trattata con radioterapia a basso dosaggio soltanto; tuttavia solo il 47% di pazienti con stadio III trattati con irradiazione «total nodal» a bassi dosaggi sono in remissione dopo un follow-up medio di 32 mesi ⁽¹³⁶⁾. Questi dati non si discostano di molto dai risultati a lungo termine ottenuti dal gruppo di Stanford in pazienti

⁽¹³⁶⁾ BRITTINGER G., BARTLES H., COMMON H. et al.: *Clinical and prognostic relevance of the Kiel classification of non-Hodgkin's lymphomas. Results of a prospective multicenter study by the Kiel lymphoma study group.* Hematol. Oncol. 1984; 2: 269-306.

con stadio III di linfomi nodulari dopo irradiazione linfoide totale ad alti dosaggi ⁽¹³⁷⁾.

Dal gruppo di studio del linfoma di Kiel è stata adottata la strategia del «watchful waiting» per pazienti con stadio IV del centroblastico-centrocitico, come proposto recentemente da Rosenberg ⁽¹³⁸⁾ e Portlock ⁽¹³⁹⁾ per i non-Hodgkin avanzati di tipo istologico «favorevole» della classificazione di Rappaport, compresi i linfociti nodulari poco differenziati ed i nodulari misti, che in buona parte corrispondono ai centroblastico-centrocitici. Nella varietà diffusa di tale linfoma questo approccio si mostrò meno utile di quanto atteso e pertanto è raccomandabile una strategia più attiva, in quanto è ragionevolmente prevedibile beneficio prognostico sia dalla remissione parziale che completa.

Sia i linfomi centroblastici che immunoblastici sono caratterizzati da rapida progressione, come è tipico delle forme ad elevata malignità. Il quadro delle manifestazioni iniziali di queste entità è simile ma non identico. Mentre infatti nell'immunoblastico è più probabile il coinvolgimento del fegato, midollo e sangue periferico, l'infiltrazione del sistema nervoso centrale è un po' più frequente nel centroblastico. Però, diversamente dalla maggior parte dei linfomi non-Hodgkin a bassa malignità, il 34-38% degli immunoblastici e centroblastici sono diagnosticati come malattia loco-regionale (stadi I e II), situata in un'alta proporzione di casi in zone extralinfatiche. In tali situazioni la sopravvivenza è sostanzialmente simile, ma l'immunoblastico appare comunque neoplasia più aggressiva. Infatti mentre circa l'80% dei pazienti con stadio I/IE del centroblastico raggiunge completa e stabile remissione dopo sola irradiazione a campo esteso ad alto dosaggio, i casi corrispondenti di immunoblastico sembrano sottotrattati se non si aggiunge la chemioterapia. Nello stadio II₁ e II₂ del centroblastico ed immunoblastico la sola radioterapia non risulta in prolungato controllo della malattia; in tali situazioni la sopravvivenza del centroblastico è superiore a quella degli immunoblastici e la differenza diviene più netta in caso di estesa diffusione.

⁽¹³⁷⁾ GLATSTEIN E.: *Radiation therapy in the treatment of advanced non-Hodgkin's lymphomas*. In: Rosenberg S. A., Kaplan H. S. (eds.): *Malignant lymphomas: etiology, immunology, pathology, treatment*. Academic Press, 1982, New-York-London, pp. 503-512.

⁽¹³⁸⁾ ROSENBERG S. A.: *Non-Hodgkin's lymphoma. - Selection of treatment on the basis of histologic type*. N. Engl. J. Med. 1979; 301: 924-928.

⁽¹³⁹⁾ PORTLOCK C. S.: «Bad risk» non-Hodgkin's lymphomas: approaches to management. *Semin. Hematol.* 1983; 20: 25-34.

Osservazioni fatte da alcuni gruppi (¹⁴⁰, ¹⁴¹, ¹⁴², ¹⁴³, ¹⁴⁴, ¹⁴⁵) suggeriscono che la distinzione dello stadio II in II₁ e II₂ è prognosticamente rilevante (tab. 5) in quanto pazienti con stadio più localizzato possono essere curabili con la sola radioterapia, mentre quelli con stadio più esteso sono esposti a rischio di generalizzazione precoce, per cui è richiesta polichemioterapia addizionale. Anche se la sopravvivenza di pazienti con stadio II₁, sia del linfoma centroblastico che immunoblastico, è un po' maggiore rispetto a quella dello stadio II₂, i risultati del gruppo di Kiel non dimostrano peraltro chiara superiorità prognostica del primo rispetto al secondo.

In accordo con i risultati ottenuti in pazienti con linfoma non-Hodgkin ad istologia sfavorevole della classificazione di Rappaport (¹⁴⁶), la sopravvivenza di pazienti con ogni stadio di centroblastico ed immunoblastico può essere sostanzialmente migliorata solo se si è ottenuta remissione completa, mentre l'induzione di remissione parziale non ha implicazioni prognostiche apprezzabili. Questo aspetto differenzia chiaramente i linfomi ad alto grado di malignità dalla maggior parte di quelli a basso grado, i quali traggono beneficio sia dalle remissioni complete che parziali. Va notato che nel 30% dei centroblastico-centrocitici nel corso della malattia si assiste al prevalere di un clone indifferenziato, cioè al viraggio istologico in varietà centroblastica, definita «secondaria», gravata da prognosi estremamente sfavorevole (¹⁴⁷).

Come nei linfomi centroblastici ed immunoblastici, la maggioranza dei pazienti con forme linfoblastiche presenta rapido aumento di volume

(¹⁴⁰) BITRAN J. D., KINZIE J., SWEET D. L. et al.: *Survival of patients with localized histiocytic lymphoma*. Cancer 1977; 39: 342-346.

(¹⁴¹) BLACKLEDGE G., BUSH H., DODGE O. G. et al.: *A study of gastrointestinal lymphoma*. Clin. Oncol. 1979; 5: 209-219.

(¹⁴²) HERRMAN G., PANAHON A. M., BARCOS M. P.: *Gastrointestinal involvement in the non-Hodgkin's lymphoma*. Cancer 1980; 46: 215-222.

(¹⁴³) DÜHMKE E., SCHWARZE E. W.: *Therapie der malignen Lymphome des Oropharynx*. H. N. O. 1981; 29: 302-307.

(¹⁴⁴) MUSSHOF K., STOTZINGER W., SCHMIDT-VALLNER H. et al.: *Investigation results of comparison made between the Kiel and Rappaport classification of the non-Hodgkin's lymphomas, together with clinical data*. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1981; 100: 167-204.

(¹⁴⁵) WEINGARD D. N., DECOSSE J. J., SHELOCK P. et al.: *Primary gastrointestinal lymphoma. A 30 year review*. Cancer 1982; 49: 1258-1265.

(¹⁴⁶) WINTROBE M. M., LEE G. R., BOGGS D. R., et al.: *Lymphomas others than Hodgkin's disease*. In: Clinical Hematology, 8th ed., Philadelphia, Lea and Febiger 1981, pp. 1681-1725.

(¹⁴⁷) MEAD G. M., KUSHLAN P., O'NEIL M. et al.: *Clinical aspects of non-Hodgkin's lymphomas presenting with discordant histologic subtypes*. Cancer 1983; 52: 1496-1501.

dei linfonodi, espressione di alta attività proliferativa; questo parametro si è dimostrato di significato sfavorevole soprattutto in quest'ultima varietà. Essa si presenta per lo più come forma diffusa, spesso con interessamento mediastinico; tranne nei rari casi localizzati, che possono raggiungere remissione completa prolungata con irradiazione a campo esteso, la sopravvivenza dei pazienti con linfoma linfoblastico in ogni stadio è per lo più ridotta, spesso per il fatto che le misure terapeutiche adottate non sono sufficientemente intensive. Poiché alla remissione completa corrispondono curve di sopravvivenza con andamento a plateau, si può anticipare che l'applicazione di protocolli di chemioterapia sufficientemente attivi migliorerà considerevolmente la prognosi di queste neoplasie. L'attesa appare giustificata dai recenti progressi del trattamento dei linfomi non-Hodgkin e delle leucemie linfoblastiche infantili, inclusa la variante B, e delle leucemie linfatiche acute dell'adulto di tipo non-B ottenuti con l'applicazione di regimi chemioterapici multifasici ad elevati dosaggi (¹⁴⁸, ¹⁴⁹, ¹⁵⁰).

TERAPIA

Pochi campi della Medicina sono tanto controversi e ricchi di affermazioni e convinzioni ambigue come la terapia dei linfomi non-Hodgkin. L'illusoria definizione di alcune forme come «benigne» o «a basso grado di malignità», pur trattandosi di malattie che quasi mai guariscono, e la scarsa traducibilità delle varie categorie istologiche tra uno schema e l'altro contribuiscono a mantenere una certa confusione in materia. È quindi opportuno e augurabile che i prossimi trials si riferiscano unicamente alla working formulation, introdotta per scopi clinici e facilmente applicabile in tutti i centri.

(¹⁴⁸) MÜLEER-WEINRICH S. T., HENZE G., JOBKE G. et al.: *BFM-Studie 1975/81 zur Behandlung der non-Hodgkin Lymphome Hoher Malignitäts bei Kindern und Jugendlichen*. Klin. Pdiätr. 1982; 194: 219-225.

(¹⁴⁹) RIHEM H., HENZE G., LANGERMANN H. J. et al.: *Childhood B-type non-Hodgkin Lymphoma: improved prognosis in two consecutive BFM studies*. In: Spitzky K. H., Karrer K. (eds.), *Proceedings of the 13th International Congress of Chemotherapy*, part 229, Magrath I. T., Pichler E. (eds.), B-cell lymphoma in childhood, Vienna, 1983, pp. 33-38.

(¹⁵⁰) HOELZER D., THIEL E., LÖFFLER H. et al.: *Multizentrische Therapiestudie akuter lymphatischer Leukämie (ALL) und akuter undifferenzierten Leukämie (AUL) des Erwachsenen*. Ver. dtsh. Krebs. Ges. 1983; 723-731.

Gli schemi e modalità terapeutiche consigliate sono da intendere come indicativi, essendo la materia soggetta a continui aggiornamenti. Prima di adottare una strategia è inoltre necessario chiarire se l'effetto prevedibile giustifichi le azioni collaterali negative e se, sulla base del tipo di linfoma, dello stadio, dell'età del paziente e di altri fattori prognostici essa darà sopravvivenza e qualità di vita accettabili.

Al fine di valutare la validità dello schema di polichemioterapia prescelto sono necessari da tre a sei cicli per i linfomi a lenta progressione, mentre in quelli aggressivi sono sufficienti due cicli. Il dosaggio dei singoli citostatici e la durata degli intervalli tra essi sono da scegliere in base all'efficacia terapeutica e alla tossicità riscontrate nei singoli pazienti.

È noto da decenni che le radiazioni ionizzanti sono in grado di fermare e talvolta debellare i linfomi in fase iniziale. La chemioterapia, invece, ha vasta applicazione, sia per lo sviluppo di nuovi farmaci con elevata potenza sia per la messa a punto di numerose associazioni efficaci e ben tollerate. Essa trova uso negli stadi avanzati e talora anche in quelli iniziali, da sola o in associazione con la radioterapia.

La scelta della condotta terapeutica in queste affezioni presuppone l'attenta valutazione delle condizioni generali del malato, l'accurata stadiazione, la conoscenza delle proprietà farmacologiche delle sostanze usate e degli effetti collaterali indesiderati, la razionale previsione dei risultati che si potranno ottenere. Sarà così giustificabile una polichemioterapia aggressiva se si ritiene di raggiungere la remissione completa più o meno stabile, o in forme linfomatose a rapida progressione che sarebbero altrimenti fatali entro breve; in linfomi a lenta evoluzione la terapia sarà più blanda e comunque in rapporto ad alcune particolari manifestazioni, in quanto la polichemioterapia aggressiva non porta sicuri vantaggi e il conseguimento della remissione completa, problematico, è per lo più transitorio.

TERAPIA DEI LINFOMI AD ALTO GRADO DI MALIGNITÀ

In queste forme sono paradossalmente possibili i migliori risultati terapeutici, sia in termini di remissioni complete che di lunghezza del periodo «disease free» e probabilmente di guarigioni. Secondo la classificazione di Kiel comprendono il centroblastico, linfoblastico, immunoblastico, Burkitt ed indifferenziato, che nello schema di Rappaport corrispondono all'istiocitico diffuso e al linfocitico diffuso poco differenziato;

fino al 1981 ad essi competeva la prognosi peggiore con sopravvivenze di soli 9 mesi nel 60% dei casi ⁽¹⁵¹⁾.

Circa la metà dei pazienti con linfoma centroblastico avanzato mostra prognosi intermedia, che si traduce in più favorevole storia naturale ed in migliore risposta terapeutica. In oltre l'80% delle forme istiocitiche diffuse, negli stadi I e II₁ patologici, l'irradiazione a campo esteso è in grado di dare remissioni complete di durata superiore ai 5 anni. La maggior parte dei pazienti con stadio patologico II₁-II₂ di tale varietà istologica con 4 o più gruppi linfonodali colpiti sviluppa recidiva ⁽¹⁵²⁾, e pertanto in tali circostanze, accanto all'irradiazione, è indicata la polichemioterapia. È stato anche osservato che pazienti in stadio patologico I e II durante la radioterapia o entro i sei mesi dalla sua conclusione sviluppano recidive al di fuori del campo di irradiazione nel 10-50% dei casi e che l'ampiamiento dei campi fino all'irradiazione linfonodale totale non impedisce lo sviluppo di recidive nel 30-40% dei casi ⁽¹⁵³⁾, più per la precedente diffusione extralinfatica occulta che per radioresistenza. Mentre la polichemioterapia adiuvante dopo irradiazione «total nodal» non migliora i risultati in quanto si dimostra eccessivamente tossica, la sua associazione all'irradiazione di campi limitati sembra notevolmente vantaggiosa. Con tale sistema si indussero remissioni complete nel 20-100% di pazienti in stadio patologico I e II, come divenne più tardi possibile con lo schema CHOP ⁽¹⁵⁴⁾.

Sulla base dell'osservazione che in corso di remissione indotta dalla polichemioterapia negli stadi II di tutti i linfomi non-Hodgkin ad alta malignità le recidive comparivano prevalentemente nelle regioni più colpite all'inizio, oggi si tende ad invertire l'associazione procedendo all'irradiazione di campi relativamente limitati dopo la polichemioterapia. Con tale procedura può essere migliorato anche il risultato dello stadio I. Con varie associazioni polichemioterapiche contenenti la doxorubicina è divenuta possibile l'induzione di remissione completa anche in pazienti in stadio III e IV e quindi sostanziale allungamento della sopravvivenza.

⁽¹⁵¹⁾ SCHMALHORST U., BARTELS H., BOLL I. et al.: *Clinical and prognostic heterogeneity of non-Hodgkin's lymphomas of high grade malignancy*. Blut 1981; 43: 201-211.

⁽¹⁵²⁾ BITRAN J. D., KINZIE J., SWEET D. L. et al.: *Survival of patients with localized histiocytic lymphomas*. Cancer 1977; 39: 342.

⁽¹⁵³⁾ GLATSTEIN E., DONALDSON S. S., ROSENBERG S. A. et al.: *Combined modality therapy in malignant lymphomas*. Cancer Treat. Rep. 1977; 61: 119.

⁽¹⁵⁴⁾ MILLER T. P., JONES S. E.: *Chemotherapy of localized histiocytic lymphoma*. Lancet 1977; 1: 358.

Per gli stadi patologici I-IE, II₁ e IIE del linfoma centroblastico è indicata la terapia radiante con fine «curativo»; è probabile che la polichemioterapia aggiuntiva ottimizzi i risultati. Negli stadi patologici II, non sottoclassificato, e in quelle I e II con la sola localizzazione sottodiaframmatica e negli stadi clinici I e II è necessaria la combinazione di radio e chemioterapia, procedendo all'irradiazione quando la polichemioterapia abbia portato perlomeno ad una buona remissione parziale e somministrando polichemioterapia nuovamente dopo l'irradiazione.

Negli stadi III e IV l'induzione della remissione richiede polichemioterapia aggressiva, eventualmente con successiva irradiazione delle zone maggiormente colpite. La maggior parte di questi pazienti ottiene remissioni prolungate⁽¹⁵⁵⁾. Per i vari stadi del linfoma immunoblastico valgono, in linea di massima, gli stessi principi terapeutici elencati a proposito del centroblastico; l'immunoblastico tuttavia risponde meno bene e per l'induzione della remissione sono quindi giustificate associazioni sperimentali con nuovi farmaci e, quando si sia ottenuta remissione completa, è opportuna la terapia di mantenimento. Non è ancora stabilito se altri approcci sperimentali, che prevedono soggiorno in ambienti sterili, eventualmente autotrapianto (o eterotrapianto) di midollo, diverse forme di immunoterapia ed alimentazione ipercalorica parenterale, possano realmente migliorare i risultati. I pazienti con linfoma istiocitico diffuso in remissione completa e in terapia di mantenimento con la combinazione OAP, da somministrare ogni mese, sviluppano meno recidive e minor numero di localizzazioni al sistema nervoso centrale⁽¹⁵⁶⁾ rispetto ai pazienti in terapia con il COP; inoltre nei pazienti in stadio IVB con compromissione midollare è indicata la profilassi del sistema nervoso centrale per l'elevata frequenza delle localizzazioni intracraniche.

Il gruppo dei linfomi linfoblastici comprende il tipo convoluto (abituamente T), il Burkitt (B) ed il non classificabile, per lo più non-T non-B. Per queste forme è sorprendente non solo il prevalere del sesso maschile e la distribuzione bimodale dell'età, con picchi nella prima-seconda e sesta-settima decade della vita, ma anche la spiccata tendenza alla generalizzazione, evidente già nelle prime fasi della malattia⁽¹⁵⁷⁾.

⁽¹⁵⁵⁾ SKARIN A. T., CANELLOS G. P.: *Chemotherapy of advanced non-Hodgkin's lymphoma*. Clin. Hematol. 1978; 8: 667.

⁽¹⁵⁶⁾ STRAUCHEN J. A., YOUNG R. C., DE VITA V. T. et al.: *Clinical relevance of the histopathological subclassification of diffuse «histiocytic» lymphoma*. N. Engl. J. Med. 1978; 299: 1382.

⁽¹⁵⁷⁾ WEINSTEIN H. J., LINK M. P.: *Non-Hodgkin's lymphoma in childhood*. Clin. Hematol. 1979; 9: 699.

Recentemente è stato segnalato un aumento della loro incidenza nei maschi in età giovanile, in concomitanza con la diffusione dell'AIDS (¹⁵⁸).

I pazienti con linfoma linfoblastico del tipo convoluto, soprattutto bambini e giovani adulti, presentano spesso, come è noto, massa mediastinica, splenomegalia, interessamento midollare con sviluppo di quadro leucemico, infiltrazione del sistema nervoso centrale e dei testicoli (¹⁵⁹). La partecipazione midollare è presente anche nella maggior parte dei linfomi linfoblastici di tipo non classificabile, ma il quadro leucemico è meno frequente e così la splenomegalia e l'allargamento mediastinico.

Gli aspetti leucemici che compaiono nelle fasi avanzate non sono distinguibili, dal punto di vista clinico-ematologico, dalle leucosi acute linfoblastiche indifferenziate (¹⁵⁷). Lo schema stadiativo di Ann Arbor è poco appropriato per questa varietà e pertanto è stata proposta una particolare stadiazione che prende in considerazione, come parametri prognostici, non solo il numero delle localizzazioni, ma anche l'entità della massa, adatta particolarmente per le forme infantili (¹⁵⁹) (tab. 6). La maggior parte dei pazienti con stadio di malattia localizzato con la sola radioterapia loco-regionale o allargata sviluppa rapidamente recidive al di fuori dei campi irradiati. Solo in alcune delle forme localizzate, prognosticamente favorevoli, come quella in un unico linfonodo, particolarmente al collo, o isolato interessamento dell'anello del Waldeyer, o la presenza di un'unica osteolisi, o localizzazione addominale completamente estirpabile, l'irradiazione a campo esteso è probabilmente curativa (¹⁵⁷).

Nei comuni stadi I e II si ottiene la più alta quota di remissioni persistenti con radio-chemioterapia combinata, ma anche la chemioterapia da sola è in grado di indurre alte percentuali di remissione. Nello stadio IV il valore della radioterapia aggressiva è per lo meno controverso.

Come negli altri linfomi ad alta malignità, un aumento della sopravvivenza si ottiene solo attraverso l'induzione della remissione completa; le recidive, se accadono, si verificano presto, tanto che si tende a valutare la remissione completa di due anni equivalente alla guarigione.

Tutti gli schemi di terapia più efficace nelle fasi leucemiche contemplano tre fasi: a) induzione della remissione con combinazioni citostatiche aggressive; b) consolidamento della remissione, ottenuta con l'ir-

(¹⁵⁸) CHASE BORING C., BRYNES R. K., CHAN W. C. et al.: *Increase in high grade malignant lymphomas in young men*. Lancet 1985; 1: 857-858.

(¹⁵⁹) MURPHY S. B.: *Childhood non-Hodgkin's lymphoma*. N. Engl. J. Med. 1978; 299: 1446.

radiazione locale dei siti maggiormente coinvolti, proseguendo la chemioterapia, e profilassi della localizzazione meningea con irradiazione cranica ed iniezione intrateca di citostatici; c) terapia citostatica di mantenimento per almeno due anni.

Le associazioni chemioterapiche adatte allo scopo sono complesse ed è opportuno siano assegnate ed eseguite in centri emato-oncologici. Le più aggressive di esse, adatte per i bambini e per gli adulti giovani, non si prestano per i soggetti più anziani, nei quali si ricorre a schemi usati per i linfomi a minore malignità. In questi pazienti conviene attuare la profilassi della localizzazione meningea solo in presenza di stadio iniziale IV, infiltrazione midollare e sintomatologia B.

Nel linfoma di Burkitt il 70-80% dei casi con forma sporadica al momento della diagnosi presenta interessamento dei linfonodi o organi addominali, mentre nella forma Africana prevale la localizzazione al massiccio facciale; entrambe le forme mostrano marcata tendenza alla recidiva locale⁽¹⁶⁰⁾. A causa della peculiarità dei quadri clinici e della risposta terapeutica per il Burkitt è stato proposto un apposito schema stadiale, di grande importanza pratica (tab. VII). I soggetti al di sotto dei 12

Tab. VII - SCHEMA STADIATIVO PER IL LINFOMA DI BURKITT

Stadio A - Interessamento di un singolo sito extralinfonodale.

Stadio B - Interessamento di siti multipli extraddominali.

Stadio C - Tumore intraddominale.

Stadio D - Tumore intraddominale con interessamento di uno o più siti extraddominali.

Stadio AR - Stadio «C» dopo rimozione chirurgica di almeno il 90% della massa tumorale.

⁽¹⁶⁰⁾ NKUMAH F. K., PERKINS I. V.: *Burkitt's lymphoma. A clinical study of 110 patients.* Cancer 1976; 37: 671-676.

anni di età e quelli con piccola massa tumorale (stadi A, B, AR) mostrano percentuali di remissione significativamente maggiore rispetto agli stadi più avanzati. Negli stadi A, B, AR è raccomandabile l'associazione radio-chemioterapica per la marcata tendenza alla generalizzazione.

Per la prognosi è molto importante l'entità della massa tumorale presente al momento della diagnosi, ed è quindi raccomandabile, ove possibile, la sua ampia escissione, particolarmente in sede addominale.

Le combinazioni chemioterapiche efficaci comprendono alte dosi di ciclofosfamide, methotrexate e prednisone; in caso di risposta insufficiente si può ricorrere a carmustina, citarabina, ciclofosfamide e tioguanina.

Dopo induzione di remissione completa nei pazienti in stadio C, D e AR è indicata irradiazione dell'addome con 21 Gy in 2-3 settimane. Poiché le recidive si verificano prevalentemente nei primi tre mesi dalla conclusione della radio-chemioterapia, c'è l'indicazione a proseguire il trattamento per 3-6 mesi dal raggiungimento della remissione completa.

RECENTI ASSOCIAZIONI CHEMIOTERAPICHE PROPOSTE PER I LINFOMI AGGRESSIVI

Negli ultimi anni il trattamento dei linfomi aggressivi, in particolare dei diffusi a grandi cellule, ha subito notevole progresso con la messa a punto di nuovi schemi di polichemioterapia.

Fino 20 anni fa questi tumori rappresentavano quasi sempre malattie rapidamente progressive e fatali, tranne la modesta percentuale diagnosticata in stadio I e sensibile alla radioterapia. Da allora la sperimentazione di associazioni radio-chemioterapiche sempre più complesse ha dimostrato come una quota crescente di casi possa raggiungere la remissione completa, che spesso si è dimostrata permanente.

Nel 1975 De Vita e coll. ⁽¹⁶¹⁾ pubblicarono i risultati relativi alla somministrazione di 6 cicli di MOPP, o in alternativa di C - MOPP, in cui la mecloretamina è sostituita dalla ciclofosfamide, in 27 pazienti con linfoma istiocitico diffuso avanzato (stadi IIE-IV). Si ottenne remissione completa in 11, dei quali 1 solo presentò in seguito recidiva.

Un anno dopo McKelvey e coll. riportarono la sintesi di uno studio multicentrico su ben 506 casi di linfoma non-Hodgkin in stadio III e

⁽¹⁶¹⁾ DE VITA V. T., CANELLOS G. P., CHABNER B. et al.: *Advanced diffuse histiocytic lymphoma, a potentially curable disease*. Lancet 1975; 1: 248-250.

IV, parte con forme nodulari, parte diffuse, differenziate o meno; ai pazienti furono somministrate le associazioni CHOP e HOP at random. Con la prima, ripetuta approssimativamente ogni tre settimane in rapporto alla tolleranza ematologica, per circa sei mesi, si ebbe il 71% di remissioni complete, mentre con la seconda, ripetuta ogni due-tre settimane, le remissioni furono il 61%. I risultati nei linfomi linfocitici ed istiocitici furono simili, le risposte furono però migliori nelle forme nodulari ⁽¹⁶¹⁾.

L'associazione di farmaci mielosoppressivi in una prima fase con altri non mielosoppressivi in una seconda (BACOP) per 6 cicli in 25 pazienti con linfoma istiocitico diffuso avanzato procurò remissione completa in 12 (48%) ⁽¹⁶²⁾.

Dal 1980 le combinazioni chemioterapiche divennero più complesse per aggiunta di altri farmaci, vecchi e nuovi. Sweet e coll. ⁽¹⁶³⁾, somministrando a 42 pazienti con linfoma istiocitico diffuso avanzato tre cicli distanziati di 85 giorni, composti da ciclofosfamide, vincristina, methotrexate+leucovorin ed aracytin (COMLA), ottennero il 57% di remissioni complete.

Koziner e coll. ⁽¹⁶⁴⁾ associarono basse dosi di radioterapia in presenza di grosse masse linfomatose o di resistenza ai farmaci, che comprendevano methotrexate, doxorubicina, aracytin, prednisone, ciclofosfamide. Ripetendo il ciclo 10 volte ottennero remissioni complete nel 54%, senza notare vantaggi con la somministrazione aggiuntiva di vaccino di *Pseudomonas*. In questo studio vennero identificati come fattori prognostici negativi il sesso femminile, l'alto livello iniziale di lattico-deidrogenasi e l'inefficacia di precedenti chemioterapie.

Risultati superiori furono ottenuti con alternanza di associazioni di farmaci diversi. Fisher e coll. ⁽¹⁶⁵⁾ trattarono 74 pazienti affetti da lin-

⁽¹⁶²⁾ SCHEIN P. S., DE VITA V. T., HUBBARD S. et al.: *Bleomycin, adriamycin, cyclophosphamide, vincristine and prednisone (BACOP) combination chemotherapy in the treatment of advanced diffuse histiocytic lymphoma*. Ann. Intern. Med. 1976; 85: 417-422.

⁽¹⁶³⁾ SWEET D. L., GOLOMB H. M., ULTMANN J. E. et al.: *Cyclophosphamide, vincristine, methotrexate with leucovorin rescue, and cytarabine (COMLA) combination sequential chemotherapy for advanced diffuse histiocytic lymphoma*. Ann. Intern. Med. 1980; 92: 785-790.

⁽¹⁶⁴⁾ KOZINER B., SKLAROFF R., LITTLE C. et al.: *NHL-3 protocol. Six drug combination chemotherapy for non-Hodgkin's lymphoma*. Cancer 1984; 53: 2592-2600.

⁽¹⁶⁵⁾ FISHER R. I., DE VITA V. T., HUBBARD S. M. et al.: *Diffuse aggressive lymphomas: increased survival after alternating flexible sequences of PROMACE and MOPP chemotherapy*. Ann. Intern. Med. 1983; 98: 304-309.

foma diffuso di vario grado di malignità in stadio II, III e IV con un numero variabile di cicli di PROMACE e MOPP, variando l'associazione quando la risposta accennava a calare ed intensificando la terapia alla fine; riportarono remissioni complete nel 74% dei casi.

Il progresso della polichemioterapia dei linfomi aggressivi non deve essere interpretato come semplice risultato del perfezionamento di vecchi schemi con l'acquisizione di nuove molecole ad elevata attività citostatica, ma conseguente all'espansione delle conoscenze nel campo dell'Oncologia. Le associazioni farmacologiche della cosiddetta «prima generazione» (CMOPP, CHOP, HOP, CHOP-Bleo/BACOP, COMLA, vedi tab. 8) davano sopravvivenze comprese tra il 35% ed il 45% dei casi di linfoma istiocitico diffuso ed erano composte da 4 o 5 farmaci somministrati a scadenza all'incirca trisettimanale; nessuna di esse era palesemente superiore alle altre. L'affermarsi dei concetti proposti da Goldie e coll. ⁽¹⁶⁶⁾ e da Norton e Simon ⁽¹⁶⁷⁾, basati sulla presunta analogia tra sviluppo di resistenza delle cellule neoplastiche ai citostatici e dei batteri agli antibiotici e su complesse elaborazioni al computer, portò alla convinzione che dosaggio dei farmaci, tipo di associazione e cadenza di somministrazione erano di importanza cruciale per il successo della terapia. Si aprì in tal modo la via alla sperimentazione di nuovi protocolli chiamati di «seconda generazione» (PROMACE-MOPP, M-BACOD, COP-BLAM I, tab. VIII), con i quali la percentuale di remissioni complete aumentò al 55-60%. Essi consistono in un maggiore numero di farmaci, sei o più, e contemplano la somministrazione di sostanze mielodepressive, quali ciclofosfamide e doxorubicina, ogni tre settimane, sulla base dell'osservazione che entro tale periodo l'effetto citopenizzante si esauriva; nella fase di leucopenia erano previste infusioni di sostanze non mielotossiche, quali bleomicina, vincristina, methotrexate+leucovorin, che oltretutto non mostrano resistenza crociata con i farmaci mielotossici. Sulla base di questi concetti si sono poi sviluppate le associazioni di «terza generazione», quali il MACOP-B ⁽¹⁶⁸⁾. Esso prevede infusioni settimanali alternando ciclofosfamide e doxorubicina a bleomicina, vincristina e methotrexate+leucovorin. La notevole percentuale di remissioni complete raggiunte (84%) è attribui-

⁽¹⁶⁶⁾ GOLDIE J. H., COLDMAN A. J., GUDAUSKAS G. A.: *Rationale for the use of alternating non-cross-resistant chemotherapy*. Cancer Treat. Rep. 1982; 66: 439-449.

⁽¹⁶⁷⁾ NORTON L., SIMON R.: *Tumor size, sensitivity to therapy, and design of treatment schedules*. Cancer Treat. Rep. 1977; 61: 1307-1317.

⁽¹⁶⁸⁾ KLIMO P., CONNORS J. M.: *MACOP-B chemotherapy for the treatment of diffuse large cell lymphoma*. Ann. Intern. Med. 1985; 102: 596-602.

Tab. VIII - RECENTI ASSOCIAZIONI CHEMIOTERICHE
PER I LINFOMI AGGRESSIVI

C-MOPP ⁽¹⁶¹⁾	Ciclofosfamide Vincristina Procarbazina Prednisone	650 mg./m ² I. V., giorni 1, 8 1,4 mg./m ² I. V., giorni 1,8 100 mg./m ² per os, giorni 1-14 40 mg./m ² per os, giorni 1-14 Giorni 15-28: nessuna terapia.
CHOP ⁽¹³¹⁾	Ciclofosfamide Doxorubicina Vincristina Prednisone	750 mg./m ² I. V., giorno 1 50 mg./m ² I. V., giorno 1 1,4 mg./m ² I. V., giorno 1 100 mg. per os, giorno 1-5 Ciclo da ripetere ogni 14-21 giorni.
HOP ⁽¹³¹⁾	Doxorubicina Vincristina Prednisone	80 mg./m ² I. V. giorno 1 1,4 mg./m ² I. V. giorno 1 100 mg. per os, giorni 1-5 Ciclo da ripetere ogni 14-21 giorni.
COP ⁽¹³¹⁾	Ciclofosfamide Vincristina Prednisone	200 mg./m ² per os, giorni 1-5 1,4 mg./m ² I. V. giorno 1 100 mg. per os, giorni 1-5 Ciclo da ripetere ogni 14-21 giorni.
BACOP ⁽¹⁶²⁾ o .CHOP/BLEO	Ciclofosfamide Doxorubicina Vincristina Bleomicina Prednisone	650 mg./m ² I. V. giorni 1, 8 25 mg./m ² I. V. giorni 1, 8 1,4 mg./m ² I. V. giorni 1, 8 5 u./m ² I. V. giorni 15,22 60 mg./m ² per os giorni 15-29
COMLA ⁽¹⁶³⁾	Ciclofosfamide Vincristina Methotrexate Lederfolin ARA-C	1,5 gr./m ² I. V. giorno 1 1,4 mg./m ² I. V. giorni 1, 8, 15 120 mg./m ² I. V. giorni 15, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71 25 mg./m ² per os ogni 6 ore x 4, co- minciando 24 ore dopo la sommi- nstrazione del Methotrexate 300 mg./m ² I. V. nei giorni di sommi- nstrazione del Methotrexate
NHL - 3 ⁽¹⁶⁴⁾	Methotrexate Doxorubicina ARA-C Prednisone Ciclofosfamide Radioterapia	10 mg./m ² I. V. giorni 3-5 25 mg./m ² I. V. giorno 1 100 mg./m ² I. V. giorno 1 60 mg./m ² per os giorni 1-5 700 mg./m ² I. V. giorno 1

PROMACE	Etoposide	120 mg./m ² I. V. giorni 1, 8
	Ciclofosfamide	650 mg./m ² I. V. giorni 1, 8
	Doxorubicina	25 mg./m ² giorno 1, 8
	Methotrexate	1,5 gr./m ² I. V. il giorno 14 in 12 ore, previa iperidratazione ed alcalinizzazione delle urine
	Lederfolin	50 mg./m ² I. V. dopo 24 ore dall'inizio della somministrazione del Methotrexate, ripetuto ogni 6 ore fino a discesa della concentrazione plasmatica del Methotrexate a meno di 1×10^{-7} M.
	Prednisone	60 mg./m ² per os, giorni 1-14
MOPP	Mecloretamina	6 mg./m ² I. V. giorni 1, 8
	Vincristina	1,4 mg./m ² I. V. giorni 1, 8
	Procarbazina	100 mg./m ² per os giorni 1-14
	Prednisone	40 mg./m ² per os giorni 1-14
		Giorni 15-28: nessuna terapia
MACOP-B ⁽¹⁶⁸⁾	Methotrexate	100 mg./m ² I. V. in bolo; poi 300 mg./m ² I. V. in 4 ore, giorni 8, 36, 64
	Leucovorin	15 mg. per os, ogni 6 ore x 6, a partire dalla 24 ^a ora dopo l'infusione del Methotrexate
	Doxorubicina	50 mg./m ² I. V. giorni 1, 15, 29, 43, 57, 71
	Ciclofosfamide	350 mg./m ² I. V. giorni 1, 15, 29, 43, 57, 71
	Vincristina	1,4 mg./m ² I. V. giorni 8, 22, 36, 50, 64, 78
	Bleomicina	10 u./m ² I. V. giorni 22, 50, 78
	Prednisone	75 mg. per os giorni 1-62; riduzione progressiva dal 63 ^a al 78 ^a giorno
	Co-Trimoxazolo	2 Cpr. al dì

bile sia all'elevato dosaggio delle singole sostanze, sia alle ravvicinate somministrazioni che portano a continua esposizione delle cellule neoplastiche agli agenti tossici, sia alla precoce associazione di numerose sostanze con diverso meccanismo di azione. Tali direttive rappresentano un sicuro vantaggio nella polichemioterapia dei linfomi aggressivi e probabilmente di altre neoplasie.

Va infine ricordata l'azione antilinfomatosa dell'interferon, da poco disponibile in forma e quantità adeguate. Con somministrazione intramuscolari di 50×10^6 u./m² del tipo leucocitario (alfa interferon), ottenuto con la tecnologia del DNA ricombinante, si ebbero 9 risposte parziali e 4 complete in 24 linfomi a basso grado di malignità, 1 parziale ed 1 completa in 6 a malignità intermedia, ed 1 parziale tra 7 ad alta malignità. Tutti i pazienti non avevano risposto in modo soddisfacente alla tradizionale terapia ⁽¹⁶⁹⁾.

⁽¹⁶⁹⁾ FOON K. A., SHERWIN S. A., ABRAMS P. G. et al.: *Treatment of advanced non-Hodgkin's lymphoma with recombinant leukocyte interferon*. N. Engl. J. Med. 1984; 311: 1148-1152.

RIASSUNTO – I linfomi maligni sono tumori del tessuto linfatico con incidenza crescente in tutti i paesi evoluti. La prognosi, un tempo sempre infausta, per certe forme è oggi sostanzialmente migliore. Presupposto al corretto approccio terapeutico è la precisa definizione istologica e citologica e l'attribuzione ad una definita varietà di tumore linfatico riferendosi ad una delle moderne classificazioni, possibilmente alla più recente «working formulation». Importante è inoltre stabilire l'appartenenza dei linfociti neoplastici alla linea T, B o «null» e lo stadio di maturazione, avvalendosi di metodiche tradizionali, di valutazioni citochimiche e degli anticorpi monoclonali. Per alcune forme è stata recentemente dimostrata l'eziologia virale anche nell'uomo; per altre il rapporto virus-tumore non è del tutto certo, anche se è possibile rinvenire nel genoma sequenze corrispondenti a retrovirus, attivati per traslocazioni reciproche tra cromosomi diversi. La terapia radiante è indicata nelle forme localizzate, mentre le associazioni chemioterapiche hanno raggiunto elevata efficacia nelle varietà aggressive e diffuse, sia per la disponibilità di nuovi preparati che per la maggiore razionalità nella combinazione e nella modalità di somministrazione.

ZUSAMMENFASSUNG – Die non-Hodgkin's Lymphome - Von molekularer Biologie zu der Klinik. Maligne Lymphome sind Tumore des Lymphgewebes, mit steigender Inzidenz in allen fortschrittliche Laendern. Die Prognose, die frueher grundsaetzlich infaust war, ist heute fuer bestimmte Formen wesentlich besser. Voraussetzung zur korrekten Therapie ist eine genaue histologische und zytologische Bestimmung und die Zuteilung zu einer bestimmten Art von Lymphom, wobei man sich aus eine der modernen Klassifikation berufen sollte, moeglichst auf die neue «working formulation». Ausserdem ist es wichtig, die Zugehoerigkeit der neoplastischen Lymphozyten zu der T, B, oder «null» Serie zu bestimmen, wie auch man sich ihr Reifestadium, wobei man sich auf herkoemliche Methoden berufen sollte, wie auf zytochemische Bewertung und auf monoklonale Antikoerper. Fuer manche Formen wurde of kurzem auch fuer den Menschen die virale Aetiologie beweisen, in anderen dagegen ist der Zusammenhang Tumor-Virus nicht ganz sicher, aber es ist moeglich, im Genom Sequenzen zu finden, die dem Retrovirus entsprechen, aktiviert durch gegenseitige Translokation zwischen verschiedenen Chromosomen. Die Roentgentherapie ist in lokalisierten Formen angezeigt, wogegen Chemotherapieverbindungen hohe Wirksamkeit in aggressiven und diffusen Formen erregen haben, sowohl durch die Verfuegbarkeit von neuen Praeparaten, als auch durch die gesteigerte Zweckmaessigkeit in der Kombination und in der Darreichungsform.

SUMMARY – The non-Hodgkin's Lymphoma - From molecular biology to the bedside. Lymphomas as malignant tumors of lymphatic tissue are becoming more and more frequent especially in developed countries. At present, at least for certain form of lymphomas, the treatment offers a better prognosis. In order to institute a correct therapeutic regimen is absolutely necessary, other than a precise histologic and cytologic definition of the tumor, to attribute it to one of the modern classifications referring to the most recent working formulation. Besides it is important to establish the category of neoplastic lymphocytes to the T, B or «null» lines and the stage of maturation using traditional methods, cytochemical evaluations and monoclonal antibodies. Viral etiology has been recently demonstrated for some forms even in human beings; in others forms the virus-tumor relationship is still uncertain, but it is possible to trace back the corresponding sequence of a retrovirus in the genome, activated for reciprocal translocations between different chromosomes. The radiation therapy is indicated in the localized forms, while the chemotherapeutic associations have reached the maximum utility in the aggressive and diffuse forms, for the availability of new preparations as well as for the greater rationality in the combination and in the method of administration.

