

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ПЕДИАТРИЯ**

Д-р Атанас Митков Банчев

**ВЛИЯНИЕ НА ТЕРАПЕВТИЧНИТЕ РЕЖИМИ ВЪРХУ
СТАВНИЯ СТАТУС ПРИ ПАЦИЕНТИ С ХЕМОФИЛИЯ**

Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен “доктор”
Област на висше образование: „Здравеопазване и спорт“
Научна област: „Медицина“
Научна специалност “Педиатрия”, шифър 03.01.50

Научни ръководители:

Проф. д-р Добрин Николов Константинов, дм
*Катедра по педиатрия, МУ-София
Клиника по детска клинична хематология и онкология
УМБАЛ “Царица Йоанна – ИСУЛ”, София*

Доц. др. мед. Анна Кръстева Павлова, дм
*Институт по експериментална хематология и
трансфузионна медицина, Университетска клиника Бон,
Бон, Германия*

София, 2019

*На моята пралея и кръсница Хелена Гасен,
без която нищо нямаше да бъде същото...*

Списък със съкращения

Съкращения на кирилица:

СЕ – ставна ехография
СПИН – Синдром на придобитата имунна недостатъчност
ТПН – терапия при нужда
Ф – фактор
ХА – Хемофилия А
ХВ – Хемофилия В
ХсХ – Хора с Хемофилия
ЯМР – ядрено-магнитен резонанс

Съкращения на латиница:

ABR - Annualized Bleeding Rate
aPTT – activated Partial Trombomodulin Time
aPCC – activated Protrombin Complex Concentrate
BU – Bethesda Unit
GS – Gilbert score
HEAD-US – Haemophilia early arthropathy detection by ultrasound
HJHS – Haemophilia Joint Health Score
HS - Haemophilia early arthropathy detection by ultrasound score
HLA – Human Leukocyte Antigen
IL - Interleukin
IgG – Immunoglobulin G
ISTH – International Society of Thrombosis and Haemostasis
jABR – joint Annualized Bleeding Rate
PT – Prothrombin Time
ROS – Reactive oxygen species
Rö – стандартна рентгенография
TNF – Tumor Necrosis Factor
TFPI – Tissue Factor Pathway Inhibitor
WFH – World Federation of Hemophilia

Съдържание

I.	Увод	1
II.	Литературен обзор	2
1.	Хемофилия	2
1.1	Дефиниция, епидемиология, исторически преглед	2
1.2	Хемостаза. Роля фактор VIII и фактор IX в хемостазата	3
1.3	Генетика на Хемофилията	6
1.4	Диагностика	7
1.5	Клинична картина	8
1.6	Терапия при Хемофилия	10
2.	Хемофилна артропатия	13
2.1	Синовит	14
2.2	Хрущялна дегенерация	15
2.3	Костна увреда	16
2.3	Механични факторни	17
3.	Клинична оценка и образна диагностика на хемофилната артропатия	18
3.1	Клинична оценка на ставната структура и функция	18
3.2	Стандартна рентгенография	19
3.3	Ядреномагнитен резонанс	20
3.4	Ставна ехография	20
4.	Предиктори и показатели на хемофилната артропатия	22
4.1	Годишна ставна честота на кървене (jABR)	22
4.2	Годишен разход на концентрат	23
4.3	Трафово ниво на фактор VIII/IX	23
	Заклучение и перспективи	24
III.	Цел и задачи	25
IV.	Клиничен материал и методи	27
1.	Клиничен контингент	27
1.1	Дизайн на проучването	27
1.2	Пациентски кохорти	27
1.3	Контролна група	27
2.	Методи	28
2.1	Анкетен метод	28
2.2	Лабораторни методи	29
2.3	Методи за оценка на ставния статус.	29
2.3.1	Клинична оценка на ставния статус - скала на Gilbert (Gilbert score)	29
2.3.2	Ехографска оценка на ставния статус	30

2.4 Дефиниция на събираните показатели	34
2.5 Статистически методи	35
V. Резултати	36
Пациенти	36
Задача 1	39
Задача 2	44
Задача 3	48
Задача 4	51
Задача 5	59
Задача 6	62
Задача 7	77
Задача 8	79
VI. Обсъждане	85
VII. Изводи	104
VIII. Препоръки	105
IX. Приноси	106
X. Публикации и участия в научни форуми	107
XI. Библиография	108

УВОД

Хемофилия А и В представляват вродени нарушения на кръвосъсирването, чиито главни клинични изяви включват кръвоизливи в големите стави в организма на човека. Глезенните, коленните и лакътните стави се засягат най-често от кръвоизливи в рамките на естествения ход на заболяването. С времето повтарящите се кръвоизливни епизоди в ставите причиняват развитие на хемофилна артропатия – основен фактор, определящ незадоволително качество на живот и болестност на пациентите с тежка и средно тежка форма на Хемофилия. Лечението на пациентите с Хемофилия варира от продължително профилактично лечение, целящо предотвратяване настъпването на нови ставни кръвоизливи, както и лечение на всеки отделен, новонастъпил кръвоизлив – „при нужда“.

Профилактичното лечение е приемано за основа на съвременната хемофилна терапия и се свързва с високи разходи. При деца, лекувани в държави с висок жизнен стандарт, ранното започване на профилактична терапия се превръща в „златен стандарт“, тъй като по този начин се осигурява задоволително ставно здраве. Макар високо ефективни, понастоящем използваните профилактични терапевтични схеми не предотвратяват напълно появата на артропатични изменения в дългосрочен аспект. Отчитаният брой ставни кръвоизливи, наред с данните от физикалния ставен статус и различните образни изследвания могат да служат като индикатор за оценка ефективността на провежданата терапия. Оптимални дългосрочни резултати могат да бъдат очаквани при индивидуализиране на терапевтичния подход въз основа на кръвоизливния профил на пациента, състоянието на опорно-двигателния апарат, нивото на физическата активност на индивида и фармакокинетичните характеристики на използвания за лечение коагулационен факторен концентрат.

ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1. ХЕМОФИЛИЯ

1.1. Дефиниция, епидемиология, исторически преглед

Хемофилията представлява наследствено заболяване, свързано с нарушения в кръвосъсирването в резултат на количествен или качествен дефицит на плазмените коагулационни фактори - фактор VIII (при Хемофилия А) и фактор IX (при Хемофилия В)¹. Приблизително 85% от пациентите, страдащи от Хемофилия са засегнати от Хемофилия А (ХА) и 15% от Хемофилия В (ХВ). Заболяването се унаследява по Х-рецесивен път и се проявява в ранна детска възраст като резултат на генни дефекти (мутации) в *гена за фактор 8* (ХА) и *фактор 9* (ХВ), локализирани на Х-хромозомата. Честотата на разпространение се определя на 1 на 5000 (ХА) и 1 на 30 000 (ХВ) живородени деца от мъжки пол².

Хемофилията се класифицира в три категории, според нивото (активността) на съответния фактор в кръвта - тежка форма (ФVIII/ФIX ниво под 1%), средно тежка форма (ФVIII/ФIX активност 1%- 5%) и лека форма (ФVIII/ФIX активност 6% - 40%)³. Липсата на съответния фактор (ФVIII/ФIX) води до нарушение в цялостната система на кръвосъсирване, клинично проявяващо се в силно изразена тенденция към развитие на кръвоизливи. На практика пациентите с тежка форма на Хемофилия проявяват симптоми, характеризиращи се с тежки, спонтанни кръвоизливи от ранно детство, най-често локализирани в опорно-двигателния апарат (мускули и големи стави)^{4,5}. Вътреставните кръвоизливи (т.н. хемартрози) предизвикват хипертрофия на ставната синовиална тъкан, нарушение целостта на ставния хрущял и постепенно развиваща се деструкция на ставата (т.н. хемофилна артропатия)^{6,7}. Макар и по-рядко кръвоизливите могат да засегнат централната нервна система с животозастрашаващ ефект⁴. Лечението на болестта се осъществява посредством т.н. субституционна терапия – преливане на препарати, съдържащи съответния липсващ коагулационен фактор, ФVIII или ФIX⁸.

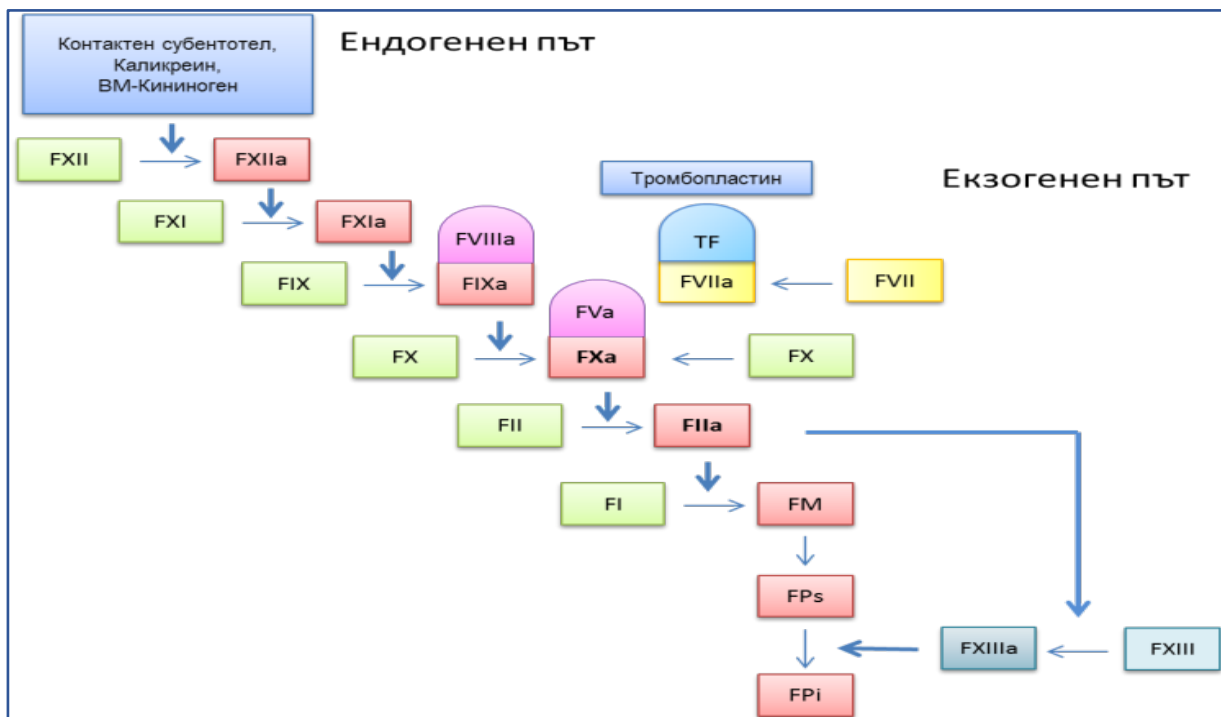
В исторически аспект информация за Хемофилия се открива още през 2 в. с.Хр., в еврейския Талмуд², в който се обяснява, че циркумсцизията на новородено момче трябва да бъде избягвана, ако неговите двама, по-големи братя са починали след провеждане на такава^{9,10}. Счита се, че модерното описание на Хемофилията се появява няколко века по-късно, през 1803 година, когато американският лекар Dr John Conrad Otto описва наследствено заболяване, засягащо само деца от мъжки пол, проявяващо се с кръвоизливи, което се предава от майка (не страдаща от кръвоизливи) на син¹¹. За първи път думата “Хемофилия“ се използва през 1928 от немския лекар Johann Lukas Schönlein в докторската работа на неговия студент Friedrich Hopff, озаглавена “Über die Hämophilie oder die erbliche Anlage zu tödtlichen Blutungen”¹². Много често Хемофилията погрешно е наричана “Кралската болест”, тъй като значителен брой членове на различни европейски кралски фамилии са засегнати от нея и при добре проследено генеологично предаване на наследствения ген се създава впечатление за приоритетна заболяемост. Установено е, че в благородническите фамилии заболяването води началото си от Кралица Виктория, Кралица на Англия. Кралицата разпространява болестта в кралските фамилии на Германия, Испания и Русия, предавайки дефектния ген чрез три от дъщерите си. През 2009 година е открит генният дефект във фамилията и е доказано, че “кралската болест” всъщност е XB¹³.

1.2. Хемостаза. Роля фактор VIII и фактор IX в хемостазата.

Хемостазата представлява система от физиологични процеси, които от една страна преустановяват кръвозагубата от наранена повърхност, а от друга поддържат кръвта в течно състояние, осигуряващо нормално кръвообращение. Три основни компонента играят главна роля в поддържане на този баланс - съдовия ендотел, тромбоцитите, както и плазмените фактори на кръвосъсирването и фибринолизата¹⁴. Първоначално, процесът на

кръвосъсирване започва с интеракцията на ендотела и тромбоцитите на мястото на тъканната увреда, т.н. първична хемостаза, която в последствие води до каскадно активиране на плазмените фактори на кръвосъсирването или вторичната хемостаза. Превръщането на протромбина в тромбин заема централно място в коагулационната каскада. Прясно образуваният тромбин води до формиране на фибринови мономери от молекулата на фибриногена и образуване на т.н. “тромбоцитна запушалка”¹⁵.

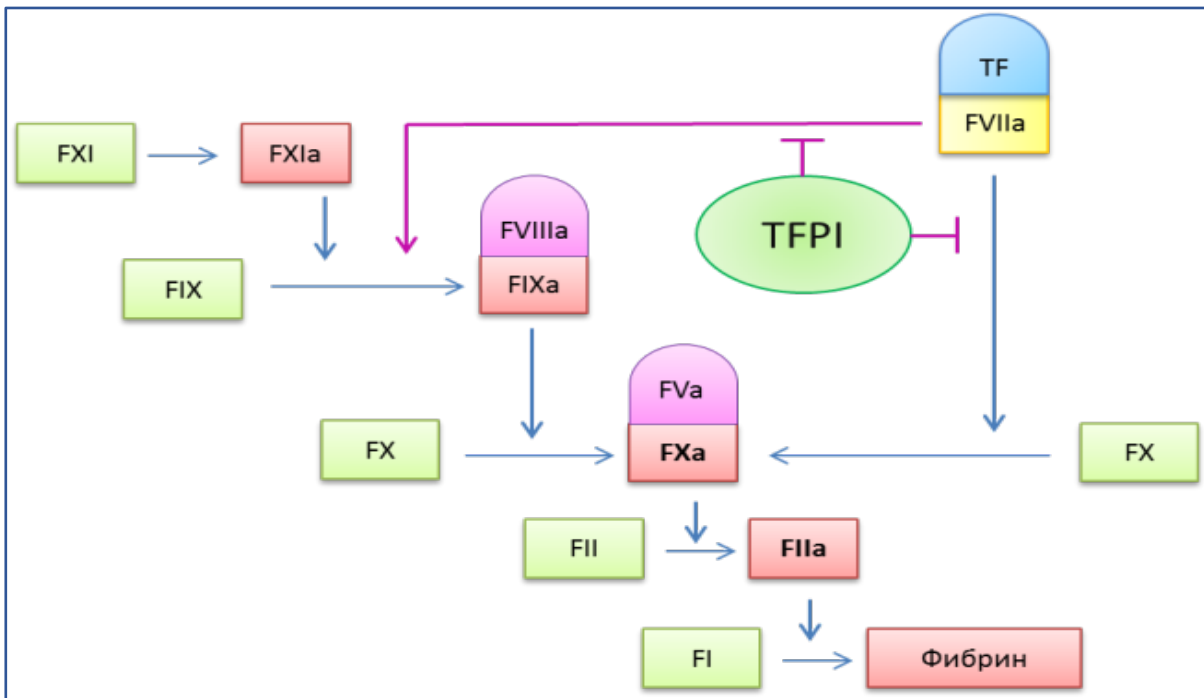
Класическата коагулационната каскада на кръвосъсирването се въвежда за първи път през 1964 от 2 независими изследователски групи^{16,17}. Според този модел активирането на един фактор на кръвосъсирването води до активиране на друг с крайна цел превръщането на протромбина в тромбин. Каскадният модел разделя процеса на кръвосъсирване на два основни пътя (Фиг.1): *вътрешен път*, при който всички компоненти са намират в кръвта и *външен път*, за активирането на който се изисква наличието на тъканен фактор. Инициране на кръвосъсирването чрез вътрешния път, или още наречен контактна система, започва с активирането на фактор XII от негативно заредена липидна повърхност или наличие на прекаликреин и високо молекулярни кининогени.



Фигура 1. Каскаден модел на кръвосъсирването.

Следва активиране на фактор XI, който от своя страна активира фактор IX. Активираният фактор IXa, фактор VIIIa, формират така наречения *теназен комплекс*, които води до активиране на фактор X и в последствие на тромбин. Скоростни изследвания доказват, че описваният ендогенен път на кръвосъсирването играе решаваща роля единствено *in vitro*.

По същността си коагулообразуването е далеч по-комплексно и свързано с множество връзки на активация и инхибиране¹⁸.



Фигура 2. Графично изображение на клетъчно базирания модел на хемостазата, включващ инициация, амплификация и пропация. TF – тъканен фактор; а – активиран; TFPI – tissue factor pathway inhibitor;

Съвременната представа за хемостазата преразглежда каскадния модел и се базира на друг т.н „клетъчен модел“¹⁹. При този модел процесът на хемостаза се описва в 3 припокриващи се фази – инициация, амплификация, пропация или образуване на фибрин¹⁸. Централно място в първата фаза заема тъканният фактор (TF), който се освобождава от ендотела при тъканна увреда, активира фактор VII и води до синтез на малки количества тромбин²⁰. Във фазата на амплификация фактор V активира фактор VIII. Във финалната и най-продължителната фаза - на пропацията - фактор XI активира фактор IX –

образувайки теназия комплекс с активирания фактор VIIIa и води до образуването на активиран фактор Ха, които от своя страна катализира производството на значителни количества тромбин. Тромбинът инициира превръщането на фибриногена във фибрин, формира и стабилизира тромба (фиг. 2). Липсата – количествена или качествена на ФVIII или ФIX води до невъзможно или до недостатъчно образуване на тромбин, резултирайки в неовладяеми кръвоизливи^{21,22}.

1.3 Генетика на Хемофилията

Появата и развитие на ХА и ХВ, като наследствени заболявания, се дължи на промени в гените, кодиращи фактор VIII и фактор IX. Двата гена (*Фактор 8* и *Фактор 9* гени) са локализирани върху дългото рамо на X-хромозомата, като *Фактор 8* генът заема позиция Xq281, а *Фактор 9* генът - Xq27.2^{23,24}. Тази локализация определя и X-свързаното предаване на заболяването и неговия рецесивен начин на унаследяване. Така, жените с кариотип 46:XX носят генетичния дефект без да проявяват клиничните характеристики на болестта и го предават на синовете си (46:XY кариотип), при които заболяването се манифестира. Описани са изключително редки случаи на жени²⁵ с Хемофилия, дължаща се на наличие на: 2 генетични дефекта, “non-random X chromosome inactivation” или промяна в броя на X хромозомите (Търнър синдром)^{26,27}. Независимо, че в по-голямата част от случаите, един и същи генетичен дефект се предава във фамилията, при 30% от заболелите мутациите са спонтанни или (de novo).

Генът на фактор 8 е значително по-голям от този на *фактор 9* (186 кб, 26 екзона и 34 кб и 8 екзона). Два допълнителни гена, *F8A8* и *F8B9*, са локализирани в структурата *гена на фактор 8*^{28,29}. Молекулярната база на наследствената Хемофилия е разкрита в изключително висока степен през последното десетилетие и повече от 3000 различни генетични мутации са открити и описани (<http://www.factorviii-db.org/>). Публикуваните данни разкриват един изключително широк спектър на генетични дефекти, обхващащ почти всички видове мутации – от точкови до големи генни делеции и инверсии. Интересно при ХА е, че при 50% от

случаите с тежка форма, заболяването се дължи на една и съща мутация - интрон 22 инверсия и в 5% на интрон 1 инверсия^{30,31}.

Провеждането на генетично изследване с цел установяване на каузална мутация при пациенти с Хемофилия е от изключително значение, тъй като се счита, че вида на генния дефект допринася около 40% за риска от развитие на инхибитори - изключително тежко терапевтично усложнение³². Допълнително идентифицирането на генетичния дефект би позволило ранното откриване на жени носителки и провеждане на адекватна генетична консултация.

1.4 Диагностика

Диагнозата Хемофилия се базира основно на 2 групи коагулационни тестове – скринингов - активирано парциално тромбoplastиново време (aPTT) и определяне на фактор VIII/IX остатъчна активност. Типично коагулационните скринингови тестове показват удължени стойности на aPTT при нормални стойности за PT (протромбиново време)³³. Измерването на фактор VIII/IX остатъчна активност потвърждава диагнозата и определя вида на Хемофилията – А или В. На базата на остатъчна коагулационна активност на факторите Хемофилията се класифицира в 3 основни форми: тежка, средно тежка и лека. Пациенти с фактор VIII/IX остатъчна активност 1% и под 1% се класифицират като тежка форма и представляват около половината от диагностицираните случаи. Средно тежка форма се дефинира при фактор VIII/IX остатъчна активност 1-5%, а лека – 5-40%³⁴.

Определянето на плазменото ниво на фактор VIII най-често се извършва чрез т.н. плазмен едностъпален метод, като допълнително би могъл да бъде използван също и хромогенен метод. Всъщност всички тези методи не дават възможност за точно определяне, когато плазменото ниво на фактор VIII е под 1%. Това налага т.н. глобални методи, включващи тромбин генерационен тест и тромбоеластография да бъдат използвани при определяне на фактор VIII активност в границите на 0-2%³⁵⁻³⁷. В 30% от случаите с лека Хемофилия определянето на фактор VIII активност показва несъответствие и създава условия

за пропускане или неправилно диагностициране на заболяването. Доказани са различни генетични дефекти, асоциирани с този феномен^{38,39}.

Всички витамин К-зависими фактори на кръвосъсирването, включително фактор IX показват намалени стойности при раждане, което изключително затруднява ранната диагноза на хемофилия В, особено при леките форми⁴⁰.

Генетичните изследвания остават златен стандарт за точна и своевременна диагностика⁴¹.

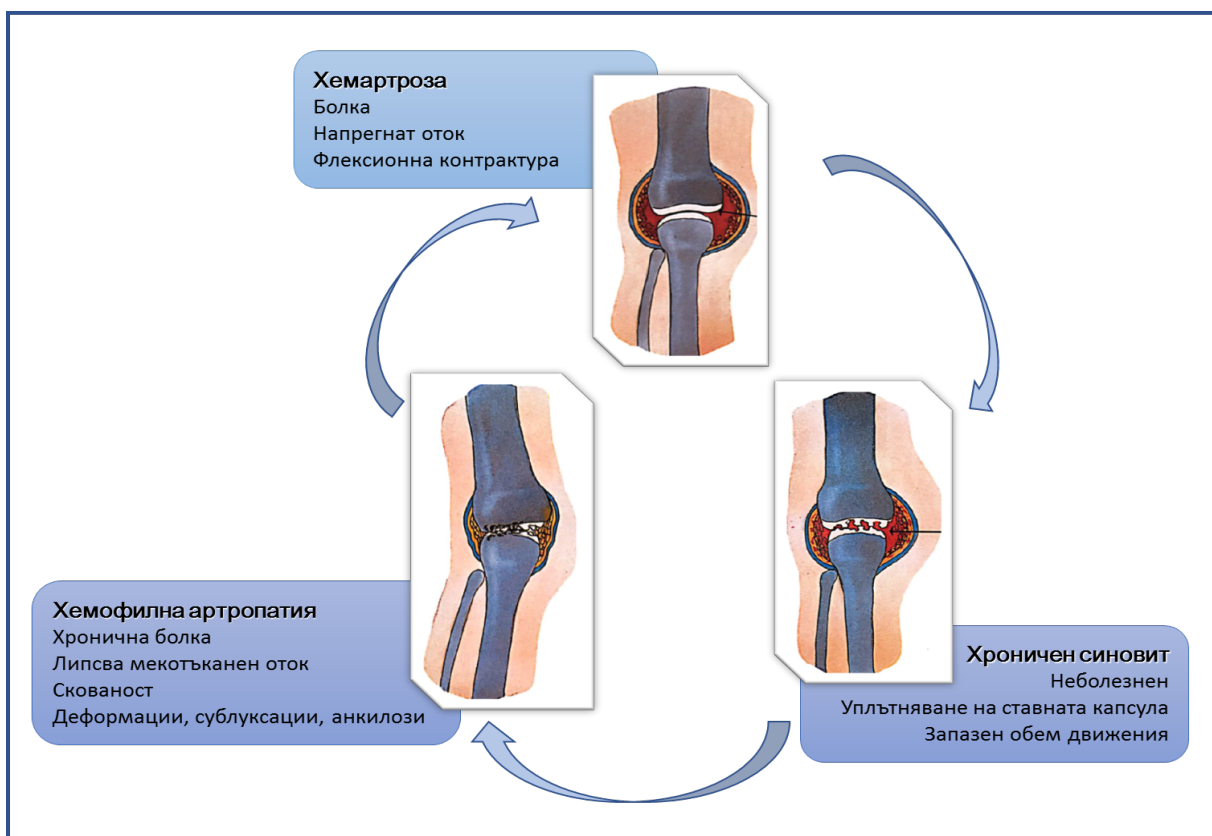
1.5 Клинична картина

Клиничните картини при хемофилия А и В са почти идентични въпреки редицата конфликтни данни, съобщени в литературата. Някои проучвания показват, че пациенти с ХВ проявяват по-ниска склонност към кървене и по-леко протичане на заболяването в сравнение с ХА^{42,43}, докато други описват сходство в тежестта, протичането и вида на кръвоизливите⁴⁴. Два основни фактора определят риска от настъпване на кръвоизливи, както при ХА така и при ХВ – степента на дефицит на съответния фактор и възрастта на пациента.

Най-чести и сериозни усложнения в неонаталната възраст при тежка форма на Хемофилия са интракраниалните хеморагии, засягащи 1-4% от новородените и водещи до трайни неврологични последици⁴⁵. В повечето случаи интракраниалните хеморагии са травматични, резултат на прилагане на форцепс, вакуум екстракция и др. травматични похвати при водене на раждането^{45,46}. При тежка Хемофилия, спонтанни кръвоизливи се откриват по долните крайници, в т. IIIorsoas и предмишницата⁴⁷. При почти половината от децата с тежка Хемофилия във възраст 6-8 месеца (с увеличение на физическата активност) се наблюдават хематоми и мускулни кръвоизливи⁴⁸.

Най-честа и типична манифестация на тежка форма на Хемофилия са спонтанните, вътреставни кръвоизливи - т.н. хемартрози. При пациенти с тежка Хемофилия първата поява на хемартрози обикновено се наблюдава във възрастта около 2 години⁴⁹. С напредване на възрастта ставните кръвоизливи нарастват от 21% при деца от 1-6 години, до 50% при пациенти на възраст 10-17 години и 60% при пациенти на възраст 18-65 години⁵⁰. Най-често засегнати са

глезенната, колянната и лакътната става – т.н. индексни стави⁵¹. Типичен за Хемофилията феномен е развитието на таргетни стави. Под това понятие се разбира става, засегната от повтарящи се кръвоизливи (три или повече спонтанни кръвоизливи за период от 6 последователни месеца), водещи до настъпване на патологични промени, в резултат на които засегната става е по-податлива на последващи кръвоизливи^{52,53}. Острата хемартроза се съпровожда със силна болка, дължаща се на повишаване на налягането в ставната кухина в следствие на излялата се кръв. Повтарящите се кръвоизливи водят до настъпване на хронично възпаление на синовиалната тъкан (синовит) с последващо засягане на ставния хрущял и костта. Ако настъпилният ставен кръвоизлив не бъде адекватно лекуван, в повечето случаи кървене настъпва отново, играейки роля на пусков механизъм в т.н. патологичен кръг⁵⁴ (фиг. 3).



Фигура 3. Патологичен кръг на ставната артропатия при Хемофилия. Описани са трите фази на ставно засягане с характерните им симптоми.

С течение на времето пациентите развиват клинични симптоми, изразяващи се в хронична болка, хронична ставна деформация, мускулна атрофия, значително

намаление обема на движение в ставата и настъпване на дегенеративна хемофилна артропатия, която в последствие оказва влияние върху цялостното здраве на пациентите и води до влошаване качеството им на живот^{49,55}. В този смисъл артропатията, като пряко следствие на Хемофилията, представлява основна причина за инвалидизиране, а ранното ѝ диагностициране и предотвратяване се явява основна цел на провежданата терапия⁵⁶⁻⁵⁸.

При пациенти със среднотежката форма спонтанните кръвоизливи са рядкост, ставни кръвоизливи настъпват след голямо, повтарящо се натоварване на опорно-двигателния апарат. Част от пациентите със среднотежка Хемофилия проявяват симптоми, сходни с тези на пациентите с тежка форма⁵⁹.

Леката форма на Хемофилия обикновено не се асоциира със спонтанни кръвоизливи. Кървене се описва единствено при травма или оперативна намеса⁶⁰.

1.6 Терапия при Хемофилия

Модерната терапия на Хемофилията има за цел да сведе до минимум броя на настъпващите кръвоизливи, да редуцира уврежданията на опорно-двигателния апарат и да предпази от настъпване на хемофилна артропатия, като по този начин максимално подобри качеството на живот на пациентите с Хемофилия⁶¹. По същността си съвременното лечение е заместително и се базира на интравенозни приложения на дефицитния фактор на кръвосъсирването, респективно ФVIII и ФIX, целящо да лекува настъпил вече кръвоизлив или предпази от появата на нов епизод на кървене. Общоприето в лечението при Хемофилия е, че терапията зависи от тежестта на заболяването, което от своя страна корелира с плазменото ниво и активност на ендогенния ФVIII и ФIX на дадения пациент.

В исторически план хемофилната терапия преминава през няколко важни периода: През 50-те години на XX век лечението се основава на преливане на прясно замразена плазма, последвано от откриването на криопреципитата през 1964 от Judit Pool - препарат съдържащ, наред с други плазмени протеини, концентрирано количество ФVIII или ФIX - в последствие наречен антихемофилен глобулин⁶². През 70-те до средата на 80-те години на XX век развитието на новите

технологии предоставя възможност за производство на концентрирани плазмени (получени от сборна, от много донори, плазма) препарати, съдържащи фактор VIII или IX във висока концентрация. Заразяването на почти 50% от болните с Хемофилия с кръвнопреносими инфекции (Хепатит и СПИН)⁶³ налага разработване на методи за инактивация на плазмените препарати и производство на нови, рекомбинантни препарати чрез биотехнологии. Днес в световен мащаб вирусноинактивираните и рекомбинантните фактори представляват основните средства за терапия на пациенти с ХА и ХВ⁶⁴.

Съществуват две различни терапевтични схеми за приложение на фактор VIII или IX концентрати с цел постигане на адекватна хемостаза. Лечение, приложено след настъпил вече кръвоизлив се нарича - "терапия при нужда" (ТПН), докато профилактичната (превантивна) терапия включва прилагане на заместително лечение при липса на кървене^{65,66}.

Терапия при нужда - При ТПН необходимата доза, броят на инфузиите, продължителността на лечението зависят от тежестта на заболяването (тежка, средно тежка, лека форма) и тежестта на кръвоизлива. През 2013 *World Federation of Haemophilia* публикува препоръки за подход при такива състояния³.

Профилактична терапия - Целта на профилактичната терапия при пациенти с тежка Хемофилия е да създаде възможност за нормален физически и психически живот без да съществува опасност от повтарящи се кръвоизливи⁶⁷. Най-общо тя може да бъде разделена на краткотрайна, ако е приложена за ограничен период от време, например с цел предотвратяване на кръвоизливи при хирургични интервенции, и дълготрайна, често доживотна, създаваща предпоставка за предпазване от спонтанни и травматични кръвоизливи.

По дефиниция, предложена от *Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis* дълготрайната профилактика, в зависимост от момента на започване на лечението, се класифицира в 3 групи - първична, вторична и третична⁵².

- *Първичната профилактика* - Първичната профилактика представлява терапия, започната в отсъствието на документирана остеохондрална ставна болест, преди втория клинично проявен кръвоизлив и/или преди възрастта от 3 години^{68,69}.

- *Вторичната профилактика* е лечението, започнато след два или повече ставни кръвоизлива, но също като при първичната профилактика – преди началото на ставната болест, документирана въз основа на физикален преглед или образни изследвания^{70,71}.

- *Третична профилактика* е лечение, започнато след дебюта на ставната болест, документирана чрез клинични/образни методи⁷².

Под „продължителна профилактика“ се разбира терапия с продължителност 52 седмици (годишно), изпълнявана по определен седмичен ритъм и дози⁷³. Според повечето експерти в областта на Хемофилията първичната профилактика трябва да бъде предпочитана пред всички останали терапевтични модалности⁷⁴.

Профилактичната терапия цели поддържане на минимално остатъчно ниво ФVIII или ФIX в плазмата над 1% и предотвратяване на спонтанни кръвоизливи. Редица проучвания показват, че профилактичната терапия намалява честотата на кървене с 90% в сравнение с ТПН. Предимството на профилактиката при Хемофилия А е доказано с изследователски методи в рамките на рандомизирани проспективни проучвания от последните няколко години⁷⁵. Данни, публикувани от Collins et al. показват, че при пациент с тежка Хемофилия, всеки прекаран час с ниво на ФVIII <1%, повишава годишната честота на кървене с 2.2% при деца от 1 до 6 години и с 1.4% при юноши и възрастни (възраст: 10–65)^{76,77}.

Множество различни профилактични режими са регистрирани дори в рамките на една и съща държава по отношение определянето на оптималния режим на профилактика. Профилактичната терапия обикновено се прилага в доза от 25–40 IU/kg 2-3 пъти седмично. Съществува и така нареченият нискодозов профилактичен режим, при които се използва дозировка 10–20 IU/kg два пъти седмично⁷⁸. В концепцията за профилактичната терапия заляга схващането, че

чрез равномерни приложения на една и съща доза препарат заболяване с тежък фенотип може да се трансформира в среднотечка Хемофилия, поддържайки плазмено ниво на фактор VIII/IX от $> 1\%$ ⁷⁹. В този смисъл един от най-важните показатели за успех на профилактичната терапия е така нареченото „trough level“ “трафово ниво” – нивото на фактор VIII/IX в плазмата, измерено преди следващото профилактично приложение на факторен концентрат⁸⁰. За да се постигне максимална полза от прилаганата терапия, целевите трафови нива на фактор VIII/IX между две профилактични апликации на концентрат трябва да бъдат поддържани над 1%. Обикновено такива нива на плазмен фактор VIII и IX се постигат чрез прилагане на фактор VIII в дозировка 25–50 IU/kg три пъти седмично или през ден⁵⁶, и 40–100 IU/kg фактор IX 2 до 3 пъти седмично. Дозировката на фактор VIII и IX се определя и зависи от времето на полуживот на фактор VIII и IX при съответния концентрат и индивидуалния фармакокинетичен профил на пациента^{81,82}.

2. ХЕМОФИЛНА АРТРОПАТИЯ

Ставният апарат се явява най-честата локализация на сериозни кръвоизливи при пациенти с Хемофилия⁸³. Независимо от постиженията в лечението на заболяването и прилагането на агресивен режим на заместителна терапия, спонтанни кръвоизливи настъпват при повечето пациенти с тежка Хемофилия^{56,84,85}. Не без значение остават и така наречените субклинични кръвоизливи, които също до голяма степен допринасят за настъпване на структурни увреди на ставата⁵⁶. В миналото, като най-често засегнати стави, при пациенти, при които не е прилаган профилактичен режим на лечение, се описват коленните стави (45%), последвани от лакътни (30%), глезенни (15%) и раменни (3%)⁸⁶. Понастоящем този модел е променен и глезенните стави се явяват най-честата локализация на кръвоизливите, резултат на повишената физическа активност на пациентите с профилактичен и домашен режим на лечение⁵¹.

Патогенезата на преминаването от повтарящи се хемартрози в хемофилна артропатия е комплексна, обхваща патологични промени, настъпващи в

синовиалната тъкан, костта, ставния хрущял и кръвоносните съдове. В същността си това е мултифакторен процес, включващ дегенеративни хрущялни и синовиално-възпалителни компоненти⁸⁷. Повтарящите се кръвоизливи предизвикват възпаление и пролиферация на синовията (хемофилен синовит), вътреставни увреждания, водещи до появата на хемофилната артропатия. Така, най-общо, хемофилната артропатия може да бъде представена с 2 главни характеристики – хроничен пролиферативен синовит и хрущялна деструкция⁸⁷. С напредване на Хемофилната артропатия настъпва засягане и на костта, където балансът между остеокластната костна резорбция и остеобластното костно формиране води до цялостно ремоделиране на костта⁷. Подобно на полиставно заболяване артропатията при Хемофилия се проявява с оток, ставна скованост, хронична болка и силно ограничение в обема на движение на ставата⁸⁸. В най-тежките случаи, костите анкилозират (срастват) и се достига до напълно деформирана и инвалидизирана става. Шест годишно лонгитудинално проучване на Aledort LM показва, че 90% от пациентите с тежка хемофилия показват хронични дегенеративни промени в поне от една от 6 те големи стави (глезени, колена, лакти) във възраст до 25 години⁸⁹.

2.1 Синовит

Физиологично след настъпване на остър кръвоизлив, в рамките на една седмица, ставната кухина, посредством синовиалните клетки, се освобождава от събраното количество кръв⁹⁰. Тъй като синовията има ограничен капацитет на абсорбция, рецидивиращите хемартрози водят до натрупване на разпадни кръвни продукти, които синовиалната мембрана не може да отстранява. Желязото, отделено в резултат на еритроцитния разпад се натрупва под формата на синовиални хемосидеринови отлагания, които от своя страна отключват процес на възпаление на синовията^{91,92}. Натрупаният хемосидерин способства за увеличение производството на провъзпалителни цитокини като интерлевкин IL-1, IL-6, и TNF-алфа и индуциране на гени, предизвикващи клетъчна пролиферация, като например *mdm2*⁹³⁻⁹⁵. С всеки следващ кръвоизлив се наблюдава прогресивно натрупване на желязо, което се явява пусков момент за развитие на хроничен

синовит. Изследваните патофизиологични механизми определят желязото като главен фактор, както за настъпване на синовиалната клетъчна пролиферация, така и за васкуларната пролиферация в субсиновиалния слой⁹⁶. Възпаленият и хипертрофирал синовиум е подложен на остра хипоксия, която от своя страна става причина за експресията на неоангиогенни фактори и последваща локална неоваскуларизация⁹⁷⁻¹⁰⁰. Комбинацията от желязни натрупвания, възпаление, хипертрофия и неоваскуларизация води до настъпване на така наречения "порочен кръг" – хемартроза – синовит – хемартроза¹⁰¹. Засегнатият синовиум задебелява, става по-чувствителен на механични наранявания и по-податлив на последващи кръвоизливи. Развива се "таргетна става". С времето, повтарящите се хемартрози водят до настъпването на хроничен синовит, при които в крайната фаза синовиумът се превръща във фиброзен. В случай, че не се постигне контрол над кръвоизливните епизоди в ставата и хемартрозите продължат, фибротичните промени започват да доминират. Превалиращата фиброзна тъкан ограничава кръвоизливните епизоди, но в същото време редуцира броя на проприорецепторите в ставната капсула. По-ниската рецепторна плътност затруднява комуникацията между мускулатурата и ставата, и води до намаление координация на фината моторика¹⁰².

2.2 Хрущялна дегенерация

Дегенерацията на ставния хрущял, резултат от развилите се ставни кръвоизливи, настъпва по два механизма - синовиално зависим и синовиално независим^{103,104}. В началната фаза на развитие на хемофилен синовит се образува инвазивен и деструктивен слой синовиум върху хрущялната повърхност, изграден както от макрофаго- и фибробластоподобни мезенхимални клетки, така и от възпалителни клетки, отделящи колагенолитични ензими⁸⁷. По-нататъшната деградация на ставния хрущял се провокира от освободените от синовията цитокини, ензими и плазмин във фазата на острия синовит. Докато синовиалната пролиферация след единичен кръвоизлив се смята за преходна, отделените при нея медиатори оказват дългосрочен ефект върху хрущяла⁹⁵.

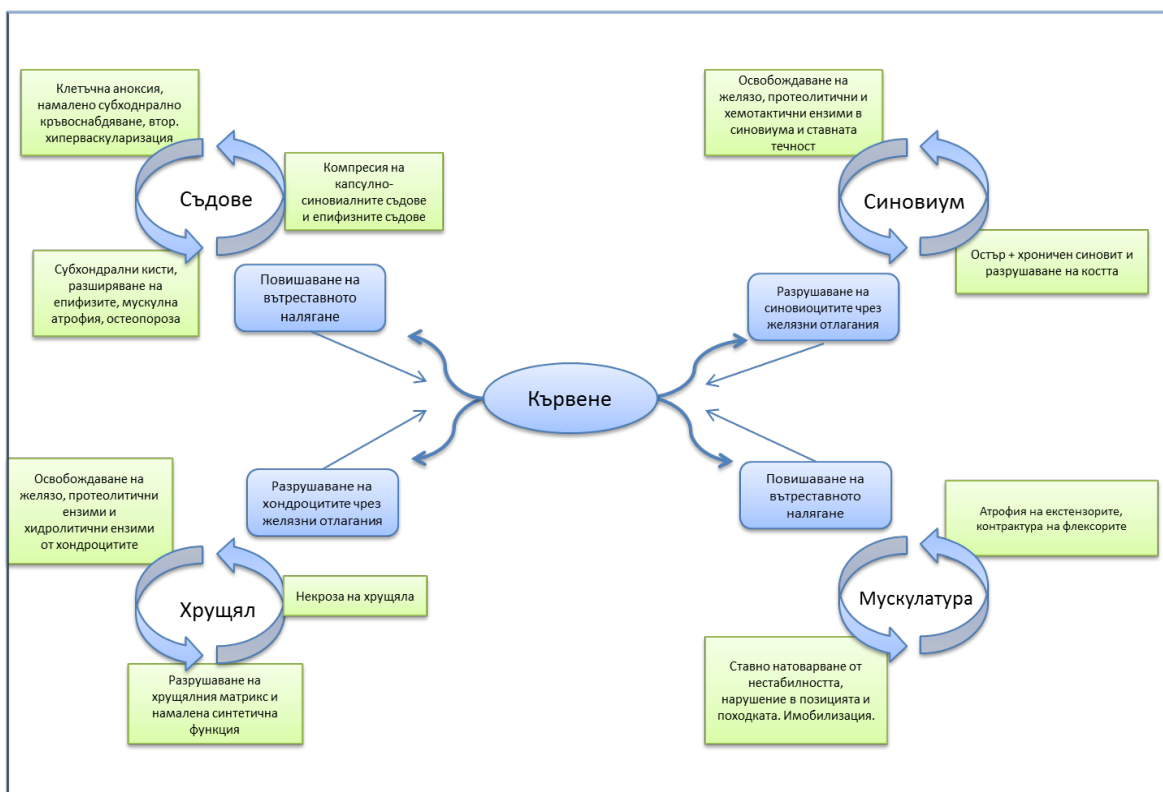
Вторият механизъм, водещ до деструкция на ставния хрущял настъпва в резултат на директния контакт на хрущяла с кръвта¹⁰⁴. Ставният хрущял представлява релативно инертна тъкан, изградена от хондроцити и извънклетъчен матрикс, където хондроцитите са отговорни за синтеза на матрикса. Директният контакт с кръвта предизвиква, както деградация на извънклетъчния матрикс, така и хондроцитна апоптоза^{104,105}. Под действието на освободеното желязо се образуват ROS (Reactive Oxygen Species), които индуцират хондроцитна апоптоза. Освен това, свободното желязо директно инхибира синтезата на глюкозаминогликани от здравите хондроцити, задълбочавайки хрущялната увреда¹⁰⁶. Дори и при краткотраен контакт с малки количества кръв нарушенията в цялостта на хрущялния матрикс настъпват бързо и са необратими^{91,95,106}. Потиснатата синтеза и намаленият брой хондроцити в хрущяла водят до необратима реаранжировка на хрущялната архитектура и с това до дефект в механичните характеристики на ставната повърхност.

2.3 Костна увреда

С развитието на синовита и разрушаването на ставния хрущял настъпва засягане и на принадлежащите кости. Костните промени се явяват резултат от настъпил дисбаланс между костна резорбция и костно образуване, водещ до намаление на минералната плътност на костта и остеопороза^{107–109}. Така, намалената минералната костна плътност и остеопороза при деца и възрастни пациенти с Хемофилия се явява допълнителна характеристика на хемофилната артропатия^{110,111}. Други наблюдавани костни промени при пациенти с Хемофилия включват наличие на костни кисти, субхондрална склероза, образуване на остеофити и епифизално уголемяване¹¹². Точният механизъм по който ставните кръвоизливи водят до увреждане на костта все още не са напълно разкрити, но от направените редица проучвания става ясно, че увреждането на костите при Хемофилия представлява мултифакторен процес, в който настъпилата хемартроза играе основна роля¹¹³.

2.4 Механични фактори

Развитието на хемофилната артропатия се опосредства също и от редица механични фактори. Повишаването на вътрекапсулното налягане след всяко кървене нарушава невро-мускулната обратна връзка, причинявайки мускулна атрофия, която с времето прогресира. Оформеният дисбаланс в силата на мускулните групи води до образуване на контрактура. Успоредно с това хроничният синовит намалява количеството и вискозитета на синовиалната течност, водейки до намалена способност на хрущяла да понася натоварвания. В съответствие със степента на повишаване на вътреставното налягане при хемартроза се стига до компресия на съдовете в областта на капсулно-синовиалния преход с последваща венозна стаза и повишаване на налягането в костния мозък. Преди всичко се засягат съдовете, които захранват периферната зона на ставния хрущял, както и епифизиалните съдове. Намаленото субхондрално кръвоснабдяване води до исхемия. Резултатът от нея е образуването на субхондрални кисти, както и настъпването на вазоспазъм, причиняващ остеопороза на костта в последствие¹⁰².



В заключение хемофилната артропатия показва характеристики, както на възпалително, така и на дегенеративно ставно заболяване, където дегенерацията на ставния хрущял играе водеща роля. Настъпилата хемартроза води до отлагане на желязо, възпаление, синовиална пролиферация, хрущялна дегенерацията, неоангиогеназа и фиброза, което прави ставата предразположена към все повече повтарящи се кръвоизливи (фиг. 4).

3. КЛИНИЧНА ОЦЕНКА И ОБРАЗНА ДИАГНОСТИКА НА ХЕМОФИЛНАТА АТРОПАТИЯ

Клиничната и образна диагностика на ставния апарат при ХсХ има за цел: (1) оценка ставния статус на пациента¹¹⁴; (2) оценка ефективността на терапията и нейното оптимизиране съобразно ставните промени; (3) проследяване протичането и изхода на настъпил кръвоизлив; (4) мониториране на прогресията на хемофилната артропатия. Няколко основни метода могат да бъдат приложени при изследване на засегнатите (индексни) стави – клинична (физикална оценка), стандартна рентгенография (Rö), ядреномагнитен резонанс (ЯМР), ставна ехография (СЕ).

3.1 Клинична оценка на ставната структура и функция

През 1956 DePalma¹¹⁵, а през 1977 Arnold и Hilgartner¹¹⁶ комбинират радиологични признаци и физикален преглед с цел изследване и класифициране на артропатията при ХсХ. Напредъкът на заместителната терапия прави необходимо изработването на по-чувствителни методи на ставна оценка, затова през 1981 ортопедичният комитет на WFH препоръчва комбинация от методи за изследване на ставния апарат – кръвоизливна скала, физикална скала, скала на болката и радиологичната класификация на Petterson et al. 1980¹¹⁷. Предложеният физикален скор изследва обхвата на движения, флексионни деформитети, оток, крепитации, мускулна атрофия, нестабилност и аксиални деформитети в шестте

големи (индексни) стави – глезени, колена и лакти. Глезените и коленете могат да имат максимален сбор от 12 точки, а лактите – 10 или общо максимум от 68 за шестте стави. Болковата скала, разполага с 3 степени. Скалата на WFH е била въведена в практиката във време, когато пациентите в западните държави са използвали много по-малко количество антихемофилен концентрат от настоящия момент. Масовото въвеждане на първичната профилактика е довело до логично намаляване на ABR и успоредно нормализиране на резултатите на WFH скалата – клинична и радиологична¹¹⁸. В допълнение – същата скала не взима под внимание някои от физиологичните промени, настъпващи у деца¹¹⁹.

Описаните проблеми правят необходимо изработването на по-нови скали и скорове. Една от тях, придобиваща все по-широка популярност е “Hemophilia joint health score” (HJHS)¹²⁰. Скалата е създадена с идея за по-висока сензитивност към ранните артропатични промени, в съответствие с нормалните динамични изменения, настъпващи в развитието на децата¹²¹. В най-актуалната си версия - HJHS 2.1 - всяка от индексните стави може да има максимален сбор от точки 20. Допълнителен е скорът за обща походка от 0 до 4 за ходене, скачане, бягане и изкачване на стълби. Общият възможен сбор е 124. Публикации от центрове, отчитащи висока употреба на концентрат съобщават нулев сбор в до 53% от изследваните деца ХсХ¹²², а центрoвете с нисък разход на концентрат – сбор от 11(медиана)¹²³. HJHS е полезна за откриването и проследяването на прогресията на ставните дефекти, но интерпретацията му е затруднена при стави с ранни промени¹²². Един от недостатъците на HJHS е необходимостта от опитен физиотерапевт, извършващ изследването, което прави използването му в центрове без физиотерапевтичен екип предизвикателство¹²⁴.

3.2 Стандартна рентгенография

Стандартната рентгенография (Rö)^{125,126} се счита за класически метод при оценката на хемофилната артропатия, тъй като дава възможност за визуализиране на ерозии, промени в ставния хрущял, конгурентност на ставните повърхности и костни деформации. Тя е сравнително евтина и лесно достъпна, но

главен нейн недостатък се явява невъзможността да бъдат идентифицирани ранните признаци на ставно увреждане при пациенти с Хемофилия като синовиална хипертрофия, ставен излив и ранни остеохондрални промени¹²⁷. Въпреки това стандартната рентгенография все още широко се използва в практиката особено в случаите при Хемофилна артропатия в напреднал стадии на развитие. Оценката на патологичните промени се документира и класифицира посредством 2 скали – на Arnold-Hilgartner scale в миналото и Pettersson scale, понастоящем^{112,116}. Pettersson et al. създават класификационна система, базираща се на оценка степента на костната деструкция в ставата, градирайки промените от 0 до 13.

3.3 Ядреномагнитен резонанс

За разлика от R_ö, ядреномагнитният резонанс (ЯМР) предлага детайлна информация, както за ранните, така и за късните артропатични промени, давайки възможност за изобразяване на меките ставни тъкани, ставен хрущял и кости^{127,128}. Понастоящем ЯМР се приема за “златен стандарт” в оценката на хемофилната артропатия. Ограниченото прилагане на метода включва висока финансова стойност на изследването, труден достъп до ЯМР-апаратите, необходимост от седация при деца, както и възможност за сканиране само на една става в рамките на една секвенция¹²⁹.

3.4 Ставна ехография

Описаните недостатъци на R_ö и ЯМР обясняват нарастващия интерес в областта на ставната ехография като възможно средство за оценка на ставния статус и мониториране прогресията на ставното засягане при ХсХ¹³⁰. Чрез СЕ могат да бъдат диагностицирани със сравнително висока достоверност и в начален стадии на развитие вътреставени изливи¹³¹, синовиална хипертрофия¹³², маргинални промени в ставния хрущял, субхондрални костни промени - като

ерозии и остеофити. Високата достъпност, безвредност и ниска цена на изследването правят СЕ надежден скринингов метод за доказване на ранни ставни промени при Хемофилия.

С цел съпоставимост на резултатите в последното десетилетие са разработени различни протоколи за изследване и скали за оценка на ставните промени при ХсХ, мониторираны чрез СЕ^{133–135, 136,137}. Макар целящи да създадат оптимални критерии за оценка и диагностика, повечето протоколи са сложни, съпроводени с висока степен на интер- и интраиндивидуалната вариация в изпълнението и интерпретацията на техниката и само отделни изследващи могат да придобият достатъчна степен на компетентност в областта.

За преодоляване на горепосочените недостатъци и стандартизиране оценката на данните и начина на прилагане на СЕ през 2013 Martinoli създава протокол *Haemophilia Early Arthropathy Detection by Ultrasound* (HEAD-US), определящ критериите за сканиране на лакътна, колянна и глезенна става. Протоколът е създаден по типа на „point-of-care“-ехография¹³⁸ и включва оценката на ехографски маркери, характеризиращи активност на болестта и настъпилите ранни дегенеративни промени. Опростеността на протокола и извършване на изследването дава възможност успоредно с физикалния преглед да бъдат изследвани и проследени за промени всички 6 стави едновременно¹³⁹. Di Minno et al. съобщават за регистриране на ранни ставни патологични промени при клинично асимптоматични стави¹⁴⁰. Интерес представляват наблюденията на Forren et al. при деца с хипермобилни стави и незрял скелет, където СЕ регистрира ставни засягания с напреднала синовиална хипертрофия и хрущялни аномалии, въпреки нормалния физикален статус¹⁴¹.

Независимо, че СЕ показва висока диагностична стойност по отношение на ранните ставни засягания, методът притежава известни ограничения, като невъзможност за изследване на ставния хрущял и субхондрални повърхности в дълбочина¹³³ (Martinoli 2013) и костни кистозни промени¹⁴². Въпреки тези недостатъци СЕ се явява надежден и достъпен скринингов метод за оценка и

проследяване начало и развитие на ставни промени при ХсХ във всички възрастови групи.

4. ПРЕДИКТОРИ И ПОКАЗАТЕЛИ НА ХЕМОФИЛНАТА АРТРОПАТИЯ

Наред със скалите за определяне на ставния статус в рамките на различни клинични проучвания са установени следните параметри, които се смятат за предиктивни по отношение на развитието на ставната артропатия: (а) годишна ставна честота на кървене (joint Annualized Bleeding Rate / jABR); (б) годишен разход на концентрат¹⁴³; (в) възраст на настъпване на първото ставно кървене¹⁴⁴; (г) възраст на започване на терапията¹⁴⁵ или вид на профилактиката; (д) степен на физическа активност¹⁴⁶; (е) придържане на пациента към терапията – адхерентност/комплајнс¹⁴⁷.

Към момента в рамките на клинични проучвания като основни показатели за ефикасност на терапията и фенотипа на болестта широко се използват jABR и годишен разход на концентрат на килограм телесно тегло (кг/т.т).

4.1 Годишна ставна честота на кървене (jABR)

Представява броя кръвоизливи, настъпили във всички индексни стави на пациента в рамките на година. Въпреки достъпността си, показателят притежава много недостатъци: отчитането му зависи единствено от колаборативността на пациента; при липса на клинични данни за кървене (микрочръвоизливи) съществува риск от хиподиагностика; не всеки ставен кръвоизлив е вътреставен - в част от случаите пациентите регистрират кръвоизлив в меките тъкани около ставата като интраартикуларни¹⁴⁸. В проучване от 2002 год, сравнявайки ставната ABR, съотнесена към рентгенологичния скор Fischer доказва, че на всеки 13 ставни кръвоизливи сборът на скалата на Pettersson нараства с 1 точка¹⁴⁹. Изследване върху универсалността на маркера от 2015 съобщава съществена разлика в начина на изчисляване на годишно ставно кървене¹⁵⁰ в различни научни разработки, потвърждавайки относителната му достоверност.

4.2 Годишен разход на концентрат

Хипотезата: „По-голямо количество използван концентрат от ф. VIII/IX, с това по-малко количество кръвоизливи, би означавал по-съхранен ставен статус при пациенти с Хемофилия“, се приема за широко валидна и превръща количеството изразходен фактор на кг/т.т в лесно достъпен и широко използван маркер за ставно здраве. Тя е поставена на солидна научна основа от Aledort et al 1994, в сравнително лонгитудинално проучване на кохорти, лекувани с високодозови и нискодозови терапевтични режим. Групата, лекувана с нискодозов режим показва по-висок (по-незадоволителен) сбор в скалата на Petterson⁸⁹. Изследването се базира на терапевтични режими, включващи лечение при нужда и профилактика. Въпреки че обхваща продължителен период от време и голяма пациентска популация, резултатите не могат директно да бъдат екстраполирани върху пациенти, лекувани с нискодозови и високодозови профилактични режими. Понастоящем анализи на утвърдените профилактични режими сочат съпоставими резултати по отношение на ставния статус при пациенти на високо и нискодозова профилактика¹⁵¹.

4.3 Трафово ниво на фактор VIII/IX

През 2009 Collins et al. демонстрират, че времето от седмицата, прекарано с фактор VIII под 1% е правопрпорционално на броя на ставните кръвоизливи, като те се повишават с 2.2% при деца във възраст между 1 - 6 год и с 1.4% при пациенти на възраст 10-65 год. при по-продължително време прекарано с трафово ниво на фVIII под посочения праг. Фармакокинетичните измервания, дали основание за създаване на профилактичния протокол Малмьо осигуряват трафови нива над 1% между профилактичните инфузии^{152,153}, а ретроспективно проучване върху 6 годишен период¹⁵⁴ показва много ниска корелацията между трафово ниво на фVIII и появата на ставни кръвоизливи. Източници на описаната хетерогенност могат да бъдат индивидуалният фармакокинетичен отговор на пациента към приложения концентрат, про- и антикоагулаторни фактори, физическата активност, структурата на мускуло-скелетната система у пациента. Клиничните резултати, а

не трафовото ниво трябва да определя ефективността на профилактичната доза и режим¹⁵⁵.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВИ:

Въпреки неимоверния прогрес в хемофилната терапията и грижа ставните увреди продължават да играят роля на главен фактор, влошаващ качеството на живота и допринасящ за болестността на пациентите. От съществено значение днес са все по-съвършените методи за диагностика, които могат бързо, безопасно, с голяма чувствителност и специфичност и разумна цена да посочат патологичните отклонения в ставите на пациентите в начална фаза на развитие. Проследяването на ставния статус посредством ставна ехография стои във фокуса на най-активните научни търсения в тази сфера, именно защото отговаря на горните условия. Разбирането на патологичните процеси и етапите на настъпването им, тяхната връзка с клиниката, корелациите, които съществуват между различните диагностични изследвания, създаването на нови протоколи за скрининг и проследяване на промените представляват средствата, които могат да спомогнат да постигане по-добри резултати в терапията на ХсХ.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел

Да се съпостави влиянието на прилаганите конвенционални терапевтични режими (фактор VIII/фактор IX концентрат), върху ставния статус при пациенти с тежка и средно тежка Хемофилия в кохорти от две националности (немска и българска).

Задачи

1. Да се анализира и сравни годишният разход на фактор VIII/фактор IX при лечение на пациенти с Хемофилия A/B в кохорти от две националности според възрастови групи.
2. Да се анализира и сравни приложението на различни терапевтични схеми (*при нужда* и профилактични) в двете кохорти според възрастови групи.
3. Да се анализира и сравни средният брой хемартрози (кръвоизливни епизоди), регистрирани за тригодишен период на проследяване в двете кохорти според индексни стави и възрастови групи.
4. Да се оцени и сравни клиничният ставен статус по скалата на *Gilbert* в двете кохорти според възрастови групи, степен на ставно увреждане (GS), вид и брой на индексни стави.
5. Да се анализира взаимовръзката между средния брой на настъпили хемартрози за тригодишен период на проследяване и находките от клиничния ставен статус (оценка според скалата на *Gilbert*) в двете кохорти.

6. Да се анализират и сравнят находките от изследване на ставите чрез ехографския метод HEAD-US при пациенти от двете кохорти според възрастови групи, степен на ставно увреждане, категория ехографски маркери (S,C,B), вид и брой индексни стави.

7. Да се оцени диагностичната стойност на ехографския метод HEAD-US чрез сравнение с контролна група от здрави индивиди.

8. Да се оцени корелацията между регистрираните ставни кръвоизливи за три годишен период и резултатите от оценката от ехографския метод HEAD-US, както и тази между оценката от клиничния ставен статус (скала на Gilbert) и метода HEAD-US в кохорти от две националности.

КЛИНИЧЕН МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ

1.1 Дизайн на проучването

Проучването е проведено като многоцентрово, проспективно изследване, в Центъра по Хемофилия към „Института по експериментална хематология и трансфузионна медицина“, Бон, Германия, Клиника по детска клинична хематология и онкология УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ“, София, Експертен център за коагулопатии и редки анемии УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна, Клиника по педиатрия и Клиника по клинична хематология УМБАЛ „Г. Странски“ – Плевен.

1.2 Пациентски кохорти

В изследването са включени пациенти с лабораторно и генетично доказана ХА или ХВ на възраст между 6-40 години. Анализът обхваща болни със среднотежка и тежка форма на заболяването, класифицирани съобразно критериите на ISTH⁵², като тежката форма на Хемофилия включва всички пациенти с ниво на фактор VIII/IX под 1%, а средно тежката – 1-5%. Пациенти с ниво на фактор VIII/IX над 5 % (лека форма на заболяването) са изключени от изследването. Пациенти с непълни данни, пациенти, проследявани за период по-малък от три години, както и пациенти с инхибиторна Хемофилия са изключени от по-нататъшно проучване. Допълнително от изследването е изключена оценката на стави на пациенти, при които са регистрирани кръвоизливи в последните 2 седмици, както и стави, при които е извършена оперативна интервенция.

Всички пациенти са подписали информирано съгласие съгласно Хелзинкската конвенция.

1.3 Контролна група

С цел валидация на ехографския метод за изследване на ставите е извършена съпоставка на ставите на пациентите с Хемофилия с ехографски находки при лица

от мъжки пол в състояние на клинично здраве (възраст 6-40 год.). От изследването са изключени индивиди с анамнеза за ревматологични заболявания, заболявания с познат артритогенен ефект, както и стави, понесли травми или подложени на хирургични интервенции в миналото.

2. МЕТОДИ

2.1 Анкетен метод

Анкетен метод е приложен при регистриране на изследваните пациенти за анализиране на търсените данни при спазване правилата за защита на личната информация. Получените данни са архивирани в индивидуален пациентски фиш, съдържащ 17 показателя за немските пациенти и 15 за българските: код на пациента, възраст, пол, ръст, т. тегло, BMI, диагноза, тежест на болестта, генетична мутация (при немските пациенти), остатъчно ниво на фактор, годишен разход на концентрат, трафово ниво (при немските пациенти), честота на ставно кървене, наличие или отсъствие на инхибитори, титър на инхибитори, вид на използван фактор, режим на терапия.

Информацията по отношение на годишната ставна честота на кървене и разход на концентрат при кохортата на пациентите от Германия е снемана от електронната система за отчитане на лечението и кръвоизливните епизоди – Haemoassist^{156,157}, разработена специално за нуждите на Центъра по Хемофилия в Бон, Германия.

При пациентите от България същата информация е събирана от медицинската документация (т.ч. епикризи, протоколи за отпускане на факторен концентрат към НЗОК, пациентски дневник).

2.2. Лабораторни методи

2.2.1 Измерване на ниво на активност на фактор VIII/IX:C

- ФVIII/ФIX:C (активност) едностъпален тест

Тестът за определяне на ФVIII:C се базира на aPTT метода, извършван с KC10A коагулометър (Trinity Biotech, Lemgo, Germany). По същество, при него 0.1 мл. от разтвора на изследваната плазма се смесва с: 0.1 мл ФVIII/IX дефицитна плазма от Helena Biosciences (Gateshead, UK), 0.05 мл 2% каолин (BDH, Poole, UK), 0.1 мл фосфолипиди (Rossix, Mölndal, Sweden) и 0.1 мл от 30 mM CaCl₂. Отчита се времето, необходимо на сместа да оформи на коагулум при температура от 37°C. За целите на калибрирането тестът за ФVIII/IX е изчисляван според 8-те интернационални стандарти за ФVIII/IX (NIBSC 07/350, South Mimms, UK).

- Хромогенен тест за ФVIII/IX:C

ФVIII/IX:C_{хром} се извършва от BCS коагулометър (Dade Behring, Marburg, Germany), използвайки реагенти от Siemens Healthcare Diagnostics (Eschborn, Germany) според инструкциите на производителя. Хромогенният тест е използван само при пациентите от кохортата от Германия.

2.3 Методи за оценка на ставния статус

2.3.1. Клинична оценка на ставния статус - скала на Gilbert (Gilbert score)

Физикалният ставен статус е снеман съгласно предложената от “Световната хемофилна федерация”¹¹⁷ адитивна скала, при която степента на промяна в ставите се определя от точки с максимален сбор от 0 до 12. Сбор от 0 точки описва става без патологични находки. Максималният сбор от 12 точки се регистрира при силно увредени стави, характерни за хемофилната артропатия. При оценката на клиничния ставен статус допълнително е използван и субективният критерий “хронична ставна болка”, който се стратифицира от 0 до 3 точки в зависимост от изразеността на симптоматиката, при което максималния сбор от точки нараства до 15. В таблица 1 са посочени критериите за оценка на ставите със съответния минимален и максимален сбор точки. Ставният статус е снеман от изследователя еднократно в деня на пациентската визита.

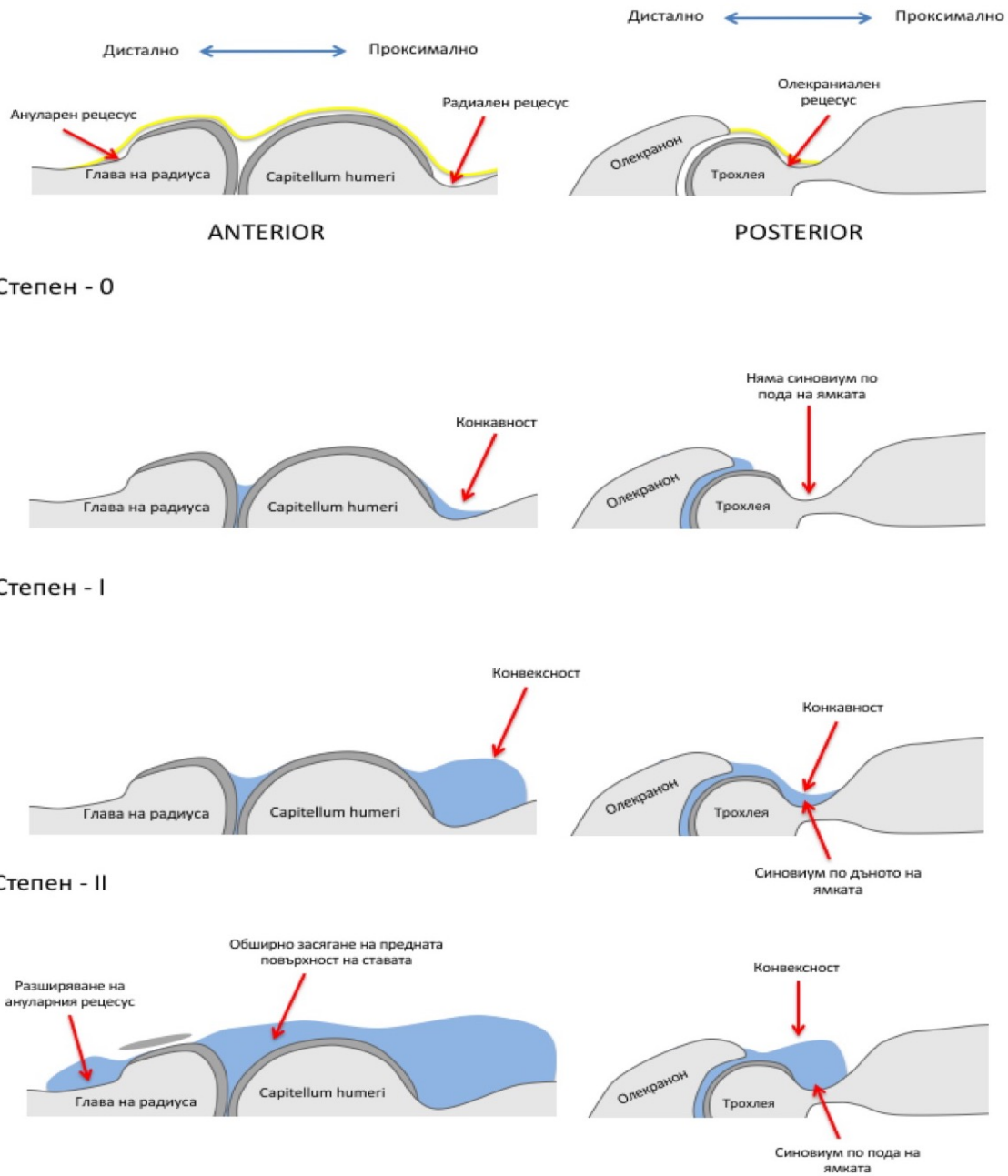
Параметър	Точки
Хронична ставна болка	0 - 3
Отклонение от основната ос / аксиална деформация	0 - 2
Флексионна контрактура (само за коляно и глезен)	0 - 2
Подвижност	0 - 2
Нестабилност на ставата	0 - 2
Хроничен оток / уплътняване на капсулата	0 - 2
Мускулна атрофия	0 - 1
Крепитации	0 - 1

Таблица 1. Gilbert score.

2.3.2. Ехографска оценка на ставния статус.

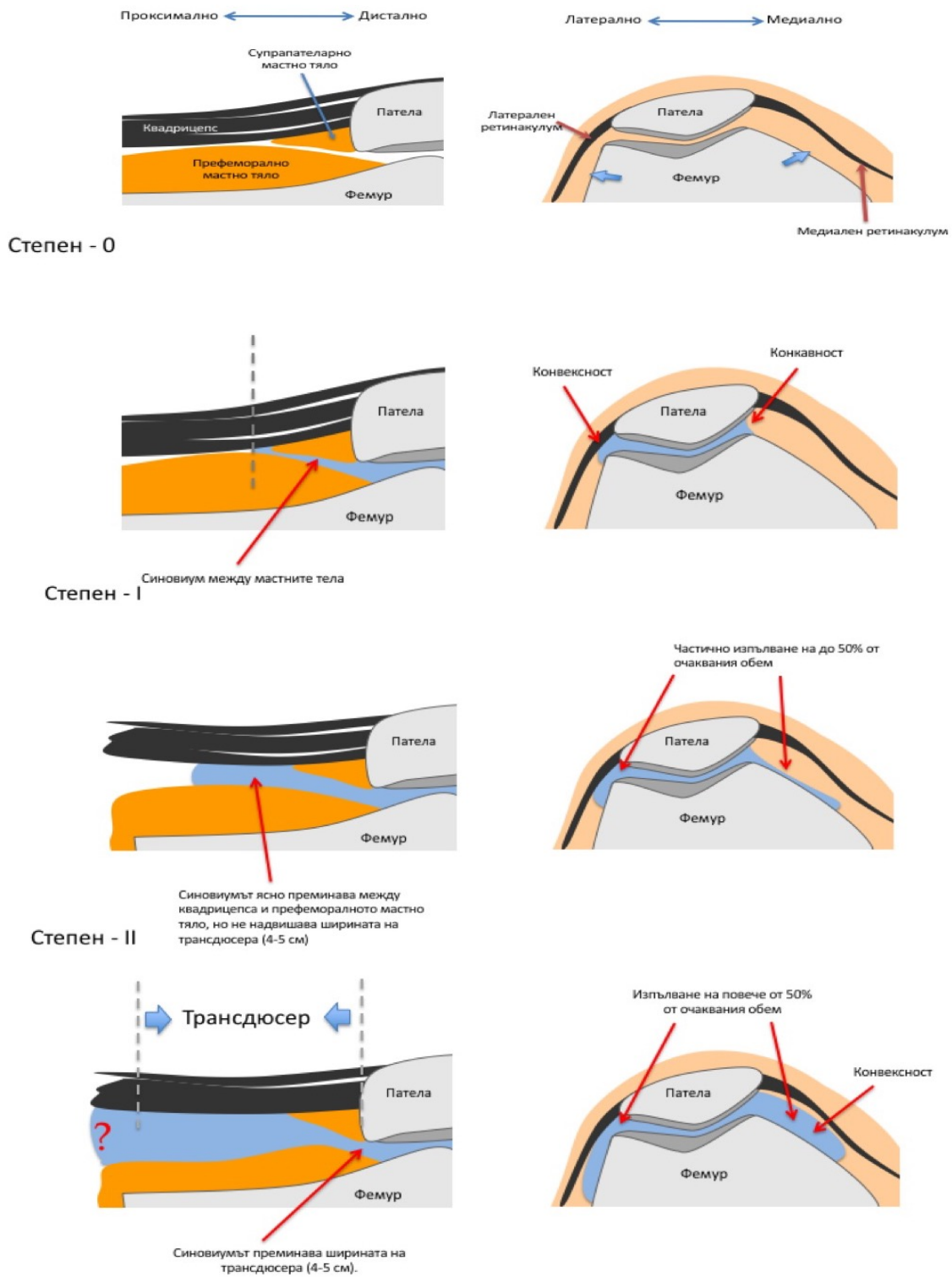
Ехографската оценка на ставния статус при пациентите е извършвана с ехографски апарат MyLab25 Gold; Esaote, Genova, Italy, оборудван с 5–13 MHz трансдюсер. Физикалният и ехографският преглед на всеки пациент са осъществявани в един ден от един и същи изследовател. За оценка на промените в опорно-двигателния апарат е използвана ехографска скала за ранно откриване на хемофилна артропатия и приложена съобразно протокола на HEAD-US¹³³. В проучването е включена оценка на лакътни, коленни и глезенни стави. При изследване на пациентите е включено анализирането на синовиалните рецесуси на лакътната става (радиален, коронаидален, ануларен, олекранен), коляното (супрапателарен, медиален и латерален парапателарен) и глезена (преден и заден рецесус на тибиталарната и субталарната става). Остеохондралният статус на изброените стави се оценява чрез изобразяване на воларната страна на дисталната епифиза на хумеруса в лакътната става, трохлеята на бедрената кост, и предната част на тялото на скочната кост. Протоколът включва 13 точки на сканиране при оценката на 6-те стави. Степента на засегнатост на всяка става се определя от два критерия - степен на синовиална хипертрофия (0 до 2 точки), изразяваща още

Лакът - синовит

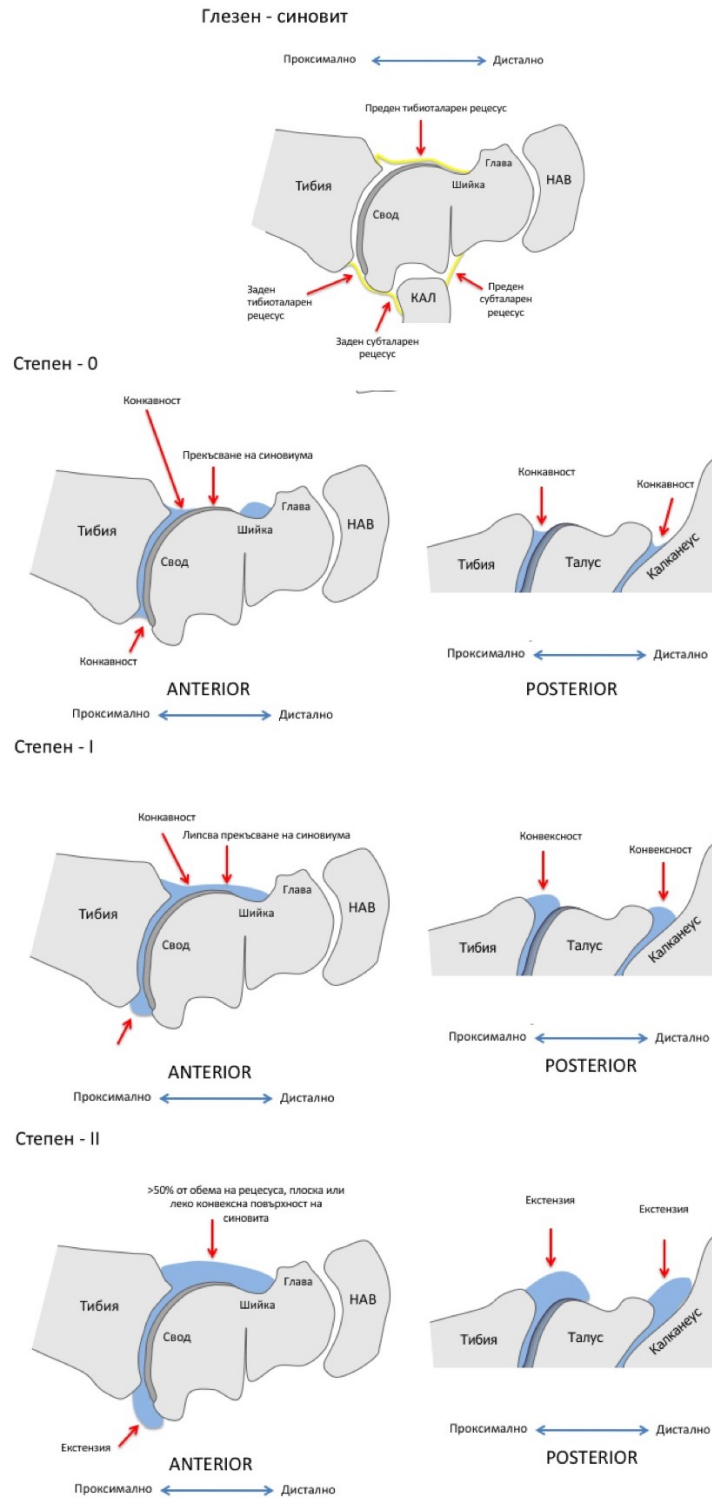


Фигура 5. Схема за оценка степента на изразеност на синовиялната хипертрофия в лакътната става.

Коляно – синовит



Фигура 6. Схема за оценка степента на изразеност на синовиалната хипертрофия в колянната става.



Фигура 7. Схема за оценка степента на изразеност на синовиалната хипертрофия в тибιο-таларната и субталарната стави.

Активност на заболяването (синовит)	Точки
Хипертрофичен синовит	
0. Липсващ/минимален	0
1. Леко/средно изразен	1
2. Изразен	2
Промени от болестта (ставни повърхности)	
Хрущял	
0. Нормален	0
1. Аномалии в ехогенността, фокална парциална/пълна загуба на ставния хрущял, обхващаща <25% от изследваната ставна повърхност	1
2. Парциална/пълна загуба на ставния хрущял, обхващаща ≤50% от изследваната ставна повърхност	2
3. Парциална/пълна загуба на ставния хрущял, обхващаща >50% от изследваната ставна повърхност	3
4. Пълна деструкция или липсваща визуализация на ставния хрущял	4
Кост	
0. Нормална	0
1. Леки неравности по субхондралната костна повърхност с/без начални остеофити около ставата	1
2. Реаранжировка на субхондралната костна повърхност с/без ерозии и наличие на проминиращи остеофити около ставата.	2

Таблица 2. HEAD-US score.

активност на заболяването и дегенеративни промени (0 до 2 точки за субхондрални дефекти и 0 до 4 точки за хрущялни промени). Максималният сбор 8 отразява крайна степен на увреда на ставата. Фигури 5, 6 и 7 представят схематично принципите на категоризиране на синовиалната пролиферация в лакътната, колянната и глезенната стави. В таблица 2 са обобщени останалите критерии за точкуване по скалата HEAD-US.

2.4 Дефиниция на събираните показатели

- Разход на фактор

Данните, отразяващи годишния разход на концентрат за последните три години преди проучването са ретроспективно събрани и изчислени в килограм телесно тегло (кг/т.т.). За нуждите на настоящия анализ е използвана медианната стойност от трите периода.

- Фармакокинетично определено трафово ниво на ФVIII/IX:C

Трафовото ниво ФVIII/IX:C е рутинно определяно при всяка пациентска визита за пациентите от кохортата от Германия. Интервалът от последната

профилактична инфузия до момента на измерване на нивото възлиза на 12 - 48 часа при ХА и 48 - 72 часа при ХВ. В дисертационния труд са използвани средните стойности (медиана) на трафовото ниво от три последователни пациентски визити.

- Ставна годишна честота на кървене

Хемартроза в настоящия анализ е дефинирана като всяка локализирана в ставата болка, придружена или не с оток и скованост, която се повлиява от заместителна терапия. Всяка отчетена и регистрирана от пациента хемартроза през последните 3 години преди включването на пациента в проучването е валидирана от изследователския екип и приета за фактическа, ако е регистриран съответстващ по време запис за апликация на фактор.

2.5 Статистически методи

За обработката на резултатите е използван статистически пакет *SPSS v. 21.0* за Mac (SPSS Inc, Chicago USA). Резултатите са представени като средна аритметична стойност \pm стандартно отклонение (mean \pm SD), освен ако не е упоменато друго. На някои места са докладвани максимална и минимална стойност, с цел да се добие представа за дисперсията на данните. Проверката на нормалното разпределение е извършена с непараметричен тест на Колмогоров–Смирнов. При сравняване на две средни са използвани непараметричен анализ Mann-Whitney U тест, Kruskal-Wallis тест, както и Wilcoxon signed-rank тест. Сравняване на относителни дялове е осъществено с анализ Chi-квадрат (χ^2). Разликите са приемани за статистически значими при ниво на значимост $p < 0.05$. За откриване на корелации е използван непараметричен анализ на Spearman (r). Силата на корелационния коефициент е категоризирана, както следва: коефициент $< 0,1$ показва несъществена корелация; $0,1-0,3$ слаба; $0,3-0,5$ умерена; $0,5-0,69$ силна; а $> 0,7$ много силна взаимовръзка¹⁵⁸.

РЕЗУЛТАТИ

Пациенти

Пациенти от целевите групи са характеризирани според следните показатели: възраст, пол, BMI, форма на болестта, тежест, инхибиторен статус, мутационен статус (само при групата пациенти от Германия).

Кохорта от Германия:

В периода февруари - август 2017 проучването обхваща пациенти с тежка и средно тежка форма на ХА и ХВ, на възраст 6-39 години (медиана 18 год.), редовно проследявани и лекувани в Хемофилния център в Бон, Германия. От скринингите общо 109 пациенти, 15 пациенти са изключени от проучването - двама поради липса на достатъчно данни, четирима с лека форма на Хемофилия и 9 пациенти с диагностицирани инхибиторни антитела. Осемдесет и четири от пациентите са пациенти с тежка форма на Хемофилия (70 ХА, 14 ХВ), и 10 със среднотежка форма на ХА. Възрастово обусловените анатомични различия в комбинация с вариабилността на терапевтичния подход, дължаща се на различията в начина на живот в различните възрасти, налага групиране на пациентите в следните групи: В групата на възраст между 6-12 години попадат 20 пациента от изследваната немска кохорта. Групата на възраст между 13-18 години се състои от 28 пациента.

Характеристики на кохортата	Величина	Немска кохорта
Пациенти	N	94
Възраст при оценката	Медиана	18 (6-39)
6-12 години	N	20
13-18 години	N	28
19-39 години	N	46
Тегло при оценката	Сред. (SD)	66.6 (24.6)
BMI при оценката	Сред. (SD)	22.9 (6.3)
Характеристики на болестта		
Хемофилия А	N (%)	80 (85%)
Тежка форма	N (%)	70 (87%)
Среднотежка форма	N (%)	10 (13%)
Хемофилия В тежка форма	N (%)	14 (15%)

Таблица 3.

Четиридесет и шест на брой са пациентите в изследването на възраст 19 до 36 години. Общо 94. Таблица 3 представя демографските характеристики на пациентите от немската кохорта, включени в изследването. В лечебния протокол са прилагани, както плазмени (21% от пациентите), така и рекомбинантни (79% от пациентите) факторни препарати.

Кохорта от България:

Българската кохорта обхваща пациенти с тежка и средно тежка форма на ХА и ХВ, на възраст 6-39 год. редовно проследявани и лекувани в Клиника по детска клинична хематология и онкология УМБАЛ “Царица Йоанна – ИСУЛ”, София, Експертен център за коагулопатии и редки анемии УМБАЛ “Св. Марина” – Варна, Клиника по педиатрия и Клиника по клинична хематология УМБАЛ “Г. Странски” – Плевен. Проучването на кохортата обхваща период от ноември 2017 до февруари 2018.

Скринирани са общо 64 пациента, от които 7 са изключени от изследването - петима с лека форма на Хемофилия и двама с инхибиторни антитела. Възрастта на пациентите от кохортата, изразена чрез медиана възлиза на 18 години, варирайки между 6 и 39 години. Двадесет и един пациента формират група на възраст 6-12 години, 15 пациента попадат във възрастта между 13 и 18 години. Във възрастовата група 19-39 години са включени 19 пациента от българската кохорта. Разгледани по видове Хемофилия и тежест на болестта, 52 пациента (95%) от кохортата са пациенти с ХА, от тях 37 са пациенти с тежка форма на заболяването и 15 със среднотежка форма. Изследваната кохорта обхваща трима болни (5%) с тежка форма на ХВ (Таблица 4).

Както и при немската кохорта, по-голямата част от пациентите са лекувани с рекомбинантен факторен концентрат (72%). При 28% от пациентите терапия е проведена с плазмен факторен концентрат.

Характеристики на кохортата	Величина	Българска кохорта
Пациенти	N	55
Възраст при оценката	Медиана	16 (6-39)
6-12 години	N	21
13-18 години	N	15
19-39 години	N	19
Тегло при оценката	Сред. (SD)	57 (31)
BMI при оценката	Сред. (SD)	19.3 (7.3)
Характеристики на болестта		
Хемофилия А	N (%)	52 (95%)
Тежка форма	N (%)	37 (72%)
Среднотежка форма	N (%)	15 (28%)
Хемофилия В тежка форма	N (%)	3 (5%)

Таблица 4.

Лица от контролната кохорта:

В периода октомври 2017 – ноември 2017 за контролната група бяха подбрани и включени по 30 индивида от мъжки пол, по 10 от всяка възрастова група 6-12, 13-18 и 19-39 години. Средната възраст на изследваните лица от контролната група възлиза на 17 год. (медиана), варирайки между 6-36 год.

Характеристики на кохортата	Величина	Контролна група
Пациенти	N	30
Възраст при оценката	Медиана	17 (6-36)
6-12 години	N	10
13-18 години	N	10
19-39 години	N	10
Тегло при оценката	Сред. (SD)	61.5 (28.3)
BMI при оценката	Сред. (SD)	23.4 (5.5)

Таблица 5.

Оценени чрез ехографски метод са 60 глезенни, 60 коленни и 60 лакътни стави. В нито една от ставите на лицата от контролната група не са установени данни за травми и не са провеждани хирургични интервенции. Контролите не показват анамнеза за ревматологично или друго заболяване, характеризиращо се с артритопатичен ефект. Към момента на оценката всички индивиди в контролната група са окачествени като клинично здрави. Таблица 5 представя демографските характеристики на лицата от контролната група.

Към задача 1: Да се анализира и сравни годишният разход на фактор VIII/фактор IX при лечение на пациенти с Хемофилия A/B в кохорти от две националности според възрастови групи.

Разходът на факторния концентрат и схемата на неговото приложение е анализиран в двете кохорти по отделно.

Кохорта от Германия:

Средният годишен разход на концентрат за трите наблюдавани години при немските пациенти показва стойности, възлизащи на 7082 U/kg/год (± 10308). Съпоставен в трите възрастови групи, най-висок разход на концентрат е наблюдаван в групата пациенти от 6 до 12 год - 6500 U/kg/год (± 10308). В следващите две възрастови групи 13-18 год. и 19-39 год. се отчита приблизително еднакъв годишен разход - 4750 U/kg/год (± 5030) и 4680 U/kg/год (± 2030), респективно. Данните от сравняване на средния годишен разход на трите групи показва най-висока статистически значима разлика ($p < 0.0001$; Mann-Whitney U тест) между годишния разход на концентрат при пациентите от групата на възраст 6-12 год. и другите две възрастови групи. Не се отчита статистически значима разлика в годишния разход на концентрат при групата от пациенти на възраст 13-18 и 19-39 год ($p = 0.83$) (Фигура 8).

Анализът на лечебната схема на приложение на концентрата показва два основни терапевтични подхода – лечение при нужда и профилактично лечение. При провеждане профилактично лечение, седмичната схема на приложение на препарата се отличава с голяма вариабилност. При по-голямата част от пациентите с Хемофилия A (45%) препаратът е прилаган по схема три апликации седмично със средна доза на апликацията 33.5 U/kg/т.т (± 13.8), възлизащ на 5784 U/kg/год. (± 3327) разход. При 12 пациента се наблюдава седмична схема на приложение на концентрат “всеки втори ден” при средна доза на апликацията от 24.5 U/kg/т.т (± 11.3) с годишен разход от 5635 U/kg/год (± 5344). При останалите 19 пациента профилактичната схема на лечение с концентрат варира от веднъж

дневно, веднъж седмично, два пъти седмично до 4 пъти седмично в дози 22.1 U/kg/т.т (± 10.7), 24.5 U/kg/т.т (± 13.4), 48.5 U/kg/т.т (± 31.7), 14.2 U/kg/т.т, водещи до годишен разход 6671 U/kg/год (± 3155); 1974 U/kg/год (± 2084); 4605 U/kg/год (± 1304); 2571 U/kg/год, респективно (Таблица 6). Най-висок годишен разход на концентрат (6671 U/kg/год (± 3155)) се регистрира при пациенти, провеждащи лечение един път дневно. При трима пациенти с тежка форма на Хемофилия е прилагано лечение в режим “при нужда”, докато при пациенти със среднотежка форма този режим на лечение се наблюдава при всички пациенти (10 от 10).

Немска кохорта			
Дозов режим	N	Средна доза за апликация U/kg (\pm)	Среден годишен U/kg/год (\pm)
Веднъж дневно	9	22.1 (10.7)	6671 (3155)
4 пъти седмично	1	14.2	2571
Всеки втори ден	12	24.5 (11.3)	5635 (5344)
3 пъти седмично	36	33 (13.8)	5784 (3327)
2 пъти седмично	7	48.5 (31.7)	4605 (1304)
1-2 пъти седмично	-	-	-
1 път седмично	2	24.5 (13.4)	1974 (2084)
При нужда тежка форма	3	-	2938 (1064)
При нужда средно тежка форма	10	-	426 (641)

Таблица 6. Разход на факторен концентрат в кохортата от Германия при Хемофилия А.

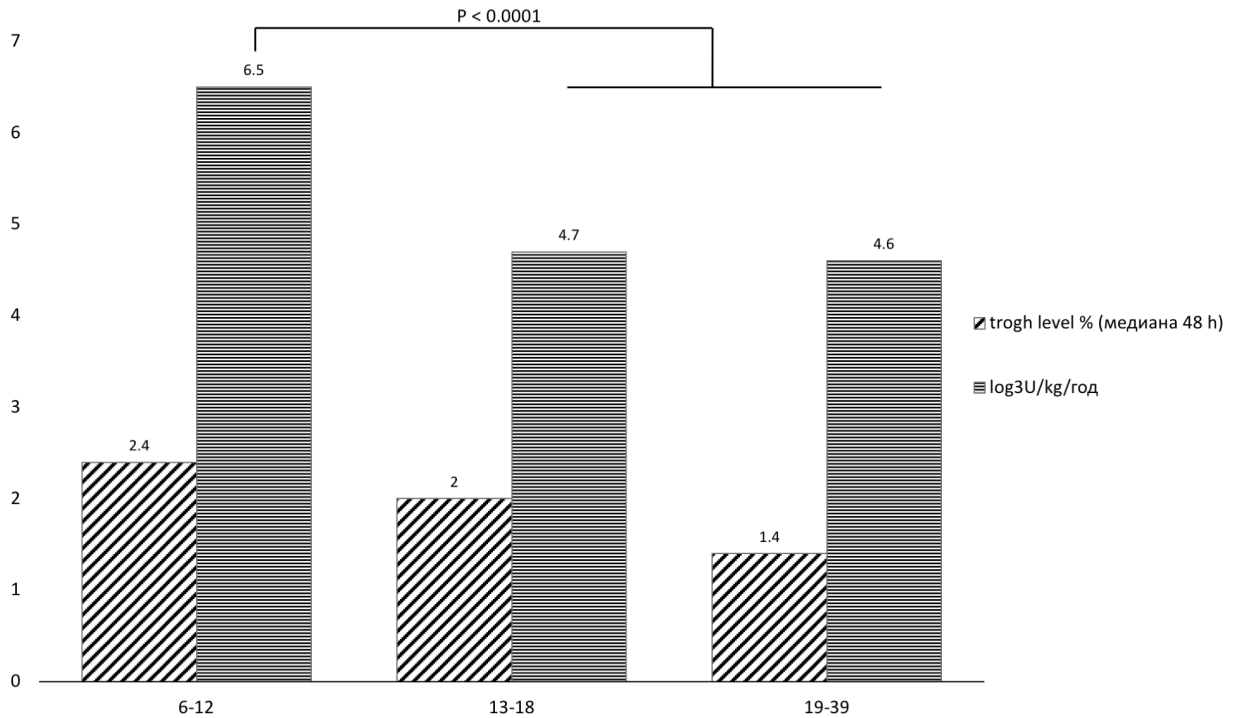
При тежка форма на Хемофилия В най-често прилаганият дозов режим е приложението на фактор IX два пъти седмично (42%), в средна доза 23 U/kg/т.т (± 6.4) и общ годишен разход 2635 U/kg/год (± 975). Режимът, свързан с най-висок разход на концентрат е приложението на фактор IX веднъж дневно – доза 20 U/kg/т.т., водещ до годишен разход 9285 U/kg/год (Таблица 7).

Немска кохорта			
Дозов режим	N	Средна U/kg (\pm)	Среден годишен U/kg/год (\pm)
Веднъж дневно	1	20	9285
Всеки втори ден	1	23	4741
3 пъти седмично	1	31	5128
2 пъти седмично	6	23 (6.4)	2635 (975)
1 път седмично	3	63 (35.3)	3130 (617)
При нужда тежка форма	2	-	1462 (838)

Таблица 7. Разход на факторен концентрат в кохортата от Германия при Хемофилия В.

Интерес представляват данните, показващи годишния разход на концентрат, разпределен в трите възрастови групи. Най-висок годишен разход на концентрат се наблюдава в групата от 6 до 12 години, при която се отчита също и най-високо

трафово ниво на фактор VIII. Другите две групи показват съпоставими данни, както за годишния разход на концентрат, така и за трафови нива на фактор VIII.



Фигура 8. Трафови нива на фактор VIII в плазмата, съотнесени към годишния разход на концентрат по възрастови групи в немската кохорта.

Кохорта от България:

Средният разход на концентрат за трите анализирани години при българската кохорта отчита средна стойност от 2791 U/kg/год (\pm 3149). Анализът на разхода на концентрат по възрастови групи показва, че във възрастта 6-12 год. разходът възлиза на 3024 U/kg/год (\pm 2365), във възрастта 13-18 год. на 3984 U/kg/год (\pm 4003), а между 19 и 39 год. на 3746 U/kg/год (\pm 1587). Проведеният статистически анализ (Mann-Whitney U тест) не демонстрира значима разлика в количеството, използван фактор при пациентите от трите възрастови групи ($p=0.661$)

Оценка на терапевтични схеми при българските пациенти, сочи най-често прилагана профилактична схема на лечение при седмичен режим с две апликации на концентрат (30% от пациентите) в средната доза 31.8 U/kg/т.т (\pm 14.9) и годишният разход на 3204 U/kg/год. (\pm 1595); При 21% от пациентите с Хемофилия

А се отчита прилагане на факторен концентрат в схема три пъти седмично, при средна доза на апликация 30 U/kg/т.т (± 12.9) и годишен разход 4373 U/kg/год. (± 2237). При останалите пациенти регистрираните терапевтични схеми, обхващат апликации на концентрата от един до два пъти седмично или един път седмично. Стойностите на прилаганата доза при гореспоменатите схеми се разпределя, както следва: 21.5 U/kg/т.т (± 2.3), 23.3 U/kg/т.т (± 3.5), със среден годишен разход на концентрат 1083 U/kg/год. (± 589), 1265 U/kg/год. (± 296) респективно. При 8 пациенти е наблюдаван най-висок среден годишен разход (8213 U/kg/год. (± 4386)), резултат от провеждана схема на лечение с апликация на концентрата в доза 46.1 U/kg/т.т (± 22.7) всеки втори ден. Дванадесет пациенти с Хемофилия А (6 с тежка и 6 със среднотежка форма) са лекувани с лечебен режим “при нужда”, като средният разход на концентрат за година се изчислява на 2075 U/kg/год. (± 1727) за пациентите с тежка форма на Хемофилия и 2433 U/kg/год. (± 247) за пациентите със средно тежка форма. Данните за терапевтичните режими при Хемофилия А са обобщени в таблица 8.

Българска кохорта			
Дозов режим	N	Средна U/kg (\pm)	Среден годишен U/kg/год (\pm)
Веднъж дневно	-	-	-
4 пъти седмично	-	-	-
Всеки втори ден	8	46.1 (22.7)	8213 (4386)
3 пъти седмично	11	30 (12.9)	4373 (2237)
2 пъти седмично	16	31.8 (14.9)	3204 (1595)
1-2 пъти седмично	2	21.5 (2.3)	1083 (589)
1 път седмично	3	23.3 (3.5)	1265 (296)
При нужда тежка форма	6	-	2075 (1727)
При нужда средно тежка форма	6	-	2433 (247)

Таблица 8. Разход на факторен концентрат в кохортата от България при Хемофилия А.

Българската кохорта обхваща трима пациенти с тежка форма на Хемофилия В. Двама от тях са лекувани с профилактичен режим - един по схема за приложение на факторен концентрат всеки втори ден с еднократна доза 25 U/kg/т.т, формирайки среден годишен разход на концентрат от 4550 U/kg/год, и един по схема 2 пъти седмично (доза на апликация 33 U/kg/т.т, годишен разход 3200 U/kg/год). Терапия в схема “при нужда” се осъществява при 1 пациент с тежка форма на Хемофилия В при среден разход на концентрат за три години 1068 U/kg/год (± 530) (Таблица 9).

Задача 1.

Българска кохорта			
Дозов режим	N	Средна U/kg (\pm)	Среден годишен U/kg/год (\pm)
Веднъж дневно	-	-	-
Всеки втори ден	1	25	4550
3 пъти седмично	-	-	-
2 пъти седмично	1	33	3200
1 път седмично	-	-	-
При нужда тежка форма	1	-	1068

Таблица 9. Разход на факторен концентрат в кохортата от България при Хемофилия В

Сравнение на годишния разход на концентрат между двете кохорти според възрастови групи:

Средният годишен разход на концентрат в немската кохорта, съпоставен с този в българската сочи 2.5 пъти по-високи стойности ($p=0.002$). Интересно, представено и сравнено по възрастови групи значимата разлика между използваното количество факторен концентрат на кг/т.т. за година се запазва само във възрастовата група 6-12 години ($p<0.0001$). В останалите две възрастови групи – 13-18 год. и 19-39 години не се регистрира значима разлика ($p=0.761$, $p=0.961$, респективно).

Обобщение:

1. Средният годишен разход на фактор VIII при лечение на пациенти с Хемофилия А е значимо по-висок (2.5 пъти) в немската спрямо българската кохорта.

2. Средният годишен разход на фактор VIII/фактор IX при лечение на пациенти с Хемофилия А/В в немската кохорта е значимо по-висок във възрастова група 6–12 години, без достоверни разлики между възрастовите групи в българската кохорта.

Към задача 2: Да се анализира и сравни приложението на различни терапевтични схеми (*при нужда* и профилактични) в кохорти от две националности според възрастови групи.

Сравнителният анализ между кохортите на пациенти от Германия и България е осъществен по следните показатели:

- а. Тип на терапевтичния режим (видове профилактични схеми и лечение по схема “при нужда”),
- б. Седмичен режим на приложение на концентрата.

Кохорта от Германия:

Според вида на прилаганата терапевтична схема при 15% от пациентите в немската кохорта е прилагана терапия “при нужда”, при 76% - първична профилактика, при 5 % - вторична профилактика и при 4% третична.

Разгледан по възрастови групи, седмичният режим на приложение на концентрата показва значителна вариабилност. Във възрастовата група между 6-12 години преобладава схема на приложение на концентрата три и над три пъти седмично (82% от пациентите), при пациентите между 13-18 год нараства значително частта на пациентите, прилагащи профилактика по-малко от три пъти седмично (от 18% във възрастта 6-12 на 30% при 13-18 год.), а във възрастната популация 19-39 год значителен процент от пациентите прилагат лечение “при нужда” (18%). В обобщение и в трите възрастови групи на немската кохорта от пациенти, най-често прилаганата седмична лечебна схема е апликацията на фактор три и повече от три пъти седмично. Отчита се статистически значима разлика в седмичната схема на приложение на факторния концентрат между трите възрастови групи ($p=0.009$) (Фигура 9А).

Кохорта от България:

Терапевтичният подход включва три различни схеми на лечение - “при нужда”, приложена при 26% от пациентите, първична профилактика - при 8% и вторична профилактика при 66%.

Анализът на седмичните режими според възрастта на пациентите демонстрира различия. Във възрастта между 6-12 и 13-18 години най-висок процент от пациентите (70% и 53%, респективно) са лекувани по профилактична схема с прилагане на факторен концентрат два пъти седмично. Във възрастовата група 19-39 год. значително нараства частта на пациентите, извършващи приложение на факторен концентрат три и над три пъти седмично (42% от пациентите в групата). За разлика от немската група, и в трите възрастови групи от българската кохорта се отчита значителен процент на лекуваните пациенти по схема “при нужда” – 17% във възрастта 6-12 години, 27% във възрастта 13 – 18 години и 37% от пациентите на възраст между 19 и 39 години. Доказва се статистически значима разлика в седмичната схема за приложение на факторен концентрат между трите възрастови групи ($p < 0.0001$) (Фигура 9В).

Сравнение между двете кохорти:

И при двете обследвани кохорти се наблюдават двете главни терапевтични схеми – лечение “при нужда” и профилактично лечение (Таблица 10). В немската кохорта 15% от пациентите се лекуват “при нужда”, докато в българската – 22%, като статистически не се открива значима разлика между кореспондиращия брой пациенти от двете кохорти ($p = 0.22$). Пациентите, при които е прилагана профилактична схема на лечение се разпределят в три подгрупи – лечение с първична, вторична и третична профилактика. Докато в немската кохорта най-голям процент пациенти са лекувани с терапевтична схема “първична профилактика” (74%), то в българската кохорта частта на пациенти, провеждащи този тип лечение възлиза на 5%. Схема “вторична профилактика” провеждат само 6% от немските пациенти, контрастно на 66% от българските. “Третична

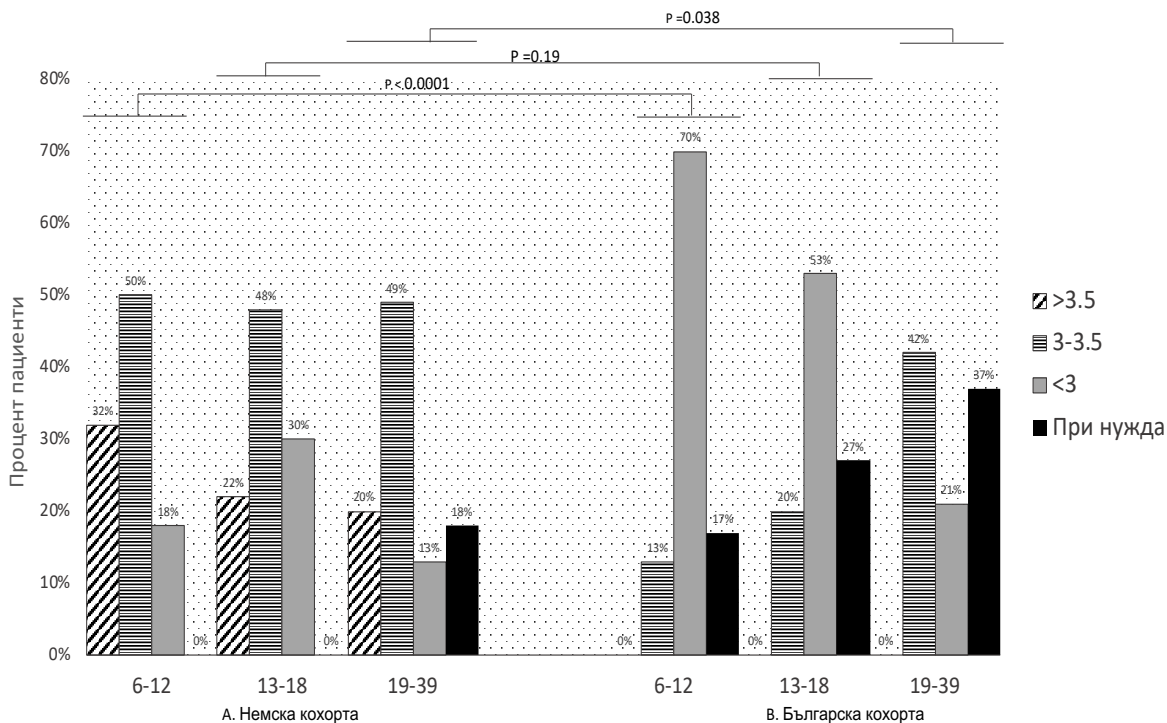
Задача 2.

профилактика” се прилага при 4% от немските пациенти, докато в българската кохорта този скъпоструващ режим не се употребява. Статистически значима е разликата, установена в разпределението на пациентите от двете кохорти между подгрупите профилактична терапия ($p < 0.0001$).

Схема на лечение	Немска кохорта	Българска кохорта	χ^2
„При нужда“	15%	26%	$p = 0.22$
Първична профилактика	76%	8%	$p < 0.0001$
Вторична профилактика	5%	66%	$p < 0.0001$
Третична профилактика	4%	-	$p < 0.0001$

Таблица 10. Разпределение на схемите на лечение между кохортите.

Съпоставка на седмичните схемите на приложение на факторния концентрат разкрива значими различия между всяка от трите сравнявани възрастови групи в немската и българската кохорта (Фигура 9). В немската кохорта преобладават профилактичните схеми със седмично приложение на факторния концентрат три и



Фигура 9. Разпределение на различните седмични режими терапия според изследваните възрастови групи пациенти от А. немска кохорта и В. българска кохорта.

повече от три пъти седмично при пациенти от всички възрастови групи.

Логично на отчетения по-нисък годишен разход на концентрат в българската кохорта в сравнение с немската, при българските пациенти във възрастта от 6-12 години превалят профилактични схеми с апликация на факторен концентрат по-малко от 3 пъти седмично. Същата тенденция се задържа и при българските пациенти на възраст 13-18 години. Единствено във възрастта 19-39 години се оформя пик на пациентите, прилагащи коагуляционен факторен концентрат три и повече от три пъти седмично. Докато в немската кохорта ефективността на терапията на пациентите се мониторира и регулира съобразно трафовите нива на фактор 8 и 9 в плазмата, този подход не е възприет в България (виж задача 1).

Терапевтичната схема “при нужда” е използвана само при пациентите на възраст 19-39 години в немската кохорта, докато прилагането ѝ се наблюдава във всички възрастови групи пациенти от България. Макар броят пациенти, лекувани “при нужда” от немската и българската кохорта да са сравними по големина, разликата в разпределението им по възрасти се оказва статистически значимо ($p=0.003$).

Обобщение:

1. Терапевтичният режим *при нужда* по-често се прилага в българската кохорта (без достоверни разлики спрямо немската кохорта), преференциално във възрастовата група 19–39 години (без достоверни разлики между възрастовите групи в българската кохорта).

2. От профилактичните терапевтични режими схемата за първична профилактика се прилага значимо по-често в немската кохорта, а в българската кохорта значимо по-често прилагана е схемата за вторична профилактика.

3. От профилактичните седмични режими схемата с ≥ 3 -кратно приложение се прилага значимо по-често в немската кохорта, а в българската кохорта по-често прилагана е схемата с < 3 -кратно приложение

Към задача 3: Да се анализира и сравни средният брой хемартрози (кръвоизливни епизоди) за тригодишен период на проследяване в кохорти от две националности според индексни стави и възрастови групи.

Анализът е извършен въз основа на регистрираните ставните кръвоизливи (хемартрози) в индексните стави, обобщени за ретроспективен период от 3 години преди момента на включване на пациента в изследването.

Кохорта от Германия:

От наблюдаваните 94 пациенти, 53 пациенти не съобщават за кръвоизлив в нито една от индексните стави за периода от трите години на наблюдение. При останалите 41 пациенти (44%) е регистриран поне един епизод на ставен кръвоизлив за същия период от време. Средният брой хемартрози в индексните стави за пациент показва стойности от 1.5 (± 4.4), вариращи от 1 до 8 кръвоизливи за става. Средният брой ставни кръвоизливи според възрастови групи е представен в таблица 11.

	Среден брой хемартрози за 3 г. период на ниво пациент		Mann-Whitney U p
	Немска кохорта (\pm)	Българска кохорта (\pm)	
За пациент	1.5 (4.4)	19.6 (20)	p<0.0001
6-12 год.	1.94 (2.1)	9.8 (11.8)	p=0.06
13-18 год.	1.61 (2.1)	21.3 (20.3)	p=0.004
19-39 год.	1.3 (2.4)	30.7 (22.8)	p<0.0001

Таблица 10. Среден брой кръвоизливи според възрастови групи. Сравнение между немска и българска кохорта.

Проучването обхваща изследване на 187 глезенни, 185 коленни и 186 лакътни стави. В 151 изследвани глезенни стави не е регистриран епизод на кървене. В останалите 36 стави пациентите съобщават за настъпили общо 76 кръвоизливи, водещо до средна стойност на кръвоизливите в глезенните стави от 0.39. При коленните стави са регистрирани 30 епизода на кървене, със средна стойност от 0.13. Независимо, от еднакъв процент на глезенни и коленни стави без регистрирани кръвоизливи, глезенните стави са представени с по-голям брой кръвоизливи, сравнени с коленните, доказано и от средните стойности на хемартрози за става – 0.39 vs 0.13. Най-слабо засегнати от кръвоизливи са

лакътните стави, където само при 7% от ставите е регистрирано кървене – общо 10 кръвоизлива със средна стойност за става от 0.05 (± 0.34) (Таблица 12 и 13).

Стави	Немска кохорта		Българска кохорта		χ^2
	Оценени стави (n)	Стави с регистрирани кръвоизливи n (%)	Оценени стави (n)	Стави без регистрирани кръвоизливи (n)	p
Глезени	187	36 (19%)	110	47 (43%)	0.002
Колена	185	36 (19%)	110	41 (38%)	0.03
Лакти	186	13 (7%)	110	19 (18%)	0.04

Таблица 11. Индексни стави, засегнати от хемартрози в двете кохорти.

Кохорта от България:

От наблюдаваните 55 пациенти от българската кохорта, 41 от пациентите съобщават за поне един ставен кръвоизлив през анализирания период, като средният брой хемартрози за пациент възлиза на 19.6 (± 20). Разгледани по възрастови групи, се наблюдава правопрпорционална зависимост между общия брой настъпващи кръвоизливи на ниво пациент и възрастта на пациентите (Таблица 11).

Стави	Немска кохорта		Българска кохорта		Mann-Whitney U test
	Общ брой отчетени хемартрози (n)	Хемартрози в става Сред. (\pm)	Общ брой отчетени хемартрози (n)	Хемартрози в става Сред. (\pm)	p
Глезени	76	0.39 (1.04)	397	3.5 (6.6)	<0.001
Колена	30	0.13 (0.67)	495	4.4 (8.1)	<0.001
Лакти	10	0.05 (0.34)	215	1.9 (5.8)	0.002

Таблица 12. Среден брой хемартрози по индексни стави в двете кохорти.

Таблицы 12 и 13 представят обобщените данните от извършената оценка на епизодите на ставно кървене по групи стави - глезенни, коленни и лакътни. При българските пациенти, както и при немските най-слабо засегнати са лакътните стави, където само при 19 лакътни стави са отчетени хемартрози със средна честота на хемартрозата 1.9 (± 5.8). В 43% от глезенните стави и 38% от коленните са регистрирани епизоди на кървене, водещи до средна стойност на ставните кръвоизливи от 3.5 и 4.4 за глезенна и коленни стави, респективно.

Сравнение между двете кохорти:

Сравнителният анализ е извършен от една страна на база оценени пациенти от двете кохорти, а от друга – съпоставяйки групи индексни стави при немските и българските пациенти.

Съпоставката на средния брой хемартрози в рамките на три годишен период за пациент от двете кохорти, разкрива значима разлика ($p < 0.001$) при 1.5 хемартрози за пациент от Германия срещу 19.6 на пациент от България (Таблица 11).

В таблица 13 е представена значителната разлика между средния брой хемартрози за всеки вид от индексните стави в двете кохорти ($p < 0.05$). В сравнение с немските пациенти, пациентите от България съобщават 9 пъти повече хемартрози в глезенните стави, 33 пъти повече в коленните и 38 пъти повече кръвоизливи в лакътните стави. Различен е и моделът на ставно кървене в двете кохорти – докато в немската кохорта при глезените се отчитат най-много на брой засегнати от кървене стави и най-голям брой настъпили ставни кръвоизливи, то в българската кохорта най-голям процент стави с отчетени кръвоизливи са глезенните, а най-висок брой хемартрози са регистрирани при коленните стави (Таблица 12).

Обобщение:

1. Средният брой хемартрози на пациент за тригодишен период е значимо по-висок в българската (19.6) спрямо немската кохорта (1.5) и достоверността се запазва при всички индексни стави (глезенна, колянна и лакътна).

2. Установява се обратнопропорционална зависимост между средния брой ставни кръвоизливи и възрастта на пациентите за немската кохорта и правопропорционална за българската кохорта.

3. Най-висок среден брой хемартрози се отчитат в глезенните стави за пациентите от немската кохорта, и в коленните за пациентите от българската кохорта.

Към задача 4: Да се оцени и сравни клиничният ставен статус по скалата на *Gilbert* в кохорти от две националности според възрастови групи, степен на ставно увреждане (GS), вид и брой на индексни стави.

Ставният статус на всички включени в изследването пациенти е оценяван и документиран съобразно скалата на Gilbert (Gilbert score, GS), чрез която се получават клинични данни (аксиална деформация на крайника, оток, обем на движение в ставата, флексионна контрактура, нестабилност на ставата, мускулна атрофия и крепитации) за степента на увреждане на дадена става.

Кохорта от Германия:

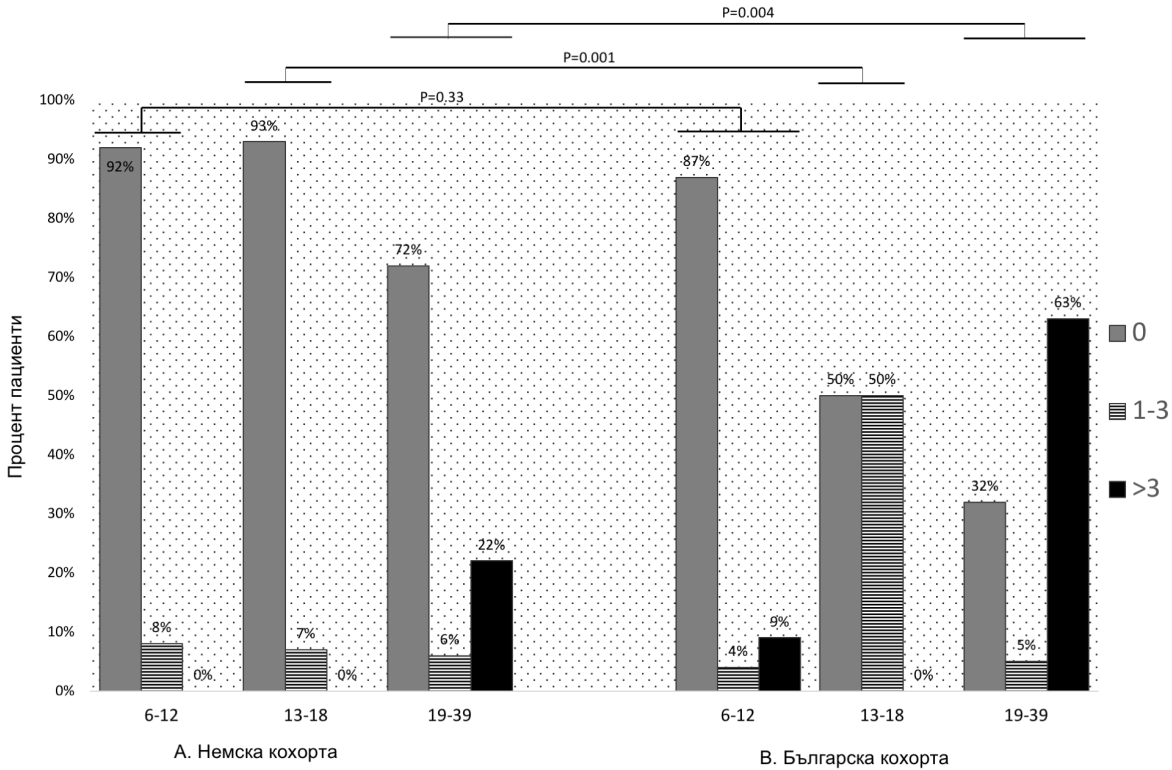
От анализа на данните в немската кохорта се установява, че само при 19% (n=18) от всички пациенти се наблюдават начални или напреднали признаци на клинично увреждане на една или повече от ставите.

Задълбоченият анализ на получените резултати върху клиничния статус на всички изследвани стави показва следните резултати: Най-много пациенти (n=76, 81%) формират групата пациенти без данни за клинично засягане на нито една от изследваните стави. В тази група сборът от точки, оценяващи всички параметри на Gilbert скалата, при всички изследвани стави, показва стойности равни на 0. Втората група обхваща пациенти (n=8, 8%), проявяващи минимални ставни изменения в една или повече стави, водещи до стойности на Gilbert score от 1 до 3 точки. Третата група (n=10, 11%) се характеризира с най-значителна степен на уреждане, в болшинството от случаите, на повече от една става. При тези пациенти GS нараства значително и достига стойности >3 (вариращ от 3 до 28).

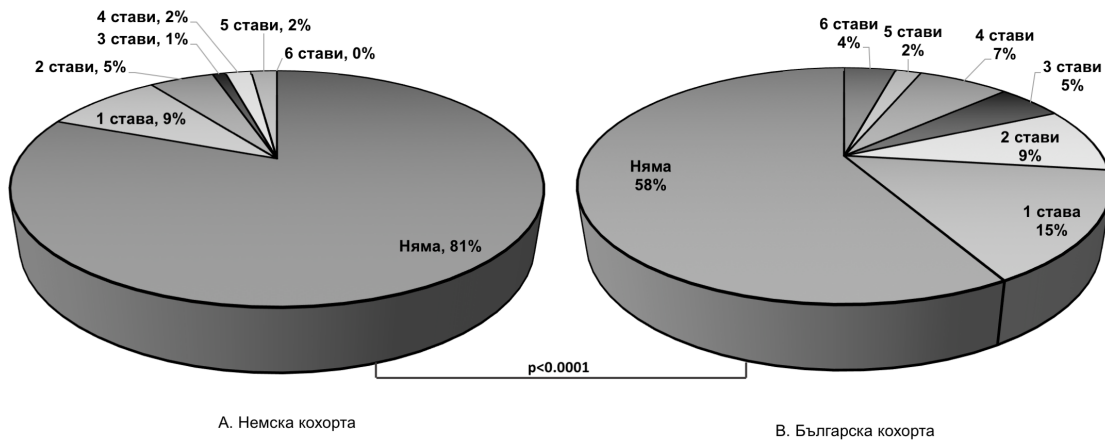
Интерес представляват данните, при които степента на ставните увреждания се разглежда съобразно различни възрастови групи. При първите две възрастови групи (6-12 год) и (13-18 год) се наблюдават най-много пациенти с GS=0, който показва липса на клинично засягане на която и да е от изследваните стави. Не се наблюдават пациенти, при които GS да е над 3. При последната група (над 18 год.) отново най-голям процент (72%) са пациентите с клинично незасегнати стави, но

Задача 4.

за разлика от другите две групи 22% от пациентите показват GS над 3 (Фигура 10 А).



Фигура 10. Разпределение на пациентите по възрасти, групирани спрямо получения сбор по скалата на Gilbert, от А. Немска кохорта, В. Българска кохорта. Сравнението между относителни дялове от отделните кохорти е извършено чрез приложение на χ^2 .



Фигура 11. Разпределение на пациентите от от А. немска кохорта и В. българска кохорта според броя стави с клинични изменения, оценени посредством Gilbert score. Сравнението между относителни дялове от отделните кохорти е извършено чрез приложение на χ^2 .

Анализът на данните съобразно броя на клинично засегнати стави за пациент установява, че най-голяма група представляват пациентите, при които се открива само една засегната става - 9%. В 5% от случаите се регистрират две клинично засегнати стави, а при 1% - три. В останалите 4% от случаите се наблюдава клинично увреждане на 4 или 5 от шестте изследвани стави, разпределени по равно (Фигура 11А).

Следващият анализ представя данни по отношение на разпределението на клиничните промени съобразно засягането на трите вида стави – глезенна, колянна, лакътна (Таблица 14):

Обобщените изследвания показват най-чести клинични изменения в глезенните стави – 17 от 187 (9%), характеризиращи се и с най-висок среден GS (3.2, (\pm 2.9)). На второ място по клинични промени остават лакътните стави, където се намират промени в 11 от 186 (6%) със среден GS от 3 (\pm 1.7). Най-нисък среден GS – 2.3 (\pm 1) и най-малко засегнати (6 от 185 (3%)) стави се отчита при изследване на коленните стави.

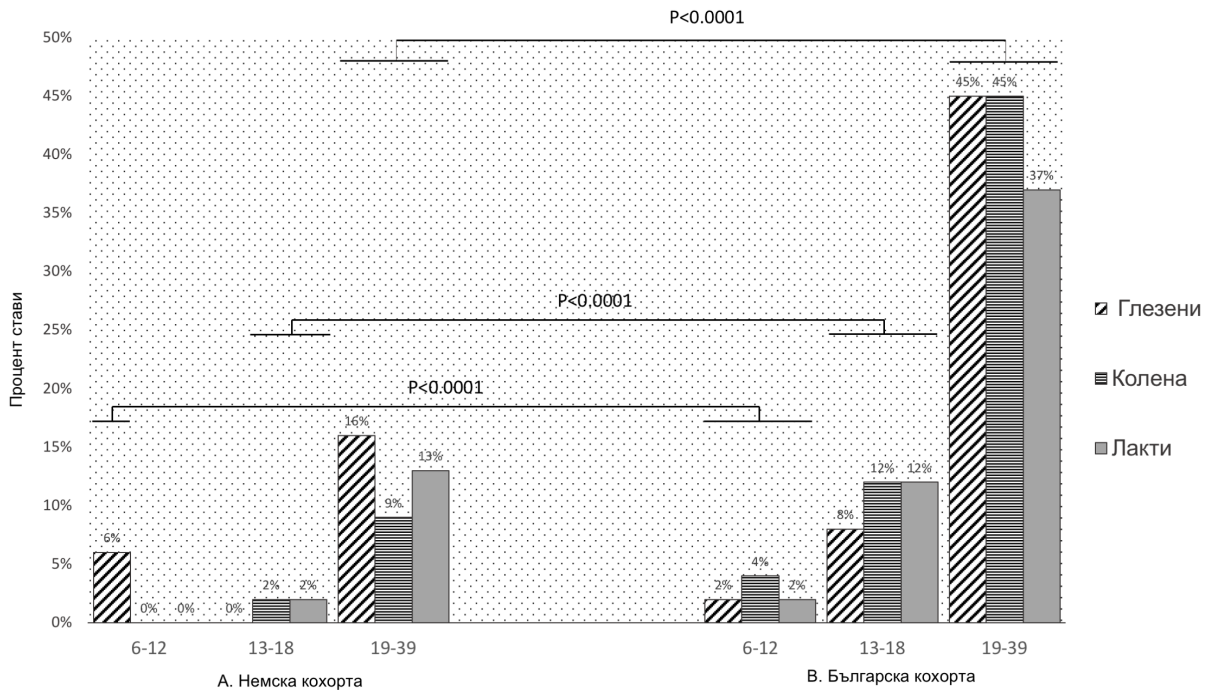
Немска кохорта				Българска кохорта			Mann-Whitney U
Стави	Оценени стави (n)	Клинично засегнати стави (n)	Gilbert score за засегната става (\pm)	Оценени стави (n)	Клинично засегнати стави (n)	Gilbert score за засегната става (\pm)	p
Глезени	187	17 (9%)	3.2 (2.9)	108	20 (19%)	4.4 (3.4)	0.014
Колена	185	6 (3%)	2.3 (1)	109	22 (20%)	4.5 (2.4)	<0.0001
Лакти	186	11 (6%)	3 (1.7)	110	18 (16%)	2.1 (1.2)	0.01

Таблица 13 Индексни стави с клинични изменения и резултати в скалата на Gilbert. Съпоставка между двете кохорти.

Разпределението на засегнатите стави според възрастта на пациента показва следните зависимости: При най-възрастната група, включваща пациенти от 19 до 39 години се наблюдава най-голям брой засегнати стави, обхващащи и трите вида анализирани стави. В най-висок процент промените се отчитат в глезенните стави (16%), последвани от лакътните (13%) и коленните (9%). При пациенти от втората възрастова група (13-18 год) не се откриват промени в коленните стави, докато

Задача 4.

лакътните и глезенните са представени в еднакъв процент на засягане. При пациентите на възраст 6-12 години клинични ставни изменения се регистрират единствено в глезенните стави (6%) (Фигура 12 А).



Фигура 12. Разпределение на клинично засегнатите стави по вид и възрастови групи. Процентът на засегнати стави - изразен спрямо общия брой стави за пациенти на посочената възраст от А. Немска кохорта, В. Българска кохорта. Сравнението между относителни дялове от отделните кохорти е извършено чрез приложение на χ^2 .

Кохорта от България:

Осъщественият анализ, базиран на данните от клиничното изследване на ставния статус (по GS) за българската група пациенти, представя следните обобщения. При 42% от проучваните пациентите се откриват клинични признаци на ставна увреда. Аналогично на пациентите от немската кохорта и тук пациентите са разпределени в три групи в съответствие със средния GS. В групата на пациентите с GS=0 (без клинични данни за ставна увреда) попадат 32 пациента (58%). В останалите две групи – на GS между 1 и 3 и GS>3, представляващи групата на пациентите с минимални до умерени ставни в една и повече от една стави и групата на пациентите с напреднали ставни увреди, попадат 9 пациента (16%) и 13 пациента (24%), съответно. Групирането на пациентите по възраст показва

изразена вариабилност на находките. При 87% от пациентите на възраст 6-12 год, 50% от пациентите на възраст 13-18 год и само 32% във възрастта 19-39 год. не се регистрират данни за изменения в ставите според скалата на Gilbert (Фигура 10B). Противоположно на данните, описани при пациенти без клинични ставни промени (GS=0), възрастовото разпределение на пациентите с изразени ставни увреди (GS>3) показва известна групираност. В групата на възраст между 19-39 години се регистрират най-много, 63%, пациенти с изразени ставни изменения. Групата на пациентите с GS 1-3 бележи пик в диапазона 13-18 години (50% от пациентите).

Разпределението на пациентите от българската кохорта според броя стави с установени клинични изменения е видно от Фигура 11B. При 15% от пациентите е налице засягане само на една от шестте изследвани стави, следвани от 9% пациенти с изменения в 2 от ставите. Пропорциите пациенти с изменения в 3 от 6-те (5%) и 4 от 6-те (7%) изследвани стави са съизмерими. В сравнително малка част от пациентите 2% и 4% се доказват изменения в 5 или 6 от изследваните стави едновременно.

Сравнителният анализ на клиничното засягане по видове стави разкрива, че при прилагане на скалата на Gilbert, най-често се откриват изменения в коленните стави (n=22 от 109, 20%). В тях се отчита и най-висок среден GS – 4.5 (± 2.4). На второ място, при 19% от изследваните глезенни стави (n=20 от 108) се установяват клинични изменения със среден GS, възлизащ на 4.4 (± 3.4). Най-рядко клинично засягане в комбинация с най-нисък Gilbert score се регистрира в лакътните стави (n=18 от 110, 16%, GS=2.1(± 1.2)) (Таблица 14).

Извършеното проучване на частта засегнати индексни стави по възраст на пациентите сочи, че и при трите вида стави – глезени, колене и лакти правопрпорционално на възрастта на пациентите се наблюдава стъпаловидно нарастване процента засегнати стави. Докато във възрастовите периоди 6-12 и 13-18 год клиничното засягане нараства от 2% до 8% за глезени, от 4% до 12% за коленни и от 2% до 12% за лакътни, то във възрастта 19-39 то бележи пик за всички видове стави – 45% от глезенните и коленните и 37% от лакътните (Фигура 12B).

Сравнителен анализ на ставния статус между двете кохорти:

Сравнението между двете кохорти е реализирано, както на ниво пациенти със ставни изменения, така и на ниво изменения в индексни стави по групи (глезенни, коленни, лакътни).

При съпоставка на процента пациенти с клинични ставни изменения от немската и българската кохорта се демонстрира значително по-голям процент български пациенти с позитивен Gilbert score (19% срещу 42%, $p=0.042$). Между кохортите се откриват различия и при прегледа на разпределението на пациентите по групи според изчисления общ GS за пациент. Докато в немската кохорта 81% от пациентите показват GS=0, то в българската кохорта този процент е значително по-нисък – 58% ($p<0.0001$). Макар по-голям процент български пациенти да попадат и в групите с GS 1-3 и GS>3, статистически не се отчита значима разлика между кохортите ($p>0.05$).

Сортирането на тези три групи пациенти с различни степени на ставна увреда по възрасти - 6-12, 13-18 и 19-39 години (фиг. 10), демонстрира значими статистически различия. Докато във възрастта 13-18 години в немската кохорта превалят пациентите с GS=0, а пациентите с GS между 1-3 са едва 9%, то процентът български пациенти, попадащи в двете групи на GS остава еднакъв (50% с GS=1-3 и 50% с GS>3) ($p=0.001$). Значимо по-висок процент (63% vs. 22%, $p=0.004$) български пациенти във възрастта 19-39 години формират групата с GS>3 в сравнение с немската кохорта. Във възрастта 6-12 години не се открива значима разлика в разпределението на пациентите от двете кохорти ($p=0.333$).

Съпоставката на средните стойности на Gilbert score за глезенни, коленни и лакътни стави подчертава следните различия между кохортите: При немските пациенти в най-голям брой глезенни стави се отчитат клинични изменения, които формират и най-високият среден GS между групите индексни стави - 3.2. Следващи по честота на засягане са лакътните стави. В най-малък процент коленни стави се откриват клинични изменения. В противовес на описаното, в българската кохорта глезенните стави отстъпват по честота на измененията на

коленните стави, макар в тях да се регистрира най-висок среден GS (4.5). В лакътните стави на българските пациенти най-рядко се откриват изменения, при това с най-нисък среден GS за кохортата. За всяка от групите индексни стави в българската кохорта се отчитат 3 по-високи средни стойности на GS (виж таблица 14).

Съпоставено по възрастови групи, разпределението глезенните, коленните и лакътните стави с данни за клинични изменения показва съществени различия между кохортите. Във възрастта 6-12 години при немските пациенти клинични изменения се откриват само в глезенните стави, докато при българските пациенти позитивен GS се описва и при коленните и лакътните стави. Около 3 пъти по-висок е процентът на ставите с отчетени изменения при пациентите на възраст 13-18 години от българската кохорта в сравнение с немската. Освен това в същата възрастова група при немските пациенти не се откриват засегнати глезенни стави, докато при българските пациенти изменения се отчитат във всички видове индексни стави. До 4 пъти по-висок е процентът на клинично засегнатите стави във възрастта 19-39 години в кохортата от България и докато при немските пациенти най-отчетливо е засягането на глезенните стави, то при българските изменения в еднаква степен се откриват в коленните и глезенните стави. Силно значима статистическа разлика ($p < 0.0001$) се открива в разпределението на клинично засегнатите индексни стави между трите съпоставени възрастови групи от двете кохорти (фигура 12).

Обобщение:

1. Високостепенно ставно увреждане ($GS > 3$ точки) значимо най-често се регистрира в коленни (22% в българската кохорта) и глезенни стави (9% в немската кохорта), като относителният дял на това увреждане за всички индексни стави (глезенна, колянна и лакътна) е достоверно по-висок в българската кохорта.

2. Относителният дял на пациенти със засягане само на една става, оценен по скала на Gilbert, е значимо по-висок в немската (45%) спрямо българска (35%) кохорта.

3. Клиничният ставен статус, оценен по скалата на Gilbert, демонстрира значимо по-висока честота на високостепенно ставно увреждане (GS > 3 точки) във възрастовата група 19–39 години, като относителният дял на тази степен е достоверно по-висок в българската спрямо немската кохорта.

4. В българската кохорта се откриват достоверно повече на брой стави с установени клинични промени, като тази значимост се запазва и в трите възрастови групи.

5. Най-често клинични изменения се откриват в глезенните стави на пациентите от немската кохорта и в коленните стави на пациентите от българската кохорта.

Към задача 5: Да се анализира взаимовръзката между средния брой на настъпили хемартрози за тригодишен период на проследяване и находките от клиничния ставен статус (оценка според скалата на *Gilbert*) в кохорти от две националности.

Взаимовръзката между клиничния ставен статус, окачествен по скалата на *Gilbert* и честота на ставно кървене е анализирана чрез дескриптивен статистически метод. Данните представляват сравнителен анализ между немската и българската кохорта. Анализът на всички пациенти (с или без регистрирани епизоди на кървене) показват значително по-голям среден брой на хемартрози в българската кохорта – 19.6 (± 20), сравнени с тези в немската – 1.5 (± 4.4), ($p < 0.0001$). При анализ на пациенти с регистрирани епизоди на кървене и клинично положителен GS, средният брой на хемартрозите нараства, както за немската (до 2.7 (± 3.4)), така и за българската кохорта до 32.9 (± 20.4), ($p = 0.001$).

	Немска кохорта	Българска кохорта	Mann-Whitney U
Стави	Хемартрози в става с установени клинични изменения Сред. (\pm)	Хемартрози в става с установени клинични изменения Сред. (\pm)	p
Глезени	1 (1.8)	6.1 (8.7)	0.038
Колена	1.5 (1.5)	16 (10)	0.002
Лакти	0.4 (1)	8.3 (10)	0.014

Таблица 14. Среден брой хемартрози в стави с клинични изменения. Съпоставка между кохортите.

Сравнителни данни за средния брой на кръвоизливите, разпределени по глезенни, коленни и лакътни стави, при които са регистрирани епизоди на кървене и клинични промени показват също различия между двете кохорти (таб. 15). Докато при немската кохорта се отчитат среден брой хемартрози от 1(± 1.8), 1.5(± 1.5), 0.4(± 1) съответно за глезенни, коленни и лакътни стави, то този брой е значително завишен при пациенти от българската кохорта, показващи следните резултати - глезени - среден брой кръвоизливи 6.1 (± 8.7), ($p = 0.038$) колене 16 (± 10) ($p = 0.002$) и лакти 8.3 (± 10) ($p = 0.014$).

Корелацията между абсолютния брой на регистрираните хемартрози за три годишен период и степента на клиничните ставните изменения, оценени чрез GS

при пациенти от двете кохорти е анализирана посредством тест за корелация на Spearman (таблица 16). Анализът отчита слаба корелация между броя на настъпилите кръвоизливни епизоди и изразеността на ставните изменения за глезенни стави ($r=0.205$, $p=0.005$) и лакътни стави ($r=0.120$, $p=1.02$), както и умерена за коленни стави ($r=0.308$, $p<0.0001$) при пациенти от немската кохорта. Отчита се слаба и незначима корелация между брой регистрирани ставни кръвоизливи и общия GS на пациент ($r=0.11$ $p=0.87$).

	Немска кохорта	Българска кохорта
	Коефициент на Spearman (r) Характеристика на корелацията	Коефициент на Spearman (r) Характеристика на корелацията
За пациент	$r=0.11$, $p=0.87$ <i>слаба, незначима</i>	$r=0.596$, $p<0.0001$ <i>силна, значима</i>
За глезени	$r=0.205$, $p=0.005$ <i>слаба, значима</i>	$r=0.292$, $p=0.002$ <i>слаба, значима</i>
За колене	$r=0.308$, $p<0.0001$ <i>умерена, значима</i>	$r=0.706$, $p<0.0001$ <i>много силна, значима</i>
За лакти	$r=0.120$, $p=1.02$ <i>слаба, незначима</i>	$r=0.541$, $p<0.0001$ <i>силна, значима</i>

Таблица 15. Корелационни коефициенти на Spearman за немската и българска кохорти, изразяващи взаимовръзката между честотата на ставно кървене за три годишен период и находките от клиничния ставен статус. Данни на ниво пациент и отделни видове индексни стави.

За разлика от немската кохорта при българската кохорта се наблюдава статистически значима взаимовръзка между честотата на ставно кървене и клиничния ставен статус – с увеличаване на броя на кръвоизливите се диагностицира влошаване на ставния клиничен статус. Сравнителните данни показват много силна корелация ($r=0.726$, $p<0.0001$) при коленни стави, силна при лакътни стави ($r=0.541$, $p<0.0001$). Слаба корелация се отчита при глезенни стави ($r=0.292$, $p=0.002$). Допълнително взаимовръзката между честотата на кървене и степента на ставно увреждане е доказана и при сравняването на брой регистрирани ставни кръвоизливи и общия GS на пациент ($p=0.01$), показващ и силен коефициент на корелация 0.596 , ($p<0.0001$).

Обобщение:

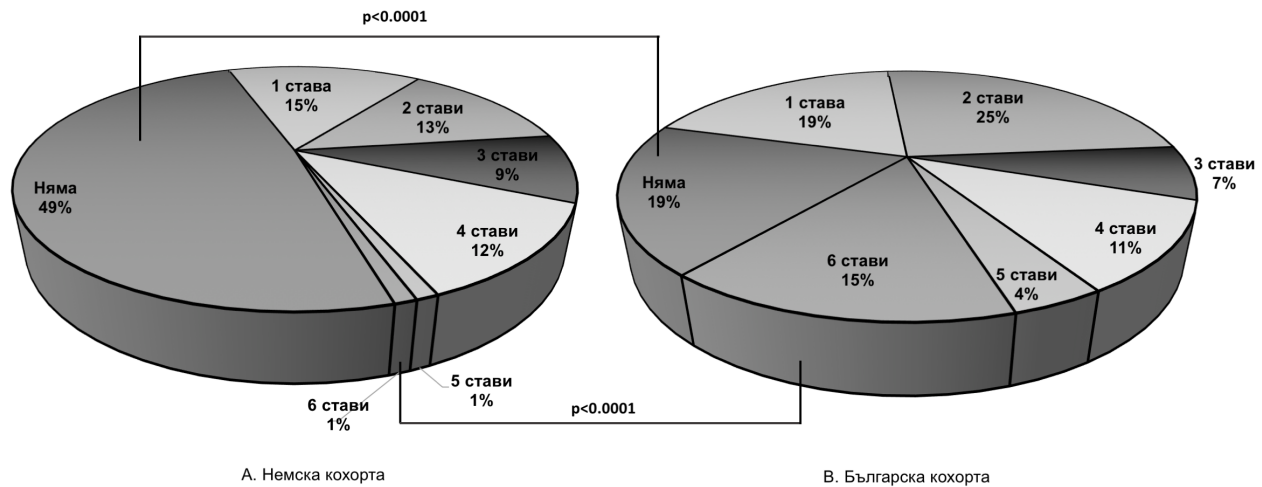
Абсолютният брой регистрирани хемартрози (кръвоизливни епизоди) достоверно корелира със степента на ставно увреждане, оценена по скалата на *Gilbert* (GS), при глезенни стави (в немската кохорта) и при коленни, лакътни и глезенни (в българската кохорта).

Към задача 6: Да се анализират и сравнят находките от изследване на ставите чрез ехографския метод HEAD-US при пациенти от двете кохорти според възрастови групи, степен на ставно увреждане, категория ехографски маркери (S,C,B), вид и брой индексни стави.

С цел по-задълбочено оценяване на началните и късните ставни изменения, за двете кохорти е извършено изследване на ставите чрез ехографски метод. Степента на промени е оценявана по скалата HEAD-US, даваща възможност скринирането на шест стави – глезен, коляно и лакът в рамките на еднократно изследване. Оценката по тази скала позволява да бъдат диагностицирани определени биомаркери, отразяващи активността на заболяването и настъпилите остеохондрални увреди. При всички пациенти е търсено и оценявано наличието на синовиална пролиферация, хрущялни и костни дефекти в ставите. При тежко засегнати стави с диагностицирани промени и по трите критерия HEAD-US скорът достига максимални стойности от 8 за става. И при двете кохорти данните от ехографската оценка са представяни от една страна на ниво брой пациенти с ехографски регистрирани ставни промени и от друга страна - степен и тежест на уврежданията на ниво изследвани индексни стави.

Кохорта от Германия:

От изследваните 94 пациенти от немската кохорта, ехографски изменения, проявени в различна по тежест степен и засягащи от 1 до 6 стави са регистрирани при 48 пациенти (51%). Обобщен за всички пациенти с доказани ставни изменения, средният HEAD-US score възлиза на 7.7 (± 7.6). В най-голям процент от пациентите (15%) откриваните дефектите засягат само една от шестте индексни стави. Най-малка част от пациентите показват изменения в 5 от шестте и 6 от шестте изследвани стави (1%). Засягане на 2, 3 и 4 от индексните стави се установява при 13%, 9%, 12% от пациентите (Фигура 13A).



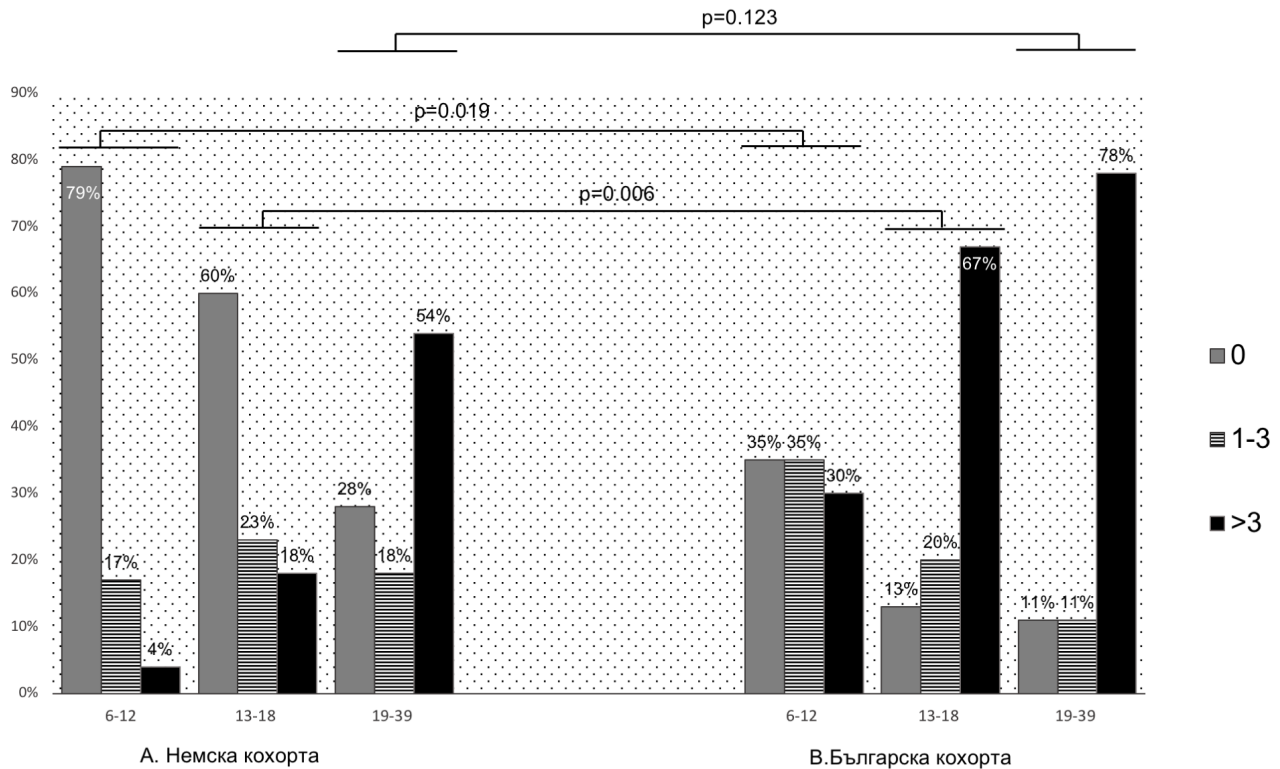
Фигура 13. Разпределение на пациентите от от А. немска кохорта и В. българска кохорта според броя стави с ехографски изменения, оценени посредством HEAD-US. Сравнението между относителни дялове от отделните кохорти е извършено чрез приложение на χ^2 .

При анализиране на степента на изразеност на ставните изменения, пациентите са групирани в три групи на базата на получения HEAD-US score – пациенти без ставни промени (HS=0), пациенти с леко до умерено изразени ставни изменения (HS от 1 до 3) и пациенти с тежки ставни дефекти (HS>3). Принципът на разделяне на групите има за цел да регистрира и охарактеризира минималните и ранни ставни изменения. Най-висок процент 49 % (n=46) от наблюдаваните пациенти не показват ставни изменения, формирайки HS=0. Интерес представляват данните, получени при пациенти с тежки ставни увреждания (HS>3), които обхващат следващата по големина група от 33% (n=31). В най-нисък процент (18%, n=17) е представена групата, при която се наблюдават средни по тежест ставни увреждания, характеризиращи се с HS от 1 до 3.

Внимателният преглед на същите данни, разпределени по възрастови групи (фиг. 14A) показва, че в първите две възрастови групи (6-12 и 13-18 години) преобладават пациентите без ставни увреждания (HS=0) – 78% и 60%, респективно. В първата група при деца до 12 години най-слабо са регистрирани ставни увреждания с висок HS>3, докато този процент нараства три пъти при пациенти до 18 години. В последната възрастова група се наблюдава обратна

Задача 6.

зависимост, където най-висок процент заемат пациенти с тежки ставни увреждания (54%).



Фигура 14. Разпределение на пациентите по възрасти, групирани спрямо получения HEAD-US скор от А. Немска кохорта, В. Българска кохорта. Сравнението между относителни дялове от отделните кохорти е извършено чрез приложение на χ^2 .

Анализът на данните, разгледан по стави, демонстрира, че от изследваните 187 глезенни, 185 коленни и 186 лакътни стави, ехографският метод на оценка отчита най-много дефекти в глезенните стави (30%) (таб. 17), където е представен и най-високият среден HS 3.7 (± 2.2). Коленните стави заемат втора по засягане честота, но интересно с най-нисък HS - 2.3 (± 1.7). Ултразвукови изменения се доказват рядко в лакътните стави (7%), но доказаните промени са сравнително тежки, характеризиращи се с HS от 3.3 (± 2).

Немска кохорта				Българска кохорта			Mann-Whitney U
Стави	Оценени стави (n)	Стави с ултразвукови изменения (n)	HEAD US score на увредена става Сред. (±)	Оценени стави (n)	Стави с ултразвукови изменения (n)	HEAD US score на увредена става Сред. (±)	p
Глезени	187	56 (30%)	3.7 (2.2)	110	62 (56%)	4.2 (1.9)	0.001
Колена	185	46 (25%)	2.3 (1.7)	110	36 (33%)	4.3 (2.3)	0.001
Лакти	186	13 (7%)	3.3 (2)	108	27 (25%)	3.5 (1.7)	0.023

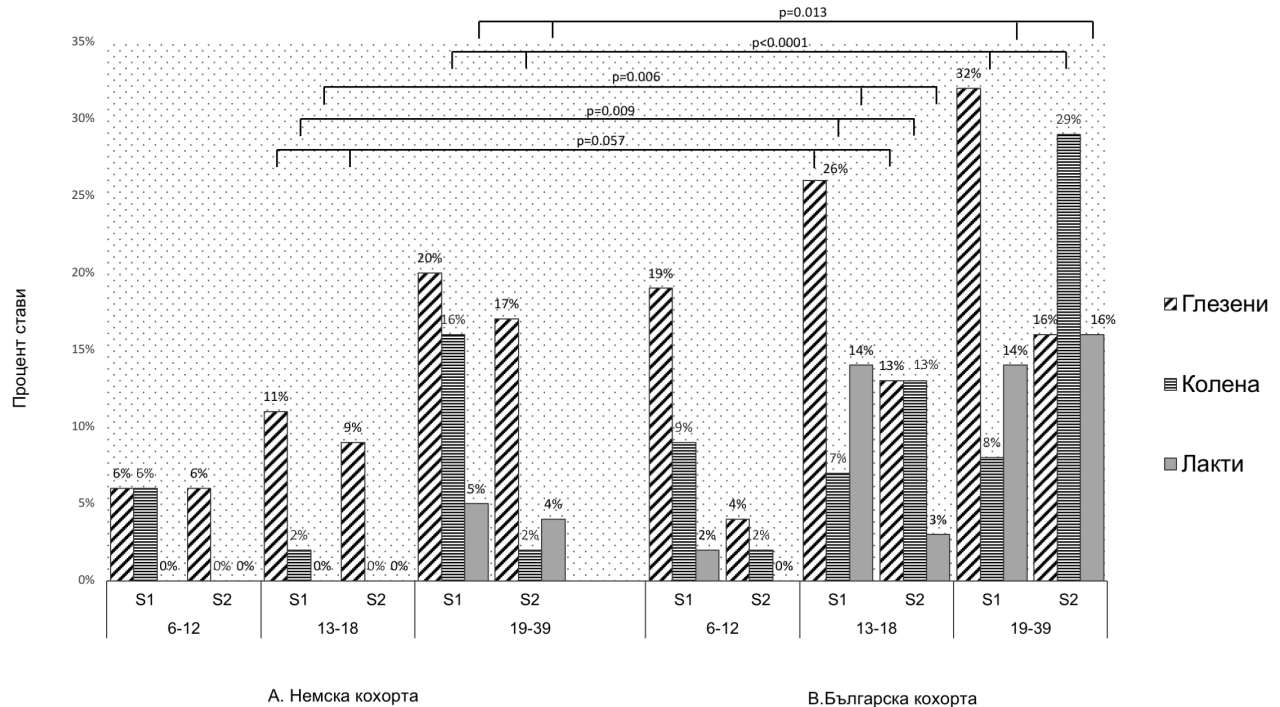
Таблица 16. HEAD-US за двете кохорти според видове индексни стави.

По-нататъшния анализ разглежда индивидуалната оценка на всеки един от трите биомаркери, формиращи HEAD-US скалата.

- *Синовиална пролиферация (S)* – Синовиалната пролиферация е оценявана според степента на изразеност на синовиалните промени, където измененията са групирани в две степени – S1, слабоизразено до умерен синовит и S2 – изразена синовиална пролиферация. Промените в синовията са оценявани при всички пациенти в трите вида индексни стави. Данните са групирани спрямо трите различни възрастови групи. И при трите анализирани възрастови групи, най-често засегнатата от синовиална пролиферация става е глезенната. Най-голяма част глезенни стави се засягат във възрастта 19-39 години, където 20% от глезените показват степен на синовиална пролиферация S1, а 17% - S2 (Фиг. 15A). Във възрастта 6-12 години, частта на глезенните стави със синовит в степен S1 и S2 е еднаква, възлизайки на 6%. По-висок е процентът на глезените с отчетена пролиферация S1 и S2 при 13-18 годишните – 11% и 9%, респективно.

На второ място по засягане от синовит са коленните стави. При тях във възрастта 6-12 години и 13-18 години 6% и 2% от коленните стави, показват синовиална пролиферация в степен S1. Аналогично на глезенните стави, най-висок процент коленни стави, увредени от синовит се диагностицират при 19 до 39 годишните – S1 в 16% и S2 в 2%.

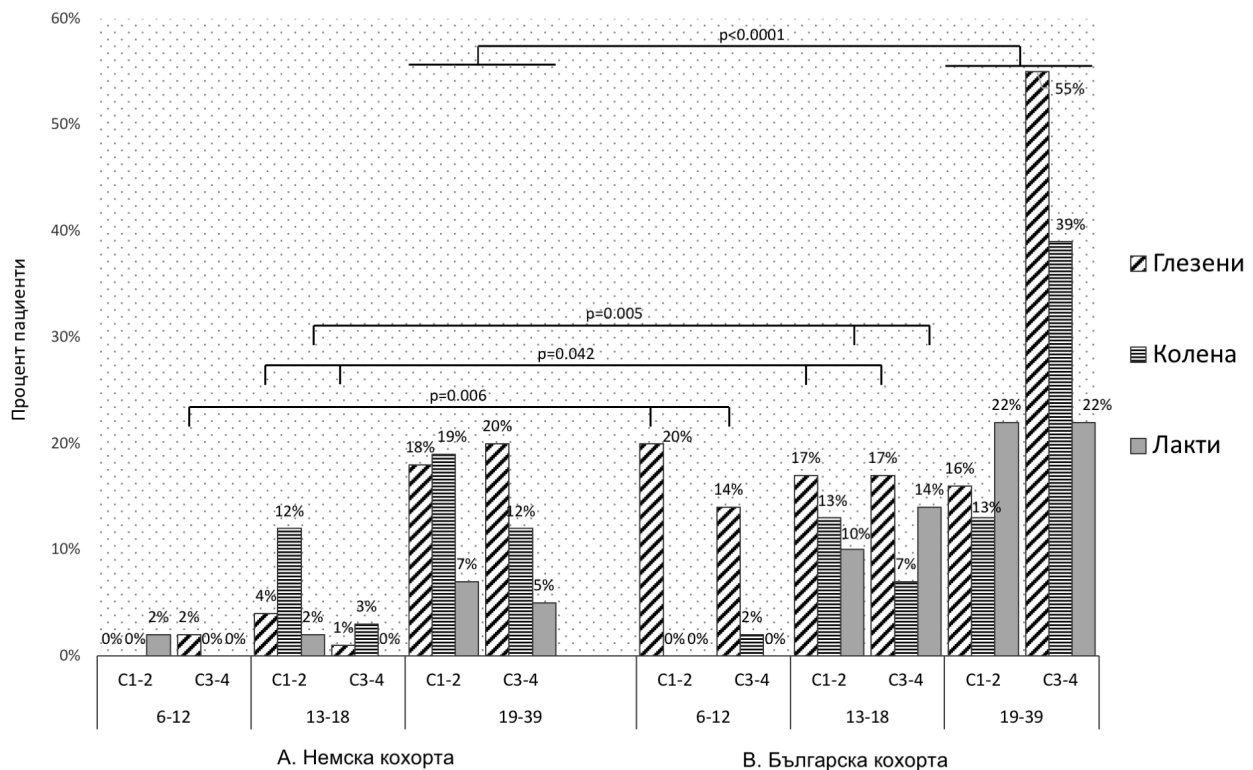
Най-рядко синовит се открива в лакътните стави, единствено във възрастта 19-39 год., където в 5% от лакътните стави се отчита синовиална пролиферация степен S1 и в 4% - степен S2 (фиг. 15A).



Фигура 15. Разпределение на степените синовиална пролиферация S1 и S2 по видове стави и възраст на пациентите от А. Немска кохорта, В. Българска кохорта. Сравнението между относителни дялове от отделните кохорти е извършено чрез приложение на χ^2 .

- Дефекти в ставния хрущял (С) – Дефектите в ставния хрущял се класифицират в 4 степени на увреда. Оценка целостта на ставния хрущял се извършва чрез измервания в 3 ехографски равнини. Отчетените промени се класифицират в степени С1 – С4. Засягане <25% и <50% от повърхността на ставния хрущял формират първите две степени - С1 и С2. Напреднали процеси на деформация в повърхността на ставния хрущял между 50-75% и 75-100%, характеризиращи хемофилната артропатия са класифицирани в степен С3 и С4. Данните представят разпределението на наблюдаваните дефекти, обединени в две групи (С1 и С2; С3 и С4) за всяка от индексните стави според определените възрастови групи. За разлика от синовиалното засягане, извършената съпоставка показва, че коленните и глезенните стави проявяват

хрущялни увреди в относително еднаква степен. Във възрастовата група 6-12 години увреждане в ставния хрущял на коленете не се открива. Първи промени на засягане на ставния хрущял се доказват във възрастовата група 13-18 години, където 12% от коленните стави, показват засягане в степен С1-С2 и 3% в степен С3-С4. Съпоставени с лакътните и глезенните стави, коленните стави се открояват като най-засегнати в гореспоменатата възрастова група. При пациенти над 19 год е запазена тенденцията на увреждане на ставния хрущял в степен С1-С2, макар обхващаща значително по-висок процент от изследваните пациенти (19%), докато тези с увреждания С3-С4 представляват 12%.



Фигура 16. Разпределение на хрущялните изменения, степен С1-2 и С 3-4 по видове стави и възраст на пациентите от А. Немска кохорта, В. Българска кохорта. Сравнението между относителни дялове от отделните кохорти е извършено чрез приложение на χ^2 .

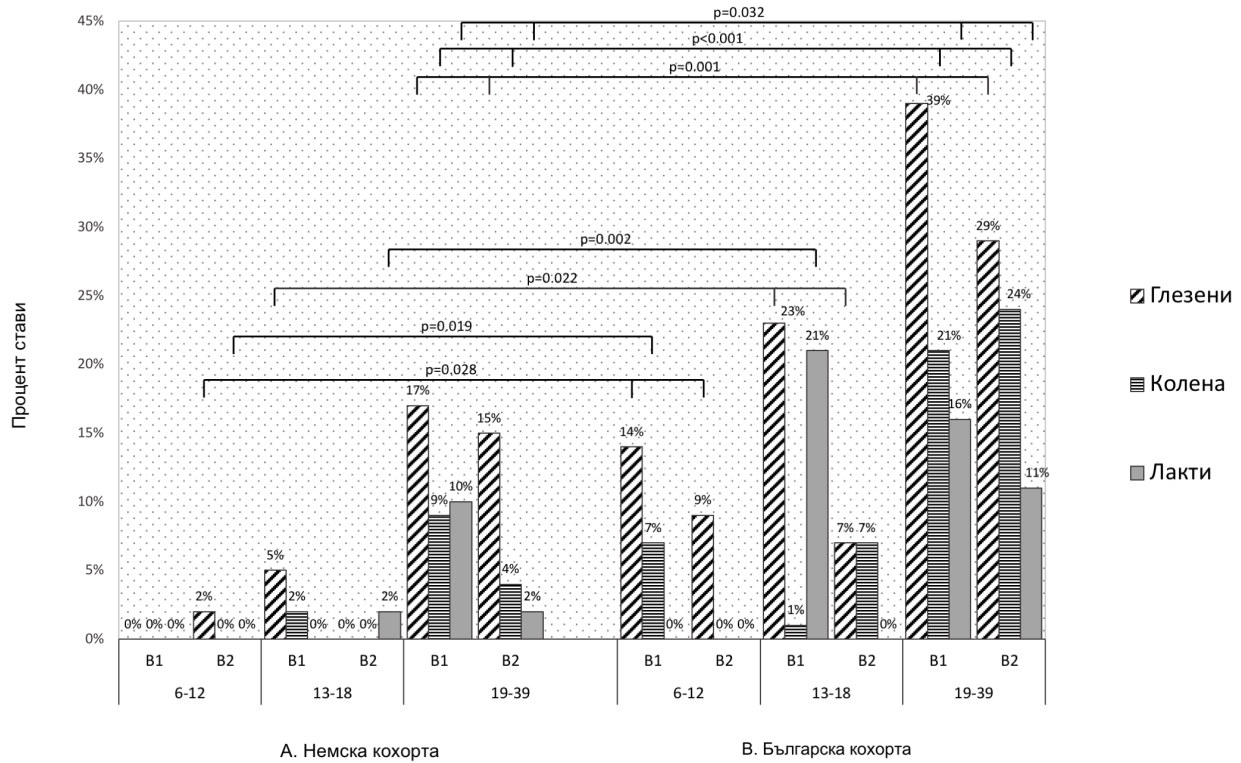
Глезенните стави показват засягане и в трите възрастови групи. Макар сравнително рядко да са наблюдавани промени при деца 6-12 години (2%),

отчетените дефекти са сравнително тежки и класифицирани в степен С3-С4. Във следващата възрастова група - 13-18 год., хрущялните промени обхващат също сравнително малка част от глезените - 4% със степен С1-С2 и 1% със С3-С4. Най-висок процент хрущялна увреда и в двете степени на засягане (18% в С1-С2 и 20% в С3-С4) показват глезените на пациентите на възраст 19-39 години.

Лакътните стави отново демонстрират най-рядко засягане, като стави с напреднала степен на засягане (С3 и С4) се откриват само в най-възрастната група (Фиг. 16А).

- *Дефекти в субхондралната кост (В)* – По подобие на синовиалната пролиферация, HS предвижда две степени за оценка на костните увреди – В1 и В2. Степен В1 характеризира стави с лекостепенни неравности в субхондралната кост или без първоначални остеофити около ставата. Степен В2 описва става, с нарушена архитектура на субхондралната кост с ерозии и наличие на остеофити около ставата. Сравнителният анализ на всички индексни стави, в двете степени на костно засягане – В1 и В2 сочи, че най-голям процент деформирани глезенни, коленни и лакътни се регистрират във възрастта 19 до 39 години. Интерес представляват данните, показващи, че дефекти в степен В1 в глезенните стави се откриват почти два пъти по-често (17%), отколкото в коленните (9%) и лакътните (10%) стави. Глезенните стави с изменения в степен В2 са 7.5 пъти повече отколкото лакътните и 3.75 пъти повече от коленните стави. По-нисък е процентът на стави с изменения в субхондралната кост във възрастите 6-12 и 13-18 години (фигура 17А).

Задача 6.



Фигура 17. Разпределение на субхондралните костни дефекти, степен B1 и B2 по видове стави и възраст на пациентите от А. Немска кохорта, В. Българска кохорта. Сравнението между относителни дялове от отделните кохорти е извършено чрез приложение на χ^2 .

Кохорта от България:

Оценка на ставния статус посредством ехографски метод и скалата HEAD US е осъществена и за всички пациенти от българската кохорта. В тази кохорта, 81% от пациентите (n=45) показват засягане на поне 1 от шестте индексни стави, резултирайки в среден HS за пациент от 11.8 (± 10), вариращ от 1 до 34. В най-голям процент са демонстрирани патологични промени в една (19%) и две (25%) от изследваните стави. От останалите пациенти най-голяма група представляват тези, при които се откриват изменения във всички 6 оценени стави (15%) (фиг. 13A).

Анализът обобщава разпределението на пациентите по групи в съответствие с изчисления HS за пациент. Най-много на брой пациенти (n=30) попадат в групата с HS>3, характеризиращ напреднали ставни увреди в една или повече от изследваните стави. Групата на пациенти с лекостепенни ставни увреди (HS 1-3) и

групата на пациентите без доказани изменения от ултразвуковия преглед (HS=0) се формира от съпоставим брой пациенти (n=13 и n=12, съответно).

Фигура 14В представя анализирания ехографски находки за отделен пациент, разпределени по възрастови групи. Във възрастта 6-12 години пациентите, представени и с трите степени на ставни увреждания показват почти еднакъв процент. Във възрастта 13-18 и 19-39 години, частта пациенти с отчетливо изразени ставни промени HS>3 (67% и 78%, респективно) превалява над пациентите с липсващи и лекостепенни ставни увреди (11% и 20%, респективно).

Общо 328 индексни стави са оценени чрез HEAD-US в рамките на българската кохорта, като в 38% от тях (n=125) се откриват изменения на ехографско ниво. Най-често дефекти се диагностицират в глезенните стави (56%) с HS, вариращ от 1 до 8, средна стойност 4.2 (± 1.9) (таб. 17). Следваща по засягане е колянната става в 33% от случаите, но с най-висока средна стойност на HS от 4.3 (± 2.3), вариращ от 1-8. Най-рядко се наблюдават дефекти в лакътните стави, където се открива и най-ниска средна стойност на използваната скала 3.5 ($\pm 1,7$), колебаещ се между 1 и 6.

Специфичните за прилаганата ехографска скала, HEAD-US, показатели са анализирани по степени според възрастовото разпределение на пациентите, както следва:

- *Синовиална пролиферация (S)* – Също както при немската кохорта и тук оценените стави са разгледани при разпределение в две групи според тежестта на синовиалната пролиферация - S1 и S2. Представени по възрасти, находките от ехографския ставен статус показват изразена вариабилност. Най-често синовиална пролиферация се доказва в глезенните стави. Прави впечатление, че и в трите възрастови групи ставната пролиферация е изразена със средна степен на тежест, класифицирана в S1 степен. Тези промени в най-голям процент са представени във възрастова група 19-39 години. И в трите възрастови групи в съществено по-малък процент се открива S2 степен на синовит (Фигура 15В).

Анализът на синовиалната пролиферация при коленните стави показва промени във всички възрастови групи. Най-висок процент (29%) и най-тежки патологични промени (S2) се наблюдават при пациентите на възраст 19-39 години. При останалите възрастови групи изразеността на синовиална пролиферация е съпоставима, като за степен S1 варира между 5% и 12%, а за степен S2 – 2% и 13%.

Белези на синовиална пролиферация се откриват най-рядко в лакътните стави. Въпреки това значителна част от лакътните стави на пациентите на възраст 19-39 години показват синовит в степен S1 (14%) и S2 (16%), а при 13-18 годишните в 14% от лактите се регистрира синовиална пролиферация S1. Най-рядко и в лека степен – S1, синовиална пролиферация се открива в лакътните стави на деца между 6 и 12 години.

- *Дефекти в ставния хрущял (C)* – Подобно на синовиалната пролиферация, дефекти в ставния хрущял с тежест от C1 до C4 степен се регистрират почти във всички възрастови групи. Прави впечатление най-честото засягане на глезенните стави, изразено във всички възрастови групи. Докато във първите две възрастови групи промените в ставния хрущял обхващат приблизително еднакъв процент от пациентите (12-20%), то в последната група по възраст този процент значително нараства и достига стойности от 55%. При тези пациенти се отчитат значително тежки изменения на ставния хрущял, стигащи до C3 и C4 степен (Фиг. 16B).

Във възрастта 19-39 години 39% от коленните стави отчитат степен на хрущялна увреда C3-C4, а във възрастта 13-18 год и 6-12 год ставите с хрущялни увреди сочат по-ниски проценти (2%-13%). Изменения в лакътните стави не се регистрират във възрастта 6-12 години.

- *Дефекти в субхондралната кост (B)* – При всички оценени стави наред със синовиална пролиферация и хрущялните промени са оценявани и субхондралните костни изменения в техните две степени – B1 и B2. По аналогия с разпределението на другите два оценявани маркера и тук като най-

често засегнати се открояват глезенните стави. В 39% от глезените на пациентите на възраст 19-39 години се доказват костни промени в степен В1, а при 29% - в степен В2. Успоредно на тях при 23% от глезенните стави във възрастта 13-18 се откриват костни изменения в степен В1 и при 7 - В2. Макар в по-малък процент костни дефекти в степени В1 и В2 се откриват при 14% и 9% от глезенните стави на пациентите на възраст 6-12 год. Увреди в субхондралната кост се диагностицират при 21% (В1) и 24% (В2) от коленните стави на пациентите на възраст 19-39 год. При по-младите групи пациенти тези проценти са по-ниски (фиг. 17В). Субхондрални костни дефекти в лакътните стави се откриват само при пациентите на възраст 13-18 и 19-39 години.

Сравнение между двете кохорти:

Съпоставката на ехографската оценката съобразно HEAD-US score между двете кохорти е осъществена, от една страна на ниво пациенти с установени ехографски ставни изменения и от друга - на ниво групи индексни стави.

Групирането на пациентите според общия сбор на HEAD-US score в индексните стави (HS=0, HS 1-3, HS>3) демонстрира, че в немската кохорта най-висок процент пациенти (49%) попадат в групата с HS=0, докато в българската кохорта този процент е най-нисък, възлизайки на 22% (таб. 18) Доказва се статистически значима разлика между кохортите ($p=0.001$). Успоредно на описаното, най-висок процент от българските пациенти (54%) попадат в групата с най-тежка ставна увреда (HS>3), в сравнение с 33% от немските пациенти ($p=0.001$). Интересно при съпоставката на двете кохорти в групата на пациентите с HS 1-3 не се отчита статистически значима разлика (18% при немските vs. 22% при българските пациенти, ($p=0.28$)). Отчита се значимо различие между средния HS за пациент в немската и българската кохорта – 7.7 при 11.8 ($p<0.0001$).

	Немска кохорта	Българска кохорта	χ^2
HEAD-US score	Брой пациенти (%)	Брой пациенти (%)	p
0	46 (49%)	11 (19%)	0.001
1-3	17 (18%)	15 (27%)	0.28
>3	31 (33%)	29 (54%)	0.001

Таблица 17. Съпоставка между групите пациенти от двете кохорти с различна степен на засягане на ставите.

При съпоставка на кохортите според брой стави с установени ехографски изменения за пациент в две от подгрупите на анализа се открива значима разлика, отразена във фигура 13: Докато в немската кохорта при 49% от пациентите не се откриват изменения в нито една от засегнатите стави, то този процент възлиза едва на 19% в българската кохорта ($p < 0.0001$). Успоредно на тази находка само при 1% от пациентите от немската кохорта се откриват ехографски изменения едновременно и в шестте изследвани стави. Процентът пациенти с установени изменения във всяка от изследваните стави от българската кохорта формира една от големите групи на анализа – 16% ($p < 0.0001$).

Сравнението на кохортите съобразно разпределението на пациентите с различна тежест на HS по възрастови групи също сочи някои значимости. Докато във възрастта 6-12 години 79% от немските пациенти отчитат HS=0, то при българските пациенти на тази възраст процентът възлиза едва на 35% ($p = 0.019$). При групата на възраст 13-18 години 60% от немските пациенти регистрират HS=0, докато едва 13% от българските не показват клинични изменения в ставите. В противовес 67% от българските пациенти на същата възраст проявяват най-високата степен на ставни увреди (HS>3), съпоставени с 18% от немските пациенти ($p = 0.006$). Във възрастта 19-39 години разпределението на пациентите не демонстрира значима разлика ($p = 0.123$) (фиг. 14).

Сравнението на средните стойности на HS по глезенни, коленни и лакътни стави между двете кохорти е представено в таблица 17. И трите вида индексни стави показват значително по-висок ($p < 0.05$) среден HS при пациентите от България. По подобие на зависимостите, наблюдавани при средната честота на кървене и Gilbert score, в немската кохорта най-често се засягат глезенните стави, в които се отчита и най-висок HS, докато в българската кохорта най-често

ехографски изменения се откриват също в глезенните стави, но HS демонстрира най-високи стойности в коленните.

Съпоставка между кохортите е извършена и според разпределението на ехографските маркери – синовиална пролиферация, хрущялни и субхондрални костни изменения, по групи индексни стави и възраст.

Сравнението на процента стави от двете кохорти, обхванати от синовиална пролиферация сочи, че във възрастта 13-18 год 39% от глезенните, 20% от коленните и 17% от лакътните стави в българската кохорта отчитат наличие на синовит, докато кореспондиращите проценти в немската кохорта (20% глезенни, 2% коленни и 0% лакътни) са значимо по-ниски ($p=0.57$, $p=0.009$, $p=0.006$, респективно). Във възрастта 19-39 години значително по-нисък процент коленни стави (18%, ($p<0.0001$)) и лакътни стави (9%, ($p=0.013$)) при немските пациенти регистрират синовиална пролиферация, сравнени със съответно 37% и 30% при българските пациенти (фиг. 15).

Дефектите на ставния хрущял в глезенните стави са 17 пъти по-често срещани при българските пациенти на възраст 6-12 години, 7 пъти по-често при тези на възраст 13-18 години и 1.8 пъти при пациентите между 19 и 39 години в сравнение с немските пациенти ($p=0.006$, $p=0.042$, $p=0.001$ респективно). Отчитаните хрущялни дефекти в коленни стави показват значима разлика между кохортите само във възрастта 19-39 години, където 31% от коленните стави на немските пациенти показват хрущялни изменения срещу 52% при коленните стави на българските пациенти ($p<0.0001$). В немската кохорта едва 2% от лакътните стави във възрастта от 13-18 години демонстрират хрущялни увреди в сравнение с 24% при българската кохорта ($p=0.005$). Във възрастта 19-39 години значимостта на разликата в процента лакътни стави с хрущялни увреди между кохортите се запазва (12% при немската vs. 44% при българската, $p<0.0001$) (фиг. 16).

Сравнението на двете кохорти според процента глезенни стави, проявяващи изменения в субхондралната кост показва значима разлика и в трите възрастови групи (фиг. 17). Във възрастта 6-12 години едва 2% от глезенните стави в

немската кохорта демонстрират данни за костна увреда в сравнение с 23% в българската ($p=0.028$). При пациентите на възраст 13-18 години съпоставката сочи 5% от глезените в немската кохорта vs. 30% в българската кохорта ($p=0.022$). Тридесет и два процента от глезените на немските пациенти на възраст 19-39 години срещу 68% при българските показват данни за дефекти в субхондралната кост ($p=0.001$). Сравнението на коленните стави по същия показател във възрастите 6-12 и 19-39 години отчита значимо различие (фиг.17) в процента засегнати стави между двете кохорти – 0% и 13% при немските пациенти vs. 7% и 45% при българските. Съпоставката на костните дефекти в лакътни стави сочи, че в немската кохорта във възрастта 13-18 години едва 5% от ставите демонстрират костни изменения, докато в българската кохорта този процент възлиза на 21% ($p=0.002$). По-ниска по степен на значимост е разликата в процента лакътни стави с костни дефекти във възрастта 19 – 39 години, открита между кохортите – 12% при немските срещу 27% при българските пациенти ($p=0.032$).

Обобщение:

1. Най-висок относителен дял пациенти от немската кохорта (49%) не показват изменения при ехографско изследване на индексните стави ($HS=0$), относителният дял от пациенти от българската кохорта без ехографски изменения е достоверно най-нисък (22%).

2. При оценка на клиничен ставен статус чрез ехографски метод HEAD-US най-висок е относителният дял на пациенти със засягане на две от шест и една от шест индексни стави – съответно 25% и 15% за немската и българската кохорта.

3. Клиничният ставен статус, оценен чрез ехографски метод HEAD-US, демонстрира значимо по-висока честота на високостепенно ставно увреждане ($HS > 3$ точки) във възрастовите групи 13–18 и 19–39 години, като относителният дял на тази степен за глезенни и коленни стави е достоверно по-висок в българската спрямо немската кохорта.

4. Достоверно най-висок сбор в скалата HEAD-US се открива за пациентите от немската кохорта при глезенните стави и при коленните стави за кохортата от България.

5. При оценка на клиничен ставен статус чрез ехографски метод HEAD-US най-високи относителни дялове на изразена синовиална пролиферация (S2), високостепени дефекти в ставен хрущял (C3-4) и високостепенна субхондрална костна увреда (B2) се регистрират във възрастовата група 19–39 години с достоверно предоминиране в българската кохорта.

6. Високостепенно ставно увреждане, оценено чрез биомаркерите (S, C и B) на ехографския метод HEAD-US, най-често се регистрира в следните ставни локализации: (i) S-промени – при глезенни в немската и при коленни в българската кохорта; (ii) C-промени – при глезенни и в двете кохорта; (iii) B-промени – при глезенни и в двете кохорти.

Към задача 7: Да се оцени диагностичната стойност на ехографския метод HEAD-US чрез сравнение с контролна група от здрави индивиди.

Настоящото изследване обхваща и приложение на ехографската скала HEAD-US за оценка на ставния статус при здрави контроли и сравнение на резултатите с находките, диагностицирани при пациенти с Хемофилия. Извършваната съпоставка има за цел да валидира ползата от прилагането на ехографския метод за оценка на ранни субклинични ставни изменения при пациенти от всички възрасти.

При тридесетте лица, включени в контролната група (n=10 на възраст 6-12 год, n=10 на възраст 13-18 години, n=10 на възраст 19-39 години) чрез ехографски метод са оценени 60 глезенни, 60 коленни и 60 лакътни стави. Разгледани по отделни биомаркери (синовиална пролиферация, дефекти в субхондралната кост, хрущялни изменения) в нито една от възрастовите групи не се установяват лица с данни за синовиална пролиферация или субхондрални костни дефекти в ставите. Единствено при двама пациенти (7%), на възраст 29 и 31 год., са отчетени лекостепенни изменения (степен С1) в ставния хрущял на единични индексни стави (колене и глезени). В таблица 19 са представени някои от демографските характеристики на лицата от контролната група с установени ехографски находки в една от шестте изследвани стави, както и оценката, осъществена чрез скалата HEAD-US за всяка отделна става.

Пациент	Възраст години	Тегло килограми	BMI	HS ляв глезен	HS десен глезен	HS ляво коляно	HS дясно коляно	HS ляв лакът	HS десен лакът
K1	29	95	28	0	0	0	C1	0	0
K2	31	79	27	C1	0	0	0	0	0

Таблица 18. Демографски характеристики и HEAD-US скор за всяка от ставите на лицата от контролната група с установени ехографски абнормности. .

Резултатите, получени при ехографското изследване на здрави контроли, са използвани за съпоставка с тези, получени от селектирана група пациенти от немската кохорта, при които не са регистрирани епизоди на кървене за период от 3 години и показват клиничен ставен статус с GS=0. От селектираните 39 пациенти, при 13 пациенти, ехографски се доказват патологични промени в

Задача 7

ставите, характеризиращи се със среден HEAD US score от 5.7 (\pm 5.6), вариращ от 1-7. Интерес представлява факта, че най-много пациенти (n=10) попадат във възрастовата група от 19-39 години.

Отчетените находки от ехографския преглед в най-голяма степен обхващат увреди на ставния хрущял (степен С1 до С3), следвани от синовиална пролиферация и дефекти на субхондралната кост, като най-често засегнати са коленните стави, следвани от глезенните и лакътните стави. Детайлни данни за пациентите от описаната група са представени в таблица 20.

Пациент	Възраст години	Диагноза	Тежест	Тегло кг.	BMI	HS ляв глезен	HS десен глезен	HS ляво коляно	HS дясно коляно	HS ляв лакът	HS десен лакът	Общ HS
H1	27	ХА	Тежка	72	23	0	0	0	0	C1	0	1
H2	37	ХА	Тежка	94	29	0	0	C1	0	0	0	1
H3	25	ХА	Тежка	70	22,6	0	0	0	C1	S1B1	0	3
H4	22	ХВ	Тежка	85	24	S1B1C2	B1C2	S1C1	S1C2	0	0	12
H5	29	ХА	Среднотежка	85	27	0	0	0	0	0	S1	1
H6	28	ХВ	Тежка	115	34,7	S1B1	S1B1	C1	S1B1	0	0	7
H7	32	ХА	Тежка	103	28,5	S2B1C2	S2B2C2	B1C2	S1B1C3	0	0	20
H8	16	ХА	Тежка	99	28,9	0	0	C1	C1	0	0	2
H9	12	ХА	Тежка	43	20,5	S1	0	0	0	0	0	1
H10	17	ХА	Тежка	100	34,2	0	0	C3	C3	0	0	6
H11	25	ХА	Тежка	92	23,9	S1	0	B1C2	B1C1	0	0	6
H12	24	ХА	Тежка	96	27,5	0	S1B1C2	0	C1	0	0	5
H13	24	ХА	Тежка	100	30,9	S1C1	S1C3	0	S1C3	0	0	10

Таблица 19. Данни за пациентите от немската кохорта с установени ехографски находки при липса на регистрирани хемартрози през последните 3 години и липса на патологични находки от физикалния статус.

Съпоставката на данните от ставната ехография при здрави лица и пациенти с Хемофилия показва, че ехографските маркери синовиална пролиферация, дефектите в субхондралната кост и хрущялни дефекти са специфично променени при пациенти с Хемофилия, дължейки се на настъпили субклинично и клинично изразени кръвоизливи. Отчетените лекостепенни дефекти при здравите контроли на възраст 18-39 години най-вероятно могат да бъдат обусловени от процесите на стареене на тъканта.

Обобщение:

Диагностичната стойност на ехографския метод HEAD-US (HS), сравнително оценена с контрола от здрави индивиди, се доказва с най-висока чувствителност и специфичност при интерпретация на увреди на ставен хрущял (С), синовиална пролиферация (S) и субхондрални костни дефекти (В) при пациенти с Хемофилия.

Към задача 8: Да се оцени корелацията между регистрираните ставни кръвоизливи за три годишен период и резултатите от оценката от ехографския метод HEAD-US, както и тази между оценката от клиничния ставен статус (скала на Gilbert) и метода HEAD-US в кохорти от две националности

Корелация между честота на ставно кървене и оценка чрез метода HEAD-US:

Зависимостта между честотата на кървене, пусков фактор за ставните изменения при пациентите с Хемофилия и ехографския ставен статус е оценявана по два статистически метода - дескриптивни анализи на средната честота на кървене на ниво пациент и на ниво стави с абнормна ехографска находка и анализ на корелационна зависимост по метода на Spearman. Ефектът на кървенето върху количеството и степента на ставните увреждания е сравнявано за всяка кохорта по отделно, базиращо се на съпоставяне данните, получени от оценката на ставния статус за цялата кохорта срещу данните, получени от оценката на ставния статус при пациенти с ехографски доказани ставни промени. Данните за епизоди на кървене са оценявани на базата на документираните от страна на пациента ставни кръвоизливи.

Кохорта от Германия:

Извършеният по-горе анализ (виж задача 3) на средните стойности на ставно кървене за цялата кохорта, показва средна честота на епизоди на кървене от 1.5. Този показател е сравняван с броя на хемартрозите, регистрирани при пациенти с ехографски доказани ставни промени, при които е отчетена средна стойност от 2 (± 2.9). Анализът не показва статистически значима разлика между двете групи ($p=0.08$). Съпоставена отново честотата на ставното кървене вече на ниво индексни стави (глезенни, коленни, лакътни) не достигна статистически значима разлика ($p<0.05$) при нито една изследваните стави в двете групи, макар да се наблюдава тенденция за регистриране на по-голям брой ставни кръвоизливи при пациенти с ехографски изменения (глезени 0.7 (± 1.3) vs. 0.39 ($p=0.05$), колене 0.4 (± 0.9) vs. 0.13 ($p=0.06$) и лакти 0.2 (± 0.7) vs. 0.05 ($p=0.05$)) (таблица 21). Описаните

наблюдения не доказват корелация между броя на хемартрозите и ехографски установените ставни промени, оценен чрез HEAD-US, както на ниво пациент, така и на ниво отделни индексни стави ($r < 0.1$, $p > 0.6$).

	Хемартрози в общата немска кохорта Сред. (\pm)	Хемартрози при установени ехографски изменения Сред. (\pm)	Mann-Whitney U test P
Пациент	1.5 (4.4)	2 (2.9)	0.08
Глезени	0.39 (1.04)	0.7 (1.3)	0.05
Колена	0.13 (0.67)	0.4 (0.9)	0.06
Лакти	0.05 (0.34)	0.2 (0.7)	0.05

Таблица 20. Сравнение между средната честота на кръвоизливните епизоди, регистрирани в общата немска кохорта и средната честота на кръвоизливните епизоди, регистрирани при пациенти и стави с установени ехографски изменения.

Кохорта от България:

Аналогично на немската кохорта, при българската кохортата също се наблюдават по-високи средни стойности на настъпили кръвоизливи, както на ниво стави, така и на ниво пациенти, при които ехографски са намерени патологични изменения.

	Хемартрози в общата българска кохорта Сред. (\pm)	Хемартрози при установени ехографски изменения Сред. (\pm)	Mann-Whitney U test P
Пациент	19.6 (20)	24 (19.8)	0.1
Глезени	3.5 (6.6)	5.4 (7.4)	0.1
Колена	4.4 (8.1)	13 (9.6)	<0.001
Лакти	1.9 (5.8)	6.8 (9.9)	0.003

Таблица 21. Сравнение между средната честота на кръвоизливните епизоди, регистрирани в общата българска кохорта и средната честота на кръвоизливните епизоди, регистрирани при пациенти и стави с установени ехографски изменения.

При глезенните стави, с ехографски установени дефекти, се отчитат по-висок среден брой хемартрози за период 3 години в сравнение с цялата кохорта, въпреки че тези различия не достигат статистически значима разлика - 5.4 (± 7.4) vs. 3.5 ($p = 0.1$) (таб. 22) Наблюдава се умерена корелация между отчитания брой кръвоизливи в глезенните стави и съответстващия HS ($r = 0.45$, $p < 0.001$) (таб. 23).

При коленните стави се наблюдава значително увеличение на средния брой на настъпилите кръвоизливи в сравнение с глезенните стави, като тази разлика е по-

силно подчертана при стави с патологична ехографска находка (13 (± 9.6)). Данните сравнени с тези, получени от цялата кохорта (4.4) достигат статистически значима разлика ($p < 0.001$) (таб. 22). Проведеният тест за корелация доказва наличие на много силна корелация ($r = 0.805$, $p < 0.001$) между отчитания брой кръвоизливи в коленни стави и съответстващия HS (таб. 23).

	Българска кохорта
	Коефициент на Spearman (r) <i>Характеристика на корелацията</i>
За пациент	$r = 0.682$, $p < 0.0001$ <i>силна, значима</i>
За глезени	$r = 0.45$, $p < 0.0001$ <i>умерена, значима</i>
За колене	$r = 0.805$, $p < 0.0001$ <i>много силна, значима</i>
За лакти	$r = 0.571$, $p < 0.0001$ <i>силна, значима</i>

Таблица 22. Корелационни коефициенти на Spearman, изразяващи взаимовръзката между честотата на ставно кървене за три годишен период и находките от ехографското изследване. Данни на ниво пациент и отделни видове индексни стави.

При лакътните стави също се наблюдават статистически значими различия в броя на кръвоизливите при стави с ехографски доказани изменения, сравнени с цялата кохорта - 6.8 (± 9.9) vs. 1.9 ($p = 0.003$) (таб. 22) и корелационният анализ показва силна по степен корелация ($r = 0.571$, $p < 0.001$) (таб. 23).

Съпоставен средният брой настъпили хемартрози на ниво пациенти, при които ехографски са регистрирани патологични изменения с тези от общата кохорта показва по-висок брой регистрирани кръвоизливи при първите (24(± 19.8) vs. 19.6), като тази разлика остава в рамките на статистическата незначимост ($p = 0.1$) (таб. 22). Корелационният анализ показва силна по степен корелация ($r = 0.682$, $p < 0.001$) (таб. 23).

Корелация между клиничния ставен статус (Gilbert score) и оценка чрез метода HEAD-US:

Взаимовръзката между клиничния ставен статус (*Gilbert score*) и този оценен по ехографски метод и качествен по HEAD-US score е изследвана с помощта на тест за корелация на Spearman.

Глезенни стави	Немска кохорта	Българска кохорта
Взаимовръзка между	Коефициент на Spearman (r) Характеристика на корелацията	Коефициент на Spearman (r) Характеристика на корелацията
GS и общ HS	r=0.387, p<0.0001 умерена, значима	r=0.561, p<0.0001 силна, значима
GS и HS маркер S	r=0.366, <0.0001 умерена, значима	r=0.223, p=0.002 слаба, значима
GS и HS маркер B	r=0.572, <0.0001 силна, значима	r=0.459, p<0.0001 умерена, значима
GS и HS маркер C	r=0.586, p<0.0001 силна, значима	r=0.599, p<0.0001 силна, значима
GS и HS дегенеративен скор C+B	r=0.57, p<0.0001 силна, значима	r=0.564, p<0.0001 силна, значима

Таблица 23. Корелационни коефициенти на Spearman, изразяващи взаимовръзката между находките от физикалния статус на глезенните стави (*Gilbert score*) и находките от ехографското изследване (HEAD-US). Данни на ниво стави и отделни маркери в скалата HEAD-US.

Кохорта от Германия:

Анализът открива силна по степен корелация между GS и съответстващия HS на ниво пациенти ($r=0.537$, $p=0.001$). На ниво стави, много силна по степен корелация се доказва при лакътни стави, където GS, съотнесен към общия HS, показва следния коефициент $r=0.736$ ($p<0.0001$). Интерес представляват корелационните данни между GS и т.н. дегенеративен HS, формиращ се от регистрираните дегенеративни промени в два от маркерите – дефекти в субхондрална кост и дефекти в ставния хрущял. Така, GS за лакътните стави, съпоставен с дегенеративния HS сочи силна по степен корелация, изразена в $r=0.833$, ($p<0.0001$) (таблица 26). Умерена по степен корелация се открива между описаните показатели за коленни стави ($r=0.314$ ($p<0.0001$) между GS и дегенеративен HS и $r=0.385$ ($p<0.001$) между GS и общ HS) (Таблица 25). В глезенните стави се откриват умерени до силни корелации при търсените зависимости (Таб. 24).

Коленни стави	Немска кохорта	Българска кохорта
Взаимовръзка между	Коефициент на Spearman (r) <i>Характеристика на корелацията</i>	Коефициент на Spearman (r) <i>Характеристика на корелацията</i>
GS и общ HS	r=0.385, p<0.0001 <i>умерена, значима</i>	r=0.818, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>
GS и HS маркер S	r=0.412, <0.0001 <i>умерена, значима</i>	r=0.517, p<0.0001 <i>силна, значима</i>
GS и HS маркер B	r=0.422, <0.0001 <i>умерена, значима</i>	r=0.777, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>
GS и HS маркер C	r=0.313, p<0.0001 <i>умерена, значима</i>	r=0.875, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>
GS и HS дегенеративен скор C+B	r=0.314, p<0.0001 <i>умерена, значима</i>	r=0.847, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>

Таблица 24. Корелационни коефициенти на Spearman, изразяващи взаимовръзката между находките от физикалния статус на коленните стави (Gilbert score) и находките от ехографското изследване (HEAD-US). Данни на ниво стави и отделни маркери в скалата HEAD-US.

Кохорта от България:

Анализът на корелацията между клиничния ставен статус (GS) и ехографския ставен статус (HS) демонстрира, че взаимовръзка между методите в българската кохорта се доказва като най-изразена при коленни стави. Много силен корелационен индекс от $r=0.818$ се отчита при сравнение между GS и HS на тези стави, който се запазва в същите високи стойности при използване на дегенеративния HS като показател $r=0.847$ ($p<0.001$) (таб. 25). Много силни по степен корелации се доказват при съпоставката на GS за лакътни стави с HS и с HS за дегенеративни промени – $r=0.769$ ($p<0.001$) и $r=0.774$ ($p<0.001$), респективно (таб. 26).

Лакътни стави	Немска кохорта	Българска кохорта
Взаимовръзка между	Коефициент на Spearman (r) <i>Характеристика на корелацията</i>	Коефициент на Spearman (r) <i>Характеристика на корелацията</i>
GS и общ HS	r=0.736, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>	r=0.769, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>
GS и HS маркер S	r=0.457, <0.0001 <i>умерена, значима</i>	r=0.665, p<0.0001 <i>силна, значима</i>
GS и HS маркер B	r=0.778, <0.0001 <i>много силна, значима</i>	r=0.724, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>
GS и HS маркер C	r=0.833, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>	r=0.770, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>
GS и HS дегенеративен скор C+B	r=0.779, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>	r=0.774, p<0.0001 <i>много силна, значима</i>

Таблица 25. Корелационни коефициенти на Spearman, изразяващи взаимовръзката между находките от физикалния статус на лакътните стави (Gilbert score) и находките от ехографското изследване (HEAD-US). Данни на ниво стави и отделни маркери в скалата HEAD-US.

В глезенните стави се откриват силни по степен корелации за гореописаните показатели с коефициенти на корелация, съответно $r=0.561$ ($p<0.001$) (GS и общ HS за става) и $r=0.564$ ($p<0.001$) (GS и дегенеративен HS) (таб. 24).

Обобщение:

1. Абсолютният брой регистрирани хемартрози (кръвоизливни епизоди) достоверно корелира със степента на ставно увреждане, оценена чрез ехографски метод HEAD US, при коленни и лакътни стави в българската кохорта, докато в немската кохорта се липсват корелационни зависимости.

2. Диагностичните стойности на скалата на Gilbert (GS) и ехографския метод HEAD-US (HS) за оценка на ставен статус корелират помежду си в най-висока степен при изследване на коленни стави.

ОБСЪЖДАНЕ

През последните три десетилетия в световен мащаб се наблюдават значими подобрения по отношение на грижата за ХсХ, в това число напредък в профилактичното лечение на пациентите с безопасни и ефективни коагулационни факторни концентрати. Описаните подобрения преди всичко довеждат до увеличаване на продължителността на живота на пациентите^{159,160}. Шейсет процента от хората с диагноза Хемофилия страдат от тежка форма на болестта, при възраст на диагностициране (медиана) от 1,3 г възраст⁴. Въпреки удължаването на продължителността на живота инвалидизиращите ставни усложнения, дължащи се на рекурентни ставни кръвоизливи, оказват негативно влияние върху качеството на живот^{161,162}. Комбинацията фактори – неефективна грижа за пациента, болка, потенциална инвалидизация, намалено качество на живот – представлява съществено бреме за засегнатия индивид, близките хора и обществото като цяло¹⁶³.

Ключът към успешни дългосрочни резултати при ХсХ лежи в ефективната профилактика, предотвратяваща настъпването на хемартрозите при деца и възрастни. Ефективната профилактика изисква съобразяване на наличните ресурси (годишен разход на концентрат, трафови нива) както и други фактори¹⁴⁵. В зависимост от тях терапевтичните стратегии варират от държава на държава¹⁶⁴. По-високият процент пациенти от българската кохорта, лекувани с терапия при нужда (26%) в сравнение с кохортата пациенти от Германия (15%) е израз на опит за ограничаване на директните финансови разходи по отношение на лечението на пациентите с Хемофилия в България. В труда си от 2016 Sheh-Li Chen и сътрудници обобщават, че макар лечението в режим „при нужда“ да води до съществена редукция в директните разходи, свързани с Хемофилия, индиректните разходи, дължащи се на дългосрочни увреждания и произтичащата от тях липса на възможност за социална интеграция, остават високи¹⁶¹. В този контекст от особена важност са усилията, насочени към грижата за пациентите от детската и юношеската възраст от българската кохорта, при които също се

откриват пациенти, лекувани „при нужда“ за разлика от пациентите от немската кохорта, при които тази схема се открива само в групата на младите възрастни.

Рандомизирани проучвания демонстрират превъзходството на профилактичните схеми, започнати в най-ранна детска възраст. Така например профилактична терапия с начало при пациенти на възраст 2 години¹⁶⁵ (първична профилактика) представя по-добри дългосрочни резултати в сравнение с профилактично лечение с начало възрастта от 3 до 5¹⁶⁶ и 6 до 9 години⁵⁶ (вторична профилактика). Докато в немската кохорта, лекуваните с вторична профилактика пациенти, са по-скоро изключение (деца с имигрантски произход), то в българската кохорта късната вторична профилактика е основният прилаган режим при пациентите на възраст под 18 год (66%). Тази разлика е обоснована от социо-икономически причини, както и от късното въвеждане на пълно реимбурсиране на профилактичната терапия при български пациенти¹⁶⁷. Пациентите, лекувани с пълноценен режим на първична профилактика, включени в българската кохорта са участвали във фармацевтично субсидирани лекарствени проучвания.

Годишният разход на концентрат, изчислен за кохортата от Германия възлиза приблизително на 7000 U/kg/година и е почти два пъти по-висок от разхода, който се получава при прилагане на профилактична терапия според описания „високо дозов шведски режим“ – 4000 U/kg/година¹⁶⁸. Годишният разход на концентрат, установен при българската кохорта от приблизително 2800 U/kg/година значително превишава годишния разход на концентрат, описван при прилагане на „интермедиерния холандски дозов режим“ – 2100 U/kg/година¹⁶⁸. Скорошни сравнителни изследвания между шведския и холандския режим с време на проследяване от 24 години демонстрират лекостепенно превъзходство на шведския високодозов режим по отношение на дългосрочните резултати от терапията при същевременно 66% по-висок годишен разход на факторен концентрат (от средно 180×10^3 на 289×10^3 USD на година).

Базирано на физиологично по-краткия полуживот на екзогенните FVIII/IX пациентите на по-млада възраст (до 12 години) типично показват по-висок общ разход на концентрат за година в условията на профилактика¹⁴⁵, достигайки 6000

U/kg/година според литературни данни^{145,169} и 6500 U/kg/година в обследваната от нас кохорта пациенти от Германия.

Интересно, годишният разход на концентрат, наблюдаван при пациентите от българската кохорта на възраст 6-12 години (3024 U/kg/година) се оказва значимо по-нисък отколкото в останалите две възрастови групи 13-18 год (3984 U/kg/година) и над 18 години (3746 U/kg/година), които от своя страна при пациентите от немската кохорта показват значимо по-нисък разход на концентрат (4750 U/kg/година за възрастта 13-18 години и 4680 U/kg/година за възрастта над 18 години). Причина за несъответствието в терапевтичните подходи между двете анализирани кохорти може да бъде търсена в различните „репери“ за терапия (трафови нива, фармакокинетика, клиничен и образен ставен статус)^{170,171}, които към момента се използват за персонализиране на терапията в множество хемофилни центрове по света, сравнени с принципите на персонализиране, използвани в анализираните центрове в България. Данните от настоящия труд предполагат, че единственият критерий за индивидуализиране на терапията при българските пациенти, използван до скоро, представлява честотата на ставно кървене, съобщавана от пациента. Тя е по-ниска в по-младите възрастови групи и степенно нараства с възрастта на пациента¹⁷², което обяснява и по-интензивните терапевтични режими, наблюдавани с напредване възрастта на българските пациенти.

Използваната концепция за персонализиране на терапията в България трябва да бъде преосмислена, тъй като честотата на кървене при пациентите, лекувани с профилактични режими се доказва като недостоверен показател за ефикасност на терапията¹⁷³ и самостоятелното ѝ интерпретиране би могло да доведе до нежелани резултати по отношение на ставното здраве на пациентите, въпреки задоволителните количества използван коагулационен факторен концентрат.

Седмичната честота на приложение на коагулационен факторен концентрат се определя спрямо концепцията за поддържане на минимално трафово ниво от ФVIII/IX = 1%, трансформирайки тежката форма на Хемофилия в средно тежка форма¹⁷¹. Според учението за фармакокинетичното разпределение на ФVIII/IX⁷⁷, по-дълги интервали между отделните приложения на коагулационен фактор (по-

високо трафово ниво) следва да се компенсират с повишаване на еднократната доза от факторен концентрат. По-рядко приложение на факторен концентрат без адекватно повишаване на еднократната доза означава за отделния пациент по-продължителен период с остатъчно ниво на фактор под 1%, което води до пропорционално повишаване на риска за развитие на хемартрози⁷⁶. В този контекст превалиращият режим при немската кохорта от средна доза 33.5 U/kg/т.т. фVIII-концентрат, прилагана три пъти седмично, установен при постоянно лабораторно проследяване на трафовите нива на лекуваните пациенти, се характеризира с по-съществена протективна стойност по отношение на ставни кръвоизливни епизоди в сравнение с превалиращия режим при българската кохорта. По своето същество схемите на терапия, използвани в България се отличават с прилагане на средна доза 31.8 U/kg/т.т. фVIII-концентрат два пъти на седмица и са предписани на базата на емпирични наблюдения.

Данните от настоящия труд доказват, че описаните различия в терапевтичните режими имат ясно отражение, както върху честотата на ставните кръвоизливни епизоди, така и върху ставното здраве на пациентите въобще.

Експериментални проучвания изясняват патологичните механизми, задвижвани от всеки новонастъпил кръвоизлив в ставите на ХсХ¹⁷⁴: Железните йони, освободени при разграждането на хемоглобина катализират продукцията на хидроксилни радикали и активират каскада, която включва продукцията на лизозомни ензими и цитокини (IL-1 и TNF) от макрофагите. Процесът води до апоптоза на хондроцита и инхибиране на протеогликановата синтеза, резултирайки в пряка хрущялна увреда и възпалителен отговор⁸⁷. Веднъж настъпила, ставната увреда прогресира в рамките на живота на индивида, дори и при липса на повтарящи се кръвоизливи в еднократно поразената от хемартроза става¹⁴⁵. От тази гледна точка документирането на настъпилия брой кръвоизливи в индексните стави на пациента представлява леснодостъпен и широко използван критерий за ефективност на прилаганата терапия, клиничната тежест на хемофилията и мониторирането на ставната увреда.

Посочваните в литературата данни за документираната годишна честота на ставно кървене варира в широки граници в зависимост от интензивността на

прилаганата терапевтична схема. От една страна са на разположение обобщените данни на Fischer и сътрудници, демонстриращи две хемартрози на година при пациенти, лекувани с „интермедиерна холандска“ профилактична схема, срещу 0.5 хемартрози на година за пациентите, при които се прилага „високодозов шведски“ профилактичен режим¹⁶⁸. От друга страна, при схеми на лечение изключително „при нужда“ се съобщава годишна честота на ставно кървене, варираща между 20 и 50 епизода на година⁸⁹.

В контекста на представените данни, наблюдаваните пациенти от кохортата от Германия с обща средна честота на ставно кървене от 1.5 хемартрози за 3 години или 0.5 хемартрози за 1 година са сравними с показателите на пациентите, лекувани с високодозови профилактични схеми на лечение. Следователно макар и разнородна в терапевтично отношение група, показателите на ставния статус на тези пациенти следва да се сравнява с данните от проучвания, проведени върху групи от пациенти, подлежащи на интензивно лечение.

Пациентите от българската кохорта от своя страна, демонстрират средно 19.6 ставни кръвоизливни епизоди в рамките на три годишен период или 6.3 хемартрози на година. Всъщност, установената честота на ставно кървене в българската кохорта може да бъде сравнена с тази, наблюдавана при деца, получаващи интензифицирана епизодична профилактика (4.3 епизода на година, Manco-Johnson и сътрудници, 2007)⁵⁶ и годишната честота на ставно кървене, съобщавана при пациенти, лекувани с късна вторична профилактика (4.5 (± 7.1) проучване POTTER, 2015)⁷⁰. Анализ на същото изследване доказва средна честота на кървене от 19.5 (± 15) при пациенти от проучваното рамо на терапия „при нужда“, стойности съществено по-високи от установените в българската кохорта. Макар и с късно начало, провежданата профилактика при пациентите от българската кохорта доказва предимствата си пред терапията в режим „при нужда“.

От особено значение за извеждане на научно издържани изводи по отношение на резултатите, свързани с дългосрочната оценка на ставния статус представлява правилното документиране на ставната честота. Предизвикателство пред лекуващия екип се оказва обучението на пациенти и техните родители за точно

отразяване на всеки кръвоизлив в пациентските дневници, както и информацията за придържане към терапията, т.н. „къмплайнс“¹⁵⁷. Причина за трудността в обучението изглежда и липсата на повсеместно приета дефиниция за ставен кръвоизлив. Докато част от пациентите не изпитват болка по време на острия кръвоизлив, за други представлява трудност да различат артритната болка от остра хемартроза⁵². Проектната група „Definitions in Haemophilia“ на „Интернационалното общество по тромбоза и хемостаза“ (ISTH) предлага като ставен кръвоизлив да се приема „всяко необичайно усещане (аура) в ставата в съчетание с който и да е от следните симптоми: нарастващ оток или затопляне на кожата над ставата, нарастваща болка или прогресивна загуба на обхвата на движение в ставата, или затруднение в използване на крайника в сравнение с изходното състояние“⁵². За нов кръвоизлив се приема този, който е възникнал 72 часа след спиране на лечението за засегнатата област.

Интерпретацията на резултатите от настоящия труд следва да се извършва при оценка на факта, че хемофилните проучвания са основани на анализ на терапия, провеждана в условията на домашно лечение и информация, предоставяна пряко от пациентите. Следователно приложенията на коагулационен фактор, породени от симптоми на хронична артропатия, имитиращи остър кръвоизлив не могат да бъдат изключени.

Годишната ставна честота на кървене бива използвана от редица авторски колективи за дефиниране фенотипната тежест на болестта. Въпреки това, не съществува консенсус по отношение на минималния годишен брой кръвоизливи, необходим, за да се развие мускуло-скелетна дисфункция – от една страна на разположение е анализът на Nilsson et al., отчитащ драматична редукция на честотата на ставно кървене и артропатия при пациенти, подлежащи на профилактично лечение¹⁵², от друга, от труда на Fischer et al.¹⁶⁸ остава твърде неясно редукция на кръвоизливните епизоди от какво измерение би била необходима, за да се постигне подобрене в ставното здраве, активността и качеството на живот на пациентите. Още повече, при пациентите, подлежащи на профилактика годишната честота на кървене трудно може да бъде коментирана

самостоятелно без да се вземе под внимание интензивността на прилаганата терапия.

С оглед изредените недостатъци на оценката на ставното здраве при съблюдаване единствено на годишната ставна честота на кървене, в по-голямата си част реферираните изследвания върху състоянието на ставния апарат при ХсХ включват и други показатели. Към широко използваните маркери се причисляват клиничен ставен статус и образни изследвания на индексните стави.

През 1956 De Palma¹¹⁵ и в последствие през 1977 Arnold и Hilgartner¹¹⁶ предлагат класификационна система на хемофилната артропатия, базирана на радиологични и клинични признаци. С напредъка на хемофилната терапия и повишаването на достъпността ѝ, нараства необходимостта от по-обективна и почувствителна клинична ставна оценка. Така през 1981 год. ортопедичният комитет на „Световната федерация по Хемофилия“ (WFH) предлага употребата на компендиум от методи за оценка на ставното здраве¹⁷⁵ при ХсХ, включващ оценка на клиничния ставен статус спрямо скалата на Gilbert.

Клиничната скала оценява обхвата на движение в индексните стави, наличието на флексионни контрактури, оток, крепитации, мускулна атрофия, нестабилност в ставата и аксиална деформация в глезенните, коленните и лакътните стави. Към обективната оценка се прибавя и субективната скала за болка във всяка една от преглежданите стави, като опит за оценка на активността на заболяването.

Приложена върху обследваните в настоящия труд две пациентски кохорти от различни националности – немска и българска, скалата на Gilbert показва много по-напреднали изменения при пациентите от българската кохорта, по подобие на извършената съпоставка според анализирания годишна честота на кървене. В сравнение с пациентите от кохортата от Германия, резултатите на пациентите от българската кохорта са по-неблагоприятни, както по отношение на броя пациенти с регистрирани клинични изменения в ставите, така и по отношение на общия GS на ниво пациент и ниво засегнати стави. Още повече, описаните незадоволителни резултати в българската кохорта се отнасят до всички възрастови групи – включително при най-младите пациенти на възраст между 6-12 години.

Следователно, получените резултати от оценката на клиничния ставен статус потвърждават предимствата на използваните по-интензивни терапевтични режими, които намират приложение при немската кохорта пациенти. Особено значение за описаните клинични изменения при пациенти на възраст 6-12 години от българската кохорта играе късното започване на профилактичното лечение (вторична профилактика) в сравнение с пациентите от немската кохорта. Значително по-задоволителните резултати при възрастните пациенти (18-39 години) от немската кохорта вероятно са асоциирани с приложението на терапия в профилактична схема през ранните години на живота в сравнение с предимно прилаганата терапия в схема „при нужда“ при българската кохорта. Макар в немската кохорта в най-възрастната група пациенти също да са налице пациенти, лекувани „при нужда“, те са преминали към този вид лечение след навършване на пълнолетие при завършено развитие на мускуло-скелетната система. Подобно прекъсване на профилактичната терапия при кохорти от пациенти, лекувани със схема на първична профилактика през детството и юношеството си е описано от Fischer 2001¹⁷⁶ и van Dijk 2005¹⁷⁷. Представените резултатите доказват, че частта от пациенти, превключена към схема „при нужда“ показва ниска годишна честота на кървене (между 2 и 3 хемартрози на година) и лекостепенна хемофилна артропатия на възраст 30 – 40 години.

Резултатите от настоящия труд, демонстрират статистически значими по-задоволителни резултати в немската кохортата по отношение на клиничния ставен статус и съответстват с данните от европейско изследване от 2011 год¹⁷⁸ за приложението на лечение в профилактична схема при пациенти на възраст 20 до 35 години с тежка форма на Хемофилия, проведено в 4 държави. Извършеният анализ открива обратна корелационна зависимост между времето, което даден пациент прекарва, лекуван чрез „профилактика“ и появата на големи кръвоизливи, наличие на „таргетни“ стави и дни на отсъствие от работа. Пациентите от Швеция, 100% от които са лекувани с профилактична терапевтична схема отчитат най-добро клинично ставно здраве и качество на живот, докато пациентите от Франция, при които по-малко от 50% са лекувани с профилактична терапия регистрират най-незадоволителни резултати.

В друго многоцентрово, срезово проучване от 2015, използващо скалата на Gilbert като параметър за качествено характеризиране на провежданата терапия, Oldenburg et al. установяват, че общият сбор от скалата на Gilbert показва по-високи (по-неблагоприятни) стойности при по-възрастните пациенти и при пациентите, започнали профилактично лечение по-късно в живота¹⁷⁹.

Разглеждайки фигура 10А, представяща разпределението на пациентите от кохортата от Германия според общия сбор на скалата на Gilbert, впечатление прави, че докато във възрастовите групи 6-12 години и 13-18 години разпределението на частта пациенти без ставни изменения (GS=0) и пациентите с минимални ставни изменения (GS=1-3) е постоянно, а пациенти със значителни изменения (GS>3) не се откриват, то във възрастта 19-39 години процентът на пациентите с GS>3 рязко се повишава до 22%. Пропорцията от пациенти с минимални изменения от своя страна остава постоянна величина. Получените резултати от една страна биха могли да се дължат на високия процент пациенти, лекувани „при нужда“ от тази възрастова група, въпреки това цитираните по-горе проучвания показват, че преминаването от лечебна схема „първична профилактика“ в схема „при нужда“ след навършване на пълнолетие води до лекостепенно повлияване състоянието на ставния апарат на възраст 30-40 години.

Възможно обяснение за по-незадоволителните показатели на клиничния ставен статус в сравнение с двете по-млади възрастови групи би могла да представлява ниската чувствителност на скалата на Gilbert по отношение на ранни ставни изменения. Така ранните ставни изменения, оценени само чрез GS могат да „избегнат клиничната диагноза“¹⁴⁵ и в условията на липсващи други методи за оценка, адаптацията на терапията с цел избягване на уврежданията да бъде забавена.

Всъщност, скалата на Gilbert е възприета във време, в което повечето ХсХ в западните държави са използвали много по-ниски количества факторни концентрати, в съпоставка с настоящето. С въвеждането на първичната профилактика като „златен стандарт“ и свързаното намаление на годишната честота на кървене, голяма част от ставите на пациентите показват сбор „0“ в

скалата на Gilbert¹⁶⁸. В допълнение GS не взима под внимание някои нормални физиологични промени при деца под <6 год. възраст¹⁸⁰.

Описаните недостатъци представляват причина за изследователското търсене на по-нови скали за физикален преглед. „Скалата за оценка на ставно здраве при Хемофилия“ (HJHS) представя опит за подобряване чувствителността на ставния физикален преглед към ранните ставни изменения, срещани при Хемофилия. Наред с това HJHS съблюдава и физиологичните промени при деца, осигурявайки надеждност и обща валидност¹⁸⁰. Освен елементите, присъстващи в скалата на Gilbert, HJHS включва и оценка на способността за ходене, бягане, скачане и изкачване на стълби. По аналогия със скалата на Gilbert, HJHS показва по-високи стойности при терапевтични режими, свързани с по-нисък разход на факторен концентрат (Китай и Литва) и голям процент от стави и пациенти, демонстриращи стойности „0“ в центрове, в които се отчита висок разход на факторен концентрат (САЩ и Обединеното кралство)¹⁸⁰. Макар полезен за идентифициране и проследяване на прогресията на артропатията, използването на скалата HJHS зависи изцяло от наличието и опитността на специалист по физикална медицина в центъра, осъществяващ грижата към ХсХ¹²¹. В проучване, валидиращо HJHS и съпоставящо новата скала с познатата Gilbert score, приложени върху една и съща кохорта пациенти се установява, че и двете скали показват валидност за изследване на ставния апарат на пациенти с Хемофилия. HJHS е от части по-чувствителна по отношение на лекостепенни артропатични изменения и използването ѝ трябва да се има предвид при педиатрични пациентски групи (6-14 год.), лекувани с профилактични схеми¹²¹. Така, макар и с евентуална по-ниска чувствителност при една малка част от ХсХ, скалата на Gilbert остава предпочитан клиничен метод за оценка на ставния статус при пациенти, лекувани в центрове, в които физиотерапевт не е в пряко ежедневно разположение по подобие на центъра в Бон и останалите четири български центъра, в които се проследяват пациентите, анализирани в настоящия труд.

Слабите страни на оценката ставното здраве при ХсХ въз основа единствено на клиничен преглед се потвърждават от различни научни групи в изследвания, съпоставящи оценката на ставния статус чрез клинични методи успоредно на

други инструментални методи. Проучване на Хемофилния център в Бон, Германия от 2013 година, Krämer¹⁸¹ проследява развитието на артропатия при кохорта от пациенти със ставен статус оценен и описан първоначално от Brackmann et al. през 1992 год¹⁸². През този 26 годишен период на всеки 3 до 5 години е провеждано проследяване на състоянието на индексните стави на пациентите чрез стандартни рентгенографии и прилагайки рентгенологичната скала на Petterson. Успоредно на образното стадиране, всяка година е провеждана и оценка на ставния статус посредством скалата на Gilbert. В обобщение клиничният GS придобива патологични стойности една до две декади по-късно от патологичните находки, установявани при използване на рентгенологичната скала.

През 2015 год, при съпоставка на клиничната скала на Gilbert с образна скала, използваща ЯМР техника за оценка на ставния апарат, Oldenburg et al.¹⁷⁹ доказват по-ниска чувствителност на клиничния метод по отношение детекцията на ранни ставни увреди. Следователно оценката на ставния статус, основана на образни изследвания може да установи артропатични изменения дълго преди появата на клиничните симптоми.

Евентуален подход, основан на успоредно приложение на два обективни метода - клинична и образна оценка би помогнал за максимално ранното разпознаване на ставните изменения при ХсХ. Проблемен остава изборът на образен диагностичен метод. С широката си достъпност, простота на изпълнение, възпроизводимост и проследимост рентгенографските скали (*Petterson score*) са били от централно значение за хемофилната грижа като метод за скрининг и проследяване в продължение на десетилетия. За съжаление методът се оказва с ниска чувствителност по отношение на ранните и мекотъканните ставни изменения¹⁴⁵. Към недостатъците на метода се причисляват и използването на йонизиращи лъчения, както и слабата му стандартизация в детска възраст¹⁸³.

ЯМР базираните скали за оценка на ставното здраве при ХсХ представляват инструмент с висока чувствителност за диагностиката на хемартрози, синовиална хипертрофия, хемосидеринови натрупвания, ранни остеохондрални изменения¹⁸³. Въпреки това създадените скали за оценка са сложни за приложение, изискват дълго време за обучение, могат да бъдат интерпретирани в целостта си само от

специалисти по образна диагностика. Високата цена на изследването и времеемкостта му правят метода неподходящ за скринингова употреба. В допълнение методът изисква седация в детска възраст, а при възрастни не може да бъде прилаган в случай на поставена протеза¹⁸³.

Скорешни научни дирения потвърждават употребата на ставната ехография (СЕ) с висока разделителна способност като надежден метод за скрининг-диагностика и проследяване на ранните ставни изменения, както и на артропатията при ХсХ.

Ставната ехография предлага ниски разходи, висока достъпност, кратко време за преглед¹⁸³. Протоколите за сканиране по типа „ехография до леглото на болния“, като HEAD-US, предложен от Martinoli¹³³, изискват кратко време за обучение и простота при прилагане. Въпреки това голям недостатък на техниката продължава да е липсата на пълна валидация при ХсХ, лекувани с разнообразни терапевтични режими. В голяма част от публикациите до момента HEAD-US скалата се използва за оценка на ХсХ, които са лекувани предимно с режими на първична профилактика^{141,169,184}. Тъй като HEAD-US придобива популярност и се смята за ключова иновация за оценката на ставен статус при ХсХ валидацията ѝ придобива основно значение. Настоящият труд е от изключително значение, сравнявайки лекувани с различни по интензивност режими кохорти. По този начин прилаганата система на ехографско изследване на стави – HEAD-US – бива едновременно валидирана както при пациенти, лекувани с интензивни, високодозови терапевтични режими, така при пациенти, подлежащи на терапия с ограничени количества коагулационен фактор. Дизайнът на проведеното изследване, в който две големи кохорти пациенти са подложени на преглед от едни и същ изследовател носи съществени предимства особено по отношение на изводите, които могат да бъдат направени в посока валидация на системата за изследване.

Резултатите от ехографската оценка на индексните стави в настоящия труд показват 20% процента стави, засегнати от дефекти, откривани посредством СЕ, за немската кохорта. Тезу резултати са съпоставими с данните от изследване на Altisent et al.¹⁶⁹, в което се посочват 21% стави с абнормности, откривани на

ехографско равнище (среден HEAD-US за оценена става = 0), срещу 38% в Българската кохорта.

От друга страна Rodriguez et al¹⁸⁴ съобщават 43.11% пациенти с общ HEAD- US скор за пациент от 0 в анализирания група, срещу 49% в анализирания от нас кохорта пациенти от Германия и 21% в кохортата от България.

Интересно, въпреки прилаганите интензивни терапевтични режими в кохортата от Германия, при оценка чрез СЕ на ставния апарат във всяка една анализирана възрастова група се откриват значимо количество ставни изменения. Анализът на отчетените изменения показва, че ставните дефекти прогресират с напредване на възрастта на пациентите, въпреки че клиничният ставен статус остава задоволителен. В потвърждение на описаното в настоящия труд, 25-годишно проследяване на 30 пациенти с тежка Хемофилия от Швеция доказва, че рано започнатата профилактика, продължаваща цял живот, успешно елиминира ставните кръвоизливи и гарантира приемлив, но не „нормален“ ставен статус при ХсХ¹⁶⁸. В 26-годишно проучване на Brackman et al, отново включващо единствено пациенти, лекувани в схема „първична профилактика“ 90% от обследваната кохорта (общо 49 пациента) демонстрират „ставна болест“ на възраст между 30 и 40 години¹⁸².

Патогенетично обяснение на наблюдаваните на ехографско равнище абнормни резултати, при ниска стойност на годишната ставна честота на кръвене в немската кохорта, се открива в анализа на „Joint Outcome Study“ от 2007 година на Manco-Johnson и съавтори⁵⁶. Това рандомизирано проучване при момчета с тежка форма на Хемофилия демонстрира по-добри резултати в ставното здраве при пациенти, подлежащи на първична профилактика в сравнение с пациентите, подложени на епизодично лечение. Изненадваща находка при анализа на резултатите се оказват отклоненията в ставния статус, оценен чрез ЯМР, в ставите на пациенти, в които никога не са регистрирани хемартрози. Следователно в ставите на пациенти, лекувани в схема „профилактика“, вероятно настъпват хронични микрокръвоизливи, които причиняват увреди без явни клинични белези за новонастъпващи хемартрози. Описаното потвърждава и важноста на въвеждането на леснодостъпен метод, чувствителен към ранните изменения в

ставния апарат, който да може да се използва за често и дългосрочно проследяване на ставния статус.

„Joint outcome study“ е не първото проучване, което демонстрира абнормности в стави, в които не са регистрирани клинично явни кръвоизливи и симптоми. Литературният обзор открива и други трудове, отразяващи подобни находки¹⁸⁵. По-голямата част от изследователите интерпретират находките като патологични и предполагат връзката им с кръвоизливи, но единствено „Canadian Tailored Prophylaxis Study“ пряко установява наличие на кръв (хемосидерин) в асимптоматични стави¹⁸⁶. Въпреки наличните индиректни данни за съществуването на микрокръвоизливи, предположението, че откриваните абнормни находки в ставния статус при пациентите без регистрирани хемартрози в същите стави, се дължат на микрокръвоизливи намира добра обосновка. Все пак, налице са данни от различни трудове, които биха поставили под съмнение това предположение.

На разположение са различни данни, от изследване на стави при клинично здрави доброволци чрез ЯМР и СЕ. Проучванията обхващат различни видове стави – раменни¹⁸⁷, коленни¹⁸⁸, метатарзофалангеални¹⁸⁹, тазобедрени¹⁹⁰ в контекста на различни нозологични единици – подагра, остеоартрит, спинална дегенерация¹⁹¹, както и базирани на асимптоматична популация¹⁹⁰. Проведените анализи представят разнопосочни данни, част от тях подкрепят хипотезата, че субклинични изменения в ставите на различни индивиди могат да съществуват и в отсъствието на заболяване, първично свързано с артропатичен ефект. Така например дискова дегенерация би могла да бъде открита в до 37% от 20-годишните, асимптоматични пациенти, като разпространеността ѝ нараства до 96% при индивидите на възраст 80 години¹⁹¹. Много от установяваните субклинични изменения в описваните кохорти наподобяват измененията, очаквани при ХсХ – синовит, хрущялни дефекти, субхондрални кисти¹⁸⁵. Следователно, част описаните от нас ултразвукови изменения, установявани най-вече в ставите на пациентите на възраст 18-39 години от немската кохорта биха могли да се дължат на естествен процес на стареене на тъканта.

С цел изясняване на генезата на откриваните от нас промени в индексните стави на част от пробандите ни, от кохортата от Германия бяха селектирани 13 пациенти, при които се откриват ставни изменения на ултразвуково ниво, въпреки че в същите стави не са регистрирани кръвоизливни епизоди и липсва патологична находка от физикалния статус. Избраните пациенти са сравнени с контролна група от здрави лица, при които са СЕ регистрира патологични находки само при двама от изследваните. Установените находки представляват минимални изменения в ставния хрущял в глезенни и коленни стави.

Аналогично изследване при ХсХ, съпоставени с контролна група от здрави индивиди е извършено през 2013 от Di Minno и съавтори¹⁴⁰. Индексните стави на пробандите са оценявани посредством ЯМР и СЕ, включените в анализа стави не са показвали признаци на явно кървене или други симптоми, асоцииращи се с Хемофилия. Индивидите, болни от Хемофилия демонстрират по-високи стойности на използваната ЯМР-скала (патологични стойности) и на СЕ-скала в сравнение със здравите контроли. Отчита се отлична корелация между двата използвани метода – ЯМР и СЕ.

Базирайки се на получените данни от проведения от нас анализ и информацията от съпоставими проучвания на други автори, можем да заключим, че макар наблюдаваните чрез СЕ изменения да не са специфични единствено за пациентите, страдащи от Хемофилия, доказването им в ставите на пациенти с доказана диагноза може и трябва да се разглежда като проява на болестта, а в по-напреднала възраст и като естествена нейна еволюция. Бъдещи проучвания остава да установят, дали по-интензивни лечебни режими или терапевтични нововъведения, осигуряващи по-високи „трафови нива“ на фактор VIII/IX биха предотвратили процесите на субклинична ставна увреда¹⁴⁵.

Недостатък на изследваната от нас контролна група е ограниченият ѝ размер, който може да доведе до хиподиагностика на често срещани ехографски абнормности в здравата популация.

Според създателя на ехографската скала HEAD-US - Martinoli ултразвуковото изследване предлага възможността за обективизиране на промени в ставите от порядъка на милиметри¹⁶⁹ и представлява надежден метод за оценка на ставния

статус. Въпреки това различни проучвания, провеждани основно върху пациентски кохорти, лекувани с регулярна профилактична терапия, показват слаба корелация между скорошно настъпили ставни епизоди на кървене и HEAD-US score¹⁴¹, слаба корелация между отделните ставни скорове и настъпилите хемартрози¹⁶⁹, както и единствено тенденция ($p=0.05$) за положителна корелация между HEAD-US score и годишната ставна честота на кървене¹⁹². Така увереността на хемофилната общност по отношение надежността на предложената ехографска скала бива разколебана.

Противно на описваните корелации от останалите изследователски групи, корелациите, подлежащи на изпитване в нашия анализ (на ниво пациенти, ниво стави, ниво различни показатели на HEAD-US скалата към скалата на Gilbert, както и към три годишната честота на кървене) са категоризирани като силни до много силни в рамките на кохортата пациенти от България. По-слаби, но все пак значими са също някои от корелациите, отчетени сред кохортата пациенти от Германия. Умерени корелации се отчитат при съпоставката на скалата на Gilbert към годишната ставна честота на кървене за три годишен период в немската кохорта, слаби корелации се установяват и между годишната ставна честота на кървене и ултразвуковата скала HEAD-US. На фона на тези слаби корелации се открояват умерените до силни корелации между ставна годишна честота на кървене за период от три години и GS (с изключение за глезенни стави) от една страна и HEAD-US от друга, при кохортата пациенти от България.

Описваната разлика между корелационните коефициенти при обследваните от нас две кохорти, би могла спекулативно да се обясни с различните терапевтични схеми, употребявани при анализираниите пациенти.

Учението за фармакокинетиката на факторите VIII и IX демонстрира, че при по-често интравенозно приложение на коагулационен фактор се постига по-дълъг период, през който в плазмата на пациента е реализирана по-висока резидуална активност на фактора. Така се гарантира по-високо финално остатъчно ниво преди следващата профилактична инфузия, т.н. „трафово ниво“¹⁴⁷. В допълнение чрез компютърни модели, базирани на подробни фармакокинетични проучвания при пациенти с Хемофилия А, Collins et al. демонстрират съществуващата пряка

взаимовръзка между времето, което пациент прекарва с активност на фактор VIII под 1 % (по-рядко приложение на коагулационен фактор, по-ниски еднократни дози факторен концентрат) и развитието на клинично явни кръвоизливни епизоди⁷⁶. Видно от анализа на терапевтичните режими (виж по-горе) е, че при пациентите от българската кохорта биват използвани схеми на терапия с по-рядко приложение на факторен концентрат (1 до 2 пъти седмично), следователно пациентите от тази кохорта прекарват по-дълго време с ниво на фактора под 1%. Така настъпващите ставни кръвоизливи се превръщат в явни и показват добра корелация с прилаганите образни и клинични методи на изследване (особено силна корелация се отчита по отношение на коленните стави). В противовес, при пациентите от кохортата от Германия прилаганите режими с по-често седмично приложение на фактор и съобразяването им с планово измерването „трафови нива“ на пациентите, води до възможност на настъпване предимно на субклинични кръвоизливи и/или травматични кръвоизливни епизоди. Липсата на регистрация на явни хемартрози води до ниски корелационни индекси между отчитаната честота на кръвене и ставния статус.

Интересно, анализът на взаимовръзката между скалата на Gilbert и HEAD-US демонстрира от умерени до силни корелации в немската кохорта и много силни корелации в българската. Установените зависимости потвърждават надеждността на физикалния метод за оценка на ставното здраве, при съпоставка с почувствителния ехографски метод. От съществено значение е добрата корелация между методите при наличие на дегенеративни промени (хрущялни и дефекти в субхондралната кост) и слабата корелация при наличие на начални мекотъканни изменения в ставния апарат (синовит). Въпрос с дискуссионен характер, изискващ допълнително научно обяснение остава причината за наблюдаваните корелации между двата метода на изследване по отношение измененията, откривани в глезенната става. Противно на коленните и лакътните стави, в глезенните стави зависимостта остава по-ниска – при налични ехографски изменения, липсват данни за клинично доказуеми дефекти. Възможно обяснение би могло да се търси в различната анатомия на съпоставяните видове стави и сложността на периакуларния апарат на глезенната става, който създава предпоставка

измененията дълго време да остават скрити за физикалните методи на изследване⁵⁴.

Именно анатомичните особености на глезенната става дават основание състоянието на глезенните стави при ХсХ да бъде възприето като маркер за хемофилна артропатия в „ерата“ на прилагане на интензивни профилактични схеми на терапия. Различни студии предоставят данни в подкрепа на този модел – Oldenburg et al¹⁷⁹ доказват по-високи стойности на ЯМР скала за глезенни стави, както и липса на патологични находки в коленните стави при пациенти със засегнати глезенни стави. Manco-Johnson et al.⁵⁶, Groen et al.¹⁹³, както и Kraft et al.¹⁸⁶ посочват по-висок брой ставни кръвоизливи и по-влошени показатели според различни скали за оценка при глезенни стави в съпоставка с коленни и лакътни стави в рамките на проучвания, проведени сред пациентски кохорти, лекувани с интензивни профилактични схеми. Данните от анализа на резултатите при пациентите в проучваната от нас кохорта от Германия също демонстрират най-незадоволителни резултати за глезенните стави според брой ставни кръвоизливи, скала на Gilbert и скала HEAD-US при пряка съпоставка с коленните и лакътните стави.

В противовес на описаното, през ерата на лечение „при нужда“ - 70-те и 80-те години на 20 век - най-висок брой кръвоизливи и най-изразени артропатични изменения са описвани в коленните стави при ХсХ^{116,194}. Така измененията, откривани сред кохортата пациенти от България, поставя ставния им статус на границата между двете терапевтични „ери“. От една страна коленните стави отчитат по-висок брой хемартрози за три годишен период, по-високи стойности на Gilbert score и HEAD-US score, от друга страна в по-голям процент глезенни стави (съпоставен с процент коленни стави) са регистрирани кръвоизливни епизоди и са откривани ехографски изменения. В коленните стави на пациентите от българската кохорта се открива и най-силната корелация между кръвоизливни епизоди и GS, както и между GS и HS. Подобни силни корелации ($r=0.73$) са установени и от Klukowska et al¹⁹⁵ между кумулативния брой ставни кръвоизливи през живота на човека и хрущялните дефекти в коленете на деца на възраст 2-16

години, при които са отчитани висок брой кръвоизливни епизоди (>30 хемартрози при 64% от пациентите).

В заключение, смятаме, че чрез поставената си цел анализирахме и обсъждаме значим аспект от теорията и практиката. Постарахме се да оформим ясно и конкретно целта и задачите, а литературният обзор да обобщи идейно темата на дисертационния труд и да разкрие мотивите за избора ѝ. Усилията ни бяха насочени към избор на достъпни и модерни методи с възможност за клинично приложение. Получените резултати, макар и скромни, разкриват съществени зависимости, които ни насочват към извеждане на съответните изводи. Така бихме искали да покажем, че целта на дисертационния труд е изпълнена.

ИЗВОДИ

1. При деца до 12-годишна възраст физиологично по-кратният полуживот на фактор VIII в плазмата оправдава 2-3 пъти по-висок разход на факторен концентрат.
2. Първична профилактика при приложение на коагулационен фактор три и над три пъти седмично се асоциира с благоприятни дългосрочни резултати по отношение на ставния статус на пациентите.
3. Годишната ставна честота на кървене (jABR) е ориентировъчен показател за ставното здраве на пациентите и не трябва да бъде използван като самостоятелен маркер за адаптиране на терапията.
4. Клиничната скала на Gilbert е надежден метод за откриване и проследяване на ставни изменения при пациенти, лекувани с неинтензивни терапевтични схеми.
5. Ставната ехография по метода HEAD-US е сигурен метод за доказване на увреди в ставния апарат при пациенти с Хемофилия, лекувани с високо- и нискоинтензивни терапевтични схеми.
6. Ехографският метод установява субклинични ставни изменения, характерни за хемофилната артропатия при пациенти от всички възрасти при съпоставка със здрави контроли.
7. При наличие на хрущялни и костни дефекти в ставите резултатите от клиничния и ехографски метод на изследване се припокриват, но ехографският метод самостоятелно показва по-висока диагностична стойност по отношение на мекотъканни изменения.
8. Значимите разлики в динамиката на ставния статус в немската и българската кохорта се дължат на обективни различия в терапевтичния дизайн.

ПРЕПОРЪКИ

Препоръки към дружествата на специалистите по

Детска клинична хематология и онкология и Клинична хематология:

1. Да се изработят актуализирани ръководства за добра медицинска практика в лечението на пациенти с Хемофилия.
2. В курсове за обучение на принципите на терапия при пациенти с Хемофилия трябва да бъдат включени теми за оценка на ставен статус с различни методи – клинични и образни.

Препоръки към Националната здравноосигурителна каса (НЗОК):

1. Да се предвидят средства за оптимизация на годишния разход на концентрат във възрастта до 12 години.
2. Към критериите за отпускане на скъпоструващи лекарствени средства за домашно лечение като задължителни да се включат клиничен и ехографски ставен статус и фармакокинетични параметри (трафово ниво).

Препоръки към практиката:

1. Профилактичното лечение да започне в най-кратък срок от поставяне на диагнозата.
2. Седмичните режими с над 3 приложения на факторен концентрат са с доказано предимство.
3. При децата до 12 години еднократните дози (IU/кг) на приложение на фактор трябва да са по-високи от тези при юноши и млади възрастни.
4. С въвеждането на класически и модерни методи (електронни дневници) да се оптимизира регистрацията на кръвоизливните епизоди.
5. Проследяването на ставния статус с ехографския метод е задължително с цел проследяване ефективността на предписаната терапия.

ПРИНОСИ

Приноси с научно-теоретичен характер:

1. Извършен е подробен съвременен литературен обзор върху епидемиология, генетика, клинична картина, диагностика и терапия на Хемофилия.
2. Обобщени са актуални литературни данни върху етиология, патогенеза, диагностика и проследяване на хемофилната артропатия.

Приноси с научно-приложен характер:

1. За първи път терапевтичен подход и ставен статус при пациенти с Хемофилия от две националности са пряко съпоставени от един и същи изследовател.
2. За първи път в България е проведен многоцентров анализ на използваните терапевтични режими при пациенти с Хемофилия.
3. За първи път у нас е проведен многоцентров скрининг за ставно здраве с комбиниране на физикални и ехографски методи на изследване.
4. За първи път у нас е проведена валидация на ехографския метод на изследване при пациенти с Хемофилия чрез съпоставка със здрави лица.
5. Описаните корелации между клиничната скала Gilbert score и ехографската HEAD-US score нямат аналог в достъпната международна медицинска литература.
6. Потвърдена е асоциацията между ранно започване на интензивна профилактична терапия и благоприятния в дългосрочен план ставен статус.
7. Потвърдено е значението на фармакокинетични показатели при адаптиране на профилактичната терапия.
8. Потвърдена е ролята на субклиничните ставни кръвоизливи в генезата на ставните изменения при лекувани с интензивни профилактични схеми пациенти.
9. Потвърдена е ролята на глезенната става като маркер за ставно здраве при лекувани с интензивни профилактични схеми пациенти.
10. Потвърдено е приоритетното засягане на колянната става при лекувани с нискодозови режими пациенти.

Публикации, участия в научни форуми

Публикации в периодични научни списания

1. **Banchev A**, Goldmann G, Marquardt N, et al. Impact of Telemedicine Tools on Record Keeping and Compliance in Haemophilia Care. *Hamostaseologie*. (EFirst): 2019 (IF 1.354)
2. **Banchev A**, Stoyanova D, Konstantinov D, et al. Correlating joint bleeding rates and HEAD-US score in haemophilia A patients treated by late/secondary prophylaxis. *Haemophilia*. 2019;25(Supplement 1):52–53.
3. **Банчев Ат**, Стоянова Д. Константинов Д. Ставно засягане при Хемофилия - съвременни схващания и методи за оценка на ставния статус. *Педиатрия*. 2018;2:16–20.
4. **Банчев Ат**, Съвременни тенденции в терапията на Хемофилия. Индивидуализиране на лечението според фармакокинетични показатели и маркери от ехографско изследване на индексни стави. *Педиатрия*. 2018;LVIII(3):36–38

Участия в научни конгреси, конференции и симпозиуми

1. 8th Haemophilia Global Summit 28-30 Sep 2017, Rome, Italy „Initial joint damages assessed by musculo-skeletal ultrasound measurement in a patient cohort on primary prophylaxis“ **Banchev A**, Marquardt N, Pavlova A, Oldenburg J.
2. Haemophilia Academy 13-14 Mar 2018, Budapest, Hungary “Comparing Haemophilia Joint Health Germany vs. Bulgaria – What shall we do better. Interim analysis comparing joint bleeding rate, clinical and sonographic examination” **Banchev A**.
3. XIV Национален конгрес по педиатрия с международно участие 27-30 Сеп 2018, Боровец „Честота на ставно кървене, клиничен и ехографски ставен статус при пациенти с Хемофилия – сравнение между две големи пациентски кохорти от България и Германия“ **Банчев Ат**, Стоянова Д, Игнатова Иг, Петева Ел, Калева В, Костова С, Павлова Ан, Олденбург Й, Константинов Д.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Спасов В, Ниньо Ш. Популационно-генетични проучвания при деца, болки от хемофилия, в НРБ. *Педиатрия*. 1986;XXV(5):45–49.
2. Franchini M, Mannucci P. Past, present and future of hemophilia: a narrative review. *Orphanet J. Rare Dis*. 2012;7(1):24.
3. Srivastava, A. , Brewer, A. K., Mauser-Bunschoten, E. P., et al, (2013), Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia*, 19: e1-e47.
4. Pollmann H, Richter H, Ringkamp H, Jürgens H. When are children diagnosed as having severe haemophilia and when do they start to bleed? A 10-year single-centre PUP study. *Eur. J. Pediatr*. 1999;158 Suppl:S166-70.
5. Лисичков Т. Ставни проблеми при Хемофилия. София: Център за комплексно лечение на хемофилия - София; 2008.
6. Горанова-Маринова В, Иванова Х, Попов В, Грудева-Попова Ж. Радиосиновектомия при пациенти с хемофилна артропатия. *Хематология*. 2018;LIV(1–2):28–30.
7. Valentino LA. Blood-induced joint disease: The pathophysiology of hemophilic arthropathy. *J. Thromb. Haemost*. 2010;8(9):1895–1902.
8. Fischer K, Berntorp E. Targeting Factor Replacement Therapy in Severe Hemophilia: Which Level Is Important? *Semin. Thromb. Hemost*. 2015;41(8):860–863.
9. KM. B. A short history of hemophilia, with some comments on the word “hemophilia”. *Brinkhous KM, Hemker HC, Ed*. 1975;3–20.
10. Ingram GI. The history of haemophilia. *J. Clin. Pathol*. 1976;29(6):469–79.
11. Otto JC. An account of an hemorrhagic disposition existing in certain families. *Am*

. *J. Med.* 1951;11(5):557–558.

12. Hopff F. Über die Hämophilie oder die erbliche Anlage zu tödtlichen Blutungen. 1828;
13. Rogaev EI, Grigorenko AP, Moliaka YK, et al. Genomic identification in the historical case of the Nicholas II royal family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2009;106(13):5258–5263.
14. Kyrle PA, Eichinger S. Is Virchow's triad complete? *Blood.* 2009;114(6):1138 LP-1139.
15. Madlener K, Pötzsch B. Hämostasesystem. *Hamostaseologie.* 2010;7–12.
16. Macfarlane RG. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. *Nature.* 1964;202:498–499.
17. Davie EW, Ratnoff OD. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science.* 1964;145(3638):1310–2.
18. Hoffman M, Monroe DM 3rd. A cell-based model of hemostasis. *Thromb. Haemost.* 2001;85(6):958–965.
19. Белева Е. Оценка на тромбофилен риск и метастатичен потенциал при пациенти с малигнени заболявания. 2016;
20. Hoffman M. A cell-based model of coagulation and the role of factor VIIa. *Blood Rev.* 2003;17 Suppl 1:S1-5.
21. Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M, Reitsma PH. New Fundamentals in Hemostasis. *Physiol. Rev.* 2013;93(1):327–358.
22. Puy C, Rigg RA, McCarty OJT. The hemostatic role of factor XI. *Thromb. Res.* 2016;141:S8–S11.
23. Drayna D, White R. The genetic linkage map of the human X chromosome.

- Science* (80-85). 1985;230(4727):753 LP-758.
24. Patterson M, Schwartz C, Bell M, et al. Physical mapping studies on the human X chromosome in the region Xq27-Xqter. *Genomics*. 1987;1(4):297–306.
 25. Ниньо Ш, Лисичков Т, Серафимова С. Проучвания върху хемостазата на носителки на хемофилна наследственост. *Педиатрия*. 1976;ТОМ XV(1):37–39.
 26. Ingerslev J, Schwartz M, Lamm LU, et al. Female haemophilia A in a family with seeming extreme bidirectional lyonization tendency: abnormal premature X-chromosome inactivation? *Clin. Genet*. 1989;35(1):41–8.
 27. Pavlova A, Brondke H, Müsebeck J, et al. Molecular mechanisms underlying hemophilia A phenotype in seven females. *J. Thromb. Haemost*. 2009;7(6):976–982.
 28. Gitschier J, Wood WI, Goralka TM, et al. Characterization of the human factor VIII gene. *Nature*. 1984;312(5992):326–330.
 29. Yoshitake S, Schach BG, Foster DC, Davie EW, Kurachi K. Nucleotide sequence of the gene for human factor IX (antihemophilic factor B). *Biochemistry*. 1985;24(14):3736–3750.
 30. Lakich D, Kazazian HH, Antonarakis SE, Gitschier J. Inversions disrupting the factor VIII gene are a common cause of severe haemophilia A. *Nat Genet*. 1993;5(3):236–241.
 31. Bagnall RD, Waseem N, Green PM, Giannelli F. Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A. *Blood*. 2002;99(1):168 LP-174.
 32. Gouw SC, Berg HM Van Den, Oldenburg J, et al. F8 gene mutation type and inhibitor development in patients with severe hemophilia A: systematic review and meta-analysis. *Thromb. Haemost*. 2012;119(12):2922–2934.

33. Kamal AH, Tefferi A, Pruthi RK. How to Interpret and Pursue an Abnormal Prothrombin Time, Activated Partial Thromboplastin Time, and Bleeding Time in Adults. *Mayo Clin. Proc.* 2017;82(7):864–873.
34. White GC, Rosendaal F, Aledort LM, et al. Definitions in Hemophilia. Recommendation of the Scientific Subcommittee on Factor VIII and Factor IX of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb. Haemost.* 2001;85(3):560.
35. Chandler WL, Ferrell C, Lee J, Tun T, Kha H. Comparison of three methods for measuring factor VIII levels in plasma. *Am. J. Clin. Pathol.* 2003;120(1):34–39.
36. Barrowcliffe TW. Monitoring haemophilia severity and treatment: new or old laboratory tests? *Haemophilia.* 2004;10:109–114.
37. Santagostino E. More than a decade of international experience with a pdFVIII/VWF concentrate in immune tolerance. *Haemophilia.* 2013;19:8–11.
38. Oldenburg J, Pavlova A. Discrepancy between one-stage and chromogenic factor VIII activity assay results can lead to misdiagnosis of haemophilia A phenotype. *Hamostaseologie.* 2010;30(4):207–11.
39. Pavlova A, Delev D, Pezeshkpoor B, Müller J, Oldenburg J. Haemophilia A mutations in patients with non-severe phenotype associated with a discrepancy between one-stage and chromogenic factor VIII activity assays. *Thromb. Haemost.* 2014;111(5):851–861.
40. Chalmers EA, Williams M, Brennand J, et al. Guideline on the management of haemophilia in the fetus and neonate. *Br. J. Haematol.* 2011;154(2):208–215.
41. Петкова РД. Молекулни характеристики и пренатална диагностика на хемофилия А и В в България и влияние на съвместното унаследяване на най-честите протромботични рискови фактори. 2004;
42. Nagel K, Walker I, Decker K, Chan AKC, Pai MK. Comparing bleed frequency and

- factor concentrate use between haemophilia A and B patients. *Haemophilia*. 2011;17(6):872–874.
43. Santagostino E, Fasulo M. Hemophilia A and Hemophilia B: Different Types of Diseases? *Semin. Thromb. Hemost.* 2013;39(07):697–701.
44. Clausen N, Petrini P, Claeysens-Donadel S, et al. Similar bleeding phenotype in young children with haemophilia A or B: a cohort study. *Haemophilia*. 2014;20(6):747–755.
45. Kulkarni R, Lusher J. Perinatal management of newborns with haemophilia. *Br. J. Haematol.* 2001;112(2):264–74.
46. Richards M, Lavigne Lissalde G, Combescure C, et al. Neonatal bleeding in haemophilia: a European cohort study. *Br. J. Haematol.* 2012;156(3):374–382.
47. Carcao M. The Diagnosis and Management of Congenital Hemophilia. *Semin. Thromb. Hemost.* 2012;38(07):727–734.
48. van den Berg HM, de Groot PHG, Fischer K. Phenotypic heterogeneity in severe hemophilia. *J. Thromb. Haemost.* 2007;5:151–156.
49. Blanchette P, Rivard G, Israels S, et al. A survey of factor prophylaxis in the Canadian haemophilia A population. *Haemophilia*. 2004;10(6):679–683.
50. Fischer K, Collins P, Björkman S, et al. Trends in bleeding patterns during prophylaxis for severe haemophilia: observations from a series of prospective clinical trials. *Haemophilia*. 2011;17(3):433–438.
51. Stephensen D, Tait RC, Brodie N, et al. Changing patterns of bleeding in patients with severe haemophilia A. *Haemophilia*. 2009;15(6):1210–1214.
52. 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.
53. Mulder K LA. The target joint. *Haemophilia*. 2004;10 (Suppl):152–156.

54. Lobet S, Hermans C, Lambert C. Optimal management of hemophilic arthropathy and hematomas. *J. Blood Med.* 2014;5:207.
55. Khawaji M, Astermark J, Von Mackensen S, Kesson K, Berntorp E. Bone density and health-related quality of life in adult patients with severe haemophilia. *Haemophilia.* 2011;17(2):304–311.
56. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N. Engl. J. Med.* 2007;
57. Luck JVJ, Luck JVJ, Silva M, et al. Hemophilic arthropathy. *J Am Acad Orthop Surg.* 2004;12(4):234–245.
58. Valentino LA. Blood-induced joint disease: The pathophysiology of hemophilic arthropathy. *J. Thromb. Haemost.* 2010;8(9):1895–1902.
59. Di Minno MD, Ambrosino P, Franchini M, Coppola A et al. Arthropathy in patients with moderate hemophilia A: A systematic review of the literature. *Semin. Thromb. Hemost.* 2013;39(7):723–731.
60. Franchini M, Favaloro EJ, Lippi G. Mild hemophilia A. *J. Thromb. Haemost.* 2010;8(3):421–432.
61. Калева В. Хемофилия А и В. *Ръководство за диагностика и лечение на хематологичните заболявания.* 2018;91–118.
62. Лисичков ТЖ. Проучвания върху антихемофилния глобулин (фактор VIII) и лечение на хемофилия А с препарат получен по метода на криопреципитацията. 1970;
63. White GC, II. Hemophilia: an amazing 35-year journey from the depths of HIV to the threshold of cure. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 2010;121:61-73; discussion 74–5.

64. Hemophilia: From Plasma to Recombinant Factors. 2017; <https://www.hematology.org/About/History/50-Years/1524.aspx>
65. Berntorp E, Shapiro AD. Modern haemophilia care. *Lancet*. 2012;379(9824):1447–1456.
66. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia*. 2013;19(1):.
67. Бракман К. Контролирано от лекар домашно лечение. Център за комплексно лечение на хемофилия - Варна; 2015.
68. Coppola A, Di Capua M, De Simone C. Primary prophylaxis in children with haemophilia. *Blood Transfus*. 2008;6 Suppl 2(Suppl 2):s4-11.
69. Fischer K, Ljung R. Primary prophylaxis in haemophilia care: Guideline update 2016. *Blood Cells, Mol. Dis*. 2016;
70. Tagliaferri A, Feola G, Molinari AC, et al. Benefits of prophylaxis versus on-demand treatment in adolescents and adults with severe haemophilia A: the POTTER study. *Thromb. Haemost*. 2015;114(1):35.
71. Tagliaferri A, Di Perna C, Rivolta GF. Secondary prophylaxis in adolescent and adult haemophiliacs. *Blood Transfus*. 2008;6 Suppl 2(Suppl 2):s17-20.
72. Gringeri A, Lambert T, Street A, Aledort L, Adolescent/Adult Prophylaxis Expert Working Group of the International Prophylaxis Study Group. Tertiary prophylaxis in adults: is there a rationale? *Haemophilia*. 2012;18(5):722–728.
73. Windyga J. Is Continuous Low-Dose Prophylaxis Superior to On-Demand Treatment for Patients with Hemophilia? *Semin. Thromb. Hemost*. 2016;42(5):533–540.
74. Thornburg CD, Duncan NA. Treatment adherence in hemophilia. 2017;1677–1686.

75. Coppola A, Tagliaferri A, Di Capua M, Franchini M. Prophylaxis in children with hemophilia: Evidence-based achievements, old and new challenges. *Semin. Thromb. Hemost.* 2012;38(1):79–94.
76. Collins PW, Blanchette VS, Fischer K, et al. Break-through bleeding in relation to predicted factor VIII levels in patients receiving prophylactic treatment for severe hemophilia A. *J. Thromb. Haemost.* 2009;7(3):413–420.
77. Collins PW, Björkman S, Fischer K, et al. Factor VIII requirement to maintain a target plasma level in the prophylactic treatment of severe hemophilia A: Influences of variance in pharmacokinetics and treatment regimens. *J. Thromb. Haemost.* 2010;8(2):269–275.
78. Tang L, Wu R, Sun J, et al. Short-term low-dose secondary prophylaxis for severe/moderate haemophilia A children is beneficial to reduce bleed and improve daily activity, but there are obstacle in its execution: a multi-centre pilot study in China. *Haemophilia.* 2013;19(1):27–34.
79. Iorio A, Marchesini E, Marcucci M, Stobart K, Chan AK. Clotting factor concentrates given to prevent bleeding and bleeding-related complications in people with hemophilia A or B. *Cochrane database Syst. Rev.* 2011;(9):CD003429.
80. Jiménez-Yuste V, Auerswald G, Benson G, et al. Achieving and maintaining an optimal trough level for prophylaxis in haemophilia: The past, the present and the future. *Blood Transfus.* 2014;12(3):314–319.
81. Fischer K, Valentino L, Ljung R, Blanchette V. Prophylaxis for severe haemophilia: clinical challenges in the absence as well as in the presence of inhibitors. *Haemophilia.* 2008;14(s3):196–201.
82. Спасова М, Спасов Н. Индивидуалният терапевтичен подход към пациента с Хемофилия - или какво се крие зад “годишна честота на кървене = 0-1”? *Педиатрия.* 2017;LVII:

83. Krenn V, Morawietz L, Häupl T, et al. Grading of Chronic Synovitis — A Histopathological Grading System for Molecular and Diagnostic Pathology. *Pathol. - Res. Pract.* 2002;198(5):317–325.
84. Gruppo RA, Brown D, Wilkes MM, Navickis RJ. Meta-analytic evidence of increased breakthrough bleeding during prophylaxis with B-domain deleted factor VIII. *Haemophilia.* 2004;10(6):747–750.
85. Fischer K, Steen Carlsson K, Petrini P, et al. Intermediate-dose versus high-dose prophylaxis for severe hemophilia: comparing outcome and costs since the 1970s. *Blood.* 2013;122(7):1129–36.
86. World Federation of Hemophilia. AS, Lundin B, Kilcoyne RF, et al. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia.* Blackwell Science; 1994.
87. Hoots WK. Pathogenesis of hemophilic arthropathy. *Semin. Hematol.* 2006;43(SUPPL. 1):18–22.
88. Leslie R, Catherine M. Modern management of haemophilic arthropathy. *Br. J. Haematol.* 2007;136(6):777–787.
89. Aledort LM, Haschmeyer RH, Pettersson H. A longitudinal study of orthopaedic outcomes for severe factor-VIII-deficient haemophiliacs. The Orthopaedic Outcome Study Group. *J. Intern. Med.* 1994;236(4):391–9.
90. Letizia G, Piccione F, Ridola C, Zummo G. Ultrastructural appearance of human synovial membrane in the reabsorption phase of acute haemarthrosis. *Ital. J. Orthop. Traumatol.* 1980;6(2):275–7.
91. Roosendaal G, Vianen ME, Wenting MJ, et al. Iron deposits and catabolic properties of synovial tissue from patients with haemophilia. *J. Bone Joint Surg. Br.* 1998;80(3):540–5.
92. Brennan FM, Chantry D, Jackson AM, Maini RN, Feldmann M. Cytokine production in culture by cells isolated from the synovial membrane. *J. Autoimmun.*

- 1989;2 Suppl:177–86.
93. Aigner T, Soeder S, Haag J. IL-1beta and BMPs--interactive players of cartilage matrix degradation and regeneration. *Eur. Cell. Mater.* 2006;12:49–56; discussion 56.
94. Hakobyan N, Kazarian T, Jabbar AA, et al. Pathobiology of hemophilic synovitis I: overexpression of mdm2 oncogene. *Blood.* 2004;104(7):2060–4.
95. Hooiveld M, Roosendaal G, Wenting M, et al. Short-Term Exposure of Cartilage to Blood Results in Chondrocyte Apoptosis. *Am. J. Pathol.* 2003;162(3):943–951.
96. Acharya SS. Hemophilic joint disease - current perspective and potential future strategies. *Transfus. Apher. Sci.* 2008;38(1):49–55.
97. Zetterberg E, Palmblad J, Wallensten R, et al. Angiogenesis is increased in advanced haemophilic joint disease and characterised by normal pericyte coverage. *Eur. J. Haematol.* 2014;92(3):256–262.
98. Bhat V, Olmer M, Joshi S, et al. Vascular remodeling underlies rebleeding in hemophilic arthropathy. *Am. J. Hematol.* 2015;90(11):1027–1035.
99. Acharya SS, Kaplan RN, Macdonald D, et al. Neoangiogenesis contributes to the development of hemophilic synovitis. *Blood.* 2011;117(8):2484–2493.
100. van Vulpen LFD, Mastbergen SC, Lafeber FPJG, Schutgens REG. Differential effects of bleeds on the development of arthropathy - basic and applied issues. *Haemophilia.* 2017;(February):1–7.
101. Георгиев Д, Лисичков Т. Мускулно-скелетни проблеми при болни от хемофилия. *Съвременна рехабилитация и профилактика на болни с хемофилия.* 2007;25–63.
102. Seuser, A., Oldenburg, J., Brackmann H.H. Pathogenese, Diagnose und orthopädische Therapie der hämophilen Gelenkarthropathie. *Hamostaseologie.*

- 1998;198–205.
103. Lafeber FPJG, Miossec P, Valentino LA. Physiopathology of haemophilic arthropathy. *Haemophilia*. 2008;14(SUPPL. 4):3–9.
104. Jansen NWD, Roosendaal G, Bijlsma JWJ, et al. Degenerated and healthy cartilage are equally vulnerable to blood-induced damage. *Ann. Rheum. Dis.* 2008;67(10):1468–1473.
105. Jansen NWD, Roosendaal G, Bijlsma JWJ, DeGroot J, Lafeber FPJG. Exposure of human cartilage tissue to low concentrations of blood for a short period of time leads to prolonged cartilage damage: An in vitro study. *Arthritis Rheum.* 2007;56(1):199–207.
106. Hooiveld MJJ, Roosendaal G, van den Berg HM, Bijlsma JWJ, Lafeber FPJG. Haemoglobin-derived iron-dependent hydroxyl radical formation in blood-induced joint damage: an in vitro study. *Rheumatology*. 2003;42(6):784–790.
107. Cayla J. Articular manifestations of hemophilia. *Cah Coll Med Hop Paris 1*. 1967;8:731–46.
108. Katsarou O, Terpos E, Chatzismalis P, et al. Increased bone resorption is implicated in the pathogenesis of bone loss in hemophiliacs: correlations with hemophilic arthropathy and HIV infection.
109. Kovacs CS. Hemophilia, low bone mass, and osteopenia/osteoporosis. *Transfus. Apher. Sci.* 2008;38(1):33–40.
110. Tlacuilo-Parra A, Morales-Zambrano R, Tostado-Rabago N, et al. Inactivity is a risk factor for low bone mineral density among haemophilic children. *Br. J. Haematol.* 2008;140(5):562–567.
111. Barnes C, Wong P, Egan B, et al. Reduced bone density among children with severe hemophilia. *Pediatrics*. 2004;114(2):e177-81.
112. Pettersson H, Nilsson IM, Hedner U, Noréhn K, Ahlberg Å. Radiologic evaluation

- of prophylaxis in severe haemophilia. *Acta Paediatr.* 1981;70(4):565–570.
113. Blobel CP, Haxaire C, Kalliolias GD, et al. Blood-Induced Arthropathy in Hemophilia: Mechanisms and Heterogeneity. *Semin. Thromb. Hemost.* 2015;41(8):832–837.
114. Бояджиев П, Игнатов А, Ниньо Ш. Артросцинтиграфски проучвания с ^{99m}Tc при деца, болни от хемофилия. *Педиатрия.* 1976;XV(6):.
115. De Palma AF, Cotler JM. Hemophilic arthropathy. *AMA. Arch. Surg.* 1956;72(2):247–50.
116. Arnold WD, Hilgartner MW. Hemophilic arthropathy. Current concepts of pathogenesis and management. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1977;59(3):287–305.
117. Pettersson H, Gilbert MS. Diagnostic Imaging Modalities. *Diagnostic Imaging Hemoph.* 1985;15–22.
118. Fischer K, Steen Carlsson K, Petrini P, et al. Intermediate-dose versus high-dose prophylaxis for severe hemophilia: comparing outcome and costs since the 1970s. *Blood.* 2013;122(7):1129–36.
119. Manco-Johnson MJ, Funk SM. Joint Evaluation Instruments in Haemophilia. *Haemophilic Joints New Perspect.* 45–55. 2003.
120. Hilliard P, Funk S, Zourikian N, et al. Hemophilia joint health score reliability study. *Haemophilia.* 2006;12(5):518–525.
121. Feldman BM, Funk SM, Bergstrom B-M, et al. Validation of a new pediatric joint scoring system from the International Hemophilia Prophylaxis Study Group: Validity of the hemophilia joint health score. *Arthritis Care Res. (Hoboken).* 2011;63(2):223–230.
122. Bladen M, Main E, Hubert N, et al. Factors affecting the Haemophilia Joint Health Score in children with severe haemophilia. *Haemophilia.* 2013;19(4):626–631.

123. Saulyte Trakymiene S, Ingerslev J, Rageliene L. Utility of the Haemophilia Joint Health Score in study of episodically treated boys with severe haemophilia A and B in Lithuania. *Haemophilia*. 2010;16(3):479–486.
124. Sørensen B, Auerswald G, Benson G, et al. Rationale for individualizing haemophilia care. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 2015;26(8):849–857.
125. Дяков Д, Ниньо Ш, Бояджиев П. Рентгенови изменения на кости и стави у деца, болни от хемофилия. *Педиатрия*. 1974;XII(1):87–89.
126. Еленчева Е, Калев И. Рентгенова диагноза на хеморагичните изменения при хемофилия. *Педиатрия*. 1990;XXIX(4):70–75.
127. Doria AS. State-of-the-art imaging techniques for the evaluation of haemophilic arthropathy: Present and future. *Haemophilia*. 2010;16(SUPPL. 5):107–114.
128. Feldman BM, Funk S, Lundin B, et al. Musculoskeletal measurement tools from the International Prophylaxis Study Group (IPSG). *Haemophilia*. 2008;14(s3):162–169.
129. Acharya SS, Schloss R, Dyke JP, et al. Power Doppler sonography in the diagnosis of hemophilic synovitis - a promising tool. *J. Thromb. Haemost.* 2008;6(12):2055–2061.
130. Querol F. The role of ultrasonography in the diagnosis of the musculo- skeletal problems of haemophilia. 2011;1–12.
131. Article R. Differentiating between signs of intra-articular joint bleeding and chronic arthropathy in haemophilia : a narrative review of the literature. 2015;(289):289–296.
132. Wyseure T, Mosnier LO, von Drygalski A. Advances and challenges in hemophilic arthropathy. *Semin. Hematol.* 2016;53(1):10–19.
133. Martinoli C, Casa Alberighi O Della, Di Minno G, et al. Development and definition

- of a simplified scanning procedure and scoring method for Haemophilia Early Arthropathy Detection with Ultrasound (HEAD-US). *Thromb. Haemost.* 2013;109(6):1170–1179.
134. Zukotynski K, Jarrin J, Babyn PS, et al. Sonography for assessment of haemophilic arthropathy in children: A systematic protocol. *Haemophilia.* 2007;13(3):293–304.
135. Kidder W, Nguyen S, Larios J, et al. Point-of-care musculoskeletal ultrasound is critical for the diagnosis of hemarthroses, inflammation and soft tissue abnormalities in adult patients with painful haemophilic arthropathy. *Haemophilia.* 2015;21(4):530–537.
136. Melchiorre D, Linari S, Innocenti M, et al. Ultrasound detects joint damage and bleeding in haemophilic arthropathy: a proposal of a score. *Haemophilia.* 2011;17(1):112–7.
137. Muça-Perja M, Riva S, Grochowska B, et al. Ultrasonography of haemophilic arthropathy. *Haemophilia.* 2012;18(3):364–368.
138. Lawson W, Uy M, Strike K, et al. Point of care ultrasound in haemophilia: Building a strong foundation for clinical implementation. *Haemophilia.* 2017;(April):1–4.
139. Martinoli C, Di Minno MND, Pasta G, Tagliafico A. Point-of-care ultrasound in haemophilic arthropathy: Will the HEAD-US system supplement or replace physical examination? *Haemophilia.* 2016;22(1):20–21.
140. Di Minno MND, Iervolino S, Soscia E, et al. Magnetic resonance imaging and ultrasound evaluation of “healthy” joints in young subjects with severe haemophilia A. *Haemophilia.* 2013;19(3):.
141. Foppen W, van der Schaaf IC, Fischer K. Value of routine ultrasound in detecting early joint changes in children with haemophilia using the “Haemophilia Early Arthropathy Detection with UltraSound” protocol. *Haemophilia.* 2016;22(1):121–125.

142. Soliman M, Daruge P, Dertkigil SSJ, et al. Imaging of haemophilic arthropathy in growing joints: Pitfalls in ultrasound and MRI. *Haemophilia*. 2017;1–13.
143. Aledort LM, Dimichele DM. Inhibitors occur more frequently in African-American and Latino haemophiliacs. *Haemophilia*. 1998;4(1):68.
144. van Dijk K, Fischer K, van der Bom JG, Grobbee DE, van den Berg HM. Variability in clinical phenotype of severe haemophilia: The role of the first joint bleed. *Haemophilia*. 2005;11(5):438–443.
145. Oldenburg J. Optimal treatment strategies for hemophilia: Achievements and limitations of current prophylactic regimens. *Blood*. 2015;125(13):2038–2044.
146. Bérubé S, Cloutier-Bergeron A, Amesse C, Sultan S. Understanding adherence to treatment and physical activity in children with hemophilia: The role of psychosocial factors. *Pediatr. Hematol. Oncol.* 2017;34(1):1–9.
147. Valentino LA. Considerations in individualizing prophylaxis in patients with haemophilia A. *Haemophilia*. 2014;20(5):607–615.
148. Ceponis A, Wong-Sefidan I, Glass CS, von Drygalski A. Rapid musculoskeletal ultrasound for painful episodes in adult haemophilia patients. *Haemophilia*. 2013;19(5):790–798.
149. Fischer K, van Hout BA, van der Bom JG, Grobbee DE, van den Berg HM. Association between joint bleeds and Pettersson scores in severe haemophilia. *Acta radiol.* 2002;43(5):528–532.
150. Chai-Adisaksopha C, Hillis C, Thabane L, Iorio A. A systematic review of definitions and reporting of bleeding outcome measures in haemophilia. *Haemophilia*. 2015;21(6):731–735.
151. Ljung R, Fischer K, Carcao M, et al. Practical considerations in choosing a factor VIII prophylaxis regimen: Role of clinical phenotype and trough levels. *Thromb. Haemost.* 2016;115(5):913–920.

152. Nilsson IM, Berntorp E, Löfqvist T, Pettersson H. Twenty-five years' experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B. *J. Intern. Med.* 1992;232(1):25–32.
153. Löfqvist T, Nilsson IM, Berntorp E, Pettersson H. Haemophilia prophylaxis in young patients--a long-term follow-up. *J. Intern. Med.* 1997;241(5):395–400.
154. Ahnstrom J, Berntorp E, Lindvall K, Bjorkman S. A 6-year follow-up of dosing, coagulation factor levels and bleedings in relation to joint status in the prophylactic treatment of haemophilia. *Haemophilia.* 2004;10(6):689–697.
155. Ljung R. Aspects of prophylactic treatment of hemophilia. *Thromb. J.* 2016;14(Suppl 1):30.
156. Mondorf W, Siegmund B, Mahnel R, et al. Haemoassist??? - A hand-held electronic patient diary for haemophilia home care. *Haemophilia.* 2009;15(2):464–472.
157. Banchev A, Goldmann G, Marquardt N, et al. Impact of Telemedicine Tools on Record Keeping and Compliance in Haemophilia Care. *Hamostaseologie.* (EFirst)
158. Cohen BH. Explaining psychological statistics.
159. Darby SC, Kan SW, Spooner RJ, et al. Mortality rates, life expectancy, and causes of death in people with hemophilia A or B in the United Kingdom who were not infected with HIV. *Blood.* 2007;110(3):815–825.
160. Jones PK, Ratnoff OD. The Changing Prognosis of Classic Hemophilia (Factor VIII Deficiency). *Ann. Intern. Med.* 1991;114(8):641.
161. Chen S-L. Economic Costs of Hemophilia and the Impact of Prophylactic Treatment on Patient Management. *Imaging Updat.* 2016;27:S126–S133.
162. Gringeri A, Mantovani LG, Scalone L, Mannucci PM, COCIS Study Group. Cost of care and quality of life for patients with hemophilia complicated by inhibitors: the

- COCIS Study Group. *Blood*. 2003;102(7):2358–63.
163. Escobar MA. Health economics in haemophilia: a review from the clinician's perspective. *Haemophilia*. 2010;16 Suppl 3:29–34.
164. Carneiro JDA, Blanchette V, Ozelo MC, et al. Comparing the burden of illness of haemophilia between resource-constrained and unconstrained countries: The São Paulo-Toronto Hemophilia Study. *Haemophilia*. 2017;1–7.
165. Astermark J, Petrini P, Tengborn L, et al. Primary prophylaxis in severe haemophilia should be started at an early age but can be individualized. *Br. J. Haematol*. 1999;105(4):1109–13.
166. Van den Berg HM, Dunn A, Fischer K, Blanchette VS. Prevention and treatment of musculoskeletal disease in the haemophilia population: role of prophylaxis and synovectomy. *Haemophilia*. 2006;12 Suppl 3(s3):159–68.
167. Nemes L, Blatny J, Klukowska A, et al. Haemophilia care in Central and Eastern Europe: challenges and ways forward from clinicians' perspective. *Haemophilia*. 2015;21(5):e419-21.
168. Fischer K, Steen Carlsson K, Petrini P, et al. Intermediate-dose versus high-dose prophylaxis for severe hemophilia: comparing outcome and costs since the 1970s. *Blood*. 2013;122(7):1129–36.
169. Altisent C, Martorell M, Crespo A, et al. Early prophylaxis in children with severe haemophilia A: clinical and ultrasound imaging outcomes. *Haemophilia*. 2016;22(2):218–224.
170. Collins PW. Personalized prophylaxis. *Haemophilia*. 2012;18 Suppl 4:131–5.
171. Reiningger AJ, Chehadeh HE. The principles of PK-tailored prophylaxis. *Hamostaseologie*. 2013;33 Suppl 1:S32-5.
172. Kuijlaars IAR, Timmer MA, de Kleijn P, Pisters MF, Fischer K. Monitoring joint

- health in haemophilia: Factors associated with deterioration. *Haemophilia*. 2017;23(6):934–940.
173. Fischer K. Prophylaxis for adults with haemophilia: one size does not fit all. *Blood Transfus.* 2012;10(2):169–73.
174. Jansen NWD, Roosendaal G, Wenting MJG, et al. Very rapid clearance after a joint bleed in the canine knee cannot prevent adverse effects on cartilage and synovial tissue. *Osteoarthr. Cartil.* 2009;17(4):433–440.
175. Pettersson H, Gilbert MS. Diagnostic Imaging in Hemophilia. New York: Springer London; 1985.
176. Fischer K, Van Der Bom JG, Prejs R, et al. Discontinuation of prophylactic therapy in severe haemophilia: incidence and effects on outcome. *Haemophilia*. 2001;7(6):544–50.
177. Dijk K, Fischer K, Bom JG, et al. Can long-term prophylaxis for severe haemophilia be stopped in adulthood? Results from Denmark and the Netherlands. *Br. J. Haematol.* 2005;130(1):107–112.
178. Noone D, O'Mahony B, Prihodova L. A survey of the outcome of prophylaxis, on-demand or combined treatment in 20-35 year old men with severe haemophilia in four European countries. *Haemophilia*. 2011;17(5):no-no.
179. Oldenburg J, Zimmermann R, Katsarou O, et al. Controlled, cross-sectional MRI evaluation of joint status in severe haemophilia A patients treated with prophylaxis vs. on demand. *Haemophilia*. 2015;21(2):171–179.
180. Poonnoose PM, Van Der Net J. Musculoskeletal Outcome in Hemophilia: Bleeds, Joint Structure and Function, Activity, and Health-Related Fitness. *Semin. Thromb. Hemost.* 2015;41(8):872–879.
181. E. Krämer. Retrospektive Studie zu den Auswirkungen der Langzeitprophylaxe mit Faktor VIII-Konzentrat bei Patienten mit schwerer Hämophilie A auf den

- Gelenkstatus von Kniegelenk, oberen Sprunggelenk und Ellenbogengelenk. Bonn: 2013.
182. Brackmann HH, Eickhoff HJ, Oldenburg J, Hammerstein U. Long-term therapy and on-demand treatment of children and adolescents with severe haemophilia A: 12 years of experience. *Haemostasis*. 1992;22(5):251–8.
183. Di Minno MND, Ambrosino P, Quintavalle G, et al. Assessment of Hemophilic Arthropathy by Ultrasound: Where Do We Stand? *Semin. Thromb. Hemost.* 2016;42(5):541–549.
184. De la Corte-Rodriguez H, Rodriguez-Merchan EC, Alvarez-Roman MT, et al. The value of HEAD-US system in detecting subclinical abnormalities in joints of patients with hemophilia. *Expert Rev. Hematol.* 2018;11(3):253–261.
185. Puetz J. Nano-evidence for joint microbleeds in hemophilia patients. *J. Thromb. Haemost.* 2018;16(10):1914–1917.
186. Kraft J, Blanchette V, Babyn P, et al. Magnetic resonance imaging and joint outcomes in boys with severe hemophilia A treated with tailored primary prophylaxis in Canada. *J. Thromb. Haemost.* 2012;10(12):2494–2502.
187. Gill TK, Shanahan EM, Allison D, Alcorn D, Hill CL. Prevalence of abnormalities on shoulder MRI in symptomatic and asymptomatic older adults. *Int. J. Rheum. Dis.* 2014;17(8):863–71.
188. Beattie KA, Boulos P, Pui M, et al. Abnormalities identified in the knees of asymptomatic volunteers using peripheral magnetic resonance imaging. *Osteoarthr. Cartil.* 2005;13(3):181–186.
189. Stewart S, Dalbeth N, Vandal AC, et al. Ultrasound Features of the First Metatarsophalangeal Joint in Gout and Asymptomatic Hyperuricemia: Comparison With Normouricemic Individuals. *Arthritis Care Res. (Hoboken)*. 2017;69(6):875–883.

190. Register B, Pennock AT, Ho CP, et al. Prevalence of abnormal hip findings in asymptomatic participants: a prospective, blinded study. *Am. J. Sports Med.* 2012;40(12):2720–4.
191. Brinjikji W, Luetmer PH, Comstock B, et al. Systematic literature review of imaging features of spinal degeneration in asymptomatic populations. *AJNR. Am. J. Neuroradiol.* 2015;36(4):811–6.
192. Aspdahl M, Viljakainen H, Petrini P, Ranta S. Comparison of joint status in children with haemophilia A using ultrasound and physical examination. *Eur. J. Physiother.* 2018;9169:1–6.
193. Groen W, van der Net J, Bos K, et al. Joint health and functional ability in children with haemophilia who receive intensive replacement therapy. *Haemophilia.* 2011;17(5):no-no.
194. Su Y, Wong W-Y, Lail A, et al. Long-term major joint outcomes in young adults with haemophilia: interim data from the HGDS. *Haemophilia.* 2007;13(4):387–390.
195. Klukowska A, Czyrny Z, Laguna P, et al. Correlation between clinical, radiological and ultrasonographical image of knee joints in children with haemophilia. *Haemophilia.* 2001;7(3):286–92.

БЛАГОДАРНОСТИ

Към научните ми ръководители за това, че повярваха в мен и:

Проф. Добрин Константинов отвори пред мен вратата на студентската ми мечта „Детска онкохематология“ в практичен и научен план.

Доц. Анна Павлова позволи да се докосна до наука, такава, каквато четем в световните журнали, превърна се в мой ценен приятел и критик.

Към Д-р Денка Стоянова, която застана себеотрицателно зад мен със съвети и подкрепа.

Към Николай Матеев и Цеца Ангелова за партньорството и осигурената стипендия в реализацията на научния труд.

Към Проф. Йоханес Олденбург и сътрудниците му – Д-р Наташа Маркварт, Д-р Силвия Хорнеф, Д-р Клаудия Клайн, Д-р Георг Голдман за това, че ме приеха в екипа си за половин година така, както никой друг колектив не ме е приемал, оказвайки ми пълна подкрепа.

Към Доц. Валерия Калева, Д-р Елина Петева, Д-р Светла Костова и Д-р Даниела Пенкова за това, че заедно доказахме, че в България можем да работим в името на обща кауза.

Към Антония Динева, Д-р Симеон Йорданов, Д-р Катерина Габерова за това, че бяха до мен в трудната борба със статистиката.

Към семейството ми за това, че са винаги там!

