

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
COALA DOCTORALĂ  
MEDICINĂ

EVALUAREA CARDIOTOXICITĂȚII  
LA PACIENȚII PEDIATRICI  
DIAGNOSTICAȚI CU LEUCEMIE  
ACUT LIMFOBLASTIC  
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

Prof. Univ. Dr. ARION CONSTANTIN-VIRGILIU

Student-doctorand:

Dr. RADU LETIȚIA-ELENA

2018

## CUPRINSUL TEZEI

Abrevieri	5
Introducere	7
PARTEA GENERAL (STADIUL ACTUAL AL CUNOA TERII)	10
1. Leucemia acut limfoblastic	10
1.1. Scurt istoric	10
1.2. Epidemiologie	11
1.3. Etiologie	14
1.3.1. Factori biologici	15
1.3.2. Factori fizici	15
1.3.3. Factori chimici	16
1.4. Manifest ri clinice	17
1.4.1. Sindrom infiltrativ medular	17
1.4.2. Sindrom de infiltrare blastice extramedular	18
1.5. Date de laborator	19
1.5.1. Clasificare morfologic	20
1.5.2. Imunofenotipare	21
1.5.3. Citogenetic	23
1.5.4. Biologie molecular	24
1.6. Stadializare	25
1.7. Tratament	28
1.7.1. Inducția	28
1.7.2. Consolidarea	29
1.7.3. Blocurile de risc înalt	30
1.7.4. Reinducția	33
1.7.5. Întreținerea	34
1.7.6. Terapia țintită pentru cromozomul Philadelphia	35
1.7.7. Rec derile	35
1.7.8. Transplantul de celule stem hematopoietice	37
1.8. Complicații	38
1.8.1. Complicații acute	38

1.8.2. Complicații tardive	42
2. Cardiotoxicitatea	44
2.1. Mecanisme de apariție a cardiotoxicității	44
2.2. Biomarkeri cardiaci	50
2.2.1. Troponinele	51
2.2.2. Peptidul natriuretic	52
2.2.3. Proteina de legare a acizilor grași	53
2.2.4. Proteina C reactivă cu sensibilitate înaltă	54
2.2.5. Glicogen fosforilaza BB	55
2.2.6. Mieloperoxidaza	55
2.2.7. Statusul antioxidant	55
2.2.8. MicroARN circulant	55
2.2.9. Galectina-3	56
2.2.10. Proteina ST-2	56
2.2.11. Oxidul nitric	56
2.3. Imagistic	57
2.3.1. Imagistica prin rezonanță magnetică	57
2.3.2. Ventriculografia cu radionucleotizi	59
2.3.3. Imagistica PET/CT	61
2.3.4. Ecocardiografia transtoracică	62
2.3.5. Ecocardiografia cu substanță de contrast	64
2.3.6. Ecocardiografia tridimensională	65
2.3.7. Ecocardiografia de efort și testele de stres farmacologic	66
2.3.8. Imagistica deformării miocardice	68
2.3.9. Evaluarea prin imagistica de tip Doppler tisular	71
2.4. Anatomie patologică	78
2.5. Tratament	79
2.5.1. Dexrazoxanul	80
2.5.2. Inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei	82
2.5.3. Statinele	82
2.5.4. Carvedilolul	82
2.5.5. Probucolul	82
2.5.6. N-acetilcisteina	83

2.5.7. Sildenafilul	83
2.5.8. Adiponectina	83
2.5.9. Eritropoietina	83
2.5.10. Amifostina	83
2.5.11. Flavonoidul monohidroxiethylrutozid	84
2.5.12. Rimonabantul	84
2.5.13. Alimentația și exercițiul fizic	84
2.6. Concluzii	84
<b>PARTEA SPECIAL (CONTRIBUȚII PERSONALE)</b>	<b>85</b>
3. Scopul, obiectivele și ipoteza de lucru	85
3.1. Scopul	85
3.2. Obiectivele	85
3.3. Ipoteza de lucru	86
4. Metodologia generală a cercetării	87
4.1. Criteriile de înrolare, discontinuare și excludere utilizate	88
4.2. Fișa pacientului înrolat în studiu	89
4.3. Metodologia de lucru pentru troponina I	91
4.4. Metodologia de lucru pentru proteina de legare a acizilor grași specific inimii	91
4.5. Metodologia evaluării ecocardiografice	92
4.6. Metode utilizate pentru analiza statistică	93
5. Rezultate	95
5.1. Descrierea pacienților diagnosticați cu leucemie acută limfoblastică	95
5.2. Dinamica lotului analizat	96
5.3. Descrierea populației de studiu	98
5.3.1. Caracteristicile demografice ale pacienților analizați	98
5.3.2. Hemograma din ziua diagnosticului pentru pacienții studiați	100
5.3.3. Morfologia limfocitelor	103
5.3.4. Testul de citogenetic	104
5.3.5. Analiza imunofenotipică	107
5.3.6. Proba de biologie moleculară	110
5.3.7. Afectarea sistemului nervos central la debut	113
5.3.8. Răspunsul după prefază al pacienților înrolați în studiu	113
5.3.9. Încadrarea pe grupe de risc a pacienților analizați	113

5.3.10. Statusul pacienților la un an de la diagnostic	117
5.4. Manifestările clinice la nivel cardiac în lotul studiat	117
5.5. Rezultatele analizei biomarkerilor	119
5.5.1. Analiza TnI	119
5.5.2. Analiza H-HABP	124
5.6. Rezultatele ecografiilor cardiace	126
5.6.1. Funcția sistolică globală	126
5.6.2. Funcția sistolică prin TDI	131
5.6.3. Funcția diastolică globală	135
5.6.4. Funcția diastolică prin TDI	141
5.7. Compararea celor două metode de evaluare a cardiotoxicității	147
6. Discuții	151
6.1. Descrierea caracteristicilor demografice și hematologice ale antionului analizat în studiu prin prisma caracteristicilor demografice și hematologice	151
6.2. Incidența manifestărilor clinice de disfuncție cardiacă în lotul analizat	156
6.3. Evaluarea în dinamică a celor doi biomarkeri studiați	157
6.4. Analiza rezultatelor ecografiilor cardiace seriate la pacienții analizați	160
6.5. Compararea celor două metode de evaluare a cardiotoxicității, respectiv dozarea biomarkerilor cardiaci și ecocardiografia	169
6.6. Limitările studiului	170
7. Concluzii și contribuții personale	172
Bibliografie	175
Anexe	193
Anexa 1 Consimțământul informat	193
Anexa 2 Fișă a pacientului	196
Anexa 3 Lucrări realizate pe perioada colii Doctorale	200
Anexa 4 Articole publicate	203

## CONTEXT ȘTIINȚIFIC ACTUAL

În fiecare an, aproximativ 130 copii la un milion, sub vârsta de 16 ani, sunt diagnosticați cu cancer [1]. Dintre aceștia, 25-30% dezvolt leucemie acută [2], 80-85% din cazuri fiind de leucemie acută limfoblastică (LAL) [3].

Semnele și simptomele LAL pot fi împărțite în: sindrom infiltrativ medular și extramedular [4]. Diagnosticul corect al LAL se bazează pe o anamneză atentă, un examen clinic detaliat, hemogramă, reticulocite, frotiu de sânge periferic, coagulogramă, teste hepatice și renale, probe inflamatorii, ionogramă, teste virusologice [1], aspiratul medular, imunofenotipare, citogenetică, biologie moleculară, puncție lombară [4].

Pacienții sunt repartizați pe grupe de risc (standard, intermediar, înalt) pe baza criteriilor internaționale. Protocolul de tratament folosit cel mai frecvent în țara noastră este BFM-ALL IC 2002 [5].

Terapiile actuale scad mult mortalitatea legată de această afecțiune, ajungându-se la o supraviețuire generală de 87,5% la 5 ani [3], însă deschid ușa unor complicații pe termen lung la această populație, complicații nelegate de boală, pe locul întâi situându-se cele la nivel cardiovascular [6].

Antraciclinele (AC) pot determina afectare cardiacă, ireversibilă și dependentă de doză, tradusă prin disfuncție subclinică, aritmii, hipertensiune, cardiomiopatie, insuficiență cardiacă congestivă [7]. În cadrul protocoalelor pediatrice de LAL, cantitatea de antracicline administrată este mică, iar afectarea cardiacă este, de obicei, subclinică [8].

Cardiotoxicitatea se împarte în: acută, în prima săptămână de la administrarea de AC, la sub 1% din pacienți, precoce, în primul an de la diagnostic la 1,6-2,1% din pacienți, respectiv tardiv, peste acest interval de timp [8].

Diagnosticarea precoce a afectării cardiace în cursul chimioterapiei la pacienții pediatrici este extrem de importantă, atât pentru modularea chimioterapiei, cât și pentru

administrarea unor agenți cardioprotectori [9]. În prezent, nu s-a stabilit metoda cea mai eficientă de detecție a injuriei miocardice [10].

Există o serie de biomarkeri rutinați sau aflați încă în studiu, care pot fi utilizați în diagnosticarea și monitorizarea afecțiunii cardiace la acești pacienți: troponinele, peptidul natriuric, proteina de legare a acizilor grași, proteina C reactivă cu sensibilitate înaltă, mieloperoxidaza, etc [7].

De asemenea, imagistica oferă mai multe proceduri, cele mai des întâlnite în practică fiind ecocardiografia transtoracică, Tissue Doppler Imaging (TDI) și rezonanța magnetică cardiacă [11].

# STUDIUL PERSONAL

## SCOPUL ȘI OBIECTIVELE

Scopul studiului meu a fost evaluarea afecției cardiace acute și precoce la pacienții pediatrici diagnosticați cu leucemie acută limfoblastică, tratați conform protocolului de chimioterapie standard.

Obiectivul principal a fost analiza comparativă a metodelor de detecție a cardiotoxicității în primul an de la diagnostic, prin dozarea a doi biomarkeri cardiaci (troponina I- TnI- folosit de rutină, și proteina de legare a acizilor grași- HFABP- încă în studiu) și prin urmărirea parametrilor de ecocardiografie convențională și TDI.

Obiectivele secundare au inclus descrierea caracteristicilor pacientului analizat din punct de vedere demografic și hematologic, stabilirea incidenței manifestărilor clinice în lotul studiat, evaluarea în dinamică a biomarkerilor cardiaci și a ecocardiografiilor seriatale, încercarea de a elabora un protocol de diagnostic și de monitorizare a modificărilor la nivel cardiac, în cazul pacienților pediatrici cu LAL, care au primit doze mici și medii de antracicline.

Ipoteză nulă : Pacienții tratați cu doxorubicină nu prezintă efecte adverse la nivel cardiac între momentul diagnosticului și sfârșitul tratamentului citostatic. Ipoteză alternativă : Disfuncțiile cardiace, clinice sau subclinice, apar la pacienții cu LAL, în relație de tip liniară cu doza cumulată de antracicline (doxorubicină) administrată.

## METODOLOGIA CERCETĂRII

Am realizat un studiu observațional, analitic, prospectiv, cu o perioadă de înrolare cuprinsă între februarie 2015 și noiembrie 2016, respectiv cu o perioadă de urmărire de un an de la data diagnosticului, până la finele lunii noiembrie 2017.

Pe parcursul a 21 luni, au fost diagnosticați în Departamentul nostru 70 pacienți cu leucemie acută limfoblastică, pe baza hemogramei, frotiului de sânge periferic, morfologiei

bla tilor, imunofenotip rii, citogeneticii i biologiei moleculare. Stadializarea pacientului s-a efectuat utilizând criteriile definite în protocolul BFM-ALL IC 2002 în grupe de risc standard (SR), intermediar (IR) i înalt (HR).

Criteriile de includere în studiu: pacienți cu vârsta între 1 și 18 ani, nou-diagnosticați cu LAL în Clinica de Pediatrie a Institutului Clinic Fundeni, tratați conform protocolului BFM-ALL 2002 (la care s-a ad ugat monitorizarea bolii minime reziduale în zilele 15, 33 i 78), formular de consimț mânt informat semnat de c tre p rinții/aparțin torii legali ai copiilor înaintea începerii procedurii de studiu, atât formularul de consimt mânt, cât i protocolul de studiu fiind aprobate de Comisia de Etic a Institutului.

Criteriile de excludere: pacienți diagnosticați în clinica noastră cu rec dere a LAL, formele de LAL bilineal , bifenotipic sau cu subtipul imunofenotipic B matur (tratamente diferite), refuzul aparțin torilor de a participa în studiu, manifestat prin nesemnarea formularului de consimț mânt informat.

Criteriile de discontinuare: decesul pacientului înrolat în studiu în primul an de la diagnostic; decizia aparțin torilor de a continua tratamentul în alt clinic din țar sau str in tate înainte de a se realiza toate evalu rile prev zute în protocolul studiului; dep irea vârstei pediatrice i transferarea pacientului înrolat în studiu într-un serviciu de hematologie de adulți; evoluția nefavorabil sub tratamentul standard de chimioterapie, cu necesitatea întreruperii protocolului i introducerea în Programul Național de Transplant de elule stem hematopoietice.

În urma aplic rii criteriilor de includere, excludere i discontinuare stabilite în prealabil, în studiul meu au r mas 48 pacienți, care au finalizat protocolul de studiu. Toate datele au fost introduse inițial în fișa pacientului, apoi într-o baz informatic .

Tuturor pacienților li s-au recoltat cinci probe de sânge, în vederea doz rii seriate a biomarkerilor luați în considerare: înainte începerii protocolului terapeutic; la o or dup administrarea primei doze de doxorubicin din inducție; înainte i la o or de la ultima administrare de AC din reinducție; la un an de la diagnostic. TnI s-a lucrat în Laboratorul I, în timp ce H-FABP a fost achiziționat din fonduri personale din SUA i lucrat în Laboratorul II al I. C. Fundeni.

Copiii din studiu au fost evaluați ecocardiografic de c tre doi cardiologi pediatrici experimentați, în laboratorul Eurocolab din Institutul de Boli Cardiovasculare “Prof. Dr. C. C. Iliescu”, în trei puncte ale tratamentului: la debut, dup administrarea tuturor dozelor de doxorubicin i la un an de la diagnostic. S-au urm rit: fracția de ejeție a ventriculului stâng- FEVS, integrala vitez timp a tractului de ejeție a ventriculului stâng- IVT, excursia sistolic a inelului tricuspidian- TAPSE; viteza de umplere precoce- E, viteza de umplere tardiv - A, raportul între umplerea precoce i cea tardiv - E/A, timpul de decelerare- TDE, timpul de relaxare izovolumetric - TRIV; viteza sistolic la peretele lateral al ventriculului drept- SVD, la peretele septal al ventriculului stâng- SS i la peretele lateral al ventriculului stâng- SL; E/E’ septal, E’/A’ septal, E’/A’ lateral, E’/A’ al ventriculului drept.

Prelucrarea statistic a datelor pentru lucrarea prezentat s-a efectuat folosind IBM Statistical Package for Social Sciences, varianta 25 (SPSS) printr-o serie de teste: Mann-Whitney U i Kruskal Wallis, mediana i interquartile range (IQR), Pearson chi square i Likelihood ratio, Friedman i Wilcoxon Signed Rank, Kendall Tau b. S-a folosit ca prag de semnificație statistic  $p < 0,05$ . În cazul comparațiilor dintre mai mult de 2 grupe s-au efectuat teste post hoc i s-a aplicat corecția Bonferroni pentru perechile de date. Reprezentarea grafic a datelor a fost realizat prin histograme, diagrame 3D pentru dispersie, grafice parallel, drop-line i placint .

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

### 1) Descrierea pacienților diagnosticați în Clinic

În perioada de înrolare în studiu, 01.02.2015 - 30.11.2016, în Clinica de Pediatrie a Institutului Clinic Fundeni au fost nou-diagnosticați cu leucemie acut limfoblastic 70 pacienți pediatrici.

Pe perioada studiului, lotul de pacienți a suferit o serie de modific ri în funcție de criteriile de înrolare, discontinuare i excludere:

-aparțin torii a doi pacienți au refuzat participarea în studiu;

-doi pacienți au fost excluși pe baza morfologiei atipice: unul diagnosticat cu LAL cu celule B mature (Burkitt), unul cu LAL bilineal ;

-aparțin torii a șase pacienți au decis să emigreze în primele săptămâni de la diagnostic, în vederea continuării tratamentului de specialitate în clinici din alte țări;

-o pacientă a împlinit 18 ani între protocolul de consolidare și cel de reinducție și a fost transferat într-un serviciu de hematologie pentru adulți;

-la doi pacienți nu s-a reușit inducerea remisiunii sub tratament chimioterapic standard, motiv pentru care au fost introduși în Programul Național de Transplant de Celule Stem Hematopoietice;

-o pacientă, cu o patologie metabolică supraadaugată leucemiei acute, a prezentat complicații extrem de grave la nivel neurologic la sfârșitul protocolului de inducție, iar părinții au refuzat continuarea schemei de chimioterapie, astfel încât pacienta a fost discontinuată din studiu;

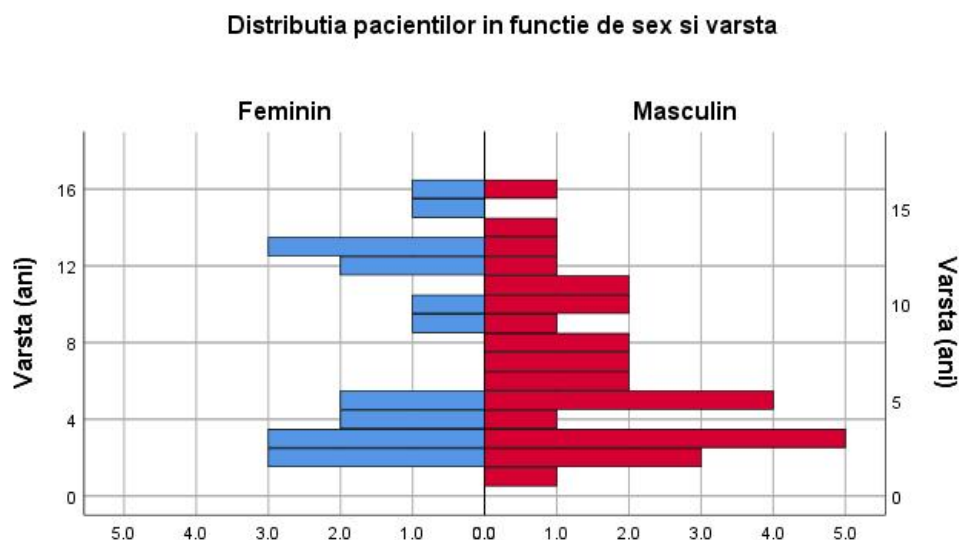
-pe parcursul anului de urmărire, opt pacienți înrolați în studiu au decedat.

## 2) Descrierea caracteristicilor analizate în studiu prin prisma caracteristicilor demografice și hematologice

Lotul de 48 pacienți analizat în această lucrare a prezentat o mediană de vârstă de 5,5 ani, cu extreme de 1 an, respectiv 16 ani. S-a observat o frecvență mai mare a pacienților cu vârste cuprinse între 1 și 5 ani, 24 copii (50%), respectiv între 10-13 ani, 13 pacienți (27,1%), în timp ce 11 s-au situat pe palierul mediu de 6-10 ani, date superpozabile cu cele din literatura de specialitate [12-14].

Din cei 48 pacienți analizați în studiul de față, 19 au fost fete (39,6%) și 29 băieți (60,4%), cu sex ratio masculin/feminin de 1,5. Acest rezultat este similar cu cel întâlnit în studiile de la nivel internațional pe aceeași patologie [15-17]. Mediana de vârstă pentru sexul feminin a fost de 5 ani, cu o frecvență mai mare în rândul celor între 2-3 ani și 12-13

ani, iar în cazul sexului masculin mediana a fost de 6 ani, asociind o frecvență mai ridicată la grupa de vârstă 2-6 ani.

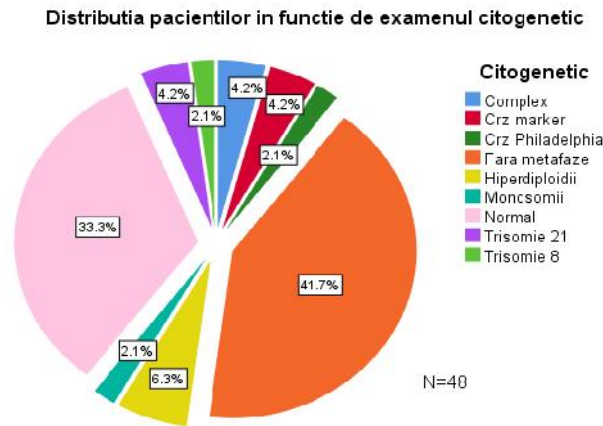


Conform valorilor evidențiate pe hemograma din ziua diagnosticului în cazul copiilor discutați în această lucrare, hemoglobina medie din lotul de 48 pacienți a fost de  $8,9 \text{ g/dl} \pm 2,4 \text{ g/dl}$ , numărul mediu de leucocite de  $26,6 \cdot 10^3 \text{ elem/ul} \pm 33,7 \cdot 10^3 \text{ elem/ul}$ , numărul mediu de trombocite de  $103,8 \cdot 10^3 \text{ elem/ul} \pm 90 \cdot 10^3 \text{ elem/ul}$ , respectiv procentul mediu de limfoblaste de  $37,2\% \pm 28,2\%$ . Leucocitele și implicit procentul blastelor din sângele periferic s-au corelat negativ cu numărul trombocitelor, arătând un grad mai ridicat de invadare leucemică la nivelul măduvei osoase. În lotul analizat s-a observat o predominanță a pacienților cu vârstă mică și leucocite puține la diagnostic ( $25\%$ ), așa cum apare și în studii internaționale [16, 18-19].

Din totalul de 70 pacienți nou-diagnosticați în perioada de studiu în clinica noastră, unul singur a prezentat subtipul L3 de limfoblast matur ( $1,4\%$ ), iar în ceea ce privește cei 48 de copii care au finalizat protocolul studiului de față, 44 pacienți ( $91,7\%$ ) au avut limfoblaste tip L1, restul de 4 pacienți ( $8,3\%$ ) L2, fiind în concordanță cu datele din literatură [4, 20-23]. Nu am observat corelații între morfologia celulelor leucemice și caracteristicile demografice ale pacienților.

Dintre probele de citogenetică recoltate la cei 48 pacienți aflați în studiul meu, 28 ( $58,3\%$ ) au prezentat metafaze, ce s-au putut analiza în laboratorul de specialitate: 16 teste au arătat un cariotip normal, iar 12 au evidențiat modificări numerice sau structurale la

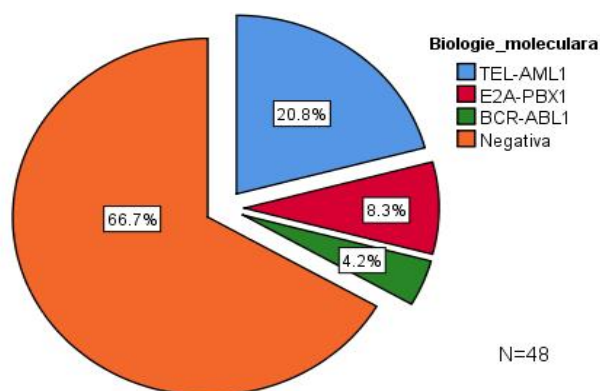
nivelul cromozomilor (cromozom marker, cromozom Philadelphia, hiperdiploidii, monosomii, trisomii sau cariotip complex). Nu au existat asocieri semnificative statistice între examenul citogenetic și grupele de vârstă sau sexul pacienților.



Cei mai mulți pacienți din studiul de față au avut limfoblaști de linie B (39 pacienți, 82,2%), restul fiind apanajul LAL de tip T (9 pacienți, 18,8%). Fenotipul B comun a predominat la grupa de vârstă 1-5 ani (30%). Majoritatea pacienților cu puține leucocite la debut au avut fenotip B comun (40,5%), în timp ce pacienții cu celule T au prezentat un număr crescut de leucocite. Un singur pacient din 48 (2%) a avut fenotip proB, incidențe similare cu datele din literatură [17-18, 20, 24-25]. Nu s-a evidențiat nicio corelație între fenotipul celulei leucemice și sexul pacientului.

Pentru majoritatea copiilor din lotul de studiu analizat în cadrul proiectului meu, respectiv 66,7%, proba de biologie moleculară nu a evidențiat niciuna dintre genele de fuziune cutate (TEL-AML1, SIL-TAL1, E2A-PBX1, MLL-AF4, BCR-ABL1), însă în cazul a 16 pacienți cu imunofenotip B s-a identificat o mutație genetică. Cea mai frecventă a fost TEL-AML1, aceasta întâlnindu-se la 20,8% dintre pacienți, majoritatea cu vârstă mică și cu leucocite puține la diagnostic. A fost urmat de E2A-PBX1 cu 8,3% și BCR-ABL1 în 4,2% cazuri. Aceste frecvențe sunt similare celor raportate în literatura de specialitate [13, 25-29]. Printre cei 48 de pacienți care au finalizat protocolul de studiu nu s-a aflat niciunul cu SIL-TAL1 sau MLL-AF4.

Distributia pacientrilor in functiie de biologia moleculara



Referitor la determinarea afectării la debut a sistemului nervos central, un singur pacient din cei 48 rma i în studiu (2%) a prezentat un număr de peste 5 celule leucemice/ $10^9$ L la nivelul lichidului cefalorahidian. A fost vorba despre un pacient de sex masculin, de 11 ani, diagnosticat cu LAL cu celule T, cu  $52,8 \cdot 10^3$ /ul leucocite la debut, cariotip complex 46,XY (8 celule)/ 47~49,XY,+16,+20,+21 (13 celule), cu un r spuns nefavorabil la prednison i încadrat la grupa de risc înalt. În studiile internaționale, incidența afectării SNC la debut este variabil [16, 20, 29-31].

În funcție de numărul de blaști din ziua 8 de la diagnostic, 43 pacienți (90,6%) din lotul studiat în această teză au fost prednison-good-responders (PGR), în timp ce doar 5 copii (10,4%) au fost prednison-poor-responders (PPR). Din acești cinci, 3 au avut vârstă peste 11 ani (60%), 3 au avut imunofenotip T (60%), 1 pacient E2A-PBX1 (20%) i 1 BCR-ABL1 (20%). Toți cei 5 copii cu r spuns nefavorabil la prednison au fost alocați riscului înalt de boală, conform criteriilor BFM-ALL IC 2002/2009 [5, 32]. Aceste observații sunt comparabile cu datele din literatură [16, 33-37]. Nu s-au evidențiat diferențe semnificative statistice între pacienții care au r spuns favorabil, respectiv nefavorabil la prednison, în funcție de rezultatele la analizele de citogenetic, imunofenotipic i de biologie moleculară, în ciuda unor alte studii [38].

Repartiția pe grupe de risc a celor 48 pacienți din studiul meu a distribuit 19 copii la SR (39,6%), 21 la IR (43,8%), respectiv 8 la HR (16,6%), procente discret în favoarea grupei standard față de riscul intermediar, comparativ cu cele prezentate în lucrări internaționale [16, 19, 33, 39]. A existat un raport masculin/feminin supraunitar la grupele SR i HR, fără semnificație statistică. Majoritatea pacienților din studiul meu, la care

examenul citogenetic a evidențiat anomalii cromozomiale, s-au încadrat la IR (12,5%), fără semnificație statistic, însă. Cei mai mulți pacienți cu imunofenotip B comun s-au încadrat la SR (31,9%) și IR (19,1%). Dintre cei cu celule preB, cei mai mulți au fost diagnosticați cu LAL IR (12,5%). Majoritatea copiilor cu mutația TEL-AML1 s-au încadrat la SR (16,7%), cei cu biologie molecular negativ în IR (31,2%).

Toți cei 48 pacienți analizați (100%) au avut o evoluție favorabilă în ceea ce privește boala hemato-oncologică, aflându-se în prima remisiune completă la sfârșitul protocolului de studiu (la un an de la diagnostic).

### 3) Manifestările clinice la nivel cardiac în lotul studiat

Potrivit Harake D. și colaboratorii săi, toxicitatea acută la doxorubicină se poate manifesta prin scăderea temporară a contractilității mușchiului inimii, necroză miocardică sau diverse aritmii, semne clinice care se remit de obicei la oprirea tratamentului [8]. Într-o lucrare a lui Steinberg J. S. și Cohen A. J. se menționează inclusiv posibilitatea apariției morții subite la mai puțin de o oră după administrarea de doxorubicină, pe lângă tahicardie sinusală, blocuri ventriculare și atriale premature, manifestări întâlnite cu o frecvență de până la 41% în funcție de studiu. În respectiva analiză, un singur pacient dintr-un lot de 33 a prezentat aritmie la o oră după administrarea tratamentului cu antraciclin [40].

Un singur pacient (2%) din cei 48 analizați în lotul de față a prezentat semne clinice de cardiotoxicitate: sex masculin, limfoblasti tip L1, celule T, cariotip complex 46,XY (8 celule)/ 47~49,XY,+16,+20,+21 (13 celule), fiind și singurul din lotul pacienților diagnosticați pe perioada studiului care a avut afectare SNC la debut, PPR, cu boală minim reziduală 18% în ziua 15, încadrat la grupa HR.

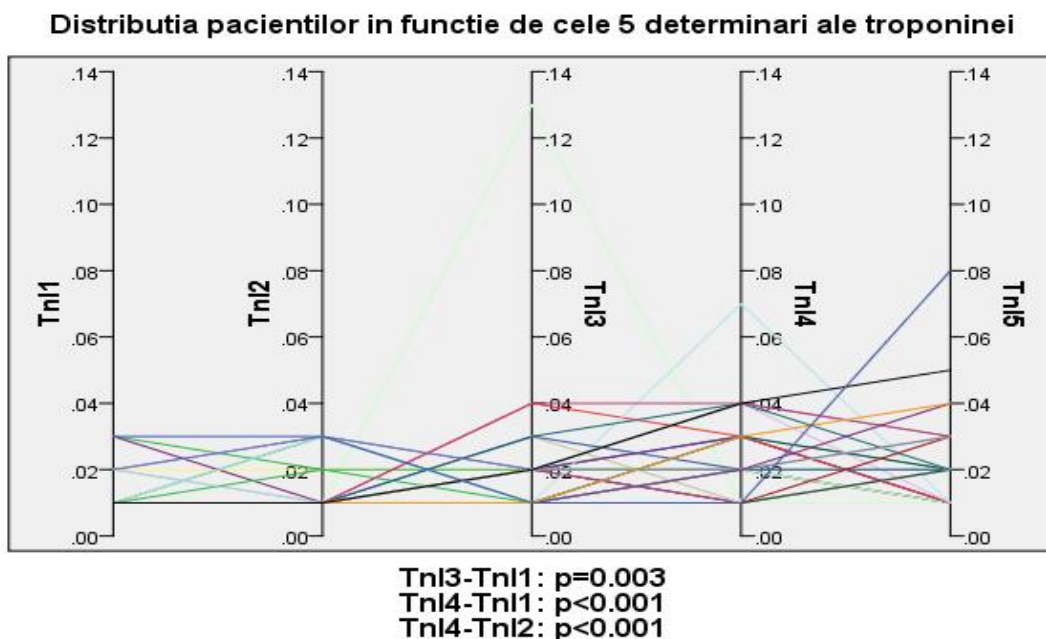
Acesta a dezvoltat bradicardie pe parcursul infuziei de doxorubicină din cadrul celei de-a doua cure HR2, după o doză de antraciclin de 150 mg/m<sup>2</sup>. Rezultatele troponinei s-au menținut în limite normale. În schimb, a doua evaluare prin ecocardiografie convențională și Tissue Doppler Imaging a relevat modificări semnificative. Pentru a evita agravarea cardiotoxicității deja manifestate clinic, ultimele patru doze de doxorubicină au fost reduse. S-a inițiat tratamentul cardioprotector cu Enalapril, iar la un an de la diagnostic,

aproximativ 2 luni de la finalizarea reinducției, s-au repetat dozarea troponinei I (proba 5 cu un rezultat cu 50% mai mare decât precedentul, dar încadrat în limite normale) și evaluarea ecocardiografică, care a arătat o îmbunătățire a funcției cordului.

#### 4) Analiza în dinamică a biomarkerilor studiați

Dozele de antracicline precizate în protocolul internațional [5] și primite de către pacienții înrolați în studiul meu au fost la 7 copii de sub 200 mg/m<sup>2</sup>, la 25 copii între 200 și 240 mg/m<sup>2</sup>, respectiv la 16 pacienți între 240 și 300 mg/m<sup>2</sup>.

Rezultatele celor cinci măsurători seriate din cadrul protocolului de studiu ale troponinei I cardiace au fost: TnI1 (înainte de începerea tratamentului) cu medie 0,0123 ng/ml ( $\pm 0,0055$ ) și median 0,01 ng/ml; TnI2 (la o oră după prima administrare de AC din inducție) cu medie 0,0127 ng/ml ( $\pm 0,0064$ ) și median 0,01 ng/ml; TnI3 (înainte de ultima administrare de AC din reinducție) cu medie 0,0192 ng/ml ( $\pm 0,1832$ ) și median 0,015 ng/ml; TnI4 (la o oră după ultima doză de AC din reinducție) cu medie 0,0215 ng/ml ( $\pm 0,0127$ ) și median 0,02 ng/ml; TnI5 (la un an de la diagnostic) cu medie 0,0188 ng/ml ( $\pm 0,0133$ ) și median 0,01 ng/ml.



Majoritatea valorilor biomarkerului la o oră după prima doză de AC nu a fost influențată. În ceea ce privește cealaltă pereche de valori măsurate la o oră de la administrarea intravenoasă, TnI3 și TnI4, testele au fost în creștere la 41,66% dintre pacienți, însă fără semnificație statistică.

Pe parcursul celor 4 determinări din timpul tratamentului chimioterapic standard, tendința troponinei I a fost crescătoare pe măsură ce doza totală de doxorubicină administrată pacienților s-a mărit, în special la doze mai mari de 200 mg/m<sup>2</sup>. S-a observat că la 44% dintre pacienți TnI5 scade, comparativ cu cea de la finele reinducției, iar pentru alți 27% dintre copii s-a menținut același nivel cu TnI4. La majoritatea pacienților (48%) valoarea TnI5 este superioară măsurătorii inițiale de la debut, TnI1.

S-a observat o particularitate efectuând corelația dintre clasele de risc și perechea TnI2-TnI4, existând o diferență relevantă statistic între clasele IR și SR. Această observație se poate explica prin diferența dintre rezultatele TnI1 și TnI2 la 9 pacienți din clasele SR și IR, discrepanță importantă în contextul unui lot mic de pacienți. Totuși, este mult mai probabil un rezultat incidental, având în vedere că nu există diferențe majore între dozele de doxorubicină administrate celor două clase de risc. O altă explicație posibilă este numărul mic de pacienți încadrați la grupa de HR, diminuând șansa unei analize semnificative statistice. De asemenea, nu am găsit nicio semnificație analizând tendința TnI pe baza sexului pacienților sau vârstei la diagnostic.

În literatura de specialitate, există puține lucrări despre evaluarea cardiotoxicității la pacienții pediatrici tratați cu antracicline, prin determinarea în dinamică a TnI. Într-un studiu pe 50 copii cu LAL, valorile TnI au suferit modificări în urma terapiei [41], în timp ce într-o analiză pe loturi de 29, respectiv 70 de copii cu LAL nu au existat creșteri ale acestui marker [42-43].

Analiza H-FABP din studiul meu s-a efectuat pe un sublot de 19 pacienți, rezultatele fiind următoarele: HFABP1 (înainte de începerea tratamentului) cu medie 1,69 ng/ml ( $\pm 0,071$ ) și mediană 1,9 ng/ml; HFABP2 (la o oră după prima administrare de AC) cu medie 1,61 ng/ml ( $\pm 0,193$ ) și mediană 1,91 ng/ml; HFABP3 (înainte de ultima administrare de AC din reinducție) cu medie 1,60 ng/ml ( $\pm 0,167$ ) și mediană 1,85 ng/ml; HFABP4 (la o oră după ultima doză de AC din reinducție) cu medie 1,603 ng/ml ( $\pm 0,167$ )

i median 1,75 ng/ml; HFABP5 (la un an de la diagnostic) cu medie 1,693 ng/ml ( $\pm 0,071$ )  
i median 1,69 ng/ml.

Nu au existat diferențe semnificative statistic în ceea ce privește medianele pentru cele 5 seturi de valori ale H-FABP, precum și comparând aceste rezultate cu doza cumulativ de doxorubicin, vârsta, sexul pacienților sau încadrarea de grupe de risc. Din aceste motive, precum și rațiuni logistice, s-a decis oprirea recoltării acestor probe.

Unele studii internaționale au demonstrat valoarea H-FABP în contextul tratamentului pentru diverse patologii maligne [44-45], în timp ce altele au concluzionat că nu este util pentru evaluarea afectării cardiace [46], întrucât niciunul nu s-a efectuat pe o populație pediatrică cu LAL.

#### 5) Rezultatele evaluărilor ecocardiografice

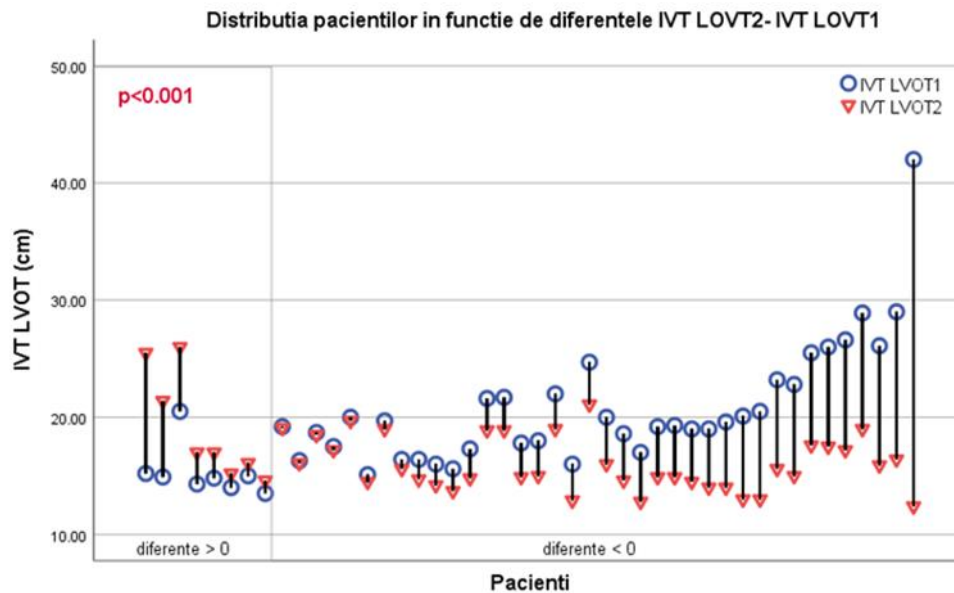
Ghidurile actuale recomandă evaluarea ecocardiografică înainte și seriat după inițierea tratamentului cu antracicline, atât pentru ajustarea dozelor, cât și pentru adaptarea de tratament cardioprotectiv sau chiar întreruperea temporară a chimioterapiei în afecțiunile acute severe [47]. Particularitățile examinării la copil, unde nu întotdeauna se pot obține secțiuni de calitate optimă sau efectuarea apneei pentru evaluarea tridimensională, fac protocoalele de evaluare a adultului să nu fie ușor de aplicat.

În aceste condiții am ales să urmărim lotul de pacienți pediatrici utilizând, pe lângă parametrii clasici (FEVS, TAPSE, IVT, E, A, E/A), și parametrii TDI de funcție sistolică (SS, SL, SVD) și diastolică (TRIV, TDE, E/E', E'/A'). Testele au fost efectuate pentru 46 pacienți deoarece la 2 dintre copii nu s-au putut realiza examenele ecocardiografice la momentul debutului.

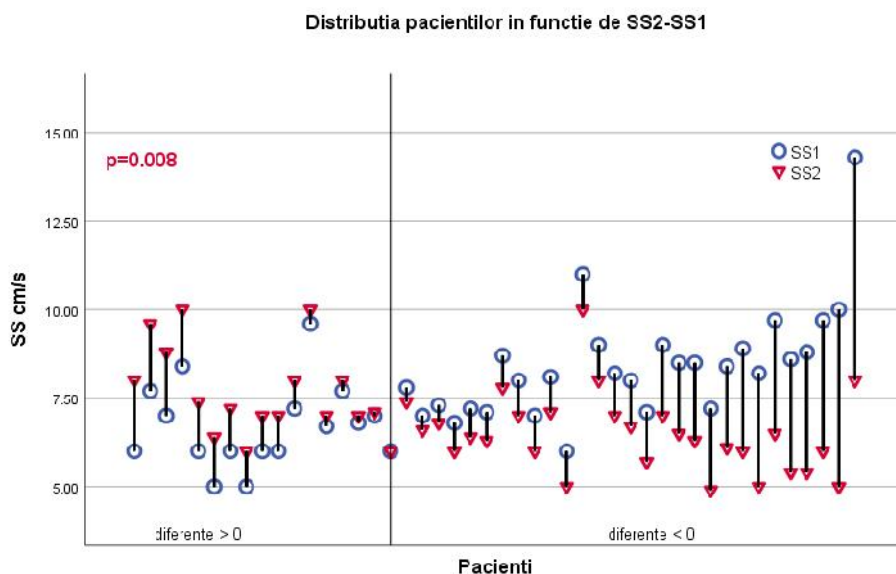
Nu am observat în lotul nostru diferențe în dinamică pe FEVS, având o mediană de 63% la T1, 64,5% la T2 și 62% la T3, acest parametru fiind, de altfel, insuficient de sensibil pentru a detecta semnele precoce de insuficiență ventriculară stângă. În studiul de față evaluările au fost în decurs de un an, într-un protocol cu doze mici de antracicline, deci

o scădere de mai mult de 10% a FEVS era puțin probabil, afectarea apărând tardiv în urmărirea, chiar la vârsta de adult, explicând lipsa de sensibilitate a acestui parametru.

Utilizând IVT am observat o scădere semnificativă la prima evaluare după inițierea tratamentului, cu o creștere ulterioară, sugerând o afectare rapidă, tranzitorie a funcției globale de pompă. Astfel, la T1 IVT median este 19,1 cm, la T2 15,75 cm, iar la T3 19,6 cm, cu diferențe semnificative statistice. Având în vedere faptul că aproape jumătate din copiii incluși în studiul nostru au vârsta sub 6 ani, o valoare medie intermediară celei prezentate în acel studiu este concordantă pentru pre-tratament, iar valoarea la T2 este sub media normalului [48-50].



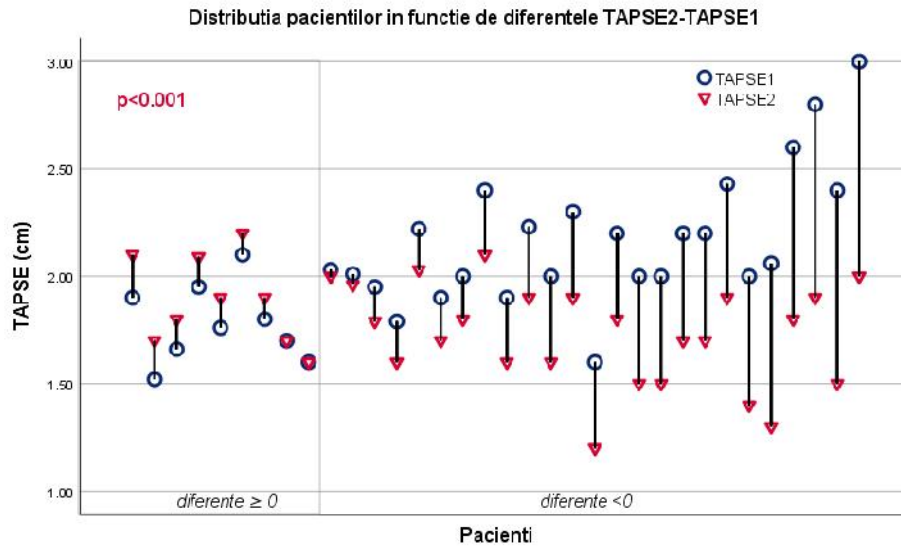
Am observat o scădere a valorii SS de la T1 la T2, apoi o tendință la revenire către valorile normale, sugerând o afectare tranzitorie a contractilității VS. Astfel, SS a scăzut de la o medie de 7,7 cm/s la o medie de 6,9 cm/s, corespunzând unor valori sub media raportată ca normală [51], apoi a crescut la T3 către 7 cm/s.



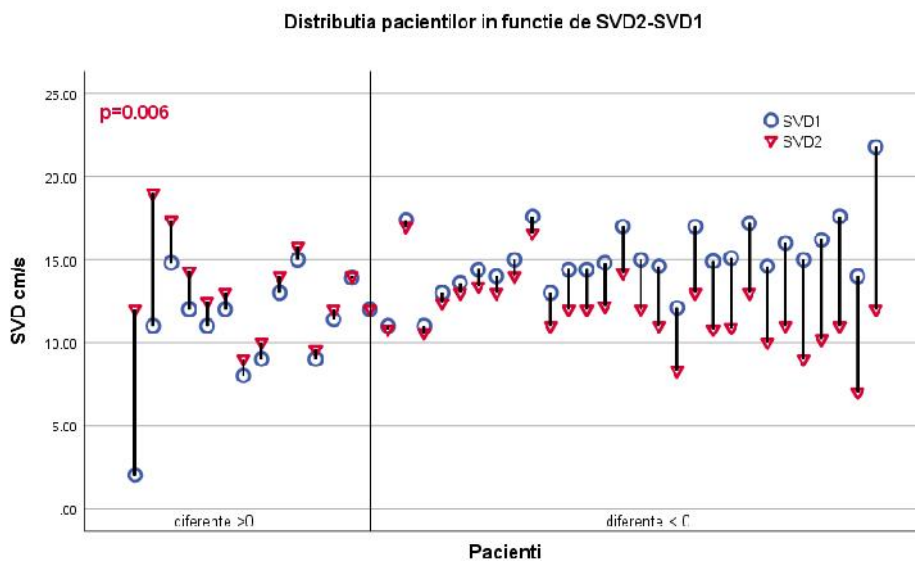
În ceea ce privește SL nu s-au observat variații semnificative, valorile medii la T1 și T2 sunt similare, de 8,7 cm/s, scăzând discret la 8 cm/s la T3, valori similare cu cele raportate în literatură [51]. Diferența între dinamica SS și SL poate sugera o mai mare sensibilitate a septului interventricular pentru disfuncție contractilă.

Evaluarea funcției ventriculare drepte s-a făcut utilizând doi parametri, TAPSE, care cuantifică simultan atât funcția longitudinală, cât și cea globală, dar și SVD, care este un parametru al funcției longitudinale și contractilității. În studiul nostru, atât TAPSE, cât și SVD scad semnificativ după inițierea tratamentului, dar se mențin la valori scăzute la majoritatea pacienților la un an, chiar prezentând un trend pentru continuarea scăderii.

În grupul nostru, TAPSE scade de la o mediană de 21 mm la T1 spre o mediană de 18 mm la T2 și se menține la o mediană de 19 mm la T3, diferențele între T1 și T2, dar și T1 și T3 fiind semnificative, datele internaționale plasând valoarea mediană de 21 mm pentru grupul nostru în zona normală, dar medianele de 18 mm și 19 mm în zona borderline anormală pentru vârstă [52].



Valoarea SVD scade în grupul nostru de la o mediană de 14,4 cm/s la o mediană de 12 cm/s la T2 și rămâne la acest nivel la T3, diferențele între T1 și T2, respectiv T3 fiind semnificative statistic. Putem spune că valorile pre-tratament se includ în intervalul mediu normal pentru vârstă, pe când cele la T2 și T3 se regăsesc sub acest interval [53].



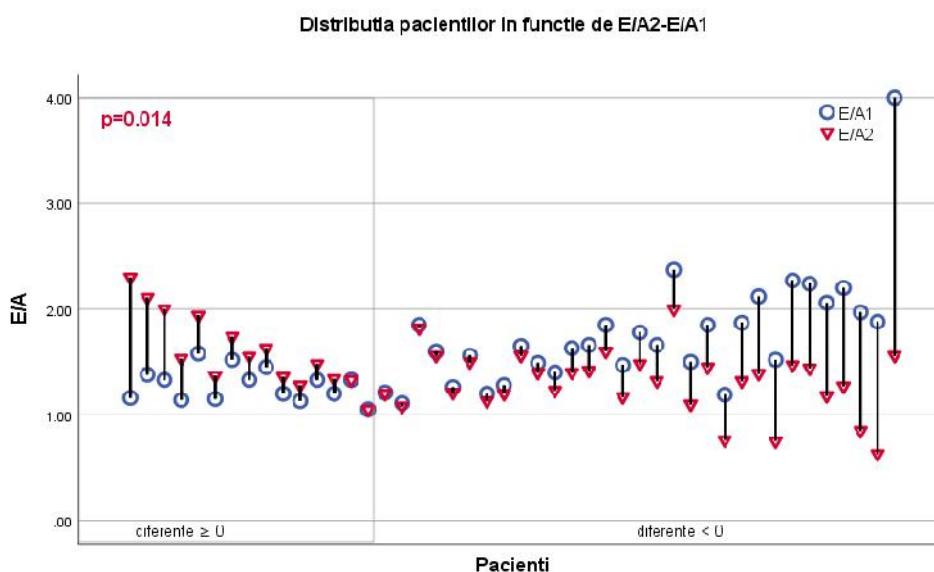
Datele disponibile în literatura de specialitate privind disfuncția sistolică de ventricul drept, secundar tratamentului cu antraciclina, vin din studii care utilizează protocoale de chimioterapie și urmărirea diferită și care ajung la concluzii diferite, deci, nu există deocamdat un consens [54-57].

Studiul nostru arată că disfuncția apare precoce după tratament și nu este corelată cu dozele, deci, o soluție de scădere suplimentară a acestora nu ar fi fezabilă.

Diferențele în tiparul apariției și remisiei disfuncției VS și VD pot sugera roluri diferite în urmărirea acestor pacienți, încurajând o evaluare ecocardiografică completă și neaxată pe funcția sistolică a VS, cum recomandă ghidurile actuale [47].

Ventriculul stâng are capacitatea de a se adapta și de a-și reveni după injuria tisulară, dar se remodelează cu dificultate după afectare de tip hemodinamic, pe când ventriculul drept se remodelează favorabil în multiple scenarii hemodinamice, dar este sensibil la injuria tisulară [11].

În grupul nostru am identificat modificări ale parametrilor de funcție diastolică, cu scăderea TDE și a raportului E/A după inițierea tratamentului, sugerând apariția unei disfuncții în umplerea VS. Totuși, am observat modificări paradoxale, cum ar fi scăderea raportului E/E'. Timpul de umplere izovolumetrică, unul din parametri relativ independenți de variabilități hemodinamice, a fost fără modificări.



Clasificarea actuală a disfuncției diastolice nu este validată la copii și cu atât mai puțin parametri măsurăți uzual la adult [58]. Totuși, exercițiul de evaluare a disfuncției diastolice servește la o mai bună înțelegere a limitărilor în vederea implementării în studii viitoare.

## 6) Compararea celor două metode de evaluare a cardiotoxicității

În studiul nostru am regăsit corelații semnificative statistic între ultima valoare a TnI și ultimele măsurători ale SS și SL, la un an de la diagnostic, respectiv la 4-6 luni de la terminarea tratamentului cu antracicline, precum și cu parametri de funcție diastolică, evaluați tot prin TDI.

Studiul meu a arătat o corelație între troponina cardiacă I și funcția contractilă miocardică, sprijinind rolul ambelor evaluări. Nu s-au regăsit, însă, corelații între tiparele de dinamică ale parametrilor măsurători. Faptul că s-au evidențiat legături între valorile troponinelor și funcția cardiacă diastolică ar putea sugera interdependența între contractilitate și relaxare.

Există puține date pe loturi de copii care să arate o corelație între funcția cardiacă determinată prin ecocardiografie și creșterea valorilor biomarkerilor. Un studiu a concluzionat că disfuncția diastolică apare mai precoce comparativ cu cea sistolică, respectiv cu creșterea biomarkerilor cardiaci, dar și că modificarea valorilor TnI se asociază cu apariția insuficienței miocardice congestive [59].

Recomandările de monitorizare a cardiotoxicității menționează măsurarea de rutină a deformării cardiace și a FEVS tridimensionale, subliniind necesitatea unor măsurători precise, sensibile la disfuncția subclinică, și doi biomarkeri, troponina cardiacă și peptidul natriuretic atrial tip B, dar avertizează privind neclaritatea semnificației unei creșteri mici a valorilor [47]. Astfel, decizia de a modifica tratamentul sau de a introduce tratament cardioprotectiv necesită o creștere constantă și semnificativă a unuia din biomarkeri, motiv pentru care se poate depăși momentul optim.

## 7) Limitările studiului

a) Numărul pacienților din acest studiu nu este mare, însă este reprezentativ pentru această patologie la nivel național.

b) Din motive logistice, s-a decis eliminarea recoltării probelor pentru peptidul natriuric tip B, respectiv întreruperea dozării H-FABP din protocolul studiului.

c) Exist o variabilitate intra- i inter-examinator, ecocardiografiile fiind realizate de c tre doi cardiologi pediatri.

d) Deoarece în acest studiu a fost vorba de populație pediatric imunodeprimat , evaluarea ecografic nu a cuprins metoda Teichholz de m surare a FEVS (pentru limitarea duratei evalu rii ecocardiografice) i tehnica de speckle tracking (deoarece copiii mici nu pot face manevra de apnee voluntar ).

## CONCLUZII

1) Caracteristicile clinice i biologice ale copiilor cu LAL inclu i în studiu se suprapun datelor din literatura de specialitate.

2) Toți copiii au fost tratați uniform, potrivit protocolului internațional BFM-ALL IC 2002, la care s-a ad ugat monitorizarea bolii minime reziduale în zilele 15, 33 i 78, conform protocolului BFM-ALL IC 2009.

3) Dozele de antraciline fost la 7 copii de sub 200 mg/m<sup>2</sup>, la 25 copii între 200 i 240 mg/m<sup>2</sup>, respectiv la 16 pacienți între 240 i 300 mg/m<sup>2</sup>.

4) A fost un singur pacient care a prezentat toxicitate acut în timpul administr rii de doxorubicin din cadrul uneia dintre cure, manifestat prin bradicardie.

5) Tehnica Tissue Doppler Imaging este aplicat pentru prima dat în țara noastr într-un studiu pediatric.

6) Parametrii care evalueaz funcția ventriculului stâng, atât sistolic (SS, IVT), cât i diastolic (E, E/A, TDE), au sc zut pe parcursul administr rilor de antraciline, dar au revenit la valorile inițiale la oprirea terapiei.

7) Parametrii utilizați la evaluarea funcției ventriculului drept (TAPSE i SVD) au sc zut semnificativ dup inițierea tratamentului și s-au menținut la valori subnormale la un an de la diagnostic. Sunt necesare, îns , evalu ri pe o perioad de timp mai îndelungat deoarece studiile din literatur arat c modific rile pe termen scurt nu reflect în mod fidel afectarea pe termen lung.

8) H-FABP nu a dovedit modific ri semnificative la analiza intermediar , renunțându-se la monitorizarea valorilor acestui parametru biochimic atât din acest motiv, cât și din rațiuni logistice.

9) Referitor la TnI, nu s-au observat diferențe semnificative statistic imediat după dozele de antraciclina. Au existat diferențe relevante între valorile dinaintea primei, respectiv după ultima doză de antraciclina, în sensul creșterii la 39,6% dintre pacienți, în special la doze totale de peste 200 mg/m<sup>2</sup>. La un an de la diagnostic, tendința a fost de scădere la majoritatea copiilor (43,76%), valori mai mari față de nivelul de la debut observându-se la 47,92% dintre aceștia. Rolul biomarkerilor pare a fi inferior datelor ecocardiografice în studiul personal.

10) Ca limitări ale studiului, se pot menționa: numărul relativ redus al subiecților incluși în studiu, ceea ce scade valoarea semnificației statistice; excluderea unor biomarkeri din motive financiare (exemple: BNP, troponina cardiacă high-sensitivity); obținerea unor metode de studiu ecografic mai puțin performante (metoda Teicholz), adaptate populației pediatrice, fiind cu o durată scurtă de examinare și fără necesitatea evaluării în apnee; interpretarea datelor ecografice de către doi examinatori, deși s-au luat măsuri de reducere a variabilității rezultatelor; din motive logistice și financiare, studiul nu a fost completat cu IRM cardiac.

11) Sunt necesare studii efectuate pe un număr mai mare de pacienți pediatrici cu această patologie, cu scopul de a monitoriza efectele adverse la nivel cardiac ale antraciclinelor, precum și pentru diagnosticarea cardiotoxicității tardive, care apare la supraviețuitorii de cancer și care nu face obiectul studiului de față. De asemenea, ar fi utilă evaluarea unui spectru mai amplu de biomarkeri cardiaci, în vederea determinării aceluia sau acelor cu rolul cel mai precis în diagnosticul precoce al afectării cardiace.

12) Având în considerare faptul că în România nu există în prezent protocoale de diagnosticare și de urmărirea cardiotoxicității la copiii cu leucemie acută limfoblastică, recomand ca algoritmul de urmărirea să conțină în mod obligatoriu o evaluare pre-tratament prin ecografie cardiacă convențională și Tissue Doppler Imaging, dar și o dozare de biomarkeri disponibili în centrul sanitar respectiv. Apoi, pe parcursul tratamentului, propun să se reevalueze pacientul ecocardiografic într-o manieră serială, cu repetarea biomarkerilor, în cazul existenței suspiciunii de cardiotoxicitate.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIV

1. Imbach P., Kuhne T., Arceci R. J., „Pediatric Oncology, a comprehensive guide”. Springer, 2011
2. Lanzkowsky P., „Manual of Pediatric Hematology and Oncology”. Elsevier, 2011
3. Pui C. H., „Childhood Leukemias”. Cambridge University Press, 2006
4. Coliț A., Coliț A., „Leucemia acut limfoblastic la copil”. Ed. Universitar Carol Davila, 2014
5. [http://ascopubs.org/doi/suppl/10.1200/jco.2013.48.6522/suppl\\_file/Protocol\\_JCO.2013.48.6522.pdf](http://ascopubs.org/doi/suppl/10.1200/jco.2013.48.6522/suppl_file/Protocol_JCO.2013.48.6522.pdf)
6. Reulen R. C., Winter D.L. et al, „Long-term cause-specific mortality among survivors of childhood cancer”. JAMA, 304:172-9, 2010
7. Radu L. E., Beldiman A. et al, „The use of biomarkers in detecting subclinical cardiotoxicity in doxorubicin-based treatment for paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia”. Revista Român de Medicin de Laborator, 25(2): 157-64, 2017
8. Harake D., Franco V. I. et al, „Cardiotoxicity in childhood cancer survivors: strategies for prevention and management”. Future Cardiol, 8(4):647-70, 2012
9. Galderisi M., Marra F. et al, „Cancer therapy and cardiotoxicity: The need of serial Doppler echocardiography”. Cardiovascular Ultrasound, 5:4, 2007
10. Christenson E. S., James T. et al, „Use of biomarkers for the assessment of chemotherapy-induced cardiac toxicity”. Clin Biochem, 48(0):223-35, 2014
11. Radu L. E., Ghiorghiu I. A. et al, “Right ventricular systolic longitudinal function decreases early after low dose doxorubicin treatment in children and is linked to the decrease in left ventricle ejection fraction”. Romanian Journal of Cardiology, 28(2):174-81, 2018
12. <https://www.childrenwithcancer.org.uk/childhood-cancer-info/cancer-types/acute-lymphoblastic-leukaemia/>
13. Pui C. H., Robinson L. L., Look T, „Acute lymphoblastic leukaemia”. Lancet, 2008; 371(9617):1030-43
14. Moricke A., Zimmermann M., et al, „Dexamethasone vs prednisone in induction treatment of pediatric ALL: results of the randomized trial AIEOP-BFM ALL 2000”. Blood, 2016; 127:2101-12
15. Estey E. H., Faderl S. H., Kantarjian H. M., „Hematologic Malignancies: Acute Leukemias”. Springer, 2008
16. Moricke A., Zimmermann M., et al, „Dexamethasone vs prednisone in induction treatment of pediatric ALL: results of the randomized trial AIEOP-BFM ALL 2000”. Blood, 2016; 127:2101-12
17. <https://www.childrenwithcancer.org.uk/childhood-cancer-info/cancer-types/acute-lymphoblastic-leukaemia/#about>
18. Garza-Veloz I., Martinez-Fierro M. L., et al, „Identification of Differentially Expressed Genes Associated with Prognosis of B Acute Lymphoblastic Leukemia”. Disease Markers, 2015; 2015:828145
19. Vora A., Goulden N., et al, „Treatment reduction for children and young adults with low-risk acute lymphoblastic leukaemia defined by minimal residual disease (UKALL 2003): a randomised controlled trial”. The Lancet Oncology, 2013; 14(3):199–209

20. Lustosa de Sousa D. W., Almeida Ferreira F. V., et al, „Acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: prognostic factors and analysis of survival”. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 2015; 37(4):223-9
21. Miller D. R., Leikin S., et al, „Prognostic Importance of Morphology (FAB Classification) in Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia (ALL)”. *Br J Haematol*, 1981; 48(2):199–206
22. Bennett J. M., Catovsky D., et al, „The Morphological Classification of Acute Lymphoblastic Leukaemia: Concordance among Observers and Clinical Correlations”. *Br J Haematol*, 1981; 47:553-61
23. Pan L., Liu G., et al, „Machine learning applications for prediction of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia”. *Scientific Reports*, 2017; 7(1),7402
24. Abo-Bakr A., Mossallam G., et al, „Impact of CYP1A1, GSTP1 and XRCC1 genes polymorphisms on toxicity and response to chemotherapy in childhood acute lymphoblastic leukemia”. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute* 2017; 29(3):127-33
25. Downing J. R., Shannon K. M., „Acute leukemia: A pediatric perspective”. *Cancer Cell*, 2002; 2(6):437–45
26. Borkhardt A., Cazzaniga G. et al, „Incidence and Clinical Relevance of TEL/AML1 Fusion Genes in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia Enrolled in the German and Italian Multicenter Therapy Trials”. *Blood*, 1997; 90:571-7
27. Kumar, D., Panigrahi, M.K., et al, „Molecular analysis of childhood B-acute lymphoblastic leukemia: Identification and prognosis of rare breakpoints”. *Molecular Biology*, 2015; 49(6):843-7
28. Hu Y. X., He H. L., et al, „E2A-PBX1 exhibited a promising prognosis in pediatric acute lymphoblastic leukemia treated with the CCLG-ALL2008 protocol”. *Oncotargets and Therapy*, 2016; 9:7219-25
29. Goldberg-Stern H., Cohen R., et al, „The mystery of electroencephalography in acute lymphoblastic leukemia”. *Seizure*, 2011; 20(3):194-6
30. Chu W. C., Chik K. W., et al, „White matter and cerebral metabolite changes in children undergoing treatment for acute lymphoblastic leukemia: longitudinal study with MR imaging and 1H MR spectroscopy”. *Radiology*, 2003; 229(3):659–69
31. Ibagya A., Silva D. B., et al, „Acute Lymphoblastic Leukemia in Infants: 20 years of Experience”. *Jornal de Pediatria*, 2013; 89(1):64-9
32. [http://www.bialaczka.org/wp-content/uploads/2016/10/ALLIC\\_BFM\\_2009.pdf](http://www.bialaczka.org/wp-content/uploads/2016/10/ALLIC_BFM_2009.pdf)
33. Lauten M., Moricke A., et al, „Prediction of outcome by early bone marrow response in childhood acute lymphoblastic leukemia treated in the ALL-BFM 95 trial: differential effects in precursor B-cell and T-cell leukemia”. *Haematologica*, 2012; 97(7):1048–56
34. Pan L., Liu G., et al, „Machine learning applications for prediction of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia”. *Scientific Reports*, 2017; 7(1),7402
35. Ye Q. D., Tang J. Y., et al, „ALL-2005 protocol experience in the therapy of children and adolescents over 10 years of age with acute lymphoblastic leukemia”. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 2011;32(12):840-3
36. Cai J. Y., Xue H. L., et al, „Outcome of childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: a report of 99 cases”. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 2016; 54(6):456-60
37. Ren Y. Y., Zou Y., et al, „Prognostic Value of Prednisone Response in CCLG-ALL 2008”. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2015; 23(3):642-6

38. Fan J. J., Chai Y. H., et al, „Clinical significance of glucocorticoid induction test in Chinese childhood acute lymphoblastic leukemia”. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 2013; 51(7):523-6
39. Kruk A., Ociepa T., et al, „PARP -1 expression in CD34+ leukemic cells in childhood acute lymphoblastic leukemia: relation to response to initial therapy and other prognostic factors”. *Pol J Pathol*, 2015; 66(3):239-45
40. Steinberg J. S., Cohen A. J, et al, „Acute Arrhythmogenicity of Doxorubicin Administration”. *Cancer* , 1987; 60(6):1213- 1218
41. El-Shitany N. A., Tolba O. A. et al, „Protective effect of carvedilol on adriamycin-induced left ventricular dysfunction in children with acute lymphoblastic leukemia”. *J Card Fail*, 18(8):607-13, 2012
42. Erkus B., Demirtas S. et al, „Early prediction of anthracycline induced cardiotoxicity”. *Acta Paediatr*, 96(4):506–9, 2007
43. Xu X. Y., Huang M. R. et al, “Evaluation of early monitoring of cardiotoxicity induced by anthracyclines”. *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*, 13(6):490-4, 2011
44. ElGhandour A. H., Sorady M. E. et al, „Human heart-type fatty acid-binding protein as an early diagnostic marker of doxorubicin cardiac toxicity”. *Hematology Reviews*, 1:e6, 2009
45. Ozturk G., Tavit B., et al, „Evaluation of Cardiac Markers in Children Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation”. *J Clin Laboratory Analysis*, 2015; 29(4):259–62
46. Horacek J. M., Vasatova M., et al, „The use of cardiac biomarkers in detection of cardiotoxicity associated with conventional and high-dose chemotherapy for acute leukemia”. *Exp Oncol*, 2010; 32(2):97-9
47. Zamorano J. L., Lancellotti P. et al, “2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology”. *ESC Eur Heart J*, 37(36):2768-801, 2016
48. Solinski A., Klusmeier E. et al, “Centile Curves for Velocity-Time Integral Times Heart Rate as a Function of Ventricular Length: The Use of Minute Distance Is Advantageous to Enhance Clinical Reliability in Children”. *J American Society of Echocardiography*, 31(1):105-12.e2, 2018
49. Porter T. R., Shillcutt S. K. et al, „ASE Guidelines and Standards. Guidelines for the Use of Echocardiography as a Monitor for Therapeutic Intervention in Adults: A Report from the American Society of Echocardiography”. *J American Society of Echocardiography*, 28(1): 40-56, 2015
50. Navaratnam M., Punn R. et al, „LVOT-VTI is a Useful Indicator of Low Ventricular Function in Young Patients”. *Pediatr Cardiol*, 38(6):1148-54, 2017
51. Van der Hulst A. E., Delgado V. et al, „Tissue Doppler imaging in the left ventricle and right ventricle in healthy children: normal age-related peak systolic velocities, timings, and time differences”. *Eur J Echocardiogr*, 12(12):953-60, 2011
52. Koestenberger M., Ravekes W. et al, „Right ventricular function in infants, children and adolescents: reference values of the tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) in 640 healthy patients and calculation of z score values”. *J Am Soc Echocardiogr*, 22(6):715-9, 2009
53. Koestenberger M., Nagel B. et al, „Reference values of tricuspid annular peak systolic velocity in healthy pediatric patients, calculation of z score, and comparison to tricuspid annular plane systolic excursion”. *Am J Cardiol*, 109(1):116-21, 2012
54. Ganame J., Claus P. et al, „Myocardial dysfunction late after low-dose anthracycline treatment in asymptomatic pediatric patients”. *J Am Soc Echocardiogr*, 20:1351– 8,2007

55. H., Shalaby L. et al, „Early Ventricular Dysfunction After Anthracycline Chemotherapy in Children”. *Pediatr Cardiol*, 37(3):537-44, 2016
56. Kocaba A., Kardelen F. et al, „Assessment of early-onset chronic progressive anthracycline cardiotoxicity in children: different response patterns of right and left ventricles”. *Pediatr Cardiol*, 35(1):82-8, 2014
57. Ya ci Küpeli B., Varan A. et al, „Tissue Doppler and myocardial deformation imaging to detect myocardial dysfunction in pediatric cancer patients treated with high doses of anthracyclines”. *Asia Pacific J Clin Oncol*, 8(4):368-74, 2012
58. Nagueh S. F., Smiseth O. A. et al, „Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging”. *European Heart Journal - Cardiovascular Imaging*, 17(12):1321–60, 2016
59. Oztarhan K., Guler S. et al, „The value of echocardiography versus cardiac troponin i levels in the early detection of anthracycline cardiotoxicity in childhood acute leukemia: Prospective evaluation of a 7-year-long clinical follow-up”. *Pediatric Hematology and Oncology*, 28(5):380-94, 2011

## LUCRĂRI REALIZATE PE DURATA STUDIULUI

### 1. Lucrări cu rezultate din tema doctoratului

#### a) Articole publicate în reviste indexate:

**Letiția Elena Radu**, Andra Beldiman et al, „The use of biomarkers in detecting subclinical cardiotoxicity in doxorubicin-based treatment for paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia”. *Revista Română de Medicină de Laborator*, 25(2): 157-64, 2017, ISSN 1841-6624

**Letitia-Elena Radu**, Ioana Adriana Ghiorghiu et al, “Right ventricular systolic longitudinal function decreases early after low dose doxorubicin treatment in children and is linked to the decrease in left ventricle ejection fraction”. *Romanian Journal of Cardiology*, 28(2):174-81, 2018, ISSN 1583-2996

#### b) Abstracte ale comunicărilor orale sau posterelor prezentate în cadrul unor manifestări științifice de specialitate:

**Letiția Radu**, Ioana Ghiorghiu et al, “Evaluarea cardiotoxicității în cadrul protocolului BFM-ALL 2002 la pacienții pediatrici cu leucemie acută limfoblastică”. Conferința Națională a Societății Române de Hematologie și Oncologie Pediatrică, București, 23-25 Aprilie 2015

**Letiția-Elena Radu**, Ioana Ghiorghiu et al, “Evaluarea cardiotoxicității la pacienții pediatrici cu leucemie acută limfoblastică -rezultate preliminare la 1 an de la începerea studiului prospectiv”. Conferința Națională de Pediatrie, București, 30 Martie – 2 Aprilie 2016, ISBN 978-973-162-159-3

**Letiția-Elena Radu**, Ioana Ghiorghiu et al, "Disfuncția cardiacă subclinică la pacienții pediatrici cu leucemie acută limfoblastică". *Congresul Național de Hematologie Clinică și Medicină Transfuzională*, Sinaia, 5-9 Octombrie 2016/ *Documenta Haematologica*, 2015, Supliment, vol XXXV, nr 3-4, pg 47-48, ISSN 1582-196X

**Radu Letiția-Elena**, Ghiorghiu Ioana et al, „Comparative methods of cardiotoxicity evaluation in ALL patients – Preliminary results of prospective study”. 12th Regional Central-Eastern/South-Eastern European Pediatric Oncohematology Meeting. 20th Romanian-Hungarian Pediatric Oncology Meeting. CEPOETA Workshop, Cluj-Napoca, 28-30 Septembrie 2017

**Radu Letiția**, Ghiorghiu Ioana et al, „Efectele tratamentului cu antracicline la nivel cardiac în leucemia acut limfoblastic la copil”. Conferința Național de Hematologie Clinic și Medicină Transfuzională, Sinaia, 4-8 Octombrie 2017

**Radu Letiția**, Ghiorghiu Ioana et al, „Right ventricle systolic longitudinal function decreases early after low-dose doxorubicin treatment in children and is correlated to the decrease in left ventricle ejection fraction”. 21st Annual Congress Euroecho Imaging, Lisabona, 6-9 Decembrie 2017/ P786: European Heart Journal-Cardiovascular Imaging, vol 18, suppl 3:iii182–iii219, ISSN 2047-2404

**Radu Letiția-Elena**, Ghiorghiu Ioana Adriana et al, „Ecocardiografia convențională și Tissue Doppler Imaging în leucemia acut limfoblastic”. Conferința Național de Pediatrie, București, 21-24 Martie 2018/ Romanian Journal of Pediatrics, vol LXVII supliment, 2018, p 130, ISSN 1454-0398

**Letiția-Elena Radu**, Ioana Adriana Ghiorghiu et al, “Evaluation of left ventricular systolic function in paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia” – Young Investigator Award, Congresul UMF Carol Davila, București, 7-9 Iunie 2018

2. Lucrări cu teme conexe

a) Articole publicate în reviste indexate:

Florentina Gâtea, Eugenia Dumitra Teodor, Ana-Maria Seciu, **Letiția-Elena Radu**, „Monosaccharides Composition and Cytostatic Activity of Polysaccharide fraction of *Phemeranthus Confertiflorus* L”. Farmacia, 2017, 65(5): 796-801, ISSN 0014-8237

b) Abstracte selective ale comunicărilor orale sau posterelor prezentate în cadrul unor manifestări științifice de specialitate:

**Radu Letiția Elena**, Dragomir Mihaela et al, „Probleme particulare de monitorizare a transcriptului TEL-AML1 în leucemia acut limfoblastic la copil”. Conferința Național de Pediatrie 2015, București, 1-4 Aprilie 2015, ISBN 978-973-162-139-5

**Radu Letiția-Elena**, Bic Ana-Maria et al, „Extranodal marginal zone lymphoma secondary to Sjogren syndrome, an extremely rare association in children”. The 8th Europediatrics Congress, The 13th National Congress of Romanian Pediatrics Society, București, 7-10 Iunie 2017/ Archives of Disease in Childhood, vol 102, supliment 2 (online), ISSN 0003-9888

**Radu Letiția-Elena**, Safta Mihaela et al, „Anomalii de coagulare în timpul tratamentului de inducție la pacienții pediatrici cu leucemie acut limfoblastic - manifestări clinice și de laborator”. Conferința Național de Hemostază și Tromboză, București, 2-4 Noiembrie 2017

**Radu Letiția**, Safta Mihaela et al, „Panelul de coagulare al pacienților cu leucemie acut limfoblastic”. Conferința Național de Pediatrie, București, 21-24 Martie 2018/ Romanian Journal of Pediatrics, vol LXVII supliment, 2018, p 131, ISSN 1454-0398

**Radu Letiția**, Safta Mihaela et al, „Tratamentul de prim linie al limfomului malign non-hodgkinian anaplazic”. Conferința Național de Pediatrie, București, 21-24 Martie 2018/ Romanian Journal of Pediatrics, vol LXVII supliment, 2018, p 131, ISSN 1454-0398