

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ SI FARMACIE
“CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI**

**ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. FICA SIMONA

Student-doctorand:

Dr. ȘAPERA (CIMA) LUMINIȚA-NICOLETA

BUCUREȘTI 2018

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ SI FARMACIE
“CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI**

**ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**

**PREVALENȚA ENDOCRINOPATIILOR
LA PACIENȚII CARE AU EFECTUAT
TRANSPLANT DE CELULE STEM
HEMATOPOIETICE ÎN COPILĂRIE**

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. FICA SIMONA**

**Student-doctorand:
Dr. ȘAPERA (CIMA) LUMINIȚA-NICOLETA**

BUCUREȘTI 2018

CUPRINS:

1. INTRODUCERE	1
2. METODOLOGIE GENERALĂ.....	3
3. CARACTERISTICILE GENERALE ALE COHORTEI STUDIAȚE.....	4
4. <i>STUDIUL 1. DISFUNȚIA TIROIDIANĂ LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE.</i>	6
5. <i>STUDIUL 2. CREȘTEREA ȘI DEZVOLTAREA PUBERTARĂ LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE.</i>	12
5.1 Evaluarea efectului TCSH asupra procesului de creștere liniară la pacienții care au efectuat condiționare exclusiv cu chimioterapice	12
5.2. Evaluarea efectului TCSH asupra dezvoltării pubertare la pacienții care au efectuat condiționare exclusiv cu chimioterapice	18
6. <i>STUDIUL 3. DISFUNȚIA GONADICA FEMININĂ ȘI RISCUL DE INFERTILITATE LA SUPRAVIEȚUITOARELE TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE.</i>	20
7. <i>STUDIUL 4. DISFUNȚIA GONADICA MASCULINĂ ȘI RISCUL DE INFERTILITATE LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE.</i>	23
8. <i>STUDIUL 5. INSULINOREZISTENȚA, SINDROMUL METABOLIC ȘI RISCUL DE DIABET ZAHARAT LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE.</i>	25
9. <i>STUDIUL 6. AFECTAREA OSOASĂ LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE.</i>	34
10. <i>STUDIUL 7. AFECTAREA SUPRARENALIANĂ LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE.</i>	39
11. DISCUȚII ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI.....	40
12. CONCLUZII.....	47
13. FINANȚARE.....	47
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	48

1. INTRODUCERE

Transplantul de celule stem hematopoietice (TCSH) este considerat a fi un tratament curativ pentru o varietate de boli hematologice și nonhematologice. Ca urmare a îmbunătățirii modalităților de susținere a pacienților în perioada posttransplant și ameliorării tratamentului complicațiilor acute, supraviețuirea după TCSH a crescut progresiv în ultimele două decenii. De asemenea, indicațiile pentru efectuarea TCSH s-au extins la o paletă largă de patologii și aproape toți pacienții au capacitatea de a găsi donatori alogeni adecvați prin înființarea registrelor naționale ale donatorilor. Toate aceste condiții actuale au contribuit la creșterea numărului de supraviețuitori ai TCSH, estimată la jumătate de milion în întreagă lume (Inamoto & Lee, 2017).

Deși s-a observat că pacienții care nu prezintă recidivă la doi sau cinci ani după transplant au o **rată de supraviețuire mai mare de 80%** (Martin et al., 2010, Wingard et al., 2011), se pare că atât supraviețuitorii TCSH autolog (auto-TCSH), cât și cei ai TCSH alogenic (alo-TCSH), înregistrează **rate de mortalitate mai mari decât populația generală** (Inamoto & Lee, 2017, Baker et al., 2011). Speranța de viață în rândul supraviețuitorilor la 5 ani după TCSH a rămas cu 30% mai mică comparativ cu populația generală, indiferent de vârsta pacienților la efectuarea procedurii de transplant și durata de urmărire (Inamoto & Lee, 2017, Baker et al., 2011).

În timp ce problema mortalității premature este o preocupare evidentă, **impactul global și cumulativ al efectelor tardive asupra supraviețuitorilor** este, de asemenea, alarmant. Deși TCSH constituie un remediu atât pentru bolile maligne, cât și pentru cele nemaligne și este în mare parte singura opțiune viabilă pentru vindecarea bolii subiacente, acest remediu vine cu un preț. **Chimioterapia în doze mari și/sau radioterapia** utilizate în regimul de condiționare pentru TCSH, precum și **complicațiile legate de transplant** sunt asociate cu o toxicitate care poate afecta toate organele și sistemele și, implicit, starea de sănătate pe termen lung a acestor pacienți. Majoritatea copiilor transplantați pentru malignitate au primit tratament pentru boala de bază înainte de efectuarea transplantului. Adăugarea regimului de condiționare pentru TCSH și a morbidității legate de transplant cresc riscul pentru efecte tardive în comparație cu copiii tratați pentru cancer fără TCSH.

Numeroase studii au demonstrat că supraviețuitorii TCSH prezintă **complicații tardive semnificative** (Sun et al., 2010, Khera et al., 2012, Majhail & Rizzo, 2012, Majhail et al., 2013) care **afectează negativ morbiditatea, mortalitatea și calitatea vieții acestora (QoL)**. Aceste efecte adverse pe termen lung sunt potențial reversibile, iar uneori pot fi chiar prevenite. Bresters și colab. au evidențiat într-un studiu retrospectiv care a inclus 162 pacienți pediatrici transplantați pentru boli maligne hemato-oncologice, boli hematologice nemaligne, boli imunologice sau erori înnașcute de metabolism faptul că 93.2% dintre supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie au prezentat cel puțin un efect tardiv după o perioadă medie de urmărire de numai 7.2 ani (Bresters et al., 2010). Nouăzeci și patru de supraviețuitori (58.0%) au avut 1-3 efecte tardive, 51 supraviețuitori (31.5%) au avut 4-6 efecte târzii, iar 6 supraviețuitori (3.7%) au avut cel puțin 7 efecte tardive, în timp ce 9.3% au prezentat boala GCG cronică. **Complicațiile cu cea mai mare incidență cumulativă la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie** au fost efectele tardive pulmonare, endocrine, în special disfuncția gonadică/infertilitate, afectarea creșterii liniare și hipotiroidismul și efectele tardive dentare (Brester et al., 2010).

În ceea ce privește **complicațiile endocrine**, s-a constatat că acestea sunt **prezente la mai mult de jumătate din pacienții transplantați**, fiind printre cele mai frecvente complicații la distanță, întrucât glandele endocrine sunt extrem de sensibile la injuria determinată de chimioterapie și/sau radioterapie (Chemaitilly & Cohen, 2017, Gokcebay et al., 2017, Orio et al., 2014, Brignardello, 2013). Anomaliile endocrine care apar la supraviețuitorii TCSH sunt **consecința regimului de condiționare și tratamentului afecțiunii de bază**, dar pot fi și o consecință a **bolii GCG cronice**. Disfuncțiile tiroidiene, tulburările de creștere liniară și dezvoltare pubertară, insuficiența ovariană, scăderea densității minerale osoase, insulinorezistența și diabetul zaharat secundar sunt printre cele mai frecvente complicații endocrine, impunând monitorizarea endocrină pe tot parcursul vieții a acestor pacienți (Chemaitilly & Cohen, 2017, Inamoto & Lee, 2017).

Direcția de cercetare și obiectivele tezei de doctorat

Această lucrare a urmărit să stabilească **prevalența complicațiilor endocrine și metabolice** (tulburări de creștere și sexualizare, infertilitate, disfuncții tiroidiene, insulinorezistență, sindrom metabolic, afectare osoasă) la pacienții care efectuează TCSH în copilărie ca tratament curativ pentru diverse neoplazii hematologice (leucemie acută mieloblastică, leucemie acută limfoblastică, limfom Hodgkin și non-Hodgkin)/nonhematologice (neuroblastom, sarcom Ewing) sau alte afecțiuni care necesită TCSH (betatalasemie majoră, aplazie medulară). De asemenea, a încercat, prin analiza interacțiunii între parametrii clinici, biochimici și hormonalți să contribuie la o mai bună înțelegere a rolului pe care îl au diferitele terapii antineoplazice, regimul de condiționare pretransplant și prezența GCG acute/cronice în determinismul anumitor complicații la distanță la supraviețuitorii TCSH. Acest demers s-a realizat pe mai multe direcții de cercetare care s-au concretizat în câteva studii:

➤ În primul studiu am urmărit **evaluarea frecvenței anomaliilor tiroidiene, morfologice și funcționale**, la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un **regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie**, compararea frecvenței complicațiilor tiroidiene între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor și identificarea factorilor care se asociază cu apariția complicațiilor tiroidiene în rândul supraviețuitorilor TCSH

➤ Al doilea studiu a avut drept obiectiv **identificarea frecvenței hipostaturalității și tulburărilor de dezvoltare pubertară (pubertate întârziată/oprită în evoluție)** la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat **condiționare numai cu chimioterapie**, compararea frecvenței hipostaturalității și tulburărilor de sexualizare între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul control și precizarea factorilor care se asociază cu prezența acestor complicații la pacienții transplantați

➤ Al treilea și al patrulea studiu s-au axat pe **descrierea complicațiilor legate de funcția gonadică care apar la supraviețuitorii TCSH din copilărie/adolescență după încheierea pubertății** și menționarea metodelor de preservare a funcției gonadice și, posibil, a fertilității care se pot implementa în funcție de statusul dezvoltării pubertare a pacientului la momentul efectuării procedurii de transplant

➤ Al cincilea studiu a urmărit **evaluarea frecvenței sindromului metabolic/componențelor sale** la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un **regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie**, identificarea prezenței **modificărilor de compoziție corporală** în această populație, analizarea relației dintre tipul

transplantului (autolog/alogenic) și parametrii densitometrici ce reflectă modificările compoziției corporale la pacienții transplantați

➤ Al șaselea studiu și-a propus *descrierea modificărilor osoase* care apar la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un *regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie* și identificarea factorilor care se asociază cu aceste complicații la pacienții transplantați

➤ Ultimul studiu s-a axat pe *descrierea funcției corticosuprarenaliene* la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie

Prezentul studiu este unul de tip *transversal* și *observațional*, neefectuându-se nici o manevră terapeutică invazivă sau neinvazivă.

Importanța prezentei tezei de doctorat

Acest studiu este foarte important, în special prin componenta sa epidemiologică, având în vedere faptul că în prezent nu există date în țara noastră referitoare la TCSH efectuat în copilărie. Sperăm că va sta la bază conceperii unei strategii de identificare și terapie precoce a complicațiilor endocrine la distanță, având drept scop o îmbunătățire a QoL și o scădere a morbidității/mortalității la acești pacienți.

2. MATERIAL SI METODA

În teza de față, am încercat să caracterizez amănunțit din punct de vedere endocrinometabolic cât mai mulți din supraviețuitorii TCSH din copilărie/adolescență efectuat în Departamentul de Transplant Medular Pediatric de la I.C. Fundeni sau care se află în urmărire în acest departament. Pacienții incluși în studiu sunt supraviețuitorii diferitelor afecțiuni hematologice (neoplazii hematologice, betatalasemie majoră, aplazie medulară) sau neoplazii non-hematologice (neuroblastom, sarcom Ewing) care au efectuat TCSH înainte de 18 ani, iar evaluarea s-a efectuat în secția de Endocrinologie, Diabet Zaharat, Nutriție și Boli Metabolice a Spitalului Univesitar de Urgență Elias. Protocolul studiului a fost aprobat de Comisia de Etică a UMF „Carol Davila” și a SUU Elias. Pacienții/apartinătorii legali în cazul pacienților minori au semnat un *consimțământ informat*.

Pacienții transplantați au fost comparați cu un lot martor alcătuit din copii clinic sănătoși sau copii care au efectuat testul de toleranță la glucoză (TTGO) pentru screeningul familial al diabetului zaharat (DZ)/hiperglicemie găsită incidental.

Analiza statistică s-a efectuat cu ajutorul softului SPSS pentru Windows, versiunea 20 (SPSS Inc. Chicago IL). Testarea distribuției normale a fost realizată prin testele Shapiro-Wilk și Kolmogorov-Smirnov. Variabilele continue cu distribuție normală (parametrică) au fost prezentate ca medii±deviație standard (DS), în timp ce variabilele continue cu distribuție nonparametrică au fost prezentate ca mediane (interval interquartile, IQR) și au fost transformate logaritmice înainte de analiza de regresie simplă sau exprimarea grafică. Variabilele categoricale au fost prezentate ca valori procentuale. Compararea variabilelor continue a fost efectuată în funcție de tipul distribuției acestora, cu ajutorul testelor parametrice (testul independent student t, pentru compararea a două eșantioane independente, testul paired-t pentru compararea aceluiași grup de pacienți înainte/după efectuarea TCSH, analiza de varianță unifactorială One Way ANOVA pentru compararea mai multor grupuri), respectiv

non-parametrice (testul Mann-Whitney U pentru compararea a 2 grupuri, Kruskal-Wallis Oneway ANOVA pentru compararea a mai mult de 2 grupuri). Pentru compararea procentelor variabilelor categoricale am utilizat testul chi pătrat (χ^2) și testul exact Fisher (F) în grupuri mari, respectiv mici. Relațiile dintre variabilele continue au fost analizate prin coeficientul de corelație Pearson în cazul variabilelor cu distribuție normală, respectiv Spearman's Rho pentru cele non-parametrice și au fost exprimate prin coeficientul de corelație și valoarea p. Regresia liniară simplă a fost folosită pentru analizarea relației dintre două variabile continue, rezultatul fiind raportat prin coeficientul de regresie și valoarea p. Pentru reprezentarea grafică a corelației am utilizat regresia liniară cu estimarea curbei. Analiza de regresie polinomială a fost utilizată pentru a determina influența diferiților factori predictori asupra variabilelor continue de interes. Analiza de regresie Cox a fost utilizată pentru identificarea predictorilor independenți ai anumitor variabile cantitative, iar rezultatul a fost raportat ca hazard ratio (HR), CI 95% și valoarea p a variabilei predictor. Am efectuat analiza de supraviețuire Kaplan-Meier pentru a ilustra supraviețuirea pacienților transplantați.

3. Caracteristicile generale ale populației studiate

De la înființarea Departamentului de Transplant Medular Pediatric de la I.C. Fundeni până în prezent au fost efectuate 89 proceduri de TCSH, 37 (41.6%) TCSH alogen, 49 (55.1%) TCSH autolog și 3 (3.4%) intervenții de dublu TCSH (haplo/allo-TCSH). Mediana vârstei la efectuarea TCSH a fost 9.91 ani (interval 0.58-18.91 ani), iar mediana perioadei maxime de urmărire post-transplant 1.64 ani (interval 0-12.42 ani). Caracteristicile cohortei pacienților care au efectuat TCSH în I.C. Fundeni între 2005-2017 cu vârsta între 0-19 ani la momentul efectuării TCSH sunt redată în Figura 3.1.

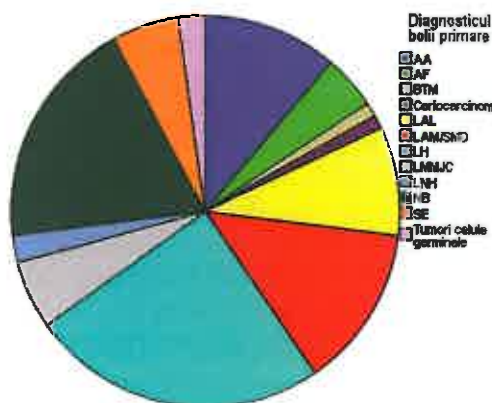


Figura 3.1. Segregarea pacienților în funcție de diagnosticul bolii primare

În lotul de 89 pacienți transplantați la I.C. Fundeni, 49 cu auto-TCSH, 37 cu TCSH alogen și 3 pacienți cu haplo/allo-TCSH s-au înregistrat 35 decese (39.3%) în total, 16 decese (40%) în rândul pacienților cu alogrefare, respectiv 19 decese (38.8%) în rândul pacienților cu autogrefare, **supraviețuirea post-TCSH autolog fiind 61.2%, respectiv 60% pentru cei cu TCSH alogen** (Figura 3.2).

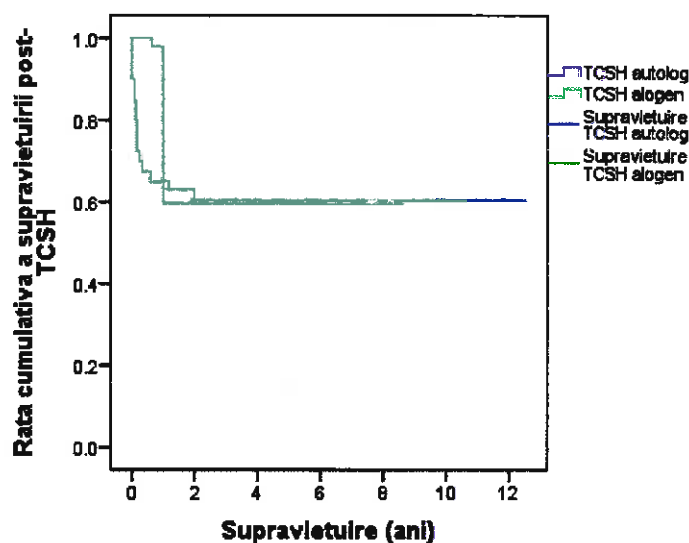


Figura 3.2. Rata cumulativă a supraviețuirii post-transplant în funcție de tipul TCSH

Cea mai mare rată de mortalitate s-a înregistrat la pacienții care au efectuat TCSH la **vârstă 0-5 ani**. Aceștia au prezentat o rată a mortalității de 63.6% (14/22) față de 45.9% (11/24) la cei cu vârstă între 5-10 ani la TCSH, respectiv 23.2% (10/43) la pacienții cu vârstă >10 ani. După stratificarea pacienților în funcție de tipul TCSH efectuat, s-a menținut aceeași tendință de scădere a ratei mortalității la pacienții care au fost transplantați la vârste mai mari. Astfel, pacienții care au efectuat TCSH autolog între 0-5 ani au prezentat o mortalitate de 77.8% (7/9), cei care au fost transplantați între 5-10 ani au înregistrat o mortalitate de 66.7% (6/9), în timp ce pacienții cu vârste >10 ani la auto-TCSH au avut o rată a mortalității de 19.3% (6/31). La pacienții care au efectuat TCSH alogen, cea mai mare rată a mortalității a fost de asemenea înregistrată de cei mai tineri pacienți (53.8%, 7/13 la 0-5 ani vs 33.3% cei cu vârste la TCSH de 5-10 ani, respectiv pacienții mai mari de 10 ani). În ceea ce privește **diagnosticul bolii primare**, cea mai mare rată de mortalitate în rândul pacienților cu **autogrefare** au înregistrat-o pacienții cu **neuroblastom** (HR 10.88, 95% IC 2.3-49.7, $p=0.002$) și cei care au efectuat TCSH pentru **tumori cu celule germinale** (HR 10.78, 95% IC 1.45-79.6, $p=0.020$), respectiv pentru **sarcom Ewing** (HR 8.85, 95% IC 1.45-79.6, $p=0.019$). Nu am observat diferențe semnificative statistice ale ratei mortalității la pacienții cu alogrefare în funcție de vârsta la efectuarea TCSH, sexul pacienților, anul TCSH sau boala de fond (Tabelul III.1).

Tabelul III.1. Asocierile între caracteristicile pacienților TCSH și rata mortalității

Variabila	TCSH autolog (N=49)			TCSH alogen/dublu (N=40)		
	HR	95% IC	P	HR	95% IC	P
Vârsta la TCSH						
0-5 ani	4.91	0.1-14.7	0.004	2.53	0.6-9.8	NS
5-10 ani	3.69	1.1-11.5	0.024	0.86	0.1-3.8	NS
>10 ani	1			1		
Sex						
Masculin	1.55	0.6-3.8	NS	1.06	0.4-2.8	NS

Feminin	1			1		
Anul TCSH						
2005-2009	0	0		0	0	
2010-2013	1.3	0.5-3.2	NS	1.2	0.4-3.3	NS
2014-2017	1			1		
Boala fond						
LAL	-	-	-	1.5	0.3-6	NS
LAM/SMD	-	-	-	0.56	0.12-2.5	NS
LMMJC	-	-	-	2.81	0.7-11.3	NS
LH/LNH	1			-	-	-
NB	10.88	2.3-49.7	0.002	-	-	-
SE	8.75	1.43-53.3	0.019	-	-	-
Alte tumori	10.78	1.45-79.6	0.020	-	-	-
BTM	-	-	-	0	0	
AF	-	-	-	0.52	0.05-4.7	NS
AA	-	-	-	1		
Donator si compatibilitate						
Inrudit compatibil	-	-	-	1.14	0.14-9.3	NS
Inrudit parțial compatibil	-	-	-	0	0	
Neînruudit compatibil	-	-	-	1.34	0.15-12.03	NS
Neînruudit parțial compatibil	-	-	-	1.03	0.65-16.5	NS
Haplo/neînruudit	-	-	-	1		

4. STUDIUL 1. DISFUNCTIA TIROIDIANĂ LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE

4.1. OBIECTIVE

1. Evaluarea *frecvenței anomaliilor tiroidiene, morfologice și funcționale, la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență* care au urmat un *regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie*
2. Identificarea factorilor care se asociază cu apariția complicațiilor tiroidiene (CT) în rândul supraviețuitorilor TCSH care au efectuat condiționare doar cu chimioterapie în doză mare
3. Compararea frecvenței CT între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor

4.2. MATERIAL ȘI METODĂ

Am evaluat pentru a fi incluși în studiu 29 de supraviețuitori ai TCSH efectuat în copilărie/adolescență care s-au prezentat în Secția de Endocrinologie a SUU Elias. **Criterii de includere** în studiu: vârsta la efectuarea procedurii de TCSH mai mică de 18 ani și supraviețuirea post-TCSH mai mare de un an. **Criterii de excludere** din studiu: pacienții care au efectuat TBI în regimul de condiționare (n=1). Pentru analiza comparativă am utilizat un **lot martor** constituit din 16 copii clinic sănătoși, potriviți pentru vârstă și sex cu participanții transplantați.

Funcția tiroidiană a fost evaluată prin dozarea TSH, FT4, TT3, iar autoimunitatea tiroidiană a fost investigată prin dozarea nivelului seric al anticorpilor antitiroidieni (ATPO, ATA și în unele cazuri TRAb). A fost efectuată de asemenea ecografia tiroidiană pentru decelarea eventualelor modificări de morfologie și vascularizație și a fost calculat volumul tiroidian. Volumul tiroidian a fost exprimat ca scor al DS, întrucât variază în funcție de vârstă și sex (Aydiner et al., 2015).

Procedura de TCSH

Regimurile de condiționare au fost alese în funcție de diagnostic și protocoalele active la momentul transplantului și au inclus regimuri pe bază de *Bu* (n=10), regimuri pe bază de *Flu/Cy* (n=10) și *BEAM* (n=9).

Definiții

Hipotiroidismul primar a fost definit ca nivel plasmatic crescut al TSH-ului concomitent cu FT4 normal (hipotiroidism subclinic) sau scăzut (hipotiroidism clinic manifest). **Hipertiroidismul** a fost definit ca TSH plasmatic scăzut și FT4/TT3 crescut (hipertiroidism clinic manifest) sau valori normale ale hormonilor tiroidieni (hipertiroidism subclinic). **Hipotiroidismul central** a fost luat în considerare în cazul în care concentrația plasmatică a FT4 a fost mai mică decât valorile normale, iar TSH-ul normal/scăzut. **Tiroidită cronică** a fost definită pe baza aspectului ecografic intens neomogen, hipoecogen, în prezența titrurilor ridicate ale anticorpilor antitiroidieni.

Au fost definiți și analizați ca posibili predictorii pentru complicațiile tiroidiene: vârsta la efectuarea TCSH < 10 ani, sexul, tipul transplantului (autolog/alogen), regimul de condiționare, tipul donorului (înrudit/neînrudit) și sursa celulelor stem hematopoietice, tipul bolii primare, prezența bolii GCG, istoricul de iradiere cervicală și perioada mai mare de urmărire a supraviețuitorilor TCSH.

ANALIZA STATISTICĂ

Analiza statistică s-a efectuat cu ajutorul softului SPSS pentru Windows, versiunea 20 (SPSS Inc. Chicago IL).

4.3. REZULTATE

1. Caracteristicile generale ale populației studiate

Un total de 28 supraviețuitori ai TCSH efectuat în copilărie au îndeplinit criteriile de includere pentru a fi incluși în prezentul studiu. Repartiția pe sexe a fost similară, iar media vârstei la efectuarea procedurii de transplant a fost 10.03 ± 4.55 ani. Un număr de 21 pacienți au fost transplantați pentru malignități hematologice/non-hematologice, iar 7 pentru tulburări hematologice nonmaligne. Sursele celulelor hematopoietice la pacienții cu TCSH alogen au fost: măduva osoasă (n=8), sângele periferic (n=8), măduva osoasă și sângele periferic (n=1). Durata medie de urmărire post-TCSH a pacienților incluși în studiu a fost 3.34 ani, cu o mediană de 2.75 ani (IQR 3.14).

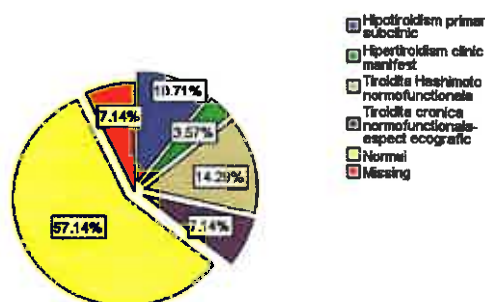


Figura 4.1. Complicațiile tiroidiene identificate la supraviețuitorii TCSH din copilărie din studiu

2. Evaluarea frecvenței complicațiilor tiroidiene la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie

În lotul nostru de 28 supraviețuitori ai TCSH care au urmat condiționare bazată exclusiv pe chimioterapie în doză mare am identificat **10 pacienți (35.71%) cu complicații tiroidiene**, după cum urmează: 4 pacienți cu disfuncție tiroidiană, dintre care 3 pacienți (10.71%) au prezentat hipotiroidism subclinic și 1 pacient (3.57%) hipertiroidism clinic manifest (Tabel IV.1), 4 subiecți (14.29%) au fost diagnosticați cu tiroidită Hashimoto normofuncțională și 2 pacienți (7.14%) cu aspect ecografic intens neomogen, sugestiv de tiroidită cronică, dar cu nivel normal al titrului de anticorpi antitiroidieni (Figura 4.1).

Tabel IV.1. Caracteristicile pacienților care au prezentat disfuncție tiroidiană în studiul nostru

DT	Sex	Vârsta la TCSH	Boala Fond	Tipul TCSH	Timp TCSH -dg	Regim condiționare	GCG	Radio-terapie cervicală	Simptome	Profilul hormonal
HT	M	10	AF	Allo	3.5	Flu/Cy/ATZ	Da	-	Diaforeză Scădere ponderală	TSH <0.004 mUI/L FT4 = 4.44 ng/dl TPOAb=324 IU/ml TRAb = 28 IU/ml
hT	F	12.83	LH	Auto	3.91	BEAM	-	Da	-	TSH=8.06 mUI/L FT4 = 1.11 ng/dl TPOAb <10 IU/ml ATA-NA
hT	M	6.5	LH	Auto	7	BEAM	-	-	-	TSH=8.60 mUI/L FT4 = 0.9 ng/dl TPOAb<10 IU/ml ATA-NA
hT	F	16.83	LH	Auto	1.91	BEAM	-	Da	-	TSH=5.33 mUI/L FT4 = 0.96 ng/dl TPOAb=36.8 IU/ml ATA=37 IU/ml

Legendă: DT, disfuncție tiroidiană, HT, hipertiroidie, hT, hipotiroidism primar, TCSH, transplant celule stem hematopoietice, GCG, boală grefă-contra-gazdă, AF, anemie Fanconi, LH, limfom Hodgkin.

Trei din cei patru pacienți care au fost diagnosticați cu **tiroidită Hashimoto normofuncțională** au fost supraviețuitori ai TCSH alogen și au primit condiționare cu diferiți agenți alchilanți. Vârsta medie la efectuarea TCSH a acestor pacienți a fost de 8.2 ± 2.35 ani (95% IC 0.7-15.71) și au fost diagnosticați cu afecțiunea tiroidiană după o perioadă medie de urmărire post-TCSH de 4.48 ± 0.87 ani (95% IC 1.69-7.27). Caracteristicile pacienților cu tiroidită autoimună normofuncțională, incluzând cei 2 pacienți care au prezentat numai aspect ecografic sugestiv de tiroidită cronică, dar au avut titruri serice normale ale autoanticorpilor antitiroidieni, sunt prezentate în Tabelul IV.2.

Tabelul IV.2. Caracteristicile pacienților cu tiroidită autoimună normofuncțională

Sex	Vârsta la TCSH	Boala fond	Tipul TCSH	Timp TCSH -dg	Regim condiționare	Profilaxia GCG	GCG	Profilul hormonal	Modificări ecografice de TC
F	11.75	B-TM	Allo	5.2	Flu/Thio/Treo	CsA/MTx	Da	TSH=1.6 mUI/L FT4=1.1 ng/dl ATPO=810 IU/ml ATA-NA	Da
F	12.75	LH	Auto	5.83	BEAM	-	-	TSH=2.09 mUI/L FT4=1.16 ng/dl ATPO=118 IU/ml	Da
M	4.83	AA	Allo	5	Cy/Flu/ATG	CsA/MTx	Nu	TSH=0.8 mUI/L FT4=1.15 ng/dl ATPO=46.5 IU/ml ATA-NA	Da
F	3.5	LAM-M5	Allo	1.91	Bu/Cy/ATG	CsA/MTx/ATG	Da	TSH=3.11 mUI/L FT4=1.11 ng/dl ATA=44.6 IU/ml ATPO=10 IU/ml	Da
M	17.16	LH	Auto	2	BEAM	-	-	TSH=2.06 mUI/L FT4=1.16 ng/dl ATPO=10 IU/ml ATA-NA	Da
F	9	LAM-M6	Allo	3.42	Bu/Cy	CsA/MTx	Da	TSH=4.13 mUI/L FT4- NA ATPO=10 IU/ml ATA-NA	Da

Legendă: TC, tiroidită cronică, B-TM, beta-talasemie majoră, LH, limfom Hodgkin, AA, anemie aplastică, LAM, leucemie acută mieloblastică

3. Identificarea factorilor care se asociază cu apariția complicațiilor tiroidiene în rândul supraviețuitorilor TCSH care au efectuat condiționare doar cu chimioterapie în doză mare

Prezența complicațiilor tiroidiene tardive la pacienții cu TCSH nu a fost asociată în studiul nostru cu *sexul* pacientului ($p=0.481$) sau *vârsta mai mică de 10 ani la transplant* ($p=0.433$). În schimb, *tipul bolii primare*, *regimul de condiționare* și *tipul transplantului* au influențat prezența complicațiilor tiroidiene la supraviețuitorii TCSH din studiul nostru. Astfel, pacienții

transplantați pentru LH au prezentat un risc mai mare de a dezvolta o complicație tiroidiană în comparație cu pacienții cu boli hematologice non-maligne și cu pacienții cu leucemie (55.6% vs 42.9% și respectiv 20%, $p=0.04$). De asemenea, condiționarea BEAM comparativ cu schemele bazate pe Bu și regimurile pe bază de Flu (55.6% față de 20% și respectiv 33.3%, $p=0.013$) și grefarea autologă în comparație cu cea alogenică (45.5% vs 29.4%, $p=0.046$) au fost asociate cu o prevalență mai mare a anomaliilor tiroidiene în studiul nostru.

Expunerea la radiații în regiunea laterocervicală și mediastinală ca parte integrantă a tratamentului bolii primare nu a fost asociată cu prezența complicațiilor tiroidiene la distanță la supraviețuitorii TCSH care au efectuat condiționare bazată exclusiv pe chimioterapie ($p=0.128$). În plus, nici **prezența bolii GCG** la pacienții care au efectuat TCSH alogen ($p=0.071$) sau **perioada de timp post-transplant mai mare de 5 ani** ($p=0.147$) nu s-a asociat cu o frecvență mai mare a complicațiilor tiroidiene în cohorta noastră.

Analizele de regresie simplă au indicat faptul că **vârsta la efectuarea transplantului de celule stem hematopoietice** s-a asociat semnificativ cu **nivelul seric al TT3** ($r=-0.624$, $r^2=0.389$, $p=0.001$), iar **titrul seric al anticorpilor tiroidieni** cu **scorul z al volumului tiroidian** ($r=0.610$, $r^2=0.372$, $p=0.002$). În schimb, nu am găsit nici o corelație semnificativă statistic între vârsta la transplant și nivelul seric al TSH-ului ($p=0.267$), FT4 ($p=0.517$) sau scorul z al volumului tiroidian ($p=0.936$).

4. Compararea frecvenței complicațiilor tiroidiene între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor

Supraviețuitorii TCSH din copilărie au prezentat o frecvență mai mare a disfuncției tiroidiene (14.3% vs 0%, $p=0.045$) și a complicațiilor tiroidiene în total, incluzând disfuncția tiroidiană și tiroidita Hashimoto eutiroidiană (35.7% vs 0%, $p=0.015$) comparativ cu subiecții din grupul martor.

Evaluarea comparativă univariată a caracteristicilor clinice, biochimice și ecografice ale pacienților transplantați versus subiecții din lotul martor este prezentată în Tabelul IV.3. Observăm că nu s-au identificat diferențe semnificative statistic în ceea ce privește vârsta pacienților la evaluare, media nivelului seric al TSH-ului și FT4-ului și mediana titrului anticorpilor antitiroidieni. Am găsit o diferență semnificativă statistic numai pentru valoarea serică a TT3 și media scorului z al volumului tiroidian, supraviețuitorii TCSH având o medie a nivelului seric al TT3 mai mare (127.4 ± 29.88 vs 105.06 ± 36.04 ng/ml, $p=0.037$) și un scor z mediu al volumului tiroidian mai mic (0.45 ± 1.13 vs 1.58 ± 1.02 DS, $p=0.003$) comparativ cu lotul martor.

Tabelul IV.3. Caracteristicile grupului pacienților transplantați și grupului martor după excluderea valorilor aberante extreme din grupul pacienților transplantați

Parametru	Pacienți TCSH(N=28)	Control (N=16)	P
Vârsta la evaluare (ani), medie $\pm$ DS*	13.01 $\pm$ 5.48	10.6 $\pm$ 3.99	NS
TSH(mUI/L), medie $\pm$ DS*	3.09 $\pm$ 1.35	2.48 $\pm$ 1.06	NS
FT4 (ng/dl), medie $\pm$ DS*	1.11 $\pm$ 0.13	1.14 $\pm$ 0.14	NS

TT3 (ng/ml), medie $\pm$ DS*	127.4 $\pm$ 29.88	105.06 $\pm$ 36.04	0.037
ATPO (UI/L), mediana(IQR)**	10(4)	10(0)	NS
Volumul tiroidian SDS, medie $\pm$ DS*	0.45 $\pm$ 1.13	1.58 $\pm$ 1.02	0.003

*Comparația între cele 2 grupuri prin testul student-t independent; **Comparația între cele 2 grupuri prin testul Mann-Whitney U

În continuare, am stratificat pacienții în funcție de tipul transplantului (auto-/alo-TCSH) și am comparat cele 2 grupuri de pacienți transplantați cu grupul martor. Analiza multivariată a arătat că beneficiarii auto-TCSH au avut titruri mai mari de ATPO (mediana=11, IQR=24 vs mediana=10, IQR=0, și mediana=10, IQR=0 UI/L, $p=0.046$) comparativ cu recipientii alo-TCSH și subiecții din lotul control (Tabelul IV.4). Testul ANOVA cu analiza post-hoc Games-Howell a arătat că scorul z mediu al volumului tiroidian a fost semnificativ mai mare în cazul subiecților din lotul martor comparativ cu supraviețuitorii auto- și alo-TCSH (1.58 ± 1.02 vs 0.2 ± 0.65 și 0.65 ± 1.39 DS, $p=0.003$) (Figura 4.2).

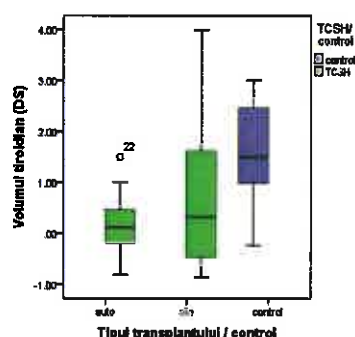


Figura 4.2. Scorul z al volumului tiroidian in cele 3 grupuri

Tabelul IV.4. Caracteristicile subiecților după stratificarea în funcție de tipul TCSH

Parametru	autoTCSH N=11	aloTCSH N=17	control N=16	P
Varsta la TCSH (ani), medie $\pm$ DS*	12.88 $\pm$ 4.67	8.18 $\pm$ 3.49	NA	
TSH(mUI/L), medie $\pm$ DS*	3.62 $\pm$ 1.73	2.75 $\pm$ 0.94	2.48 $\pm$ 1.06	NS
FT4 (ng/dl), medie $\pm$ DS*	1.05 $\pm$ 0.12	1.15 $\pm$ 0.13	1.14 $\pm$ 0.14	NS
TT3 (ng/ml), medie $\pm$ DS*	118 $\pm$ 30.25	133.35 $\pm$ 29.07	105.06 $\pm$ 36.04	NS
ATPO (U/L), mediana(IQR) **	11(24)	10(0)	10(0)	0.046
Volumul tiroidian SDS, medie $\pm$ DS*	0.2 $\pm$ 0.65	0.65 $\pm$ 1.39	1.58 $\pm$ 1.02	0.003

*Comparația între cele 3 grupuri prin One Way Anova; **Comparația între cele 3 grupuri prin testul Kruskal-Wallis

5. STUDIUL 2. CREȘTEREA ȘI DEZVOLTAREA PUBERTARĂ LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE

5.1. Evaluarea efectului TCSH asupra procesului de creștere liniară la pacienții care au efectuat condiționare exclusiv cu chimioterapie

5.1.1 OBIECTIVE

1. Evaluarea *frecvenței hipostaturalității* la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un *regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie*
2. Identificarea factorilor care se asociază cu apariția întârzierii creșterii liniare în rândul supraviețuitorilor TCSH care au efectuat condiționare cu *chimioterapie în doză mare*
3. Compararea frecvenței hipostaturalității între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor

5.1.2 MATERIAL ȘI METODE

Au fost incluși în acest lot de studiu 22 pacienți transplantați care au întrunit concomitent următoarele *criterii de includere*: [1] vârsta la TCSH mai mică de 14 ani, [2] supraviețuirea după TCSH mai mult de un an, [3] regimul de condiționare s-a bazat numai pe chimioterapie și [4] au efectuat un singur TCSH. *Criteriile de excludere* au fost: vârsta la efectuarea TCSH mai mare de 14 ani (n=5), regimul de condiționare a inclus TBI (n=1), istoric de iradiere craniană anterior de efectuarea TCSH ca și tratament al bolii primare (n=1), efectuarea unui dublu transplant (n=1). Studiul a fost aprobat de Comitetul de Etică al Spitalului Elias și UMF Carol Davila, iar consimțământul informat a fost obținut de la părinții pacienților/pacienți (în cazul celor majori), în conformitate cu Declarația de la Helsinki. Pentru analiza comparativă am utilizat un lot martor constituit din 16 copii clinic sănătoși, potriviți pentru vârstă, sex și dezvoltare pubertară cu participanții transplantați.

Înălțimea a fost măsurată cu ajutorul unui stadiometru Harpenden, în poziție verticală. Au fost efectuate 2 măsurători și s-a înregistrat media celor 2 valori obținute. Măsurătorile au fost efectuate atât la momentul efectuării TCSH, cât și cu ocazia evaluării endocrine la cel puțin un an de la TCSH. Înălțimea a fost exprimată ca *scorul deviației standard de înălțime (SDS)*, utilizând atât normativele Prader, cât și referințele publicate recent pentru țara noastră. SDS a fost calculat după formula: $(I - I_{medie}) / DS$, unde I este talia subiectului, I_{medie}, talia medie pentru vârstă și sex din normativele Prader (populația elvețiană)/populația noastră, iar DS, deviația standard de înălțime pentru vârstă și sex. *Înălțimea medie parentală (IMP)*, care evaluează potențialul genetic al fiecărui individ a fost estimată după formula: media înălțimii celor 2 părinți la care am adăugat 6.5 cm pentru băieți, respectiv am scăzut 6.5 cm la fete și a fost raportată ca *scor z al IMP*. De asemenea, am calculat *SDS familie* după formula: $(SDS_{mama} + SDS_{tata}) \times 0.72 / 2$. Am calculat *IMC*-ul, împărțind greutatea pacientului la pătratul înălțimii și l-am înregistrat ca *scor z IMC pentru vârstă și sex*.

IGF-I a fost măsurat prin metoda chemiluminescenței utilizând anticorpi monoclonali (IMMULITE 2000) și am calculat *SDS-IGF-I pentru vârstă și sex (scorul z)* folosind formula: $scorul\ z\ IGF-I = (valoarea\ măsurată\ a\ IGF-I - valoarea\ medie\ a\ IGF-I\ ajustată\ pentru\ vârstă) / DS\ a\ populației$. Am folosit ca referință valorile IGF-I ajustate în funcție de vârstă raportate într-

un studiu anterior de Elminger și colab. care au utilizat același tip de test pentru dozarea IGF-I. Funcția tiroidiană a fost evaluată prin dozarea TSH, FT4, TT3, iar funcția gonadică a fost evaluată clinic și paraclinic prin dozarea FSH, LH, testosteron/estradiol. Determinarea *vârstei osoase* s-a realizat prin efectuarea unei radiografii de pumn la mâna non-dominantă, pe care am analizat-o după metoda Greulich și Pyle.

Procedura de TCSH

Regimurile de condiționare au fost alese în funcție de diagnostic și protocoalele active la momentul transplantului și au inclus regimuri pe bază de *Bu* (n=9), regimuri pe bază de *Flu/Cy* (n=8) și *BEAM* (n=5) pentru cei care au efectuat auto-TCSH. Profilaxia GCG la pacienții cu alo-TCSH (n=16) s-a efectuat predominant cu CsA și MTx (n=14). *Corticoterapia prelungită* a fost definită fie ca glucocorticoizi administrați înainte de TCSH (n=8), fie continuând mai mult de 2 luni după efectuarea TCSH (n=6), într-o doză ≥ 5 mg echivalent zilnic de prednison.

Definiții

Statura joasă a fost definită ca deficit de înălțime mai mult de 2 DS față de media pentru vârstă și sex și/sau cu mai mult de 1.5 DS sub înălțimea țintă genetică.

Deficitul GH

Au fost suspectați că având deficit de GH pacienții care au prezentat statură joasă, valoarea IGF-I mai mică de 2 DS față de valorile de referință pentru vârstă și sex și/sau vârstă osoasă întârziată. Un singur pacient a efectuat testele de stimulare pentru confirmarea deficitului GH.

Au fost definiți și analizați ca posibili predictorii pentru afectarea creșterii liniare: vârsta la efectuarea TCSH, tipul transplantului (autolog/alogen), tipul bolii primare, regimul de condiționare, tipul donorului (înrudit/neînrudit) și sursa celulelor stem hematopoietice, prezența bolii GCG, corticoterapia înainte/după TCSH, perioada de urmărire a supraviețuitorilor TCSH, deficitul GH, hipotiroidismul, insuficiența gonadică și malnutriția.

ANALIZA STATISTICĂ

Datele au fost analizate cu ajutorul software-ului statistic SPSS pentru Windows, versiunea 20 (SPSS Inc. Chicago IL). Valoarea $p < 0.05$ a fost considerată semnificativă statistic în cazul tuturor analizelor.

5.1.3 REZULTATE

1. Caracteristicile generale ale populației studiate

Dintre pacienții care au îndeplinit criteriile de includere, 14 pacienți au fost transplantați pentru malignități hematologice/non-hematologice și 8 pentru tulburări hematologice nonmaligne. Lotul a cuprins 16 pacienți cu alo-TCSH și 6 pacienți cu auto-TCSH. Sursele celulelor hematopoietice la pacienții care au efectuat TCSH alogen au fost măduva osoasă (n=8) și sângele periferic (n=8). Repartiția pe sexe a pacienților incluși în prezentul studiu a fost egală (11 pacienți de sex masculin), media vârstei la efectuarea procedurii de transplant a fost 8.56 ± 3.47 ani, cu o durată medie de urmărire post-TCSH de 3.54 ± 1.84 ani.

2. Evaluarea frecvenței hipostaturalității la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie

În lotul nostru de 22 supraviețuitori ai TCSH care au îndeplinit criteriile de includere în prezentul studiu am identificat **4 pacienți cu hipostaturalitate (18.18%)**. Vârsta medie la efectuarea TCSH a pacienților cu statură joasă a fost de 8.14 ± 3.48 ani (IC 95% 4.83-11.66), iar perioada medie de urmărire post-TCSH a fost de 5.16 ± 1.83 ani (95% IC 3.42-7.08). Caracteristicile celor 4 pacienți care au prezentat statură joasă sunt sumarizate în Tabelul V.1.1.

Tabelul V.1.1. Caracteristicile demografice, clinice și paraclinice ale supraviețuitorilor TCSH din copilărie cu hipostaturalitate

Parametru	Pac 1	Pac 2	Pac 3	Pac 4
Sex	F	M	F	F
Vârsta la evaluare (ani)	14.25	9.83	12.33	14.16
SDS Înălțime (Prader) actual	-2.63	-4.3	-2.27	-2.03
SDS Înălțime (normative România), la evaluarea actuală	-2.46	-4.4	-2.30	-1.86
SDS Înălțime (Prader) la TCSH	-0.68	NA	-2.12	-1.65
SDS Înălțime (normative România) la TCSH	-0.91	NA	-1.78	-1.57
Delta SDS Prader (actual-TCSH)	-1.95	NA	-0.15	-0.38
Delta SDS normative România (actual-TCSH)	-1.55	NA	-0.52	-0.29
SDS IMP	-1.65	-0.32	-1.31	-1.39
SDS familie	-1.1	-0.39	-0.87	-0.96
IMC (scor z) actual	0.28	-2.26	1.37	-3.38
IMC (scor z) la TCSH	0.08	NA	0.86	0.21
Delta IMC (actual-TCSH)	0.2	NA	0.51	3.59
IGF-I (scor z)	0.08	-2.26	-2.23	-1.59
TSH(mUI/L)	1.6	0.8	4.3	2.28
25-OH-vitamina D (ng/ml)	16.91	6.28	9.83	15.7
Vârsta la TCSH	11.66	4.83	9	7.08
Timpul TCSH-evaluare	5.16	5	3.42	7.08
Boala de fond	BTM	Diskeratoză Congenitală	LAM-M6	BTM

Tipul TCSH	Alogen	Alogen	Alogen	Alogen
Donator	Neînrudit	Înrudit	Înrudit	Înrudit
Compatibilitatea HLA	Da	Da	Da	Da
Sursa celulelor stem hematopoietice	CSP	CSP	CSP	MO
Regim condiționare	Flu/Thio/Treo	Flu/Cy/ATG	Bu/Cy	Bu/Cy
Profilaxia GCG	CsA/MTx	CsA/MTx	CsA/MTx	CsA/MTx
Prezența GCG	Da	Nu	Nu	Da
Corticoterapie prelungită	Da	Nu	Nu	Da

3. *Identificarea factorilor care se corelează cu apariția staturii joase în rândul supraviețuitorilor TCSH după condiționarea exclusiv cu chimioterapie*

Prezența hipostaturalității la pacienții cu TCSH nu a fost asociată în studiul nostru cu *sexul pacientului* ($p=0.340$), *vârsta mai mică de 10 ani la transplant* ($p=0.694$), *regimul de condiționare* ($p=0.281$) sau *tipul donatorului* ($p=0.117$). În schimb, boala primară, tipul transplantului (autolog/alogen) și perioada mai lungă de urmărire post-transplant au influențat prezența staturii joase la supraviețuitorii TCSH din cohorta noastră. Astfel, pacienții transplantați *pentru beta-talasemie majoră* au prezentat un risc mai mare de hipostaturalitate în comparație cu pacienții cu boli hematologice non-maligne (anemie aplazică și anemie Fanconi) și cei cu boli maligne hematologice/nonhematologice (100% vs 16.66% și respectiv 7.69%, $p=0.04$). *Grefarea alogenică* în comparație cu cea autologă (25% vs 0%, $p=0.019$) și *perioada mai mare de 5 ani după efectuarea procedurii de TCSH* (60% vs 6.25%, $p=0.012$) au fost asociate cu o prevalență mai mare a staturii joase în studiul nostru.

Prezența bolii GCG la pacienții care au efectuat TCSH alogen ($p=0.282$) și *corticoterapia prelungită* ($p=0.539$) nu au fost asociate semnificativ cu diagnosticul de statură joasă ($>-2DS$) la pacienții evaluați în cohorta noastră.

Un model de regresie polinomială pentru variația nivelului seric al IGF-I (scor z) în funcție de înălțime (SDS) în cohorta noastră de pacienți transplantați a evidențiat faptul că *SDS înălțime* conform normativelor Prader/România *s-a asociat semnificativ cu scorul z al IGF-I* ($r^2=0.378$, $p=0.008$, respectiv $r^2=0.355$, $p=0.011$) (Figura 5.1.1 A și B), iar *nivelul seric al IGF-I (ng/ml) s-a corelat pozitiv cu durata de timp de la efectuarea procedurii de transplant* ($r^2=0.332$, $p=0.013$) (Figura 5.1.1 C). În schimb, nu am găsit nici o corelație semnificativă statistic între SDS înălțime și vârsta la efectuarea TCSH ($p=0.548$), scorul z al IMC-ului ($p=0.915$) sau SDS familie/scorel z al IMP ($p=0.116$, respectiv $p=0.197$).

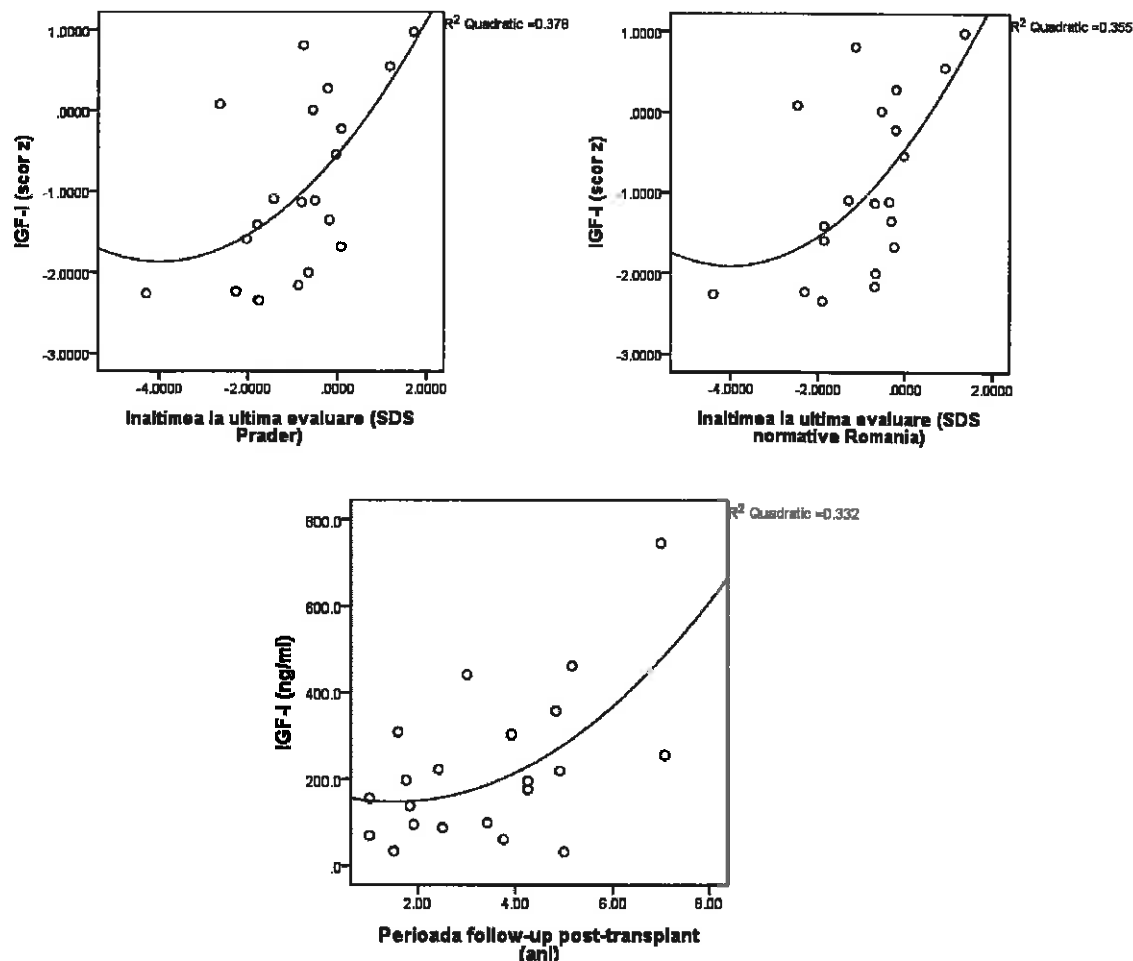


Figura 5.1.1. Corelația dintre înălțimea la ultima evaluare exprimată ca SDS Prader/ normativele din România, respectiv perioada de urmărire post-transplant și scorul z al IGF-I

4. Compararea frecvenței anomaliilor de creștere liniară între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor

Supraviețuitorii TCSH din copilărie au prezentat o frecvență mai mare a hipostaturalității (18.18% vs 0%, $p=0.027$) comparativ cu subiecții din grupul martor. La segregarea lotului supraviețuitorilor TCSH în funcție de tipul TCSH am observat că **beneficiarii alo-TCSH au avut un SDS înălțime mai mic** (-1.27 ± 1.21 DS vs 0.25 ± 0.98 DS și 0.01 ± 0.88 DS, $p=0.002$ după normativele Prader, respectiv -1.29 ± 1.18 DS vs 0.12 ± 0.9 DS și -0.02 ± 0.86 DS, $p=0.002$ după normativele locale) **comparativ cu recipienții auto-TCSH și subiecții din lotul control** (Tabelul V.1.3). De asemenea, **recipienții alo-TCSH au avut scorul z al IGF-1 semnificativ mai mic comparativ cu supraviețuitorii auto-TCSH și subiecții din lotul control** (-1.36 ± 0.82 DS vs 0.3 ± 0.83 DS și -0.51 ± 0.77 , $p=0.001$) (Figura 5.1.2).

Tabelul V.1.3. Caracteristicile subiecților incluși în studiu după stratificarea în funcție de tipul transplantului efectuat

Parametru	Auto-TCSH N=6	Alo-TCSH N=15	Control N=15	P
Vârsta la TCSH (ani), medie±DS*	9.4±3.32	8.25±3.58	NA	
SDS Înălțime (Prader) la evaluarea actuală, medie±DS	0.25±0.98	-1.27±1.21	0.01±0.88	0.002
SDS Înălțime (normative România) la evaluarea actuală, medie±DS	0.12±0.9	-1.29±1.18	-0.02±0.86	0.002
SDS IMP, medie±DS	-0.04±0.76	-0.15±0.79	0.14±0.62	NS
SDS familie, medie±DS	-0.07±0.61	-0.11±0.53	0.07±0.45	NS
IMC (scor z) la evaluarea actuală, medie±DS	-0.89±1.63	-0.86±1.53	0.14±1.19	NS
IGF-I (ng/ml), medie±DS	395.6±217.14	168.01±119.07	190.38±109.44	0.006
IGF-I (scor Z), medie±DS	0.3±0.83	-1.36±0.82	-0.51±0.77	0.001

*Comparația între cele 3 grupuri prin testul One Way ANOVA si analiza post-hoc Bonferonni

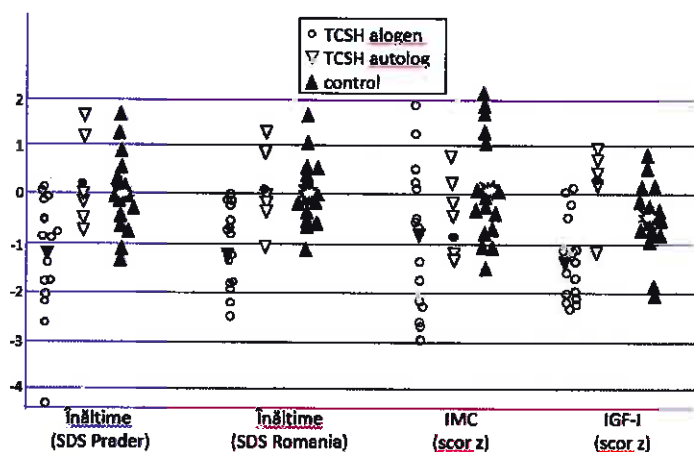


Figura 5.1.2. SDS înălțime (normative Prader/România), IMC (scor z) și IGF-1 (scor z) în funcție de tipul TCSH (alogen/autolog) și raportarea față de lotul control

Pacienții transplantați care au fost urmăriți o perioadă mai mare de 5 ani după TCSH au avut o **medie a înălțimii mai mică** (-1.53 ± 2.18 DS vs -0.62 ± 0.94 DS și -0.01 ± 0.85 DS, $p=0.036$, după Prader, respectiv -1.52 ± 2.12 DS vs -0.69 ± 0.88 DS și -0.04 ± 0.83 DS, $p=0.031$, după normativele țării noastre) comparativ cu pacienții care au fost monitorizați între 1-5 ani post-TCSH și subiecții din lotul control. În schimb, nu am găsit o diferență semnificativă statistic între cele 3 grupuri în ceea ce privește media scorului Z al IMC-ului ($p=0.068$) sau media nivelului seric al IGF-1 (scor z) ($p=0.354$) (Tabel V.1.4).

Tabelul V.1.4. Caracteristicile subiecților incluși în studiu după stratificarea în funcție de perioada de urmărire post-transplant (1-5 ani / > 5 ani) și compararea cu lotul control

Parametru	1-5 Ani (N=16)	>5 ani (N=5)	Control (N=16)	P
SDS Înălțime (Prader) la evaluarea actuală, medie±DS	-0.62±0.94	-1.53±2.18	-0.01±0.85	0.036
SDS Înălțime (normative Romania) la evaluarea actuală, medie±DS	-0.69±0.88	-1.52±2.12	-0.04±0.83	0.031
IMC (scor z) actual, medie±DS	-1.03±1.51	-0.36±1.61	0.14±1.15	NS
IGF-1 (scor z), medie±DS	-1.01±1.06	-0.8±1.3	-0.51±0.77	NS

*Comparația între cele 3 grupuri prin testul One Way ANOVA și analiza post-hoc Bonferonni

5.2. Evaluarea efectului TCSH asupra dezvoltării pubertare la pacienții care au efectuat condiționare exclusiv cu chimioterapie

5.2.1 OBIECTIVE

Evaluarea frecvenței tulburărilor de dezvoltare pubertară (pubertate întârziată/ oprită în evoluție) la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un **regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie** și identificarea factorilor care s-au asociat cu tulburările dezvoltării pubertare în rândul supraviețuitorilor TCSH care au efectuat **condiționare doar cu chimioterapie în doză mare**

5.2.2. MATERIAL ȘI METODE

Au fost incluși în acest lot de studiu 11 pacienți transplantați care au întrunit următoarele **criterii de includere**: [1] stadiul prepubertar la efectuarea TCSH, [2] vârsta la TCSH mai mică de 13 ani, [3] vârsta la ultima evaluare mai mare de 12 ani, [4] supraviețuirea după TCSH mai mult de un an, [5] regimul de condiționare s-a bazat numai pe chimioterapie și [6] au efectuat un singur TCSH. **Criteriile de excludere** au fost: vârstă la efectuarea TCSH mai mare de 13 ani/stadiul Tanner V al dezvoltării pubertare la TCSH (n=6), regimul de condiționare a inclus TBI (n=1), istoric de iradiere craniană anterior de efectuarea TCSH (n=1) / insuficiență gonadică primară secundară orhidectomiei bilaterale ca și tratament al bolii primare (n=1), efectuarea unui dublu transplant (n=1).

Definiții

Debutul pubertății a fost definit ca un volum testicular ≥ 4 ml la băieții sau apariția mugurului mamar la fete conform stadializării Tanner (Tanner, 1976). Volumul testicular a fost evaluat cu un orhidometru după cum a fost descris de Prader (Prader, 1966).

S-a dozat nivelul seric al hormonilor: FSH, LH, estradiol la fete, respectiv testosteron la băieți. Măsurarea valorilor hormonale s-a realizat prin metode de laborator standard conform protocolului descris în capitolul **METODOLOGIE GENERALĂ**.

5.2.3. REZULTATE

1. Caracteristicile generale ale populației studiate

Dintre cei 11 pacienți care au îndeplinit criteriile de includere în studiu, 6 pacienți au fost transplantați pentru malignități hematologice și 5 pentru tulburări hematologice nonmaligne. Lotul a cuprins 8 pacienți cu alo-TCSH și 3 pacienți cu auto-TCSH. Repartiția pe sexe a pacienților incluși în prezentul studiu a fost similară (5 pacienți de sex masculin), media vârstei la efectuarea procedurii de transplant a fost 9.88 ± 2.11 ani, cu o durată medie de urmărire post-TCSH de 4.56 ± 1.77 ani.

2. Evaluarea frecvenței tulburărilor de dezvoltare pubertară la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie

În lotul nostru de 11 supraviețuitori ai TCSH care au îndeplinit criteriile de includere în prezentul studiu am identificat **3 paciente cu tulburări de dezvoltare pubertară (27.27%)**. Caracteristicile celor 3 paciente care au prezentat pubertate întârziată/oprită în evoluție sunt sumarizate în Tabelul V.2.1. Toate cele trei paciente care au prezentat tulburări ale dezvoltării pubertare au efectuat alo-TCSH, urmând regimul de condiționare Bu/Cy. Menționăm faptul că cea de-a treia pacientă a prezentat inițial o progresie a dezvoltării pubertare (de la stadiul Tanner I la stadiul Tanner III), dar din 2014 până în prezent a rămas în același stadiu (Tanner III), iar nivelul seric al gonadotropilor este mult crescut. Totuși, în luna iunie 2017, la vârsta de 13 ani și 7 luni a prezentat menarhă spontană, dar nu a mai înregistrat de atunci nici o menstruație până la evaluarea din luna noiembrie 2017.

Tabelul V.2.1. Caracteristicile demografice, clinice și paraclinice ale supraviețuitorilor TCSH din copilărie cu tulburări ale dezvoltării pubertare

Parametru	Pac 1	Pac 2	Pac 3
Sex	F	F	F
Vârsta la TCSH (ani)	8.33	9	7.08
Vârsta la evaluare (ani)	12	12.33	14.16
Timpul TCSH-evaluare	3.75	3.42	7.08
Boala de fond	LAM-M2	LAM-M6	BTM
Tipul TCSH	Allo	Allo	Allo
Donator	Inrudit	Inrudit	Inrudit
Regim condiționare	Bu/Cy	Bu/Cy	Bu/Cy
Stadiul pubertar la TCSH	I	II	I
Stadiul pubertar la ultima evaluare	I	II	III
FSH la ultima evaluare (mUI/ml)	30.18	82.64	57.81

6. STUDIUL 3. DISFUNCTIA GONADICĂ FEMININĂ ȘI RISCUL DE INFERTILITATE LA SUPRAVIEȚUITOARELE TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE

6.1 OBIECTIVE

Evaluarea *frecvenței disfuncției gonadice* la supraviețuitoarele TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un *regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie*

6.2. MATERIAL ȘI METODE

Au fost incluse în acest lot de studiu 11 paciente transplantate care au întrunit concomitent următoarele *criterii de includere*: [1] vârsta la efectuarea TCSH mai mică de 18 ani, [2] vârsta la evaluare mai mare de 10 ani, [3] supraviețuirea după TCSH mai mult de un an, [4] regimul de condiționare s-a bazat numai pe chimioterapie și [5] au efectuat un singur TCSH. *Criteriile de excludere* au fost: vârstă la evaluare mai mică de 10 ani (n=3) și efectuarea unui dublu transplant (n=1).

Funcția gonadică a fost evaluată clinic și biochimic. Stadiul dezvoltării pubertare (părul pubian și dezvoltarea glandelor mamare) a fost realizată conform clasificării Tanner. *Hipogonadismul* a fost definit ca FSH >40 mUI/ml sau tratamentul de substituție hormonală la o fată >10 ani. *Rezerva ovariană scăzută* a fost definită ca o concentrație serică a FSH-ului >10 mUI/ml în ziua 3-5 a ciclului menstrual.

6.3. REZULTATE

1. Caracteristicile generale ale populației studiate

Dintre cele 11 paciente care au îndeplinit criteriile de includere în studiu, 9 paciente au fost transplantate pentru malignități hematologice și 2 pentru tulburări hematologice nonmaligne. Lotul a cuprins 4 paciente cu alo-TCSH și 7 paciente cu auto-TCSH. Media vârstei la efectuarea procedurii de transplant a fost 11.92 ± 3.49 ani (IC 9.57-14.26), cu o durată medie de urmărire post-TCSH de 3.82 ± 1.82 ani (IC 2.6-5.04).

2. Evaluarea frecvenței disfuncției gonadice la supraviețuitoarele TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie

În lotul nostru de 11 supraviețuitoare ale TCSH care au îndeplinit criteriile de includere în prezentul studiu am identificat 3 paciente cu FSH >40 mUI/ml (27.27%), 6 paciente cu FSH între 10-40 mUI/ml (54.54%) și o pacientă cu oligomenoree, dar concentrații serice normale ale FSH, LH și estradiolului (9.09%). O singură pacientă a prezentat cicluri menstruale regulate și valori serice ale FSH <10 mUI/ml în cohorta noastră. Caracteristicile pacientelor care au prezentat disfuncție gonadică/rezervă foliculară scăzută sunt sumarizate în Tabelul VI.1.

Pacienta 1, care a efectuat *TCSH alogen* la vârsta de 11 ani și 8 luni pentru tratamentul beta-talasemiei majore, după condiționare cu fludarabina, thiotepe și treosulfan, a prezentat menarhă spontană la 12 ani și 6 luni, apoi după o perioadă de oligomenoree de aproximativ 2 ani a prezentat menometroragii. S-a inițiat tratamentul cu progestative și după 3 luni ciclul menstrual s-a normalizat, fiind regulat în prezent. De menționat că FSH-ul pacientei la

determinări repetate a fost >40 mUI/ml, sugerând o insuficiență ovariană. **Pacientele 2, 3 și 4** se aflau în stadiul **prepubertar** la efectuarea **TCSH alogen** și au fost descrise anterior în capitolul 5 la secțiunea referitoare la tulburările pubertății care apar la supraviețuitorii TCSH.

Pacientele 5 și 7 au efectuat **auto-TCSH** pentru tratamentul limfomului Hodgkin în **perioadă peripubertară** (ambele la vârstă de 9 ani și 10 luni, în stadiul pubertar Tanner II). Pacienta 5 nu a prezentat până în prezent o progresie a dezvoltării pubertare, dar se află la doar 1 an și 7 luni post-transplant. În schimb, pacienta 7, care se află la 3 ani post-transplant, a prezentat o avansare a stadiului pubertar (în prezent Tanner III), dar nu a avut încă menarha. De menționat că nivelul seric al FSH-ului la pacienta 7 este mai mic decât cel al pacientei 5 (11.93 mUI/ml față de 28.11 mUI/ml). De asemenea, această are o concentrație serică a estradiolului mai mare comparativ cu pacienta 5 (50.25 pg/ml față de <5pg/ml).

Pacientele 6, 8 și 9 au efectuat **auto-TCSH** pentru tratamentul limfomului Hodgkin în **perioadă postpubertară** și în prezent toate trei au un ciclu menstrual regulat.

Tabelul VI.2. Caracteristicile supraviețuitoarelor TCSH din copilărie care au prezentat disfuncție gonadică/rezervă foliculară scăzută

Parametru	Pac 1	Pac 2	Pac 3	Pac 4	Pac 5	Pac 6	Pac 7	Pac 8	Pac 9
Vârsta (ani)	14.25	14.16	12.33	12	10.58	18.75	12.91	16.83	22.16
FSH(mUI/ml)	57.90	63.69	82.64	30.18	28.11	29.7	11.93	10.7	14.5
LH(mUI/ml)	49.63	57.81	25.24	4.36	7.8	32.39	3.59	10.82	12.88
E ₂ (pg/ml)	176	<5	16.96	<5	<5	114	50.25	90.83	43.46
Ciclul menstrual	regulat	menarha	-	-	-	regulat	-	regulat	regulat
Tanner actual	V	III	II	I	II	V	III	V	V
Tanner TCSH	II	I	II	I	II	V	II	V	V
Vârsta TCSH (ani)	11.66	7.08	9	8.33	9.83	16.83	9.83	12.83	17
Urmărire (ani)	5.16	7.08	3.42	3.75	1.58	1.91	3	3.91	5
Boala fond	BTM	BTM	LAM-M6	LAM-M2	LH	LH	LH	LH	LH
Tratament anterior			AML BFM 2004 "salvage" FLAG	LAM-AEIOP	4 COPP ABV	2 OEPA/ 2 COPDAC, IEP/ABVD	6 ABVD	8 ABVD, 2 IEP	8 BEACOPP escaladat
Tipul TCSH	Allo	Allo	Allo	Allo	auto	auto	auto	auto	auto
Condiționare	Flu/Thio/Treo	Bu/Cy	Bu/Cy	Bu/Cy	BEAM	BEAM	BEAM	BEAM	BEAM
Boala GCG	Da	Da	Nu	Nu	-	-	-	-	-
Corticoterapie	Da	Da	Nu	Nu	Da	Da	Nu	Nu	Da

7. STUDIUL 4. DISFUNCTIA GONADICA MASCULINA SI RISCUL DE INFERTILITATE LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE

7.1 OBIECTIVE

Evaluarea frecvenței disfuncției gonadice la supraviețuitorii de sex masculin ai TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un ***regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie***

7.2 MATERIAL ȘI METODE

Au fost incluși în acest lot de studiu 8 pacienți transplantați care au întrunit concomitent următoarele ***criterii de includere***: [1] vârstă la efectuarea TCSH mai mică de 18 ani, [2] vârstă la evaluare mai mare de 11 ani, [3] supraviețuirea după TCSH mai mult de un an, [4] regimul de condiționare s-a bazat numai pe chimioterapie și [5] au efectuat un singur TCSH. ***Criteriile de excludere*** au fost: vârstă la evaluare mai mică de 11 ani (n=6) și efectuarea unui dublu transplant (n=1).

Funcția gonadică a fost evaluată clinic și biochimic. Stadiul dezvoltării pubertare (părul pubian și dezvoltarea genitală) a fost realizată conform clasificării Tanner. Volumul testicular a fost estimat prin palparea comparativă cu orhidometrul Prader.

Definiții

Hipogonadismul a fost definit ca FSH>18 mUI/ml sau LH>10 mUI/ml sau tratamentul de substituție hormonală la un băiat>11 ani.

7.3. REZULTATE

1. Caracteristicile generale ale populației studiate

Dintre cei 8 pacienți care au îndeplinit criteriile de includere în studiu, 5 pacienți au fost transplantați pentru malignități hematologice și 3 pentru tulburări hematologice nonmaligne. Lotul a cuprins 6 pacienți cu alo-TCSH și 2 pacienți cu auto-TCSH. Media vârstei la efectuarea procedurii de transplant a fost 11.64 ± 3.16 ani (IC 8.99-14.29), cu o durată medie de urmărire post-TCSH de 3.52 ± 2.04 ani (IC 1.8-5.23).

2. Evaluarea frecvenței disfuncției gonadice la supraviețuitorii de sex masculin ai TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie

În lotul nostru de 8 supraviețuitori ai TCSH care au îndeplinit criteriile de includere în prezentul studiu am identificat 4 pacienți cu disfuncție gonadică (50%). Vârsta medie la efectuarea TCSH a pacienților de sex masculin cu disfuncție gonadică a fost de 12.76 ± 3.48 ani (IC 95% 7.22-18.3), iar perioada medie de urmărire post-TCSH a fost de 3.2 ± 1.56 ani (95% IC 0.72-5.69). Caracteristicile celor 4 pacienți care au prezentat disfuncție gonadică sunt summarize în Tabelul VII.1.

Tabelul VII.1. Caracteristicile demografice, clinice și paraclinice ale supraviețuitorilor de sex masculin ai TCSH din copilărie care au prezentat disfuncție

Parametru	Pac 1	Pac 2	Pac 3	Pac 4
Vârsta la evaluare (ani)	14	13.5	19.16	17.16
FSH(mUI/ml)	64.18	27.85	22.76	25.82
LH(mUI/ml)	23.83	2.91	12.19	8.43
T (ng/dl)	15.26.	72.38	583.4	953.7
Volumul testicular (ml)	-	8-10	25	15
Stadiul Tanner actual	I	III	V	IV
Stadiul Tanner la TCSH	I	I	V	II
Vârsta la TCSH (ani)	12.33	8.66	17.16	12.91
Timpu l TCSH-evaluare (ani)	1.75	4.83	2	4.25
Boala de fond	LAL	LAM sec SM5q-	LH	AF
Tratament anterior TCSH	BFM 2002, orhidectomie bilaterală , ALL- REZ BFM 2002	BFM 2004	ABVD 5 1/2	-
Tipul TCSH	Allo	allo	auto	Allo
Donator	neînruit	înruit	auto	Neînruit
Compatibilitatea HLA	9/10	Da	-	Da
Regim condiționare	Flu/Thio/Treo/ ATG	Bu /Cy/Mel	BEAM	Flu/Cy/ATG
Profilaxia bolii GCG	CsA/MTx	CsA/MTx	-	CsA/MTx
Prezența bolii GCG	0	0	-	0
Corticoterapie prelungită	Da	Nu	Nu	Nu

8. STUDIUL 5. INSULINOREZISTENȚA, SINDROMUL METABOLIC ȘI RISCUL DE DIABET ZAHARAT LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE

8.1. OBIECTIVELE PRINCIPALE

1. *Evaluarea frecvenței SM/componențelor sale* la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un *regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie*

2. Identificarea prezenței *modificărilor de compoziție corporală* la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie și adolescență și analizarea relației dintre tipul transplantului (autolog/alogenic) și parametrii densitometrici ce reflectă modificările compoziției corporale la pacienții transplantați

OBIECTIVE SECUNDARE

1. Compararea frecvenței componentelor sindromului metabolic între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor

2. Identificarea factorilor care se asociază cu prezența componentelor SM în rândul supraviețuitorilor TCSH care au efectuat *condiționare doar cu chimioterapie în doză mare*

3. Identificarea factorilor care se asociază cu anomaliile de distribuire a adipozității la acești pacienți și stabilirea unei corelații între parametrii auxologici (IMC, CA, raportul CA/I) și MG măsurată prin DXA (procentul total al MG din organism, raportul A/G).

8.2 MATERIAL ȘI METODE

Pacienți

Au fost incluși în acest lot de studiu 29 pacienți transplantați care au întrunit concomitent următoarele criterii de includere: [1] vârsta la TCSH mai mică de 18 ani, [2] supraviețuirea după TCSH mai mult de un an, [3] regimul de condiționare s-a bazat numai pe chimioterapie. Supraviețuitorii TCSH au fost comparați cu 16 subiecți sănătoși, potiviți pentru vârstă, sex și înălțime. Au fost excluși din lotul control subiecții cu boli cronice și cei care urmau tratament cu medicamente care ar fi putut influența componentele SM.

Protocolul de studiu

Evaluarea subiecților a inclus anamneza și examenul clinic, teste biochimice și hormonale și analiza compoziției corporale prin DXA. Am calculat indicii HOMA, Matsuda, QUICKI și indicele adipozității viscerale (VAI) după formulele prezentate în capitolul **METODOLOGIE GENERALĂ**. S-a realizat o scanare DXA a întregului corp mai puțin capul și s-a calculat MG, care a fost exprimată ca un procent din greutatea corporală totală. S-au măsurat, de asemenea, grăsimea cu distribuție androidă, respectiv ginoidă, care au fost exprimate ca procent din greutatea corporală totală și s-a calculat raportul grăsime androidă/ginoidă (A/G ratio) conform ghidului ISCD în vigoare (Petak et al., 2013). Întrucât există o variabilitate mare în ceea ce privește compoziția compoziției corporale în funcție de vârstă, sex, rasă și stadiul pubertar, iar supraviețuitorii TCSH prezintă un scor z al înălțimii semnificativ mai mic comparativ cu populația generală și o întârziere a dezvoltării pubertare, am utilizat în analiza datelor raportul A/G și procentul total al MG. Stratificarea pacienților în funcție de adipozitate s-a făcut după ghidul ISCD, utilizând criteriile descrise de Freedman și colab. (Freedman et al., 2009)

Definiții

Sindromul metabolic (SM) a fost definit conform criteriilor definite de Ferranti et al.:

- Obezitate abdominală: CA > percentila 75 specifică pentru vârstă și sex, folosind percentilele CDC
- Glicemia a jeun ≥ 110 mg/dl
- TA sistolică și / sau diastolică $\geq$ percentila 90 specifică pentru vârstă și sex folosind percentilele CDC, cu excepția subiecților cu vârstă >18 ani, pentru care valorile cut-off au fost ≥ 130 și/sau ≥ 85 mmHg pentru TA sistolică, respectiv diastolică.
- HDL-colesterol ≤ 50 mg/dl la fete, respectiv ≤ 45 mg/dl la băieți
- TG ≥ 100 mg /dl

Subiecții cu 3 sau mai multe dintre criteriile mai sus menționate au fost clasificați ca având SM.

Insulinorezistența a fost definită ca un indice HOMA >2.6 și/sau indice Matsuda <4.5. **Corticoterapia prelungită** a fost definită fie că glucocorticoizi administrați înainte de TCSH (n=2), fie continuând mai mult de 2 luni după efectuarea TCSH (n=7), într-o doză ≥ 5 mg echivalent zilnic de prednison.

ANALIZA STATISTICĂ

Datele au fost analizate cu ajutorul software-ului statistic SPSS pentru Windows, versiunea 20 (SPSS Inc. Chicago IL). Valoarea $p < 0.05$ a fost considerată semnificativă statistic în cazul tuturor analizelor.

8.2.3 REZULTATE

1. Caracteristicile generale ale populației studiate

Dintre pacienții care au îndeplinit criteriile de includere (n=29), 21 pacienți au fost transplantați pentru malignități hematologice/non-hematologice și 8 pentru tulburări hematologice nonmaligne. Lotul a cuprins 18 pacienți cu allo-TCSH și 11 pacienți cu auto-TCSH. Sursele celulelor hematopoietice la pacienții care au efectuat TCSH alogen au fost măduva osoasă (n=9), sângele periferic (n=8), sângele periferic și măduva osoasă (n=1, a efectuat dublu transplant). Repartiția pe sexe a pacienților incluși în prezentul studiu a fost similară (14 pacienți de sex masculin), media vârstei la efectuarea procedurii de transplant a fost 9.93 ± 4.5 ani, cu o durată medie de urmărire post-TCSH de 3.47 ± 2.11 ani.

2. Evaluarea frecvenței sindromului metabolic/componentelor sale la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie

În lotul nostru de 29 supraviețuitori ai TCSH din copilărie/adolescență, care au efectuat condiționare exclusiv cu chimioterapie, am identificat **2 pacienți (6.9%) cu SM**. Alți 5 pacienți (17.2%) au prezentat 1 criteriu de SM, iar 3 pacienți (10.3%) au îndeplinit 2 criterii pentru SM. **CA > percentila 75** a fost prezentă la 20.7% (n=6) dintre supraviețuitorii TCSH, **HTA** la 4 pacienți (13.8%), **tulburările metabolismului glucidic** la 1 pacient (3.4%), în timp ce 27.5% dintre recipientii TCSH (n=8) au fost diagnosticați cu **dislipidemie**. În categoria pacienților

dislipidemici, 3 dintre ei (10.3%) au prezentat hipertrigliceridemie, iar 5 pacienți (17.2%) au avut valori serice ale HDL-colesterol sub limita inferioară a normalului. Un singur pacient a avut IMC>percentila 85, iar 2 pacienți au avut IMC>percentila 95, în timp ce doar 2 pacienți (6.89%) au prezentat *insulinorezistență*. Din cei 22 pacienți care au efectuat DXA pentru stabilirea compoziției masei corporale, **63.63% pacienți** (n=14) au prezentat un **raport A/G ajustat în funcție de vârstă și sex mai mare decât normalul** (66% din fete, respectiv 60% din băieți). Caracteristicile celor 2 pacienți care au întrunit criteriile pentru diagnosticarea SM sunt sumarizate în Tabelul VIII.1.

Tabelul VIII.1. Caracteristicile demografice, clinice și paraclinice ale supraviețuitorilor TCSH din copilărie care au prezentat sindrom metabolic

Parametru	Pacient 1	Pacient 2
Sex	M	M
Vârsta la evaluare (ani)	13.5	8.91
Vârsta la transplant (ani)	7.16	10.83
Diagnosticul bolii primare	AF	AF
Tipul TCSH	Allo	Allo
Regimul de condiționare	Flu/Cy/ATG	Flu/Cy/alemtuzumab
Profilaxia bolii GCG	CsA/MTx	CsA/MM
GCG acută	Severă	Severă
Corticoterapie prelungită	Da	Da
Sursa CSH	MO	CSP
Donator	Inrudit	Neînruit
Compatibilitate HLA	10/10	9/10
Durata de urmărire post-TCSH	1.83	4.91
IMC (scor z) la evaluarea actuala	1.99	0.54
IMC (scor Z) la TCSH	2	1.68
CA(cm)	83	81
CA (percentila CDC)	90	75
CA/I	0.63	0.51
TA (mmHg)	138/110	120/60
Glicemia a jeun (mg/dl)	77	81
Glicemia in TTGO (mg/dl)	97	91

Insulina a jeun (microUI/ml)	4.43	7.25
Insulina în TTGO (microUI/ml)	55.96	29.82
HbA1c (%)	4.7	5.2
HOMA(IR)	0.84	1.45
QUICKI	0.39	0.36
Colesterol total (mg/dl)	179	226
HDL-C (mg/dl)	70	44
Trigliceride (mg/dl)	100	142
IGF-I (scor Z)	0.01	-1.41

2. Identificarea factorilor care se corelează cu apariția componentelor sindromului metabolic în rândul supraviețuitorilor TCSH după condiționarea efectuată exclusiv cu chimioterapie

CA > percentila 75 a fost prezentă la 20.7% (n=6) dintre supraviețuitorii TCSH, după cum am menționat anterior. Prezența CA > percentila 75 la supraviețuitorii TCSH nu a fost asociată în studiul nostru cu vârstă mai mică de 10 ani la transplant (p=0.591), perioada mai lungă de urmărire post-transplant (p=0.603), regimul de condiționare (p=0.379) sau tipul bolii primare (p=0.326). Tipul transplantului (autolog/alogen) (p=0.548), prezența bolii GCG la pacienții care au efectuat TCSH alogen (p=0.254) și corticoterapia prelungită (p=0.326) nu au fost asociate semnificativ cu CA crescută (>percentila 75) la pacienții evaluați în cohorta noastră. De asemenea, deficitul IGF-I (p=0.757) sau deficitul 25-OH-vitaminei D (p=0.886) nu au fost asociate cu o prevalență mai mare a CA crescute în studiul nostru.

Frecvența HTA la pacienții cu TCSH nu a fost asociată în studiul nostru cu vârsta mai mică de 10 ani la transplant (p=0.809), perioada mai lungă de urmărire post-transplant (p=0.963), tipul transplantului (p=0.685), regimul de condiționare (p=0.127) sau tipul bolii primare (p=0.226). În schimb, prezența bolii **GCG** (66.6% vs 33.3%, p=0.042) și **corticoterapia prelungită** (71.4% vs 28.5%, p=0.05) la pacienții care au efectuat TCSH alogen au fost asociate semnificativ cu prezența HTA la pacienții evaluați în cohorta noastră. Deficitul 25-OH-vitaminei D nu a influențat frecvența HTA la supraviețuitorii TCSH incluși în prezentul studiu (p=0.584).

Frecvența dislipidemie la supraviețuitorii TCSH care au efectuat condiționare exclusiv cu chimioterapie nu a fost asociată în studiul nostru cu vârsta mai mică de 10 ani la transplant (p=0.226), perioada mai lungă de urmărire post-transplant (p=0.565), boala primară (p=0.421), tipul transplantului (p=0.793), regimul de condiționare (p=0.392), prezența bolii GCG (p=0.488), corticoterapia prelungită (p=0.094), deficitul IGF-I (p=0.502) sau al 25-OH-vitaminei D (p=0.179).

Frecvența insulonorezistenței la supraviețuitorii TCSH care au efectuat condiționare exclusiv cu chimioterapie, definită ca un indice HOMA >2.6 și/sau indice Matsuda <4.5 , nu a fost asociată în studiul nostru cu vârsta mai mică de 10 ani la transplant ($p=0.065$), perioada mai lungă de urmărire post-transplant ($p=0.283$), boala primară ($p=0.599$), tipul transplantului ($p=0.719$), regimul de condiționare ($p=0.322$), prezența bolii GCG ($p=0.342$), corticoterapia prelungită ($p=0.159$) sau deficitul 25-OH-vitaminei D ($p=0.414$).

Prezența bolii GCG și corticoterapia prelungită nu au influențat **frecvența raportului A/G crescut** ($p=0.646$, respectiv $p=0.455$). În schimb, am găsit o **corelație pozitivă între raportul A/G și raportul CA/CS** ($r^2=0.288$, $p=0.008$) (Figura 8.1A). Totodată, am observat o **corelație negativă între indicele Matsuda al insulinosensibilității și raportul A/G** ($r^2=0.179$, $p=0.044$) (Figura 8.1B).

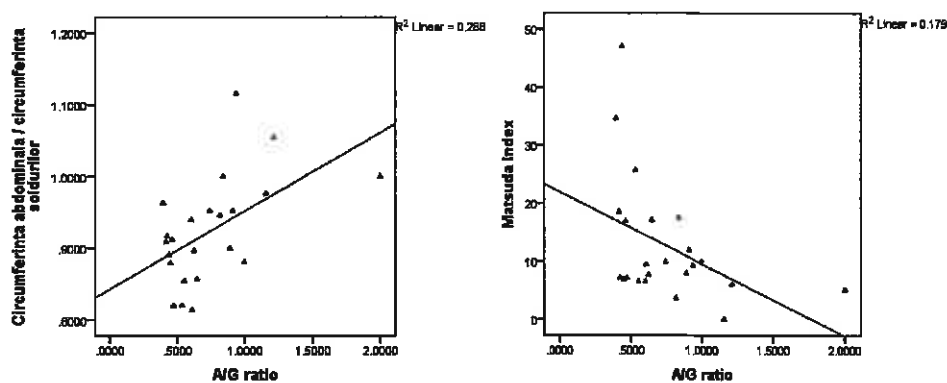


Figura 8.1 Corelația dintre raportul grăsime androidă/ginoidă și raportul CA/CS (A), respectiv indicele Matsuda al insulinosensibilității (B)

Un model de regresie liniară simplă a evidențiat faptul că **scorul z al IMC-ului** s-a corelat pozitiv cu CA ($r^2=0.573$, $p=0.001$), valoarea insulinemiei în TTGO la 2 ore ($r^2=0.226$, $p=0.014$), nivelul trigliceridelor serice ($r^2=0.188$, $p=0.027$), procentul MG estimate prin DXA ($r^2=0.471$, $p=0.001$) și raportul A/G ($r^2=0.189$, $p=0.043$) (Figura 8.2A). În schimb, nu am găsit nici o corelație semnificativă statistic între scorul z al IMC-ului și valoarea indicilor HOMA ($p=0.066$), Matsuda ($p=0.108$), QUICKI ($p=0.090$), respectiv nivelul HbA1c serice ($p=0.971$).

CA s-a corelat pozitiv cu valoarea insulinemiei în TTGO la 2 ore ($r^2=0.442$, $p=0.001$), indicele HOMA ($r^2=0.331$, $p=0.001$), indicele Matsuda ($r^2=0.171$, $p=0.001$), indicele QUICKI ($r^2=0.367$, $p=0.001$), indicele VAI ($r^2=0.148$, $p=0.044$), nivelul trigliceridelor serice ($r^2=0.151$, $p=0.041$) și procentul MG estimate prin DXA ($r^2=0.328$, $p=0.004$) (Figura 8.2B). Nu am găsit o corelație semnificativă statistic între CA și nivelul glicemiei la 2 ore în TTGO ($p=0.341$), nivelul seric al HbA1c ($p=0.298$) sau raportul A/G ($p=0.181$).

Regresia liniară simplă a evidențiat faptul că **raportul CA/I** se corelează pozitiv cu parametrii densitometrici ai compoziției corporale, respectiv raportul A/G ($r^2=0.348$, $p=0.003$) și procentul total de MG din organism ($r^2=0.348$, $p=0.005$) (Figura 8.3)

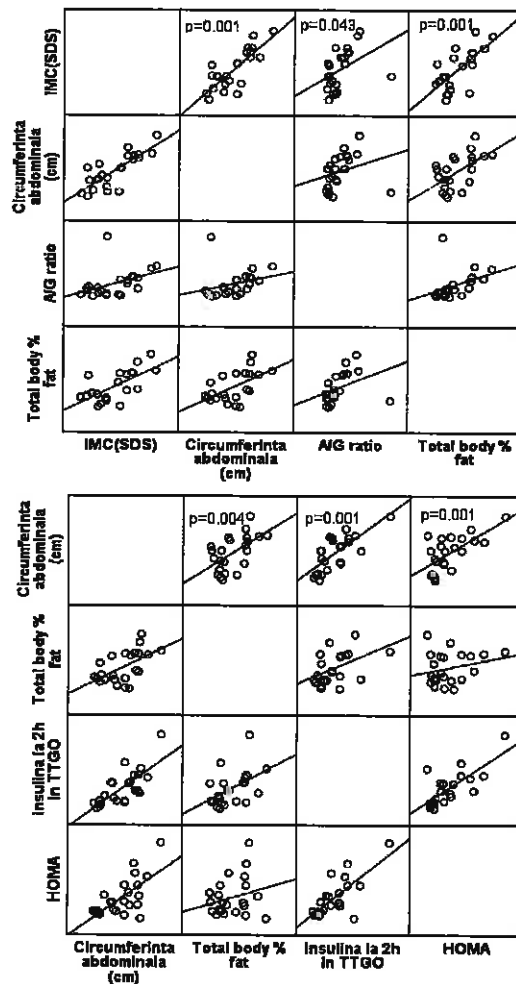


Figura 8.2 Corelația dintre IMC, CA, A/G și procentul MG din organism (A), respectiv corelația dintre CA, insulinemia 2 ore în OGTT, indicele HOMA și procentul MG (B)

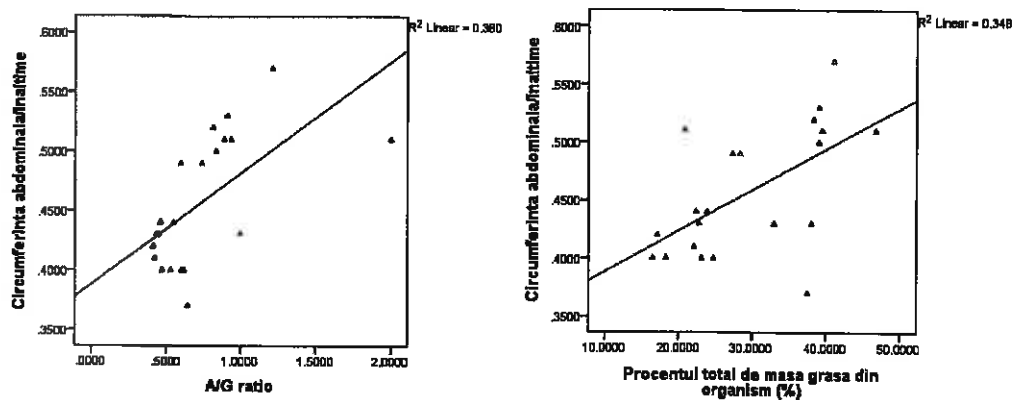


Figura 8.3 A și B Corelația dintre raportul CA/I și parametrii densitometrici, respectiv raportul grăsime A/G și procentul total de MG din organism

Analiza de regresie liniară simplă a evidențiat o **corelație pozitivă între indicele adipozității viscerale și indicele insulinoresistenței HOMA** ($r^2=0.384$, $p=0.001$), respectiv **nivelul glicemiei a jeun** ($r^2=0.140$, $p=0.046$) la supraviețuitorii TCSH din copilărie (Figura 8.4).

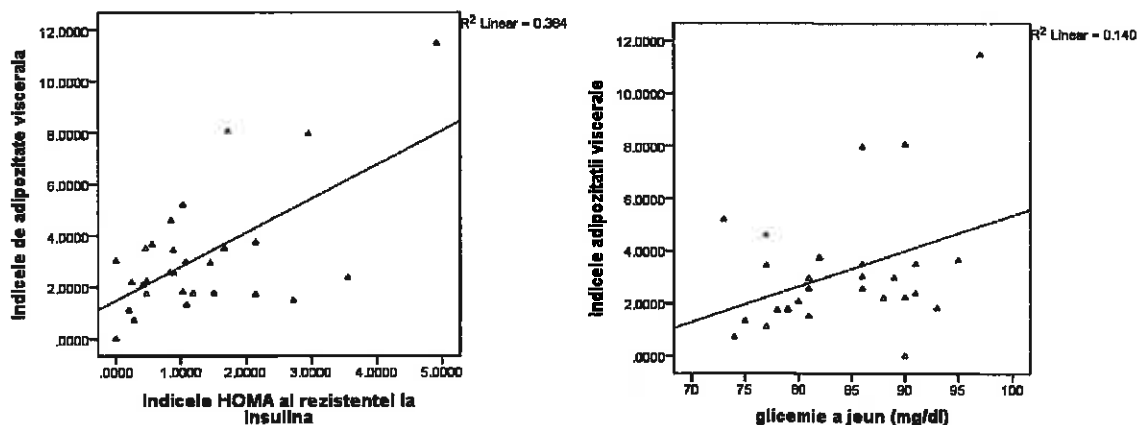


Figura 8.4 Corelația dintre indicele adipozității viscerale și indicele insulinoresistenței HOMA (A), respectiv glicemia a jeun (mg/dl) la supraviețuitorii TCSH din copilărie care au efectuat condiționare cu chimioterapie

3. Compararea parametrilor clinici și biochimici la supraviețuitorii TCSH care au prezentat cel puțin un criteriu de SM comparativ cu cei care nu au prezentat nici o componentă a SM

Din cei 29 pacienți incluși în prezentul studiu, **10 pacienți (34.5%) au prezentat cel puțin un criteriu de SM**. Tipul transplantului (autolog vs alogen) nu a influențat frecvența componentelor sindromului metabolic (5/11 pacienți cu TCSH autolog vs 5/18 cu TCSH alogen au prezentat cel puțin un criteriu de SM, $p=0.115$). Nu am găsit o diferență semnificativă statistic între cele două loturi în ceea ce privește media vârstei la efectuarea transplantului ($p=0.581$), media duratei de urmărire post-transplant ($p=1$), media scorului Z al IMC-ului la efectuarea TCSH ($p=0.115$). În schimb, parametrii auxologi au diferit semnificativ între cele două grupuri. Astfel, **supraviețuitorii TCSH care au prezentat criterii de SM au avut media IMC-ului** (0.13 ± 1.54 kg/m² vs -1.33 ± 1.06 kg/m², $p=0.009$), **media CA** (77.90 ± 14.57 cm vs 63.78 ± 10.29 cm, $p=0.006$) și **media raportului CA/I** (0.5 ± 0.07 vs 0.44 ± 0.04 , $p=0.029$) **mai mare comparativ cu cei care nu au prezentat nici un criteriu de SM** (Figura 8.5). Media glicemiei a jeun ($p=0.633$), media indicelui HOMA ($p=0.168$), media indicelui Matsuda ($p=0.180$), media nivelului seric al trigliceridelor/HDL-colesterolului ($p=0.152$, respectiv $p=0.924$) și media acidului uric ($p=0.764$) au fost similare la cele 2 grupuri. De asemenea, nu am observat diferențe semnificative statistic în ceea ce privește media TSH-ului seric sau media scorului z al IGF-I ($p=0.849$, respectiv $p=0.589$) (Figura 8.5).

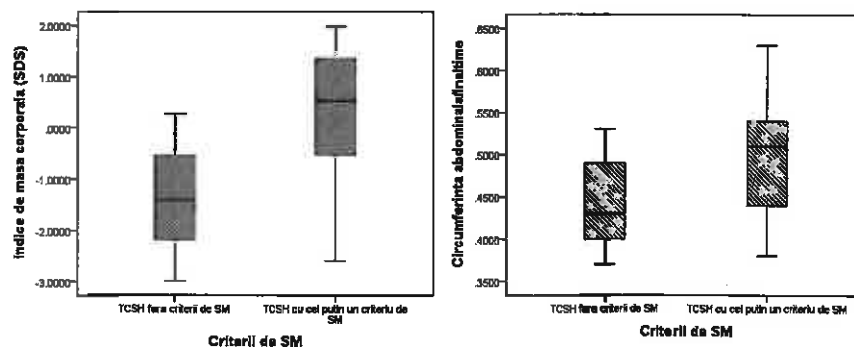


Figura 8.5. Compararea IMC-ului (A) și raportului CA/I (B) la pacienții cu TCSH care nu au prezentat nici un criteriu de SM față de cei cu cel puțin un criteriu

4. Compararea parametrilor clinici, biochimici și densitometrici la supraviețuitorii TCSH alogen comparativ cu TCSH autolog

Nu am găsit o diferență semnificativă statistic între cele două loturi în ceea ce privește media vârstei la efectuarea transplantului ($p=0.757$), media duratei de urmărire post-transplant (0.296), media scorului z al IMC-ului ($p=0.878$), media CA ($p=0.917$) sau media raportului CA/I ($p=0.393$). De asemenea, am observat că media HbA1c ($p=0.246$), media indicelui HOMA ($p=0.383$), media nivelului seric al colesterolului total/HDL-colesterol ($p=0.150$, respectiv $p=0.280$) și media indicelui VAI ($p=0.058$) au fost similare la cele 2 grupuri. De asemenea, *media raportului A/G* sau *media procentului total al MG din organism* a fost *similară la pacienții care au efectuat TCSH alogen*, respectiv *supraviețuitorii TCSH autolog* ($p=0.250$, respectiv $p=0.231$).

5. Compararea frecvenței componentelor sindromului metabolic între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor

Supraviețuitorii TCSH din copilărie au prezentat *o frecvență mai mare a HTA* (17.39% vs 0% , $p=0.047$) comparativ cu subiecții din grupul martor. Nu am găsit diferențe semnificative statistic în ceea ce privește frecvența $CA >$ percentila 75, tulburărilor metabolismului glucidic sau lipidic între cele 2 loturi. Evaluarea comparativă univariată a caracteristicilor clinice și biochimice ale pacienților transplantați versus subiecții din lotul martor este prezentată în Tabelul VIII.6. Observăm că nu s-au identificat diferențe semnificative în ceea ce privește media CA/CS, media nivelului seric al glicemiei a jeun, fracțiunilor lipidice, acidului uric, mediana insulinemiei a jeun, mediana indexului HOMA și VAI, media scorului Z al IGF-I și mediana TSH-ului între supraviețuitorii TCSH din copilărie și subiecții din lotul control. În schimb, am găsit o diferență semnificativă statistic pentru media glicemiei și mediana insulinemiei la 2 ore în TTGO și nivelul seric al 25-OH-vitaminei D între cele 2 grupuri, *supraviețuitorii TCSH având o medie a glicemiei în TTGO mai mare* (99.61 ± 20.11 mg/dl vs 87.53 ± 15.39 mg/dl, $p=0.049$), *mediana insulinemiei în TTGO mai mare* (16 , IQR 33 mUI/ml vs 17 , IQR 21 mUI/ml, $p=0.05$) și *media nivelului seric al 25-OH-vitaminei D mai mic* (15.42 , IQR 13.27 ng/ml vs 33.87 , IQR 17.02 ng/ml, $p=0.006$) comparativ cu lotul martor (Figura 8.7 A și B).

Tabelul VIII.6. Caracteristicile clinice și paraclinice ale supraviețuitorilor TCSH din copilărie/subiecților din lotul control incluși în prezentul studiu

	TCSH	Subiecți control	P
DATE CLINICE			
Vârsta actuală (ani), medie±DS	13.05±5.39	10.6±3.99	NS
IMC (scor z) actual, medie±DS	-0.82±1.41	0.14±1.15	0.026
IMC (scor z) la TCSH, mediana(IQR)	-0.14(1.98)	NA	
CA (cm), medie±DS	68.82±13.6	67.31±13.77	NS
CS (cm), medie±DS	74.92±14.14	72.63±22.02	NS
CA/CS, medie±DS	0.92±0.07	1.61±2.9	NS
CA/I, medie±DS	0.47±0.06	0.48±0.06	NS
TA sistolică (mmHg), medie±DS	101.4±17.96	95.69±6.12	NS
TA diastolică (mmHg), medie±DS	57.77±15.02	60.63±5.73	NS
DATE DE LABORATOR			
Glicemia a jeun (mg/dl), medie±DS	83.83±6.65	83±6.14	NS
Glicemie în TTGO (mg/dl), medie±DS	99.61±20.11	87.53±15.39	0.049
Insulina a jeun (microUI/ml), mediana(IQR)	4.5(6)	3(7)	NS
Insulina în TTGO (microUI/ml), mediana(IQR)	16(33)	17(21)	0.05
HOMA-IR, mediana(IQR)	0.89(1.03)	0.68(1.21)	NS
QUICKI, medie±DS	0.39±0.05	0.41±0.08	NS
HbA1c (%), mediana(IQR)	5.2(0.3)	5.4(0.4)	0.018
Colesterol total (mg/dl), medie±DS	165.73±34.01	173.12±31.66	NS
HDL-C (mg/dl), medie±DS	61.28±13.69	58.25±10.08	NS
LDL-C (mg/dl), medie±DS	95.32±26.66	101.87±24.15	NS
TG/HDL, mediana(IQR)	1.03(0.7)	0.68(1.21)	NS
TG (mg/dl), mediana(IQR)	61(29)	55(54)	NS
VAI, mediana(IQR)	1.31(1.44)	0.87(1.84)	NS
Acid uric (mg/dl), medie±DS	4.48±1.26	4.04±0.83	NS
IGF-I (scor z), medie±DS	-0.71±1.17	0.51±0.77	NS
TSH(mUI/ml), mediana(IQR)	3.06(2.07)	2.06(1.88)	NS
25-OH-vitamina D (ng/ml), mediana(IQR)	15.42(13.27)	33.87(17.02)	0.006
PARAMETRI DXA			
Total body fat %, medie±DS	30.33±10.05	NA	
Android fat %, medie±DS	24.15±14.77	NA	
Ginoid fat %, medie±DS	33.34±9.84	NA	
A/G, mediana(IQR)	0.62(0.45)	NA	
SINDROM METABOLIC (N, %)	2(6.9%)	1(6.25%)	NS
CA > p 75 (N, %)	6(20.7%)	3(18.75%)	NS
TA > p 90 (N, %)	4(13.8%)	0(0%)	0.047
Toleranța alterată la glucoză/ DZ	1(3.4%)	0(0%)	NS
HDL-C <50 mg/dl la fete, respectiv <45 mg/dl la băieți (N%)	5(17.2%)	2(12.5%)	NS
TG ≥100 mg /dl (N, %)	3(10.3%)	2(12.5%)	NS

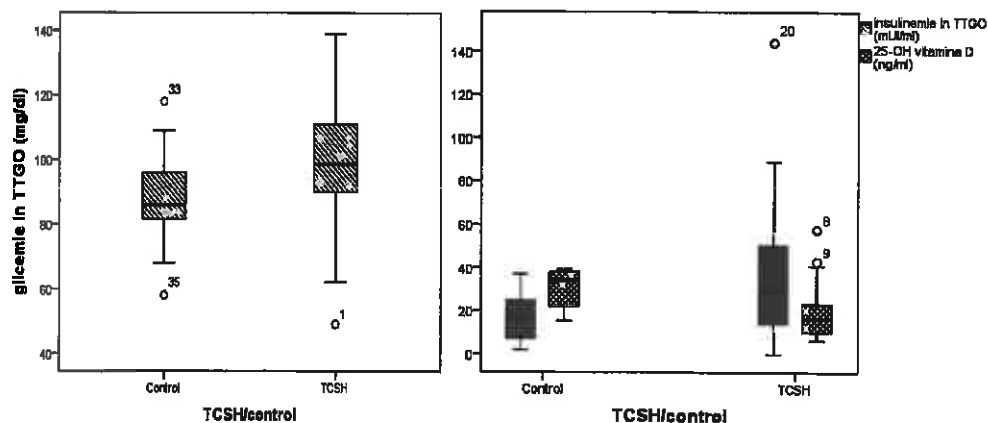


Figura 8.7. Comparația nivelului glicemiei în TTGO (A), respectiv al insulinemiei în TTGO și 25-OH-vitaminei D (B) la pacienții transplantați față de subiecții din lotul control

9. STUDIUL 6. AFECTAREA OSOASĂ LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE

9.1. OBIECTIVELE PRINCIPALE

1. *Evaluarea frecvenței afectării osoase* (scăderea DMO, fracturi de fragilitate, ON avasculară) la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un **regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie**
2. Identificarea factorilor care se asociază cu apariția complicațiilor osoase în rândul supraviețuitorilor TCSH care au efectuat **condiționare doar cu chimioterapie în doză mare**

OBIECTIVE SECUNDARE

1. Compararea frecvenței deficitului/insuficienței vitaminei D între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor
2. *Evaluarea relației între deficitul de masă osoasă și adipozitate* la supraviețuitorii TCSH din copilărie care au urmat un **regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie**

9.2. MATERIAL ȘI METODE

Au fost incluși în acest lot de studiu 21 pacienți transplantați care au întrunit concomitent următoarele **criterii de includere**: [1] vârsta la TCSH mai mică de 18 ani, [2] supraviețuirea după TCSH mai mult de un an, [3] regimul de condiționare s-a bazat numai pe chimioterapie, [4] au efectuat DXA post-transplant. Supraviețuitorii TCSH au fost comparați cu 16 subiecți sănătoși, potiviți pentru vârstă, sex și înălțime. Au fost excluși din lotul control subiecții cu boli cronice.

Protocolul de studiu

Evaluarea subiecților a inclus anamneză și examenul clinic, teste biochimice și hormonale și analiza DMO prin DXA descrise în capitolul **METODOLOGIE GENERALĂ**. Protocolul

de studiu a fost aprobat de Comisia de Etică a UMF Carol Davila și a SUU Elias. Pacienții/apartinătorii legali în cazul pacienților minori au semnat un consimțământ informat.

DXA a fost efectuată pe 2 aparate distincte: Lunar Prodigy Advance (PA+300878) și Lunar iDXA (ME+212018), fiecare fiind operat de un singur observator, iar software-ul a fost conceput pentru o populație pediatrică. Examinarea s-a realizat cu pacientul îmbrăcat cu îmbrăcăminte lejeră, fără fermoare, capse, nasturi metalice, catarama, bijuterii. S-a realizat o scanare a întregului corp mai puțin capul și s-au măsurat DMO, MG care a fost exprimată ca un procent din greutatea corporală totală și s-a calculat raportul A/G conform ghidului ISCD în vigoare (Petak et al., 2013).

DMO a fost ajustată pentru sex și vârstă, utilizând datele de referință bazate pe subiecți ambulatori sănătoși din populația generală, care nu aveau boli cronice ale osului și nu luau medicamente care ar fi putut să interfereze cu metabolismul osos. Scorurile z ale DMO au fost, de asemenea, ajustate pentru înălțime, utilizând o metodă descrisă de Zemel și colab. (Zemel et al., 2010, <https://bmcs.nichd.nih.gov/zscore.html>).

Definiții

DMO normală a fost definită ca un scor z al DMO ajustat în funcție de înălțime >-1 DS. În funcție de valoarea scorului z al DMO, am clasificat pacienții care prezentau un scor <-1 DS în 2 categorii, conform recomandărilor ISCD:

- Pacienți cu **risc de DMO scăzută pentru vârstă și sex** (scor z al DMO între -1 și -2 DS), respectiv
- Pacienți cu **DMO scăzută pentru vârstă și sex** (scor z al DMO <-2 DS)

Insuficiența 25-OH-vitaminei D a fost definită ca un nivel seric <30 ng/ml, în timp ce **deficitul 25-OH-vitaminei D** a fost definit ca o valoare <10 ng/ml al acesteia.

Corticoterapia prelungită a fost definită fie că glucocorticoizi administrați înainte de TCSH ($n=1$), fie continuând mai mult de 2 luni după efectuarea TCSH ($n=4$) într-o doză ≥ 5 mg echivalent zilnic de prednison.

ANALIZA STATISTICĂ

Datele au fost analizate cu ajutorul software-ului statistic SPSS pentru Windows, versiunea 20 (SPSS Inc. Chicago IL). Valoarea $p < 0.05$ a fost considerată semnificativă statistic în cazul tuturor analizelor.

9.2.3 REZULTATE

1. Caracteristicile generale ale populației studiate

Dintre pacienții care au îndeplinit criteriile de includere ($n=21$), 16 pacienți au fost transplantați pentru malignități hematologice/non-hematologice și 5 pentru tulburări hematologice nonmaligne. Lotul a cuprins 12 pacienți cu TCSH alogen și 9 pacienți cu TCSH autolog. Sursele celulelor hematopoietice la pacienții care au efectuat TCSH alogen au fost măduva osoasă ($n=7$) și sângele periferic ($n=4$), sângele periferic și măduva osoasă ($n=1$, a efectuat dublu transplant). Repartiția pe sexe a pacienților incluși în prezentul studiu a fost 8 pacienți de sex masculin și 13 de sex feminin, media vârstei la efectuarea procedurii de transplant a fost 10.19 ± 4.36 ani, cu o durată medie de urmărire post-TCSH de 3.82 ± 2.14 ani.

2. Evaluarea frecvenței afectării osoase la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie

În lotul nostru de 21 supraviețuitori ai TCSH care au urmat condiționare bazată exclusiv pe chimioterapie în doză mare am identificat **11 pacienți (52.38%) cu un scor z al DMO <-1 DS**, după cum urmează: 4 pacienți cu scor z al DMO ajustat în funcție de înălțime <-2 DS (19.04%) și 7 pacienți cu scor z al DMO ajustat în funcție de înălțime între -1 și -2 DS (33.3%) și **2 pacienți cu fracturi vertebrale (9.52%)**. Caracteristicile pacienților care au prezentat scorul z al DMO <-1DS și/sau fracturi de fragilitate sunt sumarizate în Tabelul IX.1.

Tabelul IX.1. Caracteristicile demografice, clinice și paraclinice ale supraviețuitorilor TCSH din copilărie care au prezentat scorul z al DMO <-1DS și/sau fracturi de fragilitate

Nr crt	Sex	Varsta TCSH	Boala Fond	Tipul TCSH	Timp TCSH -dg	Regim condiționare	GCG	Cortico terapie	25-OH-vitD (ng/ml)	Scor DMO ajustat înaltime	z	Fracturi
1.	F	8.33	LAM-M2	Allo	3.75	Bu/Cy	-	-	10.9	-1.18	-	-
2.	M	4.83	AA	Allo	5	Flu/Cy/ATG	-	-	6.28	-1.55	-	-
3.	M	12.91	AF	allo	4.25	Flu/Cy/ATG	-	-	23.02	-3.14	-	-
4.	F	5	LAM-M1	allo	2.5	Bu/Cy/ATG	-	-	22.65	-1.22	-	-
5.	M	10.83	AF	allo	4.91	Flu/Cy/ALZ	Da	Da	40.88	-1.42	-	-
6.	M	8	LAM-M1	allo/haplo	1.33	Bu/Cy/ATG+Flu/Mel	-	-	23.38	-2.89	-	-
7.	F	16.83	LH	auto	1.91	BEAM	-	-	14.79	-3.63	-	Da
8.	F	9.83	LH	auto	3	BEAM	-	-	17.59	-1.47	-	-
9.	F	9.83	LH	auto	1.58	BEAM	-	-	15.42	-1.8	-	-
10.	F	4.42	NB	auto	4.25	Bu/Mel	-	-	19.57	-1.25	-	-
11.	F	12.83	LH	auto	3.91	BEAM	-	-	10.59	-2.93	-	-
12.	F	11.66	BTM	allo	5.16	Flu/Thi Treo	Da	Da	16.91	-0.2	-	Da

De menționat că pacienții cu numărul 3 și 11 au fost subponderali, cu un scor z al IMC de -2.61 DS, respectiv -2.49 DS, pacientul cu numărul 6 a efectuat un dublu transplant, fiind supus de două ori regimului de condiționare, iar pacientele cu numărul 7 și 11 au efectuat iradiere

cervicală pentru tratamentul bolii de bază (limfom Hodgkin). Pacienta cu numărul 7, care a avut cel mai scăzut scor Z al DMO ajustat în funcție de înălțime, a prezentat o tasare asimptomatică la nivelul vertebrei toracale T7, evidențiată de evaluarea morfometriei vertebrale (VFA) la efectuarea DXA whole-body. De asemenea, este important de subliniat faptul că pacienta cu numărul 12 cu beta-talasemie majoră a prezentat convulsii la inițierea terapiei cu CsA care s-au soldat cu 2 tasări vertebrale (T5 și T6). Ulterior, a fost diagnosticată cu boală GCG gastro-intestinală severă pentru care a efectuat corticoterapie iv în doză mare, plasmafereză și transplant de celule mezenchimale. Totodată, în ciuda faptului că menarha s-a instalat spontan la 1 an după TCSH, a avut perioade lungi de timp cu disfuncție ovariană, iar evaluările imagistice din 2015 și 2016 au evidențiat multiple tasări vertebrale (T5-T8 și L3-L5). Totuși, osteodensitometria osoasă din aprilie 2017 cu efectuarea VFA a arătat o îmbunătățire semnificativă a DMO (scor Z al DMO=-1.3 DS, scor Z al DMO ajustat în funcție de înălțime=-0.2 DS) și a morfologiei vertebrale, doar 2 vertebre prezentând înălțime diminuată (T7 și T8).

3. Identificarea factorilor care se corelează cu apariția afectării osoase în rândul supraviețuitorilor TCSH după condiționarea efectuată exclusiv cu chimioterapie

DMO scăzută și/sau fracturile de fragilitate au fost prezente la 57.1% (n=12) dintre supraviețuitorii TCSH incluși în prezentul studiu. Prezența DMO scăzute la supraviețuitorii TCSH nu a fost asociată în studiul nostru cu vârstă mai mică de 10 ani la transplant (p=0.623), perioada mai lungă de urmărire post-transplant (p=0.611), regimul de condiționare (p=0.416) sau tipul bolii primare (p=0.330). Totodată, tipul transplantului (autolog/alogen) (p=0.899), prezența bolii GCG la pacienții care au efectuat TCSH alogen (p=0.576) și corticoterapia prelungită (p=0.558) nu au fost asociate semnificativ statistic cu o prevalență mai mare a afectării osoase la pacienții evaluați în cohorta noastră.

De asemenea, nu am găsit o corelație semnificativă statistic între scorul z al DMO ajustat în funcție de înălțime și scorul z al IMC-ului (p=0.312), scorul z al IGF-I (p=0.818), nivelul seric al 25-OH-vitaminei D (p=0.255), indicele HOMA al insulinorezistenței (p=0.607), raportul A/G (p=0.601) sau procentul total al MG din organism (p=0.673).

4. Compararea parametrilor clinici, biochimici și densitometrici la supraviețuitorii TCSH care au prezentat DMO scăzută și/sau fracturi de fragilitate față de pacienții TCSH care nu au prezentat afectare osoasă și subiecții din lotul control

Evaluarea comparativă multivariată a caracteristicilor clinice, biochimice și densitometrice ale pacienților transplantați care au prezentat scorul z al DMO <-1 DS și/sau fracturi de fragilitate versus pacienții transplantați care nu au prezentat afectare osoasă și subiecții din lotul martor este prezentată în Tabelul IX.2. Observăm că nu am găsit diferențe semnificative statistic între grupuri în ceea ce privește media vârstei la efectuarea TCSH (p=0.491), media duratei de timp între procedura de TCSH și diagnosticul afectării osoase (p=0.382), media scorului z al IMC-ului (p=0.076), media raportului CA/I (p=0.146) sau media raportului CA/CS (p=0.081). Mediana indicilor HOMA ai insulinorezistenței (p=0.729), respectiv ai adipozității viscerale (p=0.213), mediana nivelului seric al TSH-ului (p=0.799) și

mediana scorului z al IGF-1 ($p=0.868$) au fost similare între cele 3 grupuri. În ceea ce privește parametrii densitometrici, nu am găsit diferențe semnificative statistic între media A/G ($p=0.260$) și al procentului total al MG din organism ($p=0.768$) la supraviețuitorii TCSH care au prezentat complicații osoase versus cei care nu au avut DMO scăzută sau fracturi de fragilitate. Totodată, frecvența coticoterapiei prelungite sau a disfuncție gonadice a fost similară la supraviețuitorii TCSH care au avut complicații osoase comparativ cu cei care nu au prezentat afectarea metabolismului osos. În schimb, testul ANOVA cu analiza post-hoc Bonferonni a arătat că **media nivelului seric al 25-OH-vitaminei D a fost semnificativ mai mic la pacienții TCSH comparativ cu subiecții din lotul control ($p<0.001$)**, dar nu a diferit semnificativ statistic între supraviețuitorii TCSH care au prezentat afectare osoasă și cei cu scor z al DMO în limite normale ($p=0.377$).

Tabelul IX.2. Caracteristicile clinice, biochimice și densitometrice ale pacienților transplantați care au prezentat DMO scăzută și/sau fracturi de fragilitate versus pacienții transplantați care nu au prezentat afectare osoasă și subiecții din lotul martor

Parametru	Pacienți TCSH cu afectare osoasă (N=12)	Pacienți TCSH fara afectare osoasă (N=9)	Subiecți control (N=16)	P
DATE CLINICE				
Vârsta la evaluarea actuală (ani), medie±DS	12.57±3.65	15.13±6.06	10.6±3.99	NS
Vârsta la efectuarea TCSH (ani), medie±DS	9.6±3.74	10.97±5.21	NA	NS
Durata maximă de urmărire post-TCSH (ani), medie±DS	3.46±1.36	4.31±2.91	NA	NS
IMC (scor z) la evaluarea actuală, medie±DS	-1±1.17	-0.49±1.62	0.14±1.15	NS
IMC (scor z) la TCSH, mediana(IQR)	-0.83(1.90)	-0.01(3.59)	NA	NS
CA/I, medie±DS	0.45±0.06	0.45±0.06	0.48±0.06	NS
CA/CS, medie±DS	0.91±0.05	0.93±0.1	1.61±2.9	NS
DATE DE LABORATOR				
HOMA-IR, mediana(IQR)	1.24(1.7)	0.88(2.15)	0.68(1.21)	NS
QUICKI, medie±DS	0.39±0.06	0.38±0.05	0.41±0.08	NS
VAL, mediana(IQR)	1.94(2.16)	3.01(1.02)	0.87(1.84)	NS
IGF-I (scor Z), medie±DS	-0.64±1.2	-0.73±1.23	0.51±0.77	NS
TSH(mUI/ml), mediana(IQR)	3.45(3.06)	2.63(1.75)	2.06(1.88)	NS
25-OH-vitamina D (ng/ml), mediana(IQR)	17.25(11.05)	9.83(9.08)	33.87(17.02)	<0.001
Corticoterapie prelungită, N (%)	2(40%)	3(60%)		NS
Disfuncție gonadică, N (%)	6(46.15%)	7(53.85%)		NS
PARAMETRI DXA				
Scor z DMO, medie±DS	-1.8±0.54	-0.7±0.86	NA	0.003
Scor z DMO ajustat în funcție de înălțime, medie±DS	-1.89±1.01	0.24±0.93	NA	0.001
MG %, medie±DS	31.7±8.35	30.3±12.75	NA	NS
A/G, medie±DS	0.64±0.18	0.76±0.31	NA	NS

10. STUDIUL 7. AFECTAREA SUPRARENALIANĂ LA SUPRAVIEȚUITORII TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE DIN COPILĂRIE

10.1 OBIECTIVE

*Evaluarea frecvenței insuficienței corticosuprarenaliene la supraviețuitorii pe termen lung ai TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un **regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie***

10.2. MATERIAL ȘI METODE

Au fost incluși în acest lot de studiu 23 pacienți transplantați care au întrunit concomitent următoarele *criterii de includere*: [1] vârsta la efectuarea TCSH mai mică de 18 ani, [2] supraviețuirea după TCSH mai mult de un an, [3] regimul de condiționare s-a bazat numai pe chimioterapie și [3] intervalul liber de corticoterapie mai mare de 1 an. Pentru analiza comparativă am utilizat un lot martor constituit din 16 copii clinic sănătoși, potriviți pentru vârstă, sex și dezvoltare pubertară cu participanții transplantați.

Funcția corticosuprarenaliană a fost evaluată clinic și biochimic. Concentrațiile plasmatice ale cortizolului și ACTH-ului au fost determinate în probele de sânge recoltate dimineață în intervalul orar 8-9.

Procedura de TCSH

Regimurile de condiționare au fost pe bază de *Bu* (n=10) și regimuri pe bază de *Flu/Cy* (n=6) în cazul TCSH alogen, respectiv *BEAM* (n=7) pentru cei care au efectuat auto-TCSH. *Corticoterapia prelungită* a fost definită fie că glucocorticoizi administrați înainte de TCSH (n=7), fie continuând mai mult de 2 luni după efectuarea TCSH (n=5), într-o doză ≥ 5 mg echivalent zilnic de prednison.

Definiții

ICSR secundară a fost definită ca un nivel seric al cortizolului < 5 micrograme/dl, însoțit de o valoare scăzută/normală a ACTH-ului seric. *ICSR primară* a fost definită ca un nivel seric scăzut al cortizolului însoțit de o valoare crescută a ACTH-ului seric.

10.3. REZULTATE

1. Caracteristicile generale ale populației studiate

Dintre cei 23 pacienți care au îndeplinit criteriile de includere în studiu, 17 pacienți au fost transplantați pentru malignități hematologice și non-hematologice și 6 pentru tulburări hematologice nonmaligne. Lotul a cuprins 15 pacienți cu alo-TCSH și 8 pacienți cu auto-TCSH. Media vârstei la efectuarea procedurii de transplant a fost 8.8 ± 4.29 ani (IC 5.73-11.87), iar mediana duratei de urmărire post-TCSH de 1.91 ani (interval 1-7.08), cu o mediană a intervalului de timp fără corticoterapie de 1.74 ani (interval 1-7).

2. Evaluarea frecvenței insuficienței corticosuprarenaliene la supraviețuitorii pe termen lung ai TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie

Nici unul din pacienții care au întrunit criteriile de includere în prezentul studiu nu a avut o concentrație plasmatică < 5 micrograme/dl a cortizolului seric. În schimb, 3 pacienți au

prezentat un nivel al ACTH-ului seric peste limita superioară a normalului. Toți acești pacienți cu ACTH seric crescut, dar concentrație plasmatică normală a cortizolului au avut un interval liber fără glucocorticoizi de 1 an.

3. Compararea mediei concentrației serice a cortizolului și ACTH-ului între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor

Nu am găsit diferențe semnificative statistic între media nivelului seric al cortizolului la supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor (11.56 ± 4.18 ug/dl vs 9.41 ± 3.90 , $p=0.109$) și nici în ceea ce privește mediana nivelului seric al ACTH-ului (32.96 pg/ml, interval $1.67-100$ pg/ml vs 44.06 pg/ml, interval $22.39-129.6$ pg/ml, $p=0.107$).

După segregarea lotului supraviețuitorilor TCSH în funcție de expunerea/nu la glucocorticoizi am observat că media nivelului seric al cortizolului la evaluarea actuală, după cel puțin un an de la finalizarea tratamentului cu glucocorticoizi, a fost similară la pacienții transplantați care au urmat corticoterapie prelungită comparativ cu cei care nu au fost expuși la glucocorticoizi și subiecții din lotul control (10.58 ± 4.67 ug/dl vs 12.31 ± 3.78 ug/dl, respectiv 9.41 ± 3.90 ug/dl, $p=0.175$). De asemenea, nu am găsit diferențe semnificative în ceea ce privește mediana nivelului seric al ACTH-ului în cele 3 loturi (31.11 pg/ml, interval $17.49-100$ pg/ml, vs. 35.66 pg/ml, interval $11.67-47.59$ pg/ml, respectiv 44.06 pg/ml, interval $22.39-129.6$ pg/ml, $p=0.620$).

11. DISCUȚII ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

Cele 7 studii s-au axat pe *evaluarea complicațiilor endocrine și metabolice după TCSH efectuat în copilărie și adolescență la un grup de 30 supraviețuitori ai TCSH* (14 M/16 F, vârsta medie la evaluare 13.19 ± 5.35 ani, vârsta medie la efectuarea TCSH 10 ± 4.45 ani, durata medie de urmărire 3.57 ± 2.15 ani). Cea mai frecventă complicație endocrină a fost *disfuncția gonadică* (91% la paciențele de sex feminin, 50% la pacienții de sex masculin), urmată de *scăderea DMO/fracturi de fragilitate* (52.38%), *complicații tiroidiene* (35.71%), *malnutriție* (27.5%), *dislipidemie* (27.5%), *tulburările dezvoltării pubertare* (27.27%), *hipostaturalitate* (18.18%) și *insulinorezistență* (6.89%). *Aproape 90%* din pacienții care au efectuat *condiționare exclusiv cu chimioterapie* evaluați în studiul nostru *au prezentat cel puțin o complicație tardivă endocrină* (complicații tiroidiene, tulburări ale creșterii liniare, tulburări ale dezvoltării pubertare și disfuncție gonadică, sindrom metabolic, DMO scăzută și/sau fracturi de fragilitate), după cum urmează: 11 pacienți (37.93%) au avut o complicație endocrină, 7 pacienți (24.13%) au prezentat 2 complicații endocrine tardive, 5 pacienți (17.24%) au avut 3 complicații endocrine, iar 1 pacient (3.44%) a prezentat 4 complicații tardive endocrine. Pacienții care au prezentat mai mult de 2 complicații endocrine cronice ($n=6$) au avut o perioadă de urmărire post-TCSH de 4 ani (interval $1.91-5.16$ ani), 4 dintre ei au efectuat TCSH alogen și 2 pacienți TCSH autolog. Este important de menționat faptul că paciențele cu autogrefare au avut istoric de iradiere cervicală în cadrul tratamentului bolii de bază (LH) și 5/6 pacienți au fost expuși la corticoterapie prelungită (3/4 pacienți pentru boala GCG post-grefare alogenică și cele 2 pacienți cu LH în cadrul protocolului chimioterapic anterior TCSH). Rezultatele studiului nostru subliniază importanța monitorizării pe tot parcursul vieții a tuturor pacienților transplantați în copilărie/adolescență, indiferent de tipul TCSH efectuat (autolog/alogenic) sau regimul de condiționare.

În *Studiul 1* am urmărit *evaluarea frecvenței anomaliilor tiroidiene, morfologice și funcționale*, la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un *regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie* și identificarea factorilor care se asociază cu apariția complicațiilor tiroidiene în rândul supraviețuitorilor TCSH. Totodată, am comparat frecvența complicațiilor tiroidiene între supraviețuitorii TCSH și subiecții din lotul martor, potriviți pentru vârstă și sex. Frecvența anomaliilor tiroidiene identificate în studiul nostru a fost de 35.71% (10/28). Trei pacienți au prezentat hipotiroidism subclinic, un pacient a fost diagnosticat cu BB și 4 pacienți cu tiroidită autoimună normofuncțională în timp ce alți 2 pacienți au prezentat anomalii structurale tiroidiene, dar nu au avut titruri crescute de anticorpi antitiroidieni. Rezultatele noastre sunt concordante cu datele din literatură care raportează o prevalență a hipotiroidismului post-transplant de la 0% până la 52% dintre pacienți (Dvorak et al., 2011, Baker et al., 2010). Toți pacienții care au fost diagnosticați cu hipotiroidism în studiul de față au efectuat TCSH pentru *limfom Hodgkin*. Similar, datele din literatură descriu o incidență cumulativă a disfuncției tiroidiene de 73% la pacienții cu LH (Dvorak et al., 2011, Sanders et al., 2009). În cohorta noastră, niciunul dintre supraviețuitorii TCSH care au primit regimuri bazate pe Bu (n=10) nu a prezentat disfuncție tiroidiană, deși Sanders și colab. au arătat că cel mai mare risc de disfuncție tiroidiană apare la pacienții care au primit condiționare cu Bu/Cy. Un aspect important de menționat, totuși, este faptul că în studiul citat anterior, hipotiroidismul a continuat să apară la 10 ani după efectuarea condiționării pre-TCSH cu Bu/Cy, iar perioada medie de urmărire a pacienților noștri a fost aproximativ 3 ani.

Am explorat, de asemenea, impactul TCSH asupra volumului tiroidian și am observat că supraviețuitorii TCSH din copilărie au avut un *scor z mediu al volumului tiroidian mai mic* ($p=0.003$) și *o medie a nivelului seric al TT3 mai mare* ($p=0.037$) comparativ cu lotul martor. O posibilă explicație ar putea fi legată de o creștere a necesarului de hormoni tiroidieni activi în țesuturi în perioada de refacere post-TCSH care se realizează pe seamă creșterii activității deiodinazelor. Nu am găsit nici o raportare în literatura de specialitate referitoare la volumul tiroidian la supraviețuitorii TCSH din copilărie, *studiul nostru fiind primul care a evaluat acest aspect*.

Am identificat în cohorta noastră un caz de BB, care a apărut la 3.5 ani post-TCSH alogen pentru anemie Fanconi, după condiționarea cu alemtuzumab. După 6 luni de la diagnostic, pacientul a dezvoltat OG, care a răspuns favorabil la administrarea puls-terapiei cu metilprednisolon. OG este o complicație rară la pacienții transplantați, iar mecanismele incriminate sunt autoimunitatea adoptată de la donator sau reconstituirea imună din cadrul bolii GCG cronice. Un alt mecanism posibil ar putea fi legat de terapia cu alemtuzumab, deși nu am găsit nici o raportare în literatura de specialitate a OG la un pacient transplantat care a primit condiționare cu acest anticorp monoclonal. Recent, au fost descrise 3 cazuri de boala tiroidiană autoimună la pacienți pediatrici post-TCSH, debutate după condiționarea cu alemtuzumab (Williams et al., 2014) și de asemenea există în literatură câteva raportări de OG la pacienții cu scleroză multiplă tratați cu alemtuzumab (Tsourdi et al., 2015, Daniels et al., 2014, Trinh et al., 2016). Cazul nostru a fost recent acceptat spre publicare în revista Clinical CaseReports.

Studiul 2 a avut drept obiectiv *identificarea frecvenței hipostaturalității și tulburărilor de dezvoltare pubertară* la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat *condiționare numai cu chimioterapie*, și precizarea factorilor care se asociază cu prezența acestor complicații la pacienții transplantați. În lotul nostru de 22 supraviețuitori ai TCSH care au îndeplinit criteriile de includere în acest studiu am identificat 4 pacienți cu

hipostaturalitate (18.18%). Factorii care s-au asociat cu prezența hipostaturalității la supraviețuitorii TCSH din cohorta noastră au fost: **diagnosticul bolii primare, tipul transplantului și perioada mai lungă de urmărire post-transplant**. Astfel, pacienții transplantați pentru **beta-talasemie majoră** au prezentat un risc mai mare de hipostaturalitate în comparație cu pacienții cu boli hematologice non-maligne (anemie aplazică și anemie Fanconi) și cei cu boli maligne hematologice/nonhematologice (100% vs 16.66% și respectiv 7.69%, $p=0.04$). **Grefarea alogenică** în comparație cu cea autologă (25% vs 0%, $p=0.019$) și **perioada de urmărire mai mare de 5 ani** după efectuarea procedurii de TCSH (60% vs 6.25%, $p=0.012$) au fost asociate cu o **prevalență mai mare a staturii joase** în studiul nostru. În ceea ce privește impactul TCSH asupra dezvoltării pubertare, am identificat 3 paciente care au prezentat tulburări ale dezvoltării pubertare după TCSH alogen. Este important de menționat faptul că toate trei au efectuat regimul de condiționare **Bu/Cy**. Constatările noastre sunt similare cu datele din literatură care au raportat o prevalență de 72% a pubertății absente/oprite în evoluție după condiționarea cu Bu/Cy (Dvorak et al., 2011).

Studiul 3 și Studiul 4 s-au axat pe **descrierea complicațiilor legate de funcția gonadică care apar la supraviețuitorii TCSH din copilărie/adolescență după încheierea pubertății** și menționarea **metodelor de prezervare a funcției gonadice și, posibil, a fertilității** care se pot implementa în funcție de statusul dezvoltării pubertare a pacientului la momentul efectuării procedurii de transplant. **Studiul 3** a arătat că **mai mult de 90%** din pacientele care au efectuat TCSH după **condiționare bazată exclusiv pe chimioterapie** au prezentat **disfuncție gonadică/rezervă foliculară scăzută**. O singură pacientă a prezentat cicluri menstruale regulate și valori serice ale FSH <10 mUI/ml în cohorta noastră. Valori ale FSH >40 mUI/ml, sugestive pentru diagnosticul de insuficiență ovariană primară, au prezentat numai pacientele care au efectuat TCSH alogen. În schimb, cele cu autogrefă au avut rezervă ovariană scăzută. În **Studiul 4** am identificat 4 pacienți (50%) de sex masculin cu disfuncție gonadică. Toți cei patru pacienți au prezentat o concentrație plasmatică a FSH-ului >18 mUI/ml, dar numai 2 subiecți au înregistrat nivele scăzute ale testosteronului seric. Din păcate, una din limitările studiului nostru a fost imposibilitatea de a efectua spermogramă la pacienții incluși în studiu pentru a identifica afectarea spermatogenezei. Singurul pacient din studiu care a urmat condiționare pe bază de **Bu** a prezentat un nivel seric crescut al FSH-ului, însoțit de un nivel seric scăzut al testosteronului, sugerând o insuficiență gonadică primară.

Studiul 5 a urmărit **evaluarea frecvenței SM/componențelor sale** la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un **regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie**, identificarea prezenței **modificărilor de compoziție corporală** la aceștia și analizarea relației dintre tipul transplantului (autolog/alogenic) și parametrii densitometrici ce reflectă modificările compoziției corporale la pacienții transplantați. Din cei 29 pacienți incluși în studiul 6, **2 pacienți (6.9%)** au fost diagnosticați cu **SM**, iar **10 pacienți (34.5%)** au prezentat **cel puțin un criteriu de SM**, și mai mult de jumătate din pacienții evaluați (**63.63%, 14/22 pacienți**) au avut raportul **A/G crescut**, subliniind importanța supravegherii pe termen lung chiar și a pacienților care nu au efectuat condiționare cu TBI.

Un singur pacient din lotul nostru s-a încadrat în categoria supraponderalității (IMC > percentila 85), în timp ce alți 2 pacienți au avut obezitate (IMC > percentila 95); în schimb 27.5% au prezentat subponderalitate. **Analiza compoziției corporale** prin **DXA** a arătat că și pacienții care nu au IMC-ul crescut pot prezenta un **procent mare al MG totale** și un **raport A/G crescut**. Rezultatele noastre întăresc constatările unor studii recente privind

limitarea utilizării IMC-ului ca unealtă de estimare a riscului cardiovascular la supraviețuitorii cancerului din copilărie (Ruble et al., 2012).

Un alt rezultat notabil al studiului nostru a fost demonstrarea asocierii între **raportul CA/CS și raportul A/G**. Recent, Samsell și colab. au demonstrat că există o asocieră între raportul A/G și rezistența la insulină, respectiv dislipidemie, indiferent de greutatea copilului (Samsell et al., 2014). Constatarea că raportul A/G este corelat cu factorii de risc, atât pentru bolile metabolice, cât și cardiovasculare, la băieții cu greutate normală este extrem de importantă, deoarece poate indica necesitatea evaluării riscului bolilor metabolice și cardiovasculare la copiii aparent fără obezitate, dar care prezintă un risc crescut de obezitate sarcopenică, așa cum sunt și supraviețuitorii TCSH. Astfel de rezultate, odată confirmate prin studii prospective mai ample, ar putea avea o semnificație clinică majoră. Măsurarea de rutină a raportului CA/CS, o manevră, de altfel, facil de efectuat în practica clinică curentă, ar putea identifica subgrupuri de pacienți cu risc semnificativ de dezvoltare a complicațiilor metabolice și/sau cardiovasculare, mai ales în cazurile în care nu este disponibilă evaluarea DXA a compoziției corporale la subiecții respectivi.

O altă constatare importantă a studiului nostru a fost faptul că **media procentului MG din organism și a raportului A/G** au fost similare la pacienții cu **grefare autologă** și cei care au efectuat **TCSH alogen**, deși majoritatea studiilor publicate până în prezent s-au axat pe identificarea modificărilor compoziției corporale la pacienții cu grefare alogenă. Concluzia care derivă din aceste rezultate este că toți supraviețuitorii TCSH din copilărie, deopotrivă, prezintă un profil metabolic advers, indiferent de tipul transplantului efectuat. Totodată, din cunoștințele noastre, **studiul de față este primul care a evaluat relația între tipul TCSH și modificările compoziției corporale obiectivate prin DXA**, într-o populație de pacienți care au efectuat **condiționare exclusiv cu chimioterapie în doză mare**.

Un alt rezultat notabil al cercetării noastre a fost evidențierea **corelației între indicele de adipozitate viscerală (VAI) și indicele HOMA al insulinorezistenței la supraviețuitorii TCSH din copilărie** ($r^2=0.384$, $p=0.001$). VAI este un indice nou specific sexului, care se calculează pe seama unor parametri auxologici (CA și IMC) și biochimici (parametrii profilului lipidic) (Amato et al., 2010), iar valoarea predictivă a acestui indice în evaluarea riscului cardiometabolic nu a fost studiat până în prezent la supraviețuitorii TCSH din copilărie. Acest studiu este **primul care a demonstrat relația de asocieră între VAI și insulinorezistență la pacienții transplantați**, dintre cele mai bune cunoștințe ale autoarei.

Un alt aspect important de menționat este **frecvența mică a insulinorezistenței ($n=2$) identificată la pacienții noștri**, care poate fi explicată probabil de faptul că aceștia **nu au fost expuși la TBI**. Totodată, studiul nostru nu a identificat o legătură între indicele HOMA și raportul A/G la supraviețuitorii TCSH din copilărie evaluați, în ciuda faptului că Samsell și colab. au arătat că raportul A/G a explicat 46% din variația indicelui HOMA la copiii din populația generală, indiferent de statusul nutrițional al acestora. O posibilă explicație ar fi aceea că distribuția anormală a grăsimii la recipienții TCSH nu este influențată numai de insulinorezistență, ci de mecanisme mai complexe, legate de transplant (terapiile utilizate pentru tratamentul bolii primare/condiționare, dereglările imune care apar în contextul TCSH, boală GCG).

Studiul 6 și-a propus **descrierea modificărilor osoase** care apar la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un **regim de condiționare bazat exclusiv pe**

chimioterapie și identificarea factorilor care se asociază cu aceste complicații la pacienții transplantați. În lotul nostru de 21 supraviețuitori ai TCSH care au urmat condiționare bazată exclusiv pe chimioterapie în doză mare am identificat **11 pacienți (52.38%) cu un scor z al DMO <-1 DS**, după cum urmează: 4 pacienți cu scor z al DMO ajustat în funcție de înălțime <-2 DS (19.04%) și 7 pacienți cu scor z al DMO ajustat în funcție de înălțime între -1 și -2 DS (33.3%) și **2 pacienți cu fracturi vertebrale (9.52%)**. Rezultatele noastre sunt concordante cu datele din literatură care arată că supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență au o DMO mai scăzută în comparație cu cei care au fost tratați conservator cu chimioterapie pentru afecțiunea de bază (Petryk et al., 2014, Le Meignen et al., 2011) și au, de asemenea, o prevalență crescută a fracturilor asimptomatice (Taskinen et al., 2007, Helenius et al., 2006).

Majoritatea pacienților evaluați în studiul nostru, indiferent de scorul z al DMO, au prezentat un **nivel seric al 25-OH vitaminei D mai mic decât normalul**. Pe lângă rolul său major pentru sănătatea osoasă, s-a demonstrat că vitamina D joacă un rol important în reducerea riscului de apariție a multor boli cronice: DZ de tip 2, boli cardiovasculare, boală renală cronică, cancer, dar și boli infecțioase. Având în vedere faptul că prevalența tuturor acestor boli la supraviețuitorii TCSH este mai mare decât în populația generală ca urmare a complicațiilor cronice și imunosupresiei și, ținând cont și de rata mare a deficitului/insuficienței vitaminei D raportată de studiile epidemiologice din țara noastră (26%, respectiv 33% din populație)(Chirița et al., 2015), este foarte importantă monitorizarea nivelului seric al 25-OH-vitaminei D și corectarea precoce a insuficienței/deficitului de vitamină D post-TCSH.

Ultimul studiu s-a axat pe **descrierea funcției corticosuprarenaliene** la supraviețuitorii TCSH efectuat în copilărie/adolescență care au urmat un **regim de condiționare bazat exclusiv pe chimioterapie**. Nici unul din cei 23 pacienți transplantați care au efectuat condiționare exclusiv cu chimioterapie evaluați în prezentul studiu nu a prezentat o concentrație plasmatică scăzută a cortizolului. În schimb, trei dintre supraviețuitori au avut ACTH seric crescut. De remarcat faptul că toți cei trei pacienți cu ACTH peste limita superioară a normalului au urmat corticoterapie prelungită și se aflau la un an de la încheierea terapiei cu glucocorticoizi, fiind probabil în faza de refacere a funcționalității axei hipotalamo-hipofizo-adrenale, care se poate însoți de un nivel ușor crescut al ACTH-ului. Totuși, una din limitările studiului nostru a fost reprezentată de dozarea cortizolului și ACTH-ului plasmatic în condiții bazale, fără a efectua testele de stimulare cu ACTH. Testul de stimulare cu Synacten trebuie efectuat întotdeauna pentru excluderea disfuncției axei hipotalamo-hipofizo-suprarenale după tratamentul cu doze mari și/sau cronice cu glucocorticoizi (Orio et al., 2014, Vantyghem et al., 2014).

12. CONCLUZII

Întrucât supraviețuirea pe termen lung a devenit un rezultat așteptat pentru mulți copii și adolescenți transplantați este crucială monitorizarea pacienților pe tot parcursul vieții după efectuarea TCSH în vederea recunoașterii precoce a complicațiilor și instituirii rapide a tratamentului acestora. Astfel, încercările de a reduce morbiditatea/mortalitatea și a asigura o bună QoL în rândul pacienților transplantați aduc în prim plan nevoia formării unei **echipe interdisciplinare care să urmărească pe termen lung supraviețuitorii TCSH din copilărie**.

13. FINANTARE

Această cercetare a fost parțial susținută de proiectul „Dezvoltarea resurselor umane-doctoranzi și postdoctoranzi-pentru cercetare de excelență în domeniile sănătate și

biotehnologii”, contract: POSDRU/159/1.5/S/141531, la care am participat ca doctorand în perioada 2014-2015.

14. BIBLIOGRAFIE SELECTIVA

AMATO MC, GIORDANO C, GALIA M, et al. Visceral Adiposity Index: A reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care*. 2010; 33:920-9.

AYDINER Ö, KARAKOÇ AYDINER E, AKPINAR İ, et al. Normative Data of Thyroid Volume-Ultrasonographic Evaluation of 422 Subjects Aged 0-55 Years. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 2015; 7(2):98-101.

BAKER KS, BHATIA S, BUNIN N, et al. NCI, NHLBI first international consensus conference on late effects after pediatric hematopoietic cell transplantation: state of the science, future directions. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17(10):1424-7.

BAKER KS, CHOW E, STEINBERGER J. Metabolic syndrome and cardiovascular risk in survivors after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 47(5):619-25.

BRESTER D, VAN GILS IC, KOLLEN WJ, et al. High burden of late effects after haematopoietic stem cell transplantation in childhood: a single-centre study. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 45(1):79-85.

BRIGNARDELLO, E, FELICETTI F, CASTIGLIONE A, et al. Endocrine health conditions in adult survivors of childhood cancer: the need for specialized adult-focused follow-up clinics. *Eur J Endocrinol*. 2013; 168(3):465-72.

CHEMAITILLY W & COHEN LE. Endocrine late-effects of childhood cancer and its treatments. *Eur J Endocrinol*. 2017; 176(4):183-203.

CHIRITA-EMANDI A, SOCOLOV D, HAIVAS C, et al. Vitamin D Status: A Different Story in the Very Young versus the Very Old Romanian Patients. *PLoS ONE*. 2015; 10(5): e0128010.

DANIELS GH, VLADIC A, BRINAR V, et al. Alemtuzumab-related thyroid dysfunction in a phase 2 trial of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014; 99:80-89.

DVORAK CC, GRACIA CR, SANDERS JE, et al. NCI, NHLBI/PBMTTC first international conference on late effects after pediatric hematopoietic cell transplantation: endocrine challenges-thyroid dysfunction, growth impairment, bone health, and reproductive risks. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17:1725-38.

ELMLINGER MW, KÜHNEL W, WEBER MM, RANKE MB. Reference ranges for two automated chemiluminescent assays for serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3). *Clin Chem Lab Med*. 2004; 42(6):654-64.

FREEDMAN DS, WANG J, THORNTON JC, et al. Classification of body fatness by body mass index-for-age categories among children. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2009; 163(9):805-11.

GOKCEBAY DG, AZIK F, BAYRAM C, et al. Evaluation of endocrine and metabolic dysfunctions after hematopoietic stem cell transplantation in children: a study from Turkey. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2017; 30(6):683-691.

HELENIUS I, REMES V, SALMINEN S, et al. Incidence and predictors of fractures in children after solid organ transplantation: a 5-year prospective, population-based study. *J Bone Miner Res*. 2006; 21:380-387.

INAMOTO Y & LEE SJ. Late Effects of Blood And Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2017; 102:614-625.

KHERA N, STORER B, FLOWERS ME, et al. Nonmalignant late effects and compromised functional status in survivors of hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2012; 30(1):71-77.

LE MEIGNEN M, AUQUIER P, BARLOGIS V, et al. Bone mineral density in adult survivors of childhood acute leukemia: Impact of hematopoietic stem cell transplantation and other treatment modalities. *Blood*. 2011; 118:1481–1489.

MAJHAIL NS & RIZZO JD. Surviving the cure: long term follow-up of hematopoietic cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplantation*. 2013; 48:1145–1151.

MAJHAIL NS, RIZZO JD, LEE SJ, et al. Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 47(3):337–41.

MARTIN PJ, COUNTS GW, APPELBAUM FR, et al. Life expectancy in patients surviving more than 5 years after hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2010; 28(6):1011–1016.

PETAK S, BARBU CG, YU EW, et al. The official positions of the international society for clinical densitometry: body composition analysis reporting. *Journal of Clinical Densitometry*. 2013;16(4):508–519.

PETRYK A., POLGREEN L.E., ZHANG L., et al. Bone mineral deficits in recipients of hematopoietic cell transplantation: The impact of young age at transplant. *Bone Marrow Transpl*. 2014; 49:258–263.

PRADER A. Testicular size: assessment and clinical importance. *Triangle*. 1966; 7:240–243.

RUBLE K, HAYAT M, STEWART KJ, CHEN A. Body composition after bone marrow transplantation in childhood. *Oncol Nurs Forum*. 2012; 39(2):186–92.

SAMSELL L, REGIER M, WALTON C, COTTRELL L. Importance of android/gynoid fat ratio in predicting metabolic and cardiovascular disease risk in normal weight as well as overweight and obese children. *J Obes*. 2014; 2014:846578.

SANDERS JE, HOFFMEISTER PA, WOOLFREY AE, et al. Thyroid function following hematopoietic cell transplantation in children: 30 years' experience. *Blood*. 2009; 113(2):306–308.

SUN CL, FRANCISCO L, KAWASHIMA T, et al. Prevalence and predictors of chronic health conditions after hematopoietic cell transplantation: a report from the Bone Marrow Transplant Survivor Study. *Blood*. 2010; 116(17):3129–3139.

TANNER JMWR. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Child*. 1976; 51: 170–179.

TASKINEN M, SAARINEN-PIHKALA UM, HOVI L, VETTENRANTA K, MAKITIE O. Bone health in children and adolescents after allogeneic stem cell transplantation: High prevalence of vertebral compression fractures. *Cancer*. 2007; 110:442–451.

TRINH T, HARIDAS AS, SULLIVAN TJ. Ocular Findings in Alemtuzumab (Campath-1H)-induced Thyroid Eye Disease. *Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery*. 2016; 32:128–129.

TSOURDI E, GRUBER M, RAUNER M, et al. Graves' disease after treatment with alemtuzumab for multiple sclerosis. *Hormones (Athens)*. 2015; 14:148–153.

VANTYGHM MC, CORNILLON J, DECANter C et al. Management of endocrino-metabolic dysfunctions after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Orphanet J Rare Dis*. 2014; 9:162.

WILLIAMS KM, DIETZEN D, HASSOUN AA, et al. Autoimmune thyroid disease following alemtuzumab therapy and hematopoietic cell transplantation in pediatric patients with sickle cell disease. *Pediatric Blood & Cancer*. 2014; 61: 2307–2309.

WINGARD JR, MAJHAIL NS, BRAZAUSKAS R, et al. Long-term survival and late deaths after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2011; 29(16):2230–2239.

ZEMEL BS, LEONARD MB, KELLY A, et al. Height adjustment in assessing dual energy x-ray absorptiometry measurements of bone mass and density in children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95:1265–1273.