



Università degli Studi di Firenze

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

DOTTORATO DI RICERCA
XVIII CICLO

"CHIRURGIA DEMOLITIVA E RICOSTRUTTIVA DEL DISTRETTO
TESTA-COLLO"

Direttore del Dipartimento
Prof. Nicola Di Lorenzo

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIRURGICHE
OTO-NEURO-OFTALMOLOGICHE
SEZIONE DI OCULISTICA

Tesi di Dottorato:

**Linfomi MALT primari dell'orbita e degli annessi oculari: nuovo
protocollo terapeutico con Rituximab e Chlorambucil**

Relatore

Prof. Ugo Menchini

Dottorando

Dott.ssa Serena Dal Pozzo

ANNO ACCADEMICO 2005-2006

*Al Dott. Marco Puccioni che mi ha pazientemente seguito
e incoraggiato durante la stesura di questa tesi
e ai miei genitori, Prof. Giancarlo Dal Pozzo e Prof. Maria Cristina Boschi,
a cui devo tutto (professionalmente, ma soprattutto umanamente).*

GRAZIE BABBO - GRAZIE MAMMA

Indice

❖ Introduzione	pag. 1
○ 1. Stadiazione dei linfomi	pag. 1
○ 2. Classificazione istologica dei linfomi	pag. 4
○ 3. Linfomi non Hodgkin	pag. 8
a. Epidemiologia	pag. 9
○ 4. Linfomi non Hodgkin extranodali	pag. 10
○ 5. Linfomi MALT	pag. 10
a. Caratteristiche immunologiche ed istologiche	pag. 12
b. Caratteristiche cliniche	pag. 14
c. Terapia	pag. 15
d. Prognosi	pag. 15
❖ Linfomi MALT dell'orbita e degli annessi oculari	pag. 17
○ 1. Ipotesi etiopatogenetiche: associazione con C.psittaci ..	pag.19
○ 2. Terapia	pag. 21
❖ Scopo della ricerca	pag. 24
❖ Materiali e Metodi della ricerca	pag. 26
○ 1. Rituximab	pag. 30
○ 2. Chlorambucil	pag. 31
❖ Risultati	pag. 33
❖ Conclusioni	pag. 34
❖ Bibliografia	Pag. 36

INTRODUZIONE

I linfomi sono neoplasie derivate dall'espansione clonale di cellule linfoidi a livelli diversi del loro sviluppo maturativo-differenziativo. La trasformazione neoplastica di queste cellule avviene attraverso un processo a più tappe (multistep disease) che coinvolge oncogeni, protooncogeni e geni oncosoppressori. Il processo neoplastico si diffonde per continuità e/o per via linfatica e/o ematica ad organi linfoidi e non linfoidi, formando masse neoplastiche di varie dimensioni.

I linfomi sono suddivisi storicamente in due grandi categorie:

- 1) linfomi di Hodgkin (HL)
- 2) linfomi non Hodgkin (NHL)

I primi sono caratterizzati dalla presenza di cellule di Reed-Sternberg, per definizione assenti nei linfomi non Hodgkin, e prendono il nome dal medico che, probabilmente per primo, nel 1832 descrisse i primi casi della malattia.

Il tipo di linfoma è stabilito attraverso l'esame istologico del tessuto linfoide prelevato mediante biopsia: è infatti impossibile distinguere i vari tipi di linfoma senza l'esame istologico, in quanto esistono circa 30 sottotipi di linfoma non Hodgkin ed almeno 4 sottotipi di linfoma Hodgkin. Il tessuto prelevato è sottoposto ad indagini immunologiche e genetiche: le prime servono a risalire al tipo e stadio di differenziazione dei linfociti (B,T,NK) da cui è originato il linfoma. Le analisi genetiche invece, servono ad identificare eventuali anomalie del DNA, alcune delle quali sono caratteristiche di determinati sottotipi di linfoma e non di altri.

1. STADIAZIONE DEI LINFOMI

Una volta stabilita la diagnosi, occorre effettuare tutte le indagini diagnostiche volte a determinare l'estensione e la diffusione della malattia, al fine di poter disporre di una valutazione prognostica che serva a proporre approcci terapeutici adeguati.

Nel corso degli anni sono stati proposti numerosi sistemi di stadiazione dei linfomi: quello attualmente in uso, inizialmente proposto solo per i linfomi di Hodgkin, è quello adottato alla Ann Arbor Conference del 1971. Questo sistema di stadiazione si basa essenzialmente su criteri legati all'estensione anatomica della malattia, soprattutto nodale, oltre che alla presenza o meno di sintomi sistemici. Questa stadiazione non risulta molto utile per i NHL, che spesso originano da sedi extralinfonodali e si disseminano poi per via ematogena, anziché estendersi attraverso linfonodi contigui: perciò per i NHL perde molto della sua predittività prognostica, infatti la prognosi di questi linfomi non dipende tanto da fattori

anatomici ma appare legata soprattutto ad elementi di tipo istopatologico, clinico e immunofenotipico.

Stadiazione di Ann Arbor

I stadio	Coinvolgimento di una sola regione linfatica (I); coinvolgimento limitato di un solo organo o sito extralinfatico (E)
II stadio	Coinvolgimento di una o più regioni linfatiche dallo stesso lato del diaframma (II), oppure interessamento localizzato di un solo organo o sito extralinfatico assieme all'interessamento di una o più sedi linfatiche dallo stesso lato del diaframma (IIE)
III stadio	Impegno di più regioni linfatiche sopra e sotto il diaframma (III), che può essere accompagnato da interessamento localizzato di un organo o sito extralinfatico (IIIE), o della milza (IIIS) o di entrambi (IIIES)
IV stadio	Coinvolgimento diffuso o disseminato di uno o più organi o siti extralinfatici con o senza coinvolgimento di sedi linfatiche. Gli organi interessati sono indicati con un simbolo: H (fegato), L (polmoni), M (midollo), P (pleura), O (ossa), D (cute)

Ogni stadio è sottoclassificato come A o B in presenza o assenza, rispettivamente di uno o più dei seguenti sintomi: sudorazioni notturne, febbre, calo ponderale superiore al 10% negli ultimi sei mesi. Oltre ai linfonodi sono considerate regioni linfatiche: la milza, il timo, l'anello del Waldeyer, l'appendice e le placche di Peyer dell'intestino.

Le procedure di stadiazione sono sostanzialmente simili per tutti i linfomi e prevedono fondamentalmente due esami: la biopsia osteomidollare e la TAC torace-addome-pelvi. A questi due esami, indispensabili, si affiancano altri esami di laboratorio e strumentali: l'esame emocromocitometrico, la VES, l'LDH, le proteine totali, il dosaggio delle immunoglobuline, gli esami per lo studio della coagulazione. Tra gli esami strumentali accessori alla TAC, ma utili per la stadiazione: la radiografia del torace, l'ecografia addominale, la TAC cerebrale.

Negli ultimi anni, tuttavia, stanno sempre più affermandosi sia per la stadiazione sia, per la valutazione della risposta alla terapia, le indagini di natura radioisotopica quali la SPET (scintigrafia con Ga-67 citrato) e la PET (tomografia ad emissioni di positroni). Il gallio

citrato è un tracciante caratterizzato da un'intensa fissazione a livello del tessuto linfomatoso sia Hodgkin che non Hodgkin. La sua eliminazione prevalente per via intestinale, però, ne limita molto l'utilità nello studio delle regioni sottodiaframmatiche per le evidenti difficoltà interpretative. Al contrario, a livello sopradiaframmatico la SPET con GA-67 citrato trova una precisa indicazione nella ristadiazione della malattia dopo terapia, in quanto è in grado di discriminare meglio, rispetto alla TAC o alla RMN, tessuto linfomatoso vitale residuo rispetto a quello fibrotico o necrotico. Bisogna precisare che questa metodica risulta molto sensibile quando si tratta di linfomi ad alto grado di malignità (sensibilità che va dal 70 al 90-95%), mentre è molto inferiore nei linfomi a basso grado (da 0 a 25%).

La tomografia ad emissione di positroni (PET), permette di localizzare con precisione, all'interno degli organi del corpo, una sostanza marcata con un radioisotopo che emette positroni, sostanza precedentemente somministrata al paziente. A differenza della TAC e della RMN, riesce a riconoscere le cellule che si dividono rapidamente (come le cellule tumorali) nel contesto di altre cellule a basso indice di proliferazione (le cellule normali). L'utilizzo della PET con traccianti specifici per la misura del metabolismo cellulare tumorale permette di valutare il grado di aggressività del tumore, la presenza e distribuzione delle metastasi a distanza, l'effetto di trattamenti chemio e/o radioterapici sulla vitalità del tumore e la diagnosi differenziale tra recidiva tumorale e necrosi da terapia radiante. In questo modo è possibile ottenere un inquadramento clinico ed una stadiazione più precisa con limitazione delle procedure diagnostiche invasive. Specificatamente, per la stadiazione dei linfomi viene utilizzato un tracciante analogo del glucosio, il fluorodesossiglucosio, marcato con il fluoro-18 ([¹⁸F]FDG) che indaga il metabolismo glucidico del tessuto neoplastico in vivo ed in modo non invasivo; inoltre, uno studio PET con [¹⁸F]FDG condotto con tecnica total-body può contribuire a modificare significativamente l'approccio terapeutico al paziente oncologico, consentendo l'identificazione anche di lesioni neoplastiche a distanza dalla sede primitiva.

2. CLASSIFICAZIONE ISTOLOGICA DEI LINFOMI

Fino a qualche decennio fa non esisteva una classificazione univoca dei linfomi, ma si adottavano schemi classificativi molto diversi tra loro; volendo riassumere si può dire che esistevano quattro principali classificazione utilizzate nelle diverse parti del mondo: negli Stati Uniti si usavano quella di Rappaport e quella di Lukes e Collins, nella maggior parte dell'Europa e dell'Asia si usava la classificazione di Lennert, mentre in Inghilterra quella del British National Lymphoma Investigation. Naturalmente tutto questo non permetteva il confronto multicentrico con ostacolo allo scambio di informazioni tra studiosi di paesi diversi, per cui il National Cancer Institute degli Stati Uniti sponsorizzò uno studio per trovare un punto di accordo e per redigere una classificazione adottabile a livello mondiale. Lo studio durò molti anni, fino al 1982, quando fu pubblicata una nuova classificazione, la Working Formulation (WF). Il limite principale di quest'ultima era però quello di basarsi su criteri esclusivamente morfologici, non prevedendo l'utilizzo di metodiche d'indagine più moderne ed affidabili, come l'immunoistochimica e la biologia molecolare. Queste ultime hanno infatti permesso di dimostrare come alcune categorie di linfomi previste dalla WF siano eterogenee, comprendano cioè tumori molto diversi per origine, per caratteristiche biologiche e cliniche, per risposta alla terapia.

Questi limiti sembrano essere superati da una nuova classificazione pubblicata nel 1994 (Blood, 84:1361-92) e proposta dall' International Lymphoma Study Group , cioè la classificazione **R.E.A.L** (Revised European American Lymphoma).

Recentemente (1997) è stata proposta una nuova classificazione, sponsorizzata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità molto simile alla classificazione REAL. Questi due sistemi sono un'elencazioni di entità clinico-patologiche, riconoscibili mediante tecniche attualmente disponibili, che possono essere sottoposte a periodici aggiornamenti. Essenzialmente queste classificazioni riconoscono linfomi di derivazione dai linfociti B, linfomi di derivazione dai linfociti T/NK e linfomi di Hodgkin.

CLASSIFICAZIONE REAL (1994)	CLASSIFICAZIONE WHO (1997)
NEOPLASIE DEI LINFOCITI B	NEOPLASIE DEI LINFOCITI B
I. Neoplasie dei precursorii B	Leucemia/linfoma linfoblastico dei precursori B
Leucemia/linfoma linfoblastico dei precursori B	
II. Neoplasie dei linfociti periferici B	Neoplasie delle cellule B mature
A. Leucemia linfatica cronica B/leucemia prolinfocitica/linfoma a piccoli linfociti	Leucemia linfatica cronica B/Linfoma a piccoli linfociti
B. Linfoma linfoplasmocitode/Immunocitoma	Linfoma linfoplasmocitico
C. Linfoma mantellare	Linfoma mantellare
D. Linfoma delle cellule centrofollicolari, follicolare	Linfoma follicolare
1. gradi citologici provvisori (I a piccole cellule, II misto, III a grandi cellule)	
2. sottotipo provvisorio: diffuso, con prevalenza di piccole cellule	
E. Linfomi B della zona marginale	Linfomi B della zona marginale di tipo MALT
1. extranodale (tipo MAL +/- cellule B monocitoidi)	Linfoma nodale della zona marginale +/- cellule B monocitoidi
2. sottotipo provvisorio: nodale (+/- cell. B monocitoidi)	Linfoma B della zona marginale splenico
F. Entità provvisoria: linfoma della zona marginale splenico (+/- linfociti villosi)	Hairy cell leucemia
G. Hairy cell leucemia	Plasmocitoma
H. Plasmocitoma/Mieoma multiplo	Mieloma multiplo
I. Linfoma diffuso a grandi cellule B	Linfoma diffuso a grandi cellule B
1. sottotipo: linfoma B primitivo del mediastino (timico)	Sottotipo: mediastinico (timico), intravascolare, primary effusion
J. Linfoma di Burkitt	Linfoma di Burkitt
K. Entità provvisoria: linfoma ad alto grado B, tipo Burkitt	

CLASSIFICAZIONE REAL (1994)	CLASSIFICAZIONE WHO (1997)
NEOPLASIE DEI LINFOCITI T e NK	NEOPLASIE DEI LINFOCITI T e NK
I. Neoplasie dei precursori T	Leucemia/linfoma linfoblastico dei precursori T
Leucemia/linfoma linfoblastico dei precursori T	
II. Neoplasie dei linfociti T periferici e NK	Neoplasie delle cellule T mature e delle cellule NK
A. Leucemia linfatica cronica T/leucemia prolinfocitica	Leucemia prolinfocitica T
B. Leucemia dei grandi linfociti granulati 1. delle cellule T 2. delle cellule NK	Leucemia dei grandi linfociti granulati Leucemia a cellule NK
C. Micosi fungoide/sindrome di Sezary	Micosi fungoide Sindrome di Sezary
D. Linfomi dei linfociti T periferici, non altrimenti specificati 1. categorie citologiche provvisorie: a cellule medie, misto, a cellule linfoepitelioidi 2. sottotipo provvisorio: linfoma epatosplenico delle cellule T gamma/delta 3. sottotipo provvisorio: linfoma T sottocutaneo panniculitico	Linfomi dei linfociti T periferici, non altrimenti specificati Linfoma epatosplenico delle cellule T gamma/delta Linfoma T sottocutaneo panniculitico Linfoma angioimmunoblastico T
E. Linfoma angioimmunoblastico T	Linfoma extranodale a cellule NK/T, tipo nasale
F. Linfoma angiocentrico	Linfoma intestinale delle cellule T (+- con enteropatia)
G. Linfoma intestinale delle cellule T (+- con enteropatia)	Linfoma/leucemia T dell'adulto (HTLV1 +)
H. Linfoma/leucemia T dell'adulto	Linfoma anaplastico a grandi cellule cutaneo Linfoma anaplastico a grandi cellule sistemico
I. Linfoma anaplastico a grandi cellule 1. CD30+ 2. delle cellule T 3. a cellule null	
J. Entità provvisoria: linfoma anaplastico a grandi cellule, tipo Hodgkin	

CLASSIFICAZIONE REAL (1994)	CLASSIFICAZIONE WHO (1997)
MALATTIA DI HODGKIN	MALATTIA DI HODGKIN
<ul style="list-style-type: none"> I. predominanza linfocitaria II. sclerosi nodulare III. cellularità mista IV. deplezione linfocitaria 	<ul style="list-style-type: none"> I. a predominanza linfocitaria II. sclerosi nodulare III. cellularità mista IV. deplezione linfocitaria

3. LINFOMI NON HODGKIN

Qualsiasi linfoma che non appartenga alla categoria di linfoma Hodgkin è detto linfoma non Hodgkin (NHL). Ogni anno, in tutto il mondo, 286.000 persone sono colpite da NHL: di questi 166.000 (il 58%) sono uomini e 120.000 (il 42%) donne. A causa di questa malattia muoiono ogni anno, in tutto il mondo circa 161.000 persone¹. I numerosi sottotipi di linfomi identificati nella classificazione REAL/WHO vengono solitamente suddivisi in quattro gruppi principali, a seconda della rapidità di crescita del tumore:

1. **Linfomi indolenti o a basso grado di malignità** (sopravvivenza di anni anche nei pazienti non trattati):
 - a. Linfomi dei linfociti B: leucemia linfatica cronica/linfoma a piccoli linfociti; linfoma linfoplasmocitoide; linfomi delle cellule centrofollicolari, follicolare; **linfomi della zona marginale**; plasmocitoma/mielosa
 - b. Linfomi dei linfociti T: leucemia dei grandi linfociti granulati; linfoma/leucemia T dell'adulto (smoldering); micosi fungoide; sindrome di Sezary
2. **Linfomi con malignità o aggressività moderata** (sopravvivenza di mesi in pazienti non trattati):
 - a. Linfomi dei linfociti B: leucemia prolinfocitica; linfomi mantellari; linfomi delle cellule centrofollicolari, follicolari a grandi cellule
 - b. Linfomi dei linfociti T: leucemia prolinfocitica; linfoma/leucemia T dell'adulto (cronica); linfoma angiocentrico; linfoma angioimmunoblastico
3. **Linfomi aggressivi**
 - a. Linfomi dei linfociti B: linfomi a grandi cellule B
 - b. Linfomi dei linfociti T: linfomi di derivazione degli elementi T periferici non specificati; linfoma T intestinale; linfoma a grandi cellule anaplastico
4. **Linfomi notevolmente aggressivi**
 - a. Linfomi dei linfociti B: linfoma/leucemia dei precursori B; linfoma di Burkitt; linfoma B ad alto grado, tipo Burkitt
 - b. Linfomi dei linfociti T: Linfoma/leucemia dei precursori T; linfoma/leucemia T dell'adulto (acuta)

È interessante notare che, per quanto paradossale possa sembrare, i linfomi a basso grado di malignità istologica sono generalmente considerati inguaribili con le attuali terapie a disposizione, ma possono permettere anche numerosi anni di vita, con sintomi a volte assenti. Invece, i linfomi di maggiore malignità istologica rispondono bene alla terapia, e possono essere curati definitivamente almeno nella metà dei casi.

a. Epidemiologia

I NHL rappresentano il quinto tumore più comune sia tra gli uomini che tra le donne, si presentano più spesso nei bianchi rispetto ai neri e sono più frequenti negli uomini che nelle donne. L'85% di questi linfomi origina dalle cellule B, il 15% dalle cellule T. L'età media di insorgenza è 50-65 anni.

Negli ultimi decenni si è assistito ad un forte incremento dei tassi di incidenza dei linfomi non Hodgkin²⁻³⁻⁴⁻⁵: le cause di questo aumento sono allo stato attuale ancora poco conosciute, anche se sono stati identificati numerosi fattori di rischio⁶:

1. una disfunzione immune, dovuta a immunodeficienze congenite o acquisite o a malattie immunologiche (tiroidite di Hashimoto, sindrome di Sjogren, LES...), è il fattore di rischio più costantemente associato con lo sviluppo di un NHL. Circa una persona su quattro affetta da immunodeficienza congenita (sindrome di Chediak-Higashi, sindrome di Wiskott-Aldrich,...) svilupperà un NHL, mentre le persone con un'immunodeficienza acquisita (AIDS, trapianto d'organo, trapianto di midollo) hanno un rischio 100 volte superiore rispetto alla popolazione normale.
2. infezioni virali o batteriche. Negli ultimi anni un numero sempre maggiore di agenti infettivi è stato associato a NHL. Tra questi ricordiamo l'HTLV-1 (ritrovato soprattutto nei linfomi a cellule T delle popolazioni del Giappone e dell'India), l'EBV (Epstein Barr virus) collegato al linfoma di Burkitt (soprattutto dove il virus è endemico come in Africa e Nuova Guinea), ed infine L'*Helicobacter pylori* associato a linfomi di tipo MALT gastrici.
3. esposizione a radiazione ultravioletta. È stato notato un incremento dei NHL nei paesi molto soleggiati, in parallelo con l'aumento dei tumori della pelle. Inoltre questo tipo di tumori si sviluppa spesso in persone con storia di cancro della pelle così come i tumori cutanei si presentano frequentemente in persone in cui precedentemente è stato diagnosticato un NHL.
4. esposizione agli antiparassitari e diserbanti. Molti studi hanno indicato un rapporto tra questi agenti e i NHL: i più alti tassi di malattia sono stati notati, almeno negli Stati Uniti, nelle zone agricole e chi utilizza queste sostanze è soggetto ad avere un maggior rischio di sviluppare il tumore.
5. fattori genetici. In alcune famiglie vi è un'augmentata incidenza di linfomi non Hodgkin (benché non ci sia nessun modello ereditario affermato).

4. LINFOMI NON HODGKIN EXTRANODALI

I linfomi non Hodgkin extranodali sono quei tumori che al momento della diagnosi interessano solo uno o più organi extralinfatici, senza coinvolgimento dimostrabile degli organi linfatici (midollo, milza, linfonodi,...). Questi linfomi sono complessivamente rari, ma in continuo aumento, soprattutto in alcune sedi quali il sistema nervoso centrale e lo stomaco.

La localizzazione nel SNC è collegata all'epidemia da AIDS, sono frequenti infatti nei pazienti con HIV in fase avanzata.

La localizzazione nello stomaco sembra essere causata, nella maggior parte dei casi, dall'infezione da H.pilory.

5. LINFOMI MALT

Nella recente classificazione delle malattie neoplastiche linfoproliferative della World Health Organization viene definito linfoma extranodale della zona marginale a cellule B di tipo MALT, un gruppo di linfomi che crescono primitivamente in organi extralinfonodali a partire dal tessuto linfatico associato alle mucose (l'acronimo MALT sta infatti per mucosa-associated lymphoid tissue). Sono due i tipi di tessuto linfatico associato alle mucose che possono essere identificati in organi che non corrispondono a sedi periferiche del sistema linfatico.

Un tipo nativo consiste di tessuto linfoide fisiologicamente presente, per esempio, nelle mucose intestinali (placche di Peyer); un altro, cosiddetto acquisito, si sviluppa in seguito a processi flogistici cronici di natura sia infettiva (es. gastrite associata all'infezione da *Helicobacter pylori*) sia autoimmune (es. sindrome di Sjögren e tiroidite di Hashimoto) nel contesto di organi in cui i linfociti sono assenti. Il linfoma di tipo MALT è stato descritto e identificato come entità a sé stante da Peter Isaacson e Dennis Wright all'inizio degli anni ottanta (figura 1.) in seguito all'osservazione che alcuni linfomi gastrici presentavano aspetti istologici molto più simili alla struttura delle placche di Peyer che non a quella del linfonodo. Successivamente divenne chiaro che i linfomi di questo tipo possono crescere anche in altri organi al di fuori del tratto gastrointestinale, ma il linfoma gastrico di tipo MALT rimane di gran lunga il più frequente e quello meglio studiato,

richiamando su di sé un'attenzione crescente a causa della sua associazione con l'infezione da H. pylori.

Cancer. 1983 Oct 15;52(8):1410-1416.

Malignant lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. A distinctive type of B-cell lymphoma.

- Isaacson P,
- Wright DH.

As illustrated in the two cases described in this paper close morphologic and immunohistochemical similarities exist between Mediterranean lymphoma (MTL) and primary gastrointestinal lymphoma of follicle center cell (FCC) origin as it occurs in Western countries. Similarities between the two conditions include a dense noninvasive monotypic lamina propria plasma cell infiltrate, present in all cases of MTL and in some cases of Western gastrointestinal FCC lymphoma, and an invasive infiltrate of FCCs morphologically distinct from the plasma cells. A distinctive lesion produced by individual gland invasion characterizes both types of lymphoma. A clonal relationship between the lamina propria plasma cells and the invasive FCCs, long suspected but never proved in MTL, can be demonstrated in Western cases. Many of the histologic and clinical features common to these lymphomas can be explained in the context of the normal maturation sequences of gut associated lymphoid tissue. It is suggested that MTL and Western cases of primary FCC gastrointestinal lymphoma share a common histogenesis from mucosa associated lymphoid tissue.

FIG.1

Le sedi di origine dei linfomi MALT extranodali sono:

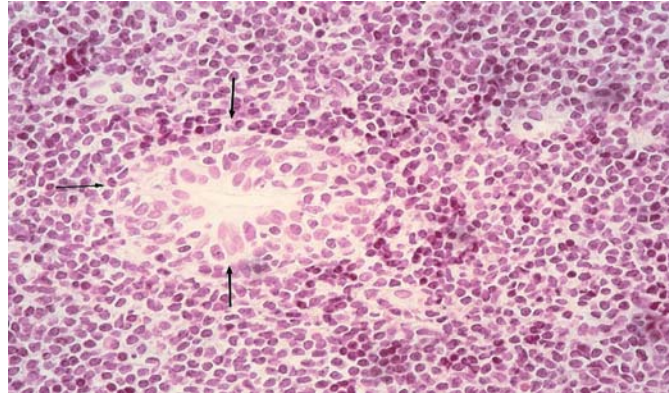
- Tratto gastrointestinale 50% (stomaco 85%)
- Polmoni 14%
- Testa-collo 14% (anessi oculari 11%)
- Tiroide 4%
- Mammella 3%

a. Caratteristiche immunologiche e istologiche

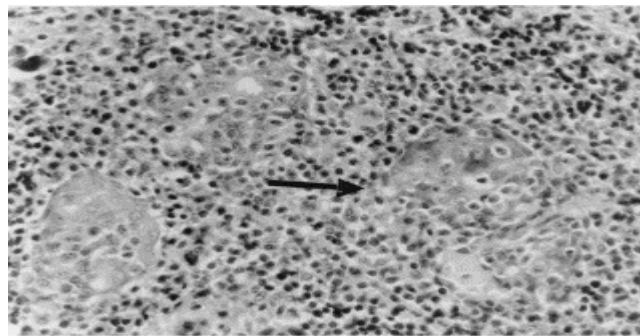
I linfomi MALT sono tumori a crescita lenta (indolenti) e rappresentano circa il 10% di tutti i tipi di NHL. Le cellule tumorali tipicamente esprimono IgM, meno spesso IgA o IgG e mostrano una restrizione delle catene leggere, sono CD20+, senza coespressione di CD5 o CD10⁷. La dimostrazione di una restrizione di immunoglobulina a catena leggera è importante nella diagnosi differenziale con infiltrati linfoidi benigni, mentre la diagnosi differenziale con altri linfomi a piccole cellule B si basa sull'assenza di CD5 per il linfoma mantellare e quello linfocitico, e sull'assenza di CD10 per il linfoma follicolare. Molte anomalie citogenetiche sono state identificate⁸, tra cui la più comune è la trisomia 3 o la traslocazione 11:18. Le anomalie specifiche del gene responsabili della patogenesi dei linfomi MALT ancora non sono state identificate; quelle mutazioni identificate comunemente negli altri NHL non sono comunemente presenti in questi tipi di tumore.

Le caratteristiche istologiche che definiscono un linfoma MALT sono⁹:

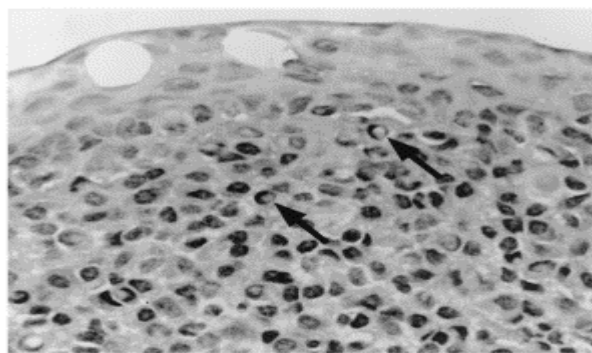
- presenza di cellule della zona marginale (cellule linfoidi di piccole-medie dimensioni, con nuclei leggermente irregolari e un abbondante citoplasma pallido)
- differenziazione plasmocitoide
- colonizzazione follicolare (infiltrazione dei centri germinali da parte di cellule della zona marginale)
- lesioni linfoepiteliali (infiltrazione di strutture epiteliali da grappoli di cellule linfoidi, spesso associate a iperplasia, distorsione e/o distruzione dell'epitelio)



Linfoma MALT della congiuntiva: le frecce indicano la lesione linfoepiteliale



(a)



(b)

(a) Linfoma MALT della congiuntiva: si nota un infiltrato monomorfo di piccolo linfociti. La freccia indica la presenza di linfociti che invadono l'epitelio, formando una lesione linfoepiteliale. (b) A maggior in gradimento si notano numerose cellule plasmocitoidi con abbondante citoplasma e nuclei localizzati eccentricamente. Le frecce indicano inclusioni intranucleari.

b. Caratteristiche cliniche

Contrariamente a quanto accade per gli altri NHL, questi tipi di linfoma sembrano essere più comuni nelle donne rispetto agli uomini (2:1), e sono più frequenti fra le popolazioni caucasiche, rispetto a quelle di colore. Sono stati descritti MALT a tutte le età, ma il picco di incidenza è verso i 65 anni.

Nella maggior parte dei casi vengono diagnosticati in fase I o II ed i pazienti non presentano sintomi sistemici associati: la sintomatologia propria, invece, dipende dall'organo colpito. Se si ritrova a livello gastrico il paziente potrà lamentare disturbi dispeptici o gastrite, a livello polmonare si può presentare dopo infezioni respiratorie ricorrenti; disturbi della visione, ptosi o deficit del campo visivo possono essere sintomi di un linfoma orbitario.

Anche se la causa dei linfomi MALT e della maggior parte degli altri tumori è ancora sconosciuta, molte prove indicano una forte associazione fra le malattie autoimmuni e i linfomi MALT: molti pazienti hanno, infatti, una storia di malattie autoimmunitarie, quali gastrite da *Helicobacter pilory*, tiroidite di Hashimoto, Sindrome di Sjogren o Morbo di Chron.

CARATTERISTICHE PRINCIPALI DEI LINFOMI MALT

- Più frequenti nel sesso femminile (donne: uomini 2:1)
- Più frequenti nella razza bianca
- Forte associazione con malattie immunitarie
- Spesso diagnosticati in fase IE o IIE
- CD20 +

c. Terapia

La maggior parte dei casi di linfoma MALT che interessano lo stomaco (circa 2 su 3) è causato dall'infezione da *Helicobacter pylori*: quando gli esami provano che il batterio è presente nel tessuto del tumore, la terapia d'elezione è rappresentata da un trattamento antibiotico e con antiacidi, che spesso conduce ad una remissione del tumore¹⁰⁻¹¹.

Per i pazienti con MALT a basso grado di malignità, che non sono infettati da *H. pylori* o che non reagiscono al trattamento di questo stesso, le opzioni terapeutiche includono l'osservazione, la chemioterapia o la radioterapia. La sorveglianza attiva (o controllo attivo) nasce dal fatto che alcuni linfomi MALT si sviluppano molto lentamente e non causano nessun problema per molti anni. In queste situazioni non c'è necessità di alcun trattamento anche se i pazienti vanno attentamente seguiti per poter riconoscere in tempo una eventuale diffusione del tumore¹².

Negli altri casi le terapie utilizzate sono simili a quelle usate per gli altri NHL: per quanto riguarda la chemioterapia può essere svolta con un singolo farmaco (monoterapia), quali il Chlorambucil, la Ciclofosfamide o il Rituximab (anticorpo monoclonale anti CD20), oppure si può somministrare una terapia associata (la più utilizzata è la CHOP: Ciclofosfamide, Idrossidaunorubicina, Vincristina, Prednisone).

I pazienti che ricevono il beneficio massimo dalla radioterapia sono quelli in cui la malattia è in una zona limitata, che potrebbe essere compresa in un singolo campo di trattamento radioattivo (esempio linfomi MALT orbitalari).

La terapia chirurgica, invece, in questo tipo di tumori, ha un ruolo limitato: ci si ricorre, infatti, quasi ed esclusivamente per eseguire una biopsia escissionale. In definitiva, l'efficacia di altre modalità di trattamento hanno reso la terapia chirurgica un "aggiuntiva" piuttosto che un momento curativo.

d. Prognosi

Generalmente si tratta di tumori di tipo indolente, che hanno una prognosi buona; per i linfomi più aggressivi, di grado intermedio, il tasso di cura può raggiungere il 90% quando sono in fase IE, mentre scende al 30-40% se diagnosticati in fase IIIIE o IVE (peraltro questi risultati sono molto simili a ciò che accade per gli altri NHL di grado intermedio). I MALT dello stomaco hanno una prognosi fase-dipendente, indipendentemente dal grado di malignità: il tasso di sopravvivenza per quelli in stadio IE è del 93% a 5 anni e del 58%

a 10 anni. Per i pazienti affetti da linfomi MALT in altre sedi rispetto a quella gastrica, è utile ricorrere all'IPI (International Prognostic Index): seguendo questo indice, i tassi quinquennali di sopravvivenza per il gruppo di pazienti a basso rischio è del 99%, per quelli a medio rischio e dell' 85-88%, ed, infine, per quelli ad alto rischio è del 72%. Le principali caratteristiche che possono influenzare la probabilità di ottenere la remissione completa e la sopravvivenza sono sotto elencati:

PARAMETRO	Significato favorevole	Significato sfavorevole
Età *	< 60 anni	> 60 anni
Performance status*	0-1	2 o più
Sintomi B	Assenti	Presenti
Stadio*	Localizzato (I o II)	Disseminato (III o IV)
Grandezza del tumore	< 10 cm	> 10 cm
N° siti extranodali*	0-1	2 o più
Infiltrazione del midollo	Assente	Presente
LDH*	Normale	Aumentato
Beta2-microglobulina	< 3 mg/L	> 3 mg/L
Albumina	> 3.5 g/L	< 3.5 g/L

*Parametri utilizzati per International Prognostic Index (IPI) Performance status (PS): consiste nella valutazione della perdita delle normali funzioni dovuta al declino fisiologico con il progredire dell'età e agli effetti del tumore sull'organismo. Un PS uguale o superiore a 2 è stato associato in molti studi con una prognosi peggiore

Mediante complesse analisi statistiche è possibile costruire degli indici a punteggio, che tengono conto degli indici sfavorevoli presenti in ogni singolo caso e calcolare la probabilità di ottenere la remissione completa e la probabilità di sopravvivenza a 5-10 anni con una determinata terapia. L'età risulta avere un'importanza notevole sulla probabilità di ottenere una remissione completa e sulla sopravvivenza a cinque anni, che per ogni gruppo considerato, è notevolmente più bassa per i pazienti con più di 60 anni rispetto a quelli con età minore.

LINFOMI MALT DELL'ORBITA E DEGLI ANNESSI OCULARI:

I linfomi non-Hodgkin dell'orbita e degli annessi oculari sono dei tumori rari: costituiscono meno dell'1% di tutti i casi di NHL nodali ed extranodali, e l'8% di tutti i NHL extranodali¹³. Tra i NHL i più frequentemente rappresentati sono¹⁴:

- 1) linfomi MALT (57%)
- 2) linfomi follicolari (18%)
- 3) linfoma a grandi cellule B (11%)
- 4) linfoma mantellare (4%)
- 5) linfoma di Burkitt (1%)
- 6) linfoma centrollicolare (1%)
- 7) altri (8%)

Non ci sono significative differenze nel rapporto maschi-femmine, anche se i MALT, almeno secondo la maggior parte della letteratura, sembrano prevalere sul sesso femminile. Per quanto riguarda la loro localizzazione orbitaria, secondo la corrente letteratura, le sedi più frequenti sono:

- 1) congiuntiva (51%)
- 2) retrobulbare (24%)
- 3) ghiandola lacrimale (11%)
- 4) muscoli estrinseci (5%)

5) muscoli palpebrali (8%)

Nella maggioranza dei casi la localizzazione orbitaria è monolaterale e la sintomatologia dipende dalla sede di partenza e dallo stadio; tra i segni ed i sintomi più frequenti ritroviamo:

SEGNI	SINTOMI
1. Tumefazione non dolente	1. Irritazione
2. Arrossamento congiuntivale	2. Sensazione di corpo estraneo
3. Chemosi congiuntivale	3. Pesantezza oculare
4. Esoftalmo	4. Epifora
5. Dislocazione del bulbo	5. Diplopia o visione confusa

Raramente possono dare disturbi da compressione del bulbo oculare, del nervo ottico, alterazioni campimetriche o alterazioni della motilità. Dalla revisione della letteratura, tuttavia, risulta che i linfomi MALT in generale ed anche a livello dell'orbita e degli annessi oculari, sono, in questi ultimi anni, notevolmente aumentati di incidenza quasi triplicando la loro frequenza⁴⁶.

Nella maggior parte dei casi i linfomi MALT orbitari vengono diagnosticati in fase IE, confermando i dati, ampiamente univoci, secondo i quali questi tipi di tumore hanno una forte tendenza a rimanere circoscritti a livello dell' orbita, probabilmente perché l'assenza di drenaggio linfatico limita la disseminazione cellulare. Tuttavia, uno dei più importanti studi sui linfomi MALT dell'orbita e degli annessi oculari, effettuato da Jenkins ed altri¹⁵, segnala un 18% di pazienti con malattia sistemica al momento della diagnosi; Fung ed altri¹⁶ hanno, inoltre, segnalato un 19% di pazienti in fase III o IV. Questi risultati sottolineano l'importanza di una valutazione accurata dello staging nei linfomi MALT dell'orbita e degli annessi oculari.

1. IPOTESI EZIOPATOGENETICHE : ASSOCIAZIONE CON CHLAMYDIA PSITTACI

Verso la metà degli anni '90 è stato dimostrato che l'infezione da *Helicobacter pylori* è un fattore di rischio per lo sviluppo dei linfomi MALT a livello dello stomaco, e che la sua eradicazione, con terapia antibiotica mirata, porta alla regressione completa del tumore nella maggior parte dei pazienti affetti da questo tipo di linfoma³⁷ (attualmente la terapia d'elezione nei linfomi MALT confinati allo stomaco prevede, quantomeno inizialmente, solo l'uso di antibiotici mirati³⁸⁻³⁹). Similmente, la *Borrelia burgdorferi* e il *Campylobacter jejuni* sono stati associati rispettivamente al linfoma marginale a cellule B della cute⁴⁰ e alla *immunoproliferative small intestinal disease*⁴¹, e, anche in questi casi l'eradicazione dell'infezione ha portato, spesso, alla risoluzione del tumore. Insieme, queste osservazioni, suggeriscono che nella patogenesi dei linfomi MALT possano essere implicati degli agenti infettivi. Si ipotizza, infatti, che i microrganismi forniscano una stimolazione antigenica continua tale da portare allo sviluppo del linfoma. Questo miglioramento nella comprensione della patogenesi dei linfomi MALT gastrici ha portato alla ricerca di altri microrganismi responsabili di questi tumori localizzati in altre sedi: nel 2004 Ferreri ed altri⁴² hanno segnalato di aver ritrovato DNA di *Chlamydia psittaci* nell'87% dei linfomi degli annessi oculari da loro esaminati, e quindi hanno proposto che questo batterio potesse essere la causa dei linfomi MALT di questa regione del corpo. Sempre in uno studio di Ferreri⁴³, si è notato inoltre che alcuni linfomi, in cui non era stata dimostrata la presenza di *C. psittaci*, hanno comunque risposto bene al trattamento antibiotico con Doxicillina, in contrasto con i dati che affermano che i linfomi MALT gastrici, in cui non è presente l'*H. pylori*, non rispondono affatto alla terapia antibiotica⁴⁴⁻⁴⁵. Questa risposta positiva alla Doxicillina, può essere spiegata in due modi: innanzitutto le attuali tecniche per la ricerca della *Chlamydia* non sono ottimali, e quindi ci potrebbero essere dei falsi negativi; in secondo luogo, molti altri microrganismi rispondono a questo tipo di terapia. Un' altro studio epidemiologico recente, ha suggerito che l'aumento dell'incidenza dei linfomi MALT a livello degli annessi oculari potesse essere imputato alla *Chlamydia psittaci* o ad altri microrganismi⁴⁶. Tuttavia, studi successivi a quello di Ferreri, eseguiti in altri paesi, non hanno confermato questa stretta associazione⁴⁷⁻⁴⁸⁻⁴⁹: all'inizio del 2006, poi, è stato pubblicato un interessante lavoro di revisione, in cui si studiava la variabilità dell'associazione con la *Chlamydia* nelle diverse aree geografiche⁵⁰. In questo studio sono stati anche presi in considerazione altri agenti etiologici quali la *Chlamydia trachomatis* e la *Chlamydia pneumoniae*. Gli autori hanno analizzato 246 biopsie provenienti da sei diverse nazioni, ricevute tra il 1981 e il 2005, che però comprendevano non solo linfomi di tipo

MALT ma anche altri tipi di lesioni della regione orbitaria (linfomi non marginali – LNM - e varie patologie quali calazi, pterigi, ecc.). In queste due tabelle riassumiamo i risultati di questo studio:

Caratteristiche	G.Bretagna ¹	Germania	Olanda	Italia ²	Cina ³	USA ⁴	Totale
N° .pazienti	80	37	24	21	59	25	246
età media	64*	58	62	61	60°		
uomini:donne	0.9*	1.3	0.6	0.5	2.6°	1.3	
Diagnosi							
MALT	33	19	21	15	37	17	142
LNM ⁵	7	9	3	6	20	8	53
altro	40	9	---	---	2	---	51
Sede							
Congiuntiva	50"	22	22	9	1	10	114
Orbita	5"	13	2	10	49	9	88
Altro	6"	2	---	2	9	6	25

1) 51 casi provenienti da Londra, 19 da Manchester e 10 da Cambridge

2) 13 casi provenienti da Ancona e 8 da Bologna

3) 29 casi provenienti da Canton, 15 da Hainan e 15 da Shanghai

4) provenienti dalla costa Est

5) 21 linfomi follicolari, 13 linfomi mantellari, 11 linfomi a grandi cellule B e 8 linfomi a cellule T/NK

* esclusi 19 casi provenienti da Manchester e i casi di altre patologie, i cui dati non erano disponibili

° esclusi 29 casi provenienti da Canton i cui dati non erano disponibili

" esclusi 19 casi provenienti da Manchester i cui dati non erano disponibili

Chlamydia	Diagnosi	G.Bretagna %	Germania %	Olanda %	Italia %	Cina %	USA %	Totale %
C. psittaci	MALT	12	47	29	13	11	35	22
	LNM	14	0		0	10	0	9
	Altro	10	11	---	---	0	---	10
C.pneumoniae	MALT	17	21	0	0	22	0	13
	LNM	0	0	0	17	10	0	6
	Altro	25	22	---	---	0	0	6
C.trachomatis	MALT	20	5	17	7	0	14	9
	LNM		0		0	0		11
	Altro	25	0	---	---		---	20

Da questo studio si evidenzia una certa correlazione tra *C. psittaci* e linfomi MALT dell'orbita e degli annessi oculari, ma questa associazione è molto variabile tra zona e zona, con medie che vanno dall'11% al quasi 50% a seconda delle aree geografiche considerate. Evidente anche la discrepanza tra questo studio e quello di Ferreri in cui la percentuale di DNA di *Chlamydia* trovata era dell'87%, mentre tra i casi italiani di questa revisione la percentuale scende al 13%; così come discrepanti sono le percentuali tra i dati di questo studio per quanto riguarda gli Stati Uniti d'America: infatti in questa revisione, in cui le biopsie provenivano dalla East Coast, la *Chlamydia* nei linfomi MALT è stata riscontrata nel 35%, mentre in altri studi effettuati nel sud della Florida e a Rochester (New York) questo batterio non era stato ritrovato in nessuna delle biopsie effettuate. Tutto questo sembra dimostrare che la variabilità dell'associazione *C. psittaci*-linfomi MALT non solo dipende da aree geografiche diverse, ma anche dalle diverse parti di una stessa nazione. La causa di questa variabilità è tutt'ora sconosciuta: può forse dipendere dalle diverse abitudini di vita, in quanto questo batterio è più spesso associato in persone che vivono con animali domestici (soprattutto uccelli e gatti). Comunque, sempre da questo studio, emerge un altro dato importante: il ritrovamento di DNA della *Chlamydia psittaci*, in genere, è molto più spesso associato ai linfomi MALT che agli altri tipi di linfomi o alle altre patologie oculari, sostenendo la teoria che esso possa essere implicato nella patogenesi dei linfomi MALT; inoltre, gli altri microrganismi investigati in questo studio non sembrano avere una così importante associazione. Naturalmente ancora molti altri studi devono essere intrapresi per dimostrare una effettiva causa-effetto tra questo batterio e i linfomi MALT, così come si debbono ancora studiare altri tipi di microrganismi che sono in grado di provocare una patologia cronica a livello oculare e perciò essere possibili fattori di rischio per questo tipo di linfomi.

2. TERAPIA

I linfomi MALT dell'orbita e degli annessi oculari, sono nella maggior parte dei casi di natura indolente, e a tutt'oggi sono trattati spesso con la sola *radioterapia*¹⁷⁻¹⁸⁻¹⁹⁻²⁰, anche se molti studi hanno segnalato un'incidenza piuttosto alta di effetti collaterali anche importanti²¹⁻²²⁻²³. Nonostante questo i dati della letteratura riportano²⁴⁻²⁵⁻²⁶ che con la sola radioterapia si ha un controllo locale del tumore nel 98-100% dei pazienti e che non si hanno recidive a distanza nel 75% dei casi negli stadi IE, con una sopravvivenza a 10 anni che va dal 73 all'81%. La dose ottimale non è stata ancora ben definita, in quanto dipende molto dall'estensione del tumore, ma tutti i dati della letteratura concordano sul

fatto che dosi superiori a 36-40 Gy inducono a *complicanze oculari* molto importanti: una grave secchezza oculare si osserva per dosi sopra 30-40 Gy²⁷⁻²⁸, mentre un glaucoma neovascolare è stato osservato nel 14% dei pazienti che hanno subito radioterapie a dosi superiori a 50 Gy²⁹. Da notare che questa grave complicanza è stata segnalata anche in un altro studio ma a dosi molto inferiori, e cioè di 34.2 Gy³⁰. A distanza di tempo, anche di anni, dalla radioterapia, si osserva poi, con una certa frequenza, lo sviluppo di cataratta, anche se questa complicanza, vista l'età media avanzata dei pazienti con linfomi MALT, non è da considerarsi una evenienza così infausta. I dati della letteratura, comunque, concordano sul fatto che la dose ottimale sia di 30-30.6 Gy, in quanto al di sotto di questa le recidive del tumore sono molto frequenti, e al di sopra, come sopradetto, si possono avere gravi complicanze. Naturalmente, per evitare il più possibile gli effetti collaterali, sono raccomandati trattamenti radioterapici molto frazionati, così da razionare il più possibile la dose: per terapie di 30 Gy si eseguono 20 sedute ognuna di 1.5 Gy, mentre per dosi di 30.6 Gy le sedute sono 17, con dosi frazionate di 1,8 Gy. E' chiaro, da questi dati, che l'impegno dei pazienti sottoposti a radioterapia è molto alto, in quanto devono sottoporsi a numerose applicazioni, incidendo in maniera significativa sulla loro qualità della vita, considerando anche il fatto che molti di questi sono anziani e spesso devono essere accompagnati dai familiari, ponendo non pochi problemi organizzativi a tutta la famiglia. Inoltre, nella maggior parte dei centri dove si effettua la radioterapia, le liste di attesa sono molto lunghe, e pur essendo neoplasie a lenta evoluzione, non è sempre facile convincere i pazienti che la loro terapia deve essere ritardata. Per questi motivi, ultimamente, sempre più studiosi e clinici, stanno approntando dei protocollo terapeutici diversi dalla radioterapia.

Per quanto riguarda la *chemioterapia* può essere effettuata con un singolo farmaco o con un'associazione di farmaci. La monoterapia è limitata alle forme localizzate (stadio IE) e sono stati studiati molti tipi di farmaci quali l'Interferone-alfa³¹, il Chlorambucil³², il Fludarbine³³, il Rituximab³⁴. Ben Simon ed i suoi collaboratori³² hanno trattato 33 pazienti con linfoma MALT dell'orbita o degli annessi con il solo Chlorambucil, utilizzando una dose totale, a fine trattamento di 600 mg: essi hanno ottenuto una remissione completa in 26 pazienti (79%), mentre per sette pazienti (21%) si è dovuti ricorrere a terapie aggiuntive in quanto dopo il trattamento presentavano recidive locali o a distanza (un paziente è deceduto per trasformazione del linfoma MALT in un linfoma a grandi cellule B). Ferreri³⁴ ed altri hanno trattato otto pazienti con linfoma MALT dell'orbita con il solo Rituximab (375 mg/m² per infusione endovenosa 1 volta alla settimana per 4 settimane e poi 1 volta

al mese per 4 mesi): di questi otto pazienti cinque avevano un tumore primitivo dell'orbita, tre una recidiva. Dei cinque pazienti con tumore primitivo, tre hanno ottenuto una remissione completa, mentre due solo parziale, mentre nessuno dei pazienti che avevano la recidiva ha ottenuto nessun beneficio dal trattamento con Rituximab. Al contrario, Nuckel et al.⁵⁵, in Germania, hanno trattato due recidive di linfoma MALT dell'orbita (precedentemente trattate con radioterapia) con il solo Rituximab, ottenendo in un caso la remissione completa e nell'altro solo parziale.

La chemioterapia con più farmaci si utilizza invece, preferenzialmente, nelle forme disseminate di linfomi MALT e le associazioni più utilizzate sono la CHOP (Ciclofosfamide, Idrossidaunorubicina, Vincristina, Prednisone)³⁵ e la MCP (Mitoxantrone, Chlorambucil e Prednisone)³⁶. Anche queste hanno dato dei buoni risultati, ma chiaramente la tossicità e gli effetti collaterali conseguenti sono molto più importanti rispetto all'uso di un singolo agente chemioterapico.

SCOPO DELLA RICERCA

Fino a pochi anni fa, i linfomi orbitari ed in particolare i linfomi MALT dell'orbita e degli annessi oculari sono stati trattati con la radioterapia con risultati eccellenti dal punto di vista della remissione del tumore anche se con effetti collaterali che incidavano sulla qualità della vita dei nostri pazienti: fra questi soprattutto la xeroftalmia e un'epifora abbondante per chiusura dei puntini lacrimali. Nonostante non siano complicanze gravi, come le retiniti o il glaucoma neovascolare, queste due condizioni causano molto disagio ai pazienti: la xeroftalmia, soprattutto, provoca sintomi soggettivi quali il bruciore, la sensazione di corpo estraneo fino a dolore intenso per abrasioni corneali, ed induce il paziente a istillazioni continuative di sostituti lacrimali in colliri o gel e qualche volta è necessaria l'applicazione di lenti a contatto terapeutiche.

Per questi motivi, per la cura alternativa di questi tumori sono stati utilizzati molti tipi di farmaci somministrati in monoterapia o in associazione^{31,32,33,34}: tuttavia in uno studio del 2004, Seymour⁵¹ rileva che i linfomi non Hodgkin indolenti diffusi sono risultati incurabili con regimi convenzionali di chemioterapia e che più del 50% dei pazienti era morto entro 5 anni dalla prima ricaduta. L'autore ha analizzato la letteratura mettendo in rilievo che il Rituximab (anticorpo monoclonale anti-CD20), congiuntamente alla chemioterapia, permette invece di ottenere ottimi risultati, aumentando significativamente la sopravvivenza dei pazienti. Tuttavia fa notare come i dati fino ad ora raccolti hanno un follow-up troppo breve (in media 24-36 mesi) e che è necessario proseguire con gli studi per accreditare l'ipotesi che la chemioterapia in associazione con Rituximab possa davvero essere efficace.

Sulla base di queste premesse, lo scopo di questa ricerca è stato quello di sperimentare e validare, nei pazienti con linfomi MALT a livello orbitario, una terapia medica alternativa alla radioterapia, gravata da effetti collaterali locali, cercando di mantenere gli stessi standard di efficacia.

In collaborazione con la Clinica di Ematologia dell'Università degli Studi di Firenze, abbiamo perciò deciso di intraprendere questo nuovo protocollo terapeutico, utilizzando una chemioterapia che si avvale dell'associazione di due farmaci, il Rituximab e il Chlorambucil.

In letteratura l'esperienza sul trattamento dei linfomi MALT primitivi dell'orbita e degli annessi con questo tipo di associazione chemioterapica è ancora molto limitata: sia il Rituximab che il Chlorambucil sono stati finora utilizzati soprattutto nel trattamento delle recidive locali dei linfomi orbitari MALT ed in genere sono somministrati isolatamente^{32,34,52}; oppure sono stati impiegati per la terapia di altri tipi di NHL extranodali, quali i linfomi mantellari o follicolari⁵³.

In tutti gli studi svolti fino ad ora è emerso che questi due farmaci, da soli o in associazione, hanno una bassa tossicità generale, provocando molto raramente effetti collaterali generali, soprattutto di tipo ematologico, e nessun effetto collaterale a livello locale.

MATERIALI E METODI DELLA RICERCA

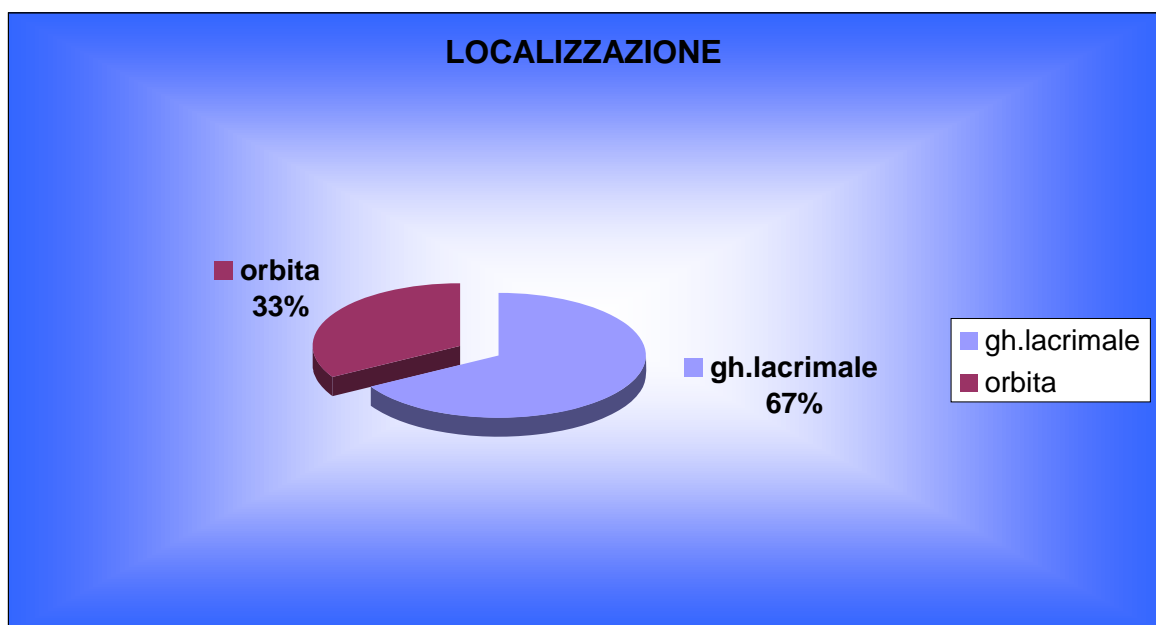
Dal 2003 al 2006 abbiamo arruolato in questo studio nove pazienti affetti da linfoma tipo MALT dell'orbita e degli annessi oculari: 5 femmine e 4 maschi; l'età media era di 71 anni (56-86); in tutti i casi lo stadio della malattia era IA:

	Età alla diagnosi	Istologia	Stadio
Paziente A.V. (maschio)	67	MALT	IA
Paziente C.A. (femmina)	86	MALT	IA
Paziente G.M. (femmina)	79	MALT	IA
Paziente L.E. (femmina)	65	MALT	IA
Paziente M.C. (femmina)	78	MALT	IA
Paziente M.A. (maschio)	68	MALT	IA
Paziente P.M. (maschio)	69	MALT	IA
Paziente Q.G. (maschio)	56	MALT	IA
Paziente S.C. (femmina)	78	MALT	IA

Il numero apparentemente esiguo dei pazienti da noi studiati e trattati, è correlabile con l'estrema rarità dei linfomi MALT a livello orbitario come si evince anche da altre casistiche: Ferreri⁴² ha isolato in 14 anni solo 24 casi con una media di 1,7 l'anno; Chanudet⁵⁰ ha revisionato 246 biopsie di malattie linfoproliferative dell'orbita e degli annessi, isolando in 24 anni solo 44 casi di linfomi MALT, con una media di 1,8 l'anno. Ancora, Rosado⁴⁸ in 14 anni ha avuto 55 pazienti affetti da questo tipo di tumore, con una media di 3,9 l'anno (la più alta riportata in letteratura); Liu⁵⁴ in 9 anni ha selezionato 12 pazienti, con una media di 1,3 l'anno; infine, Vargas⁴⁷ in 5 anni ha avuto 7 pazienti, con una media di 1,4 l'anno. Pertanto la nostra casistica di 9 casi in 3 anni (media 3 casi l'anno) rappresenta un numero di pazienti significativo:

Autori	N° pazienti	Follow-up (anni)	Media casi/anno
Ferreri	24	14	1,7
Chanudet	44	24	1,8
Rosado	55	14	3,9
Liu	12	9	1,3
Vargas	7	5	1,4
<i>Nostro studio</i>	<i>9</i>	<i>3</i>	<i>3</i>

La localizzazione dei tumori in sei pazienti (67%) era a livello della ghiandola lacrimale (due bilateralmente), e in tre a livello dell'orbita (33.3%), di cui uno inglobava il muscolo retto superiore.



Confrontando i dati con la letteratura corrente si conferma che non ci sono significative differenze di incidenza tra maschi e femmine, anche se esiste una lieve prevalenza nelle donne, mentre molto diversi risultano i dati riguardanti la localizzazione primitiva del tumore:

SEDE	NOSTRA CASISTICA	LETTERATURA
Ghiandola lacrimale	67%	11%
Orbita	33%	29%
Congiuntiva	0%	51%

Dei sei pazienti con localizzazione del tumore a livello della ghiandola lacrimale, quattro hanno lamentato una tumefazione palpebrale lentamente progressiva - non dolente, con cute sovrastante perfettamente normale; all'ispezione, oltre al gonfiore palpebrale, era visibile a livello del fornice superiore, una volta stirata in alto la palpebra, una massa di colorito tipicamente rosa salmone, plurilobata, di consistenza molle. La biopsia della neoformazione ha permesso di diagnosticare un linfoma di tipo MALT. Uno dei pazienti con localizzazione a livello della ghiandola lacrimale, invece, aveva accusato solo sensazione di pesantezza al bulbo oculare e bruciore: dopo un anno è comparsa, anche in questo caso, una neoformazione sottopalpebrale, con le medesime caratteristiche dei primi quattro casi, e quindi l'oculista curante ha deciso di effettuare una biopsia. L'ultimo paziente, si era rivolto all'oculista perché da tempo accusava un arrossamento aspecifico della congiuntiva bulbare a livello temporale nei settori superiori, bruciore e sensazione di corpo estraneo, sintomi che non si erano attenuati con l'istillazione di vari colliri, ma anzi, col tempo, la zona arrossata era via via aumentata di dimensioni. La semplice ispezione della neoformazione, per le sue caratteristiche anatomiche, ha indotto lo specialista ad effettuarne un esame bioptico.

Dei tre pazienti con localizzazione a livello orbitario uno aveva notato un esoftalmo lentamente progressivo senza nessun disturbo associato ed aveva aspettato tre anni dall'inizio dei sintomi prima di rivolgersi ad un oculista; un'altra paziente aveva accusato sensazione di protrusione del bulbo ed anch'essa un esoftalmo invece più rapidamente progressivo (si è rivolta al medico specialista dopo cinque mesi). Questi esoftalmi erano di tipo assile, abbastanza riducibili, non accompagnati da altri sintomi oculo-palpebrali, e perciò deponevano per un processo espansivo endorbitario, sospetto convalidato dalle indagini radiologiche. L'ultimo dei pazienti aveva accusato inizialmente bruciore e sensazione di pesantezza e dopo tre mesi una diplopia verticale che ha

indotto l'oculista curante a eseguire una TAC dell'orbita, che ha evidenziato una neoformazione coinvolgente anche il muscolo retto superiore.

Globalmente il periodo intercorso tra l'inizio dei sintomi e la diagnosi di linfoma va da un minimo di 4 mesi ad un massimo di tre anni, con una media di 13 mesi.

Due pazienti, femmine, riferivano nell'anamnesi patologica remota carcinomi dell'intestino, per cui erano state sottoposte ad intervento chirurgico e a chemioterapia. Sempre due pazienti, un maschio e una femmina (una delle due operate per carcinoma intestinale), erano affetti da gammopatia monoclonale antecedenti alla diagnosi di MALT; infine un paziente era affetto da cardiopatia ipertensiva ed una paziente aveva avuto un'emorragia cerebrale nel 1998. Ad uno dei due pazienti con gammopatia monoclonale, con le indagini effettuate per la stadiazione del linfoma, era stata scoperta un'infezione attiva da HCV, per cui, prima di essere sottoposto alla chemioterapia per il tumore ha eseguito una terapia specifica per questa infezione. Nell'anamnesi patologica oculistica prossima e remota sette pazienti su nove non hanno riferito pregresse patologie a livello oculare né, quindi, uso di farmaci topici in maniera continuativa; una paziente riferiva un flemmone del sacco lacrimale a seguito di un lavaggio delle vie lacrimali e terapia con colliri antibiotici per circa due anni (con delle interruzioni); un'altra paziente riferiva un intervento di dacriocistectomia nel 1943 e una diagnosi di glaucoma cronico semplice sei mesi prima della diagnosi di linfoma. Due pazienti erano stati operati di cataratta qualche anno prima

A tutti i pazienti è stata eseguita una biopsia della lesione per la definizione della diagnosi, mentre per la stadiazione abbiamo richiesto a tutti i pazienti l'esecuzione di una TAC o RMN delle orbite, una biopsia osteomidollare (BOM), una TAC collo-torace-addome e gli esami ematici (emocromo, LDH, beta2-microglobulina, proteine totali e protidogramma, PCR e VES).

Tutti i nostri pazienti sono stati trattati con il seguente protocollo terapeutico:

- Rituximab 375 mg/m² per infusione endovenosa 1 volta alla settimana per 4 settimane e poi 1 volta al mese per 4 mesi

- Chlorambucil cp, tre compresse (da 2 mg ciascuna) al giorno per 45 giorni poi tre compresse per 15 giorni al mese per 4 mesi (dose totale finale di 600 mg)

1. RITUXIMAB

Il Rituximab è un anticorpo monoclonale chimerico murino/umano ottenuto con tecniche di ingegneria genetica, costituito da una immunoglobulina glicosilata con le regioni costanti IgG1 di origine umana e con le sequenze della regione variabile della catena leggera e della catena pesante di origine murina. Il Rituximab si lega alla proteina CD20, che si ritrova sulla superficie dei linfociti B e, virtualmente, sulla superficie di tutte le cellule neoplastiche dei linfomi di tipo MALT. Questo farmaco agisce attaccando sia i linfociti B maligni sia quelli normali; tuttavia, l'organismo è in grado di sostituire rapidamente eventuali globuli bianchi normali danneggiati, riducendo in tal modo sensibilmente il rischio di possibili effetti collaterali, tra cui si sottolineano:

1. *reazioni correlate all'infusione*: si osservano soprattutto durante la prima infusione, generalmente entro le prime due ore. Tali eventi sono principalmente febbre, brividi e rigidità; meno frequentemente sensazione di calore, angioedema, nausea, orticaria/rash cutanei, affaticamento, cefalea, irritazione della gola, rinite, vomito e dolore in sede tumorale. In rari casi si è riscontrata nei pazienti una esacerbazione di patologie cardiache preesistenti come l'angina pectoris o l'insufficienza cardiaca congestizia. Le reazioni infusionali possono essere correlate al rilascio di citochine e/o di altri mediatori chimici ma l'incidenza dei sintomi correlati all'infusione diminuisce sensibilmente nel corso delle infusioni successive.

2. *infezioni*: Rituximab induce una deplezione delle cellule B nel 70-80 % dei pazienti ma tale deplezione è stata associata a diminuzione delle immunoglobuline sieriche solo in una minoranza di pazienti. Per questo motivo gli eventi infettivi (batterici, virali o fungini) possono presentarsi con maggior frequenza durante la chemioterapia con questo farmaco.

3. *reazioni ematologiche* : anomalie ematologiche sono state riscontrate in una minoranza dei pazienti e sono generalmente lievi e reversibili.

4. *eventi cardiovascolari* : i più frequenti sono l'ipotensione e l'ipertensione.

Sulla base di questi dati è opportuno non trattare o comunque monitorare costantemente quei pazienti che hanno grosse masse tumorali o molte cellule neoplastiche circolanti, in quanto particolarmente esposti alla sindrome da rilascio di citochine. Devono essere attentamente monitorati anche i pazienti con anamnesi per patologie cardiache. Il Rituximab, inoltre, non deve essere somministrato a pazienti con infezioni attive e/o gravi (ad esempio tubercolosi, sepsi,...) o ai pazienti gravemente immunocompromessi. Si deve infine prestare attenzione nel considerare l'impiego di questo farmaco nei pazienti con anamnesi di infezioni ricorrenti o croniche o con condizioni sottostanti che possono ulteriormente predisporli a gravi infezioni.

2. CHLORAMBUCIL

Agisce come agente alchilante bifunzionale. Il probabile meccanismo d'azione prevede la formazione di un "cross-linkage" alla doppia elica del DNA ed una conseguente interferenza sulla replicazione del DNA stesso.

I principali effetti collaterali riportati in letteratura sono:

1. *ematologici*: il più comune è la mielosoppressione, ma nella maggior parte dei casi è reversibile con l'interruzione della terapia. Tuttavia, sono stati segnalati casi di aplasia midollare irreversibile, per cui è necessario uno stretto monitoraggio del paziente con settimanali controlli completi della formula ematica e dei livelli di emoglobina. Alle dosi terapeutiche il Chlorambucil riduce il numero dei linfociti ed ha minore effetto sulla conta dei neutrofili, delle piastrine e sui livelli di emoglobina. Non è necessario interrompere la terapia al primo segno di una riduzione dei neutrofili, ma si deve tenere presente che la riduzione può continuare per 10 giorni o più, dopo l'ultima dose. Non deve essere somministrato a pazienti da poco (almeno quattro settimane) sottoposti a radioterapia o che hanno ricevuto altri agenti citotossici.
2. *gastrointestinali*: raramente si hanno disturbi gastrointestinali come nausea, vomito, diarrea ed ulcerazioni orali.
3. *sistema nervoso centrale*: tremori, contrazioni muscolari, mioconia, confusione, agitazione, atassia, paresi flaccida ed allucinazioni sono stati segnalati come esperienze avverse rare che risolvono con la sospensione del farmaco.

Altre reazioni avverse segnalate includono: febbre, fibrosi polmonare, epatotossicità ed ittero, polmonite interstiziale e cistite sterile. Il Chlorambucil può anche causare soppressione della funzione ovarica e azoospermia (si ritiene tuttavia che il manifestarsi di tale effetto faccia seguito a dosi superiori ai 400 mg).

Il **follow-up** per tre pazienti è di 28 mesi, per due di 12 mesi, per tre poi è di 2-4 mesi, mentre per un paziente la terapia si è conclusa a dicembre 2006.

Per il follow-up, oltre alle visite di controllo, gli esami richiesti sono stati una TAC o RMN delle orbite, un'ecografia addominale e gli esami ematici; un paziente ha eseguito due PET di controllo.

RISULTATI

Dopo la terapia chemioterapica combinata l'esame oculistico ha dimostrato in tutti i pazienti la completa normalizzazione dei reperti precedentemente evidenziati.

Nessuno dei nostri pazienti, ha lamentato disturbi soggettivi durante l'infusione di Rituximab né durante il trattamento con Chlorambucil, né ha presentato reazioni locali alla terapia, a differenza di quanto si riscontra nei trattamenti radioterapici.

Allo stato attuale, nessuno di loro ha presentato segni di recidive né locali né a distanza, nei controlli semestrali sia di tipo radiologico che ematologico.

Nessuno dei nostri pazienti ha manifestato effetti collaterali significativi dovuti alla chemioterapia: mai si è dovuto interrompere il trattamento per problemi di tossicità a livello ematologico, nè sono state riscontrate altre reazioni avverse.

Inoltre il protocollo terapeutico da noi utilizzato ha inciso poco sulla qualità della vita dei nostri pazienti, in quanto le infusioni di Rituximab hanno richiesto un impegno di una sola volta alla settimana per un mese e poi di una sola volta al mese per quattro mesi. Il Chlorambucil, essendo in compresse, poteva essere assunto "comodamente" a casa propria.

CONCLUSIONI

I linfomi di tipo MALT dell'orbita e degli annessi oculari, sono dei tumori rari, rappresentando meno dell'1% di tutti i casi di NHL nodali ed extranodali, e l'8% di tutti i NHL extranodali. Sono neoplasie di tipo indolente che progrediscono molto lentamente e nella maggior parte dei casi vengono diagnosticate allo stadio IE, cioè quando sono ancora localizzati.

Negli ultimi anni l'incidenza dei linfomi MALT è molto aumentata e non è ancora chiaro se questo dato sia da correlarsi ad un'infezione da parte di qualche microrganismo a livello dell'orbita o degli annessi, come invece è stato dimostrato per i linfomi MALT gastrici. Alcune evidenze imputerebbero all'infezione da *Chlamydia psittaci* questo ruolo, anche se i dati della letteratura, per ora, sono discordanti.

A tutt'oggi la maggior parte degli Autori concorda che la migliore terapia per i linfomi orbitari sia la radioterapia, in quanto porta nella maggior parte dei casi alla remissione del tumore e comporta raramente effetti collaterali importanti. Comunque questi incidono in maniera significativa con la qualità della vita, in quanto spesso comportano epifora (per chiusura dei puntini lacrimali), una xeroftalmia quasi sempre sintomatica, cataratta, cheratocoguntiviti, eritema ed edema periorbitario.

In tempi recenti in alcuni centri, soprattutto in pazienti anziani o con controindicazioni al trattamento radioterapico, si è iniziato un trattamento alternativo dei linfomi MALT dell'orbita, utilizzando isolatamente o il Rituximab o il Chlorambucil, con risultati efficaci in un'alta percentuale dei pazienti ma con una certa incidenza di recidive a distanza di tempo^{32,34,55}.

Sulla base di questi risultati non del tutto soddisfacenti e in considerazione degli ottimi risultati ottenuti con l'associazione dei due farmaci nel trattamento dei NHL extranodali di tipo mantellare e follicolare⁵²⁻⁵⁶⁻⁵⁷⁻⁵⁸, si è voluto sperimentare questo tipo di associazione anche nei linfomi MALT orbitari.

La nostra esperienza, se pur limitata a pochi casi per la rarità della malattia, ha dimostrato che il trattamento chemioterapico combinato con Rituximab e Chlorambucil è risultato

efficace e nello stesso tempo privo di complicanze locali e generali. E' importante sottolineare che, a differenza dei trattamenti radioterapici, nessuno dei nostri pazienti ha lamentato disturbi oftalmologici a carico dell'orbita e degli annessi oculari, né ha presentato nessuno degli effetti collaterali di tipo generale riportati in molti trattamenti chemioterapici (caduta di capelli, nausea, vomito,...). Infine nessuno dei pazienti ha presentato alterazioni ematologiche significative; in nessun caso è stato necessario interrompere la terapia.

Tuttavia, a fronte di questi risultati positivi, il follow-up relativamente breve dei pazienti da noi trattati (analogamente con altre esperienze riportate nella letteratura fino ad oggi pubblicata) è ancora troppo breve per poter essere certi della reale efficacia della chemioterapia da noi scelta anche nel lungo periodo. Ci conforta il fatto che nei pazienti che hanno un follow-up superiore ai due anni, fino ad oggi non si sono riscontrate recidive locali né segni di diffusione della malattia a distanza, come risulta dagli esami TAC e RMN effettuati.

In conclusione riteniamo che la chemioterapia eseguita con l'associazione tra Chlorambucil e Rituximab, possa essere una valida alternativa alla radioterapia nei linfomi MALT localizzati dell'orbita e degli annessi oculari, essendosi dimostrata priva di effetti collaterali significativi ed efficace nel controllo del tumore sia a livello locale, sia per quanto riguarda le possibili recidive a distanza, almeno per il periodo di osservazione da noi effettuato.

BIBLIOGRAFIA

1. International Agency of Research on Cancer – IARC – stime per l'anno 2000
2. Adamson P, Bray F, Costantini AS, Tao MH, Weiderpass E, Roman E. Time trends in the registration of Hodgkin and non-Hodgkin lymphomas in Europe. *Eur J Cancer* 2006; 27
3. F.D. Groves, M.S. Linet, L.B. Travis and S.S. Devesa. Cancer surveillance series: non-Hodgkin's lymphoma incidence by histologic subtype in the United States from 1978 through 1995. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:1240–51.
4. R. Cartwright, H. Brincker and P.M. Carli *et al.* The rise in incidence of lymphomas in Europe 1985–1992. *Eur J Cancer* 1999; 35:627–33.
5. Moslehi R, Devesa SS, Schairer C, Fraumeni JF Jr. Rapidly increasing incidence of ocular non-Hodgkin lymphoma. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98(13):936-9.
6. P. Hartge and S.S. Devesa. Quantification of the impact of known risk factors on time trends in non-Hodgkin's lymphoma incidence. *Cancer Res* 1992; 52:5566–69.
7. Cavalli F, Isaacson PG, Gascoyne RD, Zucca E. MALT Lymphomas. *Hemat. Am Soc Hemathol Educ Program* 2001; 241-58.
8. Gascoyne RD. Molecular pathogenesis of mucosal-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2003; 44 suppl3 13-20.
9. Greiner A, Knorr C, Seeberger H, et al. Tumor biology of mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas . *Recent Results Cancer Res* 2000; 156: 19-26.
10. Montalban C, Norman F. Treatment of gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: Helicobacter pylori eradication and beyond. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2006; 6(3) 361-71

11. Fischbach W. Helicobacter pylori eradication therapy in primary high-grade gastric MALT lymphoma. Gastroenterology 2001; 1025-26
12. Tanimoto K, Kaneko A, Suzuki S, Sekiguchi N, Maruyama D, Kim SW, Watanabe T, Kobayashi Y, Kagami Y, Maeshima A, Matsuno Y, Tobinai K. Long-term follow-up results of no initial therapy for ocular adnexal MALT lymphoma. Ann Oncol. 2006; 17(1):135-40.
13. Jae-Lyun L., Min-Kyoung K., et al. Extranodal marginal B-cell lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue-type of the orbit and ocular adnexal Ann Hematol 84 2005; 13-18.
14. Fung CY, Tarbell NJ, Luvarelli M, et al. Ocular adnexal lymphoma: clinical behavior of distinct World Health Organization classification subtypes. Int. Radiation Oncology Phys. 2003; Vol.57, No 5:1382-91.
15. Jenkins C, Rose GE, Bunce C et al. Histological features of ocular adnexal lymphoma (REAL classification) and their association with patient morbidity and survival. Br J Ophthalmol 2000; 84:907-13.
16. Fung CY, Tarbell NJ, Lucarelli MJ, Golberg SI, et al. Ocular adnexal lymphoma: clinical behavior of distinct World Health Organization classification subtypes. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2003; 57:1382-91.
17. Hasegawa M, Kojima M, Shioya M, et al. Treatment results of radiotherapy for malignant lymphoma of the orbit and histopathologic review according to the WHO classification. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2003; 57:172-6.
18. Tsang RW, Gospodarowicz MK, Pintilie M, et al. Stage I and II MALT lymphoma: results of treatment with radiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2001; 50:1258-64.
19. Uno T, Isobe K, Shikama M, et al. Radiotherapy for extranodal marginal zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue originating in the ocular adnexal: a multiinstitutional retrospective review of 50 patients. Cancer 2003; 98:865-71.

20. Suh CO, Shim SJ, Lee SW, Yang WI, et al. Orbital marginal zone B-cell lymphoma of MALT: radiotherapy results and clinical behaviour. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65:228-33.
21. Minehan KJ, Martenson JA, Garrity JA, et al. Local control and complications after radiation therapy for primary orbital lymphoma: a case for low-dose treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 20:791-96.
22. Stafford SL, Kozelsky TF, Garrity JA, et al. Orbital lymphoma: radiotherapy outcome and complications. *Radiother Oncol* 2001; 59:139-44.
23. Le Q, Eulau SM, George TI, et al. Primary radiotherapy for localized MALT lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 52:657-63.
24. Tsang R, Gospodarowicz MK, Pintilie M, et al. Localized mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma treated with radiation therapy has excellent clinical outcome. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4157-64.
25. Fung CY, Tarbell NJ, Lucarelli MJ, et al. Ocular adnexal lymphoma: clinical behaviour of distinct World Health Organization classification subtypes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 57:1382-91.
26. Le QT, Eulau SM, Gorge TI, et al. Primary radiotherapy for localized orbital MALT lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 52:657-63.
27. Le QT, Eulau SM, Gorge TI, et al. Primary radiotherapy for localized orbital MALT lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 52:657-63.
28. Smitt MC, Donaldson SS. Radiotherapy is successful treatment for orbital lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993; 26:59-66.
29. Takeda A, Shigematsu N, Suzuki S. Late retinal complications of radiation therapy for nasal and paranasal malignancies: relationship between irradiated-dose area and severity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 44: 599-605.

30. Bhatia S, Paulino AC, Buatti JM, et al. e radiotherapy for primary orbital lymphoma. Curativa. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2002; 54: 818-23.
31. Blasi MA, Gherlinzoni F, Calvisi G, Sasso P, Tani M, et al. Local chemotherapy with Interferon- α for conjunctival mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. Ophthalmology 2001; 108 (3):559-62.
32. Ben Simon GJ, Cheung N, McKelvie P, Fox R, McNab AA. Oral Chlorambucil for externodal marginal-zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue of the orbit. Ophthalmology 2006; 113(7):1209-13.
33. Zinzani PL, Stefoni V, Musuraca G, Tani M, Alinari L, Gabriele A, Marchi E, Pileri S, Baccarani M. Fludarabine-containing chemotherapy as frontline treatment of nongastrointestinal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. Cancer 2004; 100(10):2190-4.
34. Ferreri AJ, Ponzoni M, Martinelli G, Muti G, Guidoboni M, Dolcetti R, Doglioni C. Rituximab in patients with mucosal-associated lymphoid tissue-type lymphoma of the ocular adnexa. Haematologica 2005; 90(11):1578-9.
35. Yoon SS, Hochberg EP. Chemotherapy is an effective first line treatment for early stage gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. Cancer Treat Rev 2006; 32(2):139-43.
36. Wohrer S, Drach J, Hejna M, Scheithauer W, Dirisamer A, Puspok A, Chott A, Raderer M. Treatment of extranodal marginal zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma) with mitoxantrone, chlorambucil and prednisone (MCP). Ann Oncol. 2003; 14(12):1758-61.
37. Zucca E, Bretoni F, Roggero E, Cavalli F. The gastric marginal zone B-cell Lymphoma of MALT type. Blood, 2000; 96: 410-9.
38. Bertoni F, Zucca E. State of-the-art therapeutics: marginal-zone lymphoma. J Clin Oncol 2005;23:6415-20.

39. Ruskone-Fourmesttraux A., Lavergne A, Aegerter PH, Megraud F, Palazzo L, de Mascarel A, et al. Predictive factors for regression of gastric MALT lymphoma after anti-Helicobacter Pylori treatment. *Gut* 2001;48:297-303.
40. Roggero E, Zucca E, Mainetti C, Bertoni F, Valsangiacomo C, Pedrinis E, et al. Eradication of *Borrelia burgdoferi* infection in primari marginal zone B-cell lymphoma of the skin. *Human Pathol* 2000; 31:263-8.
41. Lecuit M, Abachin E, Martin A, Poyart C, Pochart P, Suarez F, et al. Immunoproliferative small intestinal disease associated with *Campylobacter jejuni*. *N Engl J Med* 2004; 350:239-48.
42. Ferreri AJ, Guidoboni M, Ponzoni M, De Conciliis C, Dell'Oro S, Fleischhauer K et al. Evidence for an association between *Chlamydia psittaci* and ocular adnexal lymphomas. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:586-94.
43. Ferreri AJM, Ponzoni M, Guidoboni M, Resti AG, Politi LS, Cortellazzo S, et al. Bacteria-eradicating therapy with doxycycline in ocular adnexal MALT lymphoma: a multicenter prospective trial. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98:936-9.
44. Bertoni F, Zucca E. State of-the-art therapeutics: marginal-zone lymphoma. *J Clin Oncol* 2005;23:6415-20.
45. Ruskone-Fourmesttraux A., Lavergne A, Aegerter PH, Megraud F, Palazzo L, de Mascarel A, et al. Predictive factors for regression of gastric MALT lymphoma after anti-Helicobacter Pylori treatment. *Gut* 2001;48:297-303.
46. Moslehi R, Devesa SS, Schairer C, Fraumeni JF Jr. Rapidly increasing incidence of ocular non-hodgkin lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:936-9.
47. Vargas RL, Fallone E, Felgar RE, Friedberg JW, Arbini AA, Andersen AA, Rothberg PG. Is there an association between ocular adnexal lymphoma and infection with *Chlamydia psittaci*? The University of Rochester Experience. *Leuk Res* 2005;30:547-51.

48. Rosado MF, Byrne GE Jr, Ding F, Fields KA, Ruiz P, Dubovy SR, et al. Ocular adnexal lymphoma: a clinicopathologic study of a large cohort of patients with no evidence for an association with *Chlamydia psittaci*. *Blood*, 2006; 107:467-72.
49. Zhang GS, Winter JN, Variakojis D, Reich S, Lissner GS, Bryar P, et al. No association between *Chlamydia psittaci* and ocular adnexal lymphoma in North America samples. *Blood* 2005; 106:abstr 999.
50. Chanudet E, Zhou Y, Bacon CM, Wotherspoon AC, Muller-Hermelink H-K, Adam P, et al. *Chlamydia psittaci* is variably associated with ocular adnexal MALT lymphoma in different geographical regions. *J of Path* 2006; 209:344-51.
51. Seymour JF. New treatment approaches to indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol*.
52. Hainsworth JD, Litchy S, Burris HAIII, Scullin DC, Corso SW Jr, Yardley DA, Morrissey L, Greco FA. Rituximab as First-Line and Maintenance Therapy for Patients With Indolent Non-Hodgkin's Lymphoma. *J of Clin Oncology* 2002; 20(15):4261-67. 2004; 31(1 Suppl 2): 27-32.
53. Martinelli G, Laszlo D, Bertolini F, Pastano R, Mancuso P, Calleri A, Vanazzi A, Santoro P, Cavalli F, Zucca E. Chlorambucil in combination with induction and maintenance rituximab is feasible and active in indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol*. 2003;123(2):271-7.
54. Liu YC, Ohyashiki JH, Ito Y, Iwaya K, Serizawa H, Mukai K, Goto H, Usui M, Ohyashiki K. *Chlamydia psittaci* in ocular adnexal lymphoma: Japanese experience. *Leukemia Research* 2006; 30:1585–95.
55. Nuckel H, Meller D, Steuhl K-P, Duhrsen U. Anti-CD20 monoclonal antibody therapy in relapsed MALT lymphoma on the conjunctiva. *Eur J Haematol* 2004; 73:258-62.
56. Ghielmini M, Schmitz S-F, Cogliatti SB, Pichert G, et al Prolonged treatment with rituximab in patients with follicular lymphoma significantly increases event-free survival and response duration compared with the standard weekly_4 schedule. *Blood* 2004; 4416-22

57. Conconi A, Martinelli G, Thie ´blemont C, Ferreri A's JM, Devizzi L, Peccatori F, Ponzoni M, et al. Clinical activity of rituximab in extranodal marginal zone B-celllymphoma of MALT type. *Blood* 2003;102 (8): 2741-45

58. Bauwens D, Maerevoet M, Michaux et al. Activity and safety of combined rituximab with chlorambucil in patients with mantle cell lymphoma. *Br J Haematol* 2004; 131:338–340