

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. ARION CONSTANTIN-VIRGILIU

student-doctorand:

DR. ZAHARIA (CĂS. JERCAN) CRISTINA GEORGIANA

BUCUREȘTI

2024

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ

**ANEMII APLASTICE LA COPIL.
ASPECTE ETIOPATOGENICE ȘI
TERAPEUTICE ACTUALE**

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. ARION CONSTANTIN-VIRGILIU

Student-doctorand:

DR. ZAHARIA (CĂS. JERCAN) CRISTINA GEORGIANA

2024

Lucrări științifice publicate

1. Niculiță OO, Marcu AD, Bică AM, Doncu RE, Coliță A, Jercan CG. Oral mucositis – significant complication of pediatric patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. Ro J Pediatr. 2021;70(2):148-155. [doi:10.37897/RJP.2021.2.10](https://doi.org/10.37897/RJP.2021.2.10)
2. Jercan CG, Bică AM, Marcu AD, Radu LE, Șerbănică AN, Asan M, Dobrea C, Jardan C, Ionete A, Călugăroiu C, Constantinescu I, Dragomirișteanu A, Arion CV, Coliță A, Aspecte clinice și hematologice la pacienții pediatrici diagnosticați cu anemie Fanconi – experiența unui centru, Pediatru.ro, XVII, No. 64 (4) 2021. DOI:10.26416/Pedi.64.4.2021, pg 22
3. Cima LN, Martin SC, Lambrescu IM, Stejereanu L, Zaharia C, Colita A, Fica S. Long-term thyroid disorders in pediatric survivors of hematopoietic stem cell transplantation after chemotherapy-only conditioning. J Pediatr Endocrinol Metab. 2018 Aug 28;31(8):869-878. doi: 10.1515/jpem-2018-0020. PMID: 29935114.

Abrevieri
Cuprins
Introducere

A. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

1. ANEMIILE APLASTICE CONSTITUȚIONALE/SINDROAMELE DE INSUFICIENȚĂ MEDULARĂ CONGENITALĂ	11
1.1. Anemia Fanconi	19
1.2. Diskeratoza congenitală	25
1.3. Sindromul Shwachman-Diamond	26
1.4. Anemia Diamond-Blackfan	27
1.5. Neutropenia congenitală	27
1.6. Trombocitopenia amegacariocitară congenitală și alte sindroame trombocitopenice...	28
1.7. Alte sindroame de insuficiență medulară congenitală	33
2. ANEMIILE APLASTICE DOBÂNDITE	35
2.1. Mecanisme fiziopatologice implicate în apariția anemiei aplastice dobândite	36
2.2. Etiologia anemie aplastice dobândite	42
2.3. Manifestări clinic	43
3. DIAGNOSTIC ȘI TRATAMENT	
3.1. Particularități de diagnostic în anemiile constituționale/sindroamele de insuficiență medulară congenitale	44
3.2. Diagnosticul AA dobândite	49
3.3. Tratamentul în AA constituționale/SIMC	50
3.4. TCSH în AA constituționale/SIMC	58
3.5. Monitorizarea post-transplant	62
3.6. Tratamentul AA dobândite	64
3.7. TCSH în AA dobândite	72
3.8. Complicațiile TCSH	74
B. CONTRIBUȚII PERSONALE	
4. SCOP, OBIECTIVE ȘI IPOTEZE DE LUCRU	77
5. METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII	79
6. STUDIUL 1	80
6.1. Pacienți și metode.....	80
6.2. Rezultate.....	81
6.3. Discuții.....	109

7. STUDIUL 2.....	116
7.1. Pacienți și metode.....	116
7.2. Rezultate.....	118
7.3. Discuții	138
8. CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE.....	141

Introducere

Anemiile aplastice constituie un spectru de tulburări hematologice severe, caracterizate prin hipoplazia măduvei osoase cu afectarea celor trei linii celulare majore. Având în vedere morbiditatea și mortalitatea asociate cu aceste afecțiuni și complexitatea intervențiilor necesare în populația pediatrică, se impune o aprofundare a cunoștințelor privind mecanismele etiopatogenice și o optimizare a strategiilor terapeutice bazate pe dovezi.

Creșterea incidenței sindroamelor de insuficiență medulară cogenitală (SIMC) - anterior denumite anemii aplastice constituționale, observată în ultimele decenii poate fi atribuită unei cumuli de factori. În primul rând tehnicile de diagnostic au cunoscut un real progres, iar utilizarea tehnicilor avansate de secvențiere, cum sunt secvențierea întregului exom (WES) și secvențierea de nouă generație (NGS), au permis un diagnostic corect al mutațiilor patogene întâlnite la această categorie de boală. Tehnicile WES și NGS permit identificarea variațiilor inclusiv în genele rare sau la nivelul regiunilor genomului care nu erau anterior accesibile prin metodele tradiționale de diagnostic.

Accesul îmbunătățit la servicii medicale specializate și la facilitățile noi de testare genetică a contribuit la creșterea numărului de cazuri diagnosticate. Dezvoltarea infrastructurii de sănătate a permis un diagnostic mai precoce și mai precis al acestor afecțiuni, reducând astfel numărul cazurilor subdiagnosticate. În plus, disponibilitatea crescândă a testării genetice în ambulatoriu a extins accesul și la aceste servicii, inclusiv pentru populațiile anterior subevaluate.

Nu în ultimul rând, interacțiunea dintre predispozițiile genetice și factorii de mediu ar putea contribui la manifestarea fenotipurilor clinice ale anemiilor constituționale. Factorii de mediu, precum expunerea la toxine sau agenți infecțioși, ar putea acționa ca declanșatori în contextul unui fundal genetic susceptibil, ceea ce ar putea explica o parte din creșterea incidenței acestor afecțiuni.

Infecțiile virale cu tropism hepatic, cum ar fi cele provocate de virusurile hepatitei, au fost identificate drept principalul factor etiologic în etiopatogenia anemiei aplastice dobândite în numeroase cazuri. Aceste virusuri pot declanșa un răspuns imunologic disproporționat, care duce la distrugerea celulelor stem hematopoietice (CSH) din măduva osoasă. Mecanismul patogenetic implică adesea activarea limfocitelor T citotoxice și eliberarea de citokine

mielosupresive, care determină hipoplazia măduvei osoase și, în consecință, pancitopenia caracteristică anemiei aplastice.

Forma dobândită de anemie aplastică (AA), care reprezintă o urgență de diagnostic, se caracterizează printr-o rată de mortalitate semnificativ crescută în absența unui tratament imediat, care să includă fie tratament imunosupresor specific fie transplant de celule stem hematopoietice (TCSH). În lipsa intervenției terapeutice, pacienții prezintă un risc major de infecții severe și hemoragii amenințătoare de viață. Imunosupresia, realizată prin agenți precum globulina antitimocitară (ATG) și ciclosporina (CSA), are ca scop reducerea răspunsului imun mediat celular care distruge CSH. În cazurile refractare sau severe, transplantul allogenetic de celule stem oferă o șansă curativă, reconstituind funcția măduvei osoase prin repopularea cu celule stem sănătoase provenite de la un donator compatibil.

Am ales această temă ca o completare a activității desfășurate în primii ani de rezidențiat, pe care l-am efectuat în Clinica de Pediatrie a Institutului Clinic Fundeni. Interesul pentru aceste patologii a apărut ca urmare a implicării active în Departamentul de Transplant Medular Pediatric.

Începând cu anul 2018 am colaborat, sub îndrumarea doamnei Prof. Univ. Dr. Anca Coliță și a domnului Prof. Univ. Dr. Constantin Arion, cu Departamentul de Endocrinologie din cadrul Spitalului Elias pentru monitorizarea pacienților post-transplant de celule stem hematopoietice, colaborare care s-a concretizat în publicarea a 3 articole în reviste de profil.

În anul 2021 am contribuit sub îndrumarea doamnei Prof. Univ. Dr. Anca Coliță la redactarea Capitolului 53. Anemii aplastice dobândite și constituționale, publicat la EDITURA MEDICHUB MEDIA, sub coordonarea științifică a doamnei Prof. Univ. Dr. Doina Anca Pleșca.

În anul 2021 am publicat articolul despre mucozita orală, urmat în scurt timp de articolul privind experiența Clinicii de Pediatrie cu pacienții diagnosticați cu Anemie Fanconi (AF).

La un review asupra publicațiilor despre SIMC cu autori români am constatat doar 2 raportări de cazuri (din 2022, și 2023) și o analiză extinsă a Societății Europene de Transplant Medular (EBMT) privind transplantul de celule stem hematopoietice (TCSH) la pacienții cu SIMC – publicată în 2024, analiză în care Institutul Clinic Fundeni, Departamentul de

Transplant Medular Pediatric, a raportat activitatea din ultimii 30 ani, la care am participat în mod activ pe o perioadă de 10 ani.

Analizând și publicațiile cu autori români care au raportat pacienți cu AA dobândită, am identificat 1 studiu retrospectiv asupra pacienților cu AA dobândită realizat tot de EBMT, publicat în anul 2020, cu raportarea datelor din centrul de Transplant Medular Adulți, un articol privind experiența în TCSH de la donatori cu mismatch cu experiența centrului de adulți (2017), restul articolelor sunt din 1994, respectiv 2009.

Este necesară o actualizare privind modalitatea de prezentare, diagnosticul, și tratamentul acestor patologii și consider că rezultatele obținute în cadrul celor 2 studii desfășurate pe parcursul a 8 ani sunt la standardele internaționale.

SCOPUL, OBIECTIVELE ȘI IPOTEZE DE LUCRU

Obiectivul principal al tezei de doctorat a fost evaluarea pacienților pediatrici cu forme dobandite sau constitutionale de anemie aplastica. În acest sens am realizat 2 studii prospective, observaționale, cu criterii de includere și excludere specifice.

1. Studiul 1 Analiza lotului de pacienți cu anemii aplastice constituționale / SIMC

Scopul acestui studiu a fost evaluarea pacienților cu SIMC în vederea identificării particularităților clinico-hematologice la debut și al conduitei terapeutice.

Obiectivele principale pentru acest studiu au fost:

- i. identificarea particularităților clinico-biologice în corelație cu genotipul pacienților pentru fiecare subtip de SIMC
- ii. evaluarea indicației de transplant pentru fiecare subtip de SIMC și rata de efectuare a TCSH în funcție de identificarea donatorului
- iii. analiza rezultatelor TCSH și factorii de risc asociați cu evoluția pacienților pentru fiecare subtip de SIMC

Obiective secundare:

- descrierea eșantionului analizat în studiu în funcție de parametrii hematologici la momentul diagnosticului
- supraviețuirea globală a pacienților care nu au efectuat TCSH
- supraviețuirea în funcție de subtip de SIMC.

Ipotezele de lucru pentru Studiul 1:

Definirea ipotezelor de lucru:

1. Există o corelație semnificativă între prezența anomaliilor clinice și vârsta mai mică la diagnostic
2. Diagnosticul precoce al SIMC se corelează cu o rată de supraviețuire globală crescută
3. Pacienții cu SIMC care efectuează TCSH au o rată de supraviețuire mai mare

2. Studiul 2 Analiza lotului de pacienți cu AA dobândită

Scopul acestui studiu a fost evaluarea pacienților cu AA dobândită în vederea identificării particularităților hematologice și al răspunsului terapeutic.

Obiectivele principale pentru acest studiu au fost:

- i. evaluarea răspunsului la tratamentul de linia I: IST versus MSD
- ii. evaluarea răspunsului la tratamentul de linia II: MUD versus haplo
- iii. evaluarea factorilor de risc asociați cu evoluția nefavorabilă

Obiective secundare:

- analiza particularităților clinico-biologice și etiologice ale pacienților în funcție de grupa de vârstă
- repartiția lotului funcție de gradele de severitate
- identificarea particularităților genetice ale AA

Ipotezele de lucru pentru Studiul 2:

Definirea ipotezelor de lucru:

1. Există o corelație semnificativă între tipul de ATG utilizat și răspunsul la tratament
2. TCSH asociază rate mai bune de răspuns comparativ cu IST în prima linie de tratament
3. TCSH de la un donator haploidentific asociază rate similare de răspuns și toxicitate cu TCSH de la MUD

METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII

Teza de doctorat cuprinde 2 studii prospective, observaționale, cu criterii de includere și excludere specifice.

În studiul 1 am analizat pacienții cu SIMC, care au fost diagnosticați și tratați în Clinica de Pediatrie a IC Fundeni, în perioada 2002 – 2022. Perioada de urmărire a fost continuă, pe toată durata studiului. Diagnosticarea cu SIMC a pacienților internați în Clinica de Pediatrie a Institutului Clinic Fundeni s-a realizat coroborând datele clinice, rezultatele paraclinice, completate în unele cazuri de teste genetice.

Studiul 2 a cuprins pacienții cu AA dobândită. În acest studiu am analizat pacienții cu AA, care au fost diagnosticați și tratați în Clinica de Pediatrie a IC Fundeni, în perioada 2002 – 2022. Perioada de urmărire a fost continuă, pe toată durata studiului.

Ambele studii au fost efectuate în concordanță cu prevederile Declarației de la Helsinki, cu aprobare de la Comisia de Etică a Institutului Clinic Fundeni; datele pacienților și fotografiile au fost anonimizate, conform reglementărilor privind protecția datelor cu caracter personal (General Data Protection Regulation (GDPR)). S-a obținut acordul aparținătorilor pentru publicarea datelor și fotografiilor.

Metode utilizate pentru analiza statistică

Analiza statistică a fost efectuată folosind IBM SPSS Statistics 29.0.2.0. și ilustrate utilizând Microsoft Office Excel/Word 2021. Variabilele cantitative au fost exprimate sub formă de medii cu deviații standard sau mediane cu intervale interpercentile. Variabilele calitative au fost exprimate sub formă absolută sau procentuală, iar diferențele dintre grupuri au fost testate folosind testul Fisher's Exact Test.

Variabilele cantitative cu distribuție normală măsurate între intervale au fost testate folosind testul Paired-Samples T-Test.

Capitolul 1 din teza de doctorat cuprinde caracteristici despre cele mai frecvente subtipuri de SIMC în populația generală incluzând Anemia Fanconi, Diskeratoza congenitală, Sindromul Shwachman-Diamond, Anemia Diamond-Blackfan, Neutropenia congenitală, care sunt cele mai frecvente SIMC, dar și afecțiuni mai rare: Trombocitopenia amegacariocitară congenitală, Deficitul de GATA2, Anemia diseritropeitică congenitală, mutațiile SAMD9/SAMD9L.

Atât în practica medicală, dar și în literatura de specialitate, se folosește mai frecvent termenul de “sindroame de insuficiență medulară congenitală” decât denumirea clasică de “anemie aplastică constituțională”, deoarece primul cuprinde un spectru mai larg de afecțiuni ereditare, în timp ce termenul clasic este mai degrabă generic și deși include de asemenea multe afecțiuni,

nu înglobează diversitatea și complexitatea manifestărilor clinice întâlnite la această categorie de pacienți. SIMC sunt de regulă diagnosticate în centre specializate unde sunt disponibile echipe multidisciplinare care pot gestiona atât insuficiența medulară cât și celelalte implicații clinice (de ex. malformațiile congenitale, riscul de apariție a malignităților).

SIMC sunt diagnosticate de regulă în copilărie, și sunt în mod tradițional caracterizate prin pancitopenie, hipocelularitate medulară și predispoziție către malignități/sindroame mielodisplazice (SMD) la care pot asocia prezența unor malformații somatice congenitale. Aceste sindroame rezultă din defecte genetice care afectează capacitatea măduvei osoase de a produce suficiente celule stem hematopoietice, fiind frecvent asociate cu un spectru de anomalii fenotipice.

Diagnosticul SIMC se bazează pe identificarea anomaliilor fizice caracteristice, dacă acestea sunt prezente, completat de investigații hematologice detaliate și analize genetice moleculare pentru detectarea mutațiilor specifice.

Pacienții cu SIMC au o probabilitate crescută de a dezvolta malignități pe parcursul vieții. TCSH rămâne singura intervenție terapeutică curativă capabilă să restabilească hematopoieza completă, fără a influența predispoziția intrinsecă a pacienților pentru apariția malignităților.

Din punct de vedere al numărului de linii celulare afectate, SIMC se pot clasifica astfel:

- ✓ sindroame cu afectarea multilinelă a hematopoiezei: AF, DC
- ✓ sindroame cu afectarea unilinelă a hematopoiezei: DBA, SDS, CAMT.
- ✓ tot în această categorie de afecțiuni sunt incluse și unele boli foarte rare – sindromul Seckel, sindromul Pearson, hipoplazia cartilajelor și părului (cartilage hair hipoplazia CHH), disgenezia reticulară și trombocitopenia cu absența radiusului (TAR), NC, CDA, mutațiile germinale SAMD9/SAMD9L, GATA2

În ultimii ani s-au făcut progrese în descoperirea genelor responsabile de transmiterea genetică în SIMC, care au permis o mai bună înțelegere a hematopoiezei normale și cum este aceasta perturbată la pacienții cu insuficiență medulară.

Capitolul 2 detaliază mecanismele fiziopatologice din AA dobândită și etiologia acestei afecțiuni.

AA dobândită este o boală rară, cu evoluție potențial nefavorabilă. Se caracterizează în principal printr-o hematopoeiză inefficientă, aspectul măduvei osoase la biopsie fiind acela de hipoplazie și vacuolizare grasă, în absența infiltrației leucemice/fibrozei.

Etiologia AA

Stabilirea diagnosticului de certitudine și identificarea agentului etiologic în cazul pacienților cu AA dobândită sunt esențiale pentru a permite o abordare terapeutică adecvată și personalizată. Aceasta include evaluarea detaliată a istoricului medical, efectuarea de teste diagnostice specifice și, acolo unde este posibil, identificarea factorilor cauzali pentru a optimiza strategia de tratament și a îmbunătăți prognosticul pacientului.

Etiologia AA dobândite poate fi clasificată în mai multe categorii principale, pe baza factorilor implicați [1]:

B1. idiopatică (în > 70% din cazuri agentul etiologic nu va fi identificat)

B2. secundară

a. medicamente

- i. de regulă efectul este predictibil, este dependent de doză, mecanism posibil reversibil la oprirea medicației: 6-mercaptopurină, methotrexat, ciclofosfamidă, busulfan
- ii. efectul toxic nu poate fi anticipat în mod sigur și poate apărea chiar și la doze considerate sigure pentru majoritatea pacienților:
 1. antibiotice: cloramfenicol, sulfonamide
 2. anticonvulsivante: mefenitoin (Mesantoin), hydantoin
 3. antireumatice: fenilbutazonă, săruri de aur
 4. antidiabetice: tolbutamidă, clorpropamidă
 5. antimalarice: quinacrină

b. substanțe chimice: insecticide, diclor-difenil-triclorețanul, pesticide, paration, clordan

c. expunere toxică: benzen, tetraclorid de carbon, lipici, toluene

d. expunere la radiații

e. infecții: hepatită virală (non-A, B, C), HIV, virusul Epstein Barr, rujeola, virusuri gripale și paragripale, rubeola, oreion, CMV, herpes virus, parvovirus B19, adenovirus

- f. afecțiuni imunologice: reacție grefă contra gazdă post-transfuzională la un pacient imunodeprimat, sindrom limfoproliferativ X-linkat, fasciita eozinofilică, hipogamaglobulinemia, lupus eritematos sistemic
- g. SMD
- h. timoame
- i. hemoglobinuria paroxistică nocturnă
- j. stări de malnutriție a organismului: Kwashiorkor, marasmul, anorexia nervoasă, sarcina

Manifestările clinice în AA dobândită includ:

- anemie: oboseală extremă și slăbiciune, paloare cutaneo-mucoasă, dispnee, vertij
- trombocitopenie: sindrom hemoragipar cutaneo-mucos (hemoragii gingivale, nazale, echimoze, peteșii, menoragie, hematurie)
- neutropenie: infecții recurente moderate/severe, febră de origine necunoscută, ulcerații în cavitatea bucală
- alte simptome: scădere ponderală inexplicabilă, dureri osoase/articulare, disconfort abdominal

Capitolul 3 studiază problematica stabilirii diagnosticului în cele 2 afecțiuni, ulterior am aprofundat tratamentul specific fiecărei patologii.

Este foarte importantă diferențierea între AA dobândită și SIMC, diagnosticul trebuie efectuat înaintea stabilirii planului terapeutic atât la copii cât și la adulți. Suspiciunea de diagnostic pentru SIMC se bazează pe evaluarea triadei clasice: anamneză, examen clinic și analize hematologice. Confirmarea diagnosticului necesită teste specifice și analize genetice. Investigația unui caz de SIMC este, în general, inițiată după observarea unor modificări sugestive recurente, evidențiate în cadrul analizelor de rutină efectuate periodic pentru screeningul afecțiunilor comune.

Diagnosticul în anemia aplastică dobândită este unul de urgență, datorită naturii acute și potențial fatale a afecțiunii. Acești pacienți prezintă un risc extrem de crescut de evenimente hemoragice majore, inclusiv hemoragii cerebrale, gastrointestinale sau pulmonare, din cauza trombocitopeniei severe care caracterizează această boală. În plus, pancitopenia asociată agravează vulnerabilitatea la infecții grave și poate duce la sepsis, o complicație care, fără tratament prompt, are un prognostic rezervat.

În capitolele 4-7 sunt prezentate scopul, obiectivele și ipotezele de lucru, metodologia cercetării științifice și rezultatele celor 2 studii efectuate.

Rezultatelor obținute au fost discutate în comparație cu datele din literatură.

Capitolul Concluzii sumarizează rezultatele și discuțiile de la fiecare studiu.

STUDIUL 1 ANALIZA LOTULUI DE PACIENȚI CU ANEMII APLASTICE CONSTITUȚIONALE / SIMC

Pacienți și metode

Au fost incluși în studiu 37 de pacienți, cu diagnosticul de SIMC, a căror evoluție a fost urmărită pe tot parcursul studiului.

Colectarea datelor pentru realizarea studiului a inclus analiza dosarelor clinice ale pacienților, aflate în arhiva spitalului și a unui tabel de monitorizare a principalilor parametri clinico-biologici și a tratamentului.

Concluzii Studiul 1

1. Lotul de 37 de pacienți cu SIMC a avut vârsta mediană de 5 ani și 8 luni, cu un sex ratio 1.4:1, ușor în favoarea sexului masculin, cu predominanța AF 49%, urmat de DBA 30%, DC 11%, NC 5%, 5% dintre pacienți nu au putut fi încadrați în subtipurile de SIMC, și cu o repartiție pe grupe de vârstă și subtipuri de SIMC similară cu cea din literatură.
2. Testarea genetică efectuată la 37.8% din pacienți a identificat cea mai frecventă genă, FANC-A (la 3 pacienți), fie genă unică, fie în asociere cu altă genă FANC sau cu altă genă (VPS13B), urmată de FANC-F la 2 pacienți și FANC-N. Pentru pacienții cu DBA cea mai frecvent identificată genă a fost RPS19, la 3 pacienți, urmată de RPS26 și RPL5. Testarea genetică la cei 2 pacienți cu DC a identificat gena ACD la unul din ei, iar la celălalt ACD în asociere cu ZCCHC8. La pacienții cu NC genele identificate au fost: ELANE, în asociere cu CSF3R, SLX4, WRAP53 și în celălalt caz, G6P3.
3. Cele mai frecvente malformații întâlnite au fost cele scheletale, la 25 pacienți (68%), urmate de întârzierea în dezvoltare la 22 de pacienți (60%), retardul mental la 15 pacienți (40%), manifestările cutanate au fost prezente la 11 pacienți (30%), malformațiile reno-urinare doar la 8 pacienți (22%), cele cardiace la 4 pacienți (11%), la fel și malformațiile gastro-intestinale.

4. 19% dintre pacienți nu au avut malformații sau alte manifestări sugestive la momentul debutului (7 pacienți), dintre care 2/7 cu AF, 3/7 cu DBA, și câte 1/7 pacient cu DC și NC.
5. Hemoglobina medie pentru cei 37 de pacienți din lot la diagnostic a fost 9.84 g/dl, (5.7 – 15.6), cu un VEM mediu de 90.5 fl (65.7 – 116.3) u un minim de 5.7 g/dl și un maxim de 15.6 g/dl.
6. La pacienții cu AF media de vârstă la diagnostic a fost 7 ani, cu limite între 1 an și 14 ani. Aceștia au prezentat diverse grade de anemie (minim 5.7 g/dl, maxim 15.6 g/dl), valoarea maximă fiind la un pacient care asocia și insuficiență respiratorie cronică.
7. Din cei 11 pacienți cu DBA, 4 (36%) dintre ei au prezentat anemie severă (7g/dl), 4 au prezentat anemie moderată (7-10 g/dl), și doar 3 (28%) au prezentat valori peste 11 g/dl. Valoarea medie a hemoglobinei pentru pacienții cu DBA a fost 8.2 g/dl (5.7 – 11.8) cu limite între 5.7 și 11.8. toți pacienții au prezentat reticulocitopenie (100%)
8. Vârsta mediană a pacienților la procedura de TCSH a fost de 9.5 ani. Tipurile de proceduri de TCSH efectuate au fost: MSD (de la donator frate/soră compatibil 10/10), MUD (donator neînrudit compatibil 10/10), HAPLO (donator haploidentic).
9. Din cele 16 proceduri efectuate 3/16 au fost MSD, 11/16 au fost MUD, 2/11 au fost HAPLO. În ceea ce privește sexul donatorului, pentru toate procedurile de MSD donatorii au fost de sex F (100%), pentru MUD 09/10 au fost de sex M, 1/10 de sex F, iar pentru HAPLO donatorii au fost 1/2 de sex F, 1 de sex M.
10. Complicații precoce au prezentat pacienții care au efectuat procedura MUD 3/11 și cei cu HAPLO (2/2). Complicații tardive au prezentat 2/11 pacienți cu MUD – disfuncție tiroidiană, respectiv GVHD cronic.
11. Complicațiile la MUD au fost: 1/11 cu PRES, 1/11 cu CLS, 1/11 GVHD intestinal sever, 2/11 reactivare CMV. Complicațiile la HAPLO au fost: 2/2 reactivare CMV, 1/2 GVHD acut de grad IV (cutanat și intestinal).
12. Supraviețuirea în funcție de tipul de TCSH : pacienții cu MSD – 3/3 se mențin în RC, pentru cei cu MUD – 3/11 au decedat (reactivare CMV, GVHD intestinal), 8/11 se mențin în RC, iar la HAPLO 2/2 pacienți decedați.
13. Supraviețuirea pacienților cu TSCH a fost următoarea: 68.75 % din pacienți se mențin în RC iar 31.25% au decedat. Pacienții cu TCSH de la MUD au o rată de supraviețuire de 50%.
14. Din populația cu AF, un procent de 72.22% (13/18 pacienți), a efectuat TCSH., cu o probabilitate cumulativă de supraviețuire de 94.4% la 6 luni și 72.2% la 65 de luni.

Timpul mediu de supraviețuire a fost de aproximativ 109.2 luni (IC 95%: 86.9 - 131.5 luni).

15. Analiza Kaplan-Meier asupra populației care a efectuat TCSH a evidențiat o probabilitate de supraviețuire cumulativă de 84,6% la 2 luni, care a scăzut la 69,2% la 12 luni post-transplant. Timpul mediu de supraviețuire a fost estimat la 14,08 luni (IC 95%: 10,65 - 17,51). Din cauza numărului redus de evenimente, nu a fost posibilă estimarea medianeii timpului de supraviețuire. Probabilitatea de supraviețuire la 12 luni a fost de 69,2%.

16. **Supraviețuirea generală:** la 6 luni, probabilitatea de supraviețuire este de 97.3%.

Se confirmă ipotezele de lucru pentru acest studiu.

STUDIUL 2 ANALIZA LOTULUI DE PACIENȚI CU ANEMII APLASTICE DOBÂNDITE

Pacienți și metode

Au fost incluși în studiu toți pacienții diagnosticați cu AA dobândită, în perioada aprilie 2002 – noiembrie 2022, în cadrul Clinicii de Pediatrie a Institutului Clinic Fundeni. Diagnosticul AA a fost confirmat prin PBO (celularitate medulară scăzută), pancitopenie în sângele periferic în absența altor afecțiuni maligne, și după ce s-a exclus diagnosticul de SIMC. La 2 pacienți cu vârstă mică la diagnostic s-au efectuat și teste genetice.

Criterii severitate:

1. SAA – celularitate MO <25% sau 25%–50%, cu <30% celule hematopietice reziduale și cel puțin două din următoarele criterii:
 - număr de neutrofile $<0,5 \times 10^3/l$
 - număr de trombocite $<20 \times 10^3/l$ sau
 - număr de reticulocite $<20 \times 10^3/l$.
2. VSAA – criterii SAA + număr de neutrofile $<0,2 \times 10^3/l$.
3. NSAA - nu îndeplinește criteriile pentru SAA sau VSAA

Criterii de includere în lot: diagnostic de AA dobândită, vârsta între 0-18 ani la momentul diagnosticului, diagnostic, tratament/monitorizare evoluție în cadrul departamentului.

Criterii de excludere: pacienti cu aplazie medulară postchimioterapie pentru malignități, SIMC; date indisponibile la momentul diagnosticului.

Variabile de studiu:

- demografice (vârsta la diagnostic, sex, mediu proveniență)
- antecedentele heredo-colaterale semnificative

- simptomatologia la debut
- tabloul paraclinic la debut
- celularitatea medulară evaluate prin PBO
- factorii etiologici: virusuri hepatitice, CMV, EBV, expunere medicamente
- gradul de severitate
- tratamentul de linia I:
 - imunosupresie : CSA, MMF
 - IST: ATG + CSA
 - TCSH
- răspunsul la tratamentul de linia I: răspuns complet, răspuns parțial, fără răspuns
- tratamentul de linia II
 - TCSH
- răspunsul la tratamentul de la linia II: răspuns complet, răspuns parțial, fără răspuns
- starea actuală

Criteria de răspuns la tratament

Evaluarea răspunsului la tratament [177]

- la 3 luni:
 - neutrofile în continuare sub $0.2 \times 10^3/l$ → pacientul are indicație pentru procedura de TCSH
 - răspuns parțial bun/slab și neutrofile peste $0.2 \times 10^3/l$ → continuă tratamentul cu CSA
- la 4 luni:
 - neutrofile în continuare sub $0.2 \times 10^3/l$ → pacientul are indicație pentru procedura de TCSH
 - răspuns parțial bun/slab și neutrofile peste $0.2 \times 10^3/l$ → pregătirea pacientului pentru TCSH și dacă la 6 luni este fără răspuns are indicație pentru procedura de TCSH
- la 6 luni:
 - fără răspuns → pacienții au indicație pentru procedura de TCSH
 - răspuns parțial bun/slab → continuă tratamentul cu CSA
 - pentru pacienții care sunt în remisiune completă ≥ 2 luni, CSA trebuie scăzută progresiv (10% pe lună), cu monitorizare hemogramă săptămânală
- orice remisiune completă > 6 luni:

- pentru pacienții care sunt în remisiune completă ≥ 2 luni, CSA trebuie scăzută progresiv (10% pe lună), cu monitorizare hemogramă săptămânală
- la 8 luni:
 - răspuns parțial slab → pacientul are indicație pentru procedura de TCSH dacă are donator MUD 10/10 sau 9/10, sau alt donator alternativ
 - răspuns parțial bun → continuă CSA
- la 1 an:
 - CSA trebuie scăzută progresiv (10% pe lună), indiferent de răspuns

Concluzii Studiul 2

1. Lotul de 69 de pacienți cu AA a avut o medie de vârstă de 9.59 ani, cu o deviere standard de 4,525, cu un sex ratio M:F de 1.5:1, ușor în favoarea sexului masculin, cu 57% dintre pacienți provenind din mediul urban.
2. 81% din pacienți au prezentat sindrom hemoragipar ca și manifestare de debut.
3. 72.5% dintre pacienți au fost diagnosticați cu AA idiopatică, 16% AA post-hepatită acută, 4.3% cu AA post-expunere la medicamente, 5.8% AA secundar expunerii la toxice, 1.4% cu AA secundar infecției cu EBV. La 2.8% din pacienți s-a efectuat testare genetică cu identificarea a 2 gene, LYST respectiv RTEL1 (niciuna din gene nu este citată în apariția SIMC).
4. 17.4% dintre pacienți au fost încadrați cu NSAA, 59.4% dintre pacienți cu SAA și 23.2% dintre pacienți au avut VSAA
5. Tratament de primă linie : 51% au primit IST, 39% au primit alte combinații de imunosupresoare, și doar 10% au efectuat TCSH.
6. Răspunsul la tratamentul de primă linie: 34% din pacienții cu IST au prezentat RC, 71.4% din pacienții cu TCSH au prezentat RC.
7. 17 pacienți au primit linia II de tratament, cu vârstă mediană la transplant 9 ani, cu sex ratio M:F de 0.71:1.
8. Tratamentul de linia II a constat în TCSH: MUD 37.6%, HAPLO, 43.7%, MSD 18.7%, și a fost administrat în medie la 113 zile de la momentul administrării tratamentului de primă linie.

9. 1/6 pacienți cu MUD a prezentat toxicitate la regimul de condiționare și 1/6 a dezvoltat GVHD sever, 2/2 pacienți care au efectuat TCSH de la donator HAPLO au prezentat rejet de grefon secundar unei infecții cu virusul BK (BKV).
10. Pacienții cu transplant MUD: 2/6 pacienți au decedat din cauza complicațiilor, iar 4/6 au obținut RC – 66%, pacienții cu HAPLO: 2/7 pacienți au decedat din cauza complicațiilor, iar 5/7 au obținut RC (71.4%).
11. Transplantul HAPLO a fost efectuat fără toxicități majore, cu o rată de răspuns de 71%, ușor mai mare față de pacienții care au efectuat MUD (66%).
12. Timpul mediu de supraviețuire pentru tot lotul de 69 de pacienți, de la momentul diagnosticului, este de aproximativ 87 de luni, cu un interval de încredere de 95% cuprins între 75 și 99 de luni.
13. Supraviețuirea medie estimată este de 98 de luni, după primă linie de tratament.
14. Supraviețuirea medie estimată este de 92.118 luni, cu un interval de încredere de 95% între 68.223 și 116.013 luni, după a doua linie de tratament

Se confirmă ipotezele de lucru.

Contribuții personale

Lucrarea de față este un studiu care a cuprins un număr mare de pacienți, atât pacienți cu afecțiuni congenitale dar și pacienți cu boală dobândită. Este singurul studiu efectuat asupra celor 2 populații într-un centru pe Pediatrie din România. În acest sens au fost elaborate cele 2 studii, ambele prospective.

Primul studiu a înrolat un număr semnificativ de pacienți pe parcursul a 8 ani, și este singurul studiu care a analizat pacienții cu SIMC. Ca urmare a acestor activități s-a format o echipă multidisciplinară de medici pediatri, onco-hematologie pediatrică, geneticieni, radiologi, cardiologi, pneumologi și endocrinologi care monitorizează acești pacienți de la momentul diagnosticului, pe parcursul procedurii de transplant și ulterior.

În Institutul Clinic Fundeni s-a creat un centru național pentru diagnosticul și tratamentul multidisciplinar al pacienților cu SIMC.

Primele proceduri de TCSH la pacienții cu SIMC s-au efectuat în centrul nostru. Prima procedură de TCSH de la un donator neînrudit s-a efectuat la un pacient cu AF în anul 2013, prin colaborarea cu Registrul Național al Donatorilor Voluntari de Celule Stem Hematopoietice. Primele proceduri de transplant haploidentice cu depleție TCR $\alpha\beta$ s-au efectuat în centrul nostru la pacienți cu AF care nu aveau donatori compatibili.

Cel de-al doilea studiu a concentrat un număr mare de pacienți, diagnosticați cu AA dobândită, la care au fost analizate tabloul clinic-biologic, celularitatea medulară, etiologia bolii, stratificarea în grade de severitate, tratamentele de linia I și linia II, răspunsul la tratament, și evoluția globală. Protocolul de colaborare internațională cu grupa de studiu de la MD Anderson a condus la efectuarea primelor proceduri de transplant haploidentice la pacienții cu AA dobândită care nu aveau donatori compatibili.

Am reușit să consolidăm o echipă multidisciplinară care tratează pacienții cu AA în România, începând cu diagnostic și tratament, urmate de monitorizare pe termen lung.

Bibliografie

1. Cuglievan B, DePombo A, De Angulo G. Aplastic anemia: the correct nomenclature matters. *Haematologica*. 2016 Sep;101(9):e391. doi: 10.3324/haematol.2016.146522. PMID: 27582572; PMCID: PMC5060039.
2. Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-801368-7.00008-9>
3. Sangiorgio V, Calaminici M. Aplastic anemia (AA). PathologyOutlines.com website. <https://www.pathologyoutlines.com/topic/bonemarrowaplasticanemia.html>. Accessed August 9th, 2024.
4. Kawashima N, Bezzerri V, Corey SJ. The Molecular and Genetic Mechanisms of Inherited Bone Marrow Failure Syndromes: The Role of Inflammatory Cytokines in Their Pathogenesis. *Biomolecules*. 2023 Aug 16;13(8):1249. doi: 10.3390/biom13081249. PMID: 37627314; PMCID: PMC10452082.
5. Deng J, McReynolds LJ. Inherited bone marrow failure syndromes: a review of current practices and potential future research directions. *Curr Opin Pediatr*. 2023 Feb 1;35(1):75-83. doi: 10.1097/MOP.0000000000001196. Epub 2022 Nov 10. PMID: 36354296; PMCID: PMC9812861.
6. Alter BP. Diagnosis, genetics, and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007;29-39. doi: 10.1182/asheducation-2007.1.29. PMID: 18024606.
7. Cristina Jercan, Ana Maria Bică, Andra Daniela Marcu, Letiția Elena Radu, Andreea Șerbănică, Mirela Asan, Camelia Dobrea, Cerasela Jardan, Alexandra Ionete, Carmen Călugăroiu, Ileana Constantinescu, Aurora Dragomirișteanu, Constantin Arion, Anca Coliță, Aspecte clinice și hematologice la pacienții pediatrici diagnosticați cu anemie Fanconi – experiența unui centru, Year XVII, No. 64 (4) 2021. DOI:10.26416/Pedi.64.4.2021, pg 22
8. Mehta PA and Tolar J: Fanconi Anemia. In: GeneReviews®. Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al (eds). University of Washington, Seattle, WA, 2002.
9. Moreno OM, Paredes AC, Suarez-Obando F, Rojas A. An update on Fanconi anemia: Clinical, cytogenetic and molecular approaches (Review). *Biomed Rep*. 2021 Sep;15(3):74. doi: 10.3892/br.2021.1450. Epub 2021 Jul 15. PMID: 34405046; PMCID: PMC8329995.

10. Bagby GC: Multifunctional Fanconi proteins, inflammation and the Fanconi phenotype. *EBioMedicine* 8: 10-11, 2016.
11. Tipping AJ, Pearson T, Morgan NV, Gibson RA, Kuyt LP, Havenga C, Gluckman E, Joenje H, de Ravel T, Jansen S, et al: Molecular and genealogical evidence for a founder effect in Fanconi anemia families of the Afrikaner population of South Africa. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 5734-5739, 2001
12. Strom CM, Crossley B, Redman JB, Quan F, Buller A, McGinniss MJ and Sun W: Molecular screening for diseases frequent in Ashkenazi Jews: Lessons learned from more than 100,000 tests performed in a commercial laboratory. *Genet Med* 6: 145-152, 2004.
13. Callén E, Casado JA, Tischkowitz MD, Bueren JA, Creus A, Marcos R, Dasí A, Estella JM, Muñoz A, Ortega JJ, et al: A common founder mutation in FANCA underlies the world's highest prevalence of Fanconi anemia in Gypsy families from Spain. *Blood* 105: 1946-1949, 2005.
14. Rosenberg PS, Tamary H and Alter BP: How high are carrier frequencies of rare recessive syndromes? Contemporary estimates for Fanconi Anemia in the United States and Israel. *Am J Med Genet A* 155A: 1877-1883, 2011.
15. Shimamura A and Alter BP: Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood Rev* 24: 101-122, 2010.
16. Meetei AR, Levitus M, Xue Y, Medhurst AL, Zwaan M, Ling C, Rooimans MA, Bier P, Hoatlin M, Pals G, et al: X-linked inheritance of Fanconi anemia complementation group B. *Nat Genet* 36: 1219-1224, 2004.
17. Ameziane N, May P, Haitjema A, van de Vrugt HJ, van Rossum-Fikkert SE, Ristic D, Williams GJ, Balk J, Rockx D, Li H, et al: A novel Fanconi anaemia subtype associated with a dominant-negative mutation in RAD51. *Nat Commun* 6: 8829, 2015.
18. Wang AT, Kim T, Wagner JE, Conti BA, Lach FP, Huang AL, Molina H, Sanborn EM, Zierhut H, Cornes BK, et al: A Dominant Mutation in Human RAD51 Reveals Its Function in DNA Interstrand Crosslink Repair Independent of Homologous Recombination. *Mol Cell* 59: 478-490, 2015.
19. Rageul J, Kim H. Fanconi anemia and the underlying causes of genomic instability. *Environ Mol Mutagen*. 2020 Aug;61(7):693-708. doi: 10.1002/em.22358. Epub 2020 Feb 6. PMID: 31983075; PMCID: PMC7778457.
20. Fiesco-Roa MÓ, García-de Teresa B, Leal-Anaya P, van 't Hek R, Wegman-Ostrosky T, Frías S, Rodríguez A. Fanconi anemia and dyskeratosis congenita/telomere biology

disorders: Two inherited bone marrow failure syndromes with genomic instability.
Front Oncol. 2022 Aug 25;12:949435. doi: 10.3389/fonc.2022.949435. PMID:
36091172; PMCID: PMC9453478.