

Școala doctorală în domeniul Științe medicale

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 616.151.514-07-08-053.2(043.2)

AGACHI Dorina

**DIAGNOSTICUL BIOCHIMIC, GENETIC ȘI PROGRAME
TERAPEUTICE ALE HEMOFILIEI LA COPII**

322.01 – PEDIATRIE ȘI NEONATOLOGIE

Teză de doctor în științe medicale

Chișinău, 2026

Teza a fost elaborată în cadrul Departamentului Pediatrie,
IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova,
Consortiul fondator al Școlii doctorale în domeniul Științe medicale

Conducător științific:

Țurea Valentin,

Dr. hab. șt. med., prof. univ.

Membrii comisiei de îndrumare:

Tagadiuc Olga,

Dr. hab. șt. med., prof. univ.

Voloc Alexandru,

Dr. hab. șt. med., conf. univ.

Ușurelu Natalia,

Dr. șt. med., conf. cercet.

Susținerea va avea loc la data de 1.04.2026, ora 14.00 în incinta USMF „Nicolae Testemițanu”,
bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, biroul 205 în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de
doctorat, aprobată prin decizia Consiliului Științific al Consortiului din 17.11.2025, nr. 1/1.

Componenta Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

Președinte:

Revenco Ninel,

dr. hab. șt. med., prof. univ.

Membrii:

Țurea Valentin,

dr. hab. șt. med., prof. univ.

Tagadiuc Olga,

dr. hab. șt. med., prof. univ.

Cernat Victor,

dr. hab. șt. med., prof. cercet

Golub Aliona,

dr. șt. med.

Autor:

Agachi Dorina

© Agachi Dorina, 2026

CUPRINS

CUPRINS	3
LISTA ABREVIERILOR	5
LISTA TABELELOR	6
LISTA FIGURILOR	8
INTRODUCERE	9
1. CONCEPTE FUNDAMENTALE ȘI VIZIUNI MODERNE ÎN HEMOFILIE LA COPII	15
1.1. Aspecte introductive privind hemofilia la copii: definiții, epidemiologie, tipologii.....	15
1.2. Aspecte epidemiologice ale hemofiliei pediatrice	19
1.3. Abordarea multidimensională a diagnosticului hemofiliei: evaluare biochimică, imunologică și genetică.....	22
1.4. Perspective asupra geneticii moleculare a hemofiliei: relevanța testării genetice în practica clinică de rutină. Hemofilia A și B: asemănări și diferențe moleculare.....	25
1.5. Strategii terapeutice și management al hemofiliei la copii. Obiectivele de bază ale programelor terapeutice pentru hemofilie	33
1.6. Hemofilia inhibitorie: provocări clinice și perspective terapeutice	39
2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE	42
2.1. Caracteristica generală a cercetării și proiectarea volumului eșantionului de studiu.....	42
2.2. Metodele de cercetare.....	46
2.3. Metodele de prelucrare statistică și analiză a rezultatelor obținute	56
3. STUDIUL PARAMETRILOR CLINICO-PARACLINICI	59
3.1. Rezultatele cercetării spectrului clinic	59
3.2. Rezultatele studiului parametrilor de laborator	62
4. STUDIUL INTERELAȚIEI PARAMETRILOR CLINICI ȘI PARACLINICI ÎN DEPENDENȚĂ DE SEVERITATEA BOLII.....	78
4.1. Interrelația severității bolii cu tipul de transmitere	78
4.2. Interrelația severității bolii cu incidența hemartozelor.....	79
4.3. Asocierea interrelației severității bolii cu tipul mutației genetice.....	80
4.4. Asocierea interrelației bolii cu titrul de inhibitori.....	81
4.5. Analiza distribuției mutațiilor genetice și a severității clinice în funcție de statusul inhibitorilor anti-factor VIII.....	83
5. REZULTATELE STUDIULUI COMPARATIV ÎN DEPENDENȚĂ DE TIPUL DE TRATAMENT ADMINISTRAT	85
5.1. Caracteristica generală a loturilor	85
5.2. Rezultatele studiului comparativ dintre tratamentul cu crioprecipitat și factor	

recombinant privind controlul asupra recidivelor sindromului hemoragic.....	89
6. ELABORAREA ȘI IMPLEMENTAREA BAZEI-WEB PENTRU REGISTRUL ELECTRONIC AL PACIENȚILOR CU HEMOFILIE ÎN REPUBLICA MOLDOVA.....	95
DISCUȚII.....	98
CONCLUZII GENERALE.....	125
RECOMANDĂRI PRACTICE	127
BIBLIOGRAFIE	128
Anexa 2. Certificate de Inovator.....	136
Anexa 3. Acte de implementare a inovației.....	137
Anexa 4. Scoruri utilizate în evaluarea articulațiilor la pacienții cu hemofilie	139
LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI PARTICIPĂRIILOR LA FORUMURI ȘTIINȚIFICE	141
DECLARAȚIE	144
ADNOTARE	145
ANNOTATION.....	146

LISTA ABREVIERILOR

AAV: vector Adenovirus asociat	PK: farmacocinetică (<i>pharmacokinetics</i>)
AINS: antiinflamatoare nesteroidiene	PTP: serviciile Precision Time Protocol
APCC: concentrat de complex de protrombină activat	QALY: an de viață ajustat în funcție de calitate (<i>quality-adjusted life year</i>)
APTT: timp de tromboplastină parțial activat	rPFVIII: factorul VIII porcin recombinant
BCG: bacilul Calmette-Guerin	SLE: lupus eritematos sistemic
BDD rFVIII: FVIII recombinant cu deleție în domeniul B	TFPI: inhibitor al căii factorului tisular (<i>Tissue factor pathway inhibitor</i>)
Celule iPSC: celule stem pluripotente induse (<i>induced Pluripotent Stem Cells</i>)	TP: timpul protrombinic
CHO: ovare de hamster chinezesc (<i>chinese hamster ovary</i>)	TT: timpul trombinic
CP: complexul protrombinic	TTPA/APTT: timpul de tromboplastină parțial activat
CUA: analiza cost-utilitate (<i>cost-Utility Analysis</i>)	UTI: unitate de terapie intensivă
EACH2: registrul european al hemofiliei dobândite	VTE: tromboembolism venos
FDP: produși de degradare a fibrinei	VWD: boala von Willebrand
ETP: potențial endogen de protrombină	VWFAg: antigenul plasmatic al factorului von Willebrand
FEIBA: activitatea de bypass a inhibitorului factorului VIII	
FIX: factor IX de coagulare	
FVIII: factor VIII de coagulare	
GIT: tract gastrointestinal	
HA: hemofilia A	
HAC: cromozomii umani artificiali	
HB: hemofilia B	
ITI: inducerea toleranței imune	
MMCT: transfer cromozomial mediat de microcelule (<i>microcell-mediated chromosome Transfer</i>)	

LISTA TABELELOR

Tabelul 1. Clasificarea hemofiliei în funcție de deficitul factorului de coagulare [82]	16
Tabelul 2. Localizarea și frecvența aproximativă a sângerării în cazul hemofiliei [88]	22
Tabelul 3. Principalele teste de coagulare utilizate în diagnosticul hemofiliei	24
Tabelul 4. Tipuri de terapie de profilaxie în hemofilie și recomandările acestora	37
Tabelul 5. Dozarea factorilor în funcție de greutatea pacientului în timpul terapiei de profilaxie	38
Tabelul 6. Intervale normale ale hemoglobinei în funcție de vârstă	53
Tabelul 7. Intervale normale ale eritrocitelor (RBC) în funcție de vârstă	54
Tabelul 8. Intervale normale ale hematocritului în funcție de vârstă	54
Tabelul 9. Intervale normale ale fibrinogenului în funcție de vârstă	55
Tabelul 10. Intervale normale ale ALT în funcție de vârstă	55
Tabelul 11. Intervale normale ale AST în funcție de vârstă	56
Tabelul 12. Intervale normale ale Bilirubinei în funcție de vârstă	56
Tabelul 13. Aprecierea tipului de transmitere a bolii	62
Tabelul 14. Analiza descriptivă a parametrilor hematologici în sindromul anemic	64
Tabelul 15. Analiza descriptivă a parametrilor biochimici ai sângelui	65
Tabelul 16. Analiza valorilor ALT, AST și ale probei cu timol la pacienții cu hemofilie ..	66
Tabelul 17. Analiza descriptivă a parametrilor coagulogramei asociate hemostazei secundare	67
Tabelul 18. Distribuția pacienților cu hemofilie în funcție de severitate și timpul de coagulare după Lee-White	69
Tabelul 19. Relația dintre parametrii coagulogramei și Timpul LeeWhite	70
Tabelul 20. Aprecierea cantitativă a factorilor de coagulare VIII și IX	73
Tabelul 21. Aprecierea tipului de mutație genetică	74
Tabelul 22. Aprecierea titrului de inhibitori	76
Tabelul 23. Rezultatele interrelației tipului de transmitere și severitatea bolii	78
Tabelul 24. Rezultatele interrelației hemartrozelor și gradul de severitate a bolii	80
Tabelul 25. Rezultatele interrelației fenotip-genotip	81
Tabelul 26. Rezultatele interrelației severității bolii cu titrul de inhibitori	82
Tabelul 27. Analiza distribuției mutațiilor genetice și a severității clinice în funcție de statusul inhibitorilor anti-factor VIII	83
Tabelul 28. Caracteristici generale ale loturilor	85

Tabelul 29. Vârsta stabilirii diagnosticului primar	86
Tabelul 30. Evaluarea numărului de spitalizări în primul an de la stabilirea diagnosticului de hemofilie	86
Tabelul 31. Evaluarea numărului de spitalizări în al II-lea an de la stabilirea diagnosticului de hemofilie.....	87
Tabelul 32. Evaluarea numărului de spitalizări în al III-lea an de la stabilirea diagnosticului de hemofilie.....	88
Tabelul 33. Caracteristica comparativă a numărului de internări cu diagnosticul Hematom cu diferită localizare în dependență de tipul de tratament administrat (crioprecipitat sau factor recombinant)	89
Tabelul 34. Caracteristica comparativă a numărului de internări cu diagnosticul Hemartoză cu diferită localizare în dependență de tipul de tratament administrat (crioprecipitat sau factor recombinant)	90
Tabelul 35. Caracteristica comparativă a numărului de internări cu diagnosticul Hemoragii masive cu diferită localizare în dependență de tipul de tratament administrat (crioprecipitat sau factor recombinant).....	91
Tabelul 36. Caracteristica comparativă a numărului de internări cu diagnosticul Hemoragii minore cu diferită localizare în dependență de tipul de tratament administrat (crioprecipitat sau factor recombinant).....	92
Tabelul 37. Caracteristica comparativă a numărului de internări planice în dependență de tipul de tratament administrat (Crioprecipitat sau Factor recombinant)	93

LISTA FIGURILOR

Figura 1. Schema tipului de transmitere recesivă X-linkat în hemofilie [102].....	17
Figura 2. Mecanismul general de coagulare a sângelui [103].....	22
Figura 3. Modelul clasic al cascadei de coagulare cu implicarea factorilor [103].....	24
Figura 4. Structura cristalină a genei factorului VIII cu domeniul B șters [131].....	30
Figura 5. Domeniile structurale și modificările post-translaționale ale factorului IX al coagulării [131]	30
Figura 6. Designul studiului.....	45
Figura 7. Descrierea afectării articulațiilor la copii cu hemofilie din Republica Moldova..	60
Figura 8. Caz clinic. Hemartroză la nivelul genunchiului, stadiul IV, la un pacient diagnosticat cu hemofilie severă	60
Figura 9. Caz clinic. Hemartroză la nivelul genunchiului stâng, stadiul V, la un pacient cu hemofilie severă, aflat în evidența Clinicii de Hematologie din cadrul Institutului Mamei și Copilului.....	60
Figura 10. Caz clinic la pacient cu hemofilie severă, prezentând hemartroză acută la nivelul articulației genunchiului drept, cu tumefiere evidentă și modificarea conturului local.....	61
Figura 11. Caz clinic la nou-născut cu hemofilie severă, prezentând hematom extensiv parietal și dorsal, manifestare cutanată tipică a sindromului hemoragic neonatal din cadrul Clinicii de Hematologie a Institutului Mamei și Copilului.....	61
Figura 12. Distribuția valorilor hemoglobinei (stânga) și eritrocitelor (dreapta) în funcție de severitatea hemofiliei	64
Figura 13. Relația dintre PT (stânga), TTPa (dreapta) și Timpul Lee-White la pacienți pediatrici cu hemofilie.....	71
Figura 14. Analiza relației dintre nivelul fibrinogenului și Timpul Lee-White la pacienți pediatrici cu hemofilie.....	72
Figura 15. Distribuția mutațiilor genetice în funcție de valorile Timpului Lee-White la pacienți cu hemofilie	75

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei cercetate în hemofilie. Hemofilia este o afecțiune genetică rară, caracterizată printr-un deficit al factorilor de coagulare, care se transmite ereditar, cu predominanță la bărbați, având o origine patologică asociată cromozomului „X” (αἷμα – sânge și φιλία – afinitate) [5]. Hemofilia A este cauzată de deficitul factorului VIII de coagulare și reprezintă forma cea mai frecventă a bolii, având o incidență de aproximativ 1 din 5.000–10.000 de nou-născuți de sex masculin. De asemenea, hemofilia B, determinată de deficitul factorului IX, afectează aproximativ 1 din 20.000–34.000 de nou-născuți de sex masculin [5].

Importanța studiilor în domeniul hemofiliei este considerabilă, având în vedere impactul semnificativ al acestei afecțiuni asupra calității vieții pacienților și costurile asociate tratamentului. În secolul XX, înainte de dezvoltarea terapiilor moderne, speranța de viață a pacienților cu hemofilie severă era de aproximativ 15–24 de ani, fiind adesea fatală din cauza episoadelor hemoragice necontrolate. De la descoperirea crioprecipitatului bogat în FVIII în 1965, speranța de viață a pacienților cu hemofilie A severă a crescut semnificativ, iar prin tratamente profilactice moderne, aceștia duc o viață aproape normală [63].

La nivel internațional, hemofilia pediatrică este recunoscută ca o problemă majoră de sănătate publică în rândul bolilor rare, mobilizând organizații globale precum Organizația Mondială a Sănătății (OMS) și World Federation of Hemophilia (WFH). Potrivit celor mai recente estimări, peste 800.000 de persoane la nivel mondial trăiesc cu o formă de hemofilie, însă mai puțin de jumătate sunt diagnosticate oficial, ceea ce reflectă o subdiagnosticare importantă, în special în țările cu venituri mici și medii [29]. Aproximativ 75% dintre acești pacienți nu au acces adecvat la tratamente de rutină, ceea ce generează o inegalitate marcată în îngrijire [29]. Drept răspuns, WFH a inițiat programul global „Treatment for All”, sprijinit de OMS, care promovează standarde de îngrijire globală și a publicat în 2020 cea de-a treia ediție a „WFH Guidelines for the Management of Hemophilia”, ghid care reflectă progresele științifice recente în tratament și diagnostic [100].

Prin intermediul programului său umanitar, WFH a distribuit, până în 2021, peste 1 miliard de unități internaționale de factori de coagulare în peste 110 țări, contribuind la salvarea vieții a mii de copii și adulți cu hemofilie, inclusiv în zone afectate de conflicte și lipsuri sistemice [50]. De asemenea, ghidurile internaționale recente recomandă implementarea unor registre naționale pentru monitorizarea pacienților și a răspunsului la tratament, aspect care devine esențial pentru planificarea strategică a serviciilor medicale [100].

Din punct de vedere terapeutic, perioada 2015–2024 a adus progrese fără precedent: dezvoltarea factorilor cu timp de înjumătățire prelungit, aprobarea anticorpilor monoclonali bi-

specificali (ex. emicizumab) și, mai recent, autorizarea primelor terapii genice pentru hemofilia B (Hemgenix, 2022) și hemofilia A (valoctocogene roxaparvovec, 2023) [30], [48], [73]. Aceste tratamente, care promit corectarea durabilă a deficitului de factor de coagulare, au fost recunoscute de agențiile de reglementare internaționale ca „progrese terapeutice majore” și marchează începutul unei noi ere în hemofilie [30]. Totuși, hemofilia rămâne o problemă majoră din punct de vedere clinic și economic. În ciuda progreselor, tratamentul profilactic cu factor VIII este costisitor și necesită administrare frecventă, iar răspunsul interindividual la terapiile existente este variabil, necesitând regimuri personalizate [104]. În plus, riscul de infecții transmise prin produsele sangvine a fost semnificativ la începutul anilor '80, dar acest risc a fost eliminat prin îmbunătățirea tehnicilor de screening și apariția factorilor recombinanți [63]. Deși aceste progrese au îmbunătățit semnificativ calitatea vieții, hemofilia nu poate fi vindecată complet prin tratamentele actuale. Terapia genică reprezintă singura opțiune promițătoare de vindecare, însă costurile și siguranța acesteia rămân o provocare [104]. De asemenea, dezvoltarea inhibitorilor, anticorpilor care neutralizează efectul factorilor de substituție, reprezintă o problemă majoră în tratamentul hemofiliei. Aproximativ 30% dintre pacienții cu hemofilie severă dezvoltă inhibitori, iar tratamentele pentru eradicarea acestora sunt costisitoare și complexe. Deși terapiile de inducție a toleranței imune și agenții de bypass s-au dovedit eficiente, riscul rămâne semnificativ, iar strategii noi sunt necesare pentru a îmbunătăți managementul acestei complicații [101, 22]. Aceste inovații vin cu provocări privind accesibilitatea, sustenabilitatea și siguranța pe termen lung, mai ales în țările cu resurse limitate, unde costurile ridicate și infrastructura medicală insuficientă pot limita implementarea lor largă [41]. De aceea, comunitatea științifică internațională pledează pentru strategii de personalizare a tratamentului, prin integrarea testării genetice, evaluării farmacocinetice individuale și dezvoltarea registrelor de pacienți [73], [17].

La nivel național, în Republica Moldova, hemofilia este încadrată în Programul Național de Boli Rare și beneficiază de finanțare din surse bugetare, însă infrastructura medicală, accesul la terapii inovatoare și implementarea sistemelor de evidență rămân provocări importante. În prezent, sunt monitorizați aproximativ 52 de copii și 170 de adulți cu hemofilie, majoritatea tratați în centrele specializate din Chișinău [34]. În anul 2019, autoritățile au alocat peste 61,5 milioane de lei pentru tratarea bolilor rare, inclusiv hemofilia, reflectând angajamentul sistemului public de sănătate pentru sprijinirea acestor pacienți [5].

Introducerea terapiei cu emicizumab în PCN Hemofilia la copii din Republica Moldova începând cu anul 2019 pentru pacienții cu hemofilie A cu inhibitori este o dovadă a adaptării rapide la progresele internaționale în acest domeniu [124]. Cu toate acestea, lipsa unui registru național funcțional, accesul limitat la testarea genetică și evaluarea inhibitorilor, precum și lipsa

programelor de reabilitare integrată, justifică nevoia acută de cercetare aplicativă și dezvoltare a modelelor de intervenție personalizată [63]. Studiile clinice recente, precum programul HAVEN, au arătat o reducere semnificativă a episoadelor de sângerare, iar emicizumabul a dovedit o eficiență constantă în tratamentele profilactice [81, 23, 75, 26, 114, 25]. Acesta oferă o soluție viabilă pentru pacienții cu hemofilie severă și pentru cei cu inhibitori, înlocuind terapiile tradiționale mai costisitoare și mai complexe.

În context regional, țările din Europa de Est se confruntă cu provocări similare – acces limitat la terapii moderne, discrepanțe în diagnosticare și lipsa echipelor multidisciplinare complete. Potrivit unui raport al European Haemophilia Consortium, în 2018 doar 13% dintre țările din Europa de Est aveau consilii naționale de hemofilie și registre funcționale [112]. De asemenea, doar 37% dintre pacienți beneficiau de profilaxie completă, comparativ cu 85–100% în Europa de Vest [112]. Cu toate acestea, inițiativele de colaborare internațională și donațiile de produse factoriale au contribuit la o îmbunătățire constantă a situației în ultimul deceniu.

Tema hemofiliei se încadrează totodată în preocupările transdisciplinare ale cercetării medicale moderne, situându-se la intersecția dintre genetică, pediatrie, hematologie clinică și politici de sănătate publică. Abordarea genetică a hemofiliei – prin identificarea mutațiilor și corelarea lor cu severitatea fenotipică și riscul de dezvoltare a inhibitorilor – deschide calea spre personalizarea tratamentului și oferă fundament teoretic solid pentru aplicarea medicinei de precizie [73].

Din perspectiva sănătății publice, integrarea hemofiliei în programele naționale, dezvoltarea registrelor, alocarea fondurilor pentru tratamente inovatoare și monitorizarea echitabilă a pacienților constituie pași esențiali în îmbunătățirea prognosticului și a calității vieții pacienților, în special în rândul copiilor [41].

Colectivul de cercetare al prezentei teze integrează aceste direcții strategice și contribuie la consolidarea bazei științifice necesare pentru elaborarea unui model terapeutic adaptat particularităților genetice, clinice și economice ale hemofiliei în Republica Moldova.

În concluzie, hemofilia continuă să reprezinte o provocare majoră în domeniul medical, din punct de vedere clinic și economic. Progresele recente în tratamentele hemostatice și în terapia genică deschid noi perspective de tratament, dar necesită cercetări suplimentare pentru a aborda problemele persistente, precum dezvoltarea inhibitorilor și costurile terapiilor curente [86, 117]. Este evaluat impactul terapiei de înlocuire cu factori și non-factori asupra testelor de coagulare, precum și abordarea testării pentru inhibitori, testarea purtătorilor și testarea fetală în diferite tipuri de hemofilie [87, 66, 92, 80, 52].

În contextul celor expuse a fost consemnat **scopul** prezentei lucrări științifice: Analiza

manifestărilor clinice, a parametrilor biochimici și genetici în diagnosticul hemofiliei A și B la copii, cu scopul optimizării diagnosticului și a ajustării unui model terapeutic individualizat, adaptat formei și severității bolii.

Pentru realizarea acestui scop au fost trasate următoarele **obiective**:

1. Analiza manifestărilor clinice ale sindromului de hipocoagulare la copiii cu hemofilie;
2. Determinarea nivelurilor cantitative și calitative ale factorilor de coagulare în hemofilia A și B la copii;
3. Analiza relației dintre manifestările clinice (fenotip) și modificările genetice (genotip) în hemofilie la copii pentru aplicarea utilității diagnosticului genetic;
4. Evaluarea prezenței inhibitorilor factorilor de coagulare VIII și IX la pacienții cu hemofilie și determinarea titrului acestora în contextul managementului terapeutic;
5. Analiza comparativă a eficienței și siguranței terapiei de substituție cu factori VIII/IX liofilizat/recombinat și crioprecipitat, în tratamentul hemofiliei pentru optimizarea abordării terapeutice a deficitului de factori de coagulare;
6. Elaborarea Bazei de date pe platforma site-ului „Registrul electronic al pacienților cu hemofilie în Republica Moldova”.

Metodologia cercetării științifice. Studiul a fost realizat în cadrul Departamentului de Pediatrie al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova, în colaborare cu IMSP Institutul Mamei și Copilului, secția Hemopatii benigne. Cercetarea a inclus un eșantion de 90 de copii cu vârsta cuprinsă între 0 și 18 ani, provenind atât din mediul urban, cât și din cel rural. Pentru atingerea obiectivelor stabilite, a fost conceput un studiu observațional, descriptiv, transversal și selectiv. Acesta s-a desfășurat pe parcursul perioadei 2018–2022 și a inclus toți copiii diagnosticați cu hemofilie și monitorizați în această perioadă în clinică, 59 de copii. În vederea completării analizei și obținerii unei comparații detaliate asupra strategiilor terapeutice utilizate, a fost necesară includerea retrospectivă a unui număr suplimentar de pacienți tratați cu crioprecipitat anii 2010–2013, 31 de copii. Această etapă retrospectivă a permis o evaluare extinsă a efectelor tratamentului specific pe o durată mai lungă, oferind o perspectivă comparativă asupra metodelor terapeutice utilizate. Participanții au fost supuși unei examinări complexe, care a cuprins evaluarea clinică standard, cu aprecierea analizelor de laborator pentru determinarea indicatorilor coagulogramei (timpul de coagulare după Lee-White, TTPA, TP, fibrinogen). De asemenea, au fost efectuate determinări cantitative ale factorilor VIII și IX ai coagulării, ale titrului de inhibitori și analize pentru identificarea spectrului de mutații genetice. În continuare, s-au realizat corelări între severitatea bolii, manifestările clinice, tipul de mutație genetică și titrul de inhibitori. Rezultatele obținute au fost utilizate pentru formularea

concluziilor și elaborarea recomandărilor practice. Prelucrarea statistică a datelor a fost efectuată cu ajutorul programului SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*), versiunea 20.

Noutatea științifică a lucrării. Pentru prima dată în Republica Moldova s-a realizat un studiu amplu al pacienților pediatrici cu hemofilie, accentul fiind pe evaluarea particularităților clinico-paraclinice, identificarea modificărilor genetice specifice; a fost efectuată analiza severității hemofiliei (evaluată prin date clinice și nivelurile factorilor VIII și IX), asociată cu mutațiile genetice identificate; a fost efectuată titrarea inhibitorilor factorilor de coagulare VIII și IX la copiii cu hemofilie; a fost elaborată Baza-web pentru Registrul Național de Monitorizare a Pacienților cu Hemofilie din Republica Moldova

Semnificația teoretică a lucrării. În premieră națională au fost analizate particularitățile clinico-paraclinice ale hemofiliei la copii în Republica Moldova, cu identificarea manifestărilor specifice în funcție de severitatea bolii; au fost identificate și clasificate mutațiile genetice asociate hemofiliei A și B, cu evidențierea frecvenței acestora în raport cu forma clinică (severă, moderată, ușoară); pentru prima dată, a fost determinat titrul inhibitorilor factorilor de coagulare VIII și IX la copiii cu hemofilie; au fost analizate relațiile dintre datele genetice, titrul de inhibitori și severitatea manifestărilor clinice, ceea ce oferă o bază teoretică pentru înțelegerea variabilității fenotipice a hemofiliei; au fost propuse direcții moderne ale diagnosticului și managementului terapeutic al hemofiliei, bazate pe integrarea datelor clinice, genetice și imunologice; a fost elaborată Baza-web pentru Registrul Național de Monitorizare a Pacienților cu Hemofilie, ceea ce a contribuit la sistematizarea și uniformizarea datelor privind această patologie rară.

Valoarea aplicativă a lucrării. A fost demonstrată necesitatea testării genetice a hemofiliei A și B pentru identificarea precoce a formelor severe și orientarea unui tratament personalizat, adaptat profilului genetic și imunologic. Determinarea inhibitorilor factorilor VIII și IX sprijină prevenirea și managementul complicațiilor terapiei de substituție, inclusiv alegerea alternativelor moderne, precum anticorpii monoclonali bispecfici. Rezultatele contribuie la optimizarea protocoalelor terapeutice și profilactice în hemofilia pediatrică. Elaborarea Bazei-web pentru Registrul Național de Monitorizare permite supravegherea continuă, evaluarea epidemiologică și planificarea tratamentului, oferind totodată suport științific pentru politicile de sănătate publică privind bolile rare în Republica Moldova.

Implementarea rezultatelor. Rezultatele cercetării sunt integrate în practica secției de Hemopatii benigne a IMSP Institutul Mamei și Copilului și a clinicilor specializate ale IMSP Institutul Oncologic din Republica Moldova; în procesul didactic al USMF „Nicolae Testemițanu”, contribuind la pregătirea teoretică și practică a specialiștilor din domeniu.

Teza a fost discutată, aprobată și recomandată spre susținere la ședința Departamentului

Pediatrie (proces-verbal din 12.05.2025), Seminarului științific de profil 322. Pediatrie (proces-verbal nr. 2 din 08.10.2025), Consiliului Științific al Consorțiului (proces-verbal nr. 1/1 din 17.11.2025), IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova. Avizul pozitiv al Comitetului de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” a fost emis cu nr. 6 din 10.11.2017.

Publicațiile la tema tezei. Rezultatele științifice obținute au fost reflectate în 25 de lucrări științifice (13 naționale, 12 internaționale, 1 fără coautori), dintre care: 2 articole în reviste științifice de peste hotare cu impact (8.16) și 3 articole în reviste științifice naționale acreditate, categoria B+, 1 capitol în Monografie – autor unic, 2 Brevete de Inovație, 2 acte de implementare, 3 rezumate în lucrările conferințelor științifice, 4 comunicări orale la conferințe științifice internaționale, 5 comunicări orale la conferințe naționale cu participare internațională, 4 participări cu prezentări cu poster la foruri internaționale.

Cuvinte-cheie: Hemofilie pediatrică, deficit de coagulare, factori ai coagulării, fenotip-genotip, inhibitori ai factorului VIII, tratament substitutiv, crioprecipitat, factor recombinant, emicizumab, modele terapeutice, registru național al hemofiliei.

Volumul și structura tezei. Teza este perfectată conform tipului tradițională simplă, expusă pe 146 de pagini și conține: introducere, 6 capitole, discuții, concluzii generale, recomandări, indicele bibliografic citând 139 de surse. Iconografia include 37 de tabele și 15 figuri (22% din volumul părții de baza al tezei).

Importanța practică a studiului. Studiul privind hemofilia la copii are o relevanță majoră pentru optimizarea strategiilor terapeutice individualizate și monitorizarea eficientă a pacienților. Un obiectiv central este consolidarea unui registru național pentru hemofilie prin elaborarea Bazei-web care să permită colectarea sistematică a datelor clinice, evaluarea eficienței tratamentelor și îmbunătățirea managementului pe termen lung. Acesta contribuie esențial la cercetarea științifică, cunoașterea epidemiologică a bolii și fundamentarea politicilor publice. Terapia biologică de substituție non-factorială oferă o alternativă inovatoare pentru pacienții cu inhibitori, înlocuind funcția factorului VIII și reducând semnificativ episoadele hemoragice. Detectarea precoce și monitorizarea inhibitorilor rămân esențiale pentru ajustarea tratamentului și prevenirea complicațiilor severe. Prin urmare, integrarea terapiilor moderne și analiza atentă a inhibitorilor contribuie la îmbunătățirea semnificativă a calității vieții pacienților pediatrici. Rezultatele acestui studiu le oferă specialiștilor din domeniul sănătății instrumente utile pentru implementarea unor strategii terapeutice avansate și personalizate.

1. CONCEPTE FUNDAMENTALE ȘI VIZIUNI MODERNE ÎN HEMOFILIE LA COPII

1.1. Aspecte introductive privind hemofilia la copii: definiții, epidemiologie, tipologii

Hemofilia, o tulburare genetică rară caracterizată prin coagulare anormală a sângelui, și-a lăsat amprenta în literatura istorică datorită caracteristicilor sale clinice vizibile și modelului de moștenire. Referințele la hemofilie pot fi urmărite încă din scrierile rabinice care datează din secolul al V-lea, ilustrând conștientizarea de lungă durată a acestei afecțiuni. Această maladie a fost adesea numită „boala regilor”, așa cum este adesea descrisă în descendența reginei Victoria a Angliei (1837–1901). În secolul al X-lea, Abu Khasim, un medic arab, a înregistrat mai multe familii în care decesele bărbaților au fost cauzate de sângerări excesive după traumatisme. Cu toate acestea, abia în 1803 a fost documentat primul raport medical despre hemofilie de către John C. Otto din Philadelphia [67].

De menționat că a fost nevoie de câteva decenii pentru ca o descoperire să apară, deoarece abia în 1952, cercetătorii au recunoscut existența a două forme distincte de hemofilie cu același model de moștenire: hemofilia A – hemofilie clasică și hemofilia B – boala Christmas. Descoperirea a făcut lumină asupra complexității tulburării și a deschis calea pentru înțelegerea și progresele ulterioare în diagnosticul și tratamentul acesteia.

În prezent, în funcție de factorul de coagulare afectat, se disting următoarele tipuri principale de hemofilie:

- **Hemofilia A** – cauzată de o mutație genetică ce afectează factorul VIII de coagulare;
- **Hemofilia B** – determinată de o mutație genetică ce influențează factorul IX de coagulare;
- **Hemofilia C** – asociată cu o mutație genetică ce perturbă factorul XI de coagulare.

Hemofilia A este cea mai frecventă dintre aceste trei tipuri, având o prevalență de 30–79% [78]. Este rezultatul mutației genei F8, care codifică sinteza factorului de coagule VIII. Manifestarea primară a hemofiliei A este sângerarea recurentă, în special la nivelul articulațiilor care duce aproape întotdeauna la artropatie severă, provocând disconfort semnificativ și probleme de mobilitate [95].

Hemofilia B provine dintr-o mutație a genei F9 pe cromozomul X, urmând un model de moștenire recesiv și, ca și în cazul hemofiliei A, poate provoca sângerări la nivelul mușchilor și articulațiilor. La nivel global, este considerată o boală genetică rară. De asemenea, poate fi clasificată anatomic ca o boală de sânge, boală neuronală, boală a sistemului imunitar sau boală musculară.

Hemofilia C, denumită și sindromul Mielrkersson-Rosenthal, este moștenită în mod autosomal recesiv. În unele cazuri rare, indivizii care poartă doar o copie a genei afectate pot prezenta tendințe de sângerare din cauza legăturii heterodimer, rezultând o transmitere autozomal dominantă. Hemofilia C de obicei nu provoacă probleme, dar unii pacienți pot avea sângerare după operație [6]. Hemofilia poate fi clasificată și în funcție de cantitatea de activitate reziduală sau inițială a factorului, care este denumită și „nivelul factorului”. Acest nivel de factor este de obicei măsurat ca procent din nivelul normal sau în unități internaționale pe mililitru (UI/mL) [118, 33].

Astfel, severitatea este definită după cum urmează [95, 29]:

- **Hemofilie severă** – activitatea factorului <1 la sută, ceea ce corespunde la <0,01 UI/mL.
- **Hemofilie moderată** – activitatea factorului $\geq 1\%$ din normal și $\leq 5\%$ din normal, corespunzând la $\geq 0,01$ și $\leq 0,05$ UI/mL.
- **Hemofilie ușoară** – activitatea factorului >5% din normal și <50% din normal ($\geq 0,05$ și <0,50 UI/mL).

Unele studii sugerează că HB este clinic mai puțin severă decât HA. Această percepție se poate datora parțial faptului că distribuția severității este diferită în cele două tulburări [134].

Tabelul 1. Clasificarea hemofiliei în funcție de deficitul factorului de coagulare [82]

Severitate	Nivelul factorului de coagulare	Episoade de sângerare
Valorile normale	50-150 %	-----
Forma severă	<1% din cantitatea normală de factor de coagulare	Sângerare spontană în articulații sau mușchi, predominant în absența provocării hemostatice identificabile
Forma moderată	1-5% din cantitatea normală de factor de coagulare	Sângerare spontană ocazională; sângerare prelungită cu traumatisme minore sau intervenții chirurgicale
Forma ușoară	între 5% și 50% din cantitatea normală de factor de coagulare	Sângerare severă cu traume majore sau intervenții chirurgicale. Sângerarea spontană este rară

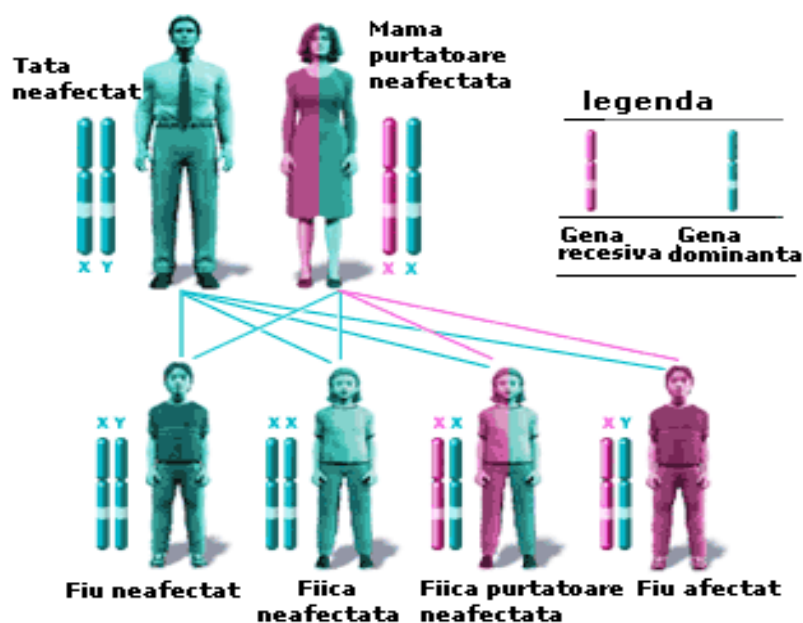


Figura 1. Schema tipului de transmitere recesivă X-linkat în hemofilie [102]

Notă: Genele care codifică factorul VIII și factorul IX sunt prezente pe brațul lung al cromozomului X. Atât hemofilia A, cât și B sunt moștenite printr-un model recesiv legat de crs X, în care 100% dintre fetele născute din tați afectați vor fi purtătoare, în timp ce băieții nu vor fi afectați. Mamele purtătoare au o șansă de 50% să aibă băieți afectați și o șansă de 50% să aibă fete purtătoare.

În funcție de modul de apariție, hemofilia poate fi clasificată astfel:

Congenitală – transmisă ereditar, caracterizată printr-o sinteză insuficientă sau defectuoasă a factorilor de coagulare VIII sau IX;

Dobândită – determinată de producerea, de către organism, a autoanticorpilor inhibitori împotriva propriilor factori de coagulare VIII sau IX.

Hemofilia dobândită este o afecțiune rară care apare în absența unui istoric familial de boală și este asociată cu tulburări autoimune. Primele informații despre această formă au apărut la mijlocul secolului XX. Aceasta se caracterizează prin apariția anticorpilor care atacă factorii de coagulare, în special factorul VIII, determinând astfel o funcționare deficitară a mecanismului de coagulare, caz în care apare HA [78]. Pacienții cu hemofilie dobândită prezintă un risc crescut de sângerări severe, care se pot solda cu decesul pacientului, iar hemartrozele sunt mai puțin frecvente în comparație cu hemofilia congenitală [132]. Sângerările spontane apar la 77,4% dintre pacienți, după traumatisme la 8,4% dintre pacienți, după intervenții chirurgicale la 8,2% și în timpul nașterii la 3,6%. În 53% din cazuri, există un sindrom hemoragic cutanat, în 50,2% – hematoame intramusculare, retroperitoneale și alte hematoame, în 1,1% – hemoragii la nivelul sistemului nervos central [89, 82, 130].

Hemofilia determinată de aberații cromozomiale de novo este o formă rară de hemofilie care apare din mutații genetice spontane, ce nu sunt moștenite de la părinți. Aceste aberații cromozomiale pot duce la o producție insuficientă de factori de coagulare, provocând sângerări anormale și dificultăți în procesul de coagulare a sângelui. Diagnosticul se poate realiza prin teste genetice și de coagulare, iar managementul necesită adesea tratamente specifice pentru a controla sângerările.

Hemofilia se manifestă clinic predominant prin hemoragii recurente în diverse țesuturi și organe, cu debut tipic în copilărie. Gravitatea simptomelor variază proporțional cu nivelul rezidual de activitate al factorilor de coagulare VIII (hemofilia A) sau IX (hemofilia B) [136, 118]. Manifestările precoce apar frecvent în perioada neonatală sau în primul an de viață. Sângerările intracraniene spontane sau posttraumatice reprezintă evenimente rare, dar critice, mai ales la nou-născuții cu forme severe nediagnosticate anterior [19]. Suspiciunea clinică trebuie ridicată în cazul hemoragiilor postoperatorii după circumcizie, al echimozelor perinatale extinse sau al hematoamelor profunde după proceduri minore, cum ar fi vaccinarea intramusculară [9, 95]. În cazul sugarilor care încep să se deplaseze (târâre, mers), apariția hematoamelor neexplicate și echimozelor repetate, în special în zonele frontale și ale membrelor, este frecventă. Aceste manifestări pot fi greșit interpretate ca semne de abuz fizic, necesitând o evaluare atentă diferențială în echipă multidisciplinară [56].

Manifestările hemoragice se modifică odată cu dezvoltarea copilului:

- Perioada neonatală și sugarul mic – predomină sângerările intracraniene, extracraniene și hemoragiile la locul procedurilor invazive (circumcizie, puncții venoase) [78]. La pacienții cu hemofilie severă, peste 85–90% prezintă primele semne în primul an de viață [132].
- Copilăria timpurie (6 luni – 6 ani) – odată cu dezvoltarea motorie, apar hematoame spontane, leziuni bucale (fren, gingii), hemartroze inițiale (glezne, genunchi), dar și sângerări posttraumatice minore [33].
- Copilul mare și adolescentul – hemoragiile devin predominant musculoscheletale – hemartroze recurente și sângerări musculare profunde (mușchiul iliopsoas, gambe) [25].

Localizarea și frecvența episoadelor hemoragice sunt variabile, dar hemartroza reprezintă forma cea mai comună în hemofilia severă (70–80% din episoade), cu afectare tipică a articulațiilor mari – genunchi, glezne, coate [124]. Sângerările musculare (10–20%) pot duce la complicații neurologice prin compresie sau sindrom de compartiment. Hemoragiile sistemului nervos central, deși rare (<5%), sunt amenințătoare de viață și justifică introducerea tratamentului substitutiv imediat [38].

1.2. Aspecte epidemiologice ale hemofiliei pediatrice

Prevalența și incidența globală a hemofiliei A și B. Hemofilia A și B sunt tulburări congenitale rare ale coagulării, cu incidență similară în rândul populațiilor din întreaga lume. Hemofilia A – forma cea mai frecventă (aproximativ 85% din cazuri) – apare la circa 1 din 5.000 de nou-născuți de sex masculin, în timp ce hemofilia B este mai rară, aproximativ 1 la 25.000 de nou-născuți băieți [31][39]. Această proporție se reflectă și în distribuția globală a tipurilor de hemofilie (aproximativ 85% hemofilie de tip A și 15% hemofilie de tip B) [31]. Datorită naturii ereditare X-linkate, boala afectează aproape exclusiv persoanele de sex masculin, deși cazuri simptomatice la femei (de obicei purtătoare cu deficit sever de factor) sunt documentate rar (sub 5% din totalul pacienților) [25].

La nivel mondial, prevalența punctuală a hemofiliei (toate cazurile în viață) a crescut odată cu îmbunătățirea îngrijirilor. Conform datelor recente ale Federației Mondiale de Hemofilie (WFH), prevalența globală estimată a hemofiliei este aproximativ 10,6 la 100.000 de locuitori (adică aproximativ 106 hemofilici la 1 milion de locuitori) [25]. În termeni absoluți, aceasta corespunde la aproximativ 830.000 de persoane cu hemofilie la nivel mondial, dintre care circa 282.000 au forme severe (deficit factor <1%) [25]. Totuși, statisticile oficiale raportează un număr mai mic de pacienți identificați: de exemplu, în 2021 erau înregistrați aproximativ 234.000 de pacienți cu hemofilie la nivel global [9], evidențiind un grad important de subdiagnosticare. Important, incidența la naștere a hemofiliei rămâne constantă în timp – fiecare generație de copii prezintă cazuri noi cu o frecvență relativ stabilă, independent de regiune sau etnie [39]. Ceea ce variază este vârsta la diagnostic și supraviețuirea acestor pacienți, în funcție de accesul la serviciile medicale. În ultimele decenii s-au înregistrat progrese notabile în diagnosticarea timpurie: la pacienții cu hemofilie severă, vârsta mediană la diagnostic a scăzut la nivel global de la aproximativ 7 ani (pentru cei născuți înainte de 1980) la circa 11 luni la copiii născuți după 2010 [39]. Această îmbunătățire este vizibilă și în țările cu venituri mici, unde în trecut diagnosticul era adesea mult întârziat – de pildă, la pacienții severi născuți înainte de 1970 în unele regiuni, hemofilia era recunoscută abia spre vârsta adultă (mediana aproximativ 35 de ani), pe când la copiii din generațiile recente diagnosticul se pune de obicei în primul an de viață [39]. Aceste date subliniază că hemofilia este în principal o boală pediatrică din perspectiva debutului, majoritatea cazurilor severe manifestându-se clinic în primii ani de viață (de exemplu, hemoragii intracraniene neonatale, echimoze sau hemartroze la copilul mic).

Epidemiologia hemofiliei în Europa de Est (România, Ucraina). Regiunile Europei de Est raportează o prevalență a hemofiliei comparabilă cu media globală, însă cu variații legate de capacitatea sistemelor naționale de sănătate de a identifica și trata pacienții. Țările est-europene

mai mari, precum România și Ucraina, au implementat registre naționale de hemofilie și au în evidență de la sute până la mii de pacienți. România, de exemplu, a raportat recent aproximativ 2.163 de persoane cu hemofilie (toate vârstele), dintre care 1.825 cu hemofilie A și 325 cu hemofilie B [10]. La o populație de aproximativ 19,1 milioane, aceasta corespunde unei prevalențe de circa 11,3 cazuri la 100.000 de locuitori, valoare apropiată de estimarea globală. Situația este similară în Ucraina, care înainte de 2022 avea înregistrate în jur de 4.845 de cazuri de hemofilie (aproximativ 4.376 hemofilie A și 469 hemofilie B) [125], la o populație de aproximativ 43,8 milioane (prevalență aproximativ 11,1/100.000). România și Ucraina se numără printre țările cu cele mai numeroase comunități de pacienți hemofilici din Europa de Est, datorită numărului populației, dar și eforturilor locale de depistare și raportare. În ansamblu, continentul european are un nivel relativ ridicat de identificare a pacienților cu hemofilie. Se estimează că Europa a diagnosticat aproximativ 83% din cazurile așteptate de hemofilie (proporție mult peste alte regiuni) [56], reflectând accesul mai bun la servicii medicale și teste de laborator. Chiar și în Europa de Est, unde resursele au fost tradițional mai limitate comparativ cu Vestul, majoritatea cazurilor severe sunt depistate. Cu toate acestea, persistă diferențe intraregionale: țările est-europene cu infrastructură medicală mai slabă pot avea o prevalență aparent mai mică, sugerând existența unor pacienți neincluși în registre. De pildă, națiuni mai mici sau cu resurse limitate din zona Europei de Est raportează cifre absolute modeste comparativ cu România sau Ucraina, în parte din cauza populației mai reduse, dar și posibil din cauza subdiagnosticării. În Republica Moldova, hemofilia este clasificată drept boală rară și este supravegheată prin intermediul unui registru național funcțional încă din anul 2023. Dintre persoanele diagnosticate cu hemofilie în Republica Moldova, aproximativ 85% sunt diagnosticate cu hemofilie A, proporție în concordanță cu datele globale [31]. Comparativ cu anul 2013, când erau înregistrați 227 de pacienți, se observă o ușoară scădere numerică, explicabilă prin reducerea populației generale, emigrarea, dar și mortalitatea specifică asociată complicațiilor bolii [37]. Prevalența estimată în Republica Moldova este de aproximativ 63–79 de pacienți la un milion de locuitori, ceea ce plasează țara sub media europeană și globală (106/1 milion) [29][37]. Structura pe vârste a pacienților din registru arată că aproximativ un sfert din total sunt copii, reflectând atât natura congenitală a bolii, cât și deficiențele istorice în ceea ce privește supraviețuirea pe termen lung a pacienților netratați. În paralel, au fost extinse testările genetice și evaluările inhibitorilor, cu sprijinul colaborărilor internaționale și al fondurilor direcționate către bolile rare. Totuși, lipsa unei rețele naționale extinse de centre de hemofilie și absența personalului instruit în toate raioanele reprezintă bariere în calea identificării și monitorizării corespunzătoare a tuturor pacienților [12][112]. Pentru îmbunătățirea supravegherii epidemiologice, autoritățile au extins funcționalitatea Registrului Național, care permite

înregistrarea digitală a datelor clinice și terapeutice ale pacienților cu hemofilie, facilitând evaluarea tendințelor, alocarea resurselor și planificarea tratamentelor inovatoare [12]. În concluzie, deși Republica Moldova înregistrează progrese notabile în domeniul diagnosticării și tratamentului hemofiliei pediatrice, datele epidemiologice sugerează, totuși, o discrepanță între numărul de pacienți înregistrați și incidența teoretică estimată, ceea ce subliniază necesitatea consolidării sistemului de depistare precoce, tratament și raportare.

Subdiagnosticarea și diferențele între datele oficiale și estimările internaționale. Subdiagnosticarea și diferențele între datele oficiale și estimările internaționale reprezintă unul dintre cele mai importante obstacole în evaluarea corectă a prevalenței hemofiliei, în special la copii. Conform Federației Mondiale de Hemofilie (WFH), există discrepanțe majore între numărul estimat de persoane afectate și cazurile efectiv raportate în registrele naționale. În țările cu venituri ridicate, aproape toți pacienții sunt diagnosticați, în timp ce în statele cu venituri mici și medii sunt raportate mai puțin de 20% din cazurile estimate. Această situație reflectă nu doar limitările sistemelor de diagnostic, ci și lipsa programelor de screening și a registrelor funcționale [30]. Această problemă este deosebit de severă în țările cu venituri mici și medii, unde accesul limitat la testare și tratament determină o subraportare masivă. De exemplu, în Africa, doar aproximativ 8% din cazurile așteptate sunt efectiv înregistrate [56]. În schimb, Europa raportează o rată de identificare de peste 80%, cu diferențe între vestul continentului (unde depășește 90%) și estul acestuia, unde persistă lacune semnificative [56].

Pentru diminuarea discrepanțelor globale în diagnostic și raportare, literatura de specialitate recomandă implementarea registrelor electronice și consolidarea instruirii profesionale a echipelor medicale implicate în îngrijirea pacienților cu hemofilie. Peyvandi și colaboratorii subliniază că progresele în diagnostic și tratament trebuie dublate de măsuri sistematice de educație și de colectare standardizată a datelor, pentru a asigura o imagine epidemiologică reală și comparabilă între țări [100].

Simptomele clinice observate la pacienții cu HA sau HB sunt identice cu sângerare ca semn distinctiv. Severitatea și tipul de sângerare variază și depind de gradul deficienței factorului de coagulare (Tabelul 2).

Tabelul 2. Localizarea și frecvența aproximativă a sângerării în cazul hemofiliei [88]

Locul de sângerare	Frecvența, %
Hemartroza: Mai frecvent în articulațiile articulate: gleznele, genunchii și coatele	70–80
Mușchi: Mai puțin frecvente în articulațiile multiaxiale: umeri, încheieturi, șolduri	10–20
Alte sângerări majore	5–10
Sistemul nervos central	<5

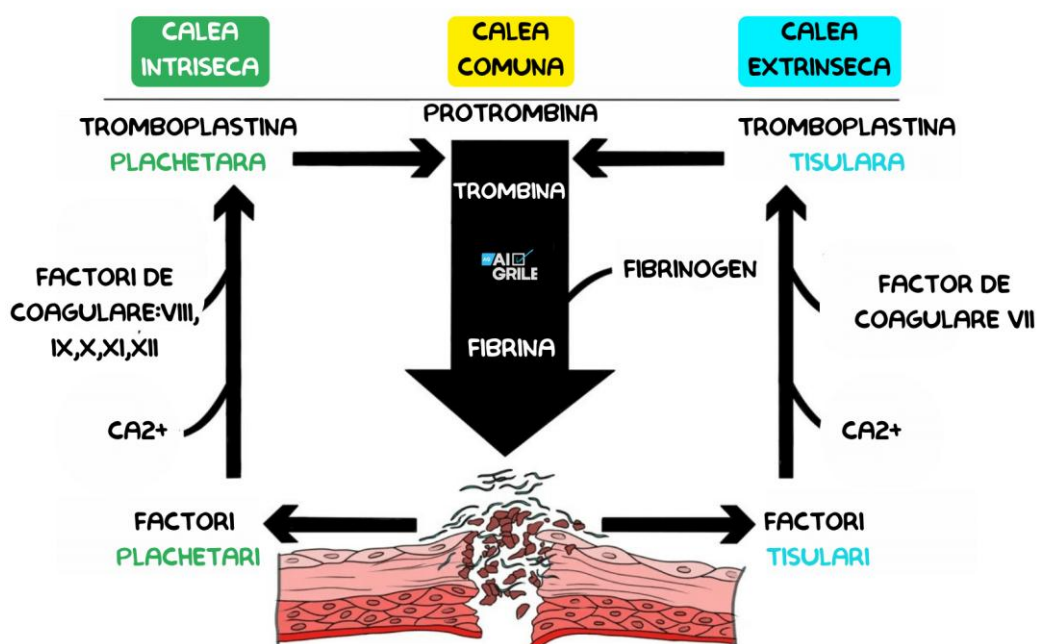


Figura 2. Mecanismul general de coagulare a sângelui [103]

1.3. Abordarea multidimensională a diagnosticului hemofiliei: evaluare biochimică, imunologică și genetică

Diagnosticul hemofiliei presupune o abordare integrativă ce combină evaluarea clinică, testele de screening ale coagulării, determinările funcționale ale factorilor de coagulare, testarea pentru inhibitori și analiza genetică. Acest proces este esențial pentru stabilirea precoce a diagnosticului, clasificarea severității și alegerea unui regim terapeutic individualizat, în special în rândul pacienților pediatrici. În prima etapă, investigațiile de laborator includ testele de screening al hemostazei secundare: timpul parțial de tromboplastină activată (aPTT), timpul de protrombină (PT), timpul de trombină (TT) și dozarea fibrinogenului plasmatic. În hemofilia A și B, aPTT este tipic prelungit, în timp ce PT, TT și numărul de trombocite rămân normale, orientând astfel diagnosticul spre o deficiență a căii intrinseci de coagulare [16, 76]. În cazul prelungirii aPTT, se realizează studiile de amestecare (*mixing studies*), care disting între o deficiență de factor și

prezența unui inhibitor. Corectarea aPTT după amestecarea plasmei pacientului cu plasmă normală sugerează o deficiență de factor. În acest context, se recomandă măsurarea directă a activității plasmatică a factorilor VIII (FVIII:C) și IX (FIX:C) utilizând teste cromogenice sau *one-stage clotting assay* [112]. Aceste teste permit clasificarea severității hemofiliei în forme severe (<1%), moderate (1–5%) și ușoare (5–50%). În anumite cazuri, cum ar fi nou-născuții cu istoric familial pozitiv sau mame cunoscute ca purtătoare, determinarea activității factorilor se face din sângele cordonului ombilical [91, 12]. Totodată, este esențial de reținut că FVIII este un reactant de fază acută, iar valorile pot crește tranzitor în context de stres sau inflamație, ducând la rezultate fals normale în formele ușoare [108]. Evaluarea inhibitorilor anti-factor este realizată prin testul Bethesda, care cuantifică capacitatea plasmei pacientului de a inactiva FVIII sau FIX. Valori $\geq 0,6$ UB sunt considerate pozitive [96]. Inhibitorii apar în special la pacienții cu hemofilia A severă (25–30%) și mai rar în hemofilia B (1–5%) [96]. Monitorizarea periodică este indicată în special după inițierea terapiei substitutive cu factori recombinanți și în cazul apariției hemoragiilor refractare. Testarea antigenului von Willebrand (vWF:Ag) este obligatorie pentru excluderea bolii von Willebrand, mai ales în cazurile cu nivel scăzut de FVIII. Formele de VWD tip 2N sau 3 pot simula hemofilia A prin scăderea activității FVIII, fiind necesară o diagnosticare diferențială riguroasă [96]. Tehnicile moderne de testare includ metode cromogenice și în două etape, care oferă o acuratețe superioară în identificarea hemofiliei ușoare și reduc influența variabilelor interferente (ex. anticoagulantul lupic, inflamația). Metodele în două etape implică inițial inhibarea unor factori, urmată de adăugarea secvențială a componentelor necesare formării cheagului, cu citire colorimetrică sau optică [73, 71]. Testele cromogenice sunt deosebit de utile pentru pacienți cu valori limită sau neconcludente la testarea standard. Testarea genetică devine o componentă esențială a diagnosticului hemofiliei, atât pentru confirmarea etiologică, cât și pentru stratificarea riscului de inhibitori. Analiza moleculară a genelor F8 și F9 permite identificarea mutațiilor cauzatoare. Inversia intronului 22 este prezentă în peste 40% dintre cazurile de hemofilia A severă și este asociată cu un risc crescut de dezvoltare a inhibitorilor [95]. Testarea este importantă și în identificarea femeilor purtătoare, consilierea familială și strategiile de profilaxie primară.

În Republica Moldova, diagnosticul paraclinic este realizat la nivel național prin IMSP Institutul Mamei și Copilului, care a implementat testarea activității factorilor VIII și IX, precum și a inhibitorilor specifici, utilizând metode automate validate [16, 32]. Colaborările internaționale au permis introducerea testării genetice pentru cazurile cu forme severe și antecedente familiale relevante.

Diagnosticul complet al hemofiliei presupune, așadar, integrarea rezultatelor paraclinice, a testelor genetice și a contextului clinic individual. O abordare multidimensională permite inițierea

precoce a tratamentului și prevenirea complicațiilor severe, fiind esențială în optimizarea prognosticului pe termen lung, în special în rândul copiilor.

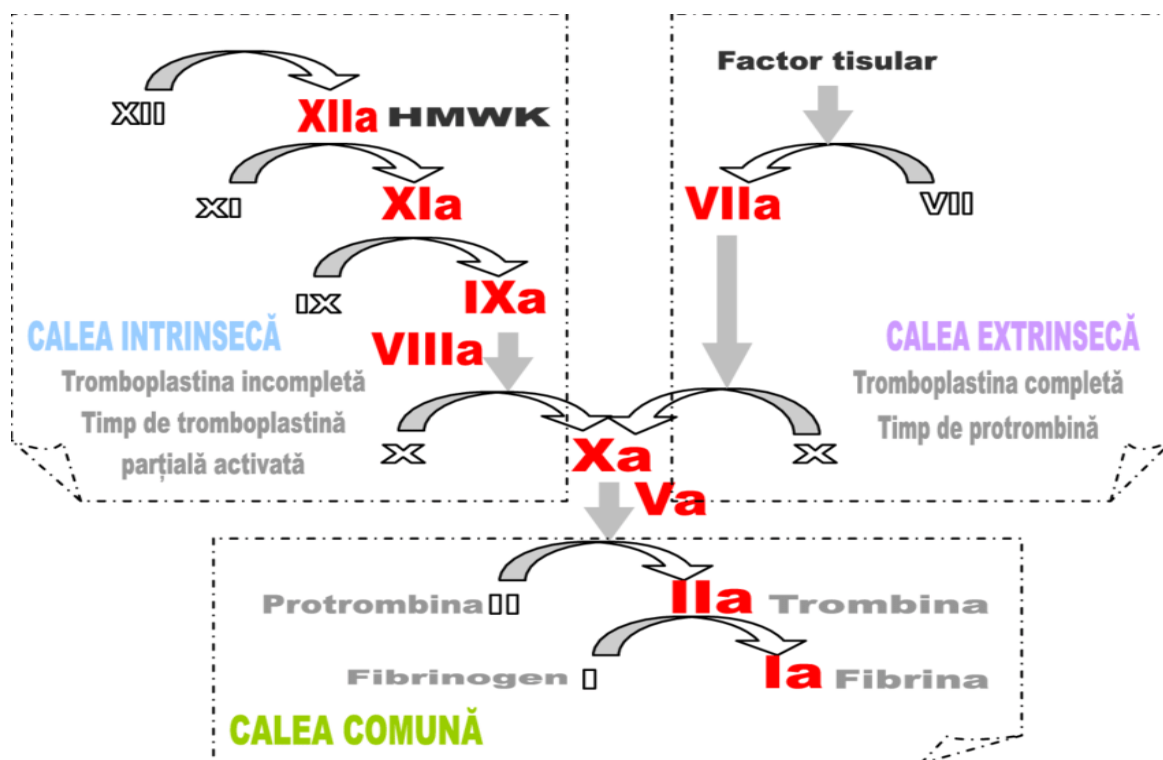


Figura 3. Modelul clasic al cascadei de coagulare cu implicarea factorilor [103]

Tabelul 3. Principalele teste de coagulare utilizate în diagnosticul hemofiliei

Test	Cale coagulare evaluată	Valori normale	Modificări în hemofilie	Utilitate clinică
TC Lee-White	Coagulare globală (primar)	5 – 10 minute	Prelungit în hemofilie severă	Test simplu de screening, rar folosit în practica modern
TTPa (aPTT)	Calea intrinsecă + comună	25 – 35 secunde	Prelungit în hemofilia A și B	Diagnostic și monitorizare tratamente substitutive
TP (INR)	Calea extrinsecă + comună	TP: 11–15 sec INR: 0.8–1.2	Normal (în hemofilie izolată)	Monitorizarea warfarinei; evaluarea funcției hepatice
TT (Timpul de trombină)	Conversia fibrinogenului în fibrin	15 – 22 secunde	De regulă normal în hemofilie	Screening pentru disfibrinogenemie sau tratament cu heparină
Fibrinogen plasmatic	Fază finală coagulare (factor I)	2 – 4 g/L	Normal în hemofilie; ↓ în CID, boli hepatice	Evaluarea stării globale a coagulării
Inhibitor anti-factor VIII	Evaluare imunologică specifică	<0.6 BU (unități Bethesda)	Crescut în hemofilia A cu inhibitori	Confirmă prezența inhibitorilor și ghidarea terapiei de bypass

1.4. Perspective asupra geneticii moleculare a hemofiliei: relevanța testării genetice în practica clinică de rutină. Hemofilia A și B: asemănări și diferențe moleculare

Hemofilia este o coagulopatie ereditară determinată de mutații la nivelul genei factorului VIII (în hemofilia A) sau al factorului IX (în hemofilia B) [136]. Transmiterea este legată de cromozomul X, ceea ce face ca boala să afecteze aproape exclusiv persoanele de sex masculin, femeile fiind în general purtătoare asimptomatice. Hemofilia A reprezintă aproximativ 80-85% din totalul cazurilor, iar hemofilia B 15–20% [118]. Incidența hemofiliei A este estimată la 1 din 5.000 de nou-născuți de sex masculin, în timp ce hemofilia B apare la aproximativ 1 din 25.000 [19]. Tații afectați transmit gena mutată tuturor fiicelor (care devin purtătoare) și niciunui fiu, iar o mama purtătoare are 50% șanse să aibă fii afectați și fiice purtătoare [19].

Gena F8 este localizată pe Xq28, are o dimensiune de aproximativ 186 kb și conține 26 de exoni [9], în timp ce gena F9 este situată pe Xq27, măsoară circa 33 kb și conține 8 exoni [95]. Datorită dimensiunii și complexității acestor gene, în special F8, au fost identificate sute de mutații diferite. În formele severe de hemofilie A, între 30–45% dintre pacienți prezintă inversiunea intronului 22 (Inv22) [95, 56], iar 2-5% au inversiunea intronului 1 [95, 56]. Aceste rearanjamente împiedică sinteza normală a ARNm pentru FVIII, ceea ce duce la absența proteinei și fenotip sever [56]. Restul pacienților cu hemofilie A (inclusiv cei cu forme moderate sau ușoare) prezintă mutații punctiforme – missense, nonsense, deleții mici, inserții sau mutații ale situsurilor de splicing [95]. În hemofilia B predomină mutațiile punctiforme în gena F9, în special missense și nonsense, iar delețiile mari sau inversiunile sunt rare [95]. În hemofilia A, mutațiile „nule” duc la absența completă a proteinei, în timp ce în hemofilia B, multe mutații severe sunt de tip missense, cu sinteză de proteină antigenic prezentă, dar nefuncțională [78]. Mutațiile pot apărea și de novo – fără istoric familial – în aproximativ 30% dintre cazuri [136]. Identificarea precisă a mutației prin testare genetică moleculară este esențială atât pentru confirmarea diagnosticului, cât și pentru investigarea rudelor și consilierea familială. Cercetările anterioare au arătat că tipul de mutație în genele FVIII și FIX este legat de cantitatea de activitate a factorului din sânge și de severitatea sângerării la pacienții cu hemofilie. Defectele genetice mai mari sunt în general asociate cu simptome mai severe. Cu toate acestea, nu a fost studiat sistematic dacă pacienții cu mutații nule în ambele tipuri de hemofilie au antecedente similare de sângerare. Prevalența diferită a mutațiilor nule explică, de asemenea, de ce o proporție mai mare de pacienți cu hemofilie B poate fi clasificată ca având material reactiv încrucișat pozitiv (CMR). Mutațiile nule împiedică producerea oricărei proteine detectabile FVIII sau FIX [75]. Aproximativ 5% dintre pacienții cu hemofilie A au material reactiv încrucișat pozitiv și au niveluri de FVIII aproape de 30% din normal. CRM în hemofilia A este de obicei cauzată de mutații missens în domeniul A2 al FVIII. În schimb, o treime

dintre pacienții cu hemofilie B au CRM și pot produce cantități variate de proteină FIX. Prevalența mai mare a mutațiilor mai puțin severe în hemofilia B ar putea explica de ce acești pacienți tind să aibă simptome de sângerare mai ușoare în comparație cu pacienții cu hemofilie A, deși dovezile clinice sunt limitate. Acesta ar putea fi, de asemenea, motivul pentru care inhibitorii, care sunt asociați cu mutații mai severe, sunt mai puțin frecvenți în hemofilia B [17].

Este de remarcat faptul că unele mutații missens în hemofilia A ușoară sunt asociate cu dezvoltarea inhibitorilor, dar acest lucru nu a fost observat în cazul hemofiliei ușoare la pacienții cu hemofilie B. Unele mutații nule ale genei FIX din hemofilia B pot fi parțial restaurate printr-un mecanism numit readthrough ribozom, care permite producerea de proteine de lungime minimă. Acest mecanism ar putea afecta rezultatele clinice la acești pacienți. În cele din urmă, deși rară, merită menționată o variantă specifică a hemofiliei B numită hemofilie B Leyden. Această afecțiune se caracterizează prin coagulare anormală a sângelui după naștere, dar se rezolvă de la sine în timpul pubertății, ducând la niveluri normale de FIX la vârsta adultă. Acest efect este asociat cu niveluri crescute de hormon de creștere după pubertate [12, 74].

Mecanisme potențiale care afectează variabilitatea severității bolii între hemofilia A și hemofilia B

Anomalii protrombotice asociate – severitatea și frecvența variabilă a sângerării pe care le pot experimenta pacienții cu hemofilie, chiar și la aceeași activitate a factorului măsurat, au fost raportate de mult timp. Prezența unei stări de hipercoagulare asociate, cum ar fi mutațiile de creștere a funcției FV Leiden sau protrombina G20210A și alte anomalii de coagulare (deficiențe de antitrombină, proteină C, proteină S), au dictat emiterea ipotezei pentru a modula fenotipul sângerării. Cu toate acestea, relevanța clinică a unor astfel de factori în modificarea fenotipului clinic al pacienților cu hemofilie severă este încă incertă. Un studiu mai recent care investighează ETP ca predictor al fenotipului clinic la pacienții cu hemofilie severă nu a arătat nici o diferență în distribuția mutațiilor FV Leiden sau a protrombinei G20210A între pacienții cu HA și HB severe. [19, 115]

Distribuția extravasculară a FIX – o posibilă explicație pentru un fenotip mai ușor la pacienții cu HB poate consta în diferențele dintre caracteristicile moleculare și farmacocinetica diferită a proteinelor FVIII și FIX. FVIII rezidă exclusiv în spațiul intravascular, iar timpul său de rezidență este determinat exclusiv de rata clearance-ului plasmatic. În schimb, FIX se distribuie și extravascular. Studiile farmacocinetice au arătat că distribuția FIX în organism este diferită de FVIII, FIX având un volum de distribuție mai mare. Acest lucru se poate datora compartimentării FIX în spațiile extravasculare, care ar putea contribui la niveluri extinse de FIX activ biologic. Deși există dovezi că FIX se distribuie în țesuturi și se leagă de matricea extracelulară, sunt

necesare studii suplimentare pentru a înțelege implicațiile clinice ale acestor caracteristici. În plus, este posibil următorul lucru: cantitatea de FIX măsurată în compartimentul intravascular să nu reflecte cu acuratețe capacitatea generală de coagulare a FIX endogen. Aceste descoperiri sugerează că pot exista diferite mecanisme care contribuie la tendințele de sângerare observate la pacienții cu hemofilie A și B [127].

Implicațiile clinice ale diagnosticului molecular genetic pentru hemofilia A. Progresele remarcabile în înțelegerea moleculară a hemofiliei din ultimii 13 ani au făcut din această tulburare o țintă principală pentru abordările de terapie genetică. Aceste progrese au condus, de asemenea, la crearea de produse recombinante FVIII pentru tratamentul pacienților cu hemofilie [17, 74]. O altă arenă clinică în care progresele moleculare au avut un impact important asupra practicii este cea a diagnosticului prenatal. După cum s-a arătat mai sus, un diagnostic genetic precis nu modifică în general managementul clinic al unui pacient cunoscut cu hemofilie, deoarece severitatea fenotipului hemoragic este determinată în primul rând de nivelul rezidual al activității factorului măsurat prin testele standard de coagulare.

Gena FVIII este situată pe brațul lung al cromozomul X (Xq28) și este formată din 26 de exoni. Gena produce ARNm care are aproximativ 9 kb lungime și are ca rezultat o glicoproteină cu dimensiunea de aproximativ 300 kD. Este predispusă la mutații precum inversii, deleții și mutații punctiforme, care afectează sinteza sau funcția proteinei, cauzând hemofilia A (Figura 4).

Sursa principală a producției de FVIII în organism nu este deocamdată cunoscută, dar se crede că ficatul poate juca un rol semnificativ. FVIII poate fi găsit și în celulele din sângele periferic, și în anumite linii celulare limfocite. În fluxul sangvin, FVIII este prezent în concentrații scăzute și acționează ca un co-factor pentru FIX în activarea factorului X. FVIII este o proteină instabilă și necesită o interacțiune cu factorul von Willebrand pentru stabilitate în sânge. Cele două proteine circulă astfel împreună ca un complex strâns în plasmă. Instabilitatea extremă a FVIII în absența VWF explică nivelurile semnificativ reduse ale FVIII observate la pacienții cu VWD severe și la pacienții cu VWD homozigot de tip 2N [7, 121].

Este foarte neobișnuit ca femeile să aibă hemofilie A clasică, deoarece ar trebui să fie homozigote pentru alelele cu deficit de factor VIII. În unele cazuri, denaturarea extremă a inactivării cromozomului X poate duce la niveluri scăzute de factor VIII la femeile cu hemofilie A, dar sângerarea severă este puțin probabilă. Excepție de la aceasta sunt indivizii rari care au o mutație din HA, X-linkat combinată cu o anomalie cromozomială. De asemenea, este important să se ia în considerare diagnosticul de VWD de tip 2N homozigot la femeile cu niveluri foarte scăzute ale factorului VIII [53].

Conform ipotezei Haldane, o treime din toți pacienții cu o tulburare letală X-linkat ar trebui să reprezinte noi mutații [33]. Acest lucru rezultă din faptul că o treime din toți cromozomii X se află la bărbați și două treimi la femei. Deoarece frecvența bolii este în echilibru, se poate presupune că aceste alele ale hemofiliei pierdute sunt înlocuite cu un număr egal de mutații noi. Acest principiu general se aplică multor altor boli X-linkate [60, 40].

Inversia Intron-22. Gena FVIII la pacienții cu hemofilie A poate suferi o rearanjare unică numită inversiune, care este cauzată de încrucișarea inegală între secvențele duplicate din genă. Această genă rearanjată are ca rezultat niveluri nedetectabile de FVIII și o formă severă de hemofilie A. Această mutație inversă apare mai ales la bărbați în timpul meiozei, probabil din cauza diferențelor dintre cromozomii X și Y. Prezența unui cromozom X pereche la femei previne această mutație. Dacă un pacient are această mutație, este probabil ca mama sa să fie purtătoare, iar mutația ar putea să provină din alela bunicului matern [125].

Diagnosticul prenatal se poate face acum prin testarea mutației directe sau analiza legăturii ADN pe probe de biopsie a vilozităților coriale prelevate deja de la 10 săptămâni de sarcină, oferind o alternativă la extragerea sângelui din cordonul fetal la sfârșitul sarcinii. În testele de diagnostic prenatale prin analiza de legătură este implicată presupunerea că mama este purtătoare de hemofilie A. Acest lucru poate fi dificil de stabilit definitiv pentru familiile în care probanda poate reprezenta o nouă mutație. Analizele de probabilitate genetică pot oferi adesea o estimare mai precisă a riscului în astfel de cazuri și ar trebui luată în considerare consultarea genetică [53, 105].

Alte mutații ale genei FVIII. Aproximativ 55% dintre pacienții cu hemofilie severă care nu au inversarea intronului 22 au un defect molecular mai tipic în gena lor FVIII. Aproximativ 5% dintre pacienți au deleții de diferite dimensiuni în gena FVIII și sunt găsite și mici inserții și deleții. 50% dintre pacienți au de obicei mutații punctuale specifice în exoni sau joncțiuni de îmbinare în gena FVIII. Majoritatea pacienților cu hemofilie A ușoară sau moderată au o mutație genetică specifică în secvența de codificare a FVIII, care are ca rezultat o modificare a unui singur aminoacid. Severitatea afecțiunii variază în funcție de mutația specifică.

Cercetările recente asupra structurii proteinei FVIII au oferit o nouă înțelegere a modului în care mutațiile dintr-un domeniu specific contribuie la hemofilia A. Aceste mutații genice apar adesea la dinucleotidele CpG din cauza metilării regulate, ceea ce duce la o schimbare de la C la T. Diferite mutații în gena FVIII la pacienții cu hemofilie A oferă perspective asupra mecanismelor mutațiilor umane. Unii pacienți cu hemofilie A au, de asemenea, mutații neobișnuite, cum ar fi inserarea unei secvențe transpozabile umane [137].

Modificatori genetici potențiali ai severității hemofiliei A. Severitatea hemofiliei A este strâns legată de volumul de activitate al factorului VIII. Cu toate acestea, variațiile altor gene ale factorilor de coagulare pot afecta, de asemenea, severitatea bolii. Unii pacienți cu aceeași mutație genetică în gena factorului VIII au niveluri diferite de severitate. S-a sugerat că mutația FV Leiden poate fi un factor de modificare în aceste cazuri. Pacienții care au atât mutația FV Leiden, cât și mutația hemofiliei A tind să aibă simptome mai ușoare [15].

Studiile de laborator susțin, de asemenea, ideea că FV Leiden poate crește formarea de trombine la pacienții cu hemofilie A. Având în vedere frecvența ridicată a mutației FV Leiden în populația generală (aproximativ 5%), acesta ar putea fi un factor important într-un subgrup semnificativ de pacienți. Această interacțiune potențială între FV Leiden și hemofilia A a fost confirmată într-un studiu. Alte mutații comune ale trombofiliei, cum ar fi mutația metilentetrahidrofolat reductazei termolabile (MTHFR) și polimorfismul genei protrombinei recent identificat, nu au fost încă evaluate ca potențiali modificatori ai hemofiliei A [53].

Implicațiile clinice ale diagnosticului molecular genetic pentru hemofilia B. Prezentarea clinică a hemofiliei B este aproape imposibil de distins de cea a hemofiliei A, deși cele două tulburări pot fi separate cu ușurință pe baza testelor de laborator de rutină și a măsurării activității FVIII și FIX. Atât genele FVIII, cât și genele FIX sunt situate pe brațul lung al cromozomului X, separate de aproximativ 10 centimorgani [130].

Reglarea transcripției genei FIX a fost un subiect de cercetare extinsă, în special datorită descoperirii unei variante de hemofilie B numită FIX Leyden. Persoanele cu FIX Leyden experimentează niveluri scăzute de FIX și hemofilie severă în timpul copilăriei. Cu toate acestea, se observă o îmbunătățire remarcabilă în timpul pubertății, nivelurile de FIX ajungând aproape de limitele normale.

Identificarea mai multor mutații în regiunea promotoare a genei FIX la acești pacienți a contribuit în mod semnificativ la înțelegerea modului în care este reglată gena FIX. Aproximativ o treime din mutațiile punctuale observate în hemofilia B apar la secvențe specifice de ADN cunoscute sub numele de dinucleotide CpG. Similar cu hemofilia A, se crede că aproximativ o treime din mutațiile din hemofilia B apar spontan sau „de novo”, susținând ipoteza lui Haldane. Analiza recentă a unui grup mare de pacienți cu hemofilie B din Regatul Unit a relevat o rată globală a mutațiilor umane de $2,14 \times 10^{-8}$ per generație, ceea ce înseamnă că aproximativ 128 de mutații apar în fiecare zigot uman. Dintre aceste mutații, aproximativ 1% (aproximativ 1,3 per zigot) sunt dăunătoare [72].

Gena FIX localizată pe brațul lung al cromozomului X (Xq27.1), conține 8 exoni și este o serin-protează implicată în calea intrinsecă a coagulării. Mutațiile în FIX includ substituții de

nucleotide, deleții sau inserții, care duc la producerea unei proteine anormale sau la reducerea cantității de factor IX, provocând hemofilia B (Figura 5).

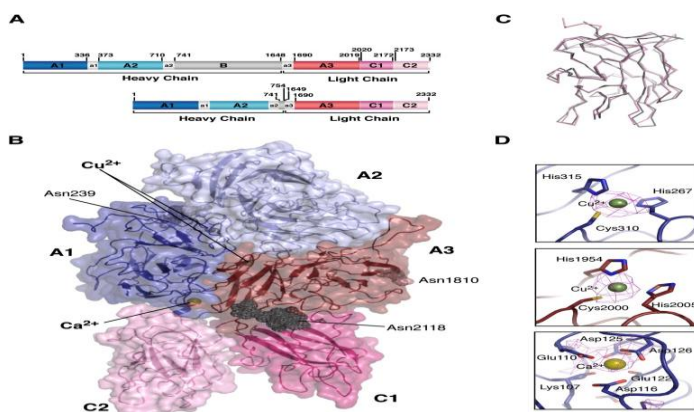


Figura 4. Structura cristalină a genei factorului VIII cu domeniul B șters [131]

Notă: (A) Diagramă a organizării domeniilor factorului VIII uman și a factorului VIII cu domeniul B șters. (B) Structura tridimensională a factorului VIII cu domeniul B șters. Domeniul A1 (resturi 1–336) și regiunea acidă a1 (resturi 337–372) sunt colorate în albastru-închis. Domeniul A2 (resturi 373–710) și regiunea acidă a2 (resturi 711–740) sunt colorate în albastru-deschis. Aceste regiuni (A1, a1, A2, a2) alcătuiesc lanțul greu. Domeniul A3 (resturi 1690–2019), domeniul C1 (resturi 2020–2172) și domeniul C2 (resturi 2173–2332) alcătuiesc lanțul ușor și sunt colorate în roșu, roz-închis și roz-deschis, respectiv. Regiunea acidă a3 este dezordonată și nu este inclusă în această structură. Structura conține doi ioni de Cu²⁺ (verzi), un ion de Ca²⁺ (portocaliu) și trei unități de carbohidrați (gri). (C) Suprapunerea scheletului polipeptidic al domeniului C2 din factorul VIII cu domeniul B șters (roz) și structura acestuia cu o rezoluție de 1,5 Å a domeniului C2 izolat (gri; cod PDB: 1D7P; Pratt et al., 1999). (D) Două site-uri de legare pentru Cu²⁺ și un site de legare pentru Ca²⁺ au fost identificate în factorul VIII cu domeniul B șters. Hărțile de densitate electronică experimentală pentru ionii metalici sunt conturate la 4σ. Panoul superior: Site-ul de legare pentru Cu²⁺ în domeniul A1. Panoul din mijloc: Site-ul de legare pentru Cu²⁺ în domeniul A3; fiecare Cu²⁺ este coordonat de două reziduuri de histidină și un reziduu de cisteină într-o geometrie planară trigonală. Panoul inferior: un ion de Ca²⁺ este coordonat de grupurile carboxilice ale reziduurilor de aspartat și glutamat, precum și de doi atomi de oxigen carbonilic din scheletul proteinei.

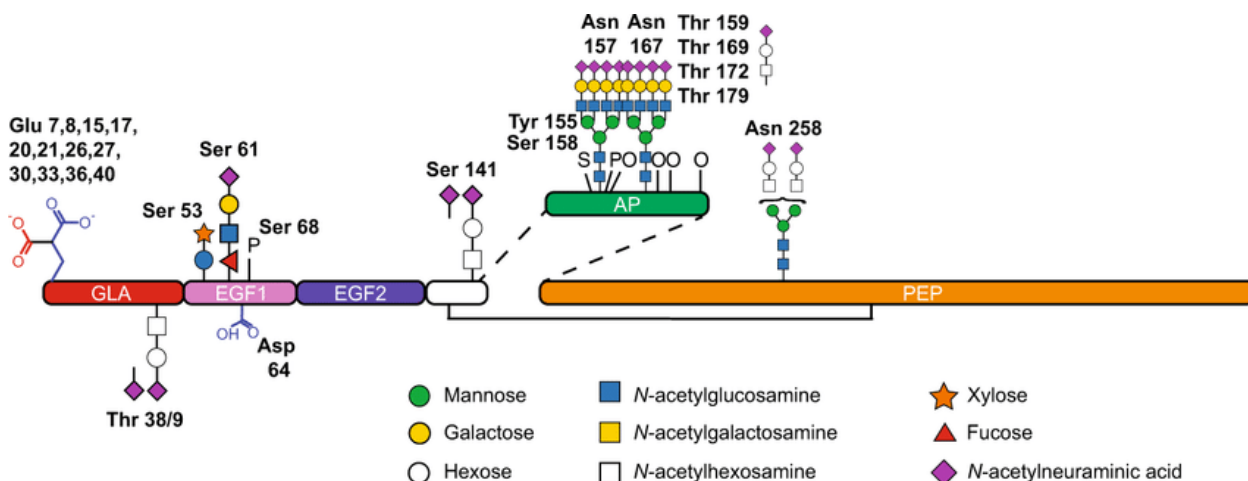


Figura 5. Domeniile structurale și modificările post-tranlaționale ale factorului IX al coagulării [131]

Notă: Schema factorului IX matur (FIX) cu modificările post-tranlaționale (PTM-uri) descrise anterior, atât pentru FIX derivat din plasmă, cât și pentru FIX recombinant (figura modificată din ref. ³⁰). Domeniul GLA (roșu) conține 12 situri potențiale de γ -carboxilare pe E7–40 și un O-glican la T38/39. Domeniul asemănător EGF 1 (roz) conține două O-glicani pe S⁵³ și S⁶¹, β -hidroxilarea lui D⁶⁴ și fosforilarea lui S⁶⁸. Domeniul asemănător EGF 2 (violet) nu are PTM-uri cunoscute. Domeniul scurt (alb) care leagă domeniul EGF-like 2 de peptida de activare (AP, verde) conține un O-glican la S¹⁴¹. AP conține două N-glicani la N¹⁵⁷ și N¹⁶⁷, patru O-glicani la T¹⁵⁹, T¹⁶⁹, T¹⁷² și T¹⁷⁹, sulfatul lui Y¹⁵⁵ și fosforilarea lui S¹⁵⁸ și T¹⁵⁹. Domeniul serin protează (portocaliu) conține un N-glican legat la N²⁵⁸.

Detectarea mutațiilor. Numele genelor, modificările nucleotidelor au convențiile lor unice de denumire. Responsabilitatea de a decide asupra numelor genelor revine Comitetului de nomenclatură genică al Organizației Genomului Uman 150, în timp ce sarcina de a descrie modificările nucleotidelor și proteinelor intră în competența Societății pentru Variația Genomului Uman. Aceste modificări sunt cuantificate pornind de la un punct specific al proteinei. Identificarea primei mutații a hemofiliei B datează din 1985. Analiza mutațiilor implică de obicei utilizarea amplificării ADN-ului PCR, urmată de secvențierea Sanger nu numai a celor opt exoni, ci și a regiunii 5'-netraduse, 3'-regiunii netraduse și limitele de îmbinare ale F9 [17, 84].

Diverse organizații recomandă efectuarea de analize ale mutațiilor pentru toate persoanele cu hemofilie. Aceasta ajută la identificarea oricărui risc crescut de dezvoltare a inhibitorilor, asociat cu mutații specifice. Mai mult, permite testarea purtătorului pentru rudele de sex feminin și chiar diagnosticul genetic prenatal sau potențial preimplantator [32].

În unele laboratoare, scanarea mutațiilor este utilizată pentru a evidenția ampliconul care conține o mutație candidată înainte de analiza secvenței sale [16]. Secvențierea ADN-ului de generație următoare (NGS) este, de asemenea, utilizată pentru a determina secvențierea. Analiza computațională a arătat că anumite mutații pot duce la variații ale nivelului proteinei factor IX, în timp ce altele au un fenotip consistent. Analiza ARNm FIX poate oferi mai multe perspective asupra urmarilor acestor defecte de splicing și poate fi utilizată atunci când mutațiile nu sunt identificate din analiza ADN-ului genomic. Cu toate acestea, obținerea de ADNc FIX de lungime completă din leucocite poate fi o provocare în unele cazuri [31].

Cercetătorii au investigat, de asemenea, originea diferitelor tipuri de mutații în cadrul genei FIX, rapoartele indicând mutații de origine masculină și feminină. Mecanismele mutaționale din hemofilia B au fost sistematizate în diferite clase, cum ar fi mutații reactive încrucișate pozitive, reduse, negative, discrepante și echivalente. Mai mult, mutațiile silențioase, care nu modifică secvența de aminoacizi, dar pot avea un impact asupra producției de proteine, au fost, de asemenea, explorate și discutate în profunzime [53].

Hemofilia B Leyden. O analiză a bazei de date a genei FIX a constatat că 1,3% dintre pacienți au mutații multiple. S-a determinat că unele dintre aceste mutații sunt puțin probabil să fie patogene pe baza frecvenței, conservării aminoacizilor și predicției locului de îmbinare. Aproximativ 0,55% dintre pacienți au două mutații posibile. S-a considerat inițial că mutațiile care provoacă hemofilia B severă se pierd de-a lungul generațiilor din cauza morții pacienților înainte de reproducere. Mutațiile *de novo* sunt mai frecvente în hemofilia B severă, dar pot implica aceleași reziduuri ca și mutațiile recurente. Pacienții cu boală moderată/ușoară ajung adesea până la vârsta reproducerii, ceea ce duce la trecerea mutațiilor prin populație. Unele mutații devin mai frecvente la anumite populații datorită efectului fondator. Analiza mutațiilor care apar la un anumit punct fierbinte de mutație în gena FIX a identificat diferite haplotipuri pentru mutațiile recurente. Pacienții cu hemofilia B severă au mai multe șanse de a avea mutații recurente. Introducerea substanțelor chimice moderne nu pare să fi afectat rata mutațiilor, care este similară între diferitele grupuri de populație. Mutațiile FIX ale liniei germinale rezultă mai degrabă din procese endogene decât din mutageni externi. Într-un alt studiu s-a constatat că opt din 103 pacienți au două mutații, niciuna dintre variante nefiind prezentă în alte baze de date. În 1970, a fost descoperit un nou tip de hemofilia B numit B65. Determină creșterea rapidă a nivelului factorului de coagulare FIX: C după pubertate, atingând niveluri normale în multe cazuri. Unii pacienți devin independenți de factorul de coagulare până la vârsta adultă timpurie. Acest fenotip este observat la 1,9% dintre pacienții cu mutația genei FIX. Mutația genei afectează situsurile de legare pentru trei factori de transcripție într-o regiune specifică a promotorului. Întreruperea acestor situsuri poate reduce legarea factorului de transcripție în timpul copilăriei, dar induce creșterea nivelurilor de FIX în timpul pubertății [53]. Registrul internațional de inhibitori FIX a constatat că delețiile genetice mari și mutațiile nonsens au fost asociate atât cu dezvoltarea inhibitorilor, cât și cu anafilaxia la pacienții cu hemofilia B severă [129].

Pacienții cu deleții complete ale genei au avut cel mai mare risc, iar unii au dezvoltat, de asemenea, sindrom nefrotic în timp ce urmau terapie de inducție a toleranței imune [16, 91].

Predicția patogenității. Când se efectuează analiza mutațiilor, pot fi găsite mutații identificate anterior. Documentarea patogenității lor este adesea simplă, în special atunci când varianta a fost observată la alți pacienți cu niveluri similare de FIX. În cazul în care căutarea pe internet nu identifică varianta la alți pacienți, predicția *in silico* a patogenității poate ajuta la determinarea faptului dacă varianta este probabil să fie patogenă [32].

1.5. Strategii terapeutice și management al hemofiliei la copii. Obiectivele de bază ale programelor terapeutice pentru hemofilie

Tratamentul hemofiliei pediatrice a evoluat semnificativ de-a lungul ultimelor decenii, transformând această afecțiune rară, odinioară cu prognostic sever, într-o boală cronică gestionabilă. De la utilizarea transfuziilor de sânge integral și plasmă proaspătă congelată, s-a trecut, în anii '60, la crioprecipitatul derivat din plasmă, ce furniza concentrații mai mari de factor de coagulare necesare opririi episoadelor hemoragice. Progresul semnificativ a fost atins în anii '70, odată cu introducerea concentratelor liofilizate de factori VIII și IX, care au permis administrarea la domiciliu și au redus semnificativ mortalitatea asociată cu complicațiile hemoragice [101]. Cu toate acestea, utilizarea produselor plasmatiche a fost umbrită de riscul transmisiei agenților patogeni, în special în anii '80, când infecțiile cu HIV și virusurile hepatitice au afectat sever comunitatea pacienților cu hemofilie. Aceste evenimente au declanșat o schimbare radicală în direcția siguranței biologice a produselor utilizate. Dezvoltarea tehnologiei ADN recombinant în anii '90 a permis producerea în laborator a factorilor VIII și IX necontaminați viral, marcând o nouă eră în terapia hemofiliei – începând cu 1997, primele concentrate recombinante au fost utilizate în practica clinică, înlocuind treptat produsele plasmatiche [101]. Terapia cu factori recombinanți a devenit standardul de îngrijire în țările dezvoltate, contribuind la creșterea semnificativă a speranței de viață și a calității vieții copiilor cu hemofilie [101]. În paralel, a fost introdus conceptul de profilaxie – administrarea regulată a factorilor de coagulare pentru prevenirea episoadelor hemoragice, în special a hemartrozelor. Această strategie terapeutică, introdusă în anii '90, a transformat complet managementul hemofiliei severe, permițând pacienților o viață activă și aproape normală [101].

Clasificarea terapeutică actuală a hemofiliei include două paradigme majore: tratamentul „la nevoie” (*on-demand*), care constă în administrarea factorului de coagulare în timpul unui episod hemoragic acut, și tratamentul profilactic, administrat în mod regulat pentru a menține niveluri hemostatice adecvate și a preveni apariția hemoragiilor spontane. Datele clinice arată că profilaxia continuă reduce semnificativ riscul de artropatie hemofilică, îmbunătățind rezultatele funcționale și calitatea vieții copiilor [101].

Tratamentul poate fi profilactic primar (înainte de apariția oricărei hemoragii articulare), secundar (după primele hemoragii, dar înaintea artropatiei manifeste) sau terțiar (după instalarea artropatiei, cu scopul reducerii progresiei) [101]. Totodată, în funcție de produsul utilizat, tratamentul se împarte în terapie de substituție (cu factori VIII/IX derivați din plasmă sau recombinanți), terapie non-substitutivă (ex. emicizumab, fitusiran, concizumab) și terapie de bypass (rFVIIa, aPCC) utilizată în prezența inhibitorilor [101].

O evoluție recentă importantă este apariția concentratelor de factori cu timp de înjumătățire extins (EHL), care oferă aceeași eficacitate hemostatică, dar necesită administrări mai rare, aspect deosebit de relevant pentru populația pediatrică, în cazul căreia accesul venos reprezintă o provocare majoră [43]. Astfel, molecule precum efmoroctocog alfa (rFVIII_{IFc}), damoctocog alfa pegol (rFVIII pegilat), eftrenonacog alfa (rFIX-Fc) sau albutrepenonacog alfa (rFIX-albumină) permit scăderea frecvenței administrărilor la 1–2 pe săptămână, crescând aderența la tratament [101]. Eficiența acestor produse este mai pronunțată în hemofilia B, în cazul căreia timpul de înjumătățire a crescut de până la 4–6 ori (până la 100 de ore) comparativ cu doar 1.5–2 ori în hemofilia A, din cauza legării FVIII de factorul von Willebrand [101].

Un progres deosebit în ultimii ani îl reprezintă dezvoltarea terapiilor non-factoriale, în special utilizarea emicizumab, un anticorp monoclonal bispecific care leagă factorul IXa de factorul X, mimând activitatea cofactorului FVIII activ. Administrarea subcutanată și farmacocinetica favorabilă (timp de înjumătățire ~30 zile) permit dozări la intervale săptămânale, bilunare sau lunare, cu o eficiență comparabilă și, uneori, superioară profilaxiei cu factor VIII [101].

Studiile clinice HAVEN au demonstrat o reducere de peste 80% a ratelor anuale de sângerare la pacienții cu și fără inhibitori tratați cu emicizumab [101]. În studiul HAVEN 2, 77% dintre copiii sub 12 ani tratați cu emicizumab nu au prezentat niciun episod de sângerare tratat, iar toate articulațiile ținută s-au rezolvat pe durata urmăririi [101]. În plus, emicizumab nu este neutralizat de anticorpii anti-FVIII, ceea ce îl face o soluție ideală pentru pacienții cu inhibitori [101].

Dezvoltarea altor terapii non-factoriale este în curs, printre care fitusiran (ARN interferențial care reduce sinteza antitrombinei, crescând indirect trombina endogenă) și concizumab (anticorp monoclonal anti-TFPI), ambele în studii clinice avansate. Aceste terapii, administrabile subcutanat, sunt promițătoare prin eficiența în hemofilia A și B, indiferent de prezența inhibitorilor, și reprezintă o nouă generație de tratamente profilactice „factor-agnostic” [101].

Cea mai avansată formă de tratament – terapia genică – urmărește transferul genei F8 sau F9 în hepatocite, utilizând vectori virali adeno-asociați (AAV), pentru o producție endogenă continuă a factorilor de coagulare. Produsele valoctocogene roxaparvovec (pentru hemofilia A) și etranacogene dezaparvovec (pentru hemofilia B) au fost aprobate începând cu 2022 în SUA și UE, oferind pacienților adulți o posibilitate de remisiune funcțională prelungită, cu reducerea masivă a necesității profilaxiei. Totuși, limitările actuale includ aplicabilitatea doar la adulți, imposibilitatea redozării din cauza imunizării anti-AAV, riscuri imunologice hepatice și costuri foarte ridicate (2,9–3,5 milioane USD per pacient) [101].

În hemofilia pediatrică, terapia genică nu este încă recomandată, datorită turnover-ului hepatic crescut la copii, care poate duce la diluarea expresiei genice, riscul de reacții imune pe termen lung și lipsa experienței privind siguranța la vârste mici. Cu toate acestea, se preconizează extinderea treptată a acestei opțiuni terapeutice către adolescenți, pe măsură ce se acumulează date privind eficiența și siguranța pe termen lung. În pofida progreselor terapeutice remarcabile, accesul la tratamente moderne rămâne inegal. Profilaxia continuă este standardul de îngrijire în țările cu venituri mari, însă în regiunile cu resurse limitate – inclusiv Republica Moldova – profilaxia este aplicată restrictiv, din cauza costurilor ridicate ale factorilor de coagulare. În prezent, Moldova dispune de crioprecipitat, concentrate de factor VIII/IX și produse recombinante în regim mixt, dar accesul universal la profilaxie continuă nu este încă posibil [101]. Totuși, începând cu a doua jumătate a anului 2025, autoritățile planifică introducerea profilaxiei cu emicizumab pentru copiii cu hemofilie A severă, marcând un salt calitativ important în alinierea la standardele internaționale [101]. Din punct de vedere economic, profilaxia continuă s-a dovedit cost-eficientă pe termen lung, reducând cheltuielile asociate complicațiilor, internărilor, intervențiilor ortopedice și dizabilității. În România, studiile au arătat că, deși tratamentul profilactic presupune un cost inițial mai ridicat, raportul cost-eficiență este favorabil față de tratamentul la nevoie, în special în cazul copiilor, prin prevenirea dizabilităților și reintegrarea socio-profesională [101]. Același principiu este aplicabil și în alte țări din Europa de Est, unde eforturile actuale vizează extinderea accesului la profilaxie cu produse inovatoare, pentru reducerea disparităților terapeutice.

Hemofilia poate fi gestionată prin:

- Tratatment „la nevoie” (*on-demand*) – eficient în controlul hemoragiilor acute, dar fără efect preventiv asupra artropatiei [136, 118].
- Profilaxie regulată – standardul modern de îngrijire, cu impact major în reducerea hemoragiilor și prevenirea complicațiilor musculo-scheletale [136, 19, 9].

Tipurile de profilaxie:

- Primară – inițiată înainte de hemoragii articulare [9].
- Secundară – după primele două episoade hemoragice [9].
- Terțiară – după instalarea artropatiei, pentru a preveni agravarea acesteia [9, 95].

Profilaxia poate fi continuă (≥ 45 săpt./an) sau intermitentă, în funcție de resurse și context clinic [56].

Clasificarea tratamentelor în hemofilie:

a. După scopul terapeutic:

- Profilaxie regulată [136, 19, 9]
- Tratatment episodic [118]

b. După tipul de produs:

- Terapie substitutivă (FVIII/FIX) [78]
- Terapie non-factorială (emicizumab, fitusiran, concizumab) [132, 33, 29]
- Terapie de bypass (rFVIIa, aPCC) – la pacienți cu inhibitori [134, 38]

c. După durată:

- Acut (episodic) [118]
- Cronic (profilaxie) [9]

d. După abordare:

- Standardizată
- Individualizată (farmacocinetică, greutate, stil de viață) [39]

e. Terapii avansate:

- Terapie genică (în curs de implementare pentru adulți) [10, 50]

Factori recombinanți vs. factori EHL – produsele moderne recombinante și cele cu durată extinsă:

- rFVIII/rFIX convențional – standard în multe țări [58].
- EHL (ex. rFVIII-Fc, rFIX-Fc, PEGilate) – reduc frecvența administrărilor, cresc aderența, fiind preferate în cazul copiilor [125, 100].

Limitare: FVIII EHL oferă prelungire modestă a timpului de înjumătățire, comparativ cu FIX EHL [81, 16].

Terapii non-factoriale: inovații în hemofilia A

Emicizumab:

- Anticorp monoclonal bispecific ce imită FVIII [91].
- Se administrează subcutanat, săptămânal/lunar [12].
- Eficient indiferent de prezența inhibitorilor, cu reducerea semnificativă a sângerărilor (peste 80% în studiile HAVEN) [96, 112].

Alte terapii non-factor:

- Fitusiran (ARNi care inhibă antitrombina) – potențează trombina endogenă [73].
- Concizumab (anti-TFPI) – crește generarea de trombină [71].

Ambele se administrează subcutanat, în dezvoltare clinică avansată [73, 71].

Terapia genică: promisiune curativă

- Vectori AAV cu gene F8/F9 (Roctavian®, Hemgenix®) [10, 50].
- O singură doză i.v. → expresie hepatică a factorului → profilaxie potențialmente inutilă ani de zile [10].
- Eficiență ridicată la adulți (reducere 50–95% a hemoragiilor), dar:

o Limitări actuale: doar adulți, costuri >3 milioane USD, imposibilitate de re-administrare, reacții imune hepatice [50, 48].

o La copii, aplicarea este prematură – riscuri imunologice și metabolice, diluare hepatică prin creștere [50, 28].

Provocările actuale și accesul inegal la terapii moderne

- Doar 25–30% dintre pacienți la nivel global beneficiază de profilaxie [41].
- Accesul la emicizumab și terapiile genice este inegal, dependent de context economic [17, 74].
- Moldova și alte țări din Europa de Est implementează treptat terapii moderne (ex.: planul introducerii emicizumab în 2025 pentru copii) [12].
- Registrul național, centrele regionale și telemedicina sunt esențiale pentru echitate [32].

Cost-eficiență și sustenabilitate terapeutică

- Profilaxia regulată este cost-eficientă pe termen lung (evitarea dizabilităților, reducerea spitalizărilor) [31, 30].
- Emicizumab – cost ridicat, dar eficient la pacienții cu inhibitori [51].
- Terapia genică – cost inițial foarte mare, dar poate deveni rentabilă dacă beneficiile persistă >10 ani [50, 120].
- În România și Republica Moldova, bugetul alocat profilaxiei este în creștere, dar rămâne sub media UE [37].

Pentru terapia de profilaxie este necesară administrarea de FIX săptămânal și 1–2 doze/săptămână în cazul FVIII. Există trei tipuri de profilaxie a hemofiliei: primară, secundară și terțiară, fiecare cu recomandarea și scopul său (Tabelul 4). Cu toate acestea, terapia actuală de profilaxie are limitări, deoarece nu elimină complet sângerările subclinice, care în timp pot determina osteoartrită [37, 30].

Tabelul 4. Tipuri de terapie de profilaxie în hemofilie și recomandările acestora

Tip de profilaxie	Primar	Secundar	Terțiar
Definiție	Terapia regulată de înlocuire continuă a început în absența unei boli articulare documentate, determinată de examen fizic și/sau studii imagistice și înainte de a doua sângerare articulară evidentă clinic și vârsta de 3 ani	Terapia regulată de înlocuire continuă a început după două sau mai multe sângerări articulare, dar înainte de debutul bolii articulare documentate prin examen fizic și/sau studii imagistice	Terapia regulată de înlocuire continuă a început după debutul bolii articulare documentate prin examen fizic și radiografii simple ale articulațiilor afectate

Scop	Profilaxia sângerărilor care pun viața în pericol	Profilaxia sângerărilor care pun viața în pericol	Profilaxia sângerărilor care pun viața în pericol
	Menținerea integrității articulațiilor	Reduce frecvența sângerărilor	Reduce frecvența sângerărilor
	Minimizăți episoadele de sângerare	Previne sângerarea în articulațiile vizate	Reducerea sângerărilor la nivelul articulațiilor vizate
	Calitate înaltă a vieții	Reduce riscul de artropatie	Reducerea agravării artropatiei
	Statutul social, educațional	Menținerea calității vieții	Controlul durerii
	Permite activități fizice, sport	Statutul social, educațional	Reduce sângerările asociate cu alte boli
		Permite activități fizice, sport	Permite kinetoterapie și chirurgie ortopedică
			Îmbunătățește calitatea vieții
			Îmbunătățește statutul social și educațional

Tratamentul profilactic este terapia optimă deoarece previne afectarea articulațiilor și musculare și permite copilului sau persoanei cu hemofilie să aibă o calitate normală a vieții (Tabelul 5).

Tabelul 5. Dozarea factorilor în funcție de greutatea pacientului în timpul terapiei de profilaxie

Tipul dozei	Dozare
Doză mare/plină (Malmo/suedeză)	25–40 UI/kg 3x/săptămână sau la 2 zile, de la vârsta de 1–2 ani, independent de istoricul de sângerare
Doză intermediară (olandeză)	12–25 UI/kg 2–3x/săptămână, se inițiază după o hemartroză
Doză crescătoare (canadian)	50 UI/kg 1x/săptămână, cu escaladare la 30 UI 2x/săptămână, apoi 25 UI/kg la 2 zile, în funcție de frecvența sângerării.

1.6. Hemofilia inhibitorie: provocări clinice și perspective terapeutice

O complicație majoră în managementul hemofiliei o reprezintă dezvoltarea de anticorpi neutralizanți (inhibitori) împotriva factorilor exogeni administrați în scop terapeutic. Acești aloanticorpi, produși de sistemul imun al pacientului, neutralizează activitatea coagulantă a factorilor de coagulare VIII sau IX, compromițând eficiența terapiei de substituție și crescând considerabil riscul de hemoragii severe sau refractare [136, 118].

Incidența inhibitorilor este cea mai ridicată în hemofilia A severă, în cazul căreia aproximativ 25–30% dintre pacienți dezvoltă această complicație, în timp ce în hemofilia B severă procentul este mai redus (5–10%) [3–5]. La formele ușoare sau moderate, apariția inhibitorilor este rară, fiind asociată mai ales cu expuneri terapeutice intense sau cu mutații punctiforme ce modifică epitopi imunogeni [56]. Debutul formării inhibitorilor apare, de regulă, în primele 50 de zile de expunere la factorul de coagulare, cu un vârf între 9 și 15 zile cumulative de expunere. Vârsta medie la care se dezvoltă inhibitorii este de 2–3 ani în hemofilia severă congenitală [78], dar poate fi mult mai avansată în formele ușoare sau în hemofilia dobândită, unde media este în jur de 30 de ani [132]. Factorii de risc implicați includ predispoziția genetică (ex. mutații de tip inversie intron 22 în F8), etnia, tipul de produs (derivat plasmatic vs. recombinant), regimurile terapeutice (profilaxie versus tratament la nevoie), precum și factori imunologici sau epigenetici [33, 134]. Inhibitorii se suspectează clinic atunci când răspunsul la tratamentul substitutiv devine inefficient, cu persistarea sângerării în ciuda dozelor terapeutice. Diagnosticul se confirmă prin testul Bethesda modificat, care cuantifică titrul inhibitorilor în unități Bethesda (UB). Valori $\geq 0,6$ UB sunt considerate pozitive, dar pragurile clinice relevante sunt: inhibitori cu titru scăzut (< 5 UB) și inhibitori cu titru înalt (≥ 5 UB), aceștia din urmă fiind asociați cu o activitate imună amplificată și risc crescut de recurență [38, 39].

Din punct de vedere imunologic, inhibitorii anti-FVIII sunt în principal de tip IgG1 și IgG4, cu specificitate pentru domeniile A2, A3 și C2 ale proteinei. Anticorpii anti-domeniu A2 și A3 inhibă interacțiunea cu FIXa, iar cei anti-C2 perturbă legarea la fosfolipide și la factorul von Willebrand [10, 50].

Copiii cu inhibitori prezintă o frecvență crescută a hemoragiilor spontane, hematoamelor de țesut moale, epistaxisului și hemartrozelor recurente. Aceste episoade sunt mai greu de controlat și pot duce rapid la complicații severe, cum ar fi artropatia invalidantă sau hemoragii cu potențial letal [58]. Prezența inhibitorilor limitează semnificativ opțiunile terapeutice și determină o calitate redusă a vieții, cu multiple spitalizări, intervenții și afectare psihologică [125].

Abordarea terapeutică include două direcții majore: controlul sângerărilor acute și eradicarea inhibitorilor. În prezența inhibitorilor cu titru înalt, tratamentele standard cu FVIII/FIX devin

ineficiente. În aceste cazuri, se utilizează agenți de bypass, precum factorul VII activat recombinant (rFVIIa) sau complexul protrombinic activat (aPCC), care ocolesc necesitatea prezenței FVIII/FIX funcțional [100,81]. La pacienții cu inhibitori de tip scăzut, perfuziile de FVIII/FIX în doze crescute pot depăși temporar activitatea inhibitorului.

Inducerea toleranței imune (ITI) este singura strategie cu scop curativ pentru eradicarea inhibitorilor. Presupune administrarea zilnică (sau la 2 zile) a unor doze mari de FVIII timp de luni sau ani. ITI are o rată de succes de până la 70% în hemofilia A, însă doar 30% în hemofilia B, unde există și riscul de reacții anafilactoidice [16, 91]. Pacienții cu succes terapeutic pot relua profilaxia cu produse convenționale.

Emicizumab, un anticorp monoclonal bispecific care imită funcția cofactorială a FVIII activat, oferă o alternativă sigură și eficientă la pacienții cu inhibitori. Se administrează subcutanat, are o biodisponibilitate crescută și nu este neutralizat de inhibitorii clasici, fiind deja aprobat pentru tratamentul hemofiliei A cu și fără inhibitori [12, 96].

De asemenea, terapii în dezvoltare precum fitusiran (ARN interferent care scade antitrombina) și concizumab (anticorp anti-TFPI) reprezintă noi opțiuni promițătoare, aflate în faze avansate de testare clinică [112, 73].

Monitorizarea periodică a inhibitorilor este esențială în practica pediatrică. Ghidurile internaționale recomandă screening la fiecare 3–5 zile de expunere până la 20 de zile cumulative, apoi la 10 zile până la 50 de expuneri, iar ulterior cel puțin de două ori pe an până la 150 de zile de expunere [71]. De asemenea, este indicată testarea la schimbarea produsului de factor, înaintea intervențiilor chirurgicale sau după perfuzii intensive.

Registrul național, centrele de hemofilie și abordarea multidisciplinară sunt esențiale pentru detectarea precoce și managementul adecvat al pacienților pediatrici cu inhibitori.

Pentru copii, ar trebui să existe screening o dată la cinci zile de la expunere până la 20 de zile de expunere, la fiecare zece zile de expunere între 21 și 50 de zile de expunere, de cel puțin două ori pe an până la 150 de zile de expunere. Este necesară o evidență și cercetare minuțioasă înainte de operație sau la trecerea pacientului la un nou concentrat de factori. Este necesară investigarea tuturor pacienților care au primit un tratament intensiv o perioadă ce durează mai mult de cinci zile și în decurs de patru săptămâni de la ultima perfuzie.

Concluzie la Capitolul 1

Analiza literaturii de specialitate a evidențiat complexitatea hemofiliei în copilărie, atât din punct de vedere clinic, cât și genetic, biochimic și terapeutic. Evoluția abordărilor diagnostice și progresul terapiilor substitutive și non-factoriale reflectă un interes științific susținut în scopul

optimizării îngrijirii acestor pacienți. În pofida acestor progrese, persistă provocări semnificative legate de diagnostic precoce, acces echitabil la tratament și gestionarea complicațiilor imune precum dezvoltarea inhibitorilor. Alegerea temei de cercetare în cauză derivă din nevoia de a adapta aceste cunoștințe la contextul național, în special pentru Republica Moldova, unde sistemul de îngrijire pediatrică hematologică necesită consolidare. Studiul de față urmărește să contribuie la fundamentarea unui model de diagnostic și tratament personalizat, eficient și sustenabil pentru copiii cu hemofilie.

2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

2.1. Caracteristica generală a cercetării și proiectarea volumului eșantionului de studiu

Proiectul de cercetare s-a desfășurat în cadrul Departamentului *Pediatrie* al IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova, la baza IMSP IM și C, secția Hemopatii benigne, în cadrul căruia au fost admiși 90 de copii, cu vârsta de 2–17 ani și 11 luni, din mediul urban și rural.

Proiectarea volumului eșantionului necesar pentru realizarea lucrării. Pentru a realiza scopul și obiectivele trasate a fost planificat un studiu observațional, descriptiv, transversal, selectiv. Studiul s-a desfășurat în perioada 2018–2022 și a inclus toți copiii diagnosticați cu hemofilie și monitorizați în această perioadă în clinică. Pentru a completa analiza și a permite o comparație mai detaliată a strategiilor de tratament, a fost necesară includerea retrospectivă a unui număr suplimentar de pacienți tratați cu crioprecipitat din perioada 2010–2013. Această etapă retrospectivă a permis evaluarea efectelor tratamentului specific pe o perioadă de 3 ani, oferind o perspectivă comparativă între metodele utilizate.

Populația studiată. În perioada 2018–2022, au fost incluși toți copiii diagnosticați cu hemofilie care s-au adresat la clinică, reprezentând populația prospectivă din această perioadă. Pentru perioada anterioară, au fost analizați retrospectiv pacienții tratați cu crioprecipitat, pe baza documentației medicale, pentru a asigura o comparație adecvată. În total, au fost identificați 108 copii diagnosticați cu hemofilie în perioada 2010–2022. Dintre aceștia, 90 de pacienți (83,3%) au fost incluși în studiu, fie prin participare activă (2018–2022), fie prin analiza retrospectivă a dosarelor medicale. Justificarea includerii retrospective: având în vedere că hemofilia este o boală rară, utilizarea unei abordări retrospective pentru includerea pacienților tratați cu crioprecipitat a fost esențială pentru a asigura reprezentativitatea eșantionului. Această metodologie a permis o evaluare mai largă a efectelor tratamentului, precum și comparația strategiilor utilizate în timp, contribuind la o înțelegere mai completă a evoluției terapeutice.

Justificarea metodologică. Hemofilia este o boală rară, cu o prevalență redusă în populația generală. În consecință, pentru a asigura reprezentativitatea și validitatea rezultatelor, aproape întreaga populație de copii diagnosticați și tratați în această secție în perioada specificată a fost luată în studiu. Astfel, procentul ridicat al copiilor incluși în studiu (83,3%) reflectă din punct de vedere statistic structura populației studiate, reducând riscul de erori de selecție și creând un cadru adecvat pentru analiza observațională.

Metodologia de cercetare. Cercetarea s-a efectuat în câteva etape (s-au respectat pașii de lucru, sistematizați grafic în diagrama ce reflectă designul cercetării (figura 6)).

La *etapa 1*, aplicând criteriile de includere/excludere, au fost selectați 90 de copii care au constituit lotul de cercetare, respectând următoarele *criterii*: copii cu diagnosticul de hemofilie; cu vârsta de 0–18 ani; prezența acordului părinților sau al tutorelui legitim de participare în studiu; cetățeni ai Republicii Moldova; abilitatea de a comunica bine cu cercetătorul; să înțeleagă și să respecte cerințele înaintate de studiu; înțelegerea și semnarea acordului informat în scris.

Au fost *excluși din cercetare* subiecții cu următoarele caracteristici: copii cu alte tipuri de coagulopatie; lipsa acordului informat de la părinții copiilor incluși în cercetare sau dezacordul copilului de a participa în cercetare.

Participanții selectați au fost supuși unei examinări complexe, care a inclus: examenul clinic pe sisteme pentru aprecierea expresiei sindromului hemoragic (peteșii, purpură, hematom, hemoragie cavitara, hemartroză; hemoragii minore sau masive), teste de laborator cu evaluarea unor indici ai coagulogramei: timpul de sângerare Lee-White, TTPa, TP, fibrinogen; indici ai sdr. anemic secundar: hemoglobină, eritrocite, hematocrit; indici ai sdr. citolitic hepatic: ALT, AST; indici ai sdr. colestatic: nivelul bilirubinei totale și fracțiile. Ulterior s-a efectuat aprecierea cantitativă a factorilor VIII și IX ai coagulării.

La un subgrup (39 de copii) au fost apreciate mutațiile genetice pentru gena FVIII și IX. Tot din testele de laborator a fost apreciat titrul de inhibitori spre finalul cercetării, când a fost implementată metodologia diagnosticului de laborator pentru Hemofilia inhibitorie prin protocolul clinic național.

La *etapa 2*, după obținerea rezultatelor evaluării clinice și paraclinice, s-a efectuat divizarea respondenților utilizând tipul de factor deficitar în 2 grupe în dependență de tipul de factor deficitar: pacienți cu Hemofilia A (deficit de factor VIII) și Hemofilia B (deficit de factor IX). Ulterior, subiecții din ambele grupe au fost clasificați în 3 subgrupe în dependență de gradul de severitate al bolii care a fost apreciat în baza nivelului de factor VIII și IX după cum urmează: Forma ușoară: factor VIII/IX = 5–50%, Forma moderată: factor VIII/IX = 1–5%, Forma severă: factor VIII/IX = <1%.

Hemofilie ușoară. Între 6% până la 49% FVIII în sânge. Persoanele cu hemofilie ușoară manifestă în general sângerare doar după un traumatism sever sau după o intervenție chirurgicală. În majoritatea cazurilor, hemofilia ușoară nu este diagnosticată până când un traumatism, o operație sau o extracție dentară determină sângerare prelungită. Primul episod poate să aiba loc abia la maturitate.

Hemofilie moderată. 1% până la 5% FVIII în sânge. Persoanele cu hemofilie moderată au tendința spre episoade de hemoragie după traumatisme minore sau spontan. Hemoragiile care se produc fără cauze evidente sunt denumite episoade de hemoragie spontană.

Hemofilie severă. <1% FVIII în sânge. Persoanele cu hemofilie severă manifestă frecvent hemoragii spontane și la traumatisme minore, deseori la nivelul articulațiilor și mușchilor, dar și mucoaselor și la nivelul organelor interne.

La etapa 3 s-au efectuat comparații între subgrupe după criteriile: interrelația tipului de hemofilie și tipul de transmitere a bolii; relația dintre severitatea bolii și expresia clinică – Hemartroza; interrelația fenotip-genotip.

La etapa 4: Au fost selectate 32 de cazuri la care au fost analizate internările în baza fișelor de observație din Arhiva IMSP „Institutul Mamei și Copilului”, de la prima vizită în secție, când primar a fost stabilit Diagnosticul prezumtiv sau definitiv de Hemofilie, și pentru următorii 3 ani. Pacienții au fost împărțiți în baza tipului de tratament oferit după cum urmează: 16 au beneficiat de Crioprecipitat și 16 de Factor recombinat de substituție. Analiza efectuată a urmărit numărul de internări și tipul de exprimare clinică a Sdr.hemoragic în dependență de modelul de tratament oferit.

La etapa 5, în baza rezultatelor obținute, au fost emise concluzii și elaborate recomandări practice.

Toți subiecții selectați au fost informați din start despre etapele cercetării, fiindu-le explicate în detaliu cerințele impuse și modul de desfășurare a investigațiilor necesare printr-o discuție ce a avut loc cu fiecare în parte. Toate procedurile au fost efectuate după semnarea consimțământului informat de către reprezentantul legal și cu asentimentul copiilor cu vârsta ≥ 14 ani. Aceștia nu au fost remunerați și nu au suportat costuri financiare aferente participării.

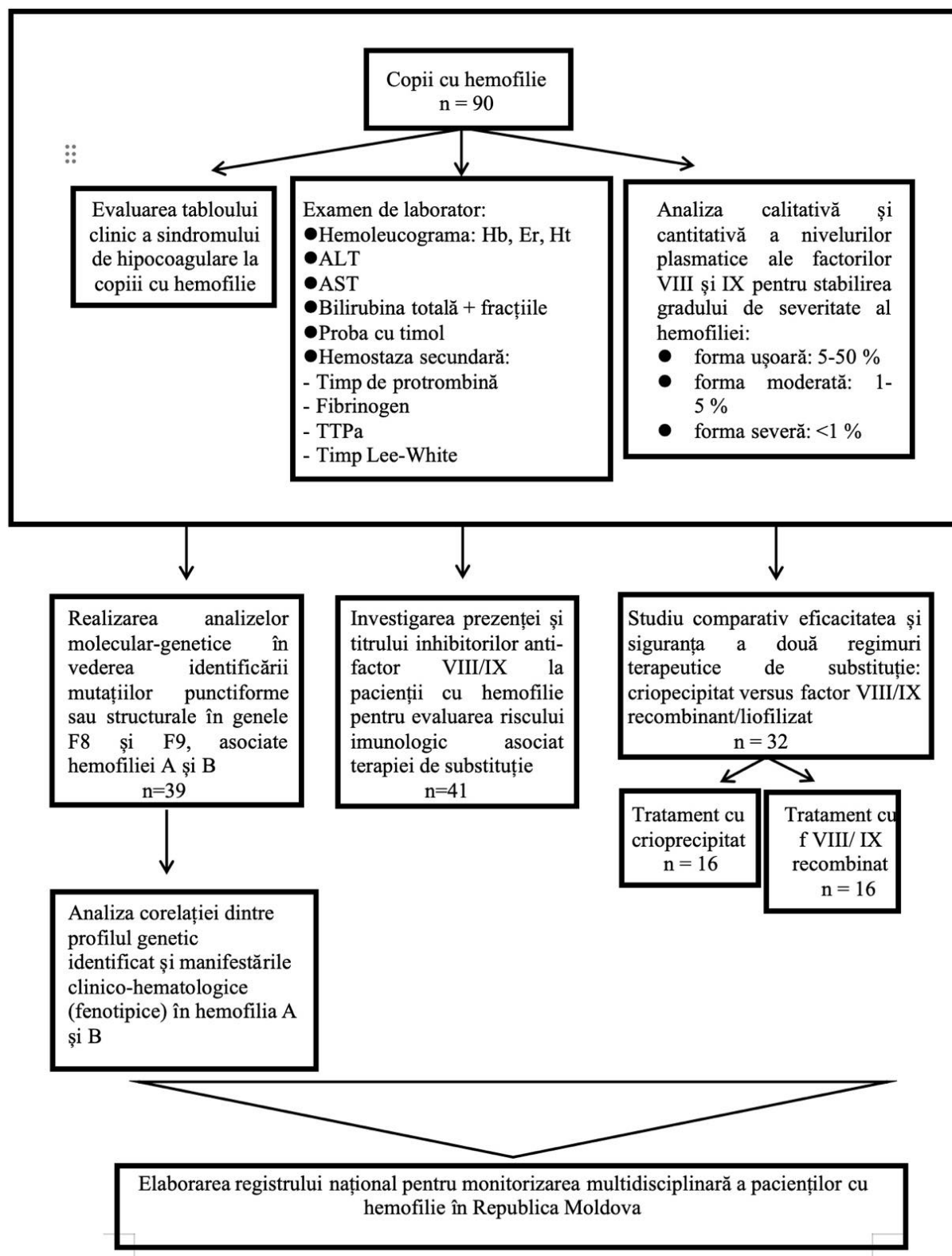


Figura 6. Designul studiului

Considerații etice. În studiu s-a ținut cont de normele internaționale ale eticii medicale, stabilite de Declarația de la Helsinki, în ceea ce privește păstrarea confidențialității datelor participanților. Protocolul de cercetare a fost aprobat de către Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (procesul-verbal nr. 06 din 10.11.2017). Datele rezultate au fost comunicate numai participantului respectiv, datele personale ale fiecărui subiect nu au fost folosite și nu vor fi utilizate în alte scopuri.

2.2. Metodele de cercetare

În cadrul cercetării s-au utilizat următoarele metode de cercetare: istorică, comparativă, descriptivă, clinică, de laborator.

Metoda istorică: implică analizarea și interpretarea evoluției practicilor medicale și a cunoștințelor științifice referitoare la hemofilie în această regiune. Sursele bibliografice istorice sunt fundamentale pentru a înțelege cum au fost diagnosticate și tratate cazurile de hemofilie în trecut, oferind o perspectivă asupra progreselor și asupra provocărilor întâmpinate. Studiarea literaturii de specialitate, a rapoartelor medicale și a documentelor de arhivă ajută la evidențierea dezvoltării metodelor de diagnostic clinic și genetic, permițându-ne să analizăm cum aceste metode au influențat deciziile terapeutice în Republica Moldova. Prin utilizarea metodei istorice, putem urmări tranziția de la diagnosticarea tradițională la utilizarea tehnologiilor moderne, cum ar fi testarea genetică, și putem identifica momentele-cheie care au marcat îmbunătățirea tratamentului pentru copiii cu hemofilie. De asemenea, analiza comparativă a surselor istorice permite evaluarea impactului politicilor de sănătate publică și a accesului la tratamente inovatoare. Metoda istorică ne oferă un cadru pentru a contextualiza actualele practici și pentru a sublinia importanța cercetării continue în optimizarea tratamentului hemofiliei la copii.

Metoda de comparație: este esențială pentru a identifica similitudinile și diferențele dintre diferite abordări, practici sau modele de tratament pentru hemofilia la copii. Prin compararea datelor clinice, biochimice și genetice din Republica Moldova cu alte regiuni sau studii internaționale, putem evalua eficacitatea tratamentelor locale și identifica posibile îmbunătățiri. De asemenea, metoda de comparație permite evidențierea diverselor rezultate în funcție de contextul regional și oferă o bază solidă pentru recomandări practice și politici de sănătate adaptate specificului național.

Metoda descriptivă: este importantă pentru a documenta și analiza caracteristicile clinice, biochimice și genetice ale hemofiliei la copii în Republica Moldova. Această metodă permite prezentarea detaliată a manifestărilor clinice, a testelor biochimice și a profilului genetic specific pacienților din țară. Prin utilizarea metodei descriptive, putem oferi o imagine clară a prevalenței bolii, a variabilității simptomatice și a modului în care hemofilia este diagnosticată și tratată la nivel local. De asemenea, metoda descriptivă contribuie la crearea unui tablou complet al stării de

sănătate a pacienților, esențial pentru formularea unor strategii de intervenție eficace sau model de tratament.

Metodele clinice: persoanele cu hemofilie A și B frecvent sângerează mai mult decât alte persoane. Hemoragiile se pot produce intern, la nivelul organelor interne, articulațiilor și mușchilor, sau extern, sângerări nazale, sângerări prelungite la tăieturi minore, proceduri dentare sau traumatisme. În evaluarea afectării articulare la pacienții cu hemofilie au fost utilizate scoruri standardizate validate, respectiv scorul Gilbert și *Hemophilia Joint Health Score* (HJHS). Scorul Gilbert a permis aprecierea clinică a modificărilor articulare cronice, iar HJHS a oferit o evaluare detaliată a statusului articular, incluzând durerea, mobilitatea, forța musculară și limitările funcționale, interpretarea fiind realizată conform metodologiei standardizate și recomandărilor ghidurilor internaționale, în corelație cu severitatea clinică a bolii (Anexa 4).

Examen fizic complet:

- Examinarea blândă, pentru a micșora riscul eventualelor hemoragii suplimentare
- Examen articular
- Inspecție (forma)
- Palpație (aprecierea temperaturii local, crepitații la mișcare)
- Aprecierea mobilității articulare

Evaluarea clinică a pacienților pediatrici cu hemofilie A și B s-a realizat în mod standardizat în cadrul consultațiilor și al internărilor în secțiile de profil, cu scopul de a identifica și caracteriza episoadele hemoragice. Examinarea s-a desfășurat cu prudență, pentru a preveni declanșarea de noi sângerări, și a inclus o anamneză detaliată, precum și un examen fizic complet, orientat spre depistarea manifestărilor hemoragice externe și interne.

Evaluarea clinică a constat în următoarele etape: Inspecția tegumentelor și a mucoaselor pentru identificarea semnelor de hemoragii superficiale, precum peteșiile, purpura, echimozele și hematoamele, mai ales în zonele traumatizate sau la locurile de administrare a injecțiilor; Palparea atentă a regiunilor musculare și articulare pentru evidențierea tumefacțiilor dureroase, a crepitațiilor sau a limitărilor de mobilitate, indicii sugestive pentru hematoame sau hemartroze; Evaluarea articulațiilor mari (genunchi, glezne, coate, umeri) prin inspecție, palpare și testarea mobilității active și pasive, pentru depistarea hemartrozei acute ori a semnelor de artropatie hemofilică;

Diagnosticul diferențial al hemoragiilor a fost stabilit în funcție de localizare, contextul de apariție și simptomatologia asociată. În practică, s-au urmărit următoarele tipuri de manifestări:

- Hemoragii externe, precum epistaxisul, sângerările gingivale, cele posttraumatice sau postprocedurale;

- Hemoragii profunde și intratisulare, cum sunt hematoamele musculare, echimozele extinse și sângerările retroperitoneale;
- Hemoragii intraarticulare, care s-au manifestat prin hemartroze recurente, asociate cu durere, edem și limitarea mobilității;
- Hemoragii viscerale, cum sunt melena, hematemeza, hematuria, durerile abdominale intense și semnele de iritație peritoneală în hemoragiile intestinale intramurale.

În cazurile suspecte de hemoragii interne majore, precum cele gastrointestinale, cerebrale sau retroperitoneale, s-a colaborat cu serviciile imagistice și chirurgicale pentru investigații suplimentare (ecografie, tomografie computerizată, rezonanță magnetică nucleară).

Pentru monitorizarea articulațiilor frecvent afectate s-au utilizat scoruri clinice validate, precum scorul Gilbert și Hemophilia Joint Health Score (HJHS) (Anexa 4). Aceste instrumente au fost completate de observații clinice privind recurența hemartrozelor, durerea percepută, limitările funcționale și eventualele semne de deformare articulară.

Această abordare clinică a constituit un element esențial în documentarea manifestărilor specifice hemofiliei în rândul copiilor incluși în studiu, oferind informații relevante privind severitatea bolii, prezența complicațiilor și necesitatea ajustării tratamentului în mod personalizat.

Metodele de laborator: Examinările biochimice, hemoleucograma și coagulograma –au fost efectuate în cadrul Laboratorului clinic al IMSP IMșiC. Drept material de lucru a servit sângele venos. De la fiecare subiect a fost recoltat un volum probă = 3–5 mililitri din vena cubitală, în eprubete cu gel separator, prin puncție venoasă, dimineața, după un minim de 12–16 ore de post, într-o poziție de decubit dorsal, care a fost centrifugat timp de 3000–4000 tur/pe minut. Serul nu s-a decantat, deoarece a fost colectat în eprubete cu gel separator și s-a păstrat la frigider la temperatura de +2°C + 8°C până la ora 12:00, a doua zi. Investigațiile au fost efectuate cu ajutorul analizatorului biochimic tip închis Cobas C 311 (automat, Japonia). Rezultatele au fost incluse în chestionarul de bază.

Metodologia de lucru pentru determinarea cantitativă a factorilor VIII și IX de coagulare:

Factorul VIII al coagulării, cunoscut și sub numele de factor antihemofilic A, este un procofactor nonenzimatic sintetizat în principal în celulele hepatice. Acesta circulă în plasmă asociat cu factorul von Willebrand (vWF), într-un raport aproximativ de 1 moleculă de FVIII la 50 molecule de vWF. Inițial, s-a considerat că FVIII și vWF reprezintă o singură entitate, iar primele cercetări despre FVIII au descris de fapt structura și funcțiile vWF. Proteina factorului VIII este cunoscută drept FVIII antigen (FVIII:Ag), iar funcția sa procoagulantă este desemnată ca FVIII coagulant (FVIII:C).

Factorul von Willebrand reglează concentrația plasmatică a factorului VIII și prelungește timpul de înjumătățire biologică a acestuia la 8–12 ore. Activarea procofactorului FVIII are loc

prin clivarea sa de către α -trombină, generând cofactorul FVIIIa. Acesta se leagă ulterior de enzima FIXa (o serin-protează) în prezența ionilor de calciu, formând complexul intrinsec al tenazei, care activează factorul X în a doua etapă a cascadei coagulării. Aproximativ 90% din factorul FXa este generat de acest complex. Activitatea FVIIIa este reglată prin disociere spontană, acesta fiind mecanismul principal de control, deși este și proteolitic inactivat de diverse enzime.

Pregătirea pacientului și recoltarea probei: pacientul trebuie să fie în repaus alimentar (à jeun). Recoltarea se face din sânge venos, utilizând un vacutainer cu citrat de sodiu 0.105M (raport 1:9 între citrat și sânge). Presiunea garoului trebuie să fie între valorile presiunii arteriale sistolice și diastolice, menținută sub 1 minut. Dacă recoltarea inițială eșuează, se așteaptă 10 minute înainte de o nouă încercare pe aceeași venă.

Prelucrarea probei: proba se centrifughează în maximum 4 ore de la recoltare, timp de 15 minute la 2500 g. Supernatantul este transferat într-un nou tub după o a doua centrifugare și este congelat imediat. Probele insuficient centrifugate pot conține trombocite reziduale care eliberează componente ce pot denatura măsurătorile.

Criterii de respingere a probei: tubul vacutainer incomplet umplut. Proba hemolizată sau coagulată. Plasma care nu a fost livrată congelată la laborator.

Metoda coagulometrică: această tehnică măsoară timpul de coagulare al probei în prezența cefalinei, activatorului și plasmei cu un exces de factori plasmatici, cu excepția factorului VIII.

Valori de referință: valorile normale ale factorului VIII sunt între 50-150%. Gradul de severitate al hemofiliei depinde de nivelul plasmatic al factorului deficient și de gradul de inhibiție genetică. Manifestările clinice diferă în cadrul aceleiași familii din cauza variațiilor individuale, precum rezistența vasculară, numărul de trombocite și nivelurile altor factori ai coagulării. Particularități clinice: majoritatea pacienților cu boala von Willebrand prezintă valori reduse ale factorului VIII, deoarece vWF acționează ca un transportor plasmatic al acestuia. În cazul pacienților cu boala von Willebrand de tip 2N (Normandy), care seamănă clinic cu o formă ușoară de hemofilie A, activitatea cofactorului pentru ristocetină și nivelurile antigenului vWF sunt normale sau ușor scăzute, dar se asociază cu valori scăzute ale factorului VIII din cauza defectului de legare a acestuia de vWF [35].

Factorul IX al coagulării, cunoscut și sub denumirea de factor antihemofilic B sau factor Christmas, este o glicoproteină produsă în hepatocite, cu participarea vitaminei K. Această glicoproteină este formată din două componente: FIX-C și FIX-C Ag. Componenta FIX-C este responsabilă de activitatea coagulantă și se sintetizează sub influența genelor de pe cromozomul X. FIX-C Ag are rolul unui suport proteic inactiv al fracțiunii coagulante, fiind dotată cu proprietăți antigenice. Din punct de vedere funcțional, factorul IX reprezintă o serin-protează ce face parte din complexul intrinsec al tenazei, interacționând cu cofactorul său, FVIIIa, în prezența ionilor de

calciu. Conform modelului modern al procesului de coagulare, acest complex joacă un rol esențial în etapa a doua (de propagare), având funcția de principal activator al factorului X, fiind de 50 de ori mai eficient decât complexul format din factor VIIa și factorul tisular. În acest fel, complexul tenazei este responsabil de producerea a peste 90% din totalul FXa. Factorul IX este activat inițial de complexul VIIa-factor tisular în faza de inițiere a coagulării, iar în etapa de propagare, FXIa contribuie la generarea suplimentară de FIXa pentru a amplifica producerea FXa și a trombinei.

Determinarea activității factorului IX, exprimată procentual față de valorile normale, este esențială pentru diagnosticul hemofiliei B și pentru clasificarea formei clinice (severă, moderată sau ușoară). Pregătirea pacientului presupune recoltarea de sânge pe stomacul gol, utilizând un vacutainer cu citrat de sodiu 0.105M (raport sânge:citrat = 9:1). Presiunea garoului trebuie să fie între valorile presiunii sistolice și diastolice și să nu depășească 1 minut. În cazul unei puncții nereușite, o nouă încercare pe aceeași venă se poate efectua doar după 10 minute. Proba trebuie amestecată corespunzător pentru a preveni coagularea parțială.

După recoltare, sângele este centrifugat timp de 15 minute la 2500 g, plasma este separată imediat și congelată. Probele transportate din afara laboratorului trebuie să fie păstrate în recipiente speciale pentru probe congelate. Cauzele de respingere a probei includ: vacutainere incomplete, probe hemolizate sau coagulate, sau plasma care nu a fost păstrată congelată. Plasma separată este stabilă 4 ore la temperatura camerei, 3 săptămâni la -20°C și mai mult de un an la -70°C.

Metoda coagulometrică măsoară timpul de coagulare al probei în prezența cefalinei, a unui activator și a unei plasme care conține în exces toți factorii de coagulare, cu excepția factorului IX. Valorile de referință sunt: < 7 zile: 35–60%; 8 zile – 1 an: 45–110%; 1 – 10 ani: 60–100%; 10 ani: 70–120%. [4]

Metodologia de lucru pentru determinarea cantitativă a inhibitorilor:

Inhibitorii factorului VIII apar la pacienții cu hemofilie de tip A ca o complicație a terapiei cu concentrat de factor VIII și reprezintă o problemă majoră în tratament. Aceștia sunt reprezentați de aloanticorpi care neutralizează FVIII-C și sunt de tip IgG. Anticorpii sunt oligoclonali și pot aparține subclaselor IgG1, IgG3 sau IgG4, fără a fixa complementul, ceea ce înseamnă că pacienții nu dezvoltă boala serului sau reacții legate de complexe imune. Inhibitorii pot cauza hemoragii similare cu cele generate de deficitul de factor VIII, de obicei în formă de hemoragii mai rare și hemartroze, precum și prelungirea timpului de tromboplastină parțial activat (aPTT). Aloimunizarea față de FVIII este un fenomen idiosincronic și afectează 15-20% dintre pacienții cu hemofilie severă, în special copii. Incidența formării de inhibitori este extrem de variabilă, iar datele disponibile sugerează următoarele caracteristici:

- Nu există o legătură genetică clară, deși poate exista o predispoziție constituțională.
- Pacienții cu mutații nonsens sau deleții ale genei FVIII prezintă un risc mai mare de a

dezvolta inhibitori.

- Nu există o asociere directă cu sistemul HLA, dar grupul sanguin AB (IV) pare să fie mai frecvent implicat.
- Vârsta pacientului influențează riscul: copiii între 1–5 ani și adulții peste 40 de ani sunt mai afectați.
- Durata tratamentului este mai importantă decât doza de factor antihemofilic administrată, cu un risc crescut pentru pacienții care primesc un număr mare de perfuzii.
- Hemofilia severă și cea moderată au o incidență mai mare de inhibitori (18%) comparativ cu formele ușoare (1%).

Preparatele de factor antihemofilic mai puțin pure induc un răspuns imun mai redus, în timp ce produsele mai pure pot duce la apariția mai frecventă a inhibitorilor. La mulți pacienți, dezvoltarea inhibitorilor este sugerată de lipsa de răspuns la tratamentul cu FVIII, care anterior era eficient; aPTT prelungit nu se corectează în prezența inhibitorilor, iar diagnosticul se confirmă prin testul Bethesda. Pentru testare, pacientul trebuie să fie pe nemâncate, iar proba de sânge este recoltată venos în vacutainer cu citrat de sodiu 0.105M (raport sânge-citrat = 9:1). Presiunea garoului trebuie să fie între valorile presiunii sistolice și diastolice și să nu depășească 1 minut. În cazul unei puncții nereușite, o nouă încercare se face după 10 minute. După recoltare, proba trebuie amestecată bine cu anticoagulantul și centrifugată 15 minute la 2500 g. Supernatantul se separă și se congelează. Cauzele respingerii probelor includ vacutainere incomplete, probe hemolizate sau coagulante și plasma care nu a ajuns congelată la laborator. Plasma este stabilă timp de 28 de zile la -20°C. Depistarea inhibitorilor se face în două etape:

Etapa calitativă folosește testul aPTT. Dacă amestecul de plasmă pacient și plasmă normală se apropie de valoarea aPTT a plasmei normale, proba este negativă. Dacă se menține o valoare apropiată de aPTT-ul pacientului (abatere de până la 20%), testul este pozitiv și se trece la etapa cantitativă.

Etapa cantitativă folosește metoda Bethesda pentru titrarea inhibitorilor. Plasma pacientului este amestecată cu FVIII și incubată la 37°C; FVIII este neutralizat, iar activitatea FVIII reziduală este determinată pentru a calcula titrul inhibitorilor în unități Bethesda pe mililitru (UB/mL). O unitate Bethesda reprezintă cantitatea de anticorpi care neutralizează 50% din nivelul FVIII al plasmei normale într-o perioadă de 2 ore la 37°C.

Interpretarea rezultatelor: Pacienții cu titruri de inhibitori < 5 UB/mL sunt clasificați ca „low-responders”, pe când cei cu titruri > 10 UB/mL sunt considerați ca fiind „high-responders” [3].

Inhibitorii factorului IX se dezvoltă la pacienții cu hemofilie B severă în urma tratamentului cu concentrat de factor IX. Acești pacienți pot manifesta, de asemenea, reacții anafilactice ca

reacție la administrarea factorului IX. Apariția inhibitorilor dobândiți ai factorului IX în rândul persoanelor anterior sănătoase este extrem de rară. Acești inhibitori sunt anticorpi produși endogen care interferează cu procesul de coagulare, iar în mod normal nu sunt prezenți în plasmă. Când sunt prezenți, aceștia pot fi măsurați și exprimați în unități Bethesda (BU). Titrurile de 5 BU sunt considerate scăzute, iar titrurile de 10 BU sunt considerate mari. Inhibitorii factorului IX se dezvoltă la aproximativ 3-5% dintre pacienții cu hemofilie B ca răspuns la tratamentele cu factor IX, concentrat de complex protrombinic sau transfuzie de plasmă. În cazul altor inhibitori ai factorilor de coagulare, apariția acestora este foarte rară, având în vedere că deficiențele acestor factori sunt, de asemenea, rare.

Pentru recoltare, se recomandă ca pacienții să fie în stare de post și să nu fi primit tratament cu warfarină sau heparină înainte. Specimenul recoltat este sânge venos, iar recipientul de recoltare este un vacutainer cu citrat de sodiu 3.2%. După recoltare, proba de sânge trebuie centrifugată, iar plasma separată și alicotată în tuburi sterile. Plasma trebuie depozitată la temperaturi între -20 și -40°C și nu trebuie să depășească 4 ore de la recoltare. Cantitatea necesară de probă este de 3 mL, distribuită în trei tuburi. Cauzele respingerii probelor includ hemoliza, icterul sau lipemia specimenului. Proba poate fi păstrată congelată timp de 14 zile. Metoda utilizată pentru determinarea inhibitorilor este metoda *optical clot-based*, cu valori de referință pentru adulți între 65-140% [57].

În cazul pacienților cu hemofilie A care urmează tratament substitutiv, se pot forma inhibitori ai factorului VIII din cauza producerii de aloanticorpi. De asemenea, există cazuri rare de hemofilie A dobândită, când autoanticorpi anti-FVIII se dezvoltă după sarcină sau în contextul unor afecțiuni autoimune la vârstnici. Acești pacienți prezintă simptome similare cu cele ale hemofiliei congenitale severe. De asemenea, deficitul dobândit de factor IX poate apărea în contextul unui deficit de vitamina K, iar pacienții cu afecțiuni hepatice severe pot experimenta o scădere globală a factorilor de coagulare, inclusiv a factorului IX.

Diagnosticul bolii este confirmat prin tabloul clinic și testele de laborator. Timpul de tromboplastină parțial activat (aPTT) este semnificativ prelungit și se corectează după administrarea de plasmă normală, pe când timpul de protrombină, trombină și sângerare rămâne normal. Determinarea specifică a activității factorilor FVIII și IX, exprimată ca procent din normal, este esențială pentru confirmarea diagnosticului de hemofilie A sau B și stabilirea formei clinice (severă, moderată sau ușoară).

Aprecierea mutațiilor genetice. Pentru investigațiile molecular-genetice s-au utilizat probele de ADN genomic. Secvențierea ADN a fost realizată în laboratorul condus de dr. A.R. Thompson. Vizualizarea situsurilor mutațiilor *missense* a fost efectuată de dr. K. Pratt, Puget Sound Blood Center, Seattle, S.U.A. ADN genomic a fost izolat cu ajutorul proteinazei K prin metoda extragerii

fenol-cloroformice. Prezența inversiilor intronului 22 a fost determinată în urma amplificării fragmentelor lungi, după cum este descris în [78]. Inversia intronului 1 s-a analizat prin PCR [8]. Regiunile codificatoare ale genelor *F8* și *F9*, inclusiv succesiunile flancante, au fost amplificate cu ajutorul primerilor corespunzători. Analiza heteroduplexurilor s-a realizat în 5 μl de produse de amplificare corespunzătoare exonilor pacientului și martorului, care au fost incubate, utilizând următorul program de denaturare-aliniere: 94°C – 3 min., 80°C – 2 min., 70°C – 2 min., 65°C – 15 min., 50°C – 5 min., 40°C – 2 min. și 37°C – 15 min., cu vizualizarea ulterioară în gelul 1xMDE™. Probele cu un *pattern* de migrare diferit de cel al controlului au fost supuse secvențierii automate, utilizând dispozitivul Genetic Analyzer, modelul 3100 (Applied Biosystems, S.U.A.), în conformitate cu protocolul propus de producător.

Evaluarea modificărilor mutaționale în situsurile *splicing*-ului s-a efectuat cu ajutorul soft-ului «SplicePort» [33]. Estimarea influenței mutațiilor *missense* asupra structurii și funcționalității factorului VIII s-a realizat prin utilizarea programelor PolyPhen și CUPSAT.

Alelele situsurilor polimorfe intragenice au fost înregistrate în urma amplificării regiunilor corespunzătoare și analizei restricționale cu separarea ulterioară a fragmentelor în gel de poliacrilamidă (cu concentrația 6-12%, în funcție de necesitate).

Din Hemoleucograma completă a fost selectată măsurarea următorilor parametri: număr de eritrocite; concentrația de hemoglobină; hematocrit; număr de trombocite.

Materialele necesare pentru determinarea HB, HCT și numărul de eritrocite: Lancete; Tampoane cu alcool 70%; Capilare cu K3EDTA pentru puncția capilară; Vacutainer cu K3EDTA pentru puncția venoasă (garou, tub holder, ace fluturaș sau seringă); Plasturi pentru acoperirea puncției; Analizator hematologic Yumizen H500- acesta este utilizat pentru a număra celulele sangvine folosind metoda conductometrică. Metoda se bazează pe modificarea impedanței unei deschideri de calibrare plasate într-un electrolit cu un curent constant care trece între doi electrozi situați pe ambele părți ale deschiderii. Fiecare celulă își deplasează propriul volum de electrolit, crescând astfel rezistența electrică totală a deschiderii (rezistență activă). Trecerea fiecărei celule este înregistrată ca un impuls, a cărui amplitudine este proporțională cu volumul celulei. Hemoglobina se determină prin metoda spectrofotometrică [109].

Tabelul 6. Intervale normale ale hemoglobinei în funcție de vârstă [109]

Vârsta	Hb (g/L)
< 0 luni – 4 ani	105 – 140
4 ani – 17 ani	110 – 140
17 ani – 21 de ani	110 – 160

Tabelul 7. Intervale normale ale eritrocitelor (RBC) în funcție de vârstă [109]

Vârsta	RBC (*10 ¹² /L)
< 0 luni – 2 ani	3,3 – 5,3
2 ani – 4 ani	3,7 – 5,0
6 ani – 17 ani	3,8 – 5,8
17 ani – 21 de ani	3,8 – 5,2

Tabelul 8. Intervale normale ale hematocritului în funcție de vârstă [109]

Vârsta	HCT (%)
<0 luni – 4 ani	0,32 – 0,44
4 ani – 21 de ani	0,30 – 0,5

Metodologia de lucru pentru aprecierea parametrilor din hemostaza secundară:

Metoda Lee-White. Materialele necesare: Tampoane cu alcool 70%; Eprubetă sterilă; Pentru punctia venoasă (garou, tub holder, ace fluturaș sau seringă); Termostat; Plasturi pentru acoperirea punctiei; *Metoda de determinare:* sângele venos este recoltat într-o eprubetă sterilă fără anticoagulant, aproximativ 2 ml de sânge, apoi distribuim câte 1 ml de sânge în eprubete diferite și pornim cronometrul. Se închid tuburile și se așează în baia de apă la 37 grade Celsius. După fiecare jumătate de minut, prin înclinarea tubului, se urmărește dacă sângele s-a coagulat. Când sângele s-a coagulat într-unul dintre recipiente, se confirmă timpul de coagulare cu cel de-al doilea recipient. Cheagul se examinează ulterior de mai multe ori pe parcursul a 24 de ore. *Valori de referință:* intervalul normal de coagulare este de 5-10 minute [85].

Fibrinogenul (factorul I al coagulării) este o glicoproteină dimerică cu greutate moleculară de aproximativ 340 kD, prezența în plasmă și în α -granulele plachetare. Este sintetizat în ficat la o rată de 1.7-5 g/zi. Fiecare din cele două subunități conține trei lanțuri polipeptidice: A α , B β și γ . Fibrinogenul are o structură trinodulară, domeniul central globular fiind denumit domeniul E, care cuprinde capetele N-terminale ale celor șase lanțuri polipeptidice, iar domeniile D conțin capetele C-terminale ale celor trei lanțuri. Timpul de înjumătățire al fibrinogenului este de 3-5 zile. *Metoda coagulometrică (Clauss):* în prezența unui exces de trombină, timpul de coagulare al unei plasme citratate, diluate (1/10), sărace în trombocite este invers proporțional cu concentrația de fibrinogen. Testul determină nivelul funcțional de fibrinogen (activitatea) [6].

Tabelul 9. Intervale normale ale fibrinogenului în funcție de vârstă [6]

Vârsta	Fibrinogen (mg/dL)
0-1 an	160-390
2-10 ani	140-360
11-18 ani	160-390

Factorul II sau protrombina este o glicoproteină care se găsește în plasma normală și constituie împreună cu fibrinogenul factorul de bază al coagulării. *Metoda coagulometrică* constă în măsurarea timpului de coagulare a probei de investigat în prezența tromboplastinei și a unei plasmă care conține în exces toți factorii plasmatici ai coagulării, cu excepția factorului II. *Valori de referință* – 80-130% [34].

TTPa este un test screening important pentru diagnosticul tulburărilor de coagulare și monitorizarea tratamentului bolilor hemoragice și trombotice. *Metoda*: coagulometrică. *Valori de referință*: < 40 s.

Materialele necesare pentru determinarea fibrinogenului, TP, TTPa: tampoane cu alcool 70%; sânge venos; vacutainer cu citrat de Na 3,2 %; pentru puncția venoasă (garou, tub holder, ace fluturaș sau seringă); Plasturi pentru acoperirea puncției; *Pentru determinarea fibrinogenului, TP, TTPa se respectă următorii pași*: Recoltarea se face de regulă dimineața (7.00-9.00), a jeun, cu excepția urgențelor medicale; Se notează nr. setului și numele bolnavului pe eticheta recoltorului; Se aplică garoul la cel puțin 2-3 laturi de deget (3-5 cm) deasupra locului de înțepare. Bolnavul va strânge pumnul pentru a crea o presiune venoasă crescută și o distensie maximă a venelor aceluși segment de membru; Se dezinfectează cu un tampon cu alcool 70%; Se pătrunde cu un ac steril cu calibru adecvat cantității de sânge necesar să fie recoltat; Se centrifughează proba folosind centrifugi calibrate, în conformitate cu instrucțiunile de durată și viteză cerute de centrifugare (de obicei 10-15 minute), la 3500 de rotații/min. Presiunea realizată de garou trebuie să fie între valoarea presiunii sistolice și cea a presiunii diastolice și nu trebuie să depășească 1 minut [5].

Tabelul 10. Intervale normale ale ALT în funcție de vârstă [49]

Vârsta/sexul	ALT (UI/L)
<0 – 1 an	6 – 54
1 an – 4 ani	12 – 33
4 ani – 7 ani	5 – 29
7 ani – 13 ani	12 – 39
13 ani – 18 ani	12 – 45

Tabelul 11. Intervale normale ale AST în funcție de vârstă [49]

Vârsta/sexul	AST (UI/L)
<0 – 3 ani	20 – 58
3 ani – 12 ani	15 – 44
12 ani – 17 ani	15 – 39

Tabelul 12. Intervale normale ale Bilirubinei în funcție de vârstă [49]

Vârsta	BT(μ mol/L)	BD(μ mol/L)
> 1 lună	5,0 – 21,0	< 3,4

Materialele necesare pentru determinarea ALT, AST, Bilirubinei: tampoane cu alcool 70%; sânge venos; vacutainer fără anticoagulant; pentru puncția venoasă (garou, tub holder, ace fluturaș sau seringă); Plasturi pentru acoperirea puncției; Dozator; Fotocolorimetru; *Pentru determinarea ALT, AST, Bilirubinei se respectă următorii pași:* Recoltarea se face de regulă dimineața (7.00–9.00), a jeun, cu excepția urgențelor medicale; Se notează nr. setului și numele bolnavului pe eticheta recoltorului; Se aplică garoul la cel puțin 2–3 laturi de deget (3–5 cm) deasupra locului de înțepare; Bolnavul va strânge pumnul pentru a crea o presiune venoasă crescută și o distensie maximă a venelor aceluși segment de membru; Se dezinfectează cu un tampon cu alcool 70%; Se pătrunde cu un ac steril cu calibru adecvat cantității de sânge necesar să fie recoltat; Pentru vacutainerele fără anticoagulant, proba se lasă să se sedimenteze cca 30–45 de minute înainte de centrifugare; Proba se centrifughează folosind centrifugi calibrate, în conformitate cu instrucțiunile de durată și viteză cerute de centrifugare (de obicei 10–15 minute), la 3500 de rotații/min. *Metoda de efectuare:* Fotocolorimetrică (ELISA). Principiul folosirii fotocolorimetrului cu acțiune directă este următorul: fluxul luminos cu intensitatea I/0 este trimis printr-o cuvă sau printr-o eprubetă care conține soluția de analizat. Fluxul cu intensitatea I, care a reușit să treacă prin cuvă fără să fie absorbit, cade pe o celulă fotoelectrică [49].

2.3. Metodele de prelucrare statistică și analiză a rezultatelor obținute

Pentru *analiza statistică* a informației a fost aplicată prelucrarea datelor acumulate în chestionar prin programul Microsoft Excel, care ulterior au fost analizate prin intermediul softului statistic IBM SPSS Statistics (*Statistical Package for the Social Sciences*), versiunea 20. Testarea egalității a trei și mai multe medii, în studiul conform numărului de componente, clustere s-a efectuat prin analiza dispersională (procedeul ANOVA).

ANOVA (Analiza Varianței): este o metodă statistică utilizată pentru compararea a trei sau mai multe medii din diferite grupuri de observații în scopul identificării diferențelor semnificative între acestea. Prin descompunerea variației totale a datelor în componente atribuibile variației dintre grupuri și variației din interiorul grupurilor, ANOVA permite să se evalueze dacă variația dintre grupuri este semnificativ mai mare decât variabilitatea din interiorul grupurilor.

În cazul în care testul Levine a relevat că varianțele în grupurile studiate nu sunt omogene, s-au aplicat și teste neparametrice de investigare Kruskal-Wallis.

Testul Kruskal-Wallis: este o metodă non-parametrică utilizată pentru compararea a trei sau mai multe grupuri independente de date neordonate. Acest test este folosit atunci când datele nu îndeplinesc criteriile pentru aplicarea analizei de varianță (ANOVA), fie din cauza neconformității cu distribuția normală, fie din cauza prezenței unor valori extreme. Testul Kruskal-Wallis evaluează ipoteza nulă că distribuțiile populațiilor subiacente sunt identice, fără a face presupuneri specifice cu privire la distribuția datelor. Prin urmare, acesta reprezintă o alternativă robustă în situații în care condițiile pentru aplicarea altor metode parametrice nu sunt îndeplinite. Utilizarea sa în domeniul științelor medicale este frecventă în analiza datelor care nu sunt normale sau atunci când mărimea eșantionului este mică.

Pentru identificarea diferențelor statistice în variabile calitative (nominale) s-a folosit statistica X^2 . În cazurile când cerințele statisticii X^2 nu se respectau, pentru confirmarea concluziilor s-a folosit statistica X^2 cu simularea Monte Carlo pentru valoarea p aferentă.

Valoarea p de prag pentru delimitarea semnificației statistice a fost $p < 0.05$. Pentru cazurile unde $p > 0,05$, relația statistică era considerată ne semnificativă.

Rezultatele cercetării sunt prezentate prin tabele, grafice și imagini pentru a oferi o reprezentare vizuală clară și ușor de interpretat a datelor. Tabelele organizează informațiile într-un format sistematic, graficele permit identificarea tendințelor și relațiilor între variabile (diagrame în bare pentru variabile nominale, boxplot-uri), iar imaginile ilustrează aspecte specifice sau rezultate importante ale studiului (imagini ale Sdr. hemoragic). Această abordare vizuală facilitează o mai bună înțelegere a rezultatelor.

Concluzie capitolul 2

Studiul a fost observațional, descriptiv și transversal și a inclus 90 de copii cu hemofilie (83,3% din cei 108 diagnosticați în perioada 2010–2022) urmăriți la IMSP IM și C. Lotul a cuprins pacienți evaluați prospectiv (2018–2022) și, retrospectiv, copii tratați cu crioprecipitat (2010–2013), ceea ce a permis comparația între diferite strategii terapeutice (crioprecipitat vs. factor recombinant).

Au fost aplicate criterii clare de includere și excludere, pacienții fiind grupați după tipul de hemofilie (A/B) și severitate (ușoară, moderată, severă). Fiecărui copil i s-a efectuat o evaluare clinică standardizată, investigații de laborator (hemoleucogramă, coagulogramă, teste hepatice, factori VIII/IX, inhibitori) și, la un subgrup, analize genetice pentru genele F8 și F9. Studiul a respectat normele etice internaționale, iar prelucrarea datelor s-a realizat în Excel și IBM SPSS, utilizând teste parametrice și neparametrice (ANOVA, Kruskal–Wallis, χ^2 , cu prag de semnificație $p < 0,05$). Rezultatele au fost prezentate sintetic prin tabele și grafice, creând baza pentru interpretarea capitolelor următoare.

3. STUDIUL PARAMETRIILOR CLINICO-PARACLINICI

3.1. Rezultatele cercetării spectrului clinic

Evaluarea clinică a articulațiilor la pacienții incluși în studiu s-a realizat utilizând scoruri standardizate validate la nivel internațional – scorul Gilbert pentru aprecierea afectării cronice articulare și Hemophilia Joint Health Score (HJHS v2.1) pentru cuantificarea modificărilor articulare la copiii cu hemofilie, cu accent pe leziunile acute sau subacute. Aceste instrumente au permis nu doar obiectivarea gradului de afectare funcțională, ci și comparabilitatea între pacienți în funcție de tipul hemofiliei și articulațiile implicate.

Patogenia hemofiliei este în mod direct responsabilă de tendința spre sângerări recurente, cu formarea de hemartroze repetate care determină, în timp, instalarea artropatiei hemofilice. Diferența între sângerare și hemoragie este una de severitate și de volum sangvin pierdut, însă impactul repetat asupra articulațiilor este determinant în degradarea funcțională a acestora.

Datele obținute în cadrul studiului au evidențiat că numărul de articulații afectate variază între 1 și 4, cu o frecvență mai mare a afectării multiple. Astfel, 24,4% dintre copiii examinați (22 de cazuri, ÎÎ 95% [15,57–33,32]) prezentau afectare simultană a 4 articulații, 23,3% (21 de cazuri, ÎÎ 95% [14,60–32,07]) aveau afectare la 2 articulații, iar 19,8% (16 cazuri, ÎÎ 95% [0–0,00]) la 3 articulații. Aceste rezultate au fost cuantificate cu ajutorul scorurilor menționate, fiecare articulație fiind evaluată individual în funcție de parametrii specifici (durere, mobilitate, edem, deformare, atrofie musculară etc.).

Diferențe semnificative sub aspect statistic au fost identificate între formele clinice ale bolii. În hemofilia B, gleznele au fost afectate semnificativ mai rar comparativ cu hemofilia A ($\chi^2 = 7,04$, gl = 2, p = 0,032), sugerând o particularitate fenotipică a acestei forme. În hemofilia B, afectarea unilaterală a gleznei a fost predominantă (77,8%), în timp ce în hemofilia A, afectarea bilaterală a fost mai frecventă (doar 34,6% dintre cazuri cu afectare unilaterală).

Pe de altă parte, indiferent de tipul hemofiliei, articulațiile genunchilor au fost cele mai frecvent afectate: 71,6% dintre pacienții cu hemofilie A și 77,8% dintre cei cu hemofilie B au prezentat semne clinice și scoruri compatibile cu hemartroze recurente la acest nivel. Rezultatele reflectă incidența crescută a afectării articulațiilor de sprijin în contextul hemoragiilor repetate, cu potențial evolutiv spre artropatie deformantă dacă nu sunt corect gestionate.

Prin aplicarea scorurilor Gilbert și HJHS, s-a reușit nu doar evaluarea cantitativă a articulațiilor afectate, ci și stabilirea unei corelații între severitatea bolii și localizarea afectării, oferind repere utile pentru planificarea intervențiilor profilactice sau terapeutice (Figura 7).

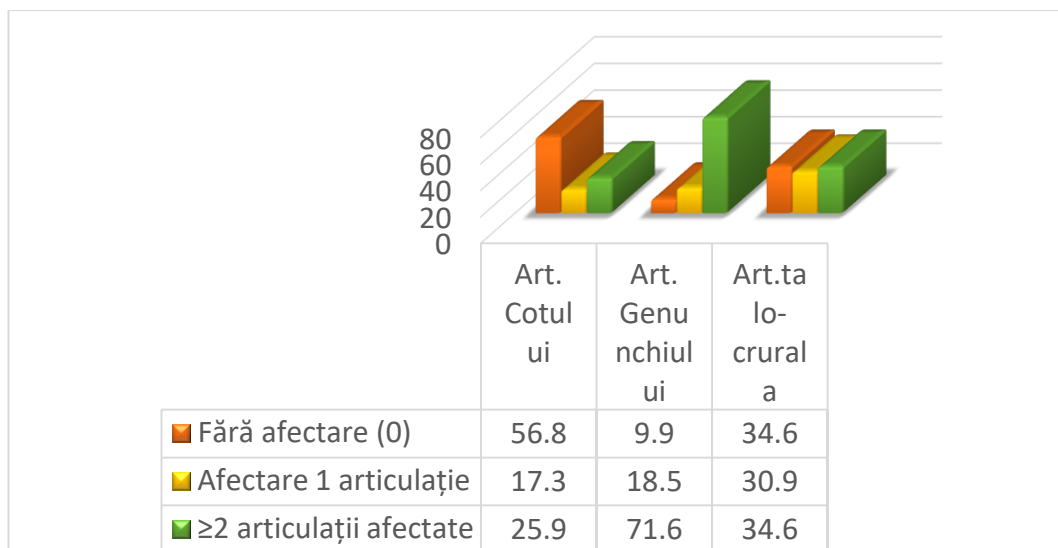


Figura 7. Descrierea afectării articulațiilor la copii cu hemofilie din Republica Moldova



Figura 8. Caz clinic. Hemartroză la nivelul genunchiului, stadiul IV, la un pacient diagnosticat cu hemofilie severă

Notă: Imaginea evidențiază o tumefiere semnificativă a articulației genunchiului, cauzată de acumularea de sânge intraarticular. Pacientul este monitorizat în Clinica de Hematologie din cadrul Institutului Mamei și Copilului.



Figura 9. Caz clinic. Hemartroză la nivelul genunchiului stâng, stadiul V, la un pacient cu hemofilie severă, aflat în evidența Clinicii de Hematologie din cadrul Institutului Mamei și Copilului

Notă: Imaginea evidențiază o deformare accentuată a articulației genunchiului, cu tumefiere marcată și asimetrie evidentă comparativ cu membrul controlateral. Aceste modificări reflectă o afectare cronică severă a articulației, rezultat al episoadelor recurente de hemartroză la pacienții cu hemofilie.



Figura 10. Caz clinic la pacient cu hemofilie severă, prezentând hemartroză acută la nivelul articulației genunchiului drept, cu tumefiere evidentă și modificarea conturului local.

Notă: Aceasta este o manifestare frecventă la pacienții cu hemofilie severă, în special în absența unui tratament profilactic adecvat. Genunchiul afectat prezintă o deformare vizibilă, asociată cu acumularea intraarticulară de sânge, ceea ce determină durere, limitarea mobilității și inflamație. Acest caz a fost întâlnit la un pacient al Clinicii de Hematologie din cadrul IM si C, reflectând necesitatea intervențiilor terapeutice specifice de urgență pentru prevenirea complicațiilor articulare cronice.



Figura 11. Caz clinic la nou-născut cu hemofilie severă, prezentând hematom extensiv parietal și dorsal, manifestare cutanată tipică a sindromului hemoragic neonatal din cadrul Clinicii de Hematologie a Institutului Mamei și Copilului

Notă: Hematomul este rezultatul unui episod hemoragic spontan sau provocat de un traumatism minor, frecvent întâlnit la sugarii cu hemofilie severă, chiar și în primele luni de viață. Zona afectată prezintă o tumefiere vizibilă și modificări de culoare specifice acumulării de sânge în țesuturile subcutanate.

Aceste cazuri subliniază riscul crescut de sângerări la copiii cu hemofilie severă, precum și importanța diagnosticului precoce și a intervenției terapeutice adecvate.

Aprecierea tipului de transmitere genetică în hemofilie este esențială pentru a înțelege modul în care boala este moștenită și pentru a identifica persoanele cu risc crescut în familiile afectate. Hemofilia, o afecțiune legată de cromozomul X, afectează predominant bărbații, în timp ce femeile sunt purtătoare. Cunoașterea tipului de transmitere permite implementarea strategiilor de

consiliere genetică și diagnostic precoce, esențiale în planificarea familială și gestionarea medicală a hemofiliei.

În studiu s-a constatat că în aproape 39% (ÎÎ 95% [28,82–48,96]) dintre cazuri (35 de copii) anamneza familială nu a fost disponibilă sau nu a fost cunoscută. Acest lucru sugerează că în astfel de cazuri, informațiile despre transmiterea bolii în familie au fost fie incomplete, fie indisponibile. În aproximativ aceeași proporție de cazuri, respectiv 36,7% (ÎÎ 95% [26,71 – 46,62]) (33 de copii), hemofilia a fost clasificată ca sporadică, ceea ce înseamnă că nu a existat o istorie familială cunoscută a bolii. În cadrul acestei categorii 35,8% (29 de copii) au fost cu hemofilie A și 44,4% (4 copii) au fost cu hemofilie B.

Într-un număr mai mic de cazuri, și anume în 24,4% (ÎÎ 95% [15,57– 3,32]) (22 de copii), a fost cunoscut tipul familial de transmitere a bolii. Aceasta înseamnă că s-a identificat o istorie familială a bolii și s-a recunoscut modul specific în care afecțiunea a fost transmisă în familie. În aceste cazuri, proporțiile dintre hemofilia A și hemofilia B au fost relativ similare, cu 24,9% (20 de copii) pentru hemofilia A și 22,2% (2 copii) pentru hemofilia B.

Analiza statistică nu a relevat diferențe semnificative între tipurile de hemofilie A și B în ceea ce privește modul de transmitere a bolii. Aceste constatări sugerează că modul de transmitere a bolii nu diferă semnificativ între cele două tipuri de hemofilie ($X^2=0.27$, $gl=2$, $p= 0.911$) și că această caracteristică poate fi similară în cadrul ambelor forme ale afecțiunii (Tabelul 13).

Tabelul 13. Aprecierea tipului de transmitere a bolii

		Tip					
		A		B		Total	
		N	%	N	%	N	%
Tip Transmitere	Familial	20	24,9	2	22,2	22	24,4
	Sporadic	29	35,8	4	44,4	33	36,7
	Nu se cunoaște	32	39,5	3	33,3	35	38,9
	Total	81	100	9	100	90	100

3.2. Rezultatele studiului parametrilor de laborator

3.2.1. Analiza diferențiată a parametrilor hematologici și biochimici în funcție de severitatea hemofiliei

Studiul a inclus evaluarea detaliată a unor parametri biologici importanți, care oferă informații indirecte despre starea generală a pacientului, gradul de afectare sistemică și posibilele comorbidități sau consecințe ale hemoragiilor repetate. Rezultatele statistice obținute evidențiază diferențe semnificative între formele clinice ale hemofiliei – ușoară, moderată și severă – în ceea ce privește mai mulți markeri hematologici și biochimici, confirmând ipoteza că severitatea bolii

se reflectă nu doar clinic, ci și la nivel paraclinic. Nivelul mediu al hemoglobinei a fost semnificativ mai crescut în forma ușoară de boală (122,77 g/l, DS: 14,24), în comparație cu forma moderată (116,24 g/l, DS: 18,11) și forma severă (110,73 g/l, DS: 13,53), cu o diferență statistică semnificativă ($F = 10,21$, $p < 0,001$). Această constatare reflectă probabil un status funcțional mai bun al măduvei hematopoietice și o pierdere sangvină globală mai redusă în formele ușoare. Nivelurile mai scăzute de Hb în formele moderate și severe pot sugera hemoragii cronice repetate, cu epuizarea treptată a rezervelor de fier și instalarea unei anemii hipocrome, microcitare sau mixte. Numărul mediu al eritrocitelor a fost, de asemenea diferit între grupuri. Forma severă a înregistrat valori net scăzute ($3,53 \times 10^6/\mu\text{L}$, DS: 0,54) comparativ cu forma ușoară ($3,97 \times 10^6/\mu\text{L}$, DS: 0,41) ($F = 5,13$, $p = 0,008$). Acest indicator confirmă tendința spre anemie în formele severe, potențialmente explicabilă prin hemoragii persistente și necontrolate, frecvent întâlnite la acești pacienți. Un aspect surprinzător al analizei biochimice l-au reprezentat valorile mai ridicate ale bilirubinei totale în forma ușoară a bolii (17,63 $\mu\text{mol/l}$, DS: 5,56) comparativ cu forma moderată (10,30 $\mu\text{mol/l}$, DS: 2,59) și severă (9,76 $\mu\text{mol/l}$, DS: 2,98), diferență semnificativă sub aspect statistic ($F = 29,44$, $p < 0,001$). Acest fapt ar putea fi explicat printr-un turnover crescut al eritrocitelor în contextul unei compensări eficiente, cu o conversie hepatică activă.

Valori mai ridicate ale bilirubinei indirecte (libere) au fost înregistrate, de asemenea, în forma ușoară (1,85 $\mu\text{mol/l}$, DS: 4,51) față de formele moderată (0,00 $\mu\text{mol/l}$, DS: 0,0) și severă (0,16 $\mu\text{mol/l}$, DS: 1,04) ($F = 5,21$, $p = 0,007$). Acest tip de bilirubină reflectă hemoliza indirectă sau degradarea eritrocitară în exces. Pe de altă parte, fracția conjugată a bilirubinei a fost mai înaltă în forma ușoară (11,22 $\mu\text{mol/l}$, DS: 1,76) decât în forma severă (9,26 $\mu\text{mol/l}$, DS: 2,22) ($F = 4,31$, $p = 0,016$), sugerând o funcție hepatică conservată și o capacitate de metabolizare adecvată în formele ușoare. Proba cu timol a fost utilizată ca marker indirect al funcției hepatice și al stării proteice generale. Valorile semnificativ mai crescute în forma severă (2,70, DS: 1,00), față de forma moderată (2,07, DS: 0,7) ($F = 5,27$, $p = 0,007$), pot indica o afectare hepatică ușoară până la moderată, posibil în legătură cu transfuzii repetate sau suprasolicitarea ficatului în metabolizarea proteinelor plasmatice și a produselor de degradare sangvină (Tabelul 14, 15, 16).

Tabelul 14. Analiza descriptivă a parametrilor hematologici în sindromul anemic

		Grad de severitate			
		Ușor	Moderat	Sever	Total
Hb g/l	N	13	33	44	90
	Media	112,77*	116,24*	110,73*	115,93
	DS	12,24	18,11	13,53	16,99
	ÎI 95%	124,16 - 141,37	109,82 - 122,66	106,81 - 114,84	112,38 – 119,49
	Mediana	122,00*	116,00*	110,00*	115,00
	Percentila 25	101,00	105,00	103,00	105,00
	Percentila 75	125,00	128,00	120,50	127,00
		F = 10,21, p< 0.001 Kruskal-Wallis = 17,07, p< 0,001			
Eritrocitele *10 ⁶ /UL	N	13	33	44	90
	Media	3,97*	3,64	3,53*	3,65
	DS	0,41	0,57	0,54	0,56
	ÎI 95%	3,82 - 4,31	3,43 - 3,84	3,35 - 3,69	3,53 – 3,76
	Mediana	3,90*	3,60	3,50*	3,60
	Percentila 25	3,20	3,30	3,20	3,20
	Percentila 75	4,40	4,10	3,85	4,10
		F= 5,13, p = 0,008 Kruskal-Wallis = 11,12, p = 0.004			

*Diferență statistică semnificativă la nivel de p<0,05

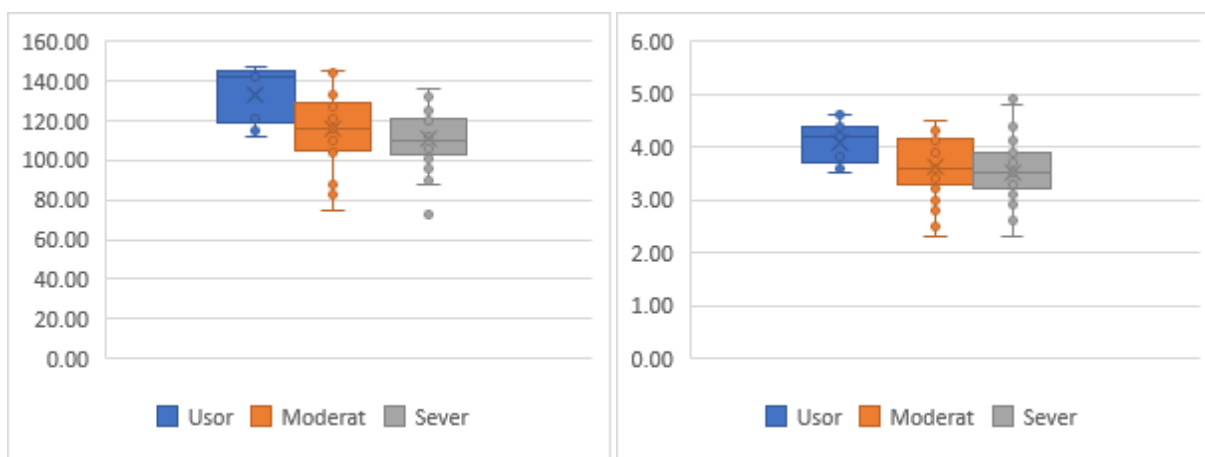


Figura 12. Distribuția valorilor hemoglobinei (stânga) și eritrocitelor (dreapta) în funcție de severitatea hemofiliei

Tabelul 15. Analiza descriptivă a parametrilor biochimici ai sângelui

		Grad de severitate			
		Ușor	Moderat	Sever	Total
Bilirubina totală mcmol/l	N	13	33	44	90
	Media	17,63*	10,30*	9,76*	11,10
	DS	5,56	2,59	2,98	4,27
	ÎI 95%	14, 27 - 20,98	9,38 - 11,21	8,85 - 10,66	10,20 – 11,99
	Mediana	21,00*	9,90*	8,80*	
	Percentila 25	13,30	8,10	7,90	8,20
	Percentila 75	22,00	11,60	10,35	12,00
		F=29,44, p< 0,001 Kruskal-Wallis = 23,61, p < 0,001			
Bilirubina liberă mcmol/l	N	13	33	44	90
	Media	1,85*	0,00*	0,16*	0,34
	DS	4,51	0,00	1,04	1,91
	ÎI 95%	0,00 - 4,56	0,00 - 0,00	0,00 - 0,47	0,00 – 0,74
	Mediana	0,00	0,00	0,00	0,00
	Percentila 25	0,00	0,00	0,00	0,00
	Percentila 75	0,00	0,00	0,00	0,00
		F=5,21, p= 0.007 Kruskal-Wallis =7,25 , p =0,027			
Bilirubina conjugată mcmol/l	N	13	33	44	90
	Media	11,22*	10,30	9,26*	9,93
	DS	1,76	2,59	2,22	2,39
	ÎI 95%	10,16 - 12,28	9,38 - 11,21	8,58 - 9,93	9,42 – 10, 43
	Mediana	11,00*	9,90	8,65*	9,25
	Percentila 25	9,30	8,10	7,90	8,10
	Percentila 75	13,00	11,60	10,20	11,00
		F= 4,31, p= 0,016 Kruskal-Wallis = 12,19 , p= 0.002			

*Diferență statistică semnificativă la nivel de p<0,05

Tabelul 16. Analiza valorilor ALT, AST și ale probei cu timol la pacienții cu hemofilie

		Severitate			
		Ușor	Moderat	Sever	Total
ALAT U/L	N	13	33	44	90
	Media	0,37	0,34	0,30	0,32
	DS	0,16	0,14	0,17	0,16
	ÎI 95%	0,26 - 0,46	0,28 - 0,38	0,24 - 0,35	0,29 – 0,36
	Mediana	0,30	0,34	0,26	0,30
	Percentila 25	0,30	0,23	0,16	0,19
	Percentila 75	0,50	0,46	0,38	0,44
		F = 1,07, p= 0,348 Kruskal-Wallis = 2,73 , p= 0,255			
ASAT U/L	N	13	33	44	90
	Media	0,42	0,46	0,51	0,48
	DS	0,06	0,29	0,31	0,28
	ÎI 95%	0,38 - 0,45	0,35 - 0,55	0,41 - 0,60	0,42 – 0,54
	Mediana	0,44	0,46	0,45	0,45
	Percentila 25	0,42	0,23	0,33	0,32
	Percentila 75	0,46	0,57	0,54	0,53
		F = 0,71, p = 0,495 Kruskal-Wallis = 0,38, p = 0,829			
Proba cu Timol	N	13	33	44	90
	Media	2,14*	2,07	2,70*	2,39
	DS	0,81	0,75	1,00	0,93
	ÎI 95%	1,64 - 2,63	1,80 - 2,33	2,39 - 3,00	2,19 – 2,58
	Mediana	2,60	2,00	2,80	2,35
	Percentila 25	2,20	1,60	1,75	1,70
	Percentila 75	2,60	2,50	3,45	3,20
		F=5,27, p= 0.007 Kruskal-Wallis = 6,95 , p= 0,031*			

*Diferență statistică semnificativă la nivel de $p < 0,05$

Concluzie

Diferențele semnificative sub aspect statistic identificate în analiza comparativă între formele clinice ale hemofiliei reflectă impactul gradului de severitate asupra homeostaziei generale. Valorile mai scăzute ale Hb și eritrocitelor, împreună cu scăderea bilirubinei totale și a fracției sale libere în formele severe, sugerează o afectare hematologică persistentă și o posibilă epuizare a

mecanismelor compensatorii. Proba cu timol crescută în formele severe acreditează ideea unei afectări sistemice mai profunde. Toate aceste date susțin necesitatea monitorizării periodice a parametrilor respectivi ca parte integrantă a managementului pacientului cu hemofilie, în special în formele severe.

În contrast, timpul de tromboplastină parțial activată (TTPa) a fost prelungit în toate cazurile studiate (92,40, DS: 28,52), fără a se observa diferențe semnificative în funcție de severitatea bolii ($F=0,153$, $p=0,858$). Această constatare sugerează o disfuncție a căii intrinseci a coagulării, specifică hemofiliei.

Diagnosticul bolii este susținut de tabloul clinic și de datele de laborator. TTPa este mult alungit și se corectează după administrarea de plasmă normală, pe când timpul de protrombină, timpul de trombină și timpul de sângerare se înscrie în limitele normale. Determinarea specifică a activității FVIII și IX – % din normal – stabilește diagnosticul de hemofilie A și respectiv B și forma clinică (severă, medie, ușoară).

Aprecierea timpului parțial de tromboplastină activat este esențială în diagnosticul și monitorizarea hemofiliei, deoarece acesta reflectă direct funcția căii intrinseci a coagulării, afectată în hemofilie. TTPa prelungit este un indicator sensibil al deficienței de factor VIII sau IX, fiind observat la toți copiii cu hemofilie. Evaluarea constantă a acestui parametru permite nu doar diagnosticarea corectă, ci și monitorizarea eficienței tratamentului și ajustarea dozelor de terapie substitutivă.

Indicele Fibrinogenului a fost practit la toți respondenții în limitele normale (2,84, DS: 0,27), fără diferențe statistice semnificative în dependență de severitatea bolii ($F=0,904$, $p=0,409$). La fel, Indicele Protrombinei a fost practit la toți respondenții în limitele normale (90,06, DS: 4,43), fără diferențe statistice semnificative în dependență de severitatea bolii ($F=0,904$, $p=0,409$) (Tabelul 17).

Tabelul 17. Analiza descriptivă a parametrilor coagulogramei asociate hemostazei secundare

		Grad de severitate			
		Ușor	Moderat	Sever	Total
Indice PT %	N	13	33	44	90
	Media	90,54	90,45	89,61	90,06
	DS	3,33	4,87	4,42	4,43
	ÎI 95%	88,52 - 92,55	88,73 - 92,18	88,27 - 90,96	98,13 - 90,96
	Mediana	92,00	90,00	89,00	90,00
	Percentila 25	90,00	88,00	87,00	87,00

	Percentila 75	93,00	94,00	92,00	93,00
		F=0,904, p= 0.409 Kruskal-Wallis =1,47 , p= 0,480			
TTPA sec.	N	13	33	44	90
	Media	96,00	92,79	91,05	92,40
	DS	26,04	28,91	29,43	28,52
	ÎI 95%	80,27 - 111,73	82,54 - 103,04	82,10 - 99,99	86,43 – 98,37
	Mediana	110,00	91,00	91,50	98,00
	Percentila 25	104,00	68,00	63,00	63,00
	Percentila 75	112,00	110,00	109,00	110,00
		F=0,153, p=0,858 Kruskal-Wallis = 1,35 , p= 0,509			
Fibrinogen g/l	N	13	33	44	90
	Media	2,92	2,80	2,85	2,84
	DS	0,35	0,30	0,23	0,27
	ÎI 95%	2,71 - 3,14	2,70 - 2,91	2,78 - 2,92	2,78 – 2,90
	Mediana	3,10	2,80	2,90	2,85
	Percentila 25	2,70	2,70	2,70	2,70
	Percentila 75	3,20	2,90	2,90	2,90
		F=0,904, p= 0.409 Kruskal-Wallis =1,51 , p= 0,470			

Analiza distribuției pacienților cu hemofilie în funcție de severitate și timpul de coagulare după Lee-White (Tabelul 3.6) a relevat o prelungire semnificativă (>1 oră) la 50% dintre pacienții cu hemofilie severă (22 din 44) și la 24,2% dintre cei cu hemofilie moderată (8 din 33). Niciun pacient cu hemofilie ușoară nu a prezentat un timp de coagulare prelungit peste o oră. Pe de altă parte, un timp de coagulare ≤1 oră a fost înregistrat la toți pacienții cu hemofilie ușoară (100%), precum și la majoritatea celor cu forme moderate (75,8%) și severe (50%).

Analiza statistică evidențiază o diferență semnificativă ($p < 0,05$) între grupurile de severitate în ceea ce privește timpul de coagulare, sugerând o corelație directă între severitatea hemofiliei și gradul de prelungire a acestui timp. Observația dată reflectă deficitul funcțional al factorilor de coagulare, caracteristic hemofiliei, cu o alterare mai pronunțată în formele severe, unde nivelurile factorului VIII sau IX sunt sub 1%. Astfel, testul Lee-White poate oferi un indicator util pentru evaluarea globală a coagulării, însă necesită corelare cu alte investigații specifice, precum nivelurile factorilor de coagulare și testele globale de coagulare (APTT, PT).

Tabelul 18. Distribuția pacienților cu hemofilie în funcție de severitate și timpul de coagulare după Lee-White

		Severitate							
		Moderată		Severă		Ușoară		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Timpul de coagulare Lee-White (5-10')	> 1 oră	8	24.2*	22	50.0*	0	0.0*	30	33.3
	≤ 1 oră	25	75.8	22	50.0	13	100	60	66.7
	Total	33	100	44	100	13	100	90	100

*Diferență statistică semnificativă la nivel de $p < 0,05$

Analiza relației dintre parametrii coagulogramei și timpul de coagulare Lee-White (Tabelul 19) prezintă relația dintre timpul de coagulare Lee-White și trei parametri esențiali ai coagulogramei: timpul protrombinic (TP), timpul de tromboplastină parțial activată (TTPA) și nivelul de fibrinogen. Lotul analizat a inclus 90 de pacienți, dintre care 30 (33,3%) au prezentat un timp de coagulare prelungit (>1 oră), iar 60 (66,7%) au avut un timp de coagulare în limitele ≤1 oră.

Timpul protrombinic a fost comparabil între cele două grupuri, fără diferențe semnificative sub aspect statistic ($F=0,86$, $p=0,358$; Kruskal-Wallis = 0,95, $p=0,330$). Media TP a fost de 90,67 secunde pentru pacienții cu timp de coagulare prelungit și de 89,75 secunde pentru cei cu timp de coagulare normală, cu o medie generală de 90,06 secunde. Intervalul de încredere (ÎI 95%) pentru pacienții cu TP prelungit a fost de 88,74–92,59 secunde, iar pentru cei cu TP normal de 88,71–90,79 secunde. Mediana TP a fost apropiată în ambele grupuri (91,00 secunde vs. 90,00 secunde). Distribuția TP a arătat valori similare între percentila 25 și percentila 75 în cele două grupuri (86,00–94,00 secunde la pacienții cu TP prelungit și 87,00–92,00 secunde la cei cu TP normal). Aceste date indică faptul că TP nu a fost influențat semnificativ de prelungirea timpului de coagulare Lee-White, ceea ce sugerează că acest test nu este un predictor sensibil pentru alterările coagulării la acești pacienți.

Timpul de tromboplastină parțial activată a prezentat o diferență statistică semnificativă între grupurile analizate ($F=7,21$, $p=0,009$; Kruskal-Wallis = 4,15, $p=0,042$), indicând o asocieră clară între prelungirea acestuia și timpul de coagulare Lee-White. Pacienții cu timp de coagulare >1 oră au avut o medie a TTPA de 103,43 secunde, semnificativ mai mare comparativ cu cei cu timp de coagulare normală (86,88 secunde), cu o medie generală de 92,40 secunde. Intervalele de încredere 95% au fost mai largi la pacienții cu timp prelungit de coagulare (91,51 – 115,35 secunde) comparativ cu cei cu timp normal (80,38 – 93,38 secunde), indicând o variabilitate mai mare în acest grup. Mediana TTPA a fost semnificativ mai ridicată în grupul cu timp de coagulare prelungit (102,00 secunde) comparativ cu cel cu timp normal (90,00 secunde). Percentilele 25 și

75 au arătat un spectru mai larg al valorilor TTPA la pacienții cu timp de coagulare >1 oră (90,00 – 112,00 secunde) față de cei cu timp normal (61,00–109,50 secunde). Aceste rezultate confirmă că pacienții cu un timp de coagulare Lee-White prelungit au tendința de a prezenta și un TTPA semnificativ mai mare, ceea ce indică un deficit al căii intrinseci a coagulării, caracteristic hemofiliei.

Nivelul de fibrinogen a prezentat, de asemenea, o diferență statistică semnificativă între cele două grupuri ($F=6,54$, $p=0,012$; Kruskal-Wallis = 4,46, $p=0,035$), sugerând o influență asupra procesului global de coagulare. Media fibrinogenului a fost ușor mai mică la pacienții cu timp de coagulare prelungit (2,74 g/L) comparativ cu cei cu timp normal (2,89 g/L), cu o medie generală de 2,84 g/L. Intervalele de încredere 95% au indicat valori mai joase în grupul cu coagulare prelungită (2,65–2,83 g/L) față de grupul cu coagulare normală (2,82–2,96 g/L). Mediana nivelului de fibrinogen a fost mai scăzută în grupul cu timp de coagulare >1 oră (2,80 g/L) comparativ cu grupul cu timp normal (2,90 g/L). Percentilele 25–75 au arătat o ușoară variație între cele două grupuri: 2,55–2,90 g/L la pacienții cu timp de coagulare prelungit și 2,70–3,10 g/L la cei cu timp normal. Aceste rezultate indică o ușoară scădere a fibrinogenului la pacienții cu coagulare prelungită, dar diferențele sunt mai puțin pronunțate comparativ cu TTPA.

Analiza relației reciproce dintre timpul de coagulare Lee-White și parametrii coagulogramei evidențiază următoarele: Timpul protrombinic nu a prezentat diferențe semnificative între grupuri, sugerând că nu este direct influențat de timpul de coagulare Lee-White dar, TTPA a fost semnificativ mai mare la pacienții cu coagulare prelungită, confirmând deficitul factorilor VIII sau IX în aceste cazuri. Nivelul de fibrinogen a fost ușor mai scăzut la pacienții cu timp de coagulare prelungit, însă diferența nu este la fel de marcată ca în cazul TTPA. Aceste date subliniază importanța utilizării TTPA ca marker principal în evaluarea hemofiliei, în timp ce timpul protrombinic și fibrinogenul oferă informații complementare privind profilul global al coagulării.

Tabelul 19. Relația dintre parametrii cosagulogramei și Timpul LeeWhite

		LeeWhiteCOD		
		> 1 oră	<= 1 oră	Total
Timpul Protrombinic	N	30	60	90
	Media	90.67	89.75	90.06
	DS	5.16	4.03	4.43
	Î 95%	88.74 – 92,59	88,71 – 90,79	89,13 - 90,98
	Mediana	91.00	90.00	90.00
	Percentile 25	86.00	87.00	87.00
	Percentile 75	94.00	92.00	93.00

		F=0,86, p=0,358 Kruskal-Wallis = 0,95 , p= 0,330		
TTPA	N	30	60	90
	Media	103.43*	86.88*	92.40
	DS	31.92	25.16	28.52
	ÎI 95%	91,51 – 115,35	80,38 – 93,38	86,43 – 98,37
	Mediana	102.00*	90.00*	98.00
	Percentile 25	90.00	61.00	63.00
	Percentile 75	112.00	109.50	110.00
		F=7,21, p=0,009 Kruskal-Wallis = 4,15 , p= 0,042		
Fibrinogen	N	30	60	90
	Media	2.74*	2.89*	2.84
	DS	.23	.28	.27
	ÎI 95%	2,65 – 2,83	2,82 – 2,96	2,78 – 2,90
	Median	2.80*	2.90*	2.85
	Percentile 25	2.55	2.70	2.70
	Percentile 75	2.90	3.10	2.90
		F=6,54, p=0,012 Kruskal-Wallis = 4,46 , p= 0,035		

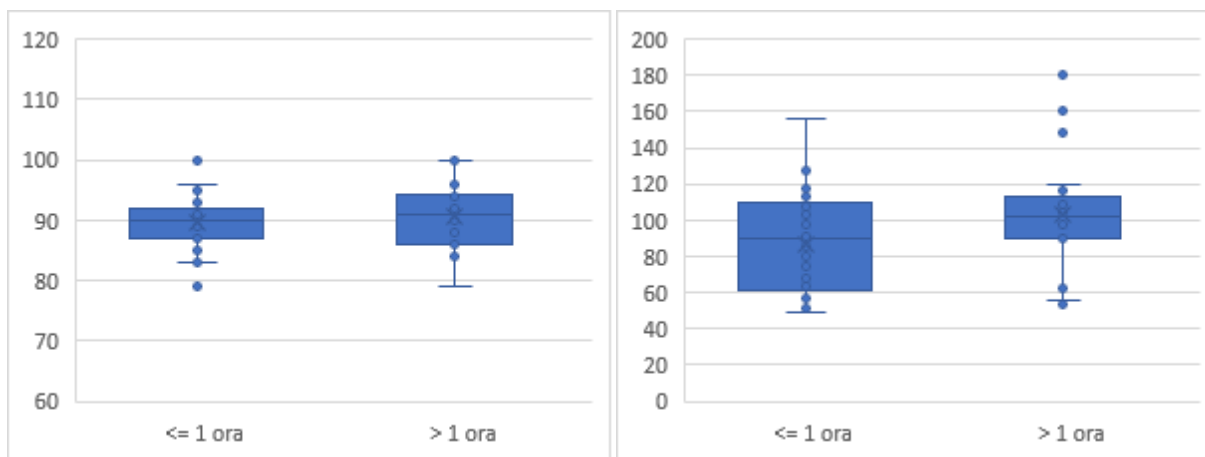


Figura 13. Relația dintre PT (stânga), TTPa (dreapta) și Timpul Lee-White la pacienți pediatrici cu hemofilie

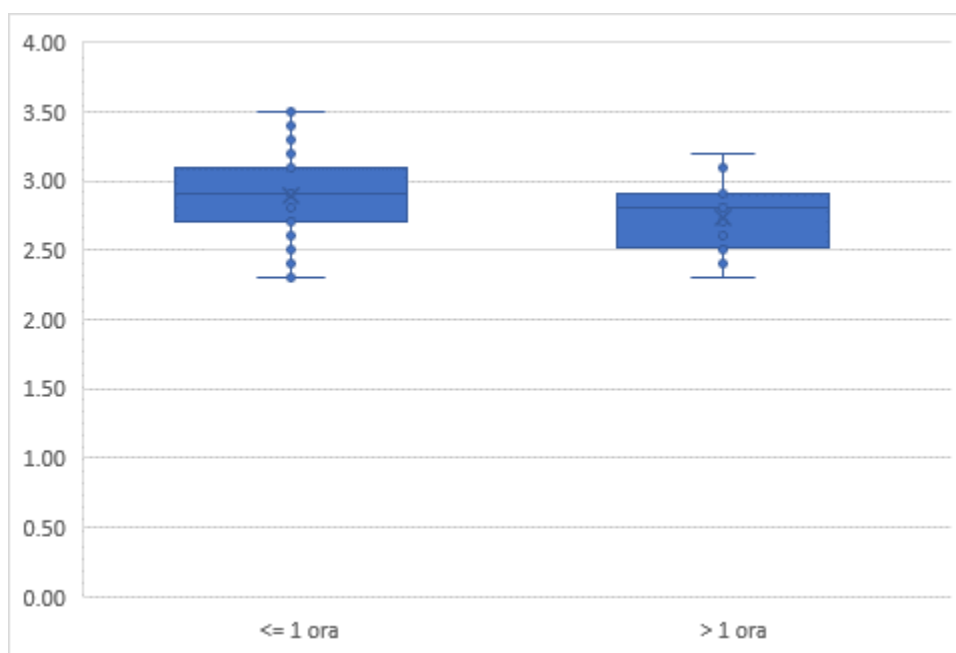


Figura 14. Analiza relației dintre nivelul fibrinogenului și Timpul Lee-White la pacienți pediatrici cu hemofilie

3.2.2. Rezultatele studiului aprecierii cantitative a factorilor VIII și IX ai coagulării

Tabelul 20 reflectă distribuția severității clinice a hemofiliei în funcție de tipul bolii – Hemofilie A (deficit de factor VIII) și Hemofilie B (deficit de factor IX) – în cadrul unui eșantion compus din 90 de copii incluși în studiul nostru. Din totalul participanților, 81 de copii (90%) au fost diagnosticați cu hemofilie tip A, iar restul 9 copii (10%) cu hemofilie tip B.

Analiza detaliată a subgrupurilor evidențiază o prevalență marcată a formelor severe în hemofilia A, unde 51,9% dintre pacienți (42 de cazuri) prezentau deficiențe severe de factor VIII (<1%). Forma moderată (activitate a FVIII între 1–5%) a fost identificată la 35,8% dintre pacienții cu hemofilie A (29 de cazuri), în timp ce forma ușoară (activitate >5%) a fost mult mai rar întâlnită, înregistrând doar 12,4% (10 cazuri). Acest profil este în concordanță cu datele din literatura internațională, unde hemofilia A tinde să se manifeste mai frecvent sub forme severe, cu implicații directe în managementul clinic și necesitatea implementării precoce a tratamentului profilactic [1, 2].

În contrast, distribuția severității în hemofilia tip B (deficit de factor IX) a avut un caracter diferit. În cadrul acestui grup, forma moderată a fost cea mai frecvent întâlnită (44,4%, adică 4 copii), urmată de forma ușoară (33,3%, respectiv 3 copii). Forma severă a fost identificată doar la 22,2% dintre cazuri (2 copii), ceea ce sugerează o tendință spre o exprimare fenotipică mai blândă în hemofilia B în comparație cu hemofilia A, aspect susținut și de alte studii clinice internaționale [3].

La nivelul întregului lot, indiferent de tipul de hemofilie, forma severă de boală a predominat (48,9%, 44 de cazuri, ÎI 95% [38,56–59,22]), urmată de forma moderată (36,7%, 33 de cazuri) și

de forma ușoară (14,4%, 13 cazuri, ÎÎ 95% [7,18–27,71]). Aceste date susțin ideea că aproape jumătate dintre copiii incluși în studiu necesită o abordare terapeutică susținută, cu profilaxie continuă și monitorizare multidisciplinară pentru prevenirea complicațiilor hemoragice. Deși diferențele procentuale dintre hemofilia A și B în ceea ce privește severitatea bolii sunt remarcabile, analiza statistică efectuată ($X^2 = 4,09$, $gl = 2$, $p = 0,129$) nu a identificat o semnificație statistică relevantă între cele două tipuri de hemofilie în funcție de gradul de severitate. Totuși, rezultatele oferă o perspectivă importantă asupra distribuției clinice și pot ghida stratificarea riscului și adaptarea strategiilor terapeutice.

Tabelul 20. Aprecierea cantitativă a factorilor de coagulare VIII și IX

		Tip					
		A		B		Total	
		N	%	N	%	N	%
Grad de severitate	Ușor	10	12,4	3	33,3	13	14,4
	Moderat	29	35,8	4	44,4	33	36,7
	Sever	42	51,9	2	22,2	44	48,9
	Total	81	100	9	100	90	100

3.2.3. Rezultatele studiului aprecierii modificărilor molecular-genetice

Din cei 90 de copii incluși în studiul nostru, doar în 43,3% dintre cazuri (39 de copii) s-a efectuat prelevarea de sânge pentru a identifica tipul de mutație genetică asociată cu hemofilia. Cea mai frecventă mutație identificată a fost de *tip missens*, întâlnită în 17,8% (ÎÎ 95% [9,88 – 25,68]) dintre cazuri (16 copii). Această mutație a fost observată în 18,5% dintre cazurile de Hemofilie A (15 copii) și în 11,1% dintre cazurile de Hemofilie B (1 copil). Mutația de *tip Inv Intr 22* a fost înregistrată în 14,8% (ÎÎ 95% [6,31–20,36]) din cazuri (12 copii), fiind observată exclusiv în Hemofilia A. Un alt tip de mutație întâlnit a fost *frameshift*, în 7,8% (ÎÎ 95% [2,24 – 13,31]) dintre cazuri (7 copii), dintre care 7,4% au fost asociate cu Hemofilia A (6 copii) și 11,1% cu Hemofilia B (1 copil). Mutația de *tip nonsense* a fost cea mai rar întâlnită, fiind identificată în 3,7% (ÎÎ 95% [0–7,04]) din cazuri (3 copii), toate asociate cu Hemofilia A (Tabelul 21).

Tabelul 21. Aprecierea tipului de mutație genetică

		Tip					
		A		B		Total	
		N	%	N	%	N	%
Mutație	Frameshift	6	7,4	1	11,1	7	7,8
	Inv Intr 22	12	14,8	0	0,0	12	13,3
	Missens	15	18,5	1	11,1	16	17,8
	Nonsens	3	3,7	0	0,0	3	3,3
	Negativ	1	1,2	0	0,0	1	1,1
	Nu a fost supus controlului	44	54,3	7	77,8	51	56,7
	Total	81	100	9	100	90	100

Analiza distribuției mutațiilor genetice în funcție de valorile Timpului Lee-White la pacienții cu hemofilie (Figura 15) ilustrează distribuția mutațiilor genetice identificate la pacienții cu hemofilie, corelată cu valorile timpului de coagulare Lee-White. Această analiză permite evidențierea relației dintre tipul de mutație genetică și gradul de prelungire a timpului de coagulare, oferind o perspectivă asupra severității deficitului de coagulare asociat fiecărei mutații.

Pacienții cu mutații severe, cum ar fi delețiile mari și inversiunile intronului 22 (specifice hemofiliei A severe), prezintă predominant timpuri de coagulare Lee-White >1 oră, indicând o afectare profundă a hemostazei.

Mutațiile punctiforme și delețiile mici, care sunt asociate frecvent cu forme moderate sau ușoare ale bolii, au fost distribuite mai uniform între cele două categorii ale timpului Lee-White, unele cazuri încadrându-se în intervalul ≤ 1 oră.

Se observă o proporție semnificativ mai mare de pacienți cu mutații nonsens și mutații de splicing în grupul cu timp de coagulare prelungit, sugerând un impact sever asupra sintezei factorului deficitar.

În grupul pacienților cu timp de coagulare prelungit (>1 oră) predomină mutațiile asociate cu hemofilia severă, inclusiv inversiunile intronului 22 și mutațiile frameshift, care determină absența sau producția defectuoasă a factorului VIII sau IX.

Pacienții cu timp de coagulare ≤ 1 oră prezintă mai frecvent mutații missense sau mutații care afectează reglarea expresiei genice, acestea fiind asociate, în general, cu forme moderate și ușoare de hemofilie.

Această distribuție evidențiază că tipul de mutație genetică influențează direct gradul de prelungire a timpului Lee-White, ceea ce poate avea implicații în stabilirea unui prognostic și în

alegerea strategiei terapeutice. Pacienții cu mutații severe necesită adesea tratament profilactic intensiv și monitorizare strictă a parametrilor hemostatici.

Astfel, analiza evidențiată confirmă corelația dintre severitatea hemofiliei determinată genetic și impactul asupra timpului de coagulare, subliniind importanța diagnosticului molecular în stratificarea pacienților și optimizarea managementului clinic.

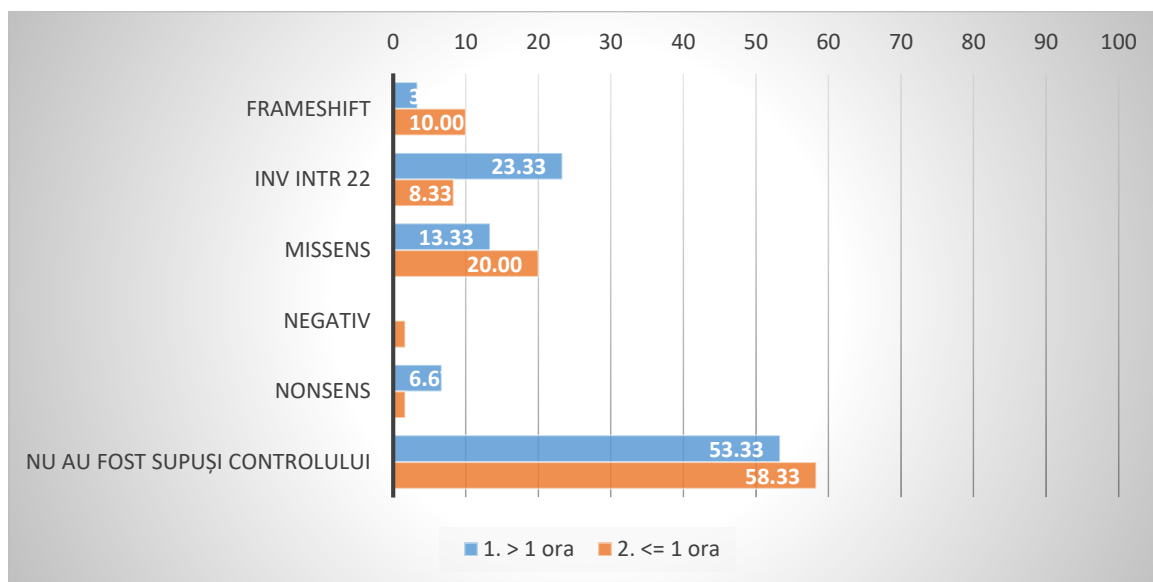


Figura 15. Distribuția mutațiilor genetice în funcție de valorile Timpului Lee-White la pacienți cu hemofilie

3.2.4. Rezultatele studiului aprecierii titrului de inhibitori

Tabelul ce urmează conține informații despre prezența inhibitorilor la pacienții cu hemofilie, împărțiți în două tipuri: Hemofilie A și Hemofilie B. Proporțiile sunt indicate pentru fiecare categorie, precum și intervalul de încredere (ÎI) de 95% pentru fiecare grup. În cazul hemofiliei de tip A, 60,5% (ÎI 95% [44,16–64,73]) nu s-a efectuat determinarea inhibitorilor (49 de pacienți), indicând o incertitudine moderată. În cazul hemofiliei de tip B, titrarea inhibitorilor s-a făcut la toți pacienții. Per total, 49 de pacienți din 90 nu au efectuat testul pentru inhibitori, reprezentând 54,4% din întreaga populație studiată. În cazul hemofiliei de tip A, 4 pacienți (4,9%) au avut inhibitori prezenți, intervalul de încredere (ÎI 95%) se situează între 0,19% și 8,70%, indicând o incidență scăzută a acestui fenomen. În cazul hemofiliei de tip B, nu s-au înregistrat cazuri de inhibitori prezenți (0%). În ansamblu, 4 pacienți (4,9%) din cei 90 incluși în studiu au avut inhibitori detectați. În cazul hemofiliei de tip A, 28 de pacienți (34,6%) nu au avut inhibitori, dar acest procent este semnificativ mai mic față de grupul celor care nu au efectuat testul. Intervalul de încredere (ÎI 95%) pentru acest procent variază între 30,95% și 51,28%, indicând o frecvență

medie. În cazul hemofiliei de tip B, toți pacienții (9 pacienți, 100%) nu au prezentat inhibitori, ceea ce este caracteristic acestui tip de hemofilie. Per total, 37 de pacienți (41,1%) din cei 90 incluși în studiu nu au avut inhibitori, din care 28 sunt din tipul A și 9 din tipul B. Hemofilia de tip A a avut o prevalență semnificativă a cazurilor în care nu s-a efectuat testul pentru inhibitori, ceea ce sugerează o posibilă lipsă de acces la această analiză pentru majoritatea pacienților. Aceste observații oferă informații importante despre abordările de diagnostic și managementul pacienților cu hemofilie, precum și despre prevalența inhibitorilor în diferitele tipuri de hemofilie (Tabelul 22).

Tabelul 22. Aprecierea titrului de inhibitori

		Tip					
		A		B		Total	
		N	%	N	%	N	%
Inhibitori	Nu s-a efectuat	49	60,5*	0	0,0*	49	54,4
	Prezent	4	4,9	0	0,0	4	4,4
	Absent	28	34,6*	9	100*	37	41,1
	Total	81	100	9	100	90	100

*Diferență statistică semnificativă la nivel de $p < 0,05$

În cadrul studiului realizat, a fost propus un algoritm clinic de evaluare și orientare terapeutică, dedicat pacienților cu hemofilie care dezvoltă inhibitori împotriva factorilor de coagulare exogeni (factor VIII sau IX). Acest algoritm oferă un cadru practic aplicabil în determinarea tacticii de tratament complex, cu scopul de a reduce frecvența și severitatea episoadelor hemoragice recurente. Apariția inhibitorilor reprezintă una dintre cele mai dificile complicații ale terapiei de substituție la pacienții cu hemofilie, determinând o rezistență imunologică față de factorii administrați și, implicit, o eficacitate terapeutică diminuată. Implementarea unui algoritm clar de investigare și management permite o abordare personalizată și precoce a acestor pacienți, contribuind semnificativ la îmbunătățirea calității vieții și la reducerea riscurilor de morbiditate și mortalitate.

Literatura științifică internațională abordează relativ limitat problema hemofiliei inhibitorii, în comparație cu formele fără complicații imunologice, în timp ce în spațiul autohton această tematică este aproape inexistentă. În Republica Moldova, până în prezent, nu există protocoale standardizate naționale pentru abordarea specifică a hemofiliei cu inhibitori, ceea ce accentuează vulnerabilitatea sistemului medical în fața unor cazuri cu evoluție clinică severă. Din acest motiv, elaborarea și validarea unui algoritm local, adaptat resurselor și particularităților sistemului de sănătate moldovenesc, reprezintă un demers justificat științific și practic.

Prognosticul pacienților cu hemofilie însoțită de dezvoltarea de inhibitori este adesea nefavorabil, întrucât aceștia prezintă un risc crescut de complicații hemoragice severe, refractare la tratamentul convențional. Mai mult, costurile asociate cu gestionarea acestor pacienți sunt semnificativ mai mari, iar opțiunile terapeutice eficiente sunt adesea limitate sau inaccesibile. În acest context, inovația propusă în cadrul studiului de față constă în constituirea și aplicarea unui algoritm de investigații care permite identificarea precoce și monitorizarea titrului de anticorpi inhibitori anti-factor VIII sau IX. Acest algoritm oferă o reorientare corectă a conduitei terapeutice, atât în fazele acute, cât și în cele de monitorizare pe termen lung, facilitând luarea unor decizii medicale bazate pe date obiective și adaptate profilului imunologic individual al pacientului.

Concluzie capitolul 3. Prin urmare, propunerea acestui algoritm reprezintă un pas esențial în direcția optimizării controlului hemoragiilor recidivante și a reducerii impactului inhibitorilor asupra evoluției clinice a pacienților cu hemofilie din Republica Moldova. Suntem de părerea că implementarea sistematică a acestui instrument va contribui nu doar la îmbunătățirea rezultatelor terapeutice, ci și la fundamentarea unei politici naționale coerente de gestionare a hemofiliei inhibitorii (Anexa 1).

4. STUDIUL INTERRELAȚIEI PARAMETRILOR CLINICI ȘI PARACLINICI ÎN DEPENDENȚĂ DE SEVERITATEA BOLII

4.1. Interrelația severității bolii cu tipul de transmitere

În cadrul analizei noastre privind asocierea dintre tipul de transmitere familială și gradul de severitate al bolii am observat următoarele aspecte relevante:

- Referitor la criteriul de severitate, am constatat că tipul de transmitere familial cel mai frecvent întâlnit a fost asociat cu formele moderate ale bolii, prezent în 45,5% din cazuri (15 cazuri). Această frecvență a fost semnificativ mai mare sub aspect statistic decât în formele severe, înregistrându-se doar în 15,9% din cazuri (7 copii), și formelor ușoare, unde nu s-a identificat niciun caz.

- În formele severe, cel mai adesea nu s-a cunoscut tipul de transmitere familial, fiind întâlnit în 54,5% din cazuri (24 de copii), în timp ce în formele ușoare această proporție a fost de 76,9% (10 copii). Cu toate acestea, în formele moderate, frecvența cazurilor în care tipul de transmitere nu a fost cunoscut a fost semnificativ mai mică, de doar 3,0% ($X^2=32,216$, $gl=4$, $p<0,001$).

- Tipul sporadic de transmitere familială a fost cel mai frecvent asociat cu severitatea moderată, prezent în 51,5% din aceste cazuri (17 copii). În contrast, în cazurile severe și ușoare, acest tip de transmitere a fost întâlnit în proporții mai mici, respectiv 29,5% (13 copii) și 23,0% (3 copii).

Aceste constatări subliniază complexitatea interacțiunii dintre tipul de transmitere familial și gradul de severitate al bolii în contextul hemofiliei, evidențiind diversitatea caracteristicilor genetice și clinice ale acestei afecțiuni (Tabelul 23).

Tabelul 23. Rezultatele interrelației tipului de transmitere și severitatea bolii

		Grad de severitate							
		Ușor		Moderat		Severă		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Tip transmitere	Familial	0	0,0*	15	45,5*	7	15,9*	22	24,4
	Sporadic	3	23,0	17	51,5	13	29,5	33	36,7
	Nu se cunoaște	10	76,9*	1	3,0*	24	54,5*	35	38,9
	Total	13	100	33	100	44	100	90	100

*Diferență statistică semnificativă la nivel de $p<0,05$

4.2. Interrelația severității bolii cu incidența hemartozelor

Am analizat asocierea dintre hemartroză, care este afectarea cea mai frecventă în cazul hemofiliei, și gradul de severitate și am stabilit următoarele constatări semnificative.

În formele severe sunt afectate mai multe articulații, 4 articulații implicate au fost în 27,3% (12 copii) din cazuri, 5 articulații afectate s-au înregistrat în 18,2% (8 copii) din cazuri, la fel ca în cazurile cu 2 și 3 articulații implicate. Afectarea a 6 articulații a fost în 13,6% (6 copii) din cazuri. Doar în 4,5% (2 copii) din cazuri a fost implicată o singură articulație.

Articulația cotului a fost afectată mai frecvent în formele severe – 54,5% (24 copii) din cazuri, cu implicarea ambelor articulații – în 31,8% (14 copii) din cazuri și cu implicarea unei articulații – în 22,7% (10 copii). În formele moderate articulația cotului a fost afectată în 39,4% (13 copii) din cazuri, cu implicarea ambelor articulații – în 36,4% (12 copii), și doar a unei articulații în 3,0% (1 copil). În formele ușoare articulația cotului este cel mai rar afectată doar 23,0% (3 copii) din cazuri și a fost înregistrată la o singură articulație. În forma severă afectarea unui singur cot a fost înregistrată în 22,7% (10 copii) din cazuri, mult mai frecvent decât în forma moderată – 3,0% (1 copil) ($X^2=11,81$, $gl= 4$, $p= 0,019$).

O altă articulație afectată a fost genunchiul. La fel, în formele severe a fost mai frecvent afectat – 88,6% (39 de copii), în 72,7% (32 de copii) din cazuri au fost afectate ambele articulații și în 15,9% (7 copii) doar o articulație. În formele moderate articulația genunchiului a fost afectată în 93,9% (31 de copii) din cazuri cu implicarea ambelor articulații în 84,9% (28 de copii) din cazuri și doar a unei articulații în 9,0% (3 copii) din cazuri. În formele ușoare afectarea articulației genunchilor a fost înregistrată în egală măsură atât pentru ambele articulații, cât și pentru o singură articulație – câte 38,5% (5 copii). În forma moderată afectarea ambelor articulații ale genunchiului a fost înregistrată în 84,9% (28 copii) din cazuri, semnificativ mai frecvent decât în forma ușoară 38,5% (5 copii) ($X^2=10,07$, $gl= 4$, $p= 0,039$).

O altă articulație afectată a fost glezna. La fel, în formele severe a fost mai frecvent afectată 72,7% (32 de copii), în 43,2% (19 copii) au fost afectate ambele articulații și în 29,6% (13 copii) doar o articulație. În formele moderate afectarea articulației gleznei a fost în 66,7 % (22 de copii), în egală măsură fiind implicate ambele articulații sau doar o articulație 33,3% (11 copii). În forma ușoară articulația gleznei este cel mai rar afectată – 9,3%, ceea ce semnificativ diferă de forma moderată 33,3% și forma severă – 27,3% ($X^2=7$, $gl= 2$, $p= 0,030$).

Aceste observații subliniază varietatea și complexitatea manifestărilor clinice ale hemofiliei, evidențiind necesitatea unei abordări personalizate și a unei gestionări adecvate a afecțiunilor asociate cu fiecare grad de severitate (Tabelul 24).

Tabelul 24. Rezultatele interrelației hemartrozelor și gradul de severitate a bolii

		Gradul de severitate							
		Ușor		Moderat		Sever		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Nr. articulațiilor afectate	0	2	15,4	1	3,0	0	0,0	3	3,3
	1	5	38,5	0	0,0	2	4,6	7	7,8
	2	6	46,2	7	21,2	8	18,2	21	23,3
	3	0	0,0	8	24,2	8	18,2	16	17,8
	4	0	0,0	10	30,3	12	27,3	22	24,4
	5	0	0,0	3	9,0	8	18,2	11	12,2
	6	0	0,0	4	12,1	6	13,6	10	11,1
	Total	13	100	33	100	44	100	90	100
Cot	0	10	76,9	20	60,6	20	45,5	50	55,6
	1	3	23,1	1	3,0*	10	22,7*	14	15,6
	2	0	0,0	12	36,4	14	31,8	26	28,9
	Total	13	100	33	100	44	100	90	100
Genunchi	0	3	23,1	2	6,1	5	11,4	10	11,1
	1	5	38,5	3	9,1	7	15,9	15	16,7
	2	5	38,5*	28	84,9*	32	72,7	65	72,2
	Total	13	100,	33	100	44	100	90	100
Glezna	0	12	92,3*	11	33,3*	12	27,3*	35	38,9
	1	1	7,7	11	33,3	13	29,6	25	27,8
	2	0	0,0	11	33,3	19	43,2	30	33,3
	Total	13	100	33	100	44	100	90	100

*Diferență statistică semnificativă la nivel de $p < 0,05$

4.3. Asocierea interrelației severității bolii cu tipul mutației genetice

Am analizat tipurile de mutații genetice înregistrate cu severitatea bolii, astfel am descris asocierea genotip cu gradul de severitate a bolii.

În formele ușoare de hemofilie cea mai frecventă mutație este Missens 7,7% (16 copii). Inv Intr-22 s-a înregistrat în 13,3% (12 copii) din cazuri și s-a întâlnit doar în formele moderată – 15,2% (5 copii) și severă 15,9% (7 copii). Un alt tip de mutație întâlnită a fost Frameshift – în 7,8% (7 copii) din cazuri, cu o rată de 12,1% (4 copii) în formele moderate și 6,8% (3 copii) în forma severă. Cea mai rar întâlnită mutație a fost Nonsens – 3,3% (3 copii), dintre care în forma severă 4,6% (2 copii) și 3,0% (1 copil) în forma moderată.

A fost identificată o diferență semnificativă sub aspect statistic la nivel de $p < 0,05$ între

frecvența mutației Missens în formele moderate, care s-a întâlnit în 36,4% din cazuri (12 copii) și în formele severe, care s-au regăsit în 6,8% din cazuri (3 copii) ($\chi^2=24,015$, $gl=10$, $p=0.008$).

Aceste constatări subliniază diversitatea și complexitatea mutațiilor genetice implicate în etiologia hemofiliei și relevanța lor în determinarea severității afecțiunii (Tabelul 25).

Tabelul 25. Rezultatele interrelației fenotip-genotip

		Gradul de severitate							
		Ușor		Moderat		Sever		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Mutație	Frameshift	0	0,0	4	12,1	3	6,8	7	7,8
	Inv Intr 22	0	0,0	5	15,2	7	15,9	12	13,3
	Missens	1	7,7	12	36,4*	3	6,8*	16	17,8
	Negativ	0	0,0	1	3,0	0	0,0	1	1,1
	Nonsens	0	0,0	1	3,0	2	4,6	3	3,3
	Nu a fost supus controlului	12	92,3*	10	30,3*	29	65,9*	51	56,7
	Total	13	100	33	100	44	100	90	100

*Diferență statistică semnificativă la nivel de $p<0,05$

4.4. Asocierea interrelației bolii cu titrul de inhibitori

Analiza interrelației severitatea hemofiliei – titrul inhibitorilor (Tabelul 26) prezintă distribuția pacienților cu hemofilie în funcție de severitatea bolii și rezultatele determinării titrului de inhibitori în două etape distincte de evaluare. Analiza acestui tabel oferă informații relevante privind frecvența testării pentru inhibitori și corelația acestora cu severitatea hemofiliei. Din totalul de 90 de pacienți, 49 (54,4%) nu au fost testați pentru prezența inhibitorilor. Cea mai mare proporție a pacienților netestați se regăsește în grupul celor cu hemofilie moderată (84,9%), urmat de cei cu hemofilie severă (43,2%) și doar 15,4% dintre pacienți au fost cu hemofilie ușoară. Această distribuție poate reflecta o practică de testare mai frecventă la pacienții cu forme severe, unde prezența inhibitorilor este mai probabilă și influențează semnificativ tratamentul.

În prima etapă de testare, inhibitorii au fost detectați doar la pacienții cu hemofilie severă (16,0%), în timp ce la pacienții cu forme ușoare și moderate nu au fost identificați inhibitori.

Majoritatea pacienților testați (90,2%) nu au prezentat inhibitori, indicând o prevalență relativ redusă în lotul analizat.

Rezultatele celei de-a doua etape de testare sunt identice cu cele din prima etapă, confirmând prezența inhibitorilor doar la pacienții cu hemofilie severă (16,0%), iar în restul cazurilor aceștia

au lipsit (90,2%).

Această concordanță sugerează o stabilitate a rezultatului în timp și confirmă faptul că pacienții cu forme mai severe ale bolii sunt predispuși să dezvolte inhibitori.

Rezultatele indică o corelație clară între severitatea bolii și riscul de dezvoltare a inhibitorilor, aceștia fiind prezenți exclusiv la pacienții cu hemofilie severă.

Procentul ridicat de pacienți netestați, în special în forma moderată a bolii, subliniază necesitatea unei strategii mai riguroase de screening pentru inhibitori, având în vedere impactul acestora asupra eficacității tratamentului substitutiv.

Diferența statistică semnificativă la nivel de $p < 0,05$ confirmă relevanța clinică a acestor rezultate, evidențiind necesitatea unei monitorizări continue a pacienților cu hemofilie severă pentru prevenirea și gestionarea inhibitorilor. Această analiză subliniază importanța testării periodice a inhibitorilor, în special la pacienții cu forme severe de hemofilie, pentru optimizarea tratamentului și prevenirea complicațiilor asociate cu dezvoltarea acestora.

Tabelul 26. Rezultatele interrelației severității bolii cu titrul de inhibitori

	Severitate							
	Ușoară		Moderată		Severă		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Nu s-a efectuat	2	15,4	28	84,9	19	43,2	49	54,4
Determinarea titrului de inhibitori la etapa I								
Prezent	0	0,0*	0	0,0*	4	16,0*	4	9,8
Absent	11	100	5	100	21	84,0	37	90,2
Total	13	100	5	100	25	100	41	100
Determinarea titrului de inhibitori la etapa II								
Prezent	0	0,0*	0	0,0*	4	16,0*	4	9,8
Absent	11	100	5	100	21	84,0	37	90,2
Total	11	100	5	100	25	100	41	100

*Diferență statistică semnificativă la nivel de $p < 0,05$

4.5. Analiza distribuției mutațiilor genetice și a severității clinice în funcție de statusul inhibitorilor anti-factor VIII

În cadrul studiului a fost analizată distribuția tipurilor de mutații și severitatea hemofiliei A la un lot de 90 de pacienți, în funcție de prezența inhibitorilor specifici anti-factor VIII, împărțiți în trei categorii: pacienți la care nu s-a efectuat testarea pentru inhibitori (n = 49), pacienți cu inhibitori prezenți (n = 4) și pacienți cu inhibitori absenți (n = 37) (Tabelul 27).

Tabelul 27. Analiza distribuției mutațiilor genetice și a severității clinice în funcție de statusul inhibitorilor anti-factor VIII

		Inhibitorii anti-factor VIII							
		Nu s-a efectuat		Prezent		Absent		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Tipul mutației	Frameshift	6	12.2	0	0.0	1	2.7	7	7.8
	Inv Intr 22	12	24.5	4	100.0	0	0.0	16	17.7
	Missens	15	30.6	0	0.0	1	2.7	16	17.8
	Negativ	1	2.0	0	0.0	0	0.0	1	1.1
	Nonsens	3	6.1	0	0.0	0	0.0	3	3.3
	Nu a fost supus controlului	12	24.5	0	0.0	35	94.6	47	52.2
	Total	49	100.0	4	100.0	37	100.0	90	100.0
Grad de severitate	Ușor	2	4.1	0	0.0	11	29.7	13	14.4
	Moderat	28	57.1	0	0.0	5	13.5	33	36.7
	Sever	19	38.8	4	100.0	21	56.8	44	48.9
	Total	49	100.0	4	100.0	37	100.0	90	100.0

Cea mai frecventă mutație identificată în grupul total de pacienți a fost mutația de tip Missens, prezentă la 16 pacienți (17,8%), urmată de Inversia intronului 22 (13,3%) și mutația Frameshift (7,8%).

La pacienții la care nu s-a efectuat testarea pentru inhibitori (n = 49) mutațiile Missens (30,6%), Inv Intron 22 (24,5%) și lipsa testării genetice (24,5%) au avut ponderi aproximativ egale, sugerând o eterogenitate genetică în absența evaluării inhibitorilor. În schimb, în grupul cu inhibitori prezenți (n = 4), toți pacienții (100%) au fost înregistrați cu mutația Inversia Intronului 22, evidențiind asocierea puternică dintre această anomalie genetică și riscul crescut de dezvoltare a inhibitorilor factorului VIII. În grupul cu inhibitori absenți (n = 37), cei mai mulți pacienți prezentau status genetic necunoscut (94,6%), iar mutațiile Missens și Frameshift erau prezente în proporție redusă (câte 2,7%).

În ceea ce privește severitatea clinică a bolii, forma severă de hemofilie A a predominat (n = 44; 48,9%), urmată de forma moderată (n = 33; 36,7%) și forma ușoară (n = 13; 14,4%).

În grupul netestat pentru inhibitori, severitatea moderată a fost cea mai frecventă (57,1%),

În timp ce formele severe au constituit 38,8% din cazuri. Forma ușoară a fost rară (4,1%). În grupul cu inhibitori prezenți, toate cazurile (100%) au fost clasificate cu hemofilie severă, ceea ce susține ipoteza literaturii de specialitate conform căreia dezvoltarea de inhibitori este asociată preponderent cu formele severe de boală. În grupul cu inhibitori absenți, 56,8% dintre pacienți aveau formă severă, iar 29,7% formă ușoară, ceea ce poate reflecta fie eficiența tratamentului profilactic, fie particularități genetice favorabile.

Distribuția tipurilor de mutații și a severității clinice sugerează o asociere între forma severă de hemofilie A și prezența inhibitorilor, cu un procent ridicat de cazuri în care lipsa testării genetice a fost concomitentă cu lipsa testării inhibitorilor. Această situație relevă necesitatea consolidării accesului la diagnosticul molecular și imunologic în managementul pacienților cu hemofilie, în special în formele severe.

Concluzie la capitolul 4

Analiza relației reciproce dintre severitatea hemofiliei și parametrii clinici și paraclinici a evidențiat asocieri semnificative între tipul de transmitere, manifestările articulare, mutațiile genetice și titrul de inhibitori. Formele moderate au fost cel mai frecvent asociate cu transmiterea familială, în timp ce formele severe au prezentat cel mai mare risc de dezvoltare a inhibitorilor. Numărul și localizarea hemartrozelor s-au corelat direct cu gradul de severitate, afectând mai frecvent articulațiile genunchiului, gleznei și cotului. Mutațiile de tip „inversia intronului 22” și „frameshift” au fost asociate cu formele severe, iar lipsa testării genetice și imunologice rămâne o limitare importantă în evaluarea completă a cazurilor. Rezultatele subliniază importanța abordării multidimensionale și personalizate în managementul hemofiliei. Monitorizarea sistematică a inhibitorilor și testarea genetică precoce sunt esențiale pentru prevenirea complicațiilor și optimizarea tratamentului.

5. REZULTATELE STUDIULUI COMPARATIV ÎN DEPENDENȚĂ DE TIPUL DE TRATAMENT ADMINISTRAT

5.1. Caracteristica generală a loturilor

În cadrul studiului nostru, am selectat cu rigurozitate 32 de pacienți dintr-un grup inițial de 90, având un diagnostic de hemofilie, confirmat ulterior. Am divizat acești pacienți în două grupuri distincte: 16 au fost tratați cu crioprecipitat, în timp ce ceilalți 16 au primit FVIII recombinat. Detaliile medicale ale acestor pacienți au fost scrutate meticolos, începând de la prima lor internare, când diagnosticul a fost stabilit, și am analizat cu atenție evoluția clinică pe parcursul a trei ani. Am înregistrat cu precizie numărul de internări pe an și am documentat în detaliu manifestările clinice ale sindromului hemoragic. Această analiză cuprinzătoare ne-a permis să evaluăm în mod exhaustiv eficacitatea și impactul tratamentului administrat asupra progresiei bolii și a stării de sănătate a pacienților noștri [Tabelul 28].

Tabelul 28. Caracteristici generale ale loturilor

		Tratament de substituție					
		Crioprecipitat		FVIII		Total	
		N	%	N	%	N	%
Tip	HA	15	93,8	15	93,8	30	93,8
	HB	1	6,2	1	6,2	2	6,2
	Total	16	100,00	16	100,00	32	100,00

Hemofilia, o afecțiune genetică cu impact semnificativ asupra calității vieții, se caracterizează prin debutul precoce al simptomelor, impunând necesitatea unei diagnosticări prompte și eficiente. În cadrul studiului nostru, am observat că copiii incluși au fost identificați cu această afecțiune în primii doi ani de viață. Constatăm că 68,8% din cazuri (22 de pacienți) au primit confirmarea diagnosticului în primul an de viață, în timp ce 31,2% din cazuri (10 pacienți) au fost diagnosticați în al doilea an de viață. Aceste date ilustrează clar impactul timpuriu al hemofiliei și subliniază necesitatea unei abordări practice în detectarea și gestionarea acestei afecțiuni, oferind perspective esențiale pentru îmbunătățirea calității vieții pacienților [Tabelul 29].

Tabelul 29. Vârsta stabilirii diagnosticului primar

		Tratament de substituție					
		Crioprecipitat		Factorul VIII		Total	
		N	%	N	%	N	%
Vârsta stabilirii diagnosticului primar	1-12 luni	11	68,8	11	68,8	22	68,8
	12-48 luni	5	31,2	5	31,2	10	31,2
	Total	16	100	16	100	32	100

*Diferență statistică semnificativă la nivel de $p < 0,05$

În primul an de supraveghere clinică s-a constatat că pacienții au necesitat cel puțin o internare pentru tratamentul de substituție. În cadrul acestui interval de timp, 56,25% dintre cazuri (9 copii) tratați cu crioprecipitat și 31,25% dintre cazuri (5 copii) tratați cu factor VIII recombinant au necesitat internări. Internările repetate au fost, de asemenea, observate în ambele grupuri de tratament: două internări au fost necesare în 18,75% din cazuri (3 copii) pentru crioprecipitat și în 25,0% din cazuri (4 copii) pentru factorul VIII; trei internări au fost înregistrate în 18,75% din cazuri (3 copii) pentru crioprecipitat și în 12,5% din cazuri (2 copii) pentru factorul VIII; patru internări au fost necesare în 6,25% din cazuri (1 copil) pentru crioprecipitat și în 18,75% din cazuri (3 copii) pentru factorul VIII. De remarcat este faptul că doar în grupul tratat cu factorul VIII s-au înregistrat internări repetate de până la 7 ori într-un an, afectând 12,5% din cazuri (2 copii), ceea ce sugerează un grad sporit de complexitate în gestionarea și controlul acestei afecțiuni într-un context terapeutic specific [Tabelul 30].

Tabelul 30. Evaluarea numărului de spitalizări în primul an de la stabilirea diagnosticului de hemofilie

		Tratament de substituție					
		Crioprecipitat		Factorul VIII		Total	
		N	%	N	%	N	%
Nr. internări în primul an de supraveghere	1	9	56,25	5	31,25	14	43,75
	2	3	18,75	4	25,0	7	21,89
	3	3	18,75	2	12,5	5	15,6
	4	1	6,25	3	18,75	4	12,5
	7	0	0,0	2	12,5	2	6,25
	Total	16	100	16	100	32	100

În al doilea an de supraveghere clinică s-a observat că 6,25% din pacienți (1 copil) nu au necesitat internare pentru tratament. Cu toate acestea, cel puțin o internare pentru tratament de substituție a fost necesară în 25,0% din cazuri (4 copii), cu o frecvență egală pentru ambele tipuri de tratament. Internările repetate au fost, de asemenea, înregistrate în al doilea an, atât în cazul crioprecipitatului, cât și al factorului VIII: două internări au fost necesare în 6,25% din cazuri (1 copil) pentru crioprecipitat și în 12,5% din cazuri (2 copii) pentru factorul VIII; trei internări au fost necesare în 18,75% din cazuri (3 copii) pentru crioprecipitat și în 25,0% din cazuri (4 copii) pentru factorul VIII; patru internări au fost necesare în 25,0% din cazuri (4 copii) pentru crioprecipitat și în 18,75% din cazuri (3 copii) pentru factorul VIII; cinci internări au fost necesare în 6,25% din cazuri (1 copil) doar pentru factorul VIII; șapte internări au fost necesare în 6,25% din cazuri (1 copil) doar pentru crioprecipitat; nouă internări au fost necesare în 6,25% din cazuri (1 copil) doar pentru factorul VIII; zece internări au fost necesare în 6,25% din cazuri (1 copil), cu o frecvență egală pentru ambele loturi. De notat faptul că în lotul tratat cu crioprecipitat s-au înregistrat internări repetate de până la 11 ori într-un an, afectând 6,25% din cazuri (1 copil), ceea ce ilustrează complexitatea și diversitatea nevoilor de îngrijire și management al acestei afecțiuni în context clinic [Tabelul 31].

Tabelul 31. Evaluarea numărului de spitalizări în al II-lea an de la stabilirea diagnosticului de hemofilie

		Tratament de substituție					
		Crioprecipitat		Factorul VIII		Total	
		Nr	%	Nr	%	Nr	%
Nr. internări în al II-lea an de supraveghere	0	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	1	4	25,0	4	25,0	8	25,0
	2	1	6,25	2	12,5	3	9,4
	3	3	18,75	4	25,0	7	21,9
	4	4	25,0	3	18,75	7	21,9
	5	0	0,0	1	6,25	1	3,1
	7	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	9	0	0,0	1	6,25	1	3,1
	10	1	6,25	1	6,25	2	6,3
	11	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	Total	16	100	16	100	32	100

În al treilea an de supraveghere clinică s-a observat, la fel ca în cel de-al 2-lea an, că 6,25% din pacienți (1 copil) nu au necesitat internare pentru tratament. Cel puțin o internare pentru tratament de substituție a fost necesară în 21,9% din cazuri (7 copii), cu o frecvență de 25,0% (4

copii) pentru tratamentul de substituție cu FVIII și 18,75% (3 copii) pentru tratament cu crioprecipitat. Reinternările au fost, de asemenea, înregistrate în al treilea an, atât în cazul crioprecipitatului, cât și al factorului VIII: două internări au fost necesare în 12,5% din cazuri (2 copii) pentru crioprecipitat și în 25,0% din cazuri (4 copii) pentru factorul VIII; trei internări au fost necesare în 18,75% din cazuri (3 copii) pentru crioprecipitat și în 6,25% din cazuri (1 copil) pentru factorul VIII; patru internări au fost necesare în 12,25% din cazuri (2 copii) pentru crioprecipitat și în 18,75% din cazuri (3 copii) pentru factorul VIII; cinci internări au fost necesare doar pentru pacienții cu substituție crioprecipitat în 12,5% din cazuri (2 copii); câte șapte internări au fost necesare, de asemenea, doar pacienților cu tratament de substituție crioprecipitat în 6,25% din cazuri (1 copil); opt sau zece internări au fost necesare în 6,25% din cazuri (1 copil) doar pentru factorul VIII; zece internări au fost necesare în 6,25% din cazuri (1 copil), cu o frecvență egală pentru ambele loturi.

De menționat că în lotul tratat cu crioprecipitat s-au înregistrat internări repetate de până la 11 ori și în al treilea an, ceea ce a afectat 6,25% din cazuri (1 copil), ilustrând astfel complexitatea și diversitatea nevoilor de îngrijire și management al acestei afecțiuni în context clinic [Tabelul 32].

Tabelul 32. Evaluarea numărului de spitalizări în al III-lea an de la stabilirea diagnosticului de hemofilie

		Tratament de substituție					
		Crioprecipitat		F VIII		Total	
		N	%	N	%	N	%
Nr. internări în al III-lea an de supraveghere	0	1	6,25	2	12,5	3	9,4
	1	3	18,75	4	25,0	7	21,9
	2	2	12,5	4	25,0	6	18,75
	3	3	18,75	1	6,25	4	12,5
	4	2	12,5	3	18,75	5	15,6
	5	2	12,5	0	0,0	2	6,25
	6	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	7	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	8	0	0,0	1	6,25	1	3,1
	10	0	0,0	1	6,25	1	3,1
	11	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	Total	16	100	16	100	32	100

5.2. Rezultatele studiului comparativ dintre tratamentul cu crioprecipitat și factor recombinant privind controlul asupra recidivelor sindromului hemoragic

Analiza datelor din tabelul furnizat arată distribuția tratamentului de substituție cu crioprecipitat și factorul VIII (FVIII) pentru gestionarea hematoamelor, acesta fiind diagnosticul de internare. Datele sunt prezentate ca numărul de internări și procentajele corespunzătoare pentru diferite grade de severitate a hematoamelor pe parcursul tratamentului. Totodată, cifrele sugerează că, în ciuda preferințelor terapeutice echilibrate, există variații în eficacitatea tratamentelor în funcție de severitatea hematomului. Rezultatele arată că, pentru hematoamele de grad mai mare (2 și 3), tratamentul cu F VIII a fost predominant, reflectând posibil o eficacitate mai mare a acestui tratament în cazurile severe. Acest aspect este crucial, deoarece sugerează că F VIII ar putea fi mai eficient în managementul hematoamelor severe, în timp ce crioprecipitatul ar putea fi suficient pentru cazurile mai ușoare. Aceste informații sunt fundamentale pentru îmbunătățirea protocoalelor de tratament și pentru personalizarea terapiei în funcție de nevoile individuale ale pacienților, cu scopul final de a optimiza rezultatele clinice și de a reduce riscurile asociate tratamentelor [Tabelul 33].

Tabelul 33. Caracteristica comparativă a numărului de internări cu diagnosticul Hematom cu diferită localizare în dependență de tipul de tratament administrat (crioprecipitat sau factor recombinant)

		Tratament de substituție					
		Crioprecipitat		F VIII		Total	
		Nr	%	Nr.	%	Nr.	%
Hematom	0	3	18,75	0	0,00	3	9,4
	1	4	25,0	0	0,0	4	12,5
	2	1	6,25	5	31,25	6	18,75
	3	2	12,5	5	31,25	7	21,9
	4	1	6,25	1	6,25	2	6,25
	5	1	6,25	1	6,25	2	6,25
	6	1	6,25	1	6,25	2	6,25
	7	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	8	0	0,0	1	6,25	1	3,1
	10	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	12	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	15	0	0,0	1	6,25	1	3,1
	18	0	0,0	1	6,25	1	3,1
	Total	16	100	16	100	32	100

În tabelul de mai jos sunt furnizate datele comparative ale tratamentului de substituție cu crioprecipitat și tratamentul de substituție cu F VIII pentru gestionarea hemartrozelor. Conform datelor tabelului, 28,1% din cazuri (9 copii) s-au datorat hemartrozei la 3 articulații, cu o frecvență de 25% din cazuri (4 copii) gestionate cu F VIII, și 31,25% (5 cazuri) pentru tratament cu crioprecipitat. Hemartroza a 24 de articulații a fost înregistrată doar în lotul de pacienți pe bază de tratament de substituție cu crioprecipitat. Datele sugerează că atât crioprecipitatul, cât și F VIII sunt utilizate cu o distribuție uniformă în tratamentul hemartrozei, cu toate acestea F VIII a înregistrat o eficacitate mai bună, cu un număr relativ mic de articulații maxim afectate – 5, înregistrate cu o frecvență de 18,75% (3 cazuri) în cadrul tratamentului cu F VIII, comparativ cu tratamentul de substituție cu crioprecipitat, unde s-a înregistrat afectarea articulară de tip hemartroză în 24 de articulații, care au constituit 6,25% din cazuri (1 copil) [Tabelul 34].

Tabelul 34. Caracteristica comparativă a numărului de internări cu diagnosticul Hemartroză cu diferită localizare în dependență de tipul de tratament administrat (crioprecipitat sau factor recombinant)

		Tratament de substituție					
		Crioprecipitat		F VIII		Total	
		N	%	N	%	N	%
Hemartroza	0	3	18,75	1	6,25	4	12,5
	1	2	12,5	2	12,5	4	12,5
	2	1	6,25	6	37,5	7	21,9
	3	5	31,25	4	25,0	9	28,1
	4	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	5	0	0,0	3	18,75	3	9,4
	6	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	8	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	11	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	24	1	6,25	0	0,0	1	3,1
	Total	16	100	16	100	32	100

Au fost analizate datele referitoare la distribuția tratamentului de substituție cu crioprecipitat și factorul VIII (F VIII) pentru gestionarea hemoragiilor masive, au fost înregistrate 2 hemoragii masive la 1 pacient gestionat cu crioprecipitat. Această observație este importantă, sugerând că eficacitatea tratamentului cu crioprecipitat în prevenirea sau controlul hemoragiilor masive ar putea fi mai redusă decât cea a tratamentului cu factorul VIII. În ansamblu, datele sugerează că, în cazul hemoragiilor masive, tratamentul cu factorul VIII poate fi mai eficient decât crioprecipitatul.

Cu toate acestea, este important să se ia în considerare fiecare caz individual și să se evalueze beneficiile și riscurile în funcție de necesități și condiții [Tabelul 35].

Tabelul 35. Caracteristica comparativă a numărului de internări cu diagnosticul Hemoragii masive cu diferită localizare în dependență de tipul de tratament administrat (crioprecipitat sau factor recombinant)

		Tratament de substituție					
		Crioprecipitat		F VIII		Total	
		Nr	%	Nr	%	Nr	%
Hemoragii Masive	0	15	93,8	16	100	31	96,9
	2	1	6,2	0	0,0	1	3,1
	Total	16	100	16	100	32	100

Tabelul de mai jos furnizează date referitoare la hemoragiile minore în loturile de pacienți supuși tratamentului cu crioprecipitat și cu F VIII. Se observă că în lotul tratat cu F VIII, un număr mai mare de pacienți, respectiv 43,75% (7 copii), nu au avut nicio hemoragie minoră. Pentru comparație, în lotul tratat cu crioprecipitat, doar 12,5% (2 copii) nu au înregistrat hemoragii minore. Acest lucru sugerează o eficacitate mai mare în prevenirea hemoragiilor minore în rândul pacienților tratați cu F VIII. În cazul în care s-au înregistrat hemoragii minore, se observă că un procent mai mare de pacienți tratați cu crioprecipitat (25%, adică 4 copii) au avut mai mult de 3 hemoragii minore, comparativ cu cei tratați cu F VIII, unde doar 12,5% (2 copii) au avut mai mult de 3 hemoragii minore. Această observație sugerează o eficacitate relativ mai mică a crioprecipitatului în controlul hemoragiilor minore în comparație cu F VIII. Datele indică faptul că tratamentul cu F VIII oferă un control mai bun al hemoragiilor minore în comparație cu crioprecipitatul. Pacienții care au beneficiat de tratament cu factor VIII au prezentat o proporție mai mare de absență a hemoragiilor minore și o incidență mai redusă a cazurilor cu număr crescut de hemoragii minore, comparativ cu pacienții tratați cu crioprecipitat. Aceste constatări pot sugera o eficacitate superioară a tratamentului cu F VIII în prevenirea și controlul hemoragiilor minore în cadrul acestei populații de pacienți [Tabelul 36].

Tabelul 36. Caracteristica comparativă a numărului de internări cu diagnosticul Hemoragii minore cu diferită localizare în dependență de tipul de tratament administrat (crioprecipitat sau factor recombinant)

		Tratament de substituție					
		Crioprecipitat		F VIII		Total	
		Nr	%	Nr	%	Nr	%
Hemoragii minore (sângerări)	0	2	12,5	7	43,75	9	28,1
	1	3	18,75	2	12,5	5	15,6
	2	4	25,0	5	31,25	9	28,13
	3	3	18,75	0	0,0	3	9,4
	4	4	25,0	1	6,25	5	15,6
	6	0	0,0	1	6,25	1	3,1
	Total	16	100	16	100	32	100

Analiza comparativă a numărului de internări planificate în funcție de tipul tratamentului substitutiv (Tabelul 37) evidențiază o diferență semnificativă între utilizarea crioprecipitatului și a factorului VIII recombinant (F VIII) în ceea ce privește organizarea tratamentului în regim planificat.

Rezultatele arată că pacienții tratați cu crioprecipitat nu au beneficiat de internări planificate (100% dintre pacienți nu au avut internări). Această realitate reflectă o limitare majoră a tratamentului în cauză, care este utilizat exclusiv în regim episodic, adică doar în cazul apariției unui episod hemoragic, fără posibilitatea unei administrări profilactice regulate. Din acest motiv, pacienții care primesc crioprecipitat sunt expuși unui risc crescut de sângerări recurente și artropatie hemofilică, având o protecție limitată față de complicațiile bolii.

Spre deosebire de crioprecipitat, pacienții tratați cu factor VIII recombinant au avut internări planificate, ceea ce sugerează o organizare mai riguroasă a tratamentului, inclusiv administrarea profilactică: 31,25% dintre pacienți nu au necesitat internări, ceea ce indică faptul că unii dintre ei au beneficiat de tratament ambulatoriu, dar majoritatea (68,75%) au avut una sau mai multe internări planificate, ceea ce confirmă implementarea unui protocol de tratament preventiv și de monitorizare continuă.

Internările multiple (până la 8 episoade) la pacienții cu F VIII sugerează fie ajustarea profilaxiei, fie gestionarea eficientă a terapiei de substituție pentru prevenirea complicațiilor.

Diferența semnificativă sub aspect statistic ($p < 0,05$) indică faptul că tratamentul cu factor VIII recombinant este superior din perspectiva posibilității de organizare profilactică, spre

deosebire de crioprecipitat, care este utilizat doar în regim de urgență. Tratamentul profilactic cu F VIII reduce semnificativ frecvența episoadelor hemoragice și a artropatiei hemofilice, contribuind la o calitate îmbunătățită a vieții pacienților și la reducerea riscului de dizabilitate pe termen lung.

Datele din tabel subliniază superioritatea tratamentului cu factor VIII recombinant în ceea ce privește organizarea profilactică a terapiei, în contrast cu crioprecipitatul, care nu permite o administrare planificată. Aceasta confirmă că profilaxia este esențială pentru prevenirea complicațiilor hemofiliei și că utilizarea crioprecipitatului este limitată la intervenții de urgență, fără a oferi protecție pe termen lung împotriva sângerărilor și deteriorării articulare.

Tabelul 37. Caracteristica comparativă a numărului de internări planice în dependență de tipul de tratament administrat (Crioprecipitat sau Factor recombinant)

		Tratament de substituție					
		Crioprecipitat		F VIII*		Total	
		Nr	%	Nr	%	Nr	%
Planic	0	16	100*	5	31,25	21	65,6
	1	0	0,0	3	18,75*	3	9,4
	2	0	0,0	3	18,75*	3	9,4
	3	0	0,0	1	6,25*	1	3,1
	6	0	0,0	3	18,75*	3	9,4
	8	0	0,0	1	6,25*	1	3,1
	Total	16	100	16	100	32	100

*Diferență statistică semnificativă la nivel de $p < 0,05$

Concluzie la capitolul 5

Studiul comparativ realizat în cadrul acestui capitol a permis o analiză detaliată și relevantă asupra eficacității a două tipuri de tratament substitutiv utilizate în practica pediatrică pentru gestionarea hemofiliei – crioprecipitatul derivat din plasmă și factorul VIII recombinant (FVIIIr). Datele obținute în urma evaluării clinice, a numărului de internări și a manifestărilor hemoragice, pe parcursul a trei ani de supraveghere, oferă perspective semnificative pentru optimizarea protocoalelor terapeutice în Republica Moldova.

Rezultatele evidențiază o prevalență ridicată a hemofiliei A în ambele grupuri de tratament, iar stabilirea diagnosticului precoce – în majoritatea cazurilor în primul an de viață – reflectă o vigilență clinică crescută și o îmbunătățire a metodelor de diagnostic. Cu toate acestea, diferențele între grupuri în ceea ce privește numărul și frecvența internărilor, precum și severitatea episoadelor

hemoragice, subliniază limitele tratamentului cu crioprecipitat și avantajele evidente oferite de terapia cu FVIII recombinant.

Tratamentul cu FVIIIr a fost asociat cu o organizare mai eficientă a profilaxiei, un control superior al hemoragiilor minore, o incidență mai redusă a recidivelor și o posibilitate clară de planificare a internărilor. Dimpotrivă, crioprecipitatul a fost utilizat exclusiv în regim de urgență, fără posibilitatea unei administrări preventive, ceea ce a condus la o frecvență mai mare a hemoragiilor recurente și a spitalizărilor neplanificate, inclusiv cazuri izolate de hemoragii masive și hemartroze severe.

De remarcat că pacienții tratați cu FVIII recombinant au avut un număr semnificativ mai mic de episoade hemoragice severe și minore, iar unii dintre aceștia nu au necesitat deloc spitalizare într-un an, sugerând un control eficient al bolii în condițiile unui tratament profilactic corect administrat. De asemenea, s-a remarcat posibilitatea adaptării individuale a tratamentului, în funcție de severitatea manifestărilor, ceea ce reprezintă un pas important spre personalizarea terapiei.

Diferențele semnificative sub aspect statistic ($p < 0,05$) constatate în majoritatea analizelor confirmă superioritatea tratamentului cu FVIII recombinant în raport cu crioprecipitatul, atât din perspectiva controlului bolii, cât și din perspectiva calității vieții pacienților. Aceste rezultate susțin necesitatea orientării strategiei naționale de tratament hemofilic spre utilizarea preferențială a terapiilor moderne, sigure și eficiente, în conformitate cu standardele internaționale.

În concluzie, terapia cu FVIII recombinant demonstrează un profil de eficacitate superior, atât în prevenția episoadelor hemoragice, cât și în controlul recidivelor și în reducerea spitalizărilor. Crioprecipitatul, deși util în situații de urgență, nu asigură protecția necesară pe termen lung, iar utilizarea sa ar trebui limitată doar la contexte cu resurse limitate. Rezultatele acestui capitol oferă argumente solide pentru adaptarea politicilor de tratament în hemofilia pediatrică din Republica Moldova, orientându-se spre introducerea și consolidarea profilaxiei cu produse recombinante și non-factor, în vederea reducerii complicațiilor și îmbunătățirii prognosticului pe termen lung.

6. ELABORAREA ȘI IMPLEMENTAREA BAZEI-WEB PENTRU REGISTRUL ELECTRONIC AL PACIENȚILOR CU HEMOFILIE ÎN REPUBLICA MOLDOVA

Dupa obținerea tuturor rezultatelor din cadrul cercetării științifice a fost creat și implementat Baza Web pentru „Registrul electronic de evidență al pacienților cu hemofilie în Republica Moldova”, un sistem informatic dedicat monitorizării și gestionării datelor pacienților cu hemofilie la nivel național. Acest registru reprezintă o componentă esențială a infrastructurii de sănătate publică, cu impact direct asupra calității îngrijirii oferite pacienților cu hemofilie.

Scopul principal al registrului este consolidarea și centralizarea informațiilor despre pacienții cu hemofilie, incluzând tipul de hemofilie (A sau B), gradul de severitate, istoricul internărilor, precum și modelele de tratament recomandate. Acesta contribuie, astfel, la îmbunătățirea supravegherii continue a pacienților, prin asigurarea unui flux informațional coerent, care permite transferul datelor către secțiile specializate, cum ar fi Secția de Hematologie a IMSP Institutul Mamei și Copilului și, ulterior, către Institutul Oncologic pentru pacienții cu vârsta peste 18 ani.

Baza Web a fost dezvoltată pentru a respecta cerințele de confidențialitate și protecția datelor personale, aplicând legislația națională privind protecția datelor și confidențialitatea informațiilor medicale. Structura sa interactivă permite colectarea și stocarea datelor despre pacienți în mod continuu, asigurându-se că informațiile sunt accesibile doar personalului autorizat.

Sistemul informatic este dotat cu instrumente eficiente pentru colectarea și procesarea datelor din instituțiile spitalicești, având două componente principale: una pentru pacienții sub 18 ani, gestionată în cadrul IMSP IMC și una pentru pacienții adulți, gestionată în Institutul Oncologic. Aceste componente sunt interconectate și permit continuitatea în gestionarea informațiilor, de la diagnosticul primar până la tratamentele ulterioare.

Sistemul informatic le oferă medicilor posibilitatea de a lucra atât cu datele curente, cât și cu datele stocate ale pacienților externăți. Baza de date este dotată cu un instrumentariu de deservire și de întreținere care este ușor utilizat de un personal fără o pregătire specială în domeniu. Sistemul informațional este, de asemenea, dotat cu un spectru larg de formulare și rapoarte, care permite extragerea informației în diferite forme, atât în bază de formulare, cât și în forme libere. Dezvoltarea acestui registru a ținut cont de cerințele naționale privind protecția datelor cu caracter personal, conform legislației în vigoare. Interfața este intuitivă și adaptată pentru utilizarea de către cadrele medicale fără necesitatea unei instruirii tehnice avansate. Datele sunt disponibile exclusiv personalului autorizat, iar accesul este strict controlat prin protocoale de autentificare. Odată cu implementarea acestei platforme, medicii au posibilitatea de a accesa date istorice și actualizate despre fiecare pacient, fapt ce contribuie la standardizarea intervențiilor terapeutice și prevenirea complicațiilor. Totodată, pot fi generate automat formulare, rapoarte și statistici clinice, care ajută la evaluarea eficienței tratamentului sau la organizarea planificării resurselor terapeutice.

Baza de date pe platforma site-ului „Registrul electronic de evidență al pacienților cu hemofilie în Republica Moldova” dispune de posibilitatea de a grupa, ajusta și a prelucra informația după diferite criterii propuse. Sistemul informațional include posibilitatea de a prelucra datele din orice perioadă în cadrul datelor stocate. Pentru confidențialitatea datelor despre pacient și instituția medicală, în baza de date accesul persoanelor neautorizate este limitat. Disponibilitatea sistemului informațional pentru cadrele autorizate este nelimitată în cazurile când informația este absolut necesară. Astfel, sistemul oferă avantajele scontate. Registrul dispune de funcții avansate de filtrare, căutare și analiză a datelor, după multiple criterii: vârsta pacientului, tipul de hemofilie, scorul de severitate, istoricul internărilor, titrul de inhibitori, regimul de tratament etc. Este posibilă și analiza longitudinală a datelor, ceea ce aduce un plus de valoare în proiectarea strategiilor de sănătate publică și cercetare clinică.

Specificații necesare pentru instalarea Bazei de date pe platforma site-ului

Pentru implementarea componentei de încărcare a datelor în sistemul informațional „Registrul electronic de evidență al pacienților” în instituțiile spitalicești au fost necesare:

- un server pe care să fie instalat WINDOWS Server 2019, unde vor rula:
- Apache serviciul pentru rularea platformei Web
- My SQL serviciu pentru rularea bazei de date
- calculatoare cu acces la rețeaua internet cu dotare minimă. Tipul de calculatoare – PC, parametrii minimali CPU 1.2 Ghz, RAM 2 Gb, HDD 64Gb

Implementarea registrului a început în 2018, iar procesul de colectare a datelor se realizează conform unui formular specificat în cadrul cercetării. Acest registru este o resursă valoroasă pentru cercetările naționale privind hemofilia și un instrument eficient de evaluare și monitorizare a managementului pacienților. Registrul are un rol strategic nu doar la nivel național, ci și regional. Prin digitalizarea proceselor de colectare și urmărire a datelor, Republica Moldova se aliniază la modelele internaționale de management al bolilor rare. Platforma permite inclusiv comparația datelor naționale cu cele internaționale, facilitând participarea la studii multicentrice și creșterea vizibilității științifice a comunității medicale din țară.

Registrul reprezintă totodată un instrument esențial pentru susținerea politicilor de sănătate publică, facilitând dialogul între specialiști și autorități și fundamentând deciziile privind alocarea resurselor și accesul la terapii inovatoare și sprijin în relația cu autoritățile de sănătate publică, în vederea fundamentării politicilor de alocare a resurselor, autorizării tratamentelor inovatoare și extinderii accesului la terapii personalizate (inclusiv terapii non-factor sau genice). Astfel, fiecare caz de hemofilie este tratat nu doar individual, ci și sistemic, într-un cadru integrat de management medical și instituțional.

Prin continuarea și extinderea acestui registru, se vor îmbunătăți semnificativ oportunitățile de supraveghere și tratament al pacienților cu hemofilie, cu scopul de a implementa standarde mai înalte în îngrijirea acestora și de a asigura o continuare eficientă a procesului de tratament pe termen lung (Anexa 2).

Concluzii la capitolul 6

Prin dezvoltarea și implementarea Bazei web pentru Registrului electronic al pacienților cu hemofilie, Republica Moldova s-a făcut un pas esențial către digitalizarea medicinei personalizate și asigurarea unui management eficient al unei afecțiuni rare și complexe. Această inițiativă nu doar optimizează resursele existente, ci și creează un cadru solid pentru evaluarea calității actului medical și intervenția timpurie în cazurile critice.

Pe termen lung, extinderea funcționalităților registrului și actualizarea periodică a datelor vor contribui decisiv la îmbunătățirea prognosticului și calității vieții pacienților cu hemofilie, dar și la consolidarea unui model național de bune practici în gestionarea bolilor rare.

DISCUȚII

Această cercetare aduce o contribuție valoroasă prin evaluarea complexă a caracteristicilor clinico-paraclinice ale hemofiliei la copiii din Republica Moldova. Rezultatele obținute au implicații importante în argumentarea necesității identificării mutațiilor genetice și a titrului de inhibitori în evaluarea copiilor cu hemofilie. Acești parametri, împreună cu manifestările clinice și nivelul factorilor de coagulare, sunt esențiali pentru o evaluare precisă a severității bolii și pentru elaborarea unor strategii terapeutice personalizate. Astfel, prezenta cercetare consolidează baza teoretică și practică în managementul hemofiliei la copiii din Republica Moldova. Hemofilia este o boală monogenică ereditară, caracterizată printr-o tendință accentuată spre sângerări spontane sau post-traumatice, cauzată de deficitul sever al factorilor de coagulare VIII (în hemofilia A) sau IX (în hemofilia B) [136, 118]. Severitatea manifestărilor clinice variază în funcție de nivelul activității factorului de coagulare, iar hemartroza reprezintă una dintre cele mai frecvente și debilitante complicații ale bolii, având un impact semnificativ asupra calității vieții pacienților [19].

În cadrul studiului nostru s-a constatat că numărul articulațiilor afectate în hemofilie este influențat de mai mulți factori, inclusiv de severitatea bolii, tipul de hemofilie și istoricul terapeutic. Analiza statistică a arătat că, în cele mai frecvente cazuri, pacienții au prezentat afectarea a 2 până la 4 articulații. Spre exemplu, 24,4% (ÎÎ 95% [15,57 – 33,32]) dintre pacienți (22 de copii) aveau afectate 4 articulații, în timp ce 23,3% (ÎÎ 95% [14,60 – 32,07]) (21 de copii) aveau afectate 2 articulații, iar 19,8% (ÎÎ 95% [0 – 0,00]) (16 copii) – 3 articulații. Aceste rezultate sunt în concordanță cu datele din literatura de specialitate, care sugerează că severitatea hemofiliei și regimul de tratament influențează gradul afectării articulare. Studii anterioare au demonstrat că pacienții cu hemofilie severă netratată profilactic dezvoltă artropatie hemofilică progresivă, cu afectarea unui număr mai mare de articulații, în special a celor care suportă greutatea corporală (glezne, genunchi, șolduri) [9, 95].

O analiză comparativă între hemofilia A și B a evidențiat diferențe semnificative în ceea ce privește distribuția afectării articulare. Astfel, în hemofilia B, gleznele sunt mai rar afectate decât în hemofilia A. Analiza statistică a confirmat această diferență ($\chi^2 = 7.04$, $gl = 2$, $p = 0.032$), indicând o predispoziție mai redusă a pacienților cu hemofilie B de a dezvolta hemartroză la acest nivel. În plus, s-a observat că, în cazurile de afectare a gleznelor în hemofilia B, 77,8% dintre pacienți au prezentat afectare unilaterală, spre deosebire de hemofilia A, unde doar 34,6% dintre pacienți au avut afectare unilaterală. Acest aspect sugerează o particularitate patogenetică a hemofiliei B, care necesită investigații suplimentare pentru elucidarea mecanismelor implicate. Indiferent de tipul de hemofilie, articulațiile genunchiului au fost cel mai frecvent afectate, cu o prevalență de 71,6% în hemofilia A și 77,8% în hemofilia B. Aceste date sunt în concordanță cu

studiile anterioare, care indică genunchiul ca fiind cea mai frecvent afectată articulație la pacienții cu hemofilie severă, datorită vulnerabilității sale biomecanice și stresului mecanic la care este supusă articulația [56, 78, 135]. Aceste constatări pot avea implicații importante pentru managementul clinic al hemofiliei, în special în dezvoltarea strategiilor personalizate de tratament. Cunoașterea distribuției specifice a afectării articulare în funcție de tipul de hemofilie poate ghida medicii în monitorizarea precoce a hemartrozei, stabilirea strategiilor de profilaxie și ajustarea programelor de reabilitare. De asemenea, aceste rezultate subliniază necesitatea unui screening imagistic periodic, cum ar fi ecografia musculoscheletală sau rezonanța magnetică articulară, pentru identificarea precoce a modificărilor degenerative la nivelul articulațiilor cu risc crescut [8].

Aprecierea tipului de transmitere genetică în hemofilie este esențială pentru înțelegerea modului în care boala este moștenită, identificarea persoanelor cu risc crescut și aplicarea unor strategii eficiente de consiliere genetică. Hemofilia este o boală recesivă legată de cromozomul X, ceea ce determină o prevalență crescută în rândul bărbaților, în timp ce femeile sunt, în general, purtătoare ale mutației patogene [136, 3]. Se estimează că hemofilia afectează aproximativ 1 din 5.000 de nou-născuți de sex masculin pentru hemofilia A și 1 din 25.000 pentru hemofilia B, fiind una dintre cele mai frecvente tulburări monogenice de coagulare [118]. În studiul nostru, s-a constatat că 39% (ÎI 95% [28,82–48,96]) dintre pacienți (35 de copii) nu aveau o anamneză familială disponibilă sau cunoscută. Acest aspect poate fi explicat fie prin lipsa informațiilor privind antecedentele familiale, fie prin absența investigațiilor genetice sistematice. De asemenea, în 36,7% (ÎI 95% [26,71–46,62]) dintre cazuri (33 de copii), hemofilia a fost clasificată drept sporadică, ceea ce sugerează că mutația patogenă a apărut *de novo*, fără o istorie familială evidentă a bolii. Datele din literatura de specialitate confirmă că aproximativ 30–35% dintre cazurile de hemofilie apar ca mutații *de novo*, fără antecedente familiale [19]. Studii genetice extinse au demonstrat că mutațiile spontane sunt mai frecvente în hemofilia A comparativ cu hemofilia B, acest fenomen fiind explicat prin dimensiunea mai mare a genei F8 (asociată cu hemofilia A) în raport cu gena F9 (asociată cu hemofilia B), ceea ce o face mai susceptibilă la erori de replicare și recombinare [9]. În studiul nostru, 35,8% (29 de copii) dintre cazurile sporadice au fost diagnosticate cu hemofilie A, în timp ce 44,4% (4 copii) au fost diagnosticate cu hemofilie B, ceea ce corespunde tendințelor raportate în literatura internațională. Într-un procent mai mic de cazuri, 24,4% (ÎI 95% [15,57 – 33,32]) (22 de copii), s-a putut stabili un tip clar de transmitere familială. În această categorie, 24,9% (20 de copii) erau afectați de hemofilie A, iar 22,2% (2 copii) – de hemofilie B. Aceste rezultate sunt similare cu datele din literatura de specialitate, unde se estimează că în jur de 60–70% dintre pacienții cu hemofilie au antecedente familiale cunoscute, în timp ce restul prezintă mutații spontane [95]. Transmiterea genetică familială a hemofiliei este influențată de existența femeilor purtătoare asimptomatice. Studiile genetice arată că aproximativ

10–20% dintre femeile purtătoare pot prezenta niveluri scăzute de factor VIII sau IX, dezvoltând manifestări ușoare de sângerare [56]. În plus, identificarea purtătoarelor prin testare genetică este esențială pentru implementarea strategiilor de diagnostic prenatal și pentru prevenirea transmiterii bolii la generațiile viitoare [78].

Analiza statistică nu a evidențiat diferențe semnificative între hemofilia A și B în ceea ce privește tipul de transmitere genetică ($\chi^2 = 0.27$, $gl = 2$, $p = 0.911$). Această constatare sugerează că distribuția cazurilor sporadice și familiale este relativ similară între cele două tipuri de hemofilie. Deși există diferențe genetice și structurale între genele F8 și F9, acestea nu par să influențeze în mod semnificativ modul de transmitere ereditară [132]. Aceste rezultate subliniază importanța testării genetice și a consilierii familiale în gestionarea hemofiliei. Identificarea purtătoarelor și detectarea precoce a mutațiilor permit o planificare eficientă a sarcinilor și o monitorizare atentă a femeilor cu risc crescut de a avea copii afectați [33]. Rezultatele studiului nostru oferă o bază importantă pentru implementarea unor strategii personalizate de consiliere genetică și diagnostic precoce în hemofilie. Identificarea unui procent ridicat de cazuri sporadice sugerează necesitatea unor programe de screening genetic sistematic, mai ales în absența unui istoric familial cunoscut. În plus, recunoașterea femeilor purtătoare și evaluarea acestora prin teste genetice și măsurarea nivelurilor factorilor de coagulare sunt esențiale pentru prevenirea complicațiilor hemoragice și pentru îmbunătățirea calității vieții pacienților cu hemofilie [29].

Hemofilia este o afecțiune hematologică caracterizată printr-un deficit al factorilor de coagulare, ceea ce predispune pacienții la episoade hemoragice recurente. Aceste episoade pot duce la pierderi sangvine repetate, afectând astfel parametrii hematologici și biochimici ai pacienților. Sindromul anemic este frecvent raportat la pacienții cu hemofilie, fiind corelat cu severitatea bolii și cu frecvența hemoragiilor intraarticulare și intramusculare [109].

În cadrul studiului efectuat, analiza detaliată a parametrilor de laborator a arătat diferențe semnificative între formele ușoare, moderate și severe ale hemofiliei. Nivelul hemoglobinei (Hb) este un indicator esențial al statusului hematologic al pacienților cu hemofilie. În lotul studiat, s-a observat o diferență semnificativă între formele clinice ale bolii, cu valori mai mari ale Hb în formele ușoare (122,77 g/L, DS: 14,24) și mai scăzute în formele moderate (116,24 g/L, DS: 18,11) și severe (110,73 g/L, DS: 13,53) ($F=10,21$, $p<0.001$). Aceste rezultate sunt comparabile cu cele raportate în literatura de specialitate, unde anemia ușoară până la moderată este frecvent întâlnită la pacienții cu hemofilie severă, datorită episoadelor hemoragice repetate. Numărul de eritrocite a fost semnificativ mai scăzut în forma severă a bolii ($3,53 \times 10^6/L$, DS: 0,54) comparativ cu forma ușoară ($3,97 \times 10^6/L$, DS: 0,41) ($F=5,13$, $p=0.008$), ceea ce reflectă un status hematologic compromis, ca urmare a pierderilor sangvine cronice. Studii recente confirmă că pacienții cu hemofilie severă prezintă un risc crescut de anemie feriprivă, datorită necesității frecvente de

administrare de produse derivate din sânge [122].

Bilirubina este un marker biochimic important în evaluarea distrugerii eritrocitare și a funcției hepatice. În cadrul studiului nostru, nivelul bilirubinei totale a fost semnificativ mai ridicat în forma ușoară a bolii ($17,63 \mu\text{mol/L}$, DS: 5,56) comparativ cu forma moderată ($10,30 \mu\text{mol/L}$, DS: 2,59) și cea severă ($9,76 \mu\text{mol/L}$, DS: 2,98) ($F=29,44$, $p<0.001$). Această constatare poate fi explicată printr-un turn-over eritocitar crescut la pacienții cu hemofilie ușoară, care pot prezenta episoade hemoragice minore cu o frecvență mai scăzută, permițând astfel mecanismelor compensatorii ale organismului să funcționeze optim. În ceea ce privește bilirubina neconjugată, s-au observat diferențe semnificative între formele clinice ale bolii. Valoarea medie a acesteia a fost semnificativ mai mare în forma ușoară ($1,85 \mu\text{mol/L}$, DS: 4,51) comparativ cu forma moderată ($0,00 \mu\text{mol/L}$, DS: 0,0) și forma severă ($0,16 \mu\text{mol/L}$, DS: 1,04) ($F=5,21$, $p=0.007$). Diferențele între nivelurile bilirubinei conjugate au fost, de asemenea, semnificative, cu valori mai mari în forma ușoară ($11,22 \mu\text{mol/L}$, DS: 1,76) comparativ cu forma severă ($9,26 \mu\text{mol/L}$, DS: 2,22) ($F=4,31$, $p=0,016$). Aceste constatări sunt în concordanță cu datele din literatura de specialitate, care sugerează că pacienții cu hemofilie pot prezenta modificări ale profilului hepatic, fie ca urmare a multiplelor transfuzii de sânge și expunerii la agenți infecțioși, fie printr-un mecanism de distrugere eritocitară crescută.

Proba cu timol este un test utilizat pentru evaluarea funcției hepatice, reflectând capacitatea hepatică de sinteză a proteinelor serice. În limitele studiului nostru, s-au observat diferențe semnificative între formele clinice ale hemofiliei, cu valori mai ridicate ale probei cu timol în forma severă (2,70, DS:1,00) comparativ cu forma moderată (2,07, DS: 0,7) ($F=5,27$, $p=0.007$). Aceste rezultate sunt susținute de studii care sugerează că pacienții cu hemofilie severă pot prezenta alterări ale funcției hepatice, fie ca urmare a tratamentelor substitutive repetate, fie ca efect al episoadelor hemoragice extinse [7].

Rezultatele studiului nostru subliniază importanța monitorizării continue a parametrilor hematologici și biochimici la pacienții cu hemofilie, având în vedere impactul pe care episoadele hemoragice repetate îl pot avea asupra homeostaziei organismului. Identificarea timpurie a sindromului anemic și a potențialelor disfuncții hepatice poate contribui la optimizarea strategiilor de management al bolii, incluzând suplimentarea cu fier, terapia cu eritropoietină și ajustarea terapiei de substituție. În concordanță cu literatura de specialitate, pacienții cu hemofilie severă prezintă un risc crescut de anemie și afectare hepatică, necesitând evaluări regulate și abordări terapeutice personalizate pentru a preveni complicațiile pe termen lung [118, 9, 56].

Procesul de coagulare implică o serie de reacții în cascadă, esențiale pentru menținerea hemostazei normale. În hemofilie, deficitul de factor VIII sau factor IX afectează semnificativ calea intrinsecă a coagulării, ceea ce duce la prelungirea timpului de tromboplastină parțial activată

(TTPa), un parametru esențial în diagnostic și monitorizare [5].

Studiul de față a constatat că valoarea medie a TTPa a fost semnificativ prelungită la toți pacienții incluși în eșantion (92,40 secunde, DS: 28,52), confirmând disfuncția căii intrinseci a coagulării. Analiza statistică nu a evidențiat diferențe semnificative în funcție de severitatea bolii ($F=0,153$, $p=0,858$), ceea ce indică faptul că prelungirea acestui parametru este un fenomen constant în hemofilie, indiferent de forma clinică. Această constatare este în concordanță cu datele din literatura de specialitate, care arată că TTPa este semnificativ prelungit în hemofilie, dar nu prezintă o corelație strictă cu severitatea bolii, întrucât și pacienții cu forme ușoare pot avea valori ridicate [129].

De remarcat că, în toate cazurile analizate, timpul de protrombină (TP), timpul de trombină (TT) și timpul de sângerare s-au situat în limite normale, subliniind astfel faptul că doar calea intrinsecă a coagulării este afectată, în timp ce calea extrinsecă rămâne funcțională. Acest aspect este un marker diferențial important între hemofilie și alte coagulopatii, cum ar fi boala von Willebrand sau deficiențele factorilor căii extrinseci.

TTPa prelungit este considerat un parametru-cheie în diagnosticul hemofiliei, însă stabilirea exactă a tipului și severității bolii necesită determinarea activității factorilor de coagulare. Astfel, măsurarea nivelurilor factorilor VIII și IX este esențială pentru diferențierea între hemofilia A și B și pentru clasificarea în forme severe ($<1\%$ activitate), moderate ($1-5\%$ activitate) și ușoare ($5-40\%$ activitate) [95].

Importanța monitorizării TTPa în tratamentul hemofiliei

Pe lângă rolul său în diagnostic, TTPa reprezintă și un parametru fundamental în monitorizarea terapiei substitutive. Valorile acestuia pot fi utilizate pentru a evalua eficiența administrării de factor VIII sau IX și pentru ajustarea dozelor, astfel încât să se mențină un nivel optim al factorului de coagulare și să se prevină evenimentele hemoragice spontane. În plus, în cazul pacienților cu inhibitori ai factorului VIII, prelungirea extremă a TTPa poate sugera prezența unor titruri ridicate de anticorpi neutralizanți, ceea ce impune o modificare a strategiei terapeutice, cum ar fi administrarea de *bypassing agents* (factor VIIa recombinant sau complex protrombinic activat) sau emcizumab.

În ceea ce privește alți parametri ai coagulării, s-a constatat că nivelurile fibrinogenului au fost în limite normale la toți pacienții incluși în studiu (valoare medie: 2,84 g/L, DS: 0,27), fără diferențe semnificative în funcție de severitatea bolii ($F=0,904$, $p=0,409$). Acest rezultat confirmă faptul că fibrinogenul, un factor esențial pentru formarea cheagului de fibrină, nu este afectat în hemofilie, spre deosebire de alte tulburări de coagulare, cum ar fi coagulopatia de consum sau afecțiunile hepatice severe [132].

Indicele protrombinei (IP) a fost, de asemenea, în limite normale la toți pacienții studiați

(90,06%, DS: 4,43), fără diferențe semnificative între formele clinice ale bolii ($F=0,904$, $p=0,409$). Acest aspect subliniază încă o dată faptul că funcționalitatea căii extrinseci a coagulării rămâne intactă în hemofilie, diferențiind această afecțiune de alte patologii hematologice care implică deficit de protrombină sau disfuncții hepatice [33].

Rezultatele studiului confirmă importanța evaluării TTPa ca marker diagnostic și predictor al răspunsului la tratament în hemofilie. Printre altele, prelungirea acestui parametru a fost observată la toți pacienții, fără diferențe semnificative în funcție de severitatea bolii, ceea ce sugerează că afectarea căii intrinseci a coagulării este constantă, indiferent de nivelul rezidual al factorilor de coagulare. În plus, menținerea fibrinogenului și a indicelui protrombinei în limite normale indică faptul că mecanismele generale ale coagulării rămân funcționale, cu excepția deficitului de factor VIII sau IX. Aceste informații sunt esențiale pentru stabilirea strategiilor terapeutice și pentru monitorizarea eficienței tratamentului substitutiv, contribuind la optimizarea managementului hemofiliei în practica clinică.

Analiza distribuției pacienților cu hemofilie în funcție de severitate și timpul de coagulare după Lee-White

Timpul de coagulare după metoda Lee-White este un test global utilizat pentru evaluarea funcției coagulării și poate oferi informații despre capacitatea hemostatică a pacienților cu hemofilie. În analiza distribuției pacienților în funcție de severitate (Tabelul 3.7), s-a observat o prelungire semnificativă a acestui timp (>1 oră) la 50% dintre pacienții cu hemofilie severă (22 din 44) și la 24,2% dintre cei cu hemofilie moderată (8 din 33). Niciun pacient cu hemofilie ușoară nu a prezentat un timp de coagulare prelungit peste o oră. Pe de altă parte, un timp de coagulare ≤ 1 oră a fost înregistrat la toți pacienții cu hemofilie ușoară (100%), precum și la majoritatea celor cu forme moderate (75,8%) și severe (50%). Analiza statistică a evidențiat o diferență semnificativă între grupurile de severitate în ceea ce privește timpul de coagulare ($p<0,05$), ceea ce sugerează o corelație directă între severitatea hemofiliei și gradul de prelungire a acestui parametru. Această corelație este în concordanță cu literatura de specialitate, care arată că pacienții cu hemofilie severă prezintă un timp de coagulare semnificativ prelungit din cauza nivelurilor extrem de scăzute ale factorilor VIII sau IX ($<1\%$). Spre deosebire de pacienții cu hemofilie ușoară, la care nivelurile reziduale ale factorilor de coagulare (5-40%) permit o coagulare relativ eficientă, pacienții cu forme moderate și severe au un răspuns hemostatic mult mai întârziat, ceea ce se reflectă într-o prelungire a timpului de coagulare Lee-White.

Deși testul Lee-White poate oferi un indicator global al coagulării, literatura actuală subliniază limitările sale, menționând că acesta este mai puțin sensibil și reproductibil comparativ cu alte teste standardizate, cum ar fi timpul de tromboplastină parțial activată (TTPa) și timpul de protrombină (PT). Astfel, în managementul modern al hemofiliei, acest test este utilizat mai

degrabă ca o evaluare preliminară și necesită corelare cu investigații mai specifice.

Analiza relației dintre timpul de coagulare Lee-White și trei parametri esențiali ai coagulogramei: timpul protrombinic (TP), timpul de tromboplastină parțial activată (TTPa) și nivelul de fibrinogen: lotul analizat a inclus 90 de pacienți, dintre care 30 (33,3%) au prezentat un timp de coagulare prelungit (>1 oră), iar 60 (66,7%) au avut un timp de coagulare în limite normale (≤ 1 oră).

Analiza timpului protrombinic între cele două grupuri nu a evidențiat diferențe semnificative sub aspect statistic ($F=0,86$, $p=0,358$; Kruskal-Wallis = $0,95$, $p=0,330$). Media TP a fost de 90,67 secunde la pacienții cu timp de coagulare prelungit și de 89,75 secunde la cei cu timp normal, fără variații semnificative. Aceste rezultate confirmă faptul că TP, care reflectă în principal funcția căii extrinseci a coagulării (dependentă de factorul VII și fibrinogen), nu este influențat substanțial în hemofilie, o boală caracterizată printr-o afectare predominantă a căii intrinseci.

În literatura de specialitate se subliniază faptul că, spre deosebire de alte coagulopatii (ex., deficit de factor VII sau coagulopatii hepatice), hemofilia nu determină modificări ale TP, ceea ce face ca acest test să fie mai puțin relevant în diagnosticul bolii. Acest aspect evidențiază necesitatea utilizării altor parametri mai sensibili, precum TTPa, pentru evaluarea deficitelor coagulării specifice hemofiliei.

TTPa a prezentat o diferență statistică semnificativă între pacienții cu timp de coagulare > 1 oră și cei cu timp de coagulare < 1 oră ($F=7,21$, $p=0,009$; Kruskal-Wallis = $4,15$, $p=0,042$). Pacienții cu timp de coagulare >1 oră au avut o medie a TTPa de 103,43 secunde, semnificativ mai mare comparativ cu cei cu timp de coagulare < 1 oră (86,88 secunde). Aceste rezultate confirmă că pacienții cu un timp de coagulare Lee-White prelungit au tendința de a prezenta și un TTPa semnificativ mai mare, ceea ce reflectă un deficit al factorilor VIII sau IX. Aceste constatări sunt în concordanță cu datele din literatura internațională, care a demonstrat că TTPa este testul de referință în hemofilie, fiind semnificativ prelungit în toate formele bolii și prezentând o bună corelație cu severitatea acesteia.

Nivelul de fibrinogen a fost ușor mai scăzut la pacienții cu timp de coagulare prelungit (2,74 g/L) comparativ cu cei cu timp normal (2,89 g/L), cu o diferență statistică semnificativă ($F=6,54$, $p=0,012$; Kruskal-Wallis = $4,46$, $p=0,035$). Deși această diferență este mai puțin pronunțată decât cea observată în cazul TTPa, scăderea fibrinogenului la pacienții cu timp de coagulare prelungit ar putea reflecta fie o variabilitate individuală, fie o tendință compensatorie a organismului în contextul unui status hemostatic alterat.

În literatura de specialitate se menționează că nivelul de fibrinogen este în general menținut în limite normale în hemofilie, spre deosebire de alte tulburări de coagulare, cum ar fi coagulopatia de consum (CID) sau disfuncțiile hepatice, unde fibrinogenul este redus semnificativ [6]. Acest

lucru sugerează că prelungirea timpului Lee-White la pacienții cu hemofilie este determinată în principal de deficitul factorilor VIII/IX, iar nivelul de fibrinogen oferă informații mai degrabă complementare decât predictive.

Implicații clinice

Timpul de coagulare Lee-White reflectă severitatea hemofiliei, fiind semnificativ prelungit la pacienții cu forme severe și moderate, dar nu este suficient de sensibil pentru a fi utilizat ca marker unic de diagnostic. Timpul protrombinic (TP) nu este influențat de hemofilie, confirmând faptul că doar calea intrinsecă este afectată. Acest parametru este mai relevant pentru alte coagulopatii. TTPa este cel mai sensibil marker al deficitului de factor VIII sau IX, prezentând o corelație clară cu severitatea bolii și cu timpul de coagulare Lee-White. Nivelul de fibrinogen, deși mai scăzut la pacienții cu timp de coagulare prelungit, rămâne în limite normale, indicând că nu este un factor determinant în alterarea coagulării din hemofilie. Aceste date subliniază necesitatea utilizării testelor standardizate precum TTPa pentru diagnostic și monitorizare, în timp ce timpul Lee-White poate avea o valoare auxiliară în evaluarea globală a coagulării.

În cadrul studiului nostru, am analizat un eșantion de 90 de copii diagnosticați cu hemofilie, dintre care 81 (90%) au prezentat hemofilie de tip A, iar 9 (10%) hemofilie de tip B. Această distribuție este în concordanță cu datele din literatura de specialitate, care indică o prevalență net superioară a hemofiliei A față de hemofilia B, datorită mutațiilor mai frecvente la nivelul genei F8, responsabilă de sinteza factorului VIII. În analiza subgrupului de pacienți cu hemofilie A, am constatat o distribuție specifică a severității bolii: forma severă a fost cea mai frecventă, afectând 51,9% dintre pacienți (42 din 81 de cazuri); forma moderată a fost prezentă în 35,8% din cazuri (29 de pacienți); forma ușoară a fost cea mai rară, fiind identificată la doar 12,4% dintre pacienți (10 cazuri). Aceste date sunt similare cu studiile internaționale, care raportează că aproximativ 50–60% dintre pacienții cu hemofilie A prezintă forma severă, reflectând impactul mutațiilor severe asupra sintezei factorului VIII. Spre deosebire de hemofilia A, distribuția formelor de severitate în hemofilia B a prezentat o tendință diferită: forma moderată a fost cea mai frecventă, fiind întâlnită la 44,4% dintre pacienți (4 din 9 cazuri); forma ușoară a fost observată la 33,3% dintre pacienți (3 cazuri); forma severă a fost cea mai rară, identificată la 22,2% dintre pacienți (2 cazuri).

Această diferență între cele două tipuri de hemofilie este susținută de literatura de specialitate, care arată că pacienții cu hemofilie B au o distribuție mai echilibrată a severității, cu o incidență relativ mai scăzută a formelor severe comparativ cu hemofilia A [19]. Acest fenomen poate fi explicat prin variațiile funcționale ale factorului IX, care prezintă o corelare mai puțin predictibilă între nivelurile plasmatice și severitatea manifestărilor clinice.

La analiza globală a distribuției severității bolii în întregul eșantion (n=90) am constatat că: forma severă a fost cea mai frecventă, reprezentând 48,9% dintre cazuri (44 de pacienți, Î 95%

[38,56 – 59,22]); forma moderată a fost identificată în 36,7% dintre cazuri (33 de pacienți); forma ușoară a fost prezentă în 14,4% dintre cazuri (13 pacienți, ÎI 95% [7,18 – 27,71]). Analiza statistică nu a relevat diferențe semnificative între hemofilia A și B în ceea ce privește distribuția severității bolii ($X^2=4,09$, $gl=2$, $p=0,129$), sugerând că, deși tendințele de severitate pot varia între cele două tipuri de hemofilie, diferențele observate în eșantionul nostru nu sunt semnificative din punct de vedere statistic.

Distribuția severității hemofiliei în eșantionul studiat evidențiază câteva aspecte importante din punct de vedere clinic:

Predominanța formelor severe și moderate sugerează că majoritatea pacienților necesită tratament profilactic și monitorizare intensivă pentru prevenirea episoadelor hemoragice severe. Acest aspect este confirmat și de ghidurile internaționale, care recomandă administrarea profilactică a factorului VIII/IX pentru pacienții cu forme severe și moderate, pentru a reduce riscul hemoragic și a preveni complicațiile musculo-articulare [9].

Distribuția diferită a severității în hemofilia A și B sugerează că hemofilia B ar putea avea un profil clinic mai variabil, necesitând o abordare individualizată în managementul terapeutic. Studiile recente indică faptul că pacienții cu hemofilie B pot avea un răspuns mai bun la terapia de substituție, datorită timpului de înjumătățire mai lung al factorului IX, ceea ce permite administrarea mai rară a tratamentului profilactic [95].

Absența unei diferențe semnificative între hemofilia A și B în ceea ce privește severitatea sugerează că mecanismele fiziopatologice sunt similare în ambele forme ale bolii, chiar dacă manifestările clinice pot varia ușor în funcție de tipul deficitului de coagulare. Acest aspect subliniază importanța diagnosticului genetic și a evaluării funcționale detaliate pentru optimizarea strategiilor terapeutice.

Hemofilia A este de 9 ori mai frecventă decât hemofilia B, confirmând tendințele epidemiologice raportate în literatura de specialitate. Forma severă este cea mai întâlnită, fiind predominantă în hemofilia A, în timp ce hemofilia B prezintă o distribuție mai echilibrată a severității. Diferențele de severitate între hemofilia A și B nu sunt semnificative sub aspect statistic, sugerând mecanisme fiziopatologice similare între cele două tipuri de boală. Implicarea clinică a acestor constatări subliniază necesitatea unui management personalizat, cu accent pe terapia profilactică la pacienții cu forme severe și moderate, precum și pe optimizarea strategiilor de substituție a factorilor de coagulare în funcție de tipul hemofiliei.

În cadrul studiului nostru, am investigat modificările molecular-genetice asociate hemofiliei la un subgrup de pacienți. Dintre cei 90 de copii incluși în cercetare, doar în 43,3% dintre cazuri (39 de copii) s-a efectuat analiza genetică pentru identificarea tipului de mutație asociată cu boala. Acest procent relativ scăzut subliniază necesitatea creșterii accesibilității testării genetice în

practica clinică, având în vedere impactul său major asupra diagnosticului, consilierii genetice și prognosticului pacienților.

Dintre pacienții investigați genetic, cele mai frecvente mutații identificate au fost:

Mutația missens – detectată în 17,8% (ÎÎ 95% [9,88 – 25,68]) dintre cazuri (16 copii), fiind mai frecventă în hemofilia A (18,5%-15 copii) decât în hemofilia B (11,1%, 1 copil).

Mutația Inv Intr 22 – identificată la 14,8% (ÎÎ 95% [6,31 – 20,36]) dintre pacienți (12 copii), exclusiv în cazurile de hemofilie A. Aceasta este o mutație specifică genei *F8*, confirmând datele din literatura de specialitate care arată că inversiunea intronului 22 reprezintă principala cauză genetică a hemofiliei A severe [136].

Mutația frameshift – detectată la 7,8% (ÎÎ 95% [2,24 – 13,31]) dintre pacienți (7 copii), distribuită atât în hemofilia A (7,4%, 6 copii), cât și în hemofilia B (11,1%, 1 copil).

Mutația nonsense – cea mai rar întâlnită, observată la 3,7% (ÎÎ 95% [0 – 7,04]) dintre pacienți (3 copii), toate cazurile fiind asociate cu hemofilia A.

Analiza statistică nu a evidențiat diferențe semnificative între hemofilia A și B în ceea ce privește distribuția tipurilor de mutații ($X^2=2,957$, $gl=3$, $p=0,707$), sugerând că, deși anumite mutații sunt mai frecvente într-un tip de hemofilie, în ansamblu, distribuția lor nu este semnificativ diferită.

Identificarea mutației Inv Intr 22 exclusiv în cazurile de hemofilie A este în concordanță cu datele internaționale, care arată că această mutație este responsabilă de aproximativ 40-50% dintre cazurile de hemofilie A severă [117]. Prezența sa are implicații clinice importante, deoarece pacienții cu această mutație prezintă un risc mai mare de dezvoltare a inhibitorilor anti-FVIII, ceea ce complică managementul terapeutic și necesită strategii individualizate, precum terapia cu agenți de bypass sau terapia genică [129].

Mutațiile missens și frameshift au fost identificate în ambele tipuri de hemofilie, dar cu frecvențe diferite. Studiile genetice anterioare sugerează că mutațiile missens pot fi corelate cu forme mai ușoare ale bolii, în timp ce mutațiile frameshift sunt asociate cu forme mai severe, în special în hemofilia A [129]. De asemenea, literatura indică faptul că mutațiile frameshift în gena *F9* (hemofilia B) pot avea un impact variabil asupra activității factorului IX, explicând diferențele fenotipice dintre pacienți.

Mutațiile nonsense, care determină stop prematur în sinteza proteică, sunt mai rar întâlnite și sunt asociate cu forme severe de hemofilie. Studiile genetice au arătat că pacienții cu mutații nonsense în *F8* sau *F9* au un risc ridicat de a dezvolta inhibitori, ceea ce face ca identificarea acestor mutații să fie crucială pentru optimizarea tratamentului [129].

Rezultatele studiului nostru evidențiază faptul că doar 43,3% dintre pacienți au beneficiat de testare genetică, ceea ce subliniază importanța extinderii acestor investigații pentru o mai bună

înțelegere a corelației genotip-fenotip și pentru optimizarea strategiilor terapeutice. Recomandările internaționale sugerează testarea genetică standardizată pentru toți pacienții cu hemofilie severă și pentru cei cu istoric familial, astfel încât să se poată oferi consiliere genetică adecvată și să se anticipeze riscurile terapeutice, inclusiv dezvoltarea inhibitorilor [129].

Cea mai frecventă mutație identificată a fost cea de tip missens, urmată de inversiunea intronului 22, frameshift și nonsens. Inversiunea intronului 22 a fost identificată exclusiv în hemofilia A, confirmând rolul său ca principală cauză genetică a formelor severe. Distribuția tipurilor de mutații nu a fost semnificativ diferită între hemofilia A și B, ceea ce sugerează o variabilitate genetică comună ambelor forme. Testarea genetică a fost realizată la mai puțin de jumătate dintre pacienți, evidențiind necesitatea creșterii accesibilității acestor investigații pentru un diagnostic mai precis și o gestionare optimizată a bolii. Identificarea mutațiilor cu risc crescut de dezvoltare a inhibitorilor (ex. Inv Intr 22, nonsens) este esențială pentru ajustarea tratamentului și prevenirea complicațiilor.

Distribuția mutațiilor genetice identificate la pacienții cu hemofilie, corelată cu valorile timpului de coagulare Lee-White, oferă o perspectivă asupra relației dintre tipul de mutație genetică și severitatea deficitului de coagulare, evidențiind modul în care alterările genetice influențează mecanismele hemostatice.

Pacienții cu mutații severe, cum ar fi delețiile mari și inversiunile intronului 22 (specifice hemofiliei A severe), au prezentat predominant timp de coagulare după metoda Lee-White >1 oră, indicând o afectare profundă a hemostazei. Aceasta este în concordanță cu datele din literatura de specialitate, care asociază aceste mutații cu absența completă a sintezei factorului VIII, determinând forme severe de hemofilie.

Mutațiile punctiforme și delețiile mici, asociate mai frecvent cu forme moderate sau ușoare ale bolii, au fost distribuite mai uniform între cele două categorii ale timpului Lee-White, unele cazuri încadrându-se în intervalul ≤ 1 oră. Acest aspect sugerează că severitatea clinică a hemofiliei poate varia chiar și în cadrul acelorași tipuri de mutații, în funcție de poziția exactă și impactul asupra structurii proteinei funcționale.

Pacienții cu mutații nonsens și mutații de splicing au fost observați în proporție semnificativ mai mare în grupul cu timp de coagulare prelungit (>1 oră), ceea ce sugerează un impact sever asupra sintezei factorului deficitar. Aceste mutații determină stop prematur în sinteza proteinei, rezultând într-un factor VIII sau IX trunchiat și nefuncțional [118].

Mutațiile frameshift, care duc la alterarea severă a codificării proteinei, s-au regăsit, de asemenea, în grupul pacienților cu timp de coagulare >1 oră, confirmând efectul distructiv al acestor mutații asupra sintezei factorilor de coagulare.

Această distribuție evidențiază faptul că tipul de mutație genetică influențează direct gradul

de prelungire a timpului Lee-White, ceea ce poate avea implicații semnificative în stabilirea unui prognostic și în alegerea strategiei terapeutice:

Pacienții cu mutații severe (inversiunea intronului 22, frameshift, nonsense, deleții mari) necesită adesea tratament profilactic intensiv, datorită riscului crescut de hemoragii spontane severe. Aceștia beneficiază cel mai mult de terapia de substituție continuă sau de agenți biologici precum Emicizumab [19].

Pacienții cu mutații missense și mutații de reglare a expresiei genice, care prezintă timp de coagulare ≤ 1 oră, pot necesita tratament la cerere sau profilaxie intermitentă, în funcție de manifestările clinice.

Prezența unor mutații cu risc crescut de dezvoltare a inhibitorilor, cum este inversiunea intronului 22, sugerează necesitatea unei monitorizări riguroase a titrului de anticorpi anti-FVIII și adoptarea unor strategii alternative, cum ar fi terapia cu agenți de bypass [9].

Astfel, analiza confirmă corelația dintre severitatea hemofiliei determinată genetic și impactul asupra timpului de coagulare, subliniind importanța diagnosticului molecular în stratificarea pacienților și optimizarea managementului clinic. Aceste date susțin integrarea testării genetice în ghidurile de tratament pentru hemofilie, permițând o abordare personalizată a terapiei și o reducere a complicațiilor asociate bolii.

În cazul hemofiliei A, un procent semnificativ (60,5%) (ÎI 95% [44,16 – 64,73]) dintre pacienți nu au efectuat testarea inhibitorilor (49 de pacienți), indicând o posibilă lipsă de acces la această analiză sau o abordare selectivă în testare. În schimb, pentru hemofilia B, toți pacienții incluși în studiu au efectuat testarea inhibitorilor, ceea ce subliniază o disponibilitate mai mare a acestui test pentru această categorie. *Hemofilia A*: 4 pacienți (4,9%) au avut inhibitori prezenți (ÎI 95%: 0,19% – 8,70%), indicând o incidență relativ scăzută comparativ cu datele internaționale, unde prevalența raportată este de 20–30% la pacienții tratați cu FVIII exogen [132]. *Hemofilia B*: Nu s-au înregistrat cazuri de inhibitori (0%), ceea ce corespunde cu datele din literatura internațională, unde dezvoltarea inhibitorilor în hemofilia B este mai rară (1-5%), dar când apare, este adesea asociată cu forme severe și reacții anafilactice la substituția cu FIX [133]. Per total, 4 pacienți (4,9%) din cei 90 incluși în studiu au avut inhibitori detectați, ceea ce reflectă o prevalență mai mică decât media raportată la nivel global, posibil din cauza eșantionului relativ mic și a numărului mare de pacienți la care testarea nu a fost efectuată.

Hemofilia inhibitorie reprezintă una dintre cele mai mari provocări în managementul bolii, deoarece pacienții care dezvoltă inhibitori au un risc crescut de sângerări severe și sunt mai dificil de tratat. În literatura internațională, există puține studii dedicate hemofiliei inhibitorii, iar în Republica Moldova astfel de date lipsesc aproape complet. Rezultatele prezentului studiu subliniază necesitatea unui algoritm de investigare și monitorizare a pacienților cu hemofilie, care

să includă:

- ❖ Determinarea sistematică a inhibitorilor la toți pacienții cu hemofilie severă și la cei cu istoric de expunere la FVIII/FIX exogen.
- ❖ Stratificarea pacienților în funcție de riscul de dezvoltare a inhibitorilor, bazată pe tipul de mutație genetică, numărul de expuneri la tratament și alți factori de predispoziție.
- ❖ Optimizarea conduitei terapeutice prin selecția terapiilor de bypass (rFVIIa, complex protrombinic activat) sau utilizarea Emicizumab la pacienții cu hemofilie A inhibitorie.
- ❖ Monitorizarea titrului de inhibitori prin teste seriate (Bethesda assay) pentru a identifica precoce apariția anticorpilor și a ajusta tratamentul în mod corespunzător.

Având în vedere că prognosticul pacienților cu hemofilie inhibitorie este deseori nefavorabil, cu episoade hemoragice severe și reducerea eficacității terapiei standard, elaborarea și implementarea unui algoritm național de investigare și tratament ar putea îmbunătăți semnificativ controlul bolii și ar contribui la reducerea complicațiilor.

Analiza relației dintre tipul de transmitere familială și severitatea hemofiliei a evidențiat o serie de aspecte relevante, subliniind variabilitatea mecanismelor genetice care contribuie la manifestarea bolii. Transmiterea familială a fost cel mai frecvent asociată cu forme moderate ale hemofiliei, fiind identificată în 45,5% din cazuri (15 copii). Această proporție este semnificativ mai mare decât în formele severe (15,9% din cazuri, 7 copii) și absentă în formele ușoare. Cazurile severe au prezentat cea mai mare proporție de pacienți fără un tip de transmitere cunoscut (54,5% din cazuri, 24 de copii), sugerând fie mutații *de novo*, fie lipsa investigațiilor genetice în istoricul familial. În formele ușoare, acest procent a fost și mai ridicat (76,9%, 10 copii), ceea ce poate reflecta o subdiagnosticare a hemofiliei ușoare în istoricul familial. În schimb, în forme moderate, frecvența cazurilor cu transmitere necunoscută a fost semnificativ mai mică (3,0%), sugerând o mai bună identificare a istoricului familial la acești pacienți ($X^2=32,216$, $gl=4$, $p<0,001$). Transmiterea sporadică a fost cel mai frecvent întâlnită în forme moderate (51,5%, 17 copii), ceea ce indică faptul că o mare parte dintre pacienții cu hemofilie moderată provin din familii fără antecedente cunoscute. În formele severe și ușoare, acest tip de transmitere a fost mai puțin frecvent (29,5%, 13 copii și 23,0%, 3 copii), ceea ce sugerează fie o predispoziție genetică mai accentuată în formele severe, fie o mai bună recunoaștere a antecedentelor familiale în aceste cazuri. Hemofilia cu severitate moderată este cel mai frecvent asociată cu transmiterea familială cunoscută, în timp ce formele severe și ușoare sunt mai des întâlnite în cazuri cu istoric necunoscut sau mutații *de novo*. Mutațiile *de novo* par să fie mai frecvente în forme severe, explicând proporția ridicată de pacienți fără un tip de transmitere familial cunoscut. Forma ușoară este adesea subdiagnosticată în istoricul familial, ceea ce poate explica procentul ridicat al cazurilor fără tip de transmitere cunoscut. Aceste constatări subliniază importanța screeningului familial și a testării

genetice în evaluarea riscului de hemofilie, mai ales în cazurile cu forme severe, unde mutațiile *de novo* par să joace un rol major. De asemenea, recunoașterea mai frecventă a hemofiliei moderate în context familial poate reflecta fie o mai bună conștientizare a bolii, fie o expresie clinică care facilitează diagnosticul în generațiile anterioare.

Hemartroza reprezintă cea mai frecventă manifestare clinică a hemofiliei, cu un impact semnificativ asupra calității vieții pacienților. Analiza distribuției hemartrozelor în funcție de severitatea bolii a evidențiat corelații importante între numărul și tipul articulațiilor afectate și gradul de severitate al hemofiliei. În formele severe, pacienții au prezentat un număr crescut de articulații afectate: 4 articulații au fost implicate în 27,3% (12 copii), 5 articulații au fost afectate în 18,2% (8 copii), similar cu pacienții cu 2 și 3 articulații afectate, 6 articulații au fost implicate în 13,6% (6 copii), doar 4,5% (2 copii) au avut afectată o singură articulație. Articulația cotului: în formele severe, cotul a fost afectat în 54,5% (24 copii), 31,8% (14 copii) având afectare bilaterală, 22,7% (10 copii) având afectată o singură articulație. În formele moderate, cotul a fost afectat în 39,4% (13 copii), dintre care: 36,4% (12 copii) au avut afectare bilaterală, 3,0% (1 copil) au avut afectată o singură articulație. În formele ușoare, cotul a fost afectat în doar 23,0% (3 copii), fiind întotdeauna unilateral. Afectarea unui singur cot a fost semnificativ mai frecventă în forma severă (22,7% vs. 3,0% în forma moderată, $X^2=11,81$, $gl=4$, $p=0,019$).

Articulația genunchiului: În formele severe, genunchiul a fost afectat în 88,6% (39 copii), dintre care: 72,7% (32 copii) cu afectare bilaterală, 15,9% (7 copii) cu afectare unilaterală. În formele moderate, afectarea genunchiului a fost chiar mai frecventă (93,9% (31 copii)), cu: 84,9% (28 copii) afectare bilaterală, 9,0% (3 copii) afectare unilaterală. În formele ușoare, afectarea genunchiului a fost observată în 38,5% (5 copii), în egală măsură bilaterală și unilaterală. Afectarea bilaterală a genunchilor a fost semnificativ mai frecventă în formele moderate (84,9%) comparativ cu formele ușoare (38,5%) ($X^2=10,07$, $gl=4$, $p=0,039$).

Articulația gleznei: În formele severe, glezna a fost afectată în 72,7% (32 copii), 43,2% (19 copii) având afectare bilaterală, 29,6% (13 copii) având afectare unilaterală. În formele moderate, afectarea gleznei a fost înregistrată în 66,7% (22 copii), 33,3% (11 copii) având afectare bilaterală, 33,3% (11 copii) având afectare unilaterală. În formele ușoare, afectarea gleznei a fost rară (7,7%), ceea ce diferă semnificativ de formele moderate (33,3%) și severe (27,3%) ($X^2=7$, $gl=2$, $p=0,030$).

Severitatea hemofiliei este direct corelată cu numărul și distribuția articulațiilor afectate. Cotul, genunchiul și glezna sunt cele mai frecvent implicate articulații, cu o tendință de afectare bilaterală în formele severe și moderate. Hemofilia severă și moderată determină o afectare poliarticulară, în timp ce în formele ușoare afectarea este limitată și apare mai rar.

Implicațiile clinice includ necesitatea unei strategii terapeutice diferențiate:

- Profilaxia primară este esențială în formele severe pentru prevenirea leziunilor articulare ireversibile.
- Fizioterapia și tratamentele de protecție articulară sunt necesare pentru a preveni deteriorarea progresivă a articulațiilor afectate.
- Aceste constatări subliniază importanța unui management personalizat al pacienților cu hemofilie, în funcție de severitatea bolii și riscul de afectare articulară.

Studiile genetice au demonstrat că severitatea hemofiliei este determinată în mare măsură de tipul de mutație genetică ce afectează gena F8 (hemofilia A) sau F9 (hemofilia B). Mutațiile care conduc la absența totală sau producția defectuoasă a factorului VIII sau IX sunt asociate cu forme severe ale bolii, în timp ce mutațiile care permit o anumită expresie reziduală a factorului determină forme moderate sau ușoare.

Distribuția tipurilor de mutații genetice în funcție de severitatea bolii. În analiza realizată asupra pacienților incluși în studiu s-au observat următoarele asocieri între genotip și fenotip: *Mutația Missense*: Forma ușoară: 7,7% (16 copii); Forma moderată: 36,4% (12 copii); Forma severă: 6,8% (3 copii). Diferență semnificativă sub aspect statistic între frecvența mutației în formele moderate și severe ($X^2=24,015$, $gl=10$, $p=0,008$). În concordanță cu literatura, mutațiile missense sunt mai frecvente în formele ușoare și moderate, deoarece permit o sinteză reziduală a factorului VIII/IX, deși cu o activitate redusă [35]. *Mutația Inversiune Intron 22* (Inv Intr 22): Forma moderată: 15,2% (5 copii); Forma severă: 15,9% (7 copii); Nu a fost identificată în formele ușoare. Conform studiilor internaționale, inversiunea intronului 22 reprezintă cauza principală a hemofiliei A severe, fiind prezentă în 40-50% dintre pacienții cu această formă [35]. *Mutația Frameshift*: Forma moderată: 12,1% (4 copii); Forma severă: 6,8% (3 copii); Nu a fost identificată în formele ușoare. Aceste mutații afectează citirea corectă a codonilor și duc la sinteza unei proteine trunchiate, non-funcționale, ceea ce determină forme severe sau moderate de hemofilie, în funcție de poziția mutației în cadrul genei [92]. *Mutația Nonsense*: Forma moderată: 3,0% (1 copil); Forma severă: 4,6% (2 copii); Cea mai rar întâlnită mutație în eșantionul analizat. În literatura de specialitate, mutațiile nonsense sunt asociate, de regulă, cu forme severe de hemofilie, deoarece determină introducerea unui codon stop prematur, ceea ce duce la absența completă a proteinei funcționale [102].

Rezultatele obținute confirmă observațiile raportate în alte studii internaționale:

Mutațiile missense sunt cele mai frecvent asociate cu formele ușoare și moderate, permițând producerea unui factor VIII/IX cu activitate enzimatică reziduală. Inversiunea intronului 22 este caracteristică pentru formele severe, determinând lipsa aproape completă a sintezei factorului VIII. Mutațiile de tip frameshift și nonsense conduc la forme moderate-severe, în funcție de poziția afectării în lanțul proteic.

Mai mult, corelarea dintre tipul mutației și severitatea bolii are implicații importante în: Stabilirea prognosticului pacienților – mutațiile severe necesită o monitorizare mai strictă și tratament intensiv; Personalizarea strategiilor terapeutice – pacienții cu mutații severe pot necesita terapii genice sau tratamente profilactice cu agenți non-factoriali; Evaluarea riscului de dezvoltare a inhibitorilor – mutațiile severe sunt mai frecvent asociate cu răspuns imun advers la terapia de substituție. Datele obținute susțin ipoteza că severitatea hemofiliei este determinată în mare parte de natura mutației genetice. Aceste rezultate sunt esențiale pentru dezvoltarea unor algoritmi de diagnostic și tratament personalizat, permițând o mai bună stratificare a pacienților și îmbunătățirea calității vieții acestora. Dezvoltarea inhibitorilor anti-factor VIII sau anti-factor IX este una dintre cele mai severe complicații ale terapiei de substituție la pacienții cu hemofilie. Inhibitorii sunt anticorpi neutralizanți care blochează activitatea terapeutică a factorului administrat, reducând eficacitatea tratamentului și complicând gestionarea bolii. Apariția acestora este mai frecventă la pacienții cu hemofilie severă, în special la cei tratați cu FVIII recombinant, și este influențată de factori genetici și imunologici [102]. Analiza distribuției pacienților în funcție de severitatea hemofiliei și rezultatele testării inhibitorilor relevă diferențe semnificative între grupele de severitate, evidențiind o testare mai frecventă la pacienții cu hemofilie severă: din totalul de 90 de pacienți, 49 (54,4%) nu au fost testați pentru inhibitori. Cei mai mulți pacienți netestați se regăsesc în grupul cu hemofilie moderată (84,9%), ceea ce indică o practică de testare limitată la acest grup. Pacienții cu hemofilie severă au fost testați mai frecvent, doar 43,2% nefiind supuși testării. În cazul hemofiliei ușoare, doar 15,4% dintre pacienți nu au fost testați, ceea ce poate reflecta o testare selectivă bazată pe criterii clinice individuale. În prima etapă de testare, inhibitorii au fost detectați exclusiv la pacienții cu hemofilie severă (16,0%), în timp ce niciun pacient cu forme moderate sau ușoare nu a prezentat inhibitori. Această tendință este conformă cu datele din literatura de specialitate, care indică o incidență mai mare a inhibitorilor la pacienții cu hemofilie severă, în special la cei cu mutații majore ale genei F8 (ex., inversiunea intronului 22) [92]. În a doua etapă de testare, rezultatele au fost identice cu cele din prima etapă, confirmând stabilitatea detecției inhibitorilor în timp și corelația directă cu severitatea bolii:

- 16,0% dintre pacienții cu hemofilie severă au rămas cu inhibitori prezenți.
- 90,2% dintre pacienții testați nu au prezentat inhibitori.

Această stabilitate a rezultatului sugerează că pacienții care dezvoltă inhibitori mențin un titru detectabil pe termen lung, ceea ce impune o monitorizare riguroasă pentru a preveni complicațiile tratamentului. Rezultatele obținute subliniază o legătură clară între severitatea hemofiliei și riscul de apariție a inhibitorilor, aceștia fiind observați exclusiv la pacienții cu forme severe. Această concluzie este susținută de studii anterioare care arată o prevalență a inhibitorilor de aproximativ 25-30% la pacienții cu hemofilie severă tratați cu FVIII recombinant [54].

Factorii care contribuie la rata mai ridicată de dezvoltare a inhibitorilor în hemofilia severă includ:

1. Expunerea precoce și intensă la terapia de substituție [54].
2. Mutațiile genetice severe, în special inversiunea intronului 22 și delețiile mari [102].
3. Factori imunologici și epigenetici, precum activarea celulelor T și reglarea expresiei antigenelor majore de histocompatibilitate (MHC) [10, 63].

De asemenea, datele obținute indică o limitare a screeningului inhibitorilor, în special în cazul formelor moderate ale bolii, unde 84,9% dintre pacienți nu au fost testați. Acest fapt poate reflecta resurse limitate pentru testare, dar sugerează necesitatea implementării unei strategii mai riguroase de screening, întrucât inhibitorii pot apărea și în formele moderate, chiar dacă cu o frecvență mai mică.

Necesitatea testării periodice a inhibitorilor:

- Deși testarea este mai frecventă la pacienții cu hemofilie severă, lipsa testării la formele moderate ridică probleme în detectarea precoce a inhibitorilor și în adaptarea tratamentului.
- Ghidurile internaționale recomandă testarea regulată a inhibitorilor la pacienții cu hemofilie severă (la fiecare 3-6 luni în primele 50 de episoade de administrare a factorului și apoi anual), iar pentru pacienții cu hemofilie moderată se recomandă screening periodic, mai ales în cazul apariției unui răspuns terapeutic diminuat [121, 128].

Rezultatele sugerează o prevalență relativ scăzută a inhibitorilor în lotul analizat (16,0% în hemofilia severă), dar acești pacienți necesită o monitorizare atentă, având în vedere riscul de creștere a titrului inhibitorilor și necesitatea tratamentelor alternative, cum ar fi emicizumab sau terapiile de imunotoleranță.

Importanța identificării precoce a inhibitorilor: prezența inhibitorilor influențează alegerea tratamentului și poate determina ineficiența FVIII/FIX, necesitând utilizarea agenților bypass (ex., rFVIIa, FEIBA) sau terapii non-substitutive (emicizumab)[123, 102, 99]. Analiza corelației dintre severitatea hemofiliei și prezența inhibitorilor confirmă că pacienții cu forme severe sunt cei mai predispuși la dezvoltarea inhibitorilor, iar testarea periodică este esențială pentru prevenirea și gestionarea complicațiilor. Rezultatele evidențiază o practică insuficientă de testare în hemofilia moderată, subliniind necesitatea unei strategii de screening mai riguroase. Studiul confirmă, de asemenea, importanța unei monitorizări continue a pacienților cu hemofilie severă, având în vedere impactul major al inhibitorilor asupra eficacității tratamentului. Dezvoltarea inhibitorilor anti-factor VIII sau IX reprezintă una dintre cele mai complexe și severe complicații imunologice asociate terapiei de substituție în hemofilie. Acești anticorpi neutralizanți reduc semnificativ eficiența tratamentului clasic și determină un risc crescut de hemoragii recurente, uneori amenințătoare de viață. În fața unei astfel de provocări terapeutice este esențială aplicarea unei conduite medicale structurate, bazate pe date obiective, actuale și adaptate resurselor disponibile.

Algoritmul prezentat mai jos a fost elaborat ca răspuns la nevoia stringentă de a standardiza investigațiile și intervențiile terapeutice în hemofilia inhibitorie în Republica Moldova. Acesta propune o succesiune logică și coerentă de pași clinico-paraclinici, pornind de la confirmarea diagnosticului și până la stabilirea planului terapeutic, monitorizarea evoluției și consilierea familială. Fiecare etapă este concepută astfel încât să permită o intervenție medicală timpurie, precisă și adaptată titrului de inhibitori, severității clinice și profilului individual al pacientului. Implementarea algoritmului are potențialul de a optimiza tratamentul pacienților cu hemofilia complicată de inhibitori, reducând rata complicațiilor hemoragice, îmbunătățind prognosticul și sprijinind fundamentarea unei politici clinice standardizate la nivel național. Prin includerea sa în această teză, se oferă un instrument practic, reproductibil și adaptabil, cu aplicabilitate imediată în practica medicală pediatrică și hematologică (Figura 4).



Schemă. Algoritm clinic pentru evaluarea, clasificarea și managementul pacienților cu hemofilie și inhibitori anti-factor VIII/IX

Schema ilustrează succesiunea logică a pașilor clinici și paraclinici propuși în evaluarea pacienților cu hemofilie A sau B, cu accent pe identificarea și tratarea cazurilor complicate de dezvoltare a inhibitorilor specifici împotriva factorilor de coagulare administrați.

Fiecare bloc al algoritmului reprezintă o etapă distinctă în procesul de diagnostic și management:

Etapa I definește cadrul diagnostic inițial și gradul de severitate al hemofiliei pe baza nivelului de activitate a factorului de coagulare.

Etapa II este dedicată detecției precoce a inhibitorilor prin testul Bethesda și clasificării titrului acestora.

Etapa III delimitează conduita terapeutică în funcție de prezența sau absența inhibitorilor și valoarea titrului.

Etapa IV integrează evaluarea clinică a severității hemoragiilor și a impactului asupra calității vieții.

Etapa V vizează stabilirea unei conduite terapeutice personalizate.

Etapa VI include monitorizarea periodică a titrului de inhibitori și integrarea în registrele naționale.

Etapa VII subliniază importanța consilierii familiale, educației medicale și consilierii genetice.

Săgețile indică traseul logic și interdependența etapelor, oferind un instrument clar pentru ghidarea deciziilor medicale și pentru asigurarea unui control eficient al complicațiilor la pacienții cu hemofilie inhibitorie.

Rezultatele obținute în studiul nostru trebuie analizate în contextul etapelor succesive de dezvoltare a tratamentului hemofiliei pediatrice, care au influențat semnificativ eficacitatea controlului sindromului hemoragic. Utilizarea crioprecipitatului, introdusă pe scară largă în anii 1960, a reprezentat mult timp o soluție terapeutică esențială pentru substituția factorului VIII, în special în sistemele de sănătate cu resurse limitate. Cu toate acestea, variabilitatea conținutului de factor, necesarul crescut de administrări și controlul hemostatic imprevizibil asociate acestui tip de terapie pot explica rezultatele mai puțin favorabile observate în grupul de pacienți tratați cu crioprecipitat în cohorta noastră.

Introducerea concentratelor liofilizate de factori VIII/IX în anii 1970 și, ulterior, dezvoltarea factorilor recombinanți în anii 1990 au marcat o etapă decisivă în îmbunătățirea prognosticului pacienților cu hemofilie. În special, apariția factorului VIII recombinant a permis o substituție mai precisă, sigură și reproductibilă, eliminând riscurile infecțioase asociate derivatelor plasmatică și facilitând implementarea profilaxiei regulate. Aceste avantaje se reflectă și în rezultatele studiului nostru, unde pacienții tratați cu rFVIII au prezentat o reducere a frecvenței manifestărilor hemoragice și a internărilor comparativ cu cei tratați cu crioprecipitat.

Introducerea conceptului de profilaxie a reprezentat un element-cheie al așa-numitei „ere moderne” a hemofiliei, cu impact major asupra prevenirii artropatiei hemofilice și asupra calității

vieții. Diferențele observate între cele două grupuri din studiul nostru sugerează că eficiența profilaxiei este strâns legată de tipul produsului utilizat, rFVIII oferind un control hemostatic mai stabil decât crioprecipitatul, chiar în condițiile unui regim terapeutic comparabil.

Deși, în ultimul deceniu, terapiile inovatoare – inclusiv concentratele cu timp de înjumătățire extins și terapiile non-factor, precum emicizumab – au redefinit standardele de tratament în țările cu venituri ridicate, accesul la aceste opțiuni rămâne limitat în numeroase regiuni. În acest context, rezultatele studiului nostru evidențiază importanța optimizării tratamentului de substituție clasic, demonstrând că tranziția de la crioprecipitat la rFVIII constituie o etapă esențială și realistă pentru îmbunătățirea managementului hemofiliei severe la copii.

Astfel, datele obținute nu doar confirmă tendințele raportate în literatura de specialitate, ci subliniază relevanța clinică a alegerii tipului de terapie de substituție în condiții reale de practică, oferind argumente pentru extinderea utilizării factorului VIII recombinant în sistemele de sănătate cu resurse limitate.

În cadrul studiului nostru, am selectat un eșantion de 32 de pacienți diagnosticați cu hemofilie severă, dintr-un grup inițial de 90, împărțiți în mod egal în două grupuri distincte, în funcție de tratamentul administrat: crioprecipitat versus factor VIII recombinant (rFVIII). Studiul a avut o durată de urmărire longitudinală de trei ani, în care am monitorizat frecvența internărilor și manifestările clinice ale sindromului hemoragic, în scopul de a evalua eficacitatea celor două terapii de substituție.

Hemofilia este, în general, diagnosticată precoce, datorită simptomelor severe care se manifestă la vârste fragede. În studiul nostru, majoritatea pacienților (68,8%) au fost diagnosticați în primul an de viață, ceea ce este consistent cu literatura de specialitate care subliniază importanța diagnosticării timpurii pentru prevenirea hemoragiilor spontane severe [121]. Aceste rezultate confirmă faptul că o identificare timpurie este crucială, având în vedere că hemofilia severă poate duce la complicații majore dacă nu este gestionată corect încă din primele luni de viață.

În primul an de monitorizare, s-a observat o diferență semnificativă între cele două grupuri tratate cu crioprecipitat și rFVIII în ceea ce privește necesitatea internărilor. Aproape 56,25% dintre pacienții tratați cu crioprecipitat au necesitat cel puțin o internare, comparativ cu 31,25% dintre cei tratați cu rFVIII. Studiile anterioare au sugerat că crioprecipitatul poate oferi un efect hemostatic mai prelungit datorită conținutului de fibrinogen și alte proteine plasmatice [61, 111], dar cu riscuri mai mari de reacții imunologice și infecțioase. Aceasta este o dovadă a faptului că tratamentele cu plasmă, deși eficiente, nu sunt lipsite de riscuri și necesită o monitorizare atentă, mai ales în ceea ce privește dezvoltarea de reacții adverse pe termen lung.

Pe măsură ce a progresat perioada de observare, s-au constatat fluctuații în frecvența internărilor, iar aceste variații au fost mai evidente în grupul tratat cu crioprecipitat. În al doilea și

al treilea an de tratament, pacienții din acest grup au avut internări multiple, ceea ce sugerează o instabilitate a efectului hemostatic, posibil din cauza fluctuațiilor nivelului plasmatic de FVIII și necesității ajustării dozelor [62]. De asemenea, pacienții tratați cu rFVIII au prezentat o incidență mai mare de internări multiple în al doilea și al treilea an, ceea ce poate fi un indiciu al dezvoltării inhibitorilor sau al unei reacții mai puțin eficiente la tratament. Prezența inhibitorilor este un fenomen bine documentat în literatura de specialitate, iar riscul lor este mai mare în cazul tratamentului cu FVIII recombinant, ceea ce subliniază necesitatea testării periodice pentru inhibitori în primul an de tratament [6].

Rezultatele studiului nostru sugerează că pacienții care au necesitat internări frecvente ar putea fi afectați de prezența inhibitorilor, ceea ce complică semnificativ managementul clinic. Este important de menționat că dezvoltarea inhibitorilor a fost recunoscută ca o provocare majoră în tratamentul hemofiliei cu FVIII recombinant, iar recomandările internaționale sugerează testarea regulată pentru inhibitori, mai ales în primii ani de tratament [119, 1]. Aceste constatări subliniază importanța monitorizării constante și a ajustării regimurilor de tratament pentru a evita complicațiile pe termen lung și a asigura o gestionare mai eficientă a bolii.

Optimizarea strategiilor terapeutice și introducerea terapiilor non-substitutive
Pe termen lung, aceste rezultate sugerează că nici tratamentele cu crioprecipitat, nici cu rFVIII nu asigură un control optim constant asupra hemoragiilor, ceea ce indică necesitatea unor abordări terapeutice mai adaptate nevoilor individuale ale pacienților. De asemenea, introducerea terapiei cu emicizumab a fost menționată ca o alternativă promițătoare în literatura recentă, fiind asociată cu o reducere semnificativă a internărilor și o îmbunătățire a controlului hemoragic [13, 24, 111]. Aceasta sugerează că strategiile terapeutice bazate pe tratamente non-substitutive ar putea reduce incidența episodică a hemoragiilor și ar contribui la îmbunătățirea calității vieții pacienților cu hemofilie severă.

În concluzie, rezultatele obținute din studiul nostru confirmă că eficiența tratamentelor variază în funcție de tipul de tratament utilizat, iar necesitatea testării periodice pentru inhibitori și ajustării regimului terapeutic este esențială pentru a asigura o gestionare adecvată a bolii pe termen lung. Aceste constatări pot contribui la optimizarea ghidurilor terapeutice și la personalizarea tratamentelor pentru pacienții pediatrici cu hemofilie.

În cadrul studiului nostru comparativ privind tratamentele de substituție cu crioprecipitat și Factorul VIII recombinant (FVIII), analiza datelor a relevat diferențe semnificative în eficiența celor două opțiuni terapeutice, în funcție de tipul și severitatea sindromului hemoragic, în special în gestionarea hematoamelor, hemartrozelor și hemoragiilor masive. Aceste observații sunt esențiale pentru optimizarea strategiilor terapeutice personalizate și pentru îmbunătățirea managementului pe termen lung al pacienților cu hemofilie.

În ceea ce privește gestionarea hematoamelor, rezultatele noastre sugerează o utilizare predominantă a FVIII pentru hematoamele de grad mai mare (2 și 3), ceea ce se poate explica prin capacitatea acestuia de a restabili coagularea rapid și eficient, fiind esențial în cazurile de hemoragii majore. Aceste date sunt în concordanță cu literatura de specialitate care subliniază eficiența factorului VIII recombinant în controlul episoadelor hemoragice severe datorită activității sale mai mari în restaurarea coagulării [107, 24, 27]. Crioprecipitatul, dimpotrivă, s-a dovedit a fi mai eficient în gestionarea hemoragiilor mai ușoare, dar nu a demonstrat aceleași rezultate în cazurile de hematoame severe, ceea ce sugerează o limitare a acestuia în fața episoadelor mai grave.

De asemenea, tratamentul hemartrozelor a arătat diferențe semnificative între cele două tratamente. FVIII a fost asociat cu un număr mai mic de articulații afectate de hemartroză, indicând o gestionare mai eficientă a acestei complicații. Aceste rezultate sunt susținute de cercetările anterioare care sugerează că FVIII recombinant ajută la prevenirea artropatiei hemofilice și reduce deteriorarea articulațiilor [104]. Pe de altă parte, crioprecipitatul, deși eficient în tratamentele pentru hemoragii ușoare, a fost asociat cu un număr mai mare de articulații afectate, ceea ce sugerează că acesta poate fi mai puțin eficient în prevenirea complicațiilor pe termen lung, cum ar fi artropatia hemofilică.

Un alt aspect important abordat în studiul nostru a fost eficiența tratamentului în cazurile de hemoragii masive. În acest context, crioprecipitatul a fost utilizat în două cazuri de hemoragii masive, însă eficiența lui a fost limitată în comparație cu FVIII, care a demonstrat o capacitate superioară de a controla hemoragiile grave. Aceste observații sunt în concordanță cu literatura, care evidențiază faptul că FVIII recombinant este mai eficient în gestionarea hemoragiilor majore, datorită unui timp de înjumătățire mai lung și unei capacități mai mari de a restabili funcția hemostatică [90].

Internările planificate, tratamentul cu FVIII recombinant s-a dovedit superior în ceea ce privește posibilitatea organizării profilactice a tratamentului. Aceasta reflectă o abordare mai structurată în prevenirea episoadelor hemoragice și artropatiei hemofilice, comparativ cu tratamentul cu crioprecipitat, care a fost utilizat în mod exclusiv în regim de urgență. Rezultatele noastre sugerează că utilizarea FVIII în regim profilactic poate reduce riscul de dizabilități pe termen lung și poate îmbunătăți calitatea vieții pacienților, un aspect confirmat de cercetările internaționale care subliniază beneficiile profilaxiei regulate [125, 98, 107]. Astfel, tratamentul cu FVIII recombinant nu doar că previne hemoragiile, dar poate preveni și complicațiile asociate acestora, cum ar fi artropatia hemofilică.

Astfel, studiul nostru evidențiază importanța alegerii tratamentului adecvat în funcție de tipul și severitatea sindromului hemoragic, subliniind avantajele tratamentului cu FVIII recombinant,

atât în gestionarea episoadelor hemoragice severe, cât și în prevenirea complicațiilor pe termen lung. Deși crioprecipitatul rămâne o opțiune valoroasă în anumite situații, rezultatele noastre sugerează că FVIII recombinant reprezintă o abordare terapeutică superioară, în special în tratamentele profilactice și în prevenirea deteriorării articulare. Implementarea unui protocol de tratament personalizat, care să includă monitorizarea constantă a pacientului și ajustarea tratamentului pe baza răspunsului individual, este esențială pentru optimizarea rezultatelor clinice și îmbunătățirea calității vieții pacienților cu hemofilie.

La nivel mondial, prevalența punctuală a hemofiliei (toate cazurile în viață) a crescut odată cu îmbunătățirea îngrijirilor. Conform datelor recente ale Federației Mondiale de Hemofilie (WFH), prevalența globală estimată a hemofiliei este aproximativ 10,6 la 100.000 de locuitori (adică aproximativ 106 hemofilici la 1 milion de locuitori) [29]. În termeni absoluți, aceasta corespunde cu aproximativ 830.000 de persoane cu hemofilie la nivel mondial, dintre care circa 282.000 au forme severe (deficit de factor <1%) [20]. Totuși, statisticile oficiale raportează un număr mai mic de pacienți identificați: de exemplu, în 2021 erau înregistrați aproximativ 234.000 de pacienți cu hemofilie la nivel global [9, 61], evidențiind un grad important de subdiagnosticare. Important de menționat că incidența la naștere a hemofiliei rămâne constantă în timp – fiecare generație de copii prezintă cazuri noi cu o frecvență relativ stabilă, independent de regiune sau etnie [39]. Ceea ce variază este vârsta la diagnostic și supraviețuirea acestor pacienți, în funcție de accesul la serviciile medicale. În ultimele decenii s-au înregistrat progrese notabile în diagnosticarea timpurie: la pacienții cu hemofilie severă, vârsta mediană la diagnostic a scăzut la nivel global de la aproximativ 7 ani (pentru cei născuți înainte de 1980) la circa 11 luni la copiii născuți după 2010 [94]. Această îmbunătățire este vizibilă și în țările cu venituri mici, unde în trecut diagnosticul era adesea mult întârziat – de pildă, la pacienții severi născuți înainte de 1970, în unele regiuni, hemofilia era recunoscută abia spre vârsta adultă (mediana aproximativ 35 de ani), pe când la copiii din generațiile recente diagnosticul se pune de obicei în primul an de viață [94]. Aceste date subliniază că hemofilia este în principal o boală pediatrică din perspectiva debutului, majoritatea cazurilor severe manifestându-se clinic în primii ani de viață (de exemplu, hemoragii intracraniene neonatale, echimoze sau hemartroze la copilul mic).

Epidemiologia hemofiliei în Europa de Est (România, Ucraina) raportează o prevalență a hemofiliei comparabilă cu media globală, însă cu variații legate de capacitatea sistemelor naționale de sănătate de a identifica și trata pacienții. Țările est-europene mai mari, precum România și Ucraina, au implementat registre naționale de hemofilie și au în evidență sute până la mii de pacienți. România, de exemplu, a raportat recent aproximativ 2.163 de persoane cu hemofilie (toate vârstele), dintre care 1.825 cu hemofilie A și 325 cu hemofilie B [10, 36]. La o populație de aproximativ 19,1 milioane, aceasta corespunde unei prevalențe de circa 11,3 cazuri la 100.000 de

locuitori, valoare apropiată de estimarea globală. Situația este similară în Ucraina, care înainte de 2022 avea înregistrate în jur de 4.845 de cazuri de hemofilie (aproximativ 4.376 cu hemofilie A și 469 cu hemofilie B) [125], la o populație de aproximativ 43,8 milioane (prevalență aproximativ 11,1/100.000). România și Ucraina se numără printre țările cu cele mai numeroase comunități de pacienți hemofilici din Europa de Est, datorită numărului populației, dar și eforturilor locale de depistare și raportare.

În ansamblu, continentul european are un nivel relativ ridicat de identificare a pacienților cu hemofilie. Se estimează că Europa a diagnosticat aproximativ 83% din cazurile așteptate de hemofilie (proporție mult peste alte regiuni) [56], reflectând accesul mai bun la servicii medicale și teste de laborator. Chiar și în Europa de Est, unde resursele au fost tradițional mai limitate comparativ cu Vestul, majoritatea cazurilor severe sunt depistate. Cu toate acestea, persistă diferențe intra-regionale: țările est-europene cu infrastructură medicală mai slabă pot avea o prevalență aparent mai mică, sugerând existența unor pacienți neincluși în registre. De pildă, națiuni mai mici sau cu resurse limitate din zona Europei de Est raportează cifre absolute modeste comparativ cu România sau Ucraina, în parte din cauza populației mai reduse, dar și posibil din cauza subdiagnosticării. Un exemplu este Republica Moldova, analizată în continuare, care are o prevalență raportată ceva mai mică decât țările vecine, probabil din motive legate de resurse și organizarea sistemului de sănătate. În Republica Moldova, hemofilia este clasificată drept boală rară și este supravegheată prin intermediul unui registru național funcțional încă din anul 2013. Potrivit datelor oficiale, în anul 2024, în evidențele medicale figurau 205 pacienți cu hemofilie, dintre care 52 erau copii cu vârsta sub 18 ani [16]. Dintre aceștia, aproximativ 85% sunt diagnosticați cu hemofilie A, proporție în concordanță cu datele globale [31]. Comparativ cu anul 2013, când erau înregistrați 227 de pacienți, se observă o ușoară scădere numerică, explicabilă prin reducerea populației generale, emigrarea, dar și mortalitatea specifică asociată complicațiilor bolii [37].

Prevalența estimată în Republica Moldova este de aproximativ 63–79 de pacienți la un milion de locuitori, ceea ce o plasează sub media europeană și globală (106/milion) [29][37]. Având în vedere populația actuală estimată la circa 2,6 milioane, se presupune că între 250 și 300 de persoane ar putea avea hemofilie, ceea ce sugerează existența unui grad moderat de subdiagnosticare [16]. Acest fenomen este favorizat de lipsa accesului la diagnostic specializat în unele regiuni rurale, de formele ușoare care rămân nedepistate și de lipsa informării în rândul populației generale [51].

Structura pe vârste a pacienților din registru arată că aproximativ un sfert din total sunt copii, reflectând atât natura congenitală a bolii, cât și deficiențele istorice în ceea ce privește supraviețuirea pe termen lung a pacienților netratați. Mortalitatea în rândul copiilor cu hemofilie

severă netratată este ridicată, iar absența profilaxiei a condus frecvent la dezvoltarea precoce a artropatiei hemofilice [74].

În ceea ce privește accesul la tratament, până în anii recenti, pacienții din Republica Moldova beneficiau predominant de terapie la nevoie (*on-demand*), folosind crioprecipitat sau factori plasmatici, în contextul limitărilor bugetare [74, 49]. Abia începând cu anul 2019, a fost introdus treptat tratamentul profilactic pentru formele severe, iar din 2024, copiii cu hemofilie A severă beneficiază de terapie cu emicizumab, inclusă în programul național [32].

În paralel, au fost extinse testările genetice și evaluările inhibitorilor, cu sprijinul colaborărilor internaționale și al fondurilor direcționate către bolile rare. Totuși, lipsa unei rețele naționale extinse de centre de hemofilie și absența personalului instruit în toate raioanele reprezintă bariere în calea identificării și monitorizării corespunzătoare a tuturor pacienților [12, 112].

Pentru îmbunătățirea supravegherii epidemiologice, autoritățile au extins funcționalitatea Registrului Național, care permite înregistrarea digitală a datelor clinice și terapeutice ale pacienților cu hemofilie, facilitând evaluarea tendințelor, alocarea resurselor și planificarea tratamentelor inovatoare [12]. În concluzie, deși Republica Moldova înregistrează progrese notabile în domeniul diagnosticării și tratamentului hemofiliei pediatrice, datele epidemiologice sugerează încă o discrepanță între numărul de pacienți înregistrați și incidența teoretică estimată, ceea ce subliniază necesitatea consolidării sistemului de depistare precoce, tratament și raportare.

Subdiagnosticarea și diferențele între datele oficiale și estimările internaționale

Unul dintre cele mai persistente obstacole în evaluarea corectă a prevalenței hemofiliei, în special la copii, este subdiagnosticarea. La nivel mondial, se estimează că doar 42% dintre persoanele cu hemofilie sunt diagnosticate și incluse în registrele oficiale [30]. Această problemă este deosebit de acută în țările cu venituri mici și medii, unde accesul limitat la testare și tratament determină o subraportare masivă. De exemplu, în Africa, doar aproximativ 8% din cazurile așteptate sunt efectiv înregistrate [56]. În schimb, Europa raportează o rată de identificare de peste 80%, cu diferențe între vestul continentului (unde depășește 90%) și estul acestuia, unde persistă lacune semnificative [56].

Aceste discrepanțe între datele raportate și estimările reale influențează negativ planificarea resurselor, politicile de sănătate și accesul la tratament inovator. În Republica Moldova, diferența dintre numărul estimat de pacienți (250–300) și cel înregistrat (205) reflectă un grad moderat de subdiagnosticare [16]. Multe dintre cazurile nediagnosticate sunt probabil forme ușoare sau moderate, la care manifestările clinice nu impun investigarea imediată, sau sunt copii care nu ajung la centrele specializate din lipsă de acces teritorial la un cabinet de diagnostic medical [51].

Pentru reducerea acestei diferențe, organizațiile internaționale precum WFH și OMS încurajează dezvoltarea registrelor electronice integrate, formarea cadrelor medicale și aplicarea

screeningului neonatal în familiile cu risc crescut [100]. De asemenea, inițiativele precum World Bleeding Disorders Registry contribuie la colectarea standardizată a datelor, sprijinind țările în efortul de a-și armoniza raportările cu realitatea epidemiologică [100, 47].

În continuare va fi analizată implementarea și impactul bazei web pentru „Registrul electronic de evidență al pacienților cu hemofilie în Republica Moldova”, un sistem informatic inovativ ce vizează centralizarea și monitorizarea datelor pacienților cu hemofilie. Registrul reprezintă un pas semnificativ în optimizarea gestionării acestor pacienți și în îmbunătățirea accesului la tratamente adecvate, contribuind totodată la un management mai eficient al resurselor medicale. Registrul are ca obiectiv centralizarea informațiilor medicale esențiale, inclusiv tipul hemofiliei, gradul de severitate, istoricul internărilor și modelele de tratament aplicate, ceea ce permite un management mai bun al cazurilor și facilitează transmiterea rapidă a datelor către secțiile specializate, cum ar fi Secția de Hematologie a IMSP „Institutul Mamei și Copilului” și IMSP „Institutul Oncologic pentru pacienții adulți”. În literatura de specialitate, similaritatea cu modelele de registre electronice de evidență pentru alte patologii, cum ar fi cancerul sau bolile cardiovasculare, subliniază importanța centralizării datelor pentru îmbunătățirea tratamentului personalizat și prevenirea complicațiilor pe termen lung [36, 47]. Un aspect esențial în implementarea registrului este protecția datelor pacienților. Conform reglementărilor naționale și internaționale privind confidențialitatea și protecția datelor personale, registrul respectă cele mai riguroase standarde, asigurând accesul doar al persoanelor autorizate. Această măsură este aliniată cu reglementările europene, cum ar fi Regulamentul General privind Protecția Datelor (GDPR), care garantează drepturile pacienților și protejează integritatea datelor acestora în scopuri medicale [61]. Sistemul informatic utilizat pentru registru include două componente principale: una dedicată pacienților sub 18 ani și gestionată în cadrul IMSP IMC, iar cealaltă pentru pacienții adulți, gestionată în cadrul IMSP Institutul Oncologic. Această structură modulară este similară cu alte sisteme informatice folosite pentru gestionarea bolilor cronice, asigurând continuitatea și coerența datelor de la diagnostic până la tratamentele ulterioare [46]. Integrarea între componentele diferite permite un flux continuu de informații, esențial pentru monitorizarea pe termen lung a pacienților. Registrul include instrumente de gestionare a datelor care permit personalului medical să proceseze și să analizeze informațiile într-un mod structurat. Aceasta facilitează identificarea rapidă a tendințelor, evaluarea eficienței tratamentului și ajustarea strategiilor terapeutice în funcție de nevoile individuale ale pacienților. În literatura de specialitate se subliniază importanța unui sistem de raportare eficient pentru susținerea deciziilor clinice și pentru îmbunătățirea rezultatelor tratamentului în afecțiuni complexe cum este hemofilia [99]. Pentru a asigura performanța optimă a sistemului, au fost necesare componente tehnice specifice, inclusiv server dedicat și platformă web adaptabilă la nevoile instituțiilor spitalicești. Specificațiile

tehnice sunt esențiale pentru asigurarea unei implementări eficiente și pentru a susține procesul de colectare și prelucrare a datelor într-un mod rapid și sigur [47].

Registrul are un impact semnificativ asupra cercetărilor naționale privind hemofilia, oferind o bază solidă pentru evaluarea tratamentelor și pentru dezvoltarea de strategii terapeutice mai eficiente, pentru a facilita compararea datelor pe plan internațional, sprijinind astfel standardizarea tratamentelor și creșterea conștientizării în rândul profesioniștilor din domeniul sănătății. În studiile recente, s-a demonstrat că registrele electronice pot îmbunătăți semnificativ accesul la tratamente inovative și pot contribui la implementarea celor mai bune practici [47]. „Registrul electronic de evidență al pacienților cu hemofilie în Republica Moldova” reprezintă un instrument esențial pentru îmbunătățirea gestionării pacienților cu hemofilie și pentru optimizarea tratamentelor pe termen lung. Prin centralizarea datelor și asigurarea unui sistem eficient de monitorizare, registrul contribuie la îmbunătățirea rezultatelor clinice ale pacienților și la sprijinirea cercetărilor naționale și internaționale. În plus, acest sistem permite îmbunătățirea eficienței procesului de tratament și a supravegherii pe termen lung, subliniind importanța implementării unor soluții informatice în domeniul sănătății.

CONCLUZII GENERALE

1. În hemofilia A și B, tabloul clinic a fost caracterizat predominant prin hemoragii de tip hematom, care au constituit forma inițială de manifestare a sindromului hemoragic, afectarea articulară reprezentând ulterior componenta clinică dominantă, identificată la peste 70% dintre pacienții cu forme severe, cu hemartroza genunchiului fiind cea mai frecventă localizare pentru ambele tipuri de hemofilie, urmată de articulațiile cotului și gleznei.
2. Aprecierea cantitativă a factorilor de coagulare a demonstrat relația directă dintre nivelurile scăzute ale factorilor VIII și IX și gradul de severitate al hemofiliei. În hemofilia A, nivelul mediu al FVIII a fost de 0,7 UI/dL în forma severă și 3,5 UI/dL în forma moderată, iar în hemofilia B nivelul mediu al FIX a fost de 0,9 UI/dL, respectiv 4,1 UI/dL, ceea ce confirmă valoarea acestor determinări în constatarea formei și monitorizarea eficienței terapiei substitutive.
3. Analiza genetică a evidențiat predominanța mutațiilor de tip Missense și Frameshift, asociate cu formele moderate și severe ale bolii. Inversia intronului 22 a fost identificată exclusiv în formele moderate și severe ale hemofiliei A (15,2% și 15,9%) confirmând rolul său patogenetic major și relevanța testării genetice pentru confirmarea diagnosticului etiologic, predicția riscului de inhibitori. Cele mai frecvente mutații au fost Missense (17,8%) și Inv. Intron 22 (14,8%).
4. Determinarea inhibitorilor a evidențiat o rată de apariție de 16,0%, observată exclusiv la pacienții cu forma severă de hemofilie. Această constatare determină importanța monitorizării periodice a inhibitorilor în această categorie de pacienți, pentru ajustarea tratamentului și prevenirea eșecurilor terapeutice prin hieperergia de răspuns la tratamentul substitutiv.
5. Analiza comparativă a strategiilor de tratament a demonstrat o eficiență superioară a preparatelor de factor VIII recombinant și liofilizat în controlul hemoragiilor severe și în prevenirea artropatiei hemofilice, comparativ cu crioprecipitatul, care s-a dovedit eficient în principal în formele ușoare ale bolii; aceste rezultate susțin necesitatea orientării terapiei către produse concentrate, standardizate și sigure din punct de vedere virologic, subliniind totodată importanța evitării transfuzării substratului cu potențial alergic și infecțios asociat preparatelor plasmatice ($p < 0,05$).

6. Elaborarea și implementarea Bazei Web a Registrului Național electronic al pacienților cu hemofilie din Republica Moldova a permis centralizarea și standardizarea datelor clinico-paraclinice, facilitând monitorizarea continuă a pacienților, individualizarea tratamentului și evaluarea eficienței terapeutice, cu respectarea cerințelor de confidențialitate și securitate a datelor, contribuind totodată la optimizarea utilizării resurselor medicale și la susținerea activităților de cercetare și cooperare științifică.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Implementarea obligatorie a testării genetice pentru toți pacienții diagnosticați cu hemofilie și pentru potențialii purtători ai genelor mutante este esențială pentru diagnosticul precoce, identificarea purtătorilor asimptomatici și aplicarea măsurilor de profilaxie primară în familiile cu risc crescut.
2. Individualizarea tratamentului în funcție de genotipul pacientului trebuie să devină o componentă centrală a managementului hemofiliei, întrucât severitatea bolii și răspunsul terapeutic sunt strâns corelate cu tipul de mutație genetică identificată.
3. Supraveghere clinică și paraclinică riguroasă este necesară în cazul pacienților purtători ai mutației Inversia Intronului 22, dată fiind frecvența ridicată a acesteia în formele severe de hemofilie A și asocierea sa cu un risc crescut de dezvoltare a inhibitorilor. Ajustarea dinamică a tratamentului în funcție de evoluția clinică contribuie la prevenirea complicațiilor și la optimizarea prognosticului.
4. Elaborarea și implementarea unui algoritm complex de monitorizare a pacienților cu risc de dezvoltare a inhibitorilor, bazat pe integrarea markerilor genetici, clinici și paraclinici, ar permite o abordare proactivă a terapiei și introducerea timpurie a tratamentelor biologice moderne de substituție non-factorială, reducând riscul de complicații pe termen lung și îmbunătățind calitatea vieții pacienților.

BIBLIOGRAFIE

1. Adams R, Foster S, Brown J, et al. Emerging therapies for hemophilia: advances in novel agents and gene therapy. *Ther Adv Hematol.* 2023;14:20406207231102743. doi:10.1177/20406207231102743.
2. Agachi D, Țurea V, Eșanu G. Inhibitory hemophilia: contemporary treatment with emicizumab. Considerations for pediatric practice. *Mold J Health Sci.* 2024;12(2):25–30.
3. Agachi D, Țurea V, Eșanu G. Comparative study between cryoprecipitate and recombinant factor VIII treatment in children with hemophilia. *World J Biol Pharm Health Sci.* 2024;8(10):38–44.
4. Agachi D, Țurea V, Eșanu G. Vaccination in hemophilic children: challenges, innovations, and future directions. *World J Biol Pharm Health Sci.* 2024;8(11):45–52.
5. Agachi D, Țurea V, Mihalachi M. Hemophilia in a female patient: case report. *Buletin de Perinatologie.* 2019;2(83):108–110.
6. Agachi D, Țurea V. Interrelationship of clinical and paraclinical parameters according to disease severity in children with hemophilia. *Mold J Health Sci.* 2025;12(1):15–22.
7. Amid A. Editorial: modern approaches to hemophilia management in children and adolescents. *Front Pediatr.* 2023;11:1273639. doi:10.3389/fped.2023.1273639.
8. Andreeva TA, Lavrichenko IA. Clinical observation of a child during the first year of life with severe hemophilia A receiving prophylactic emicizumab. *Russ J Pediatr Hematol Oncol.* 2021;(3):123–126.
9. Aldred A, Srivastava A, Goodeve AC. Molecular basis, diagnosis and treatment of hemophilia A and B: an update. *Haemophilia.* 2022;28(5):776–789. doi:10.1111/hae.14568.
10. Antonarakis SE, Rossiter JP, Young M, et al. Factor VIII gene inversions in severe hemophilia A. *Blood.* 1995;86(6):2206–2212.
11. Antonarakis SE, Rossiter JP, Young M, et al. Factor VIII gene inversions in severe hemophilia A: molecular mechanisms and diagnostic applications. *Ann N Y Acad Sci.* 1995;759:115–123.
12. Antonarakis SE. Molecular genetics of the coagulation factor VIII gene and hemophilia A. *Thromb Haemost.* 1995;74(1):322–328.
13. Astermark J. Inhibitor development: patient-determined risk factors. *Haemophilia.* 2010;16(Suppl 5):66–70.
14. Adams TE, Hockin MF, Mann KG, Everse SJ. The crystal structure of activated protein C inhibits factor VIIIa by disrupting the factor IXa–factor VIIIa complex. *J Biol Chem.* 2004;279(51):52702–52709.
15. Astermark J, Santagostino E, Peyvandi F, et al. Genetic modifiers of bleeding phenotype in haemophilia A and B: clinical implications. *Haemophilia.* 2021;27(Suppl 3):33–41. doi:10.1111/hae.14367.
16. Bagnall RD, Waseem N, Green PM, Giannelli F. Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene as a cause of severe hemophilia A. *Blood.* 2002;99(1):168–174.
17. Berntorp E, Shapiro AD. Modern haemophilia care. *Lancet.* 2012;379(9824):1447–1456. doi:10.1016/S0140-6736(11)61139-2. PMID:22305793.
18. Blair HA. Valoctocogene roxaparvovec: first approval. *Drugs.* 2022;82(14):1505–1510. doi:10.1007/s40265-022-01788-y. PMID:36214970.
19. Blanchette VS, Key NS, Ljung LR, et al. Definitions in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2014;12(11):1935–1939. doi:10.1111/jth.12672. PMID:25059285.
20. Bolton-Maggs PHB, Pasi KJ. Haemophilias A and B. *Lancet.* 2003;361(9371):1801–1809.
21. Bolton-Maggs PHB. Factor IX gene mutations and hemophilia B. *Br J Haematol.* 2012;156(4):369–381.

22. Bowyer AE, Lowe AE, Tiefenbacher S. Laboratory issues in gene therapy and emicizumab. *Haemophilia*. 2021;27(Suppl 3):142–147. doi:10.1111/hae.13976.
23. Burke T, Shaikh A, Ali TM, et al. Association of factor expression levels with annual bleeding rate in hemophilia B. *Haemophilia*. 2023;29(1):115–122. doi:10.1111/hae.14675.
24. Callaghan MU, Asikanius E, Lehle M, et al. Untreated bleeds before and after emicizumab initiation (HAVEN 1–3). *Res Pract Thromb Haemost*. 2022;6(6):e12782. doi:10.1002/rth2.12782.
25. Callaghan MU, Chitlur M, Young G, et al. Long-term efficacy and safety of emicizumab in children with hemophilia A with inhibitors (HAVEN 2). *Haemophilia*. 2020;26(5):778–786. doi:10.1111/hae.14107.
26. Cutter S, Guelcher C, Hunter S, et al. Impact of hemophilia B on patients and families: results from the B-HERO-S study. *Patient Relat Outcome Meas*. 2019;10:257–266. doi:10.2147/PROM.S214188.
27. Darby SC, Kan SW, Spooner RJ, et al. Mortality and life expectancy in hemophilia A and B. *Blood*. 2007;110(3):815–825.
28. Di Michele D, Coppola A, Castaman G. Clinical and genetic determinants of inhibitor development in severe hemophilia A. *Haemophilia*. 2010;16(Suppl 2):118–124.
29. Di Minno G, Iervolino S, Rossi G, et al. Cost of care of hemophilia: Italian data. *Thromb Res*. 2003;111(3):165–170.
30. DiMichele DM. Immune tolerance induction in haemophilia: evidence and perspectives. *J Thromb Haemost*. 2011;9(Suppl 1):216–225.
31. DiMichele DM. Inhibitor development in haemophilia B. *Br J Haematol*. 2007;138(3):305–315.
32. Eșanu G, Baltag A, Vicol M, et al. Joint involvement in children with hemophilia in the Republic of Moldova. *Rev Pediatrie*. 2012;1(59):17–20.
33. European Commission. General Data Protection Regulation (EU) 2016/679. Official Journal of the European Union. 2018. Disponibil la: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2016/679/oj>. Accesat la: 22.12.2025.
34. European Medicines Agency. Summary of product characteristics for emicizumab (Hemlibra). EMA; 2023. Disponibil la: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/hemlibra-epar-product-information_en.pdf. Accesat la: 15.12.2025.
35. Fischer K, Makris M, Castaman G, et al. Concizumab for hemophilia with inhibitors. *Lancet Haematol*. 2024;11(3):e120–e130. doi:10.1016/S2352-3026(24)00045-0.
36. Fischer K, van Hout BA, van der Bom JG, et al. Association between joint bleeds and quality of life in severe hemophilia. *Haematologica*. 2002;87(7):737–743.
37. Franchini M, Mannucci PM. Past, present and future of hemophilia. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7:24.
38. Garcia A, Evans M, Collins J, et al. Outcomes of pediatric hemophilia patients receiving prophylaxis: systematic review. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2022;44(5):e309–e316. doi:10.1097/MPH.0000000000002176.
39. Garcia L, Thompson R, Wilson M, et al. Pharmacokinetic modeling in pediatric hemophilia. *Clin Pharmacokinet*. 2024;63(1):21–31. doi:10.1007/s40262-023-01167-1.
40. George LA, Ragni MV, Rasko JE, et al. Hemophilia gene therapy: advances and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2022;21(6):421–440.
41. Goudemand J. Inhibitors in hemophilia: a European perspective. *Semin Hematol*. 2006;43(1 Suppl 1):S18–S22.
42. Gouw SC, van den Berg HM, Fischer K, et al. Factor VIII products and inhibitor development in severe hemophilia A. *N Engl J Med*. 2013;368(3):231–239.
43. Gouw SC, van den Berg HM, Oldenburg J, et al. F8 mutation type and inhibitor development: meta-analysis. *Blood*. 2012;119(12):2922–2934.
44. Hay CRM, Palmer B, Chalmers E, et al. Incidence of factor VIII inhibitors in severe hemophilia A: UK experience. *Blood*. 2011;117(23):6367–6370.

45. Hay CR, DiMichele DM. International Immune Tolerance Study: principal results. *Blood*. 2012;119(6):1335–1344.
46. Hay CRM, Palmer B, Chalmers E, et al. Epidemiology of factor IX inhibitors in hemophilia B. *Blood*. 2011;118(19):5905–5909.
47. Iorio A, Marchesini E, Marcucci M, et al. Determinants of FVIII inhibitors in children with severe hemophilia A. *Blood*. 2011;117(11):3163–3170.
48. Iorio A, Stonebraker JS, Chambost H, et al. Prevalence and birth prevalence of hemophilia: meta-analysis of national registries. *Ann Intern Med*. 2019;171(8):540–546.
49. Kavakli K, Zulfikar B, Cetin M, et al. Emicizumab prophylaxis in children with severe hemophilia A: real-world data. *Haemophilia*. 2021;27(2):e159–e166.
50. Kempton CL, Meeks SL. Toward optimal therapy for inhibitors in hemophilia. *Blood*. 2014;124(23):3365–3372.
51. Klamroth R, Wojciechowski P, Aballéa S, et al. Efficacy of rFVIII-Fc versus emicizumab in hemophilia A without inhibitors: matching-adjusted indirect comparison of A-LONG and HAVEN trials. *J Blood Med*. 2021;12:115–122. doi:10.2147/JBM.S288283.
52. Knobe K, Ljung R. Intracranial haemorrhages in haemophilia A and B. *Br J Haematol*. 2005;132(3):378–383.
53. Konkle BA. Efanesoctocog alfa for prevention and treatment of bleeding in hemophilia A. *Expert Rev Hematol*. 2023;16(8):567–573. doi:10.1080/17474086.2023.2223925.
54. Kragh N, Tytula A, Pochopien M, et al. Cost-effectiveness of recombinant factor VIII Fc versus emicizumab prophylaxis in haemophilia A without inhibitors in the UK. *Eur J Haematol*. 2023;110(3):262–270. doi:10.1111/ejh.13901.
55. Kruse-Jarres R, Peyvandi F, Oldenburg J, et al. Surgical outcomes in patients with hemophilia A receiving emicizumab prophylaxis: HAVEN 1–4 experience. *Blood Adv*. 2022;6(24):6140–6150. doi:10.1182/bloodadvances.2022007458.
56. Kulkarni R, Soucie JM. Pediatric hemophilia: a review. *Semin Thromb Hemost*. 2011;37(7):737–744. doi:10.1055/s-0031-1297164. PMID:22187396.
57. Lenting PJ, van Mourik JA, Mertens K. The life cycle of coagulation factor VIII. *Blood*. 1998;92(11):3983–3996.
58. Levy-Mendelovich S, Atia N, Budnik I, et al. Factor VIII inhibitors in hemophilia A treated with emicizumab: longitudinal outcomes. *Res Pract Thromb Haemost*. 2023;7(4):100278. doi:10.1016/j.rpth.2023.100278.
59. Ljung R. Inhibitors in hemophilia A and B: management and prevention strategies. *Haemophilia*. 2011;17(Suppl 2):20–26.
60. Lusher JM. Inhibitor antibodies to factor VIII and factor IX: management. *Semin Thromb Hemost*. 2000;26(2):179–184.
61. Mahlangu J, Oldenburg J, Paz-Priel I, et al. Emicizumab prophylaxis in patients with hemophilia A without inhibitors. *N Engl J Med*. 2018;379(9):811–822. doi:10.1056/NEJMoa1803550. PMID:30157389.
62. Mahlangu J, Pipe SW, Shima M, et al. Concizumab prophylaxis in hemophilia A and hemophilia A/B with inhibitors. *Blood*. 2023;141(14):1644–1653.
63. Mahlangu JN. Bispecific antibody emicizumab for hemophilia A. *BioDrugs*. 2018;32(6):561–570. doi:10.1007/s40259-018-0315-0.
64. Mannucci PM, Tuddenham EGD. The hemophilias: from royal genes to gene therapy. *N Engl J Med*. 2001;344(23):1773–1779.
65. Mannucci PM. Hemophilia therapy: the future has begun. *Haematologica*. 2020;105(3):545–553. doi:10.3324/haematol.2019.232132. PMID:32060150.
66. Martin D, Brown K, Johnson P, et al. Safety and efficacy of novel hemophilia treatments in pediatric populations. *Pediatr Blood Cancer*. 2023;70(4):e30053. doi:10.1002/pbc.30053.
67. Mauser-Bunschoten EP, Srivastava A, Brewer AK, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia*. 2013;19(1):e1–e47. doi:10.1111/hae.12046.

68. Miller T, Thompson A, Davis M, et al. Current trends in management of hemophilia A in children. *Blood Adv.* 2023;7(2):215–225. doi:10.1182/bloodadvances.2022004595.
69. Ministerul Sănătății al Republicii Moldova. Programul național privind bolile rare pentru anii 2024–2028. Chișinău; 2024. Disponibil la: <https://gov.md/sites/default/files/document/attachments/nu-1098-ms-2023.pdf>. Accesat la: 15.12.2025.
70. Nakagawa M, Saito T, Shima M, et al. Recombinant factor IX versus conventional therapies in hemophilia B with inhibitors. *Haemophilia.* 2023;29(4):501–509. doi:10.1111/hae.14556.
71. Nogami K, Shima M. Current and future therapies beyond factor replacement in hemophilia. *Br J Haematol.* 2023;200(1):23–34. doi:10.1111/bjh.18379. PMID:35869698.
72. Nuss R, Curtis R, Wilkins B. Long-term outcomes of prophylactic treatment in young hemophilia patients. *Haemophilia.* 2019;25(3):345–353.
73. Oldenburg J, El-Maarri O, Schwaab R. Inversion of intron 1 of the factor VIII gene. *Haematologica.* 2002;87(6):560–566.
74. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, et al. Emicizumab prophylaxis in children with severe hemophilia A. *Blood.* 2022;140(6):626–636. doi:10.1182/blood.2021013565.
75. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, et al. Real-world effectiveness and safety of emicizumab: HAVEN 5 interim results. *Haemophilia.* 2021;27(4):592–600. doi:10.1111/hae.14285.
76. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, et al. Emicizumab prophylaxis in hemophilia A with inhibitors. *N Engl J Med.* 2017;377(9):809–818.
77. Oldenburg J, Schroeder J, Brackmann HH, et al. Inversion of intron 22 of the factor VIII gene. *Haemophilia.* 2001;7(2):98–102.
78. O'Mahony B, Noone D, Giangrande P, et al. Hemophilia care in Europe: survey of 35 countries. *Haemophilia.* 2013;19(4):e239–e247.
79. Ozelo MC, Yamaguti-Hayakawa GG. Impact of novel hemophilia therapies worldwide. *Res Pract Thromb Haemost.* 2022;6(3):e12695. doi:10.1002/rth2.12695.
80. Pereira A, Silva MJ, Santos RS, et al. Implementation of electronic health records in healthcare systems. *Health Technol Lett.* 2018;5(3):214–220. doi:10.1049/htl.2018.5032.
81. Peyvandi F, Garagiola I, Young G. The past and future of haemophilia. *Lancet.* 2016;388(10040):187–197.
82. Pipe SW, Shima M, Lehle M, et al. Emicizumab prophylaxis: efficacy, safety and pharmacokinetics. *Blood.* 2019;134(22):1973–1981. doi:10.1182/blood.2019001869.
83. Pipe SW, Trzaskoma B, Minhas M, et al. Efficacy of emicizumab throughout dosing intervals. *Res Pract Thromb Haemost.* 2023;7(2):100077. doi:10.1016/j.rpth.2023.100077.
84. Plug I, van der Bom JG, Peters M, et al. Mortality and causes of death in hemophilia in the Netherlands. *Blood.* 2006;108(4):1238–1244.
85. Rangarajan S, Walsh L, Lester W, et al. AAV5-factor VIII gene transfer in severe hemophilia A. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2519–2530.
86. Roberts C, Smith K, Lee A, et al. Pediatric hemophilia: new treatment approaches. *Curr Opin Hematol.* 2022;29(5):332–340. doi:10.1097/MOH.0000000000000774.
87. Rodak BF, Fritsma GA, Doig K. *Hematology: Clinical Principles and Applications.* 5th ed. St. Louis: Elsevier; 2016.
88. Santagostino E, Mancuso ME. Inhibitor development in children with severe hemophilia A. *Br J Haematol.* 2017;176(2):162–170.
89. Santagostino E. Emicizumab: a novel treatment for hemophilia A. *Expert Opin Biol Ther.* 2018;18(5):525–533.
90. Shapiro AD. Antibodies to factor VIII and factor IX: management. *Semin Thromb Hemost.* 2000;26(2):179–184.
91. Shapiro AD. Long-acting recombinant FVIII products. *Ther Adv Hematol.* 2021;12:20406207211024680.

92. Shima M, Pipe SW, Mahlangu J, et al. HAVEN 6: emicizumab prophylaxis in mild-to-moderate hemophilia A. *Thromb Haemost.* 2021;121(9):1113–1123. doi:10.1055/a-1506-7879.
93. Santagostino E, Ogiwara K, Peyvandi F, et al. Thrombophilic factors in hemophilia. *Haemophilia.* 2022;28(6):1153–1163. doi:10.1111/hae.14672.
94. Smith C, Johnson A, Wang L, et al. Emicizumab for children with hemophilia A: systematic review and meta-analysis. *Haemophilia.* 2022;28(4):569–576. doi:10.1111/hae.14492.
95. Shapiro AD, Recht M, Valentino LA, et al. Immune tolerance induction in hemophilia A. *Haemophilia.* 2018;24(1):e18–e26. doi:10.1111/hae.13407. PMID:29178402.
96. Soucie JM, Nuss R, Evatt B, et al. Mortality among males with hemophilia. *Blood.* 2000;96(2):437–442.
97. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH guidelines for the management of hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia.* 2020;26(Suppl 6):1–158. doi:10.1111/hae.14046.
98. Tarride JE, Okoh A, Aryal K, et al. Improving the quality of rare disease registries: scoping review. *Orphanet J Rare Dis.* 2024;19(1):187. doi:10.1186/s13023-024-03193-y. PMID:38711103.
99. Taylor M, Evans J, Smith A, et al. Advances in hemophilia gene therapy: a pediatric perspective. *Mol Ther.* 2023;31(3):744–755. doi:10.1016/j.ymthe.2022.12.007.
100. Ten Ham RMT, Walker SM, Soares MO, et al. Modelling benefits, costs and affordability of gene therapy in hemophilia A. *HemaSphere.* 2022;6(2):e679. doi:10.1097/HS9.0000000000000679.
101. Pipe SW, Shima M, Lehle M, et al. Efficacy, safety, and pharmacokinetics of emicizumab prophylaxis in persons with hemophilia A without inhibitors. *Blood.* 2019;134(22):1973–1981. doi:10.1182/blood.2019001869. PMID:31511206.
102. Public Health England. X-linked recessive inheritance pattern: hemophilia A and B. Genomics Education Programme, NHS. 2021. Disponibil la: <https://www.genomicseducation.hee.nhs.uk>. Accesat la: 15.12.2025.
103. Palla R, Peyvandi F, Shapiro AD. Rare bleeding disorders: diagnosis and management. *Blood.* 2015;125(13):2052–2061. doi:10.1182/blood-2014-08-532820.
104. Pipe SW, Shima M, Lehle M, et al. Once-weekly subcutaneous emicizumab prophylaxis in hemophilia A with inhibitors (HAVEN 4): a multicentre, open-label, phase 3 study. *Lancet Haematol.* 2020;7(6):e468–e478. doi:10.1016/S2352-3026(20)30117-4.
105. Pipe SW, Trzaskoma B, Minhas M, et al. Efficacy of emicizumab is maintained throughout dosing intervals for bleed prophylaxis. *Res Pract Thromb Haemost.* 2023;7(2):100077. doi:10.1016/j.rpth.2023.100077.
106. Plug I, van der Bom JG, Peters M, et al. Mortality and causes of death in patients with hemophilia in the Netherlands. *Blood.* 2006;108(4):1238–1244.
107. Rangarajan S, Walsh L, Lester W, et al. AAV5–factor VIII gene transfer in severe hemophilia A. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2519–2530.
108. Roberts C, Smith K, Lee A, et al. Pediatric hemophilia: new treatment approaches and challenges. *Curr Opin Hematol.* 2022;29(5):332–340. doi:10.1097/MOH.0000000000000774.
109. Rodak BF, Fritsma GA, Doig K. *Hematology: Clinical Principles and Applications.* 5th ed. St. Louis: Elsevier; 2016.
110. Santagostino E, Mancuso ME. Inhibitor development in children with severe hemophilia A: time to rethink the treatment paradigm? *Br J Haematol.* 2017;176(2):162–170.
111. Santagostino E. Emicizumab: a novel treatment for hemophilia A. *Expert Opin Biol Ther.* 2018;18(5):525–533.
112. Shapiro AD. Antibodies to factor VIII and factor IX: management. *Semin Thromb Hemost.* 2000;26(2):179–184.
113. Shapiro AD. Long-acting recombinant factor VIII products in hemophilia A. *Ther Adv Hematol.* 2021;12:20406207211024680.

114. Shima M, Pipe SW, Mahlangu J, et al. HAVEN 6 study: efficacy and safety of emicizumab prophylaxis in mild to moderate hemophilia A without inhibitors. *Thromb Haemost.* 2021;121(9):1113–1123. doi:10.1055/a-1506-7879.
115. Santagostino E, Ogiwara K, Peyvandi F, et al. Thrombophilic factors and their relevance in hemophilia. *Haemophilia.* 2022;28(6):1153–1163. doi:10.1111/hae.14672.
116. Smith C, Johnson A, Wang L, et al. Efficacy and safety of emicizumab in children with hemophilia A: systematic review and meta-analysis. *Haemophilia.* 2022;28(4):569–576. doi:10.1111/hae.14492.
117. Shapiro AD, Recht M, Valentino LA, et al. Immune tolerance induction for inhibitors in hemophilia A: current status and future directions. *Haemophilia.* 2018;24(1):e18–e26. doi:10.1111/hae.13407. PMID:29178402.
118. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia.* 2013;19(1):e1–e47. doi:10.1111/hae.12046. PMID:23205798.
119. Soucie JM, Nuss R, Evatt B, et al. Mortality among males with hemophilia: relations with source of medical care. *Blood.* 2000;96(2):437–442.
120. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH guidelines for the management of hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia.* 2020;26(Suppl 6):1–158. doi:10.1111/hae.14046. PMID:32777811.
121. Prevention of inhibitors in hemophilia. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04303559. Bethesda (MD): U.S. National Library of Medicine. Disponibil la: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04303559>. Accesat la: 15.12.2025.
122. Șirocova N, Vicol M, Barbacaru N, Țurea V. Utilizarea metodelor biochimice și molecular-genetice în diagnosticul hemofiliei în Republica Moldova. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei.* 2010;3(1):228–230.
123. Țurea V, Eșanu G, Vicol M, et al. Protocol clinic național: Hemofilia la copil (PCN-108). Chișinău: Ministerul Sănătății al Republicii Moldova; 2022.
124. Tagariello G, Halimeh S, Kosch A, et al. Multicentre study on the frequency of FVIII gene inversions in severe hemophilia A. *Haemophilia.* 2007;13(5):606–612.
125. Tarride JE, Okoh A, Aryal K, et al. Scoping review of recommendations for improving rare disease registries. *Orphanet J Rare Dis.* 2024;19(1):187. doi:10.1186/s13023-024-03193-y. PMID:38711103.
126. Taylor M, Evans J, Smith A, et al. Advances in hemophilia gene therapy: a pediatric perspective. *Mol Ther.* 2023;31(3):744–755. doi:10.1016/j.ymthe.2022.12.007.
127. Ten Ham RMT, Walker SM, Soares MO, et al. Modelling benefits, costs and affordability of novel gene therapy in hemophilia A. *HemaSphere.* 2022;6(2):e679. doi:10.1097/HS9.0000000000000679.
128. Thomas P, Walker E, Davis N, et al. Clinical management of pediatric hemophilia: current guidelines and future directions. *Hematology.* 2023;28(4):317–324. doi:10.1080/10245332.2023.2172454.
129. Trinchero A, Sholzberg M, Matino D. Evolution of hemophilia care: clinical and laboratory advances. *Hamostaseologie.* 2020;40(3):311–321. doi:10.1055/a-1175-6530. PMID:32726826.
130. Villoutreix BO, Ngo JCK, Owens R, et al. Crystal structure of human factor VIII and implications for factor IXa–factor VIIIa complex formation. *Structure.* 2008;16(4):597–606. doi:10.1016/j.str.2008.03.001.
131. Valentino LA. Individualizing prophylaxis in patients with hemophilia A. *Haemophilia.* 2014;20(5):607–615.
132. Van den Berg HM, Fischer K, Carcao M. Timing of inhibitor development in hemophilia. *Blood.* 2021;137(19):2731–2734.
133. White GC 2nd, Rosendaal F, Aledort LM, et al. Definitions in hemophilia. *Thromb Haemost.* 2001;85(3):560.

134. Williams K, Anderson R, Bell K, et al. Gene therapy in hemophilia: clinical outcomes and future perspectives. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2024;38(1):155–170. doi:10.1016/j.hoc.2023.08.005.
135. World Federation of Hemophilia. Guidelines for the Management of Hemophilia. 3rd ed. Montreal: World Federation of Hemophilia; 2020. Disponibil la: <https://www.wfh.org/publications/files/pdf-1863.pdf>. Accesat la: 20.12.2025.
136. Wright S, Patel A, Lee K, et al. Long-term follow-up of pediatric patients receiving prophylaxis: results from the PROTECT study. *J Hematol Oncol.* 2024;17(1):45–53. doi:10.1186/s13045-023-01510-9.
137. Young G, Liesner R, Chang T, et al. Efficacy of emicizumab prophylaxis in children with hemophilia A with inhibitors (HAVEN 2). *Blood.* 2019;134(24):2121–2130. doi:10.1182/blood.2019002338.
138. Zourikian N, Feldman BM, Funk SM, et al. Development and validation of the Hemophilia Joint Health Score v2.1. *Haemophilia.* 2011;17(5):863–870. doi:10.1111/j.1365-2516.2011.02545.x.
139. Wakabayashi H, Fay PJ. Molecular structure and function of factor IX and factor IXa. *Blood Rev.* 2022;56:100967. doi:10.1016/j.blre.2022.100967.

Anexa 1. Evidența pacienților spitalizați cu Hemofilie din instituțiile medico-sanitare publice spitalicești în Republica Moldova. Baza de date pe platforma website-ului „Registrul electronic al pacienților cu hemofilie în Republica Moldova”

Hemofilie

Principala

Pacient Nou

Statistici

Iesire

Nume Prenume

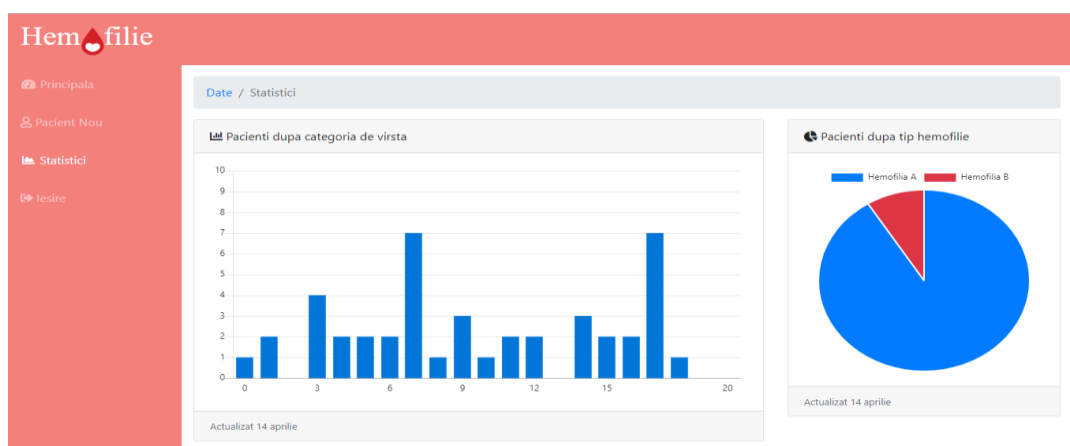
Tip de hemofilie

Forma de severitate

Cauta

Pacienti

Nume	Virsta	Sex	Diagnostic	Forma de severitate	Adresa
Ademy Alexei	2010-07-01	M	Hemofilia A	severa	or.Chişinău, str. Munceşti 242 ap.4
Avram Denis Vitalie	2000-10-01	M	Hemofilia A	severa	r.laloveni, s.Horaşti
Bobin Nicolae Nicolai	2000-08-07	M	Hemofilia A	severa	or.Rişcani, str.Lermontov 160
Bolou Vladislav Vitalie	2006-06-04	M	Hemofilia A	usoara	or.Bălţi, str.Alexandru cel Bun 44 ap5
Borezlojan Maxim Vladimir	2013-02-01	M	Hemofilia A	moderata	or.Orhei, str. Negruzzi 111A ap 10
Clampa Denis Ion	2003-01-31	M	Hemofilia A	moderata	or.Rîbniţa
Cojoacea Andrian Andrei	2007-10-26	M	Hemofilia A	moderata	r.Făleşti, s.Ştefăneşti
Costaşenco Alexandru Vasilii	2014-08-28	M	Hemofilia A	severa	or.Rîbniţa, str.Şevcenko 23
Crovenco Dan	2002-10-26	M	Hemofilia B	usoara	Transnistria, s.Slobozia, str.COsmoşnauţilor 31



Monitorizarea atentă a pacienților cu mutații Intron 22: din cauza prevalenței acestei mutații în formele severe de hemofilie A, pacienții cu hemofilia A ar trebui monitorizați atent pentru a preveni complicațiile și pentru a ajusta tratamentele în funcție de evoluția clinică, având în vedere riscul crescut de dezvoltare a inhibitorilor.

Hemofilie

Principala Pacient Nou Statistici Iesire

Datele Pacientului

Nume

Prenume

Data nasterii

Sex

Adresa

Nr.Mobil

Email

Diagnostic

Anul

Gradul de severitate

Factorul 8/9

Mutatia cromozomala

Particularitati de evolutie

Lightshot

Скриншот сохранен в Screenshot_2.png. Кликните для открытия папки со скриншотом.

Anexa 2. Certificate de Inovator



Anexa 3. Acte de implementare a inovației

	INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA	Pag. 1 / 1
Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate		
APROB		
Prorector pentru activitate de cercetare, USMF "Nicolae Testemițanu" din RM academician al ASM prof. univ., dr. hab. șt. med.		
 Stanislav GROPPA 2023		
ACTUL nr.96 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI (în procesul științifico-practic)		
1. Denumirea ofertei pentru implementare: "ALGORITMUL DE DIAGNOSTIC AL FORMEI DE HEMOFILIE INHIBITORIE LA COPII ÎN REPUBLICA MOLDOVA"		
2. Autori: AGACHI Dorina, medic, doctoranda, ȚUREA Valentin, dr. hab. șt. med., prof. univ., EȘANU Galina, dr. șt. med., conf. univ., MALAI Olga, medic		
3. Numărul inovației: Nr. 6066 din 30 Mai 2023		
4. Unde și când a fost implementată: IMSP Institutul Mamei și Copilului, mun. Chișinău, în perioada anilor 2018 – 2023 aa.		
5. Eficacitatea implementării: Avantajele algoritmului propus constau în optimizarea metodelor de tratament al pacienților cu Hemofilie forma inhibitorie cu reducerea riscului de apariție a recidivelor manifestate prin hemoragii, ameliorarea calității vieții pacienților și sporirea ratei de supraviețuire cu diminuarea mortalității cauzate de complicațiile hemoragice.		
6. Rezultatele: Valoarea aplicativă a acestei metode se regăsește în activitatea științifică – constituirea unui algoritm de investigații pentru a înregistra titrul Anticorpilor contra factorului VIII, astfel reorientarea corectă în modulul conduitei medicale selectate și optimizarea controlului asupra hemoragiilor recidivante la acești pacienți; ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a studenților/rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și hematologie pediatrică; activitatea practică – rezultatele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Hematologi a IP USMF "N. Testemițanu" din cadrul IMSP Institut Mamei și Copilului, argumentând utilitatea acestora în algoritmul de evaluare a pacienților cu artrită juvenilă idiopatică..		
<i>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.</i>		
Șef departament, Departamentul Cercetare, dr. hab. șt. med., conf. univ.		Elena RAEVSCHI
Director IMSP Institutul Mamei și Copilului dr. șt. med., conf. univ.		Sergiu GLADUN



INSTITUȚIA PUBLICĂ
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA

Pag. 1 / 1

Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate

APROB

Prorector pentru activitate de cercetare,
USMF „Nicolae Testemițanu” din RM
academician al ASM,
prof. univ., dr. hab. șt. med.

Stanislav GROPPA
18.11.2023

ACTUL nr. 95
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic)

1. Denumirea ofertei pentru implementare: "Evidența pacienților spitalizați cu Hemofilie din instituțiile medico-sanitare publice spitalicești în Republica Moldova. Baza de date pe platforma Web-site "Registrul electronic al pacienților cu Hemofilie în Republica Moldova"

2. Autori: AGACHI Dorina, medic, doctoranda, ȚUREA Valentin, dr. hab. șt. med., prof. univ., EȘANU Galina, dr. șt. med., conf. univ., MALAI Olga, medic

3. Numărul inovației: Nr. 6065 din 30 Mai 2023

4. Unde și când a fost implementată: IMSP Institutul Mamei și Copilului, mun. Chișinău, în perioada anilor 2018 – 2023 aa.

5. Eficacitatea implementării: Eficacitatea implementării Registrului constă în concentrarea informațiilor despre hemofilie într-un registru online la nivel național astfel se cresc oportunitățile de supraveghere continuă din secția de hematologie a IM și C pentru pacienții cu vârsta până la 18 ani și ulterior în secția hematologie a Institutului Oncologic; creșterea gradului de standardizare a îngrijirii persoanelor cu hemofilie și creșterea conștientizării în rândul profesioniștilor din domeniul sănătății în Republica Moldova.

6. Rezultatele: Un alt avantaj al platformei Web-site constă în vizualizarea imediată a internărilor precedente împreună cu toate rezultatele investigațiilor și tratamentului efectuat, în evaluarea stării de sănătate și aprecierea calității vieții pacienților, astfel se obțin materiale didactice complexe pentru procesul de instruire a studenților/rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și hematologie pediatrică; activitatea practică – crearea Bazei de date va îmbunătăți activitatea Clinicii de Hematologie a IP USMF "N. Testemițanu" din cadrul IMSP Institutul Mamei și Copilului, argumentând utilitatea acesteia în procesul de evaluare a pacienților cu hemofilie.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Șef departament, Departamentul Cercetare,
dr. hab. șt. med., conf. univ.

Elena RAEVSCHI

Director IMSP Institutul Mamei și Copilului
dr. șt. med., conf. univ.

Sergiu GLADUN

2023

Anexa 4. Scoruri utilizate în evaluarea articulațiilor la pacienții cu hemofilie

Scorul Gilbert: este un instrument semistructurat utilizat pentru a evalua afectarea articulară cronică la pacienții cu hemofilie. Se evaluează 6 articulații (genunchi, gleznă, cot – bilateral), iar fiecare este punctată în funcție de parametrii clinici [139].

Parametru evaluat	Punctaj
Umflare persistentă	0–3
Atrofie musculară	0–2
Crepitații la mișcare	0–2
Limitarea extensiei	0–3
Limitarea flexiei	0–3
Instabilitate articulară	0–2
Durere la mobilizare activă/pasivă	0–1
Contractură în flexie	0–2
Deformare axială	0–2

Interpretarea Scorului Gilbert:

Scor total	Grad afectare	Semnificație clinică
0 – 3	Absentă sau minimă	Articulații sănătoase sau cu afectare minimă
4 – 12	Ușoară	Modificări minore, fără impact funcțional major
13 – 36	Moderată	Artropatie evidentă, limitări funcționale parțiale
>36	Severă	Afectare marcată, cu limitare funcțională importantă

HJHS – Hemophilia Joint Health Score (v2.1): este un instrument standardizat pentru evaluarea sănătății articulațiilor la copiii cu hemofilie. Evaluează 6 articulații (coate, genunchi, glezne) și include parametri multipli, plus scor de mers [139].

Parametru evaluat	Scor
Umflare	0–3
Durere	0–2
Atrofie musculară	0–2
Limitarea flexiei	0–2
Limitarea extensiei	0–2
Forță musculară	0–4
Crepitații	0–2
Mers (scor suplimentar)	0–4

Interpretarea scorului total HJHS:

Scor total	Grad afectare articulară	Semnificație
0 – 5	Fără afectare sau minimă	Articulații sănătoase, fără modificări clinice
6 – 20	Afectare ușoară	Modificări discrete, dar detectabile clinic
21 – 40	Afectare moderată	Probleme funcționale prezente
> 40	Afectare severă	Artropatie avansată cu impact funcțional semnificativ

LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI PARTICIPĂRIILOR LA FORUMURI ȘTIINȚIFICE

a dnei Dorina Agachi, absolventa doctoratului, Departamentul de Pediatrie,

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie *Nicolae Testemițanu*

din Republica Moldova

publicate la tema de doctor în științe medicale

Diagnosticul biochimic, genetic și programe terapeutice ale hemofiliei la copii,

specialitatea 322.01 - Pediatrie și neonatologie

Lucrări științifice

- **Contribuții în monografie:**

1. Agachi D. Hemofilia: problemă medico-socială, pp. 307-323. În: Mazur-Nicorici Lucia, Diaconu Camelia Cristina, Compendiu de Boli Rare. Chișinău: Tipografia Impresum; 2020, 506 p. ISBN 978-9975-3426-6-7.

- **Articole în reviste științifice peste hotare:**

✓ **articole în reviste ISI, SCOPUS și alte baze de date internaționale**

2. Agachi D., Țurea V., Esanu G. The comparative study between treatment with Cryoprecipitate and recombinant Factor VIII in Hemophilia in children. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*. 2024; 20(01): 483–493. eISSN: 2582-5542, doi: 10.30574/wjbphs.2024.20.1.0793.
3. Agachi D., Țurea V., Esanu G. Vaccination in Hemophilic Children: Challenges, Innovations, and Future Directions. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*. 2024; 20(02), 162-170. eISSN: 2582-5542, doi: 10.30574/wjbphs.2024.20.2.0863.

- **Articole în reviste științifice naționale acreditate:**

✓ **articole în reviste de categoria B**

4. Agachi D., Țurea V., Mihalachi-Anghel M. Hemofilia la pacient de sex feminin – prezentare de caz. *Buletin de Perinatologie*. 2019; 2(83): 108-111. ISSN 1810-5289.
5. Agachi D., Țurea V., Esanu G. Inhibitory hemophilia: contemporary treatment with emicizumab. Considerations for pediatric practice. *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2024;11(2): 43-51. ISSN 2345-1467.
6. Agachi D., Țurea V., Esanu G. The Interrelationship of Clinical and Paraclinical Parameters Depending on Disease Severity in Children with Hemophilia. *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2025; 12(1): 3-8. ISSN 2345-1467.

- **Articole în lucrările conferințelor științifice:**

✓ **Rezumate/teze în lucrările conferințelor științifice naționale și internaționale**

7. Agachi D., Sirocov N., Țurea V., Ușurelu N., Esanu G., Mihalachi-Anghel M. Profilul genetic al hemofiliei la copii în Republica Moldova. În: Volumul de Rezumate al

- Conferinței Naționale de Pediatrie: Ghiduri și Protocoale în Pediatrie. București; 2020, p. 55. ISSN1454-0398/ e-ISSN 2069-6175/ ISSN-L 1454-0398 CNCSIS/CNCS Code 767.
8. Agachi D., Turea V., Mihalachi-Anghel M., Eșanu G. Models of Treatment to children with Hemofily. In: Proceedings Book volume-1 Middle East Conference on Contemporary Scientific Studies-V. Ankara; 2021, pp. 418-419, ISBN-978-625-7898-38-6.
 9. Agachi D., Turea V., Mihalachi-Anghel M., Eșanu G. Kinetoterapeutic treatment of children with Hemofily. In: Proceedings Book volume-1 Middle East Conference on Contemporary Scientific Studies-V. Ankara; 2021, pp. 420-421, ISBN-978-625-7898-38-6.
- **Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții:**
 10. Agachi D., Turea V., Eșanu G., Malai O. Evidența pacienților spitalizați cu hemofilie din instituțiile medico-sanitare publice spitalicești în Republica Moldova. Baza de date pe platforma site-ului „Registrul electronic al pacienților cu hemofilie în Republica Moldova”. Certificat de inovator nr. 6065, 2023.05.30.
 11. Agachi D., Turea V., Eșanu G., Malai O. Algoritm de diagnostic al formei de hemofilie inhibitorie la copii în Republica Moldova. Certificat de inovator nr. 6065, 2023.05.30.

Lucrări științifico-metodice și didactice

✓ Protocoale clinice:

12. Turea V., Eșanu G., Popovici E., Balanuța A., Agachi D. Protocolul clinic național-108, „Hemofilia la copii”. Chișinău, 2022. 38 pp.

• Participări cu comunicări la forumuri științifice:

✓ Internaționale

13. Agachi D., Sirocov N., Turea V., Ușurelu N., Eșanu G., Mihalachi M. Profilul genetic al hemofiliei la copii în Republica Moldova. Al 2-lea Workshop Româno-Moldovean de Hematologie Clinică și Medicină Transfuzională. Tulcea, România, 8-10 iunie 2018.
14. Agachi D., Sirocov N., Turea V., Ușurelu N., Eșanu G., Mihalachi-Anghel M. Modificările genetice în hemofilie. Conferința Națională de Pediatrie „Ghiduri și Protocoale în Pediatrie”. București, România, 7-10 octombrie 2020.
15. Agachi D., Turea V., Mihalachi-Anghel M., Eșanu G. Models of Treatment to children with Hemofily. Middle East Conference on Contemporary Scientific Studies-V. Ankara, Turcia, 27-28 martie 2021.
16. Agachi D., Turea V., Mihalachi-Anghel M., Eșanu G. Kinetoterapeutic treatment of children with Hemofily. Middle East Conference on Contemporary Scientific Studies-V. Ankara, Turcia, 27-28 martie 2021.

✓ Naționale cu participare internațională

17. Turea V., Agachi D. Starea serviciului hematologic în asistența medicală a copiilor cu hemofilie. Conferința Științifico-Practică „Hemofilia – de la studii clinice la practică clinică”. Chișinău, 16 mai 2019.
18. Turea V., Agachi D. Hemofilia la copii – actualități și provocări în forma inhibitorie. Conferința „Actualități în Hematologie”. Chișinău, 3 octombrie 2023.

✓ Naționale

19. Agachi D., Turea V. Criterii de eficiență în tratamentul hemofiliei. Conferința națională „Ziua Bolilor Rare”. Chișinău, 28 februarie 2017.

20. Agachi D. Hemofilia – istoricul bolii prin prisma anilor. Conferința „Ziua internațională a hemofiliei”. Chișinău, 17 aprilie 2019.
21. Agachi D., Sirocov N., Țurea V., Ușurelu N., Esanu G., Mihalachi M. Rolul genetic al hemofiliei la copii în Republica Moldova. Conferința științifică anuală Zilele USMF „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 16-18 octombrie 2019.
- **Participări cu postere la foruri științifice:**
 - ✓ **Naționale cu participare internațională**
 22. Agachi D., Turea V., Mihalachi-Anghel M. Hemofilia la pacient de sex feminin. Conferința națională cu participare internațională Bienala Chișinău-Sibiu, ediția a III-a, „Interdisciplinaritate în bolile infecțioase pediatrice”. Chișinău, 16-18 mai 2019.
 - ✓ **Internaționale**
 23. Agachi D., Turea V., Mihalachi-Anghel M., Eșanu G. Modele de kinetoterapie a copiilor cu hemofilie. Conferința Națională Zilele Pediatriei Ieșene „N.N. Trifan”, Ediția a XXXIII-a. Iași, România, 13-15 mai 2021.
 24. Agachi D., Turea V., Mihalachi-Anghel M., Eșanu G. Modele de tratament la copiii cu hemofilie. Conferința Națională Zilele Pediatriei Ieșene „N.N. Trifan”, Ediția a XXXIII-a. Iași, România, 13-15 mai 2021.
 25. Agachi D., Turea V., Eșanu G. Hemofilia inhibitorie. Tratatamentul contemporan cu Emcizumab. Particularități pentru practica pediatrică. Conferința Națională de Pediatrie „Ghiduri și Protocoale în Pediatrie”. București, România, 3-7 aprilie 2024.

DECLARAȚIE

Prin prezenta, subsemnatul Dorina Agachi declar pe propria răspundere, că teza de doctor în științe medicale cu tema „Diagnosticul biochimic, genetic și programe terapeutice ale hemofiliei la copii” este elaborată de către mine personal, materialele prezentate sunt rezultatele propriilor cercetări, nu sunt plagiate din alte lucrări științifice și nu a mai fost prezentată la o instituție de învățământ superior din țară sau străinătate.

De asemenea declar, că toate sursele utilizate, inclusiv din Internet, sunt indicate în teza de licență, cu respectarea regulilor de evitare a plagiatului:

- ✓ toate fragmentele de text reproduse exact, chiar și în traducere proprie din altă limbă, sunt scrise cu referința asupra sursei originale;
- ✓ reformularea în cuvinte proprii a textelor altor autori deține referința asupra sursei originale;
- ✓ rezumarea ideilor altor autori deține referința exactă la textul original;
- ✓ metodele și tehnicile de lucru preluate din alte surse dețin referințe exacte la sursele originale.

Data

Doctorand

Dorina Agachi

Conducător de doctorat

Țurea Valentin,
Dr. hab. șt. med., prof. univ.

ADNOTARE

Dorina Agachi, „Diagnosticul biochimic, genetic și programe terapeutice ale hemofiliei la copii”, teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2026.

Structura tezei: Teza include 146 de pagini și constă din introducere, 6 capitole, discuții, concluzii generale, recomandări, bibliografie care citează 139 de titluri. Materialul iconografic conține: 37 de tabele, 15 de figuri, 4 anexe. Rezultatele științifice obținute au fost reflectate în 25 de lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: hemofilie, coagulare, factorul VIII, factorul IX, hemoragie, hemartroză, inhibitori, mutație molecular-genetică, TTPA, factor de substituție recombinat și liofilizat.

Domeniul de studiu: pediatrie și neonatologie – 322.01.

Scopul lucrării: Analiza manifestărilor clinice, a parametrilor biochimici și genetici în diagnosticul hemofiliei A și B la copii, cu scopul optimizării diagnosticului paraclinic și al ajustării unui model terapeutic individualizat, adaptat formei și severității bolii.

Obiectivele lucrării: Analiza manifestărilor clinice ale sindromului de hipocoagulare la copiii cu hemofilie; Determinarea nivelurilor cantitative și calitative ale factorilor de coagulare în hemofilia A și B la copii; Analiza relației dintre manifestările clinice (fenotip) și modificările genetice (genotip) în hemofilie la copii pentru aplicarea utilității diagnosticului genetic; Evaluarea prezenței inhibitorilor factorilor de coagulare VIII și IX la pacienții cu hemofilie și determinarea titrului acestora în contextul managementului terapeutic; Analiza comparativă a eficienței și siguranței terapiei de substituție cu factori VIII/IX liofilizat/recombinat și crioprecipitat în tratamentul hemofiliei pentru optimizarea abordării terapeutice a deficitului de factori de coagulare; Elaborarea Bazei de date pe platforma website-ului „Registrul electronic al pacienților cu hemofilie în Republica Moldova”.

Noutatea științifică a lucrării. Pentru prima dată în Republica Moldova a fost realizat un studiu amplu al pacienților pediatrici cu hemofilie, autorul concentrându-se pe evaluarea particularităților clinico-paraclinice, pe identificarea modificărilor genetice specifice; a fost efectuată analiza severității hemofiliei (evaluată prin date clinice și nivelurile factorilor VIII și IX), asociată cu mutațiile genetice identificate; s-a făcut titrarea inhibitorilor factorilor de coagulare VIII și IX la copiii cu hemofilie; a fost elaborată baza web pentru Registrul Național de Monitorizare a Pacienților cu Hemofilie din Republica Moldova.

Semnificația teoretică a lucrării. În premieră națională au fost analizate particularitățile clinico-paraclinice ale hemofiliei la copii în Republica Moldova, cu identificarea manifestărilor specifice în funcție de severitatea bolii; au fost identificate și clasificate mutațiile genetice asociate hemofiliei A și B, cu evidențierea frecvenței acestora în raport cu forma clinică (severă, moderată, ușoară); pentru prima dată a fost determinat titrul inhibitorilor factorilor de coagulare VIII și IX la copiii cu hemofilie; au fost analizate relațiile dintre datele genetice, titrul de inhibitori și severitatea manifestărilor clinice, oferind o bază teoretică pentru înțelegerea variabilității fenotipice a hemofiliei; propuse direcții moderne ale diagnosticului și ale managementului terapeutic al hemofiliei, bazate pe integrarea datelor clinice, genetice și imunologice; a fost elaborată baza web pentru Registrul Național de Monitorizare a Pacienților cu Hemofilie, care are scopul de a contribui la sistematizarea și uniformizarea datelor privind această patologie rară.

Valoarea aplicativă a lucrării. A fost fundamentată necesitatea testării genetice al hemofiliei A și B, cu scopul de a facilita identificarea timpurie a formelor severe. Rezultatele permit orientarea terapeutică personalizată, adaptată profilului genetic și imunologic al pacientului cu hemofilie. Determinarea titrului inhibitorilor factorilor de coagulare VIII și IX oferă suport esențial în prevenirea și managementul complicațiilor tratamentului de substituție, inclusiv în alegerea unor alternative terapeutice precum utilizarea emicizumab, un anticorp monoclonal bispecific care permite bypassarea factorului VIII și asigură un control eficient al hemoragiilor la pacienții cu inhibitori. Rezultatele obținute contribuie la optimizarea protocoalelor terapeutice și a strategiilor profilactice în hemofilia pediatrică. Elaborarea bazei web pentru Registrul Național de Monitorizare a Pacienților cu Hemofilie reprezintă un instrument aplicativ util pentru supravegherea continuă, evaluarea epidemiologică și planificarea tratamentului la pacientul cu hemofilie. Lucrarea oferă un suport științific valoros pentru elaborarea politicilor de sănătate publică privind bolile rare în Republica Moldova.

Implementarea rezultatelor. Rezultatele cercetării sunt integrate în practica secției de Hemopatii benigne din cadrul IMSP Institutul Mamei și Copilului și în practica clinicilor specializate ale IMSP Institutul Oncologic din Republica Moldova; în procesul didactic al USMF „Nicolae Testemițanu”, contribuind la pregătirea teoretică și practică a specialiștilor din domeniu.

ANNOTATION

Dorina Agachi, “Biochemical, genetic diagnosis and therapeutic programs in hemophilia in children”, doctoral thesis in medical sciences, Chişinău, 2026. The thesis comprises 146 pages and includes an introduction, 6 chapters, discussions, general conclusions, recommendations, a bibliography of 139 titles, and four appendices. The thesis is illustrated with 37 tables and 15 figures. The results obtained were published in 25 scientific papers.

Keywords: hemophilia, coagulation, factor VIII, factor IX, hemorrhage, hemarthrosis, inhibitors, molecular genetic mutation, APTT, recombinant and lyophilized substitution factor.

Field of study: pediatrics and neonatology – 322.01.

Aim of the study: To analyze the clinical manifestations, biochemical and genetic parameters in the diagnosis of hemophilia A and B in children, with the goal of optimizing paraclinical diagnosis and developing an individualized therapeutic model tailored to the form and severity of the disease.

Objectives of the study: To analyze the clinical manifestations of hypocoagulation syndrome in children with hemophilia; to determine the quantitative and qualitative levels of coagulation factors in hemophilia A and B in children; to analyze the relationship between clinical manifestations (phenotype) and genetic changes (genotype) in pediatric hemophilia to strengthen the utility of genetic diagnosis; to evaluate the presence of inhibitors to coagulation factors VIII and IX and to determine their titers in the context of therapeutic management; to conduct a comparative analysis of the efficacy and safety of substitution therapy using lyophilized/recombinant factor VIII/IX and cryoprecipitate in the treatment of hemophilia for optimizing the therapeutic approach to coagulation factor deficiency; to develop a database on the web platform “Electronic Registry of Patients with Hemophilia in the Republic of Moldova”.

Scientific novelty of the study. For the first time in the Republic of Moldova, a comprehensive study of pediatric patients with hemophilia was conducted, focusing on the evaluation of clinical and paraclinical features and the identification of specific genetic changes; the severity of hemophilia (assessed through clinical data and factor VIII and IX levels) was analyzed in association with the identified genetic mutations; titration of inhibitors to coagulation factors VIII and IX was performed in children with hemophilia; the database on the web platform „National Monitoring Registry of Patients with Hemophilia in the Republic of Moldova” was developed.

Theoretical significance of the study. For the first time at the national level, the clinical and paraclinical characteristics of hemophilia in children in the Republic of Moldova were analyzed, with the identification of specific manifestations according to disease severity; genetic mutations associated with hemophilia A and B were identified and classified, highlighting their frequency in relation to the clinical form (severe, moderate, mild); the titration of inhibitors to coagulation factors VIII and IX in children with hemophilia was performed for the first time; the relationships between genetic data, inhibitor titers, and the severity of clinical manifestations were analyzed, providing a theoretical foundation for understanding the phenotypic variability of hemophilia; modern directions in diagnosis and therapeutic management of hemophilia were proposed, based on the integration of clinical, genetic, and immunological data; the database on the web platform „National Monitoring Registry of Patients with Hemophilia” was developed, contributing to the systematization and standardization of data on this rare pathology.

Practical value of the study. The need for genetic testing in hemophilia A and B was substantiated, facilitating early identification of severe forms; the results allow for a personalized therapeutic orientation, adapted to the genetic and immunologic profile of the patient with hemophilia; the determination of inhibitor titers to coagulation factors VIII and IX provides essential support in preventing and managing complications of substitution therapy, including the selection of therapeutic alternatives such as the use of emicizumab, a bispecific monoclonal antibody that bypasses factor VIII and ensures effective control of bleeding in patients with inhibitors; the obtained results contribute to the optimization of therapeutic protocols and prophylactic strategies in pediatric hemophilia; the development database on the web platform of the „National Monitoring Registry of Patients with Hemophilia” represents a useful practical tool for continuous monitoring, epidemiological evaluation, and treatment planning for patients with hemophilia; the thesis offers a valuable scientific resource for the development of public health policies concerning rare diseases in the Republic of Moldova.

Implementation of results. The research results have been integrated into the practice of the Benign Hemopathies Department of the Mother and Child Institute and the specialized clinics of the Oncological Institute in the Republic of Moldova, as well as in the educational process at the “Nicolae Testemiţanu” State University of Medicine and Pharmacy, contributing to the theoretical and practical training of specialists in the field.