

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA**

**ȘCOALA DOCTORALĂ**

**TEZĂ DE DOCTORAT**

**REZUMAT**

**STUDIUL CLINIC, IMUNOHISTOCHEMIC ȘI VIRUSOLOGIC AL  
CANCERULUI DE RINOFARINGE**

***CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:***

**PROF. UNIV. DR. ELENA IONIȚĂ**

***STUDENT - DOCTORAND:***

**CIOROIANU LUMINIȚA**

**CRAIOVA 2013**

## Introducere

Cancerul este o problemă de sănătate publică, prin frecvența ridicată în rândul populației, consecințele negative și impactul pe care le determină în plan social și economic.

Cancerul reprezintă o entitate cu impact mare asupra individului, familiei și societății în general, fiind a doua cauză de morbiditate și mortalitate, după bolile cardiovasculare dominând tabloul morbid al secolului XXI.

Diagnosticarea cancerului trebuie să se facă în unități medicale specializate corelând mai multe tehnici de diagnosticare, efectuând o evaluare completă a cazului care să indentifice gradul de extindere a tumorii și să permită indentificarea celei mai eficiente scheme de conduită terapeutică.

Actual, evidența bolnavilor de cancer se regăsește în baza Registrului Național de Cancere(RNC) a cărei funcționalitate este asigurată cu eforturi susținute în mare parte prin Programul Național de Cancere (PNC).

Cancerul de rinofaringe reprezintă o afecțiune neoplazică rară în cele mai multe regiuni ale lumii, cu o incidență mai mică de 1 la 100000 de locuitori, fiind una dintre cele mai confuze, puțin înțelese, greșit și tardiv diagnosticate boli. În ultimele decade această maladie a atras atenția lumii întregi datorită complexelor interacțiuni genetice, virale, de mediu și dietă, toate acestea putând fi asociate cu etiologia acestei boli.

Cancerul de rinofaringe reprezintă 2% din totalitatea cancerelor dezvoltate la nivelul capului și gâtului și deoarece cavumul este o zonă "mută" din punct de vedere funcțional este necesar studiul aprofundat al etiopatogeniei, stabilirea și urmărirea criteriilor de diagnostic în vederea diagnosticării precoce și instituirii tratamentului adecvat în timp util.

Cancerul de rinofaringe reprezintă o problemă importantă a sănătății mondiale în ceea ce privește descoperirea lui în stadii incipiente ale bolii prin evaluări clinice, imunohistochimice și serologice în special a populațiilor expuse la factorii de risc incriminați în apariția acestei boli și ținând cont de faptul că această neoplazie are o distribuție geografică bine definită, cel mai frecvent afectând populația din sudul Chinei și sud-estul Asiei.

În prezentul proiect propunem să efectuăm un studiu al pacienților cu cancer de rinofaringe pe o perioadă determinată, încercând să susținem existența unei corelații între factorii de mediu, ereditate, vârsta și infecția cu virus Epstein-Barr(EVB). Determinarea anticorpilor anti-EVB și folosirea acestora ca marker tumoral constituie o preocupare a cercetătorilor în domeniu, încercând astfel să demonstreze importanța deosebită pe care infecția latentă cu virus Epstein-Barr o are în apariția cancerului rinofaringian.

Cancerul de cavum, a cărui incidență este în ultimii ani în continuă creștere și în țara noastră, deși cunoscut din antichitate ca entitate patologică, ridică importante și interesante probleme de diagnostic și tratament, aspecte pe care lucrarea de față a încercat să le surprindă printr-un studiu clinico-statistic al cazurilor internate în Clinica ORL Craiova pe o perioadă de 10 ani (2003-2012).

Problemele deosebite de stabilire a diagnosticului derivă, în primul rând, din accesibilitatea redusă a acestei regiuni anatomice, în central masivului craniofacial, examinarea cavumului fiind cert cel mai greu examen practicat în specialitatea ORL și, totodată, foarte greu de interpretat. Cavumul este o regiune foarte bogată în țesut limfatic, care este, deseori, invadat de produsul neoplazic al epitelului sau al țesutului de susținere, determinând forme ce creează confuzii în clasificarea acestor tumori și aprecierea lor din punct de vedere histopatologic.

Pe lângă particularitățile anatomice, de structură și de raporturi complexe, modalitatea de debut, evoluția lungă și mută, conjugate mai târziu cu simptomatologia de împrumut de la organele vecine și, pe de altă parte, greutatea unui examen de calitate, întârzie frecvent diagnosticul și aplicarea tratamentului având drept consecință agravarea prognosticului.

Pe plan epidemiologic, își face loc tot mai mult ipoteza verificată clinic și experimental, a originii virotice a unor forme ale acestei localizări neoplazice. Se pune în discuție și constatarea că la anumite populații (perimediteraneene și din sudul Chinei), frecvența acestei localizări este mai ridicată decât la populația din alte regiuni geografice.

Ținând cont de aceste particularități de diagnostic, evolutive și epidemiologice, se impune un efort deosebit de cercetare și cunoaștere cât mai aprofundată a aspectelor clinice, cu modalități multiple de debut, forme clinice, posibilități de investigare paraclinică, pentru instituirea unui tratament cât mai precoce, și de o cât mai bună calitate. S-a observat că, în materie de tratament, aportul radioterapeuților a crescut calitativ în ultimii ani, valorificând achizițiile tehnicii moderne.

Deși s-a constatat un număr mic de cazuri de cancer de cavum, studiul efectuat axat pe particularitățile etiopatogenice, clinice, evolutive de prognostic și tratament, se alătură cercetării de amploare crescândă a acestei patologii, dat fiind caracterul de gravitate al afecțiunii, în scopul descoperirii unor metode cât mai rapide de diagnostic, pentru o intervenție terapeutică eficientă, care să prelungească confortul, calitatea vieții și durata de supraviețuire a pacientului.

## **Anatomia rinofaringelui**

Faringele este o răspântie aero-digestivă, sub forma unui conduct semicilindric, care leagă fosele nazale cu laringele și cavitatea bucală cu esofagul. Se întinde de la baza craniului de la marginea superioară a vertebrei a VI-a cervicale, străbatând regiunea cefalică și cervicală. Prezintă trei segmente suprapuse: superior, mijlociu și inferior (Byron J. Bailey 2006). Dacă se examinează faringele pe o

secțiune vertico-transversală ne apare ca un conduct neregulat, infundibuliform, suspendat în sus prin baza sa la fața inferioară a craniului, continuându-se în jos prin vârful său cu esofagul.

Rinofaringele, nazofaringele sau cavumul, reprezintă segmentul superior al faringelui. Acesta prezintă: un perete anterior format din choane, prin care comunică cu fosele nazale; un perete posterior arcuit înainte, ce corespunde arcului anterior al atlasului; doi pereți laterali care au, fiecare, orificiul faringian al trompei lui Eustachio, în jurul căruia există un conglomerat limfatic (amigdala lui Gerlach) și înapoia lui o depresiune (foseta lui Rosenmüller); un perete superior, bolta sau tavanul cavumului ce corespunde apofizei bazilare a occipitalului și conține amigdala faringiană a lui Luschka; un perete inferior, virtual, care devine real în deglutiție și fonație prin ridicarea și alipirea vălului palatin de peretele posterior al faringelui (în repaus, vălul palatin atârna inert, ca o perdea către bucofaringe) (Obreja S. 1998, Ioniță E.2003, Becker W.1999).

Mucoasa rinofaringiană este formată dintr-un epiteliu cilindric stratificat și epiteliu ciliat, care pe măsură ce coboară spre orofaringe, tinde să devină pavimentos (Poirier J. 1999).

Limfatice: vasele limfatice ale rinofaringelui se deschid în ganglionii retrofaringieni (foarte importanți în prima copilărie ) și de aici în grupul superior al lanțului ganglionar jugular intern și spinal posterior. Vasele limfatice sunt încrucișate, ceea ce explică precocitatea apariției adenopatiilor bilaterale. Ganglionii retrofaringieni sunt situați lateral față de corpul atlasului și imediat înăuntrul pachetului carotidian. Ganglionul cel mai frecvent invadat și patognomonic pentru cancerul rinofaringelui este situat profund retromandibular, dedesubtul porțiunii superioare a m. sternocleidomastoidian, în apropierea mastoidei. În ordinea frecvenței urmează lanțul spinal, triunghiul cervical posterior, grupul cervical sau jugular mijlociu și supraclavicular. Rar, pot fi interesați ganglionii submandibulari, submentonieri sau preauriculari (Anghelide R. 1986, Licitra L. 2004).

Inervația motorie este asigurată de nervul glosofaringian(IX) pentru constrictorul superior, mușchiul faringo-stafilin și stilofaringian și de nervul vag(X) pentru ceilalți mușchi constrictori (Ballenger J.J. 2008).

Inervația senzitivă este asigurată de ramuri din glosofaringian, vag și simpaticul cervical care realizează plexul faringian (Papilian V. 1993).

### **Fiziologia rinofaringelui**

Funcțiile pe care le îndeplinește faringele sunt: de deglutiție, de respirație, fonație, audiție și de apărare. La îndeplinirea acestor funcții complexe iau parte numeroase țesuturi și organe, a căror coordonare și punere în funcții se fac prin intermediul sistemului nervos.

**Deglutiția** este funcția principală a faringelui, acțiune prin care bolul alimentar format în cavitatea bucală este împins în esofag, iar de aici mai departe în stomac. Deglutiția are trei timpi: timpul bucal, timpul faringian și timpul esofagian.

**Respirația.** În timpul respirației rinofaringele comunică cu bucofaringele, vălul palatului atârând prin relaxarea întregului faringe, astfel încât aerul din fosele nazale trece în laringe. Aerul este încălzit de mucoasa faringiană care este bogat vascularizată, umezit și purificat prin secreția glandelor mucoase și epiteliul cilindric ciliat al nazofaringelui.

**Fonația** este una din cele mai complexe funcții la care conlucrează o serie de organe ca: buzele, limba, faringele, laringele, plămânii și sinusurile feței. Această conlucrare armonioasă este posibilă cu ajutorul rolului coordonator al scoarței cerebrale. Sunetul fundamental, numit “sunet de coardă”, rezultat prin vibrația corzilor vocale la trecerea curentului de aer expirat, capată intensitate, înălțime și timbru la nivelul cavităților faringiene, nazale și bucale, formându-se astfel vocea vorbită și cântată. La acest sunet fundamental se adaugă sunetele armonice rezultate din vibrația aerului în cavitatea de rezonanță care este faringele (Călărașu 2002).

**Audiția.** Actul înghițirii, care este al doilea timp al deglutiției, se însoțește de deschiderea trompei lui Eustachio prin contracția mușchilor, aerul ce pătrunde în urechea medie permițând o presiune egală cu cea atmosferică, asigurându-se astfel o audiție normală (Sarafoleanu D.2000).

**Funcția de apărare.** Prin sensibilitatea și motilitatea lui, faringele expulzează orice lichid fierbinte, caustic sau neplăcut, sau orice corp străin, luând parte și la reflexul de vomă prin exercitarea bazei limbii și a peretelui posterior (reflexul faringian).

Sistemul limfoid faringian (inelul Waldeyer) intervine prin amigdala faringiană a lui Luschka și prin amigdalele tubare în fiziologia faringelui, cu acțiune proprie a sistemului limfatic general (Mogoantă L. 2004).

Prin originea sa reticulo-histocitară, țesutul limfoid faringian are în principal rol de apărare microbiană și în desfășurarea proceselor imunologice (Raica M. 2002). Acest țesut este inclus în amigdale (ce aparțin inelului limfatic al lui Waldayer) și produce limfocite timodependente (lyT) cu rol în imunitatea celulară și limfocite timoindependente (lyB) cu rol în imunitatea umorală (în producerea de imunoglobuline G,A,M,D,E).

## **Epidemiologia și etiopatogenia cancerului de rinofaringe**

Cancerul de rinofaringe reprezintă o problemă importantă a sănătății mondiale în ceea ce privește descoperirea lui în stadii incipiente ale bolii prin evaluări clinice, imunohistochimice și serologice, în special a populațiilor expuse la factorii de risc incriminați în apariția acestei boli și ținând cont de faptul

că această neoplazie are o distribuție geografică bine definită, cel mai frecvent afectând populația din sudul Chinei și sud-estul Asiei.

**Frecvența** este variabilă. În medie se admite că neoplasmul rinofaringian reprezintă 0,8-1% din cancere în general și 2% din cancerele aerodigestive superioare. Totuși, acest procent relativ scăzut nu trebuie să mascheze numărul de cazuri, deloc neglijabil, pe care le putem întâlni la populațiile mari. Statisticile nu pot cuprinde toate cazurile. Incidența este de la 0,19 la 53 cazuri la 100.000 locuitori în funcție de zonele geografice.

**Vârsta** medie este, în toate statisticile, în jur de 45 ani. Vârstele extreme sunt cuprinse în literatură, între 3 luni și 93 de ani. Totuși, rămâne cert din statistici că ponderea mare se întâlnește între 45 și 60 de ani.

**Sexul.** Datele diferă între statistici. Deși ambele sexe pot fi tributare, totuși, se observă o predominanță a cazurilor la bărbați.

**Repartizarea geografică** este o constatare mai nouă și căreia i se acordă, în ultimul deceniu, o importanță deosebită. S-a constatat că frecvența este foarte mare la populația din sudul Chinei, spre deosebire de locuitorii din nordul acestei țări, unde incidența este nesemnificativă. De asemenea, s-a constatat că chinezii din sudul Chinei emigrați în Statele Unite fac neoplasm de cavum, spre deosebire de chinezii născuți în Statele Unite, dar descendenți ai unor părinți emigrați din sudul Chinei.

Din punct de vedere **histologic**, cancerele epiteliale reprezintă 85%, cele limfoide 7-9%, iar cele conjunctive (limfosarcoame, reticulosarcoame, fibrosarcoame, mixo- și liposarcoame) 2%. Restul sunt de altă natură. Dintre cancerele epiteliale, pe primul loc sunt situate carcinoamele epidermoide și, dintre acestea, limfoepiteliomul constituie o formă particulară pentru localizarea rinofaringiană. Urmează apoi adenocarcinoamele dezvoltate pe seama glandelor seromucoase sau a glandelor salivare accesorii ale mucoasei cavumului (Junqueira Luiz Carlos 2005).

**Ipoteza originii virotice** a cancerelor nazofaringiene, și anume a formelor de epiteliom nediferențiat. S-a constatat că în multe cazuri, există o asociere între cancerul cavumului și virusul Epstein-Barr (E.B.). Acest virus infectează numai limfocitele tip B și determină o infecție latentă atât in vitro cât și in vivo. În ambele cazuri, celulele conțin genomul virusului Epstein-Barr și exprimă un antigen nuclear viral, care determină apariția de antigeni precoci și structurali. Celule care sintetizează acești antigeni dispar. Virusul Epstein-Barr este întâlnit la om în 2 forme de cancer: în limfomul Burkitt și în cancerul nazofaringelui. La un simpozion internațional ce a avut loc la Kyoto s-a ajuns la următoarele constatări: în limfomul Burkitt, boala canceroasă atinge limfocitul B în care apare genomul E.B., pe când în cancerul cavumului procesul neoplazic afectează celula epitelială a mucoasei cavumului și genomul E.B. se va găsi numai în celulele epiteliale cancerizate și deloc în limfocite. S-au emis mai multe ipoteze

care să explice rolul virusului E.B. în acest proces malign: 1) virusul E.B. pătrunde în celula epitelială normală din rinofaringe, care poate distruge virusul, lizându-se uneori sau alteori se transformă în celula canceroasă; 2) virusul nu pătrunde în celula epitelială normală; pentru ca ea să se cancerizeze trebuie ca ea să fie în stare de precancer, dar carcinogenul inițial nu trebuie să fie obligatoriu un virus; 3) celula epitelială normală nu permite pătrunderea virusului. Aici se admit două interacțiuni profunde între celulele epiteliale și limfocitele B infectate: informația virală oncogenă trece în celula epitelială, fie după fuziunea celor două celule și nașterea unei celule noi, hibride, canceroase, fie prin trecerea directă a ADN-ului viral în celula epitelială. Cancerurile rinofaringelui conținând virusul Epstein-Barr sunt epitelioame nediferențiate sau slab diferențiate. Tumorile bine diferențiate nu conțin informația virală E.B.. Cel mai mare risc a fost constatat la cantonezii din provincia chineză Guangdong, îndemnând unii autori să denumească aceasta neoplazie - "boala Cantoanelor chinezești".

Faptul că boala are o distribuție bimodală în funcție de vârstă, citată de studii recente, cu vârfuri ale incidenței între 15-24 ani și 45-54 ani, ne îndeamnă spre un studiu aprofundat al relațiilor strânse care există între factorii de risc, distribuția geografică, evoluția silențioasă, asimptomatică a acestei boli o perioadă îndelungată de timp pentru a putea descoperi boala în stadii cât mai timpurii și prin aceasta asigurarea unor rate de supraviețuire mai bune.

Caracteristicile epidemiologice ale cancerului de rinofaringe (o tumoră în principal răspândită la chinezii cantonezi oriunde ar locui aceștia în lume) și asocierea ce există între această neoplazie și virusul Epstein-Barr de tip herpesvirus, îl fac un cancer unic în cadrul căruia se pot investiga rolurile specifice ale tuturor factorilor de risc implicați, genetici și de mediu (virusi și/sau carcinogeni chimici) (Majid Ezzati 2005). Argumentele care susțin existența acestei asocieri sunt numeroase, de ordin epidemiologic și patogenetic.

Dacă în legătură cu implicarea factorilor genetici și de mediu incriminați în etiologia cancerului de rinofaringe, studiile din literatura de specialitate au deseori o interpretare diferită, aproape toți autorii sunt de acord cu rolul etiologiei virale în declanșarea și evoluția bolii. Nu poate fi contestată implicarea virusului Epstein-Barr în etiologia cancerului de rinofaringe.

Virusul Epstein-Barr (EBV) este un virus herpetic limfotrop cu răspândire ubicuitară, care infectează aproximativ 95 % din populație, până la vârsta adultă. Reprezintă agentul etiologic al mononucleozei infecțioase și este implicat de asemenea în limfomul Burkitt, carcinomul nazofaringian, sindromul limfoproliferativ X-linkat și sindromul de oboseală cronică.

Transmiterea virusului se realizează în principal prin contactul cu secreții orofaringiene infectate. Replicarea EBV are loc în epiteliul orofaringian având drept rezultat eliberarea virionilor din limfocitele infectate și excrețarea acestora în salivă. La copii infecția este adesea asimptomatică. Mononucleoza

infecțioasă apare cel mai adesea la adulții tineri, care nu au prezentat o expunere anterioară la virus. După infecția primară, EBV rămâne în organism toată viața, într-o stare latentă. La pacienții imunocompetenți limfocitele B infectate latent și imortalizate se află sub controlul limfocitelor T, de aceea majoritatea infecțiilor reactivate rămân subclinice.

Confirmarea diagnosticului de infecție acută EBV se face de obicei prin demonstrarea prezenței în ser a anticorpilor heterofili. Totuși, pot să apară dificultăți de diagnostic în situațiile în care anticorpii heterofili sunt absenți iar manifestările clinice sunt atipice. Anticorpii heterofili sunt absenți în 10-20 % din cazurile de mononucleoză infecțioasă la adult, procentul fiind mai mare la copiii cu infecție manifestă. În aceste situații, confirmarea diagnosticului se face pe baza depistării anticorpilor față de proteinele specifice EBV: antigenul capsidei virale (VCA) și antigenul precoce-difuz (EAD) (Ling W. 2009).

Neoplasmul de rinofaringe constituie obiectul unor studii epidemiologice foarte aprofundate, datorate teoriei etiologice ce constă în asocierea unor factori infecțioși (virusul Epstein-Barr), factori genetici și imunologici particulari, precum și factori zonali de unde aparține pacientul respectiv (microclimat sau macroclimat).

Aceste studii au dus la evidențierea factorilor etiopatogenici menționați, fapt ce creează o bază mai largă pentru cunoașterea etiologiei bolii canceroase în general. S-au precizat noi aspecte legate de posibilitatea unui diagnostic precoce și de o cunoaștere mai exactă a histogenezei și evoluției naturale a acestor cancere, ca și îmbunătățirea procentului de vindecare prin introducerea unor noi metode terapeutice ca radioterapia cu energii înalte și chimioterapie asociată.

Argumentele care susțin existența acestei asocieri sunt numeroase, de ordin epidemiologic și patogenetic. Studii recente desfășurate în Hong Kong au adus noi elemente pentru evaluarea rolului virusului Epstein-Barr în dezvoltarea cancerului de rinofaringe evidențiind și demonstrând infecția celulelor epiteliale normale ale rinofaringelui cu virus Epstein-Barr la pacienții cu nazofaringite. Aceste studii au raportat și potențarea efectului carcinogenetic al virusului Epstein-Barr de către factorii de dietă (peștele sărat cantonez) în comparație cu acțiunea separată a acestora ca factori etiologici în cancerul de rinofaringe (Mc Coy G.D. 2001, Ling W. 2009).

Henle și colaboratorii au descris pentru prima dată faptul că anticorpii serici IgA la antigenul capsidei virale (VCA) și antigenul timpuriu (early antigen) sunt asociați cu cancerul de rinofaringe, acești anticorpi fiind detectați prin teste de imunofluorescență indirectă din serul pacienților. Deși rolul cauzator al virusului Epstein-Barr nu este pe deplin înțeles totuși aceste teste de imunofluorescență permit detectarea din timp a bolii în zonele geografice cu incidență crescută, diagnosticul diferențial în zonele cu incidență scăzută precum și screeningul de masă al populației cu risc.



Adițional, în serul pacienților este determinat titrul anticorpilor împotriva complexului antigen membranar indus de virusul Epstein-Barr în testul citotoxicității celulare anticorp-dependente. Acest test este înalt predictiv pentru evoluția pacienților cu cancer de rinofaringe (Angela Kwok Fung Lo 2006).

Pe baza acestor teste un studiu prospectiv în curs de desfășurare în America de Nord a demonstrat că 73% dintre pacienții luați în studiu au fost pozitivi la anticorpii IgG anti-"early antigen", 68% fiind pozitivi la anticorpii IgA anti-antigen al capsidei virale. Acest studiu a demonstrat și legătura foarte strânsă dintre titrul anticorpilor și tipul histopatologic al neoplaziei.

Până când se va realiza o analiză atentă a datelor seroepidemiologice existente și comunicate până în prezent, studiile ar trebui amplificate în trei direcții: dezvoltarea unui model experimental pentru cancerul de rinofaringe, dezvoltarea unei mai bune înțelegeri a transformărilor determinate de virusul Epstein-Barr la nivel celular și evaluarea suplimentară a importanței diferitelor reactivități ale anticorpilor în dezvoltarea bolii.

Dacă în legătură cu implicarea factorilor genetici și de mediu incriminați în etiologia cancerului de rinofaringe, studiile din literatura de specialitate au deseori o interpretare diferită, aproape toți autorii sunt de acord cu rolul etiologiei virale în declanșarea și evoluția bolii. Nu poate fi contestată implicarea virusului Epstein-Barr în etiologia cancerului de rinofaringe.

Printre factorii determinanți în epidemiologia cancerului de cavum putem include alimentația bogată în carne și pește conservat sărat, agenții virali și susceptibilitatea genetică (Mc Coy G.D 2003). De asemenea, prepararea acestor alimente eliberează nitrozamine volatile care se absorb la nivelul mucoasei nazofaringelui fiind purtate de curentul inspirator. O evidentă posibilitate epidemiologică incriminată în dezvoltarea cancerului de cavum este virusul Epstein-Barr (EBV). Old și colaboratorii au demonstrat pentru prima dată prezența anticorpilor anti-virus Epstein-Barr în serul pacienților cu cancer de rinofaringe.

Cele mai recente progrese din biologia moleculară au adus mai multe date despre proprietățile carcinogenetice ale acestui herpesvirus, incluzând identificarea peptidelor legate de EBV capabile să inducă transformarea malignă a limfoblastelor in vitro. O incidență crescută a bolii a fost demonstrată în populația purtătoare a antigenului B17 (Ling W. 2009). Henderson și colaboratorii sugerează că un factor de mediu poate fi fumul de la sobele cu lemne utilizate la gătit, în special în sudul Chinei.

Studiile efectuate asupra asocierii virusologice și serologice dintre virusul Epstein-Barr și cancerul de rinofaringe duc la conturarea a trei ipoteze cu privire la relația etiologică dintre ele:

- Virusul Epstein-Barr este un parazit trecător în tumoră, el fiind indus de factorii de mediu (asociat posibil cu modul de viață al chinezilor), pe baza unei anumite susceptibilități genetice a chinezilor la astfel de carcinogeni chimici (hidrocarburile polinucleare, nitrosaminele, etc.).

- Virusul Epstein-Barr asociat cancerului de rinofaringe este un factor necesar și suficient pentru dezvoltarea tumorii, ipoteză explicată prin faptul ca toți pacienții cu cancer de rinofaringe de origine chineză, africană sau caucasiană au reactivități foarte puternice și asemănătoare împotriva acestui virus.

- Virusul este primul dintre factorii etiologici implicați într-o transformare multifazică în care virusul acționează în legătură cu factorii interni controlați genetic și cei externi influențați de mediu, această ipoteză presupunând carcinogeneza ca un fenomen multifactorial în care carcinogenii chimici și biologici inițiază malignizarea celulelor epiteliale ale mucoasei nazofaringiene (Edward Gershburg, Joseph S. Pagano 2005).

Deși foarte multe dintre studiile efectuate în legătură cu etiopatogenia cancerului de rinofaringe iau în calcul distribuția geografică a acestei boli, a fost demonstrat, prin investigații detaliate, imunologice și biochimice, faptul că virusul Epstein-Barr este factor etiologic pentru anumite forme de cancer de rinofaringe indiferent de zona geografică (Bailey B.2006).

Implicarea virusului Epstein-Barr în etiopatogenia cancerului de rinofaringe și anumite caracteristici ale acestuia (markerii virali) au importanță clinică pentru: suspiciunea unui cancer de rinofaringe, diagnosticul pozitiv al acestei neoplazii, monitorizarea pacienților care prezintă această boală, serologia virusului Epstein-Barr fiind valoroasă și pentru detectarea recidivelor. Studiarea caracteristicilor imunohistochimice ale virusului Epstein-Barr poate duce la întocmirea unor programe de screening, dezvoltarea de noi terapii în cancerul de rinofaringe precum și a unor metode specifice de prevenire a acestei boli. Virusul Epstein-Barr a fost clasificat în grupul I al carcinogenelor de către Asociația Internațională a Cancerului datorită asocierii lui cu cancerul de rinofaringe.

Tabloul epidemiologic se complică prin prezența anticorpilor anti-virus Epstein-Barr în serul pacienților cu cancer de cavum dar nu și în serul celor cu alte cancere ale capului și gâtului, fiind dovedit că celulele canceroase ale neoplasmului de cavum conțin genomul virusului Epstein-Barr.

În România frecvența maximă se situează la vârsta de 50-60 de ani, existând însă numeroase cazuri întâlnite la vârste tinere (25 ani). Incidența cancerului de cavum în SUA este 0,8 la 100.000 locuitori pentru bărbați și 0,3 la 100.000 pentru femei (Lalwani A. 2007).

Raportul dintre incidența la bărbați și cea de la femei este de 2 la 1, iar maximul incidenței corespunde grupei de vârstă 50-59 ani, deși în statistica Institutului de Radiologie Mallinckrodt 30% dintre pacienții cu cancer de cavum au fost mai tineri de 50 de ani.

Sexul - indiferent de frecvență, în toate țările s-a constatat o predominanță la sexul masculin, raportul sex masculin / sex feminin variind între 2:1 și 3:1.

## **Histopatologia cancerului de rinofaringe**

Stadiul anatomo-patologic al neoplasmului rinofaringian cuprinde următoarele aspecte: punctul de plecare al tumorii, rapoartele cu pereții faringelui, aspectul macro și microscopic al tumorii și evoluția sa.

Tumorile rinofaringiene își au originea în țesuturile acestei cavități, cel mai frecvent în țesutul limfatic de la nivelul bolții faringelui și mai rar au punct de plecare pe pereții laterali, posterior și anterior (N. Costinescu 1989).

### **CLASIFICAREA HISTOPATOLOGICĂ A TUMORILOR MALIGNNE ALE CAVUMULUI**

#### ***A.1. Epitelioame:***

- nediferențiate;
- puțin diferențiate;
- diferențiate.

#### ***A.2. Limfoepitelioame***

#### ***A.3. Cilindroame***

#### ***B.1. Sarcomul***

#### ***B.2. Limfosarcomul***

#### ***B.3. Reticulosarcomul:***

- nediferențiat;
- diferențiat.

#### ***C. Plasmocitom***

#### ***D. Tumori maligne disembrioplazice***

#### ***D.1. Cordon***

#### ***D.2. Craniofaringiom***

#### ***D.3. Adenom extraselar al hipofizei***

#### ***D.4. Rabdiosarcom***

### **CLASIFICAREA ȘI STADIALIZAREA CANCERULUI RINOFARINGELUI**

#### **Clasificarea TNM (UICC 1997, Edge S.B 2010):**

- T1** - tumora nu depășește rinofaringele  
**T2** - tumora se extinde la țesuturile moi ale orofaringelui și foselor nazale  
**T3** - tumora se extinde la structurile osoase și/sau la sinusurile paranazale

**T4** - extensie intracraniană, invadarea nervilor cranieni și/sau invadarea fosei infratemporale, hipofaringelui sau orbitei

**Nx** - nu s-a cercetat adenopatia

**N0** - fără adenopatie

**N1** - ganglion ipsilateral unic < sau egal cu 6 cm deasupra fosei supraclaviculare

**N2** - ganglioni bilaterali < sau egal cu 6 cm deasupra fosei supraclaviculare

**N3** - adenopatie > 6 cm sau extensie în fosa supraclaviculară

**M0** - fără metastaze

**M1** - prezența de metastază

### Stadializare TNM

● *Stadiul 0*            **T<sub>is</sub> N<sub>0</sub> M<sub>0</sub>**

● *Stadiul I*            **T<sub>1</sub> N<sub>0</sub> M<sub>0</sub>**

● *Stadiul II*            **T<sub>2</sub> N<sub>0</sub> M<sub>0</sub>**

**T<sub>2</sub> N<sub>1</sub> M<sub>0</sub>**

**T<sub>1</sub> N<sub>1</sub> M<sub>0</sub>**

● *Stadiul III*            **T<sub>3</sub> N<sub>0</sub> M<sub>0</sub>**

**T<sub>1</sub> N<sub>2</sub> M<sub>0</sub>**

**T<sub>2</sub> N<sub>2</sub> M<sub>0</sub>**

**T<sub>3</sub> N<sub>1</sub> M<sub>0</sub>**

**T<sub>3</sub> N<sub>2</sub> M<sub>0</sub>**

● *Stadiul IV*    **T<sub>4</sub> orice N M<sub>0</sub>**

**orice T N<sub>3</sub> M<sub>0</sub>**

**orice T orice N M<sub>1</sub>**

### **STADIALIZAREA TNM (AJCC 1988, AJCC 2010):**

Este utilizată, în prezent, în lumea întreagă pentru aprecierea clinică a stadiului tumorilor maligne. Ea face referință la trei aspecte:

**T** - apreciază mărimea tumorii primitive;

**N** - estimează starea ganglionilor limfatici (provine de la termenul englez „lymph nodes”);

**M** - indică metastazele la distanță.

Criteriile utilizate de clasificarea TNM au suferit unele modificări în decursul anilor, în prezent fiind utilizată clasificarea TNM propusă de UIC, AJCC 1988. Aceasta, spre deosebire de următoarea

clasificare, apreciază stadiul metastazelor ganglionare în funcție de dimensiunile ganglionilor și nu în funcție de mobilitatea sau fixitatea lor( aspect clinic ce depinde de subiectivitatea examinatorului).

**Clasificarea TNM pentru cancerul de rinofaringe este:**

**Tumora primitivă**

T1 - tumora limitată la o regiune a rinofaringelui;

T2 - tumora invadează mai mult de o regiune a rinofaringelui;

T3 - tumora invadează fosele nazale și/sau orofaringele;

T4 - tumora invadează craniul și/sau nervii cranieni.

**Metastaze ganglionare**

Nx - metastazele ganglionare regionale nu pot fi evaluate;

N0 - fără metastaze ganglionare regionale;

N1 - adenopatie unică omolaterală cu diametrul mai mic sau egal cu 3 cm;

N2 - adenopatie omolaterală unică cu diametrul mai mare de 3cm, dar mai mic de 6 cm; multiple adenopatii omolaterale cu diametrul mai mic de 5cm, adenopatii bilaterale sau controlaterale mai mici de 6 cm;

N2a - adenopatie omolaterală unică cu diametrul cuprins între 3 și 6cm;

N2b - adenopatii omolaterale multiple nici una cu diametrul mai mare de 6 cm

N2c - adenopatii bilaterale sau controlate, nici una cu diametrul mai mare de 6 cm

N3 - adenopatie cu diametrul mai mare de 6cm.

**Metastazele la distanță**

Mx - prezența metastazelor la distanță nu poate fi evaluată;

M0 - fără metastaze la distanță;

M1 - metastaze la distanță.

**STADIALIZAREA CLINICO-TERAPEUTICĂ:**

**Stadiul I - T1,N0,M0**

**Stadiul II - T2,N0,M0**

**Stadiul III - T3,No,M0**

- T1 sau T2 sau T3,N1,M0

**Stadiul IV - T4,N0 sau N1,M0**

- Orice T,N2sauN3,M0

- OriceT, oriceN,M1.

**STADIALIZAREA HO (HONG KONG) A CANCERULUI DE**

**RINOFARINGE**

## **T**

T1: tumoare limitată la rinofaringe;

T2: extensie la fosa nazală, orofaringe sau mușchii adiacenți sau la nervii situați mai jos de baza craniului;

T3: tumora depășește limitele T2;

T3a: invazie osoasă mai jos de baza craniului, inclusiv planșeul sinusului sfenoidal;

T3b: invazia bazei craniului;

T3c: invazia nervilor cranieni;

T3d: invazia orbitei, faringo-laringelui sau fosei infratemporale.

## **N**

N0: fără ganglioni limfatici cervicali palpabili;

N1: unul sau mai mulți ganglioni exclusiv în regiunea cervicală superioară delimitată în jos de pliul cutanat extins lateral și îndărăt de la sau imediat sub incizura tiroidului;

N2: unul sau mai mulți ganglioni palpabili între pliul cutanat și fosa supraclaviculară, limita superioară a acestuia fiind o linie ce unește marginea superioară a capătului sternal al claviculei cu vârful unghiului format de suprafața laterală a gâtului și marginea superioară a trapezului;

N3: unul sau mai mulți ganglioni palpabili în fosa supraclaviculară și/ sau invazia cutanată sub formă de infiltrație neoplazică (cuiasă) sau sub formă de noduli sateliți deasupra claviculelor.

## **M**

M0: fără metastaze hematogene

M1: metastaze hematogene prezente și/ sau metastaze limfatice ganglionare mai jos de claviculă.

**GRUPAREA PE STADII CLINICO-TERAPEUTICE** ( Sobin L.H. et Wittekind C.H. 2003, Joseph Wee 2008):

**I.** T1 No M0

**II.** T2 și /sau N1

**III.** T3 și/sau N2

**IV.** N3(orice)

**V.** M1

## **DIAGNOSTICUL ȘI TRATAMENTUL CANCERULUI DE RINOFARINGE**

Diagnosticul pozitiv și stadial se sprijină pe: anamneză, examen clinic ORL cu panendoscopie, examen neurologic, examen oftalmologic, examen radiologic și imagistic, examen ecografic, examen

scintigrafic, examene uzuale de laborator, biopsie tumorală, biopsie exereză ganglionară / evidare ganglionară totală, examen histopatologic iar, în anumite situații, examen citologic.

Diagnosticul de certitudine îl dă biopsia executată din rinofaringe, fie pe cale nazală – sub ghidaj endoscopic, fie pe cale retrovelică, cu ajutorul oglinzii de rinoscopie posterioară sau a speculului Yankauer. Pentru precizarea extinderilor tumorale este necesară tomografia computerizată care pune în evidență eroziunile osoase ale planșeului fosei craniene mijlocii, rezonanța magnetică nucleară evidențiind mai bine extinderea în țesuturile moi. Examenele de laborator evidențiază prezența anticorpilor anti-virus Epstein-Barr.

### **STUDIUL CLINICO-STATISTIC**

Studiul clinico-statistic următor al patologiei neoplazice de la nivelul cavumului este un studiu retrospectiv, realizat pe ultimii 10 ani, respectiv 2003-2012, totalizând un număr de 106 de pacienți (cu vârsta cuprinsă între 16 și 83 de ani), internați în Clinica ORL a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, care au necesitat biopsii pentru diagnosticul pozitiv și diferențial.

Pentru realizarea acestui studiu am urmărit foile de observație clinică ale bolnavilor, registrele de urgență, registrele de internări prin ambulatoriul de specialitate, protocoalele operatorii și buletinele anatomo-patologice. Algoritmul diagnostic a cuprins alături de realizarea atentă a anamnezei și a examenului clinic, efectuarea de investigații paraclinice - teste de laborator, investigații imagistice și examenul histologic pe fragment biptic prelevat din leziune sau examenul histopatologic al piesei de exereză chirurgicală.

Am sistematizat datele referitoare la vârstă, sex, mediu de proveniență, factori de risc (fumat, alcool, alte noxe), moduri de debut, a timpului scurs de la debutul suferinței până la prezentarea la consult de specialitate, a timpului scurs din momentul consultului și până la stabilirea diagnosticului, a explorărilor convenționale sau nu, a aspectului macrolezional, a extensiei macroscopice, a prizelor biopsice și a rezultatelor histopatologice (tipuri histologice, grading tumoral pentru carcinoamele scuamoase), stadializarea TNM, comorbidități și conduita terapeutică. De asemenea, am urmărit starea clinică la externare, tratamentul aplicat și rezultatele obținute.

În studiul nostru tumorile de rinofaringe au apărut preponderent la pacienții de sex masculin, raportul dintre sexe fiind de aproximativ 3/1.

Considerăm că apariția cancerului de rinofaringe la persoanele de sex masculin se datorează implicării infecțioase a virusului Epstein Baar, dar și a combinării cu expunerea la factori de risc cum ar fi

fumatul, consumul de alcool, noxe profesionale și obiceiuri alimentare (consumul de carne și pește sărate, afumate, condimentate excesiv).

În ceea ce privește distribuția pe mediul de proveniență a leziunilor canceroase ale cavumului, la lotul studiat de noi nu au fost semnalate diferențe semnificative, datorită prezenței în egală măsură a factorilor de risc atât în mediul urban cât și în cel rural.

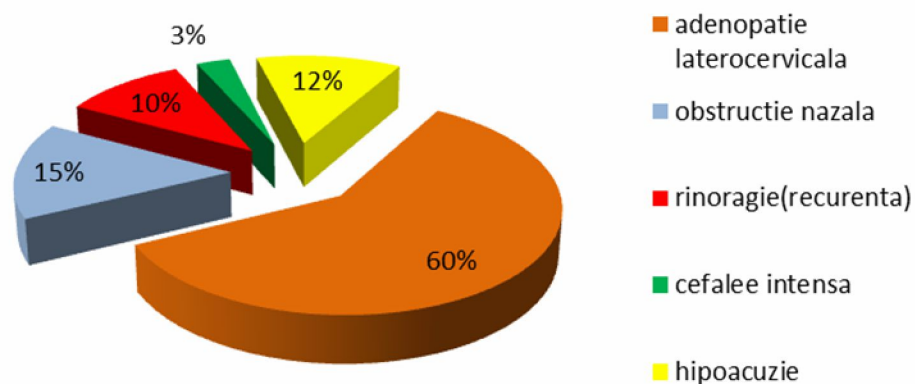
La toate cazurile cu hipertrofie limfoidă tumorală sau nu, pentru o corectă stadializare clinicoterapeutică s-a efectuat examen ecografic care a precizat prezența și sediul adenopatiei, mărimea ganglionilor, aspectul acestora (prezența sau absența necrozelor ganglionare), raporturile cu pachetul vasculonervos al gâtului, mobilitatea pe planurile profunde.

În studiul nostru, neoplasmul de rinofaringe a avut o incidență crescută peste vârsta de 20 de ani, maximul atingându-se în jurul vârstei de 50 de ani. În ceea ce privește repartitia pe sexe, bărbații (78%) au fost mult mai atinși de această boala decât femeile (22%), pe când distribuția geografică urban - rural are proporții relativ egale.

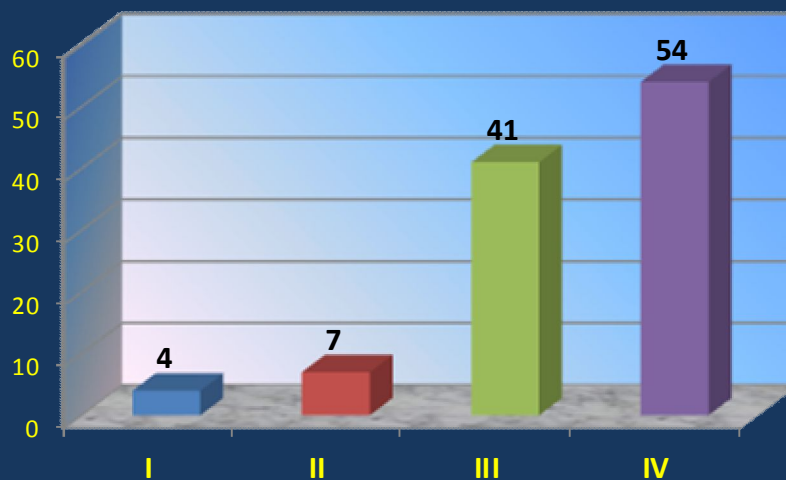
Anatomopatologic, 62% din cazuri s-au dovedit a fi carcinoame epidermoide nediferențiate (limfoepitelioamelor) sau slab diferențiate, 27% au aparținut tipului moderat diferențiat, 9 % au fost carcinoame bine diferențiate, în restul de 2% încadrându-se alte tipuri de neoplazii de tipul limfoamelor, sarcoamelor, plasmocitoamelor, adenocarcinoamelor sau rabdomiosarcoamelor. Dintre cancerelor epiteliale, pe primul loc sunt situate carcinoamele epidermoide și, dintre acestea, limfoepiteliomul constituie o formă particulară pentru localizarea rinofaringiană. Urmează apoi adenocarcinoamele dezvoltate pe seama glandelor seromucoase sau a glandelor salivare accesorii ale mucoasei cavumului.



## Simptom princeps la prezentare

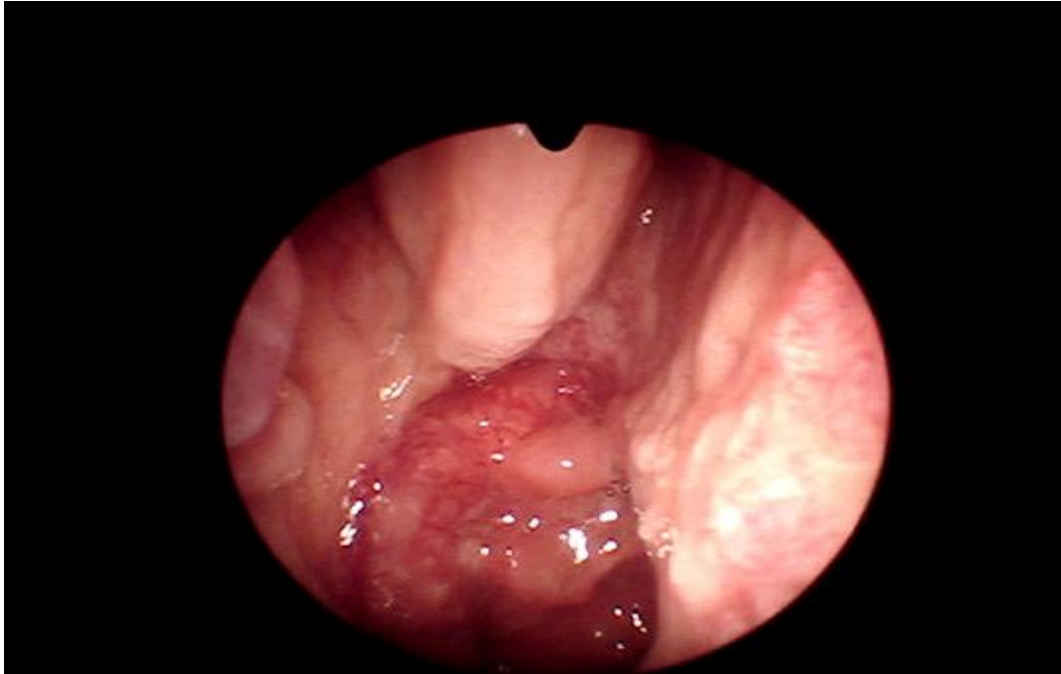


## Distributia stadiala a cazurilor



Din punct de vedere macroscopic, în studiul nostru imaginile de endoscopie au indicat cel mai frecvent ca și formă anatomoclinică tumora vegetantă, iar abia pe plan secund forma tumorală de tip ulcero-infiltrativ. Acest aspect este argumentat de diferența de procentaj între simptomele princeps la prezentare în cazul acestei maladii, și anume tumorile vegetante exofitice de cavum produc în primul rând obstrucție nazală ( 15% din cazuri), pe când tumorile ulcero-infiltrative de rinofaringe se manifestă inițial

prin rinoragie ( 10% din cazuri), apoi prin hipoacuzie ( 12% din cazuri) ori cefalee pe măsură ce tumora invadează baza de craniu.



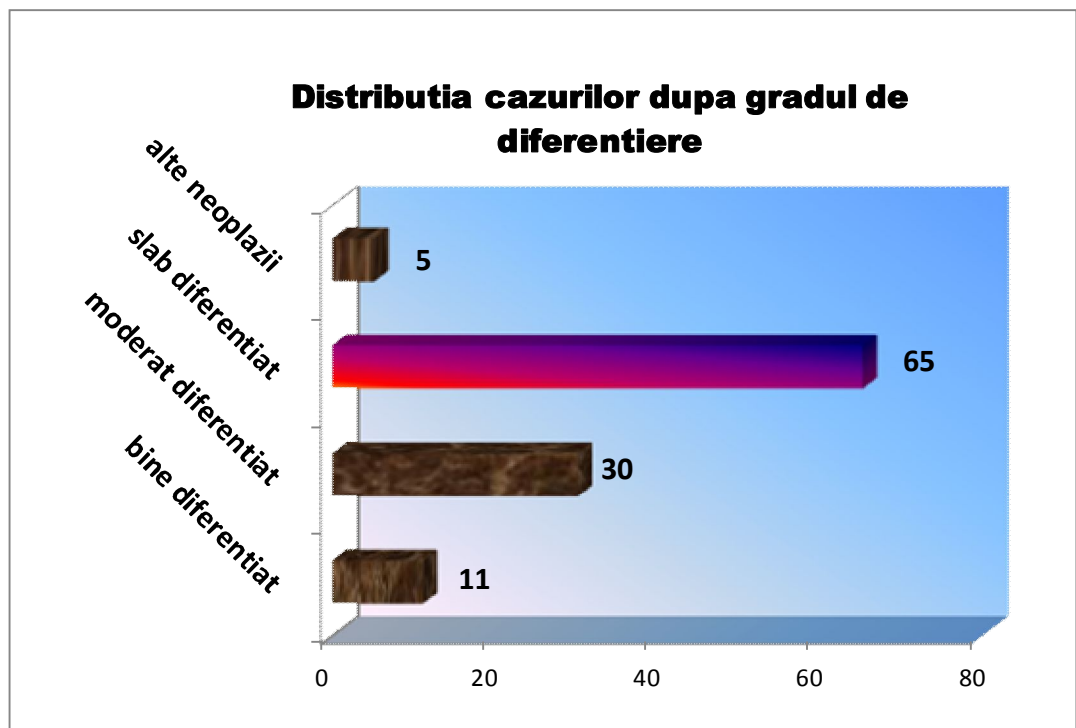
**Fig. 1-** *Imagine endoscopică de carcinom spinocelular slab diferențiat la nivelul rinofaringelui*

#### **STUDIUL HISTOPATOLOGIC AL CARCINOAMELOR DE RINOFARINGE**

**Materialul histologic** studiat în prezenta teză de doctorat a fost reprezentat de 163 de fragmente din leziuni tumorale prezente la nivelul rinofaringelui, recoltate cu ocazia tratamentului chirurgical efectuat în scop diagnostic/ curativ la un număr de 106 pacienți diagnosticați cu neoplasm de cavum, cu vârsta cuprinsă între 16 și 83 de ani, internate în clinica ORL a Spitalului Clinic de Urgență din Craiova între anii 2003-2012. În general s-au recoltat minim două fragmente bioptice per pacient din țesut tumoral dar și din țesut peritumoral în speranța de a se pune în evidență trecerea de la o leziune premalignă spre una malignă, însă unele materiale histopatologice provenite de la pacienții internați în perioada 2003-2012 nu au fost păstrate în condiții corespunzătoare și nu au mai putut fi prelucrate pentru alte studii histopatologice și imunohistochimice.

Din cele 106 cazuri de carcinoame, 11 cazuri (10%) au fost carcinoame bine diferențiate, 30 de cazuri (28.30%) moderat diferențiate, iar 65 de cazuri (61,32%) au fost slab diferențiate. Carcinoamele epidermoide care au apărut la rinofaringelui s-au dezvoltat prin proliferarea malignă a epiteliilor malpighiene și al celor din zonele de metaplazie malpighiană.

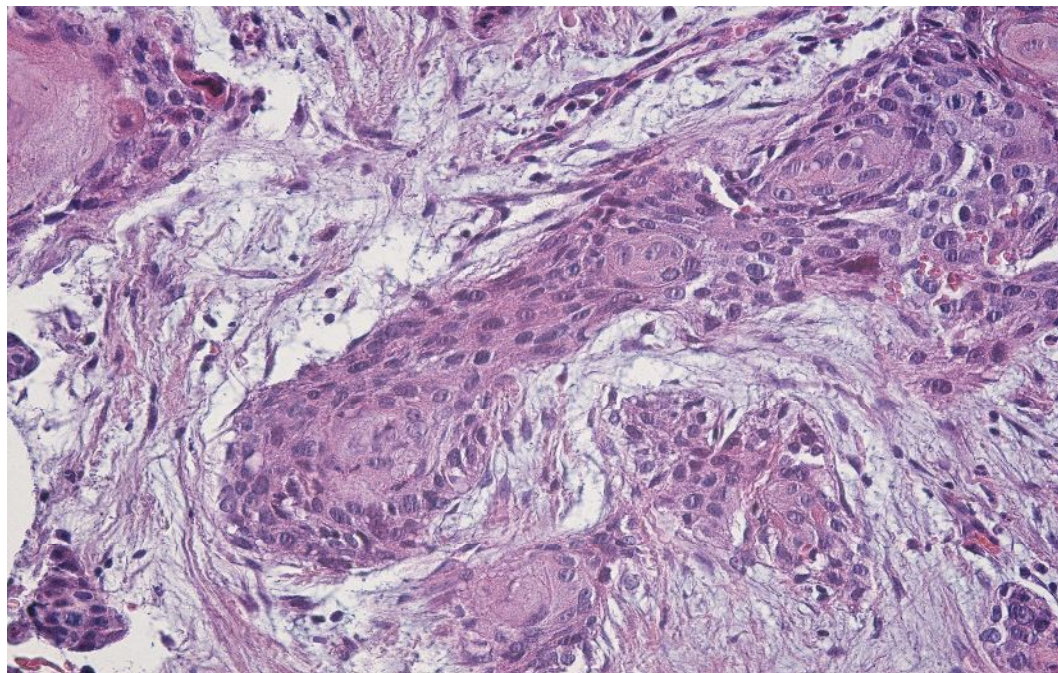
Displazia ușoară sau de gradul I se caracterizează prin creșterea numărului de mitoze în stratul bazal al epitelului, având drept rezultat creșterea numărului de celule displazice. În displazia de gradul II sau moderată, celulele displazice afectează atât stratul bazal cât și stratul intermediar al epitelului de acoperire, sau cu alte cuvinte, cuprind 2/3 din partea profundă a epitelului. Displaziile de gradul III sau severe, afectează toată grosimea epitelului, celulele displazice ajungând până la suprafața epitelului de acoperire. Aceste ultime displazii se mai numesc și carcinoame "in situ" fiind leziuni cu potențial evolutiv malign cert. Leziunile displazice sunt mai puțin însoțite de modificări nucleare mari și nici de pleiomorfism celular, dar ca și "carcinomul in situ", și în leziunile displazice grave se observă o deteriorare profundă a arhitecturii generale a epitelului de acoperire care nu mai reproduce structura normală.



Parenchimul carcinoamelor epidermoide spinocelulare a apărut ca fiind format din celule carcinomatoase dispuse sub formă de insule sau cordoane, de formă și dimensiuni extrem de variate, cu numeroase atipii, de forme și dimensiuni variate, dând un caracter pleiomorf.

Nucleii au avut dimensiuni variabile, fiind cel mai frecvent mult mai mari decât nucleii celulelor epiteliale normale, determinând inversarea raportului nucleu/citoplasmă în favoarea nucleului. Tinctorialitatea nucleilor a fost variată, apărând celule cu nucleii fie hiperchromi, fie hipochromi, cu contur neregulat, cu invaginări, lobulări sau înmuguriri nucleare, cu cromatina dispusă inegal, fie sub membrana nucleară fie sub formă de grămezi. Alteori nucleii au apărut multipli sau de dimensiuni mult crescute, cu

aspect monstruos. Nucleolii celulelor carcinomatoase au apărut voluminoși, multipli, bine evidențiați, dispuși fie central, fie în vecinătatea membranei nucleare.



**Fig. 1-***Cordoane de celule tumorale într-un caz de carcinom epidermoid slab diferențiat asociate cu o stromă fibromatoasă.  
Col. hematoxilină - eozină X 200*

Stroma tumorală a prezentat modificări histologice variate în funcție de gradul de diferențiere al carcinoamelor. Carcinoamele bine diferențiate au prezentat o stromă conjunctivă bogată în fibre de collagen, cu vase sanguine numeroase și un infiltrat inflamator sărac în celule. Stroma carcinoamelor slab diferențiate a fost bogată în celule de tip inflamator, în special limfocite și plasmocite.

**STUDIUL IMUNOHISTOCHEMIC** a fost efectuat pe un număr de 106 pacienti cu vârsta cuprinsă între 16 și 83 de ani internați în clinica ORL a Spitalului Clinic de Urgență din Craiova între anii 2003-2012. În mod intenționat am ales fragmente tumorale și peritumorale epifaringiene tocmai pentru a surprinde și evidenția trecerea de la o leziune premalignă spre una malignă la nivelul cavumului. Studiul imunohistochimic a adus un beneficiu real în diagnosticul pozitiv și diferențial al acestor tipuri de leziuni. În leziunile premaligne de la nivelul rinofaringelui, reprezentate de hiperplazii limfoide, leucoplazii și displazii s-a remarcat o creștere a intensității reacției imunohistochimice a markerilor de proliferare celulară (PCNA, p35 și Ki-67), cu pozitivarea unui număr crescut de nuclei din stratul bazal și suprabazal, dar fără modificarea arhitecturii de ansamblu a epiteliului de acoperire. În carcinoamele de cavum, intensitatea reacțiilor imunohistochimice la markerii de proliferare celulară au fost maxime, fiind pozitivi

peste peste 90-95% din nucleii epiteliului tumoral. Pentru diagnosticul diferențial, importanța markerilor de proliferare celulară a fost extrem de utilă în diagnosticul displaziilor de grad înalt de carcinoamele "in situ", celulele tumorale prezentând nucleii reactivi la p35, PCNA și Ki-67. De asemenea, markerii de proliferare celulară au fost pozitivi în celulele tumorale metastazante. Utilizarea anticorpului CD31 a permis vizualizarea rețelei vasculare din stroma tumorală. Dacă în leziunile premaligne nu s-au observat modificări ale vascularizației sanguine, în carcinoame stroma tumorală a apărut intens vascularizată, cu creșterea microdensității vasculare, prin apariția de noi capilare de angiogenază, de calibru normal sau cu lumen larg, dovadă a importanței vascularizație sanguine în procesele de creștere și proliferare a tumorilor.

### **STUDIUL VIRUSOLOGIC ÎN CANCERUL DE CAVUM**

Posibila strânsă corelație dintre virusul Epstein Barr și neoplasmul de rinofaringe a permis dezvoltarea a numeroase tehnici care să evidențieze virusul sau componente ale acestuia utile în diagnosticul precoce, chiar dacă biopsia de la nivelul cavumului este negativă, dar și în supravegherea postoperatorie.

Studiul virusologic a permis evidențierea implicării virusului Epstein-Barr în patogenia carcinoamelor de rinofaringe prin dozarea anticorpilor de tip IgA direcționat împotriva VCA, considerat specific pentru acest tip de cancer.

Studiul a arătat că valorile de titrare ale acestui anticorp se corelează cu stadiul clinic și poate deveni un valoros element de diagnostic pozitiv chiar în stadii incipiente în condițiile existenței unei suspiciuni clinice neconfirmate de alte teste.

Implicarea EBV în patogenia cancerului nazofaringian, deși evidentă, este departe de a fi înțeleasă. Cuplarea studiului imunohistochimic cu cel virusologic, genetic și clinic poate conduce la lămurirea unor aspecte cu privire la modalitățile de infectare și momentul infectării celulelor epiteliale care se angajează inițial displazic pentru a evolua ulterior la neoplazie.

#### ***Bibliografie selectivă:***

- 1. Agaoglu F.Y., Dizdar Y., Dogan O., Alatli C., Ayan I., Savci N., Tas S., Dalay N., Altun M. - P53 overexpression in nasopharyngeal carcinoma - In Vivo. 2004 Sep-Oct; 18(5):555-60.**
- 2. A.T.C. Chan - Head and neck cancer: treatment of nasopharyngeal cancer - Annals of Oncology 16 (Supplement 2): 265–268, 2005.**

3. **Angela Kwok Fung Lo, Kwok Wai Lo, Sai Wah Tsao, Hing Lok Wong, Jan Wai Ying Hui, Ka Fai To, S. Diane Hayward, Yiu Loon Chui, Yu Lung Lau, Kenzo Takada, and Dolly P. Huang** - Epstein-Barr Virus Infection Alters Cellular Signal Cascades in Human Nasopharyngeal Epithelial Cells, Neoplasia. 2006 March; 8(3): 173–180.
4. **American Cancer Society** - Cancer Facts and Figures 2004. Atlanta, Ga: American Cancer Society, 2004.
5. **Anil Lalwani** - Current Diagnosis and Treatment in Otolaryngology , 2007, 2 edition, ed. McGraw-Hill Medical pag. 340, 359, 365.
6. **Bailey B., Johnson J. Newlands S., Calhoun K., Deskin R. (2006)** - Head and Neck Surgery - Otolaryngology. Hardcover: *1183-1208*.
7. **Călărășu R., Ataman T., Zainea V. (2002)** - Manual de patologie ORL și chirurgie cervico-facială, Editura Universitară "Carol Davila", București, pag.241-244.
8. **Cheng FRCR., C. C. Yau, FRCR., Philip W. K. Kwong, FRCR, Damon T. K. Choy, FRCR** - Correlation Of Endoscopic And Histologic Findings Before And After Treatment For Nasopharyngeal Carcinoma - Endoscopic and Histologic Findings in NPC HEAD & NECK January 2001.
9. **Cummings Otolaryngology** - Head And Neck Surgery Fourth Edition Review 2005, Ed. Mosby, pag. 1457-1508, 1620-1645.
10. **Edward Gershburg and Joseph S. Pagano** - Epstein Barr virus infections: prospects for treatment- Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2005) 56, 277–281.
11. **J.L. Oh, E.E. Vokes, M.S. Kies, B.B. Mitta, M.E. Witt, R.R. Weichselbaum & D.J. Haraf** - Induction chemotherapy followed by concomitant chemoradiotherapy in the treatment of locoregionally advanced nasopharyngeal cancer - Annals of Oncology 14: 564–569, 2003.
12. **Karajannis MA, Hummel M, Anagnostopoulos I, et al.** Strict lymphotropism of Epstein-Barr virus during acute infectious mononucleosis in nonimmunocompromised individuals. Blood 1997;89:2856–62.
13. **Mogoantă L., Georgescu C.V., Popescu C.F., Bădulescu A., Mehedinți Hîncu M. (2003).** - Ghid de tehnici de histologie, citologie și imunohistochimie. Editura Medicală Universitară, Craiova, 202-231.
14. **Sheu L.F., Chen A., Lee H.S., Hsu H.Y., Yu D.S.** - Cooperative interactions among p53, bcl-2 and Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 in nasopharyngeal carcinoma cells. - Pathol Int. 2004 Jul; 54(7):475-85.

15. **Snow J.B., Snow W., Ballenger J. (2009)** - Ballenger's Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery. Edition: 17 Published by PMPH-USA, pag.201-209, 481-493, 769-782, 839-846, 1021-1062, 1081-1120.