

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ



REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. HORIA BUMBEA

Student-doctorand:

SOARE DELIA

2025

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ

**CORELAȚII ÎNTRE ASPECTELE MORFOLOGICE,
IMUNOFENOTIPICE, CITOGENETICE ȘI MOLECULARE ÎN
MASTOCITOZA SISTEMICĂ**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. HORIA BUMBEA

Student-doctorand:

DELIA SOARE

2025

CUPRINS

<i>Lista cu abrevieri și simboluri</i>	<i>4</i>
<i>INTRODUCERE</i>	<i>6</i>
<i>PARTEA GENERALĂ.....</i>	<i>7</i>
1. <i>Mastocitul – prezentare generală în biologia umană</i>	<i>8</i>
2. <i>Mastocitoza sistemică - definiție și clasificare</i>	<i>12</i>
3. <i>Tratamentul Mastocitozei Sistemice</i>	<i>14</i>
<i>PARTEA SPECIALĂ</i>	<i>16</i>
4. <i>Ipoteza de lucru și obiectivele generale</i>	<i>17</i>
5. <i>Metodologia generală a cercetării</i>	<i>18</i>
6. <i>Evaluarea profilului epidemiologic, genetic, molecular al pacientului cu mastocitoza sistemică din România</i>	<i>19</i>
6.1. <i>Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice).....</i>	<i>19</i>
6.2. <i>Material și metodă</i>	<i>19</i>
6.3. <i>Rezultate</i>	<i>19</i>
6.4. <i>Discuții.....</i>	<i>21</i>
7. <i>Tratamentul actual în practica curentă în Mastocitoza sistemică agresivă în România</i>	<i>22</i>
7.1. <i>Introducere.....</i>	<i>22</i>
7.2. <i>Material și metodă</i>	<i>22</i>
7.3. <i>Rezultate</i>	<i>23</i>
7.4. <i>Discuții.....</i>	<i>24</i>
8. <i>Profilul imunofenotipic al mastocitelor la pacienții cu mastocitoză avansată în populația din România</i>	<i>25</i>
8.1. <i>Introducere.....</i>	<i>25</i>
8.2. <i>Material și metodă</i>	<i>25</i>
8.3. <i>Rezultate</i>	<i>25</i>
8.4. <i>Discuții.....</i>	<i>26</i>
<i>Concluzii și contribuții personale.....</i>	<i>27</i>
<i>Bibliografie</i>	<i>28</i>
<i>Lista lucrărilor publicate de doctorand, cu linkuri către publicațiile respective</i>	<i>33</i>

Lista cu abrevieri și simboluri

anti-RANKL	Receptorul activator al ligandului factorului nuclear kappa B
ASM	Mastocitoza sistemică agrevată
CBL	Gena de limfom de linie B Casitas
MC	Mastocitoza cutanată
COX-1	Ciclooxygenaza-1
COX-2	Ciclooxygenaza-2
CPA3	Carboxipeptidaza A3
CTMC	Celule mastocitare ale țesutului conjunctiv
CysLT	Receptorul pentru cisteinil-leucotriena
FcεRI	Receptorul de afinitate crescută pentru IgE
GM-CSF	Factor stimulator al coloniilor de granulocite-macrofage
IFN	Interferon
ISM	mastocitoză sistemică indolentă
KIT	receptorul tirozin kinazei tip 3
LTA4	leucotriena A4
LTB4	Leucotriena B4
LTC4	leucotriena C4
LTD4	leucotriena D4
LTE4	leucotriena E4
MC	mastocitoza cutanată
MCL	leucemie mastocitară
MCS	sarcomul mastocitar
MCT	mastocitele care exprimă exclusiv triptază
MCTC	mastocite care exprimă simultan triptază și chimază
MIP	proteine inflamatorii ale macrofagelor
MMC	celule mastocitare ale mucoaselor
MRGX2	Mas-related G-protein-coupled receptor member X2
MS	mastocitoza sistemică
MyD88	raspuns primar de diferențiere mieloidă 88
NGF	factor de creștere neuronală
PCR	reacție de polimerizare în lanț
PDGF	factor de creștere derivat din plachete
PGD2	prostaglandina D2
RAG	rețele de gene activatoare de recombinare bazate pe imunoglobuline
RANTES	secvența de exprimare a celulelor T normale reglată în urma activării
RUNX1	Runt-related transcription factor 1
SCF	factorul de celule stem
SM-AHN	mastocitoza sistemică asociată cu neoplasm hematologic
SRSF2	factorul de splicing 2 bogat în serină și arginina
SSM	mastocitoza sistemică tip smoldering
TET2	dioxidigenaza 2 Tet metilcitosina
TGF	factor de creștere tumorală
TNF	factor de necroză tumorală
VEGF	factor de creștere derivat din endoteliul vascular
OMS	Organizația Mondială a Sănătății

Fc γ	fragmentul constant al IgG
Fc γ RI	receptorul I pentru fragmentul constant al IgG
Fc γ RIIb	receptorul IIb pentru fragmentul constant al IgG
Fc γ RIII	receptorul III pentru fragmentul constant al IgG
ITIM	immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif , motif inhibitor de immunoreceptor bazat pe tirozina
JAK/STAT	Janus kinaza/transductor de semnal si activator de transcriptie
MAPK/ERK	Mitogen-Activated Protein Kinase/Extracellular Signal-Regulated Kinase Protein kinaza activata de mitogen/ Kinaza reglata prin semnal extracelular
PI3K/AKT	Phosphatidylinositol 3-kinase / B Protein kinase - fosfatidilinozitol 3-kinaza / Protein kinaza B
E-NPP3	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 3 - membru de familie 3 pirofosfataza/fosfodiesteraza ectonucleotid
TNFR/NGFR	Tumor Necrosis Factor Receptor/Nerve Growth Factor Receptor
IL-2R	receptor pentru IL-2
TGF- β	factor de crestere tumorală beta
IFN- α	interferon alfa
VEGF A-D	factor de crestere derivat din endoteliul vascular a-D
CXCL-8	CXC motif chemokine ligand 8 [(human)]
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1 - proteina chemoattractanta pentru monocite 1
BMM	mastocitoza medulara pura
RAS	rat sarcoma virus
TKI	inhibitor de tirozin kinaza
VAF	variant allele frequency
MAPS	Mayo Alliance Prognostic Score
IPSM	international prognostic scoring system for mastocytosis
GPSM	The Global Prognostic Score for Mastocytosis
MARS	Mutation Adjusted Risk score
LDH	lactat dehidrogenaza
DEXA	ostedensitometrie
IWG-MRT-ECNM	International Working Group–Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment și European Competence Network on Mastocytosis
ICC	International Consensus Classification
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
STAT5	signal transducer and activator of transcription
MSA	mastocitoza sistemică avansată

INTRODUCERE

Mastocitoza sistemică este o boală hematologică rară, marcată de infiltrarea anormală a mastocitelor în diferite organe, având o manifestare clinică și biologică extrem de heterogenă (1). Dificultățile de diagnostic și tratament, alături de progresele recente în biologia moleculară, justifică necesitatea unor cercetări aprofundate. Această lucrare își propune să contribuie la înțelegerea patogenezei bolii și să faciliteze dezvoltarea unor metode de diagnostic și strategii terapeutice personalizate, prin corelarea datelor morfologice, imunofenotipice, moleculare și clinice.

În timp ce pe plan internațional mastocitoza sistemică este intens cercetată în centre specializate, în România nu au fost publicate până acum studii care să ofere date epidemiologice sau corelații clinico-biologice specifice. Studiul de față, realizat într-un centru de excelență pentru mastocitoză, urmărește să acopere acest gol printr-o analiză retrospectivă a unui lot de pacienți diagnosticați cu această afecțiune.

Obiectivele includ caracterizarea morfologică a mastocitelor, identificarea mutațiilor moleculare (cu accent pe KIT D816V) și corelarea acestora cu manifestările clinice și tratamentele administrate. Metodologia folosește tehnici moderne precum histologia specifică, citometria în flux și PCR, iar datele vor fi analizate statistic pentru identificarea unor relații relevante.

Studiul are o abordare interdisciplinară, integrând expertiza din hematologie, imunologie, biologie moleculară și bioinformatică. Deși dimensiunea redusă a eșantionului reprezintă o limitare, rezultatele preliminare sugerează legături importante între profilul genetic și fenotipul clinic, oferind o bază solidă pentru extinderea viitoare a cercetării. Direcțiile ulterioare vizează identificarea de noi biomarkeri și evaluarea terapiilor țintite, în funcție de caracteristicile moleculare ale fiecărui pacient.

PARTEA GENERALĂ

1. Mastocitul – prezentare generală în biologia umană

Mastocitele sunt celule cu rol în sistemul imun în biologia umană, având rol de celule de “pază” care răspund la multiple semnale de pericol extern și intern(2). Aceste celule se regăsesc în principal în piele, mucoase și în jurul endoteliului vascular, fiind capabile să afecteze aproape orice organ odată activate.

Mastocitoza este o patologie hematopoietică rară (1) caracterizată prin expansiunea clonală a mastocitelor și activarea lor anormală, ceea ce conduce la acumulare în diverse țesuturi și la eliberarea exagerată a mediatorilor biologici. În ultimii ani, gradul de conștientizare asupra acestei afecțiuni a crescut datorită eforturilor societăților medicale și ale organizațiilor pentru pacienți, precum și datorită practicii tot mai frecvente de analizare a triptazei serice în alergologie. Astfel, diagnosticul diferențial al bolilor cu manifestări alergice, dermatologice, gastrointestinale sau hematologice include din ce în ce mai frecvent mastocitoza. În plus, promovarea noilor opțiuni terapeutice—în special a inhibitorilor de tirozin-kinază—impune medicilor să încadreze corect pacienții într-una dintre cele șapte categorii clinice distincte, fiecare având indicații terapeutice și prognostic proprii.

Studiile filogenetice recente subliniază că mastocitele sunt printre primele celule imune apărute în evoluție (3). Au apărut în urmă cu mai mult de 500 de ani la urocordate, denumite "celulele test" pentru rolul lor în imunitatea înăscută și repararea tisulară (4–6). La pești—inclusiv la specii primitive fără maxilare—au fost detectate celule cu profil histochimic și biochimic asemănător mastocitelor, care exprimau receptorul KIT pentru factorul stem (SCF) și MYD88 (adaptor al receptorilor Toll-like), conferind capacitatea de recunoaștere a microorganismelor și paraziților (7,8). Odată cu tranziția către vertebrate și apariția rețelei RAG (genele de recombinare a segmentelor de imunoglobulină), mastocitele au dobândit funcții imune adaptive (3).

Mastocitele derivă din progenitori hematopoietici transmiși în principal de măduva osoasă. Spre deosebire de alte celule mieloide, ele pătrund în circulație ca celule progenitoare, exprimând încă în stadiile timpurii FcεRI, KIT și CD34. În prezența SCF, acestea se diferențiază rapid în mastocite mature. În circulație, parcurgerea este rapidă, iar infiltrarea țesutului se produce constitutiv și este accelerată de procese inflamatorii. În țesuturi, progenitorii se diferențiază în două subtipuri principale: CTMC (celule mastocitare ale țesutului conjunctiv) – predominante în piele și țesut conjunctiv. Granulele lor conțin heparină, vizibilă metacromatic cu albastru de toluidină; MMC (celule mastocitare ale mucoaselor) – localizate în mucoasa căilor respiratorii și tractului gastrointestinal. Granulele

lor conțin sulfat de condroitină E, colorabil galben/verde cu safranină. La om, mastocitele se clasifică pe baza tipului de proteaze din granule în: MCT (mastocite bogate în tripsază) și MCTC (mastocite bogate în tripsază și chimază), corespunzător în multe privințe CTMC și MMC la rozătoare. Aceasta diferențiere reflectă specializare funcțională: receptorii MRGX2 se exprimă în CTMC, dar nu și în MMC(9).

Mastocitele mature umane exprimă un repertoriu complex de receptori care le conferă abilitatea de a răspunde la stimuli variabili. Printre aceștia se numără:

FcεRI (receptorul de înaltă afinitate pentru IgE) – esențial pentru reacțiile alergice, evoluat ca mecanism de apărare împotriva paraziților și veninurilor (10).

Receptori Fcγ (pentru IgG) – includ FcγRI, FcγRIIb și, ocazional, FcγRIII la anumite condiții citokinice (11) FcγRI, cu afinitate mare, apare pe procesele mastocitare doar în prezența IFN-γ sau în leziuni psoriazice, activând mastocitele în condiții specifice. FcγRIIb, prin motiful ITIM, inhibă degranularea FcεRI-dependentă când este colegat cu acesta.

KIT (CD117) – receptor de tip tirozin-kinază al SCF, crucial pentru hematopoieză și supraviețuirea mastocitelor. În mastocitoză, aproximativ 85–90% dintre adulți prezintă mutația KIT D816V, care conduce la activare constitutivă a receptorului și proliferarea necontrolată (12,13). Semnalizarea în aval include axe JAK/STAT, PLCγ, MAPK/ERK și PI3K/AKT, susținând supraviețuirea, proliferarea și migrația celulară.

MRGX2 (receptori cuplați G) – implicați în reacții anafilactice la medicamente și inflamație neuronală, activând mastocitele independent de FcεRI. Sunt stimulați de peptide antimicrobiene, veninuri de insecte și neuropeptide precum substanța P (14–17). Inhibitorii MRGX2 pot reprezenta viitoare ținte terapeutice în mastocitoză.

CD63 – joacă rol de marker hidrostatic de activare, deoarece se supraexprimă rapid pe suprafața mastocitelor după expunerea la alergen (18) (19). CD63 este supraexprimat pe mastocitele din măduva osoasă la pacienții cu mastocitoză.

CD203c (E-NPP3) – membrană cu activitate ectonucleotidazică (E-NPP), asociată cu malignitate și activare tumorală (20) (21). Este suprareglat după cuplarea receptorilor IgE și supraexprimat pe mastocitele neoplazice (22)

CD30 – membru al familiei TNFR/NGFR, cu semnalizare duală ce poate induce fie activare, fie apoptoză. În mod normal, expresia sa este restricționată la limfocitele T și B

activate, dar în mastocitoza sistemică (indolentă și agresivă) CD30 este supraexprimat aberant pe mastocitele neoplazice (23) (24).

CD25 (lanțul α al IL-2R) – componente ale receptorului de înaltă afinitate pentru IL-2 (heterotrimer cu β și γ). Mastocitele în mastocitoza sistemică exprimă CD25 nereglat, acesta fiind marker de celule mastocitare neoplazice (25). Rămâne neclară semnificația patologică a expresiei aberante.

În bolile mieloproliferative mastocitare, fenotipul clinic este determinat de atât efectul de masă al acumulării celulare, cât și de eliberarea variabilă a mediatorilor, generând un tabloul simptomatic polimrf. Anumiți mediatori reprezintă ținte terapeutice și markeri de diagnostic/monitorizare:

Histamina - este principala amină biogenică eliberată de mastocitele umane după activarea receptorului IgE. Poate fi măsurată în lichidele biologice. Creșterea histaminei serice sau a metaboliților săi urinari poate indica mastocitoză sistemică și/sau activare mastocitară (26), însă nu este considerată criteriu de diagnostic.

Heparina – glicozaminoglican produs de mastocite cu efect anticoagulant, prezent în mastocitoza cutanată; în forme avansate de mastocitoză sistemică, eliberarea excesivă poate duce la complicații hemoragice, deși majoritatea parametrilor de coagulare rămân normali (27) (28).

Proteazele – sunt stocate în granulele mastocitare și reprezintă o proporție semnificativă a conținutului proteic total al mastocitelor (29). După eliberare, acestea degradează proteine tisulare, influențând inflamația, angiogeneza, homeostazia osoasă și răspunsurile alergice. Pot degrada și veninuri (albine, scorpioni, reptile), diminuând toxicitatea (8)

Triptaza serică – nivelul ei seric reprezintă criteriu minor de diagnostic în mastocitoza sistemică (valoare >20 ng/mL). Există două izoforme principale, β (active proteolitic ca homotetramer) și α (mai puțin activă) (30). Creșterea nivelului seric cu $\geq 20\%$ față de valoarea bazală + 2 ng/mL într-un interval de 4 ore după reacție alergică indică activare mastocitară (31,32)

Chimaza – protează serinică implicată în generarea angiotensinei II și endotelinei 1, participând la inflamație, reglarea tensiunii arteriale și instabilitatea plăcilor aterosclerotice; degradează lipoproteine, promovează formarea macrofagelor spumoase și contribuie la fibroză tisulară (33,34).

Carboxipeptidaza A3 (CPA3) – identificată în mastocitele umane și asociată cu afecțiuni alergice ale căilor aeriene (35)

Prostaglandina D2 (PGD2) și leucotrienele cisteinilice (CysLT: LTC4, LTD4, LTE4) – mediatori lipidici sintetizați rapid după activarea mastocitelor (36). PGD2, produs din acid arahidonic prin COX-1/COX-2, induce vasodilatație și bronhoconstricție, fiind crescut în fluidele biologice după expunerea alergică (37). CysLT-urile, produse de mastocite și alte celule inflamatorii, induc contracția musculaturii netede la concentrații mult mai mici decât histamina și determină urticarie și eritem. LTE4 urinar este crescut în mastocitoză și corelează cu nivelurile urinare de N-metil-histamină și cu triptaza serică (38,39).

Citokine și chemokine – mastocitele eliberează TNF, TGF- β , IFN- α , VEGF-A-D, IL-6, IL-11, IL-13, IL-16, IL-18, GM-CSF, NGF, PDGF, precum și chemokine ca IL-8 (CXCL-8), MCP-1, MIP-1 α/β , RANTES și eotaxină. Aceste molecule reglează inflamația locală și sistemică, recrutând celule inflamatorii și remodelând țesuturile.

Mastocitele joacă un rol central în fiziologia inflamației și alergiei, iar patologia proliferativă a acestora—mastocitoza sistemică—reflectă nu doar acumularea celulară, ci și perturbarea echilibrului mediatorilor. În următoarele capitole ale tezei, se vor detalia metodele histologice, citometrice și moleculare aplicate în studiul pacienților cu mastocitoză sistemică, corelările statistice dintre parametrii studiați și rezultatele clinice, precum și interpretarea bioinformatică a datelor. Limitarea principală a studiului este reprezentată de dimensiunea eșantionului relativ mic, necesitând validarea concluziilor în cohorte mai extinse.

2. Mastocitoza sistemică - definiție și clasificare

Mastocitoza este o boală hematologică rară, heterogenă, caracterizată prin acumularea clonală și atipică de mastocite în unul sau mai multe organe (40). Aceasta este clasificată în forme cutanate (MC) și sistemice (MS), conform ghidurilor OMS (41). MC este frecventă la copii, având un prognostic bun, în timp ce la adulți predomină formele sistemice, cronice și incurabile (42). În funcție de manifestările clinice și biologice, MS se clasifică în mai multe subtipuri: mastocitoză medulară pură (BMM), indolentă (ISM), smoldering (SSM), agresivă (ASM), leucemie mastocitară (MCL) și forma asociată cu o altă neoplazie hematologică (SM-AHN) (43). Primele trei au un prognostic favorabil sau intermediar, în timp ce ultimele sunt considerate forme avansate, necesitând abordări terapeutice citoreductive sau chiar transplant alogen.

Diagnosticul de MS se bazează pe criterii stricte definite de OMS, care includ infiltrate mastocitare dense, morfologie atipică, prezența mutației KIT (în special D816V), expresia aberantă a CD25 și/sau CD2 și niveluri serice crescute de triptază. Determinarea subtipului de boală se face în funcție de prezența semnelor B și C după cum urmează: semnele B (ex. osteoporoza, hepatomegalie, splenomegalie fără disfuncții) și semnele C (anemie, insuficiență hepatică, fracturi patologice, malabsorbție), acestea sunt esențiale în stadializarea bolii și în ghidarea deciziei terapeutice. (43)

Pe plan clinic, ISM este dominată de simptome induse de eliberarea mediatorilor mastocitari – flushing, prurit, tahicardie, hipotensiune – frecvent gestionabile prin tratament simptomatic. În schimb, ASM și SM-AHN sunt asociate cu disfuncții de organ, necesită terapii citoreductive și sunt adesea refractare la tratament convențional.

Mutațiile KIT reprezintă un element central în patogeneza mastocitozei. La adulți, mutația KIT D816V este prezentă la >80% dintre pacienții cu forme avansate și în ~100% dintre cei cu ISM. Această mutație activează constitutiv receptorul KIT și este detectabilă inclusiv în celule hematopoietice non-mastocitare (bazofile, eozinofile, CD34+), sugerând un eveniment patogenetic timpuriu în celulele stem. Încărcătura alelică a mutației KIT D816V se corelează cu severitatea bolii, fiind un marker important pentru monitorizarea terapiei și a progresiei (44).

Pe lângă mutațiile KIT, formele avansate de SM sunt adesea caracterizate de mutații adiționale în gene non-KIT: TET2, ASXL1, SRSF2, RUNX1, CBL, RAS, care contribuie la un fenotip mai agresiv și la un prognostic rezervat (45).

Subtipurile clinice de MS reflectă această diversitate genetică și biologică. În ISM, mutația KIT D816V este frecvent limitată la mastocite, iar prognosticul este favorabil. În SSM, încărcătura mastocitară este mai mare și implicarea hematopoiezei este mai extinsă. ASM este caracterizată prin disfuncții severe de organ și o incidență crescută a mutațiilor adiționale. SM-AHN combină SM cu o neoplazie hematologică, frecvent mieloidă, având un profil molecular și terapeutic complex. MCL este cea mai agresivă variantă, cu supraviețuire redusă, caracterizată prin infiltrat mastocitar extensiv și prezența frecventă (dar nu universală) a mutației KIT D816V. Subvariantele de MCL (cum ar fi forma cronică, cMCL) sunt în curs de caracterizare și ridică provocări diagnostice și terapeutice. Sarcomul mastocitar (MCS), deși extrem de rar, implică mastocite cu atipii morfologice majore și profile genetice variabile.

Concluzionând, mastocitoza sistemică este o afecțiune complexă, în care diagnosticul și tratamentul se bazează pe corelarea datelor clinice, histopatologice, imunofenotipice și moleculare. Mutația KIT D816V joacă un rol central, dar nu exclusiv, în patogeneza bolii. Identificarea mutațiilor adiționale și evaluarea încărcăturii alelice au o importanță prognostică majoră. Clasificarea precisă a subtipurilor de SM și stadializarea adecvată permit o abordare terapeutică personalizată, în special în formele avansate. Pe viitor, testele moleculare sensibile și terapiile țintite pe profilul genetic ar putea redefini managementul acestei boli rare, dar potențial sever evolutive.

3. Tratamentul Mastocitozei Sistemice

Mastocitoza sistemică (MS) este o afecțiune hematologică rară care necesită o abordare terapeutică diferențiată, adaptată subtipului bolii și severității simptomatologiei. Strategiile terapeutice actuale includ controlul simptomelor mediate de degranularea mastocitelor, reducerea încărcăturii mastocitare în formele avansate și terapii țintite ce țintesc mutațiile specifice genei KIT, în special D816V.

Terapia simptomatică se bazează pe antihistaminice H1 și H2 (ex. cetirizină, famotidină), antagoniști ai leucotrienelor (montelukast), corticosteroizi, cromoglicat de sodiu și omalizumab, un anticorp monoclonal anti-IgE eficient în episoadele alergice severe (46). Tratamentul afectării osoase implică bifosfonați, denosumab și peginterferon alfa-2a. Tratamentul reacțiilor anafilactice implică administrarea de adrenalină, iar cromoglicatul de sodiu este util în simptomele gastrointestinale și cutanate (46)

Inhibitorii de tirozin-kinază (TKI) reprezintă principala opțiune terapeutică pentru tratamentul țintit. Midostaurin (100 mg/zi), aprobat în 2017, vizează KIT D816V și a demonstrat o rată de răspuns global de 60%, deși efectele adverse gastrointestinale au impus ajustarea dozelor în numeroase cazuri (47). Avapritinib (200 mg/zi), inhibitor selectiv de tip 1, a oferit rezultate superioare: ORR de 75%, remisie completă în 36% din cazuri și reducerea semnificativă a triptazei serice (48). Cu toate acestea, s-au raportat evenimente adverse cognitive, mai frecvente la pacienții cu trombocitopenie sau SM-AHN.

Inhibitorii de nouă generație aflați încă în stadiul de cercetare, precum bezucastinib și elenestinib, îmbunătățesc profilul de siguranță și oferă o inhibiție potentă a KIT D816V. Elenestinib a demonstrat o reducere de până la 68% a nivelurilor serice de triptază la pacienți cu ISM, iar bezucastinib, aflat în studiul APEX, a atins ORR de 56% și o reducere cu >50% a triptazei, VAF și infiltrării mastocitare la >90% dintre pacienți (49,50).

Alte terapii citoreductive includ cladribine, interferon-alfa și hidroxiuree, utilizate în formele refractare sau avansate. Transplantul alogen de celule stem hematopoietice (ASCT) este considerat opțiune curativă pentru cazurile severe, mai ales pentru SM-AHN, dar cu beneficii limitate în MCL și ASM. Avapritinib a demonstrat supraviețuiri comparabile sau superioare ASCT în anumite subgrupuri, redefinind indicațiile pentru transplant.

Evaluarea prognosticului se realizează prin scoruri precum MAPS, MAPSS, IPSM, GPSM sau MARS, care integrează parametri clinici (vârstă, hemoglobina, trombocitele, fosfataza alcalină) și genetici (mutații ASXL1, RUNX1, SRSF2, DNMT3).(51)

Aceste scoruri permit stratificarea pacienților în funcție de risc, ghidând deciziile terapeutice și estimând supraviețuirea mediană. Mai mult, sistemele de scor sunt utile în definirea tipurilor de răspuns terapeutic: remisie completă, răspuns major, parțial, ameliorare clinică, boală stabilă sau progresivă (52).

Tratamentul mastocitozei sistemice cunoaște o transformare semnificativă prin dezvoltarea terapiilor țintite înalt selective, cu profiluri favorabile de siguranță. Stratificarea moleculară și clinică a pacienților permite o abordare terapeutică personalizată, iar noile scoruri prognostice contribuie la optimizarea managementului bolii și la maximizarea supraviețuirii. Studiile în curs vor clarifica locul terapiilor combinate și al noilor TKI în standardul de îngrijire pentru SM.

PARTEA SPECIALĂ

4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Mastocitoza sistemică, este o patologie rară, care afectează celula mastocitară prin proliferarea clonală a acesteia. Este o boală cu afectare heterogenă, având o simptomatologie complexă: alergologică, dermatologică, endocrinologică, gastroenterologică și hematologică, însă poate afecta orice organ.

Având în vedere rata mică de diagnostic la nivel național și lipsa de conștientizare pe scară largă asupra acestei afecțiuni, deseori pacienții nu au acces la un diagnostic precoce, sau la un tratament individualizat care se poate administra doar într-un centru de referință cu experiență în managementul acestor cazuri.

Ipoteza acestui studiu s-a bazat pe faptul că mastocitoza sistemică este o boală rară care este subdiagnosticată. Prin implementarea unui centru național de referință se poate îmbunătăți managementul acestor pacienți?

Managementul presupune diagnosticul corect și reducerea timpului de diagnostic, îmbunătățirea accesului la medicație și atât tratament specific cât și cel suportiv, oferirea accesului pacientului la o echipă multidisciplinară (alergolog, dermatolog, gastroenterolog, ortoped, ATI, unitate primiri urgente, hematolog) pentru îmbunătățirea calității vieții și a accesului general servicii medicale adaptate nevoilor pacientului.

Pornind de la această ipoteză obiectivele propuse sunt :

- structurarea și înființarea unei baze de date retrospective, cu peste 160 de pacienți diagnosticați între anii 2006 și 2025.
- identificarea corelațiilor semnificative între forma clinică de mastocitoză și nivelul de triptază, infiltrat medular, afectarea organ și necesarul terapeutic, inclusiv terapie simptomatică, cât și terapie specifică.

În România, la momentul actual nu există studii și date statistice cu privire la Mastocitoza sistemică. În ce măsură pot fi corelate caracteristicile morfologice, imunofenotipice, citogenetice și moleculare cu un impact direct asupra prognosticului și evoluției bolii? Se poate stabili un scor de risc pentru pacienții cu Mastocitoză Sistemică în funcție de particularitățile de la diagnostic? Se va putea personaliza atitudinea terapeutică în funcție de caracteristicile mastocitelor patologice implicate în afectarea medulară? Toate aceste aspecte trebuie studiate pentru a îmbunătăți prognosticul bolii și calitatea vieții pacienților cu mastocitoză sistemică, astfel oferind o speranță de viață mai bună.

5. Metodologia generală a cercetării

Studiul a fost retrospectiv și observațional, realizat la Centrul de Referință pentru Mastocitoză din cadrul Spitalului Universitar de Urgență București, între ianuarie 2006 și martie 2025. Au fost incluși 162 de pacienți adulți care au îndeplinit criteriile OMS 2022 pentru mastocitoză sistemică (MS), cu documentație completă clinică, biologică și moleculară. Criteriile de excludere au vizat cazurile cu date incomplete, vârsta sub 18 ani sau lipsa confirmării diagnostice. Diagnosticul a fost stabilit pe baza biopsiei de măduvă osoasă, imunohistochemiei și testării moleculare pentru mutația KIT D816V. Evaluarea inițială a inclus niveluri serice de triptază, imagistică avansată și, în funcție de indicație, endoscopie.

Datele au fost extrase din sistemul electronic al spitalului și din arhivele dedicate, fiind verificate încrucișat de doi investigatori. Au fost colectate variabile demografice, clinice, moleculare și de tratament, iar supraviețuirea a fost urmărită până la 31 martie 2025. Analizele statistice au fost efectuate în SPSS v29 și JASP 0.19.3, utilizând teste Mann-Whitney U, Kruskal-Wallis, χ^2 și Fisher, considerând semnificative valorile $p < 0.05$.

Pentru analiza imunofenotipică a mastocitelor s-a folosit citometria în flux, tehnică ce permite identificarea markerilor CD specifici (ex. CD25, CD2) în combinație cu CD117 și excluderea precursorilor CD34+. Probele de măduvă au fost colectate prin puncție aspirativă din creasta iliacă, procesate și colorate cu albastru de toluidină pentru evaluarea morfologică. Imunofenotiparea a inclus un panel clasic și unul extins de markeri, în vederea diferențierii mastocitelor normale de cele patologice. Etapele tehnice au inclus liza celulară, centrifugări succesive, marcarea cu anticorpi monoclonali fluorescenți și citire cu Gallios Flow Cytometer.

De asemenea, a fost realizată o analiză bibliografică amplă prin interogarea bazelor de date internaționale (PubMed, Embase, ClinicalTrials.gov, WHO ICTRP, Cochrane, Web of Science) pentru identificarea terapiilor țintite în MS, incluzând KIT-inhibitorii și transplantul. Studiul respectă principiile Declarației de la Helsinki și a fost aprobat de Comitetul de Etică SUUB (cod protocol 88221/31.12.2024).

6. Evaluarea profilului epidemiologic, genetic, molecular al pacientului cu mastocitoza sistemică din România

6.1. Introducere

Acest studiu oferă o analiză descriptivă a caracteristicilor epidemiologice și moleculare ale pacienților cu MS din România, utilizând date din registrele de la Centrul de Referință pentru Mastocitoză din București, Spitalul Universitar de Urgență București. MS este o afecțiune hematologică rară, determinată de acumularea aberantă de mastocite în diverse organe, iar înțelegerea profilului său național este esențială pentru optimizarea diagnosticului și tratamentului. Studiul explorează distribuția demografică, prevalența și mutațiile genetice asociate, cu un accent special pe mutația KIT D816V, implicată direct în patogeneza bolii.

6.2. Material și metodă

Acest studiu retrospectiv observațional de cohortă a fost desfășurat la Centrul de Referință pentru Tulburări ale Mastocitelor din cadrul Spitalului Universitar de Urgență București, analizând 162 de pacienți adulți diagnosticați cu mastocitoză sistemică (MS) între 2006 și 2025. Au fost incluși pacienți cu prezentare clinică sugestivă, nivel seric de triptază determinat și mutație KIT confirmată. Diagnosticul a fost stabilit prin biopsie medulară, imunohistochimie și testare moleculară PCR pentru KIT D816V, iar datele au fost colectate din arhive electronice și pe hârtie, verificate de doi investigatori. Evaluarea a inclus și investigații imagistice și endoscopice. Tratamentele administrate și evoluția pacienților au fost documentate până în martie 2025. Obiectivele principale au fost distribuția subtipurilor de MS conform OMS și supraviețuirea generală, iar cele secundare au inclus afectarea de organ și strategiile terapeutice. Analizele statistice au fost efectuate cu SPSS și JASP, utilizând metode adecvate pentru variabile continue și categoriale, cu un prag de semnificație de $p < 0,05$.

6.3. Rezultate

Distribuția geografică a cazurilor de mastocitoză sistemică (MS) în România prezintă variații semnificative între județe, cu o concentrare ridicată în centre universitare și zone cu acces la diagnostic specializat. Bucureștiul înregistrează cel mai mare număr de pacienți (28,8%), urmat de Ilfov, Brașov și Constanța. În contrast, numeroase județe au raportat un singur caz, sugerând fie o incidență redusă, fie subdiagnosticare. Aceste date subliniază necesitatea unei strategii de extindere a accesului la diagnostic în regiunile slab reprezentate.

Din punct de vedere demografic, predomină sexul feminin (aproximativ dublu față de bărbați), iar vârsta mediană la diagnostic este similară între sexe. Interesant, vârsta actuală a fost semnificativ mai mare la femei. Valorile medii ale triptazei serice depășesc pragul de diagnostic, cu o tendință generală de niveluri mai ridicate la bărbați, mai ales în intervalele extreme (>300 ng/mL).

Afectările digestive au fost ușor mai frecvente la femei, în special gastrita, în timp ce afectările cutanate (macule, papule, placcarde, vezicule) au fost raportate mai des la bărbați, cu o predominanță netă masculină în cazul veziculelor. Tratamentul citoreductor a fost administrat diferențiat pe sexe: cladribina, imatinibul și interferonul au fost administrate exclusiv bărbaților, în timp ce midostaurinul și Thromboreductin au fost folosite mai frecvent la femei.

În ceea ce privește tratamentul simptomatic, s-a remarcat o utilizare semnificativ mai frecventă la femei, în special a Montelukastului, cetirizinei și altor antihistaminice. Acest lucru poate reflecta fie diferențe de simptomatologie, fie o abordare terapeutică diferită în funcție de sex. În analiza valorilor biologice, nivelurile medii de LDH, fosfatază alcalină și infiltrare medulară au fost similare între sexe, fără diferențe statistice semnificative. Doza medie de cromoglicat de sodiu a fost aceeași la bărbați și femei (800 mg/zi), fără consens privind doza eficientă.

Afectarea osoasă a fost mai frecvent raportată la femei, dar bărbații au avut o proporție mai mare de osteopenie. Monitorizarea prin DEXA este limitată în România din cauza accesului deficitar la această investigație.

Analizele bivariate au evidențiat corelații semnificative între subtipurile de mastocitoză și parametrii clinici sau biologici. Mastocitoza cutanată (CM) s-a corelat pozitiv cu triptaza serică și infiltrarea medulară, dar negativ cu tratamentul simptomatic și antihistaminicele. ISM a avut o corelație inversă cu triptaza și infiltrarea medulară, dar pozitivă cu tratamentele simptomatice și afectarea osoasă. SSM s-a corelat invers cu triptaza și infiltrarea medulară, dar pozitiv cu organomegalia (hepato- și splenomegalie) și afectarea osoasă. ASM a prezentat corelații pozitive cu utilizarea cladribinei și imatinibului, dar negative cu triptaza, infiltrarea medulară și fosfataza alcalină. SM-AHN s-a corelat negativ cu afectarea cutanată.

Triptaza s-a corelat pozitiv cu infiltrarea medulară și fosfataza alcalină, dar invers cu hepato- și splenomegalia. Infiltrarea medulară s-a corelat negativ cu tratamentul simptomatic și antihistaminicele, dar pozitiv cu fosfataza alcalină. Tratamentul simptomatic s-a corelat foarte puternic cu utilizarea antihistaminicelor ($r = 0,841$).

Analiza Kaplan-Meier a evidențiat un impact negativ asupra supraviețuirii în rândul pacienților care au primit terapie citotoxică, cu o supraviețuire mediană de 204 zile comparativ cu o supraviețuire medie estimată de 456 zile la cei fără astfel de tratament. Diferența a fost semnificativă statistic ($p = 0,005$), susținând ipoteza unui prognostic mai rezervat pentru pacienții cu forme avansate care necesită terapie citoreductivă.

6.4. Discuții

Rezultatele analizei bivariate din cohorta studiată de pacienți cu mastocitoză sistemică au evidențiat multiple corelații relevante între subtipurile bolii și parametrii clinici și biologici. Mastocitoza cutanată s-a asociat paradoxal cu nivele crescute de triptază și infiltrare medulară, sugerând o posibilă activitate sistemică. În schimb, mastocitoza sistemică indolentă a arătat o corelație inversă cu triptaza și mutația KIT D816V, dar o asociere cu afectarea osoasă și utilizarea tratamentului simptomatic, evidențiind un profil simptomatic semnificativ, deși cu prognostic favorabil. Subtipul smoldering a prezentat corelații contradictorii: niveluri scăzute de triptază, dar o afectare viscerală semnificativă, ceea ce confirmă statutul său intermediar. Mastocitoza sistemică agresivă a fost asociată cu tratamente citotoxice și cu afectare hepatică și splenică, dar și cu scăderea nivelurilor de triptază, posibil prin mecanisme de epuizare celulară. În SM-AHN s-a remarcat lipsa afectării cutanate. Analiza Kaplan-Meier a arătat o supraviețuire semnificativ mai redusă la pacienții tratați cu agenți citotoxici, sugerând o selecție a acestora în formele severe. Aceste constatări subliniază importanța unei evaluări integrate, adaptate subtipului bolii, și nevoia de terapii mai eficiente și mai bine tolerate.

7. Tratamentul actual în practica curentă în Mastocitoza sistemică agresivă în România

7.1. Introducere

În România, mastocitoza sistemică agresivă este o afecțiune rar diagnosticată și subraportată, în principal din cauza gradului ridicat de heterogenitate clinică, lipsei de conștientizare și accesului limitat la metode moleculare de diagnostic. În plus, tratamentele moderne aprobate pentru mastocitoza sistemică avansată sunt disponibile într-un număr restrâns de centre, iar includerea pacienților în studii clinice internaționale este limitată. Aceste aspecte contribuie la variații semnificative în practica medicală și pot influența negativ prognosticul pacienților.

Acest studiu își propune să descrie modul în care această afecțiune este diagnosticată și tratată în practica curentă în România, prin analiza retrospectivă a unei cohorte de pacienți evaluați într-un centru național de referință. Obiectivul principal este de a evidenția particularitățile tratamentului, barierele în calea accesului la terapii moderne și rezultatele obținute cu terapiile disponibile. Prin această analiză, se dorește identificarea unor direcții concrete de îmbunătățire a standardului de îngrijire, precum și integrarea unor strategii terapeutice aliniate la recomandările internaționale.

7.2. Material și metodă

Diagnosticul de mastocitoză sistemică (SM) a fost stabilit conform ghidurilor Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) valabile la momentul diagnosticului și confirmat ulterior conform ghidurilor OMS actualizate și recomandărilor International Consensus Classification (ICC). Criteriile de răspuns au fost evaluate utilizând criteriile de răspuns ale International Working Group–Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment și European Competence Network on Mastocytosis (IWG-MRT-ECNM) pentru mastocitoza sistemică avansată.

Toți pacienții au fost trimiși către clinica noastră multidisciplinară din ambulator pentru evaluarea mastocitozei agresive, iar pacienții cu suspiciune de MS au fost supuși unei evaluări diagnostice complete, care a inclus aspirat medular și biopsie de măduvă osoasă, precum și testarea mutației KIT D816V.

Informațiile despre simptomatologia clinică au fost obținute din fișele medicale electronice și din interviurile medicale realizate cu pacienții. Scorul prognostic a fost evaluat utilizând Sistemul Internațional de Scorare Prognostică pentru Mastocitoza Sistemică

Avansată, pe baza datelor disponibile la momentul diagnosticului, consemnate în fișa medicală electronică.

7.3. Rezultate

În acest studiu clinic sunt prezentate patru cazuri reprezentative de mastocitoză sistemică avansată sau cu risc crescut de progresie, fiecare ilustrând provocările diagnostice și terapeutice întâlnite în practică.

Primul caz descrie o pacientă de 57 de ani cu mastocitoză sistemică agresivă (MSA), tratată inițial cu cladribină, urmată de o progresie rapidă a bolii. Din cauza lipsei accesului la terapii țintite, a primit imatinib fără beneficii clinice. Ulterior, a fost prima pacientă din România tratată cu midostaurin, obținând o remisiune parțială conform criteriilor IWG-MRT-ECNM, cu reducerea infiltratului medular și a ascitei, și îmbunătățirea calității vieții.

Cazul al doilea prezintă o pacientă de 44 de ani diagnosticată cu MSA după doi ani de dureri osoase, biopsia unei leziuni vertebrale osteolitice confirmând infiltrarea mastocitară. A fost tratată cu midostaurin, bifosfonați și anti-RANKL, obținând reducerea durerii și a infiltratului medular. Deși a prezentat greață severă, efectul secundar a fost controlat cu granisetron, iar pacienta a menținut răspunsul la tratament timp de peste 3 ani.

Al treilea caz implică un bărbat de 75 de ani cu adenopatii multiple, hepatosplenomegalie și ascită. Diagnosticul de MSA a fost confirmat prin biopsie ganglionară și medulară. Sub tratament cu midostaurin (în doză redusă din cauza comorbidităților), pacientul a prezentat regresia adenopatiilor și o remisiune parțială, menținând același răspuns la controlul din mai 2025.

Cazul al patrulea se referă la o pacientă de 53 de ani, inițial diagnosticată cu mastocitoză sistemică smoldering (SSM) după o evaluare alergologică care a evidențiat triptază serică crescută. A fost tratată inițial cu cladribină, cu un răspuns favorabil. După 5 ani, boala a progresat la MSA, necesitând tratament cu midostaurin. Efectele adverse digestive (greață și diaree) au fost gestionate eficient, permițând menținerea dozei complete și obținerea unui răspuns clinic parțial.

Toate cazurile ilustrează impactul favorabil al midostaurinului în MSA și SSM progresiv, contribuind la stabilizarea bolii și la ameliorarea simptomelor sistemice, chiar și în prezența comorbidităților sau a reacțiilor adverse.

7.4. Discuții

Midostaurin este un inhibitor multikinazic eficient împotriva mutației KIT D816V, devenind tratamentul standard în mastocitoza sistemică avansată (MSA). Spre deosebire de terapiile tradiționale simptomatice (antihistaminice, corticosteroizi, cladribină), midostaurin oferă beneficii dovedite clinic – reducerea infiltratului mastocitar, ameliorarea funcției organelor și prelungirea supraviețuirii. Cazurile clinice prezentate confirmă eficacitatea sa în diferite forme de MSA, inclusiv în prezența ascitei, afectării osoase sau adenopatiilor, chiar și la pacienți vârstnici sau cu comorbidități, cu tolerabilitate crescută în doză ajustată. La nivel molecular, midostaurin inhibă KIT și căi esențiale de semnalizare (PI3K/AKT, MAPK, STAT5), inducând apoptoza mastocitelor maligne și oprirea ciclului celular. De asemenea, reduce semnificativ eliberarea de mediatori inflamatori și vasoactivi (histamină, leucotriene), cu efect favorabil asupra simptomelor și remodelării tisulare. Medicamentul prezintă un profil de siguranță bun, fără imunosupresie globală, și rămâne terapia de bază în MSA, în așteptarea terapiilor emergente precum avapritinib.

8. Profilul imunofenotipic al mastocitelor la pacienții cu mastocitoză avansată în populația din România

8.1. Introducere

Imunofenotiparea prin citometrie în flux multiparametrică este o metodă esențială pentru diagnosticul și monitorizarea mastocitozei sistemice, datorită capacității sale de a identifica rapid celulele mastocitare neoplazice prin detectarea expresiei aberante a markerilor CD2 și CD25. În condiții normale, aceste molecule nu sunt exprimate pe mastocite, iar prezența lor este specifică mastocitelor clonale. Comparativ cu alte metode, imunofenotiparea în flux oferă o sensibilitate mai mare. Această tehnică completează criteriile OMS pentru diagnosticul SM și poate chiar suplini biopsia în unele cazuri, mai ales când aceasta este neconcludentă. Studii recente au arătat că aproape toți pacienții cu SM au prezentat expresie aberantă a CD2 și CD25. Deși are unele limitări tehnice, imunofenotiparea rămâne un instrument valoros atât pentru diagnosticul precoce, cât și pentru stratificarea prognostică, fiind capabilă să crească semnificativ accesul la diagnostic în centrele cu resurse limitate.

8.2. Material și metodă

Într-un grup inițial de pacienți diagnosticați cu mastocitoză sistemică (indolentă sau avansată), au fost selectați opt pacienți pentru evaluarea imunofenotipului mastocitelor prin citometrie în flux. Această metodă permite analiza expresiei markerilor specifici ai mastocitelor maligne, precum CD25 și CD2, printr-un proces de gating bazat pe expresia intensă a CD117 și excluderea precursorilor mieloizi CD34+. Citometria în flux este o tehnică avansată care analizează simultan mai multe caracteristici celulare (dimensiune, granulație, antigene) în timp ce celulele circulă printr-un fascicul laser. Imunofenotiparea, aplicată în mod curent în hematologie, utilizează anticorpi monoclonali marcați fluorescent ce se leagă de moleculele de pe suprafața celulelor (CD). Aceste interacțiuni generează semnale detectate optic, care sunt interpretate digital. Procedura implică combinarea anticorpilor marcați cu probe de sânge păstrate la temperaturi controlate, permițând astfel identificarea precisă a mastocitelor clonale, contribuind la stabilirea diagnosticului și monitorizarea mastocitozei sistemice.

8.3. Rezultate

Cele opt cazuri analizate prin imunofenotipare în flux evidențiază o mare variabilitate a procentului de mastocite clonale și a expresiei aberante a markerilor CD25 și CD2, reflectând heterogenitatea mastocitozei sistemice (MS). Cazul 1 ilustrează progresia de la o

formă smoldering la o formă agresivă de MS, cu o expresie moderată a markerilor CD25 (21%) și CD2 (33%) pe mastocitele identificate. Cazul 2, cu cea mai mare încărcare mastocitară, evidențiază o expresie intensă a CD25 (90%) și o evoluție severă, cu deces în termen de 3 ani, în ciuda tratamentului cu cladribină. În contrast, cazurile 3 și 5, diagnosticate cu forme indolente, prezintă un infiltrat medular redus și o expresie variabilă a markerilor, dar o supraviețuire mai bună.

Cazul 4 este notabil prin asocierea cu limfom T agresiv, în ciuda unei încărcături mastocitare scăzute (0,04%), dar cu o expresie intensă a markerilor CD25 (71%) și CD2 (58%); pacienta a avut o evoluție rapid fatală. Cazul 6 subliniază importanța imunofenotipării în diagnosticul formelor cu triptază normală și simptomatologie alergică marcantă, în care expresia CD25/CD2 a fost esențială pentru stabilirea diagnosticului. Cazul 7, primul tratat cu midostaurin în România, a prezentat 1,6% mastocite cu expresie aproape universală a CD25 (98%), reflectând o formă agresivă cu răspuns pozitiv. Cazul 8, cu o încărcare mastocitară masivă pe biopsie și aspirat (până la 70%), a prezentat de asemenea expresie intensă a CD25 (98%) și CD2 (37%), confirmând transformarea leucemică. În concluzie, imunofenotiparea în flux s-a dovedit esențială atât în stabilirea diagnosticului, cât și în evaluarea severității bolii și a potențialului evolutiv, oferind date valoroase pentru stratificarea terapeutică.

8.4. Discuții

Rezultatele obținute confirmă observațiile din literatura de specialitate privind expresia mai frecventă și intensă a markerului CD25 față de CD2 pe mastocitele clonale, subliniind importanța acestuia ca marker de clonalitate. Cazul 6 evidențiază valoarea imunofenotipării chiar și în formele indolente de mastocitoză sistemică, acolo unde celelalte criterii de diagnostic sunt insuficiente. Deși imunofenotiparea identifică mastocitele cu fenotip malign, procentul acestora din totalul celulelor medulare nu reflectă fidel infiltratul mastocitar medular observat histologic și nu poate înlocui informațiile oferite de biopsia osteomedulară.

Totuși, imunofenotiparea oferă avantajul unei analize multiparametrice și poate evalua gradul de expresie al markerilor diagnostici CD25 și CD2, ceea ce poate sugera o corelație între expresia acestora și agresivitatea bolii. Datorită numărului redus de cazuri, nu a fost posibilă demonstrarea statistică a acestei corelații, dar se propune dezvoltarea unui studiu multicentric. În perspectivă, evaluarea răspunsului terapeutic la midostaurin ar putea include imunofenotiparea pentru detectarea bolii minime reziduale, o abordare inovatoare în mastocitoză, inspirată din alte hemopatii maligne precum leucemia acută sau mielomul multiplu.

Concluzii și contribuții personale

În cadrul tezei de doctorat „Definirea clinico-biologică a profilului pacientului cu mastocitoză sistemică în România – corelații cu abordarea terapeutică”, au fost realizate trei studii complementare ce oferă o imagine integrată asupra acestei afecțiuni rare.

Primul studiu a analizat retrospectiv datele a peste 160 de pacienți diagnosticați între 2006 și 2025 în cadrul singurului centru de expertiză din țară. Acesta a evaluat distribuția geografică, datele epidemiologice, clinice și terapeutice, precum și utilizarea tratamentelor simptomatice și citoreductive. Analiza bivariată a relevat patternuri utile pentru stratificarea riscului și adaptarea tratamentului. S-a constatat o întârziere frecventă a diagnosticului și o mare variabilitate a tratamentelor, subliniind necesitatea individualizării terapiei în centre specializate.

Al doilea studiu a evaluat experiența terapeutică în mastocitoza sistemică agresivă, identificând obstacole în accesul la terapii inovatoare. Deși inițial s-au utilizat tratamente citotoxice, accesul ulterior la terapii țintite precum midostaurin a demonstrat beneficii semnificative, inclusiv pentru pacienți cu status de performanță scăzut. Al treilea studiu a explorat utilitatea imunofenotipării mastocitelor în măduva osoasă, demonstrând sensibilitatea tehnicii în detectarea expresiei aberante a CD25 și CD2 – markeri esențiali în diagnosticul OMS. Această metodă s-a dovedit valoroasă inclusiv în formele indolente și se conturează drept o opțiune promițătoare în monitorizarea răspunsului terapeutic, deși necesită validare în studii mai mari.

Contribuțiile personale includ dezvoltarea bazei de date, corelarea markerilor biologici cu subtipurile clinice, aplicarea scorurilor prognostice internaționale pe cohorta românească, analiza tratamentelor utilizate și evidențierea distribuției regionale a cazurilor. Lucrarea oferă o perspectivă complexă asupra mastocitozei sistemice în România, integrând date clinice, biologice și terapeutice, și propune direcții concrete pentru îmbunătățirea managementului acestor pacienți. Se subliniază necesitatea unor politici de sănătate care să faciliteze accesul la diagnostic precoce, tratamente moderne și dezvoltarea rețelelor de centre de expertiză.

Bibliografie

1. Valent P, Akin C, Hartmann K, Alvarez-Twose I, Brockow K, Hermine O, et al. Updated Diagnostic Criteria and Classification of Mast Cell Disorders: A Consensus Proposal. *Hemasphere*. 2021 Nov 13;5(11):E646.
2. Mast Cell: A Multi-Functional Master Cell [Internet]. [cited 2019 Oct 27]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4701915/>
3. Crivellato E, Travan L, Ribatti D. The phylogenetic profile of mast cells. *Methods in Molecular Biology*. 2015;1220:11–27.
4. Cavalcante MCM, Allodi S, Valente AP, Straus AH, Takahashi HK, Mourao PAS, et al. Occurrence of heparin in the invertebrate *styela plicata* (Tunicata) is restricted to cell layers facing the outside environment. An ancient role in defense? *J Biol Chem* [Internet]. 2000 Nov 17 [cited 2025 Mar 3];275(46):36189–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10956656/>
5. Cavalcante MCM, De Andrade LR, Du Bocage Santos-Pinto C, Straus AH, Takahashi HK, Allodi S, et al. Colocalization of heparin and histamine in the intracellular granules of test cells from the invertebrate *Styela plicata* (Chordata-Tunicata). *J Struct Biol* [Internet]. 2002 [cited 2025 Mar 3];137(3):313–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12096899/>
6. Wong GW, Zhuo L, Kimata K, Lam BK, Satoh N, Stevens RL. Ancient origin of mast cells. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2014 Aug 22 [cited 2025 Mar 3];451(2):314–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25094046/>
7. Dawicki W, Marshall JS. New and emerging roles for mast cells in host defence. *Curr Opin Immunol* [Internet]. 2007 Feb [cited 2025 Mar 3];19(1):31–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17126541/>
8. Mukai K, Tsai M, Starkl P, Marichal T, Galli SJ. IgE and mast cells in host defense against parasites and venoms. *Semin Immunopathol* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2025 Mar 3];38(5):581–603. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27225312/>
9. Mastocytosis. IARC Press, Lyon; p. 53–63.
10. Tkaczyk C, Okayama Y, Metcalfe DD, Gilfillan AM. Fcγ receptors on mast cells: activatory and inhibitory regulation of mediator release. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2004 [cited 2025 Mar 3];133(3):305–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15017113/>
11. Okayama Y, Hageman DD, Metcalfe DD. A comparison of mediators released or generated by IFN-γ-treated human mast cells following aggregation of Fcγ RI or Fcε RI. *J Immunol* [Internet]. 2001 Apr 1 [cited 2025 Mar 3];166(7):4705–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11254731/>
12. Yarden Y, Kuang WJ, Yang-Feng T, Coussens L, Munemitsu S, Dull TJ, et al. Human proto-oncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an

- unidentified ligand. *EMBO J* [Internet]. 1987 [cited 2025 Mar 3];6(11):3341–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2448137/>
13. Qiu FH, Ray P, Brown K, Barker PE, Jhanwar S, Ruddell FH, et al. Primary structure of c-kit: relationship with the CSF-1/PDGF receptor kinase family--oncogenic activation of v-kit involves deletion of extracellular domain and C terminus. *EMBO J* [Internet]. 1988 [cited 2025 Mar 3];7(4):1003–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2456920/>
 14. Kulka M, Sheen CH, Tancowny BP, Grammer LC, Schleimer RP. Neuropeptides activate human mast cell degranulation and chemokine production. *Immunology* [Internet]. 2008 Mar [cited 2025 Mar 3];123(3):398. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC243325/>
 15. Niyonsaba F, Ushio H, Hara M, Yokoi H, Tominaga M, Takamori K, et al. Antimicrobial peptides human beta-defensins and cathelicidin LL-37 induce the secretion of a pruritogenic cytokine IL-31 by human mast cells. *J Immunol* [Internet]. 2010 Apr 1 [cited 2025 Mar 3];184(7):3526–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20190140/>
 16. Yu Y, Blokhuis BR, Garssen J, Redegeld FA. Non-IgE mediated mast cell activation. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2016 May 5 [cited 2025 Mar 3];778:33–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26164792/>
 17. McNeil BD, Pundir P, Meeker S, Han L, Undem BJ, Kulka M, et al. Identification of a mast-cell-specific receptor crucial for pseudo-allergic drug reactions. *Nature*. 2015 Mar 12;519(7542):237–41.
 18. Pols MS, Klumperman J. Trafficking and function of the tetraspanin CD63. *Exp Cell Res* [Internet]. 2009 May 15 [cited 2025 Mar 3];315(9):1584–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18930046/>
 19. Sturm EM, Kranzelbinder B, Heinemann A, Groselj-Strele A, Aberer W, Sturm GJ. CD203c-based basophil activation test in allergy diagnosis: characteristics and differences to CD63 upregulation. *Cytometry B Clin Cytom* [Internet]. 2010 Sep [cited 2025 Mar 3];78(5):308–18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20533392/>
 20. Bühring HJ, Streble A, Valent P. The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) as a marker for cell activation and allergy diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2004 [cited 2025 Mar 3];133(4):317–29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15031605/>
 21. Yano Y, Hayashi Y, Sano K, Shinmaru H, Kuroda Y, Yokozaki H, et al. Expression and localization of ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase I-3 (E-NPP3/CD203c/PD-I beta/B10/gp130RB13-6) in human colon carcinoma. *Int J Mol Med*. 2003 Nov;12(5):763–6.
 22. Hauswirth AW, Escribano L, Prados A, Nuñez R, Mirkina I, Kneidinger M, et al. CD203c is overexpressed on neoplastic mast cells in systemic mastocytosis and is

- upregulated upon IgE receptor cross-linking. *Int J Immunopathol Pharmacol* [Internet]. 2008 [cited 2025 Mar 3];21(4):797–806. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19144265/>
23. Perini GF, Pro B. Brentuximab Vedotin in CD30+ Lymphomas. *Biol Ther*. 2013 Jun;3(1):15–23.
 24. Morgado JM, Perbellini O, Johnson RC, Teodósio C, Matito A, Álvarez-Twose I, et al. CD30 expression by bone marrow mast cells from different diagnostic variants of systemic mastocytosis. *Histopathology*. 2013 Dec;63(6):780–7.
 25. Valent P, Cerny-Reiterer S, Herrmann H, Mirkina I, George TI, Sotlar K, et al. Phenotypic heterogeneity, novel diagnostic markers, and target expression profiles in normal and neoplastic human mast cells. *Best Pract Res Clin Haematol* [Internet]. 2010 Sep [cited 2025 Mar 3];23(3):369–78. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21112036/>
 26. Friedman BS, Steinberg SC, Meggs WJ, Kaliner MA, Frieri M, Metcalfe DD. Analysis of plasma histamine levels in patients with mast cell disorders. *Am J Med* [Internet]. 1989 [cited 2025 Mar 3];87(6):649–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2589400/>
 27. Metcalfe DD, Lewis RA, Silbert JE, Rosenberg RD, Wasserman SI, Austen KF. Isolation and characterization of heparin from human lung. *J Clin Invest* [Internet]. 1979 [cited 2025 Mar 3];64(6):1537–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/500822/>
 28. Sucker C, Mansmann G, Steiner S, Gattermann N, Schmitt-Graeff A, Loncar R, et al. Fatal bleeding due to a heparin-like anticoagulant in a 37-year-old woman suffering from systemic mastocytosis. *Clin Appl Thromb Hemost* [Internet]. 2008 Jul [cited 2025 Mar 3];14(3):360–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18160568/>
 29. Dwyer DF, Barrett NA, Austen KF, Kim EY, Brenner MB, Shaw L, et al. Expression profiling of constitutive mast cells reveals a unique identity within the immune system. *Nat Immunol*. 2016 Jun 21;17(7):878–87.
 30. Galli SJ, Tsai M, Marichal T, Tchougounova E, Reber LL, Pejler G. Approaches for Analyzing the Roles of Mast Cells and Their Proteases In Vivo. *Adv Immunol* [Internet]. 2015 [cited 2025 Mar 3];126:45. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4771191/>
 31. Bonadonna P, Perbellini O, Passalacqua G, Caruso B, Colarossi S, Dal Fior D, et al. Clonal mast cell disorders in patients with systemic reactions to Hymenoptera stings and increased serum tryptase levels. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2009 Mar;123(3):680–6.
 32. Lyons JJ, Yu X, Hughes JD, Le QT, Jamil A, Bai Y, et al. Elevated basal serum tryptase identifies a multisystem disorder associated with increased TPSAB1 copy

- number. *Nat Genet* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2025 Mar 3];48(12):1564–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27749843/>
33. Metcalfe DD, Pawankar R, Ackerman SJ, Akin C, Clayton F, Falcone FH, et al. Biomarkers of the involvement of mast cells, basophils and eosinophils in asthma and allergic diseases. *World Allergy Organization Journal*. 2016;9(1).
 34. He A, Shi GP. Mast Cell Chymase and Tryptase as Targets for Cardiovascular and Metabolic Diseases. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2013 Feb 19 [cited 2025 Mar 3];19(6):1114. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3921624/>
 35. Goldstein SM, Kaempfer CE, Kealey JT, Wintroub BU. Human mast cell carboxypeptidase. Purification and characterization. *J Clin Invest* [Internet]. 1989 [cited 2025 Mar 3];83(5):1630–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2708524/>
 36. Fanning LB, Boyce JA. Lipid mediators and allergic diseases. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2013 Sep [cited 2025 Mar 3];111(3):155–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23987187/>
 37. Ravi A, Butterfield J, Weiler CR. Mast cell activation syndrome: improved identification by combined determinations of serum tryptase and 24-hour urine 11 β -prostaglandin2 α . *J Allergy Clin Immunol Pract* [Internet]. 2014 [cited 2025 Mar 3];2(6):775–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25439370/>
 38. Kanaoka Y, Boyce JA. Cysteinyl Leukotrienes and Their Receptors; Emerging Concepts. *Allergy Asthma Immunol Res* [Internet]. 2014 [cited 2025 Mar 3];6(4):288. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4077954/>
 39. Butterfield JH. Increased leukotriene E4 excretion in systemic mastocytosis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* [Internet]. 2010 Jun [cited 2025 Mar 3];92(1–4):73–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20380889/>
 40. Valent P, Akin C, Escribano L, al. et. Standards and standardization in mastocytosis: consensus statement on diagnostics, treatment recommendations and response criteria. *Eur J Clin Invest*. 2007;37:435–53.
 41. Zini G, Bennett JM. ICC-2022 versus WHO-2022 classification systems for acute leukemias and myeloid neoplasms: The perspective from two classical morphologists. *Am J Hematol* [Internet]. 2023 Aug 1 [cited 2025 Mar 19];98(8):E209–11. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.26963>
 42. Pardananani A. Systemic mastocytosis in adults: 2021 Update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol*. 2021 Apr 1;96(4):508–25.
 43. Khoury JD, Solary E, Ablal O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022 Jul 1;36(7):1703–19.

44. Kristensen T, Vestergaard H, Bindslev-Jensen C, Møller MB, Broesby-Olsen S. Sensitive KIT D816V mutation analysis of blood as a diagnostic test in mastocytosis. *Am J Hematol*. 2014;89(5):493–8.
45. Kristensen T, Vestergaard H, Møller MB. Improved detection of the KIT D816V mutation in patients with systemic mastocytosis using a quantitative and highly sensitive real-time qPCR assay. *J Mol Diagn* [Internet]. 2011 [cited 2025 Jun 3];13(2):180–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21354053/>
46. Gotlib J, Gerds AT, Abdelmessieh P, Ali H, Castells M, Dunbar A, et al. NCCN Guidelines® Insights: Systemic Mastocytosis, Version 3.2024. *J Natl Compr Canc Netw* [Internet]. 2024 Jun 1 [cited 2025 Jan 9];22(2 D). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38862005/>
47. Valent P, Akin C, Hartmann K, George TI, Sotlar K, Peter B, et al. Midostaurin: a magic bullet that blocks mast cell expansion and activation. *Ann Oncol* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2025 Apr 22];28(10):2367. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7115852/>
48. Reiter A, Gotlib J, Álvarez-Twose I, Radia DH, Lübke J, Bobbili PJ, et al. Efficacy of avapritinib versus best available therapy in the treatment of advanced systemic mastocytosis. *Leukemia*. 2022 Aug 1;36(8):2108–20.
49. Tashi T, Hermine O, Castells M, Guilarte M, Sabato V, Maurer M, et al. Elenestininib, an Investigational, Next Generation KIT D816V Inhibitor, Reduces Mast Cell Burden, Improves Symptoms, and Has a Favorable Safety Profile in Patients with Indolent Systemic Mastocytosis: Analysis of the Harbor Trial. *Blood*. 2023 Nov 2;142(Supplement 1):76–76.
50. DeAngelo DJ, Pullarkat VA, Piris-Villaespesa M, George TI, Patel JL, Ustun C, et al. Preliminary Safety and Efficacy from Apex, a Phase 2 Study of Bezucastatinib (CGT9486), a Novel, Highly Selective, Potent KIT D816V Tyrosine Kinase Inhibitor, in Adults with Advanced Systemic Mastocytosis (AdvSM) . *Blood*. 2022 Nov 15;140(Supplement 1):1512–3.
51. Brockow K. Epidemiology, Prognosis, and Risk Factors in Mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2014;
52. Muñoz-González JI, Álvarez-Twose I, Jara-Acevedo M, Zanotti R, Perkins C, Jawhar M, et al. Proposed global prognostic score for systemic mastocytosis: a retrospective prognostic modelling study. *Lancet Haematol*. 2021 Mar 1;8(3):e194–204.

Lista lucrărilor publicate de doctorand, cu linkuri către publicațiile respective .

Delia Soare , Dan Soare , Camelia Dobrea , Eugen Radu, Horia Bumbea - Clinical and Biological Characteristics of Four Patients with Aggressive Systemic Mastocytosis Treated with Midostaurin , Biomedicines 2025, - în curs de publicare

Delia Soare, Poliana Leru, Horia Bumbea - Innovative Therapeutic Approaches in Systemic Mastocytosis, MAEDICA – a Journal of Clinical Medicine 2025; - <https://doi.org/10.26574/maedica.2025.20.2.246>

Delia Soare , Dan Soare , Brîndușa Petruțescu, Oana Firescu, Poliana Leru, Corina Silvia Pop, Lucian Negreanu, Vlad Voiculescu, Horia Bumbea - Real-World Characteristics of Systemic Mastocytosis in Romania: Insights from a Reference-Center–Based Descriptive Study , JOURNAL of MEDICINE and LIFE, 2025 - în curs de publicare