

UNIVERSITATEA DE MEDICINA ȘI FARMACIE  
“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
MEDICINĂ-HEMATOLOGIE

LEUCEMIA ACUTĂ LA PACIENTUL CU ISTORIC NEOPLAZIC  
ELEMENTE PARTICULARE

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat

PROF.UNIV. DR. ANA MARIA VLĂDĂREANU

Student-doctorand

MURAT MEILIN (OMER)

2024

## CUPRINS

### Cuprins

Lista cu abrevieri.....	pag 1
Introducere.....	pag 2
I. PARTEA GENERALĂ.....	pag 2
Capitolul 1	
1.Leucemia acută mieloidă de novo la pacientul adult .....	pag 2
1.1 Definiție, incidență și etiologie .....	pag 2
1.2 Manifestari clinice și teste paraclinice .....	pag 3
1.3 Clasificarea LAM.....	pag 3
1.4 Particularități imunofenotipice prin citometrie în flux.....	pag 6
1.5 Particularitățile modificărilor genetice în LAM.....	pag9
Capitolul 2	
2. Leucemia acută mieloidă secundară.....	pag 13
2.1 Leucemia acută mieloblastică postcitotoxică.....	pag15
2.1.1 Căile de transformare.....	pag16
2.1.2 Mutațiile și anomaliile citogenetice în leucemia acută mieloblastică postcitotoxică.....	pag18
2.1.3 Leucemia acută mieloblastică postcitotoxică dupa neoplasmul de sân.....	pag19
2.2 Leucemia acută mieloblastică secundară postsindrom mielodiplazic sau postneoplazii mieloproliferative cronice.....	pag22
2.2.1 Particularități la pacienții cu neoplazie mieloproliferativă cronică în antecedente.....	pag22
II Contribuții personale	
3.1.Ipoteza de lucru și obiective generale.....	pag24
3.2 Pacienți și metodă.....	pag25
3.2.2 Populația de studiu .....	pag 25
3.2.3 Protocolul de studiu.....	pag28

3.2.4	Investigații paraclinice efectuate .....	pag 29
3.2.5	Prelucrarea statistică.....	pag 31
4.	STUDIU I Leucemia acută mieloblastică secundară (postsindrom mielodisplazic, Postsindrom mieloproliferativ cronic.....	pag 33
4.1	Ipoieza de lucru și obiective specifice.....	pag 33
4.2	Pacienți și metodă.....	pag 34
4.2.1	Colectarea datelor.....	pag34
4.2.2	Criterii de diagnostic.....	pag 34
4.2.3	Protocolul de studiu.....	pag 35
4.2.4	Prelucrarea statistică.....	pag 35
4.2.5	Rezultate.....	pag 36
4.2.6	Discuții și concluzii.....	pag 64
5.	Studiu II Leucemia acută postcitotoxică (postexpunere chimioterapie/radioterapie).....	pag 69
5.1	Ipoieza de lucru și obiectivele generale.....	pag 69
5.2	Pacienți și metodă.....	pag69
5.2.1	Colectarea datelor.....	pag69
5.2.2	Criterii de diagnostic.....	pag 69
5.2.3	Protocol de studiu.....	pag 70
5.2.4	Investigații efectuate.....	pag 71
5.2.5	Prelucrarea statistică.....	pag 73
5.2.6	Rezultate.....	pag 73
5.2.7	Discuții și concluzii.....	pag 87
	Bibliografie.....	pag 93

Obținerea remisiunii complete în urma diagnosticului de patologie neoplazică oncohematologică reprezintă ținta fiecărui clinician, însă expunerea pacientului la chimioterapie și sau radioterapie poate prezenta consecințe pe termen lung, ca dezvoltarea unei leucemii acute.

Leucemia acută secundară reprezintă o patologie hematopetică heterogenă ce apare la pacienții cu antecedente hematologice incluzând neoplaziile mieloproliferative, sindromul mielodisplazic sau în urma unei expunerii la agenți chimioterapici și radioterapici.

Progrese considerabile s-au realizat în urma identificării anomaliilor moleculare, a anomaliilor cromozomiale recurente și mutațiilor citogenetice, oferind posibilitatea de clasificare a leucemiilor acute în diferite subgrupuri, în funcție de acestea și răspunsul la terapia curentă. Contribuția majoră se datorează și în identificarea terapiilor țintite și agenți terapeutici noi ca FLT3, IDH2 și inhibitori BCL2, cu toate acestea rata de mortalitate a rămas crescută, în deosebi la pacienții peste 60 de ani [1,2]. Odată cu identificarea acestor modificări citogenetice și a mecanismelor de producere speranța de apariție a terapiilor țintite crește mai ales la pacienții cu leucemie acută a căror evoluție este rapid progresivă spre exitus.

În anul 2022 a avut loc revizuirea clasificării leucemiei acute mieloblastice de către grupul de lucru al Organizației Mondiale a Sănătății [3] (modificare principală constă în renunțarea procentului de blasti care anterior era de peste 20% la pacienții cu LAM cu anomalii genetice definite cu excepția BCR ABL, CEBPA), grupul de European LeukemiaNet [4] ce clasifică leucemia acută mieloblastică în funcție de riscul citogenetic în risc favorabil, intermediar și nefavorabil (actual mutația FLT3 ITD + prezintă risc citogenetic intermediar, LAM cu mutațiile genetice legate de SMD (MDS related) sunt încadrate ca risc advers, mutația CEBPA cu mutațiile in-frame afectând regiunea bZIP sunt încadrate în grupa de risc favorabil, grupa de risc nefavorabilă include anomalii citogenetice recurente ca t(3q26.3,V) implicând gena MECOM sau t(8,16)(p11,p13) asociată cu gena de fuziune KAT6A CREBBP.

Examenul imunofenotipic reprezintă tehnica de măsurare a expresiei proteinelor specifice dintr-o populație celulară prin cuplarea anticorpilor specifici cu compuși fluorescenți;

reprezintă un tip de testare prin citometrie în flux, principiul acesteia constând în determinarea prezenței sau absenței markerilor de pe suprafața celulară[5];un alt rol esențial este cel legat de evaluarea răspunsului la tratament și punerea în evidență a bolii minime reziduale (MRD) [6].Importanța acestei tehnici este crucială în diagnosticul leucemiei acute atât pentru diagnosticul de certitudine,cât și pentru cel diferențial,punând în evidență linia celulară.De menționat că în leucemia acută pot exista celule aberante din punct de vedere imunofenotipic, astfel identificându-se leucemia acuta cu fenotip mixt.Această tehnică poate sugera existența unor anomalii genetice [7,8,9].Celulele hematopoietice prezintă markeri imunofenotipici sau expresii antigenice specifice pe suprafața lor.Antigenii identificați prin imunofenotipare în leucemia acută mieloidă sunt astfel clasificați:precursori mieloidi (Cd34, CD117, HLA-DR),markeri mieloidi (cMPO,CD33,Cd13), markeri maturi mieloidi (CD14, CD36, CD64),markeri megacariocitici (CD41, CD36, CD61) și markeri eritrocitari (CD235,CD71 și Cd36) [4,7,10,11].Celulele leucemice pot prezenta uneori anumite expresii ce nu sunt în mod normal prezenți pe suprafața celulelor liniei respective, denumite fenotipuri aberante.Aceștia pot fi divizați în patru categorii:1. infidelitate lineară, tradus prin coexpresia markerilor limfoizi în celulele mieloidă 2. asincronism linear unde există markeri neașteptați pentru stadiu de maturare 3. supraexpresia 4. lipsa expresiei unui marker [12,13].Fenotipurile aberante sunt încadrate ca factori de prognostic negativ [14], fiind asociate cu anomaliile citogenetice [15]. **Infidelitatea lineară** constă în prezența unor elemente imunofenotipice particulare, în care un marker limfoid poate coexprima pe suprafața celulelor de linie mieloidă, de exemplu CD7, CD56, CD2, CD3, CD19 [13]. **Supraexpresia markerilor** mieloidi reprezintă o altă formă de expresie aberantă, cu valoare prognostică în patologia leucemiei acute mieloblastice (CD123).Există anumite corelații între prezența acestor fenotipuri aberante și prognosticul leucemiei acute mieloblastice, alături de prezența anumitor markeri moleculari (cum ar fi FLT3 ITD).

Leucemia acută mieloblastică poate apărea ca o formă secundară (sAML) în urma unei alte tulburări hematologice maligne precum sindromul mielodisplazic, neoplaziile mieloproliferative (policitemia vera, trombocitemia esențială, metaplazie mieloidă cu mielofibroza,leucemia granulocitară cronică), anemia aplastică sau postcitotoxică, ca rezultat în urma expunerii agenților chimioterapici și sau radioterapiei [16-18].

Leucemia acută mieloidă secundară este o patologie hematologică cu un prognostic

nefavorabil, având o supraviețuire globală medie de 4.7 luni și o supraviețuire fără evenimente de 2.9 luni [19]. Aceasta afectează în principal persoanele cu vârstă înaintată, mediana vârstei fiind de 67 de ani, iar aproximativ o treime dintre pacienți au peste 75 de ani. Mutațiile comune ce duc la evoluția leucemiei acute mieloblastice secundare sunt localizate în componentele spiceosomului, cum ar fi SRSF2, modificatori epigenetici precum TET2, IDH1/2, ASXL1 și EZH2, sau TP53 ce are rol în menținerea integrității genomice, aceste mutații fiind dobândite în plus față de mutațiile care conduc la dezvoltarea sindromului mielodisplazic sau neoplaziilor mieloproliferative [20]. Momentul transformării în leucemia acută secundară este dificil de estimat, acesta depinzând de predispoziția genetică a pacientului, vârsta la debutul primei afecțiuni, linia terapeutică administrată pentru prima afecțiune, doza cumulată de chimioterapie, doza de radioterapie.

Leucemia acută mieloidă postcitotoxică (LAMpCT) sau legată de terapie (LAM-t) este definită ca o formă de leucemie acută mieloidă rezultată în urma unui tratament citotoxic, radioterapie ionizantă sau terapie imunosupresoare pentru o patologie fără legătură [21]. Dezvoltarea LAM-t este precedată de administrarea terapeutică pentru tumori solide, patologii hematologice (de exemplu boala Hodgkin, limfomul non-Hodgkin și mielomul multiplu) sau boli autoimune (de exemplu artrita reumatoidă) [22,23].

Cancerul de sân reprezintă cea mai frecventă malignitate solidă primară precedentă t-AML, urmată de patologia hematologică, limfomul non-Hodgkin [24]. Frecvența cazurilor de t-AML la pacienții diagnosticați și tratați pentru cancer de sân, respectiv limfom malign non-Hodgkin a fost de 4,6 și 5,85 ori mai mare decât era de așteptat în populația generală a pacienților diagnosticați cu o malignitate și tratați cu chimioterapie [25]. Dintre toate cazurile de leucemie acută mieloblastică, s-a estimat că LAM postcitotoxică reprezintă 7-8% [24]. Se consideră că o dată cu creșterea ratei de supraviețuire globală a pacienților oncohematologici și incidența acestora va crește [25].

Inițial, s-a considerat că t-AML apare datorită deteriorării ADN-ului de către terapia citotoxică; cu toate acestea, dovezile actuale sugerează câteva mecanisme, care nu se exclud reciproc, ce duc la patogenia LAM postcitotoxică [26,27]. Acestea sunt reprezentate de: (1) inducerea directă a unei oncogene de fuziune prin translocare cromozomială; (2) inducerea instabilității genomului; (3) chimioterapie sau leziuni induse de radiații ale măduvei osoase

realizând un mediu proinflamator, proleucemic; și (4) selecția clonelor de celule hematopoetice rezistente la tratamentul preexistent [26,27]. Leucemiile mieloid acute secundare postcitotoxice sunt frecvent asociate cu expunerea anterioară la medicamente care vizează topoizomeraza II, cum ar fi etopozidul și doxorubicina. Aceste medicamente acționează prin inhibarea enzimelor topoizomerază II, care în mod normal induc rupturi duble catenare ale ADN-ului [28,29]. Inhibitorii blochează topoizomeraza II într-un complex de clivaj al ADN-ului, împiedicând religarea firelor de ADN și conducând la acumularea de rupturi ale ADN-ului [30,31]. Aceste rupturi persistente pot declanșa translocații cromozomiale, în special în gena MLL la banda cromozomială 11q23 [32]. Acest lucru duce la proteine de fuziune oncogenice care dereglează genele implicate în hematopoieză, cum ar fi genele Hox, contribuind la leucemogeneză [33].

Complexele de clivaj ale topoizomerazei II blocate sunt responsabile pentru inițierea ruperilor de ADN, care pot duce la aberații cromozomiale atunci când mecanismele de reparare eșuează [34,35]. Ca rezultat, translocațiile cromozomiale 11q23 sunt frecvent observate în leucemia acută mieloblastică postcitotoxică, în special la cei tratați cu etopozid sau doxorubicină, sugerând că rupturile mediate de topoizomeraza II sunt originea acestor leucemii secundare [36,37]. LAM postcitotoxică indusă de agenți alchilanți cum ar fi bendamustina, ciclofosfamida, melfalan, clorambucil, nitrozouree, și agenți compuși ai platinei, cum sunt cisplatina și carboplatina produc monosomie pentru cromozomul 5 sau 7, sau pierderea brațelor cromozomilor 5q sau 7q [27, 38]. Agenții de alchilare produc modificări covalente la nivelul ADN-ului, provocând reticularea ADN-ului “crosslinking”, rupturi dublu catenare, mutații și citotoxicitate. Agenții compuși ai platinei au o asociere mai slabă cu LAM postcitotoxic [39,40]. Probabilitatea de a provoca dezvoltarea unei boli asociate terapiei variază în ceea ce privește agenții de alchilare (melfalan > ciclofosfamidă) [41,42], existând o relație doza-răspuns între cantitatea de agent alkilant primit și riscul de apariție a bolii [43]. Pedersen-Bjergaard J și colaboratorii au propus opt căi de transformare în leucemia acută mieloblastică postcitotoxică. Proteina tumorală 53 (TP53) este o genă supresoare tumorală aflată pe suprafața cromozomului 17p13.1; ea controlează apoptoza (moartea celulară programată), îmbătrânirea, oprirea ciclului celular și refacerea ADN-ului [44]. TP53 reprezintă gena cea mai frecvent întâlnită în cadrul pacienților cu t-AML, până la 70% dintre aceștia prezentând gena [45,46,47]. În literatura de specialitate s-au pus în evidență două poziții principale de legare a ADN-ului ce arată frecvența maximă de alterare în cancer, acestea fiind R273 și R248 [48,49]; alte puncte de legare a ADN-ului

include resturile K120, A276, C277, R280 și D281, ce sunt prezente în principal în vecinătatea R273 [50]. Mutațiile TP53 sunt legate de un risc crescut de transformare leucemică, prezintă rezistență la tratamentul chimioterapeutic și rată de supraviețuire globală scăzută [51,52,53].

Ratele de progresie către sAML pentru bolile mieloproliferative variază în funcție de subtip: în medie 15% dintre pacienții cu mielofibroză, 8,35% dintre pacienții cu policitemia vera și 1,85% dintre pacienții cu trombocitemie esențială într-un interval de zece ani [54]. În cazul pacienților cu sindrom mielodisplazic o treime evoluează către sAML, fiind caracterizat prin pancitopenie datorită apoptozei (moartea celulară programată) celulelor progenitoare hematopoietice [55,56].

Scopul lucrării este de a pune în evidență anumite elemente particulare cu punct de plecare posibil pentru terapii țintite, pentru îmbunătățirea evoluției patologiei, prin creșterea speranței de supraviețuire, și, de ce nu, obținerea remisiunii complete. Cu toate progresele realizate în clasificarea leucemiei acute mieloblastice pe gruparea de risc citogenetic și molecular, actual, terapiile descoperite și aprobate nu sunt suficiente în obținerea remisiunii complete; astfel, această patologie hematologică reprezintă o boală incurabilă, cu o durată a supraviețuirii scăzută. Utilitatea continuării cercetărilor asupra descoperirii de noi terapii imunologice folosind anticorpi monoclonali, prin diverse mecanisme de acțiune este crescută.

Lucrarea urmărește studiul unui lot prospectiv de pacienți diagnosticați cu leucemie acută în perioada 2015-2024 luna februarie, în urma aprobării Comisiei de Etică a Spitalului Universitar de Urgență București și Spitalului Clinic Colentina București, după semnarea pacientului a consimțământului informat. Persoanele incluse în studiu au îndeplinit criteriile de includere în studiu, menționez că nu a fost analizat niciun pacient fără consimțământul acordat.

În perioada pandemiei mondiale COVID-19 Spitalul Clinic Colentina a fost spital suport, astfel a fost imposibilă înrolarea pacienților din acea perioadă, aceștia neîndeplinind criteriile de înrolare.

Au fost analizați un număr de 107 pacienți diagnosticați cu leucemie acută distribuiți astfel: leucemie acută mieloblastică de novo LAMdn (41), leucemie acută mieloblastică secundară-postsindrom mielodisplazic (23) și postneoplazie mieloproliferativă cronică BCR-ABL negativi (au fost excluși pacienții cu leucemie granulocitară cronică) (6),



leucemia acută mieloblastică postcitotoxică (secundar administrării tratamentului chimioterapie și sau radioterapie pentru un cancer solid sau o hematopatie malignă) (32) și leucemia acută limfoblastică secundară (5). Protocolul de studiu a fost format din datele de identificare a pacientului (inițiale, vârstă, sex, date generale, data diagnosticului primei neoplazii, data diagnosticului cu leucemie acută), comorbidități, antecedente personale patologice, clasificarea leucemiei acute s-a efectuat conform clasificării FAB, ELN, s-au urmărit valorile hemoleucogramei, evaluarea procentului de blasti periferici și moleculari, teste de coagulare, probe biochimice, examenul imunofenotipic, analiza citogenetică, analiza examenului molecular, rezultate obținute prin finanțare de către Programul National Oncologic Subprogramul de diagnostic imunofenotipic, citogenetic și biomolecular al leucemiilor acute. În urma analizei celor 107 pacienți am prezentat rezultatele în cadrul a doua studii: 1. Leucemia acută mieloblastică secundară postsindrom mielodisplazic, postsindrom mieloproliferativ cronic 2. Leucemia acută postcitotoxică (debutată la pacienții cu istoric de chimioterapie și sau radioterapie).

**STUDIUL I Leucemia acută mieloblastică secundară postsindrom mielodisplazic, postsindrom mieloproliferativ cronic** Au fost analizați în studiu un număr de 23 de pacienți cu leucemie acută mieloblastică secundară-postsindrom mielodisplazic și 6 pacienți postneoplazie mieloproliferativă cronică BCR-ABL negativ (au fost excluși pacienții cu leucemie granulocitară cronică) (6) alături de 41 de pacienți cu leucemie acută mieloblastică de novo.

#### **Studiu II Leucemia acută postcitotoxică (postexpunere chimioterapie/radioterapie)**

În lotul de studiu am analizat pacienți cu leucemia acută mieloblastică postcitotoxică (secundar administrării tratamentului chimioterapie și sau radioterapie pentru un cancer solid sau o hematopatie malignă) am urmărit 31 de pacienți cu diverse afecțiuni oncohematologice, și anume:

- Neoplasm sân (16)
- Adenocarcinom prostată (2)
- Neoplasm uterin (3)
- Leucemie limfatică cronică (2)
- Limfom malign nonHodgkin difuz celula mare B (2)
- Limfom Hodgkin netransplantat (1), transplantat (1)

- Limfom folicular (1)
- Carcinom tiroidian (1)
- Osteosarcom (1)
- Boala Waldenstrom (1)
- Adenocarcinom mediastina (1)

În acest studiu aş vrea doar să menţionez de impactul citotoxic asupra pacientului şi posibilitatea de apariţie şi a unei leucemii acute limfoblastice secundare (5) cu adenom de prostată, neoplasm de sân, cancer de pancreas şi leucemie limfatică cronică.

Se observă o pondere crescută de paciente cu neoplasm de sân în antecedente în lotul studiat, cancerul de sân reprezentând cea mai frecventă cauză de leucemie acută mieloidă postcitotoxică, în ciuda frecvenţei crescute rata mortalităţii pacienţilor cu neoplasm de sân este scăzută (15%), diagnosticul se poate pune de la primele modificări imagistice, terapia adjuvantă utilizată duc la o rată de supravieţuire prelungită, estimându-se că din 20 de pacienţi cu neoplasm de sân un pacient va dezvolta o altă neoplazie după 10 ani, reprezentând un risc relativ de 22% pentru leucemie acută mieloidă secundară.

## Concluzii

- **Perioada de latenţă** a fost mai mare la pacienţii cu leucemie acută postcitotoxică comparativ cu cei diagnosticaţi cu leucemie acută secundară
- **Supravieţuirea pacienţilor** cu leucemie acută secundară este influenţată de prezenţa unor particularităţi ale stilului de viaţă- fumat, creşteri ale indicelui de masă corporală, dar şi de prezenţa unor comorbidităţi cardiovasculare, diabet.
- **Supravieţuirea** pacienţilor cu leucemie acută secundară comparativ cu leucemia acută de novo este scurtă, atât datorită frecvenţei crescute de modificări citogenetice cu risc nefavorabil, cât şi datorită imposibilităţii administrării chimioterapiei intensive secundar vârstei înaintate sau a prezenţei comorbidităţilor. Cauzele de deces pe întreg lotul au fost fie prin progresie de boala, fie prin sepsis sever sau alte cauze
- Valoarea monocitelor se corelează cu procentul de blaşti medulari în LAMs, cu un indice pozitiv, rezultând o corelare direct proporţională, cu valoare p statistic de 0.0204.
- S-a efectuat corelarea între leucocite şi procentul de blaşti medulari la pacienţii cu

leucemie acută mieloidă secundară , rezultând că există o corelație direct proporțională deoarece indicele este pozitiv, cu valoare p cu semnificație statistică de 0,0083.

- LDH-ul reprezintă un marker biochimic potent, asociat cu un prognostic negativ, în lotul analizat, pacienții cu LAM de novo și LAMs cu CD56+ au prezentat o valoare mediana a LDHului crescut 579.5, respectiv 420, raportat la cei cu LAMpCT cu mediana de 240.5 prezentând o valoare p cu semnificație statistică de 0,029241.
- Se pare ca există o corelare între numărul de leucocite si valoarea LDHului la pacienții cu leucemie acută secundara cu valoare p statistică de 0.0003.
- Se pare că între CID și deces există o corelare direct proporțională, cu indice pozitiv, cu valoare p statistică de 0.0006.
- Distribuția FAB a pacienților CD7+ decelează o incidența crescută la pacienții LAM1. Conform clasificării ELN 7 pacienți cu CD7+ au prezentat risc nefavorabil, 4 risc intermediar și 2 risc favorabil, iar 5 au prezentat cariotip normal (la 4 dintre pacienții cu CD7+ nu s-a evaluat examenul citogenetic și molecular.
- CD7 este pozitiv la 22 de pacienți din lotul urmărit - 11 pacienți cu LAMdn, 5 cu LAMs și 6 cu LAMpCT. Conform lui Bahia și colaboratorii prezența acestui marker conduc la o formă agresivă a patologiei [55], în lotul studiat din cei 22 de pacienți CD7+ ,14 pacienți au decedat, unul din aceștia prezentând mortalitate precoce (sub o lună).
- **CD56+** a fost întâlnită la 14 pacienți din lotul analizat (6 cu LAMdn și câte 4 cazuri în LAMs și LAMpCT), la 71.4% instalându-se decesul (10 cazuri).
- Într-un studiu efectuat de către Iriyama a menționat că CD56 pozitiv se asociază cu leucocitoză la diagnostic [58]. În lotul nostru doar cei cu LAM de novo și LAMs au prezentat leucocitoză la diagnostic, cei cu LAMpCT prezentând valoarea mediana a leucocitelor de 3350/mm<sup>3</sup>, cu valoare  $p > 0,05$  (0.1366).
- În lotul studiat CD56+ se asociază cu FLT3+ în 3 cazuri
- **CD123+** a fost depistat la 43 de pacienți din lotul analizat- 28 de cazuri cu LAMdn, 7 cazuri de LAMs și 8 pacienți cu LAMpCT ( $p=0,09$ ).
- Conform literaturii de specialitate [32,33] CD123+ se asociază frecvent cu mutația FLT3 pozitiv, în lotul nostru această asociere am întâlnit-o la 5 pacienți (4 pacienți cu LAMdn, 1 pacient cu LAMpCT).
- Rata de deces în cazul leucemiei acute mieloidă secundară (LAMs și LAMpCT) cu

CD123+ a fost peste 85% (85,1%, respectiv 87,5%) raportat la leucemia acută mieloblastică de novo (35,7%), rezultând impactul negativ asupra leucemiilor acute secundare.

- Durata medie de supraviețuire în LAMdn CD123+ a fost de 15 luni, în comparație cu LAMs cu o durată de 5,5 luni și LAMpCT cu durata supraviețuirii medie de 3 luni, cu valoare p statistic semnificativ de 0,012381.
- **CD117+** (c-KIT, receptorul tirozin kinazei, este exprimat pe suprafața celulei stem hematopoetice, prezentând rol important în supraviețuirea, proliferarea și diferențierea celulară, fiind exprimat în majoritatea cazurilor de LAM, în lotul nostru este prezent la 58 de pacienți-la 33 cazuri LAMde novo, 12 pacienți cu LAMs și 13 cu LAMpostcitotoxic.
- Din cei 58 de pacienți CD117+, mutația FLT3+ s-a întâlnit la 8 pacienți.
- La pacienții CD117+ -se confirmă că pacienții LAMdn prezintă o perioadă de supraviețuire superioară (mediana 12 luni) față de cei cu LAMs (mediana 5.5 luni) și LAMpCT(mediana 3 luni).
- Din întreg lotul de 107 cazuri, 74 de pacienți au fost investigați cu examenul citogenetic și molecular, astfel 25 nu au prezentat modificări, 5 pacienți au prezentat risc favorabil, cu o vârstă mediană de 66 ani, 23 de pacienți au prezentat risc intermediar cu o mediana de 56 ani, iar 21 de pacienți au fost încadrați ca risc nefavorabil, cu mediana de 66 ani, prezentând valoare p cu semnificație statistică egală cu **0.032608**
- Decesul survenit în cazul pacienților din întreg lotul în funcție de grupa de risc conform clasificării ELN este astfel distribuit:16 cazuri cu cariotip normal cu mediana vârstei de 72.5 ani, 3 cazuri cu factori de risc favorabil cu mediana de 76.5 ani, 13 cazuri cu factori de risc intermediar cu mediana de 58 ani și 15 cazuri cu factori de risc nefavorabil cu mediana de 67 ani, cu p semnificativ statistic **p=0,0106**.
- Din cei 47 de pacienți decedați, 8 au prezentat în mortalitate precoce (3 cu risc intermediar și 5 cu risc citogenetic nefavorabil).
- Mortalitate precoce deces la sub 1 lună de la diagnostic, s-a decelat la 8 pacienți cu LAMpCT cu mediana vârstei de 59 ani, ceea ce demonstrează că evoluția nefavorabilă este frecventă și la pacienții tineri, sub 60 de ani.
- Din cei 13 pacienți decedați precoce (sub 1 lună) 6 pacienți efectuaseră sedințe de radioterapie în antecedente (p=0.1734).

- 13 pacienți au fost FLT3+, 8 pacienți LAM de novo, 3 pacienți LAMs și 2 pacienți LAMpostcitotoxic
- Cariotipul complex se definește prin prezența a mai mult de 3 anomalii cromozomiale clonale, acesta a fost observat la 16 pacienți din tot lotul, având un prognostic nefavorabil, doar 3 pacienți fiind în viață; astfel au decedat 4 pacienți cu cariotip complex cu LAMdn, 4 pacienți cu LAMs și 5 pacienți cu LAMpCT, cu vârste cuprinse între 59 și 81 ani.
- Neoplasmul de sân reprezintă cea mai frecventă cauză oncologică de-a dezvoltat leucemie acută mieloblastică secundară; în ciuda frecvenței crescute rata mortalității pacienților cu neoplasm de sân este scăzută (15%), diagnosticul se poate suspiciiona de la primele modificări decelate imagistic, terapia adjuvantă utilizată duc la o rată de supraviețuire prelungită [7], estimându-se că din 20 de pacienți cu neoplasm de sân un pacient va dezvolta o altă neoplazie după 10 ani, reprezentând un risc relativ de 22% pentru leucemie acută mieloidă secundară [8,9,10]. În majoritatea cazurilor dezvoltă leucemie acută mieloblastică secundară, însă pot dezvolta și leucemie acută limfoblastică secundară, cazuri mai puțin comune [13,14], un caz fiind prezent și în sublotul studiat.
- Infiltratul medular cu blaști este de 70% mediana la pacientele cu neoplasm de sân, în comparație cu cel al pacienților cu LAM postsindrom mielodisplazic de 41%, cu o valoare p statistică de 0.0197
- Perioada de latență a pacientelor cu neoplasm de sân a fost de 35 luni (mediana, cu o valoare minimă de 7 luni și una maximă de 124 luni), comparativ cu perioada de latență a celor cu leucemie acută mieloblastică postsindrom mielodisplazic 11 luni (mediana, cu minimă 1 lună și maximă de 60 luni, cu un p statistic de 0,0015.
- Conform Clasificării ELN 2 paciente prezintă cariotip normal, 1 pacientă risc favorabil (pacientă care la diagnostic prezenta leucocitoză marcată (293 000/mm<sup>3</sup>) cu infiltrat blastocelular medular major, 6 paciente cu risc intermediar și 2 paciente cu risc nefavorabil.
- O singură pacientă a prezentat mutația FLT3 pozitiv și o pacientă cariotip complex (comparativ cu cei 7 pacienți cu LAM de novo).
- Tratamentul urmat al acestor paciente pentru leucemie acută a fost reprezentat de chimioterapie intensivă -9 cazuri, agent hipometilant cu azacitidina 7 cazuri și 1 pacientă cu inhibitor de BCL2 (Venetoclax), o singură pacientă a efectuat transplant de celule stem

hematopoietice, două paciente obținuseră remisiune completă însă au decedat prin infecții la ultima cură de consolidare a remisiunii complete.

- Decesul a survenit la 15 paciente, prezentând o valoare mediana de supraviețuire după diagnosticul de leucemie acută de numai 3 luni (minima 1 luna, maxima 18 luni).
- Mortalitatea precoce (sub o lună) s-a produs la 5 paciente din cele 17.
- **Infecția SARS-CoV-2** În perioada efectuării studiului, la nivel mondial ne-am confruntat cu apariția infecției cu Coronavirus, în timpul pandemiei Spitalul Colentina a fost denumit spital suport, în clinica noastră s-au internat pacienți cu patologie hematologică infectați COVID. Din lotul studiat 4 pacienți cu leucemie acută secundară au fost diagnosticați cu infecție COVID, dintre care 3 au decedat cu insuficiență respiratorie acută, astfel numărul mic de cazuri cu infecție Covid nu a permis o analiză privind gradul de risc. Infecția COVID-19 a fost o complicație de temut în evoluția pacienților cu leucemie acută secundară și citotoxică, dar și pentru cei cu leucemie acută de novo deoarece au asociat frecvent sepsis și agravarea insuficienței respiratorii cu admisie în terapie intensivă, evoluția nefavorabilă fiind mult mai frecvent notată comparativ cu pacienții cu alte afecțiuni oncohematologice. Chimioterapia intensivă și aplazia au fost factori de agravare, utilizarea inhibitorilor de deacetilază dând un prognostic mai bun pacienților cu LAM și COVID-19. Rezultatele obținute de noi necesită evaluare în lot mai mare de pacienți și analiză în perioadă follow up COVID-19
- Pentru obținerea remisiunii complete a acestui profil de pacienți considerăm ca schemele de tratament să fie personalizate în funcție de mutațiile genetice.
- Cazul pacientei cu neoplasm de sân și mielom multiplu în antecedente, plus leucemia acută promielocitară, ce este în viață (28 luni de la diagnostic leucemiei acute până în februarie 2024 când s-a încheiat introducerea datelor) întărește nevoia de-a descoperii noi terapii țintite pe modificările citogenetice și moleculare, chiar și terapii cu anticorpi monoclonali.
- Noi terapii au fost aprobate în ultimii ani pentru pacienții cu leucemia mieloidă acută cum ar fi Gantuzumab, Ozogamicin un anticorp monoclonal anti-CD33, pentru leucemia acută mieloblastică secundară CPX351 ce este o formulă lipozomală ce conține daunorubicin și citarabina, Midostaurin un inhibitor de fms-like tirozin kinaza și inhibitori ai IDH1 izocitrat dehidrogenază-1, alături de inhibitorul anti-BCL2 Venetoclax ce se utilizează

alături de Azacitidina – pentru a scade riscul infețios se încearcă scăderea duratei de administrare a Venetoclaxului la 7 zile,rezultând cura 7+7.

- Consider că rezultatele obținute pe lotul relativ mic de pacienți nu au avut impact asupra semnificației statistice,însa pot fi luate în observație pentru viitoarele studii aprofundate cu înrolarea unui numar mai mare de pacienți și de observație pe durată mai mare, posibil realizarea unui registru național sau local (București).
- Au loc studii clinice cu molecule de anticorpi monoclonali antiCD123, antiCD70, antiCD56
- Consider că ar fi util ca o probă la diagnosticul pacienților cu leucemie acută mieloblastică secundară să se păstreze, pentru viitoarele teste citogenetice și moleculare,astfel crescând și lotul de pacienți cu acest tablou hematologic.
- Pentru un răspuns terapeutic cât mai bun, evaluarea imunofenotipică, citogenetică și moleculară reprezintă primul pas în tratarea acestor pacieți, prin administrarea terapiei personalizate.

- A comparative approach to classifications in the diagnosis of acute myeloblastic leukemia with reference to cytogenetic, myelodysplastic elements and mutations of the TP53 gene- WHO, ICC,ELN 2022- **Omer Meilin** , Andreescu Mihaela , Popov Viola-Maria , Ana Maria Vlădăreanu Revista oncohematolog year XVIII no 66 (1) march 2024  
10.26416/OnHe.66.1.2024.9389

<https://tstmh20.medichub.ro/reviste-de-specialitate/oncolog-hematolog-ro/a-comparative-approach-to-classifications-in-the-diagnosis-of-acute-myeloblastic-leukemia-with-reference-to-cytogenetic-myelodysplastic-elements-and-mutations-of-the-tp53-gene-who-icc-eln-2022-id-9389-cmsid-68>

- Evaluation of the impact of Covid-19 infection on the evolution and prognosis of patients with acute leukaemia -**Meilin Omer**, Ana M. Vladareanu, Viola M. Popov, Mihaela Andreescu, Lelia Iliescu, Horia Bumbea, Serban Dragosloveanu Revista Română de Medicina de Laborator, vol 29 nr 4, oct 2021;29(4):377-85. DOI:10.2478/rrlm-2021-0032

<https://www.rrml.ro/articole/articol.php?year=2021&vol=4&poz=3#>

#### Abstract

- ACUTE LEUKEMIA PARTICULARITIES IN PATIENTS WITH A HISTORY OF BREAST CANCER- **Meilin Omer**, Ana Maria Vladareanu, Mihaela Andreescu, Viola Maria Popov, Ion Dumitru, Lidia Felicia Mihai, Florina-Oana Patrinoiu, Mihaela Popescu, Dan Soare, Aurora Arghir, Ana Iova, Horia Bumbea (Abstract release date: 05/14/24) EHA Library. Omer M. 06/13/2024; 421286; PB2531
- Particularities of Evolution in Acute Leukemia Patients With a History of Neoplasms Retrospective Analysis- **Meilin Omer**, Viola Maria Popov MD , Mihaela Andreescu, Horia Bumbea, Oana Patrinoiu, Mihaela Popescu , Felicia Mihai , Geanina Ofiteru, Aurora Arghir, Dan Soare, Ion Dumitru, Ana Maria Vladareanu [Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia Volume 24, Supplement 1, September 2024, Pages S319-S320](#)  
[https://doi.org/10.1016/S2152-2650\(24\)01211-4](https://doi.org/10.1016/S2152-2650(24)01211-4)

#### Submise în curs de răspuns

- ASH 2024-Evaluation of Prognostic Factors Involved in the Evolution of Secondary Acute Leukemia Patients
- 16<sup>th</sup> International Congress on Myeloproliferative Neoplasms-The assessment of the particularities of secondary acute leukemia in patients with chronic myeloproliferative neoplasms or myelodysplastic syndromes



1. Shomony S., Stahl M., Stone R.M. Acute myeloid leukemia: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am. J. Hematol.* 2023 doi: 10.1002/ajh.26822. *in press*
2. Roloff G.W., Odenike O., Bajel A., Wei A.H., Foley N., Uy G.L. Contemporary approach to acute myeloid leukemia therapy in 2022. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book.* 2022;42:568–586. doi: 10.1200/EDBK\_349605
3. JD Khoury, et al The 5th edition of the World Health Organization Classification of Hematolymphoid Tumors: Myeloid and Histiocytic/Dendritic
4. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H, Ebert BL, Fenaux P, Godley LA, Hasserjian RP, Larson RA, Levine RL, Miyazaki Y, Niederwieser D, Ossenkoppele G, Röllig C, Sierra J, Stein EM, Tallman MS, Tien HF, Wang J, Wierzbowska A, Löwenberg B. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood.* 2022 Sep 22;140(12):1345-1377
5. Bleesing JJ, Fleisher TA. Immunophenotyping. *Semin Hematol.* 2001 Apr;38(2):100-10
6. Riva G., Nasillo V., Ottomano A.M., Bergonzini G., Paolini A., Forghieri F., Lusenti B., Barozzi P., Lagreca I., Fiorcari S., et al. Multiparametric flow cytometry for MRD monitoring in hematologic malignancies: Clinical applications and new challenges. *Cancers.* 2021;13:4582
7. Haferlach T., Schmidts I. The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2020;188:36–48
8. Zeisig B.B., Fung T.K., Troadec E., So C.W.E. Reconstruction of Human AML Using Functionally and Immunophenotypically Defined Human Haematopoietic Stem and Progenitor Cells as Targeted Populations. *Bio-Protocol.* 2021;11:e4262
9. Tiso F., Koorenhof-Scheele T.N., Huys E., Martens J.H.A., de Graaf A.O., van der Reijden B.A., Langemeijer S.M.C., Preijers F.W.M.B., Kroeze L.I., Jansen J.H. Genetic diversity within leukemia-associated immunophenotype-defined subclones in AML. *Ann. Hematol.* 2022;101:571–579

10. Basharat M., Khan S.A., Din N.U., Ahmed D. Immunophenotypic characterisation of morphologically diagnosed cases of acute myeloid Leukaemia (AML) *Pakistan J. Med. Sci.* 2019;35:470–476.
11. Thomas D., Majeti R. Biology and relevance of human acute myeloid leukemia stem cells. *Blood.* 2017;129:1577–1585
12. Chen X, Cherian S. Acute Myeloid Leukemia Immunophenotyping by Flow Cytometric Analysis. *Clin Lab Med.* 2017;37(4):753–769.
13. Khakhlari N, Gogoi B, Barua A, et al. A Study of Aberrant Phenotypes in Acute Leukemia by Flowcytometry. *Int J Med Res Prof.* 2016;2(4):50–53
14. Momani A, Abbasi N, Alsokhni H, et al. Aberrant Antigen Expression in Patients with Acute Leukemias; Experience of King Hussein Medical Center in Jordan. *JRSM.* 2016;23(2):59–
15. Wertheim GBW. Molecular characterization and testing in acute myeloid leukemia. *J Hematopathol.* 2015;8:177–89.
16. Estey, E.; Döhner, H. Acute myeloid leukaemia. *Lancet* 2006, 368, 1894–1907
17. Higgins, A.; Shah, M.V. Genetic and genomic landscape of secondary and therapy-related acute myeloid leukemia. *Genes* 2020, 11, 749
18. Pedersen-Bjergaard, J.; Andersen, M.K.; Andersen, M.T.; Christiansen, D.H. Genetics of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2008, 22, 240–248
19. Venton, G.; Courtier, F.; Charbonnier, A.; D’incan, E.; Saillard, C.; Mohty, B.; Mozziconacci, M.J.; Birnbaum, D.; Murati, A.; Vey, N.; et al. Impact of gene mutations on treatment response and prognosis of acute myeloid leukemia secondary to myeloproliferative neoplasms. *Am. J. Hematol.* 2018, 93, 330–338.
20. Schwind, S.; Jentzsch, M.; Kubasch, A.S.; Metzeler, K.H.; Platzbecker, U. Myelodysplastic syndromes: Biological and therapeutic consequences of the evolving molecular aberrations landscape. *Neoplasia* 2021, 23, 1101–1109
21. L.A. Godley, R.A. Larson Therapy-related myeloid leukemia *Semin. Oncol* 35 (4) (2008), pp. 418-429
22. L.A. Godley, R.A. Larson Therapy-related myeloid leukemia *Semin. Oncol* 35 (4) (2008), pp. 418-429

23. S. Kayser, K. Döhner, J. Krauter, C.H. Kohne, H.A. Horst, G. Held, *et al.* The impact of therapy-related acute myeloid leukemia (AML) on outcome in 2853 adult patients with newly diagnosed AML *Blood*, 117 (7) (2011), pp. 2137-2145
24. L.M. Morton, G.M. Dores, M.A. Tucker, C.J. Kim, K. Onel, E.S. Gilbert, *et al.* Evolving risk of therapy-related acute myeloid leukemia following cancer chemotherapy among adults in the United States, 1975-2008, *Blood*, 121 (15) (2013), pp. 2996-3004
25. D.A. Arber, A. Orazi, R. Hasserjian, J. Thiele, M.J. Borowitz, M.M. Le Beau, *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*, 127 (20) (2016), pp. 2391-2405
26. M.E. McNerney, L.A. Godley, M.M. Le Beau. Therapy-related myeloid neoplasms: when genetics and environment collide. *Nat. Rev. Cancer*, 17 (9) (2017), pp. 513-527
27. Wu S, Powers S, Zhu W, Hannun YA. Substantial contribution of extrinsic risk factors to cancer development. *Nature*. 2016; 529:43–47. [PubMed: 26675728]
28. McClendon, A.K., & Osheroff, N. (2007). DNA topoisomerase II, genotoxicity, and cancer. *Mutat. Res.*, 623, 83–97
29. Deweese, J.E., & Osheroff, N. (2009). The DNA cleavage reaction of topoisomerase II: wolf in sheep's clothing. *Nucleic Acids Res.*, 37, 738–748.
30. Nitiss, J.L. (2009). DNA topoisomerase II and its growing repertoire of biological functions. *Nat. Rev. Cancer*, 9, 327–337
31. Felix, C.A., Kolaris, C.P., & Osheroff, N. (2006). Topoisomerase II and the etiology of chromosomal translocations. *DNA Repair (Amst.)*, 5(10), 1093–1108
32. Joannides, M., Grimwade, D., et al. (2010). Molecular biology of therapy-related leukemias. *Clin. Transl. Oncol.*, 12(1), 8-14
33. Cowell, I.G., Austin, C.A. (2012). Mechanism of generation of therapy-related leukemia in response to anti-topoisomerase II agents. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, 9(6), 2075–2091.
34. Relling, M.V., Yanishevski, Y., et al. (1998). Etoposide and antimetabolite pharmacology in patients who develop secondary acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 12, 346–352.
35. Pommier, Y. (2013). Drugging topoisomerases: lessons and challenges. *ACS Chem. Biol.*, 8, 82–95.
36. Hars, E.S., Lyu, Y.L., et al. (2006). Role of apoptotic nuclease caspase-activated DNase in etoposide-induced treatment-related acute myelogenous leukemia. *Cancer Res.*, 66, 8975–8979.

37. Le Beau MM, Albain KS, Larson RA, Vardiman JW, Davis EM, Blough RR, Golomb HM and Rowley JD. Clinical and cytogenetic correlations in 63 patients with therapy-related myelodysplastic syndromes and acute nonlymphocytic leukemia: further evidence for characteristic abnormalities of chromosomes no. 5 and 7. *J Clin Oncol* 1986; 4: 325-345.
38. H.J. Olney, F. Mitelman, B. Johansson, K. Mrozek, R. Berger, J.D. Rowley. Unique balanced chromosome abnormalities in treatment-related myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia: report from an international workshop. *Genes Chromosomes Cancer*, 33 (4) (2002), pp. 413-423
39. Travis LB, et al. Treatment-associated leukemia following testicular cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92:1165–1171
40. Curtis RE, Boice JD, Jr, Stovall M, et al. Risk of leukemia after chemotherapy and radiation treatment for breast cancer. *N Engl J Med.* 1992;326:1745–17512
41. Greene MH, Harris EL, Gershenson DM, et al. Melphalan may be a more potent leukemogen than cyclophosphamide. *Ann Intern Med.* 1986;105:360–367
42. Godley LA, Larson RA. The syndrome of therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia. In: Bennett JM, editor. *The myelodysplastic syndromes: pathobiology and clinical management.* New York: Marcel Dekker, Inc.; 2002. pp. 139–176
43. Coso D, Costello R, Cohen-Valensi R, et al. Acute myeloid leukemia and myelodysplasia in patients with chronic lymphocytic leukemia receiving fludarabine as initial therapy. *Ann Oncol.* 1999;10:362–363
44. T.N. Wong, G. Ramsingh, A.L. Young, C.A. Miller, W. Touma, J.S. Welch, *et al.* The role of TP53 mutations in the origin and evolution of therapy-related acute myeloid leukaemia. *Nature*, 518 (7540) (2015), pp. 552-555
45. Lindsley RC, Mar BG, Mazzola E, Grauman PV, Shareef S, Allen SL, Pigneux A, Wetzler M, Stuart RK, Erba HP, Damon LE, Powell BL, Lindeman N, Steensma DP, Wadleigh M, DeAngelo DJ, Neuberg D, Stone RM and Ebert BL. Acute myeloid leukemia ontogeny is defined by distinct somatic mutations. *Blood* 2015; 125: 1367-1376.
46. Seifert H, Mohr B, Thiede C, Oelschlagel U, Schakel U, Illmer T, Soucek S, Ehninger G

- and Schaich M; Study Alliance Leukemia (SAL). The prognostic impact of 17p (p53) deletion in 2272 adults with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2009; 23: 656-663.
47. Cho Y., Gorina S., Pavletich N.P. Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: understanding tumorigenic mutations. *Science*. 1994;265:346–355.
  48. G. Leone, L. Fianchi, L. Pagano, M.T. Voso. Incidence and susceptibility to therapy-related myeloid neoplasms., *Chem. Biol. Interact.*, 184 (1–2) (2010), pp. 39
  49. Travis LB, et al. Risk of leukemia after platinum-based chemotherapy for ovarian cancer. *N Engl J Med*. 1999; 340:351–357
  50. Zhang L, Padron E and Lancet J. The molecular basis and clinical significance of genetic mutations identified in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2015; 39: 6-17
  51. Kadia TM, Jain P, Ravandi F, Garcia-Manero G, Andreef M, Takahashi K, Borthakur G, Jabbour E, Konopleva M, Daver NG, Dinardo C, Pierce S, Kanagal-Shamanna R, Patel K, Estrov Z, Cortes J and Kantarjian HM. TP53 mutations in newly diagnosed acute myeloid leukemia: clinicomolecular characteristics, response to therapy, and outcomes. *Cancer* 2016; 122: 3484-3491.
  52. Bouaoun L, Sonkin D, Ardin M, Hollstein M, Byrnes G, Zavadil J and Olivier M. TP53 variations in human cancers: new lessons from the IARC TP53 database and genomics data. *Hum Mutat* 2016; 37: 865-876
  53. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(4):212–36.
  54. Adès, L.; Itzykson, R.; Fenaux, P. Myelodysplastic syndromes. *Lancet* 2014, 383, 2239–2252
  55. Dan, C.; Chi, J.; Wang, L. Molecular mechanisms of the progression of myelodysplastic syndrome to secondary acute myeloid leukaemia and implication for therapy. *Ann. Med*. 2015, 47, 209–217
  56. Sun, L.; Babushok, D.V. Secondary myelodysplastic syndrome and leukemia in acquired aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2020, 136, 36–49