

**Școala doctorală în domeniul Științe medicale**

Cu titlu de manuscris

*C.Z.U: 616.72-002.77-053.7:575.174.015.3(043.2)*

**IACOMI Vladimir**

**IMPACTUL FARMACOGENOMIC AL POLIMORFISMULUI  
GENEI METILENTETRAHIDROFOLAT REDUCTAZEI ÎN  
ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ**

**322.01 – PEDIATRIE ȘI NEONATOLOGIE**


**Teză de doctor în științe medicale**

**Chișinău, 2024**

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

**Conducător**


Revenco Ninel,  
Dr. hab. șt. med., profesor universitar



---

**Membrii comisiei de îndrumare:**

Groppa Liliana,  
Dr. hab. șt. med., profesor universitar



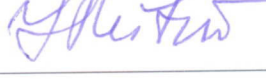
---

Adauji Stela,  
Dr. șt. farm., conferențiar universitar



---

Mihu Ion,  
Dr. hab. șt. med., profesor universitar




---

Susținerea va avea loc la 27 noiembrie 2024, în incinta USMF „Nicolae Testemițanu”, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, biroul 205, în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat, aprobată prin decizia Consiliului Științific al Consorțiului din 26.06.2024 (*proces verbal nr. 38*).

**Componenta Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:**

**Președinte:**

Mazur-Nicorici Lucia,  
Dr. hab. șt. med., profesor universitar



---

**Membrii:**

Revenco Ninel,  
Dr. hab. șt. med., profesor universitar



---

Adauji Stela,  
Dr. șt. farm., conferențiar universitar



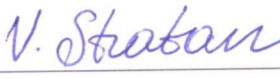
---

Mătrăgună Nelea,  
Dr. hab. șt. med., conferențiar universitar



---

Stratan Valentina,  
Dr. șt. biol., conferențiar cercetător



---

**Autor:**

Iacomî Vladimir



---

## CUPRINS

CUPRINS .....	3
LISTA ABREVIERILOR.....	5
LISTA FIGURILOR.....	7
LISTA TABELELOR .....	9
INTRODUCERE .....	10
<b>1. VIZIUNI CONTEMPORANE DESPRE SUSCEPTIBILITATEA GENETICĂ ȘI INTOLERANȚA MEDICAMENTOASĂ ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ.....</b>	<b>19</b>
1.1. Spectrul polimorfismului genei <i>MTHFR</i> în populație.....	19
1.2. Evaluarea genetică cu scop de diagnostic timpuriu al intoleranței la <i>metotrexat</i> .....	22
1.3. Indicii de activitate clinică în AJI.....	25
1.4. Scorul de intoleranță la <i>metotrexat</i> în AJI .....	26
1.5. Instrumente de evaluare a toxicității hepatice la administrarea de <i>metotrexat</i> .....	29
1.6. Instrumente de apreciere a cardiotoxicității la administrarea de <i>metotrexat</i> .....	33
1.7. Conceptul de medicină personalizată în AJI.....	35
<b>2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE .....</b>	<b>39</b>
2.1. Caracteristica generală a studiului: mărimea eșantionului, selecția loturilor și de control, designul studiului .....	39
2.2. Metodologia aplicată în decursul cercetării .....	43
<b>3. ASOCIEREA POLIMORFISMELOR GENEI <i>MTHFR</i> CU ASPECTELE CLINICE ȘI PARACLINICE A ARTRITEI JUVENILE IDIOPATICE ÎN FUNCȚIE DE UTILIZARE A <i>METOTREXATULUI</i> .....</b>	<b>53</b>
3.1. Descrierea probanzilor din lotul de cazuri și lotul de control.....	53
3.2. Analiza prezenței variantelor polimorfe în gena <i>MTHFR</i> la copiii cu artrită juvenilă idiopatică .....	61
3.3. Evaluarea clinică (JADAS-71; indicelui ACR pedi 30; DAS28 și chestionarului MISS (Methotrexate Intolerance Severity Score). Corelarea eficacității clinice și paraclinice în funcție de varianta polimorfă a genei <i>MTHFR</i> la copiii cu AJI.....	64

3.4. Evaluarea toxicității hepatice a MTX la pacienții cu AJI în funcție de variantele polimorfe în gena <i>MTHFR</i> .....	71
3.5. Evaluarea funcțională a toxicității cardiace a MTX la pacienții cu AJI în funcție de variantele polimorfe în gena <i>MTHFR</i> .....	76
3.6. Algoritmii pentru genotipare a <i>MTHFR</i> în AJI .....	80
4. DISCUȚII ASUPRA IMPORTANȚEI TESTĂRII GENEI <i>MTHFR</i> PÂNĂ LA INIȚIEREA TRATAMENTULUI CU <i>METOTREXAT</i> ÎN AJI.....	82
CONCLUZII GENERALE.....	88
RECOMANDĂRI PRACTICE .....	89
BIBLIOGRAFIE .....	90
ANEXE .....	105
CV-UL AUTORULUI.....	137

## LISTA ABREVIERILOR

<b>5-metil-THF</b>	– 5-metil-Tetrahidrofolat
<b>AASLD</b>	– American Association for the Study of Liver Diseases
<b>ABCC2</b>	– ATP binding cassette subfamily C member 2
<b>ACR</b>	– American College of Rheumatology
<b>ADN</b>	– acid dezoxiribonucleic
<b>AdoHcy</b>	– S-Adenosyl-L-homocysteine
<b>AINS</b>	– antiinflamatoare nesteroidiene
<b>AJI</b>	– artrita juvenilă idiopatică
<b>ALP</b>	– fosfataza alcalină
<b>ALT</b>	– Alaninaminotransferaza
<b>APRI</b>	– AST to platelet-ratio index
<b>AR</b>	– artrită reumatoidă
<b>AST</b>	– Aspartataminotransferaza
<b>CARRA</b>	– Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance
<b>CDAI</b>	– Clinical Disease Activity Index
<b>CDC</b>	– Center for Disease Control
<b>CDH5</b>	– cadherine-5
<b>CDS</b>	– Chronic Disease Score
<b>DAS28</b>	– Disease Activity Score 28
<b>DMARD</b>	– medicamente antireumatice modificatoare ale bolii
<b>ECG</b>	– electrocardiograma
<b>ELF</b>	– Enhanced Liver Fibrosis
<b>ESC</b>	– European Society of Cardiology
<b>ESPGHAN</b>	– European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition
<b>EULAR</b>	– The European Alliance of Associations for Rheumatology
<b>FABP</b>	– fatty acid – binding protein
<b>FAD</b>	– Flavin adenin dinucleotid
<b>FE VS</b>	– fracția de ejecție a ventriculului stâng
<b>FR</b>	– factor reumatoid
<b>GST</b>	– glutation S-transferaza
<b>GWAS</b>	– Genome Wide Association Study
<b>HLA</b>	– human leucocyte antigen
<b>ICBDMS</b>	– International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring Systems
<b>ILAR</b>	– Liga Internațională de Asociații în Reumatologie

<b>JADAS-71</b>	– Juvenile Arthritis Disease Activity Score 71
<b>MISS</b>	– Methotrexate Intolerance Severity Score
<b>MRP 8/14</b>	– myeloid-related protein 8/14
<b>MTHFR</b>	– metilentetrahidrofolat reductaza
<b>MTRR</b>	– 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase
<b>MTX</b>	– <i>metotrexat</i>
<b>OPN</b>	– osteopontina serică
<b>PDB</b>	– protein data bank
<b>PSAP</b>	– presiunea sistolică în artera pulmonară
<b>RFC1</b>	– replication factor C subunit 1
<b>RM</b>	– Republica Moldova
<b>RUCAM</b>	– Roussel Uclaf Causality Assessment Method
<b>SDH</b>	– sorbitol dehidrogenaza
<b>SNP</b>	– single nucleotide polymorphism
<b>VSH</b>	– viteza de sedimentare a hematiilor

## LISTA FIGURILOR

Figura 1. Prevalența genotipului TT homozigot (două alele 677C>T) în rândul nou-născuților după zona geografică și origine etnică, ICBDMs 2003 [51].....	19
Figura 2. Genotipuri <i>MTHFR</i> C677T (Center for Disease Control) [35].....	21
Figura 3. Reprezentarea schematică și structurală a <i>MTHFR</i> uman [53].....	23
Figura 4. Incidența cumulativă a fibrozei hepatice la pacienții cu psoriazis cărora li se administrează terapie combinată cu <i>metotrexat</i> și acitretină comparativ cu cei cărora li se administrează monoterapie cu <i>metotrexat</i> [94] .....	32
Figura 5. Graficul rețelei proteice bazate pe studii genetice care indică țintele de protecție în cardiotoxicitatea indusă de chimioterapie [113] .....	36
Figura 6. Clustere propuse de clasificare a artritei bazate pe studiile genetice [115] .....	36
Figura 7. Designul studiului .....	42
Figura 8. Repartizarea pacienților pe loturi (%).....	53
Figura 9. Repartizarea pacienților pe subploturi (%) .....	53
Figura 10. Repartizarea subiecților din ambele loturi conform sexului (%).....	54
Figura 11. Repartizarea pacienților conform vârstei (luni) .....	54
Figura 12. Repartizarea pacienților după forma clinică a AJI (%).....	55
Figura 13. Repartizarea pacienților conform duratei de administrare a MTX (luni) .....	56
Figura 14. Distribuția valorilor centilice de masă corporală la pacienții ambelor loturi (%) .....	56
Figura 15. Distribuția valorilor centilice de talie la pacienții ambelor loturi (%).....	57
Figura 16. Distribuția afecțiunilor comorbide în dependență de sexul pacienților (%) .....	58
Figura 17. Distribuția numărului de articulații dureroase la pacienții lotului de studiu și de control .....	59
Figura 18. Distribuția nivelului global al bolii apreciate de pacienții lotului de studiu .....	59
Figura 19. Distribuția valorilor VSH la pacienții ambelor loturi (mm/h) .....	60
Figura 20. Distribuția valorilor fibrinogenului seric la pacienții ambelor loturi (g/l).....	61
Figura 21. Repartizarea pacienților conform variantelor polimorfe determinate în lotul de studiu (%) .....	62

Figura 22. Repartizarea pacienților conform variantelor polimorfe determinate în lotul de control (%) .....	62
Figura 23. Repartizarea pacienților conform variantelor polimorfe în subloturi (%) .....	63
Figura 24 Distribuția scorului JADAS-71 pe loturi.....	65
Figura 25. Distribuția scorului JADAS-71 în subloturi.....	65
Figura 26. Curba ROC de evaluare diagnostică a JADAS-71 .....	66
Figura 27. Distribuția răspunsului terapeutic conform ACR Pedi 30 pe loturi (%) .....	67
Figura 28. Repartizarea gradului activității bolii pe loturi (%) .....	67
Figura 29. Distribuția scorului DAS28 pe loturi .....	68
Figura 30. Curba ROC de evaluare diagnostică a DAS28 .....	69
Figura 31. Distribuția scorului MISS pe loturi .....	70
Figura 32. Distribuția scorului DAS28 în subloturi .....	71
Figura 33. Repartizarea după sexe a pacienților în funcție de ALT (%).....	72
Figura 34. Diagrama radar a Scorului de Severitate a Intoleranței la <i>Metotrexat</i> (MISS) și componentele aferente. ....	74
Figura 35. Distribuția dimensiunilor lobului drept hepatic pe loturi (a); Distribuția dimensiunilor lobului stâng hepatic pe loturi (b).....	75
Figura 36. Repartizarea pacienților conform valorilor PSAP (mmHg).....	79
Figura 37. Algoritmul de diagnostic al ineficienței tratamentului cu MTX .....	80
Figura 38. Algoritmul de diagnostic al toxicității tratamentului cu MTX.....	81



## LISTA TABELELOR

Tabelul 1. Distribuția genotipurilor <i>MTHFR</i> , așteptările Hardy-Weinberg și valoarea p.....	20
Tabelul 2. Comparația între genotipurile normale versus patologice în cele două loturi pentru polimorfismul <i>MTHFR</i> .....	64
Tabelul 3. Scorul JADAS-71 la pacienții incluși în studiu în funcție de lot (puncte) .....	64
Tabelul 4. Tabelul de contingență pentru JADAS-71 .....	66
Tabelul 5. Scorul DAS28 la pacienții incluși în studiu în funcție de lot (puncte).....	67
Tabelul 6. Tabelul de contingență pentru DAS28.....	68
Tabelul 7. Scorul MISS la pacienții incluși în studiu în funcție de lot (puncte).....	69
Tabelul 8. Asocierea dintre scorurile de apreciere a activității bolii și polimorfismul genetic .....	70
Tabelul 9. Markerii hepatici tradiționali apreciați în lotul de studiu .....	72
Tabelul 10. Markerii hepatici tradiționali apreciați în lotul de control.....	72
Tabelul 11. Importanța simptomelor scorului MISS pentru loturile de studiu .....	74
Tabelul 12. Mediana elasticității hepatice la pacienții incluși în studiu (kPa) .....	76
Tabelul 13. Mediana elasticității hepatice la pacienții incluși în studiu în dependență de tratamentul administrat (kPa) .....	76
Tabelul 14. Indicii ecocardiografici apreciați în lotul de studiu .....	77
Tabelul 15. Indicii ecocardiografici apreciați în lotul de control.....	78
Tabelul 16. Indicii ecocardiografici ai funcției sistolice a VS importanți pentru loturile de studiu .....	78
Tabelul 17. Indicii ecocardiografici ai funcției diastolice a VS importanți pentru loturile de studiu .....	79

## INTRODUCERE

### **Actualitatea și importanța problemei abordate**

Liga Internațională a Asociațiilor pentru Reumatologie/International League of Associations for Rheumatology (ILAR) definește artrita juvenilă idiopatică (AJI) ca un grup heterogen de boli, caracterizate prin artrită de origine necunoscută, cu debut până la vârsta de 16 ani [1–6].

În prezent, AJI este cea mai frecventă boală reumatică raportată la copiii din lumea occidentală. Incidența și prevalența variază între 1,6 și 23 de cazuri noi la 100 000 de copii și de la 3,8 până la 400 de cazuri la 100 000 de copii, în funcție de zonele geografice [5,7,8]. Frecvențele diferitelor subtipuri reprezintă 50% - 60% pentru oligoartrită, 11% - 28% pentru poliartrita factor reumatoid (FR) negativă, 2% - 7% pentru poliartrita FR pozitivă, 10% - 20% pentru artrita sistemică, 2% - 15% pentru artrita psoriazică, 1% - 7% pentru artrita asociată cu entezită [7,8].

Copiii cu artrită juvenilă idiopatică urmează tratament și sunt monitorizați pe întreg parcursul vieții [9]. Această maladie cronică are geneză neclară și, în pofida noilor descoperiri în patogeneza bolii, evoluția sa rămâne a fi imprevizibilă. În ultimul deceniu, au fost cercetate mai multe verigi moleculare și genetice, care pot pune fundamentele unui model de predicție a succesului terapeutic și remisiunii de durată a maladiei [1,2].

Schimbările la nivelul sistemului osteoarticular și imun, în condițiile de activitate înaltă a bolii, cauzează apariția sechelelor și dezabilității copilului în procesul său de creștere [10]. AJI, cu debut la orice vârstă și de orice tip, produce consecințe asupra statutului fizic și psihoemoțional atât al copilului, cât și al familiei. Totodată, în funcție de gradul de dezabilitate confirmat, tratamentul maladiei implică costuri adiționale pentru îngrijiri și integrare socială [3].

În Republica Moldova (RM), Programul Național pe Boli Rare, în care este inclusă și artrita juvenilă idiopatică, este adoptat prin Hotărârea Guvernului nr. 387/2023 și prevede angajamentul Guvernului pentru anii 2024–2028 de îmbunătățire a calității vieții și gradului de autonomie a persoanelor afectate de boli rare din RM prin acces echitabil la diagnostic precoce, tratamente de calitate și servicii de reabilitare [11]. Necesitatea includerii patologiei reumatice în grupul bolilor rare este indispensabilă pentru orientarea eficientă a resurselor necesare pentru ameliorarea calității vieții copiilor afectați de această maladie, în situația în care se atestă o creștere a incidenței maladiei [8]. În acest context, este creat Registrul Național al pacienților cu toate formele de artrită juvenilă idiopatică, ceea ce permite generarea datelor necesare pentru luarea deciziilor informate.

Atenția acordată la nivel național, dar și global, confirmă că AJI este o problemă medicală și socială importantă. Astfel, devine evidentă necesitatea de consolidare a eforturilor în domeniul terapeutic în AJI, de implementare de algoritmi de tratament individualizat, pentru a reduce procesul morbid asupra populației tinere, cu efect de durată asupra întregii societăți.

## Descrierea situației și identificarea problemelor în domeniul de cercetare

Actualmente, există mai mulți agenți farmacologici, care contribuie la stoparea progresiei maladiei și induc remisiunea la pacienții cu AJI. Noile terapii sunt parte a conceptului „Treat-to-Target”, care constă în inhibiția căilor citokinice importante, responsabile pentru patofiziologia formelor de AJI [12–14]. Aceste mecanisme sporesc succesul recuperării leziunilor musculoscheletale, dar și psihologice și de integrare socială a pacienților cu AJI.

La debutul și pe parcursul fazei acute a artritei juvenile idiopatică, funcțiile locomotorii și psiho-somatice asociate sunt compromise. Odată cu inițierea tratamentului de fond etapizat, aceste funcții se recuperează parțial, după care pacienții cu dificultate acceptă administrarea continuă a acestor preparate. Ca urmare, pacienții revin la unitatea de reumatologie pentru a asocia sau escalada tratamentul spre treapta următoare, în timp, calitatea vieții se reduce, unii copii rămân invalidizați și necesită îngrijire și atenție zilnică. Treapta terapeutică consecutivă reprezintă în sine introducerea medicației antiinflamatoare steroidiene, care poartă și ea un caracter dual, pe de o parte ameliorează manifestările sistemice, iar pe de altă parte induce reacțiile secundare pe termen lung [15]. Recuperarea funcției musculoscheletale depinde de gradul de activitate a bolii, de forma maladiei și de complianța terapeutică a pacientului.

Tratamentul în AJI poate fi considerat drept un proces complex, din perspectiva intervenției medicale, fiziokinetice, psihologice, sociale și educaționale, de aceea este necesar să fie personalizate, pentru a obține remisiunea bolii.

Managementul artritei juvenile idiopatică în faza acută a bolii este decisivă pentru a stopa progresarea inflamației. Determinarea criteriilor de începere și monitorizare a unui tratament de fond este relevantă pentru planificarea și motivarea complianței pacientului și a familiei.

În prezent, au fost obținute progrese semnificative în ce privește identificarea mecanismelor, care au impact asupra demarării remisiunii bolii și restabilirii funcțiilor locomotorii în AJI. Este vorba de căile biomoleculare și susceptibilitatea genetică, care sunt factorii țintă implicați în faza acută a maladiei.

Termenul de „susceptibilitate genetică” se referă la modificările structurale în cadrul genomului, ce au avut loc *in-vivo* de-a lungul timpului formării copilului ca răspuns la factorii interni și externi. Susceptibilitatea presupune că structura anumitei gene influențează funcția proteinei, pe care aceasta o codifică și exprimă fenotipic caracterul pozitiv sau negativ asupra unei stări sau acțiuni. Pentru AJI, această susceptibilitate favorizează capacitatea de a modela o selectare individuală a medicației pentru a urma conceptul „Treat-to-Target” [16]. Variațiile genetice ar favoriza explicarea unor fenomene de intoleranță în recuperarea pacienților cu AJI. În prezent, variantele polimorfe ale genelor ce codifică proteinele implicate în lanțurile metabolice pot fi considerate potențiali markeri de prognostic al non-responderilor la terapia fond în AJI [16].

O gamă largă de gene sunt responsabile de răspunsul la terapia cu glucocorticosteroizi, *metotrexat* și cea biologică. Astfel, metilentetrahidrofolat reductaza (*MTHFR*), fiind parte componentă în ciclul metabolic al folaților, este implicată în modularea răspunsului la terapia inițială de fond cu *metotrexat* [17–19].

*MTHFR* este bine cunoscută ca gena trombofiliei, fiind implicată în producerea unor rezultate nefavorabile ale sarcinii [20–22], în riscul cardiovascular cercetat preponderent la adulți [23,24], și, nu în ultimul rând, în patologia neuropsihiatrică [25]. Mai mult, există dovezi limitate precum ca *MTHFR* este un factor de risc matern pentru anomaliile cromozomiale la făt [26]. *MTHFR* nu este afectată în mod direct de către MTX, dar prezintă următoarea verigă de disfuncție a ciclului folaților, după legarea MTX de dihidrofolat reductază. Într-adevăr, variantele polimorfe la nivelul genei acestei enzime sporesc riscul de abolire a sintezei proteice și cresc nivelul seric de homocisteină [27].

Nivelul plasmatic de homocisteină este determinat de echilibrul dintre reacțiile care produc acest compus și cele care îl elimină. Majoritatea studiilor, efectuate pentru a examina reglarea nivelurilor de homocisteină, au subliniat factorii care îndepărtează această moleculă. Remetilarea homocisteinei, dependentă de folați, are loc în întregul corp, dar cel mai important în ficat. Knockout-ul murin al *MTHFR*, care produce 5-metil-THF necesar remetilării homocisteinei, are ca rezultat homocisteinemia/-uria (creșterea patologică a homocisteinei în sânge și urină), cu moarte postnatală precoce și defecte în dezvoltarea creierului [28]. Hiperhomocisteinemia este, de asemenea, un factor de risc pentru boli vasculare, boli neurodegenerative și alte afecțiuni clinice. Suplimentele cu vitamina B sunt eficiente în scăderea concentrației de homocisteină din sânge, dar există incertitudine dacă astfel de suplimente reduc riscul de boli vasculare, declin cognitiv legat de vârstă sau boala Alzheimer [29].

Variantele polimorfe ale genei *MTHFR* reprezintă SNP-uri, care ar putea influența capacitatea celulară de stocare și metabolizare a unor medicamente și, prin urmare, rezultatul tratamentului [17,30,31].

Varianta rs1801133 a genei *MTHFR* a fost raportată ca variantă comună de termoinstabilitate enzimatică, care sporește riscul de toxicitate la *metotrexat* cu peste 30%. Asocierea variantei rs1801131 a aceleiași gene, face ca toxicitatea să sporească cu peste 60% la pacienții cu AJI [27,32,33]. Aceste polimorfisme sunt prezente destul de eterogen printre populația diferitor state și continente, cu o rată de homozigotitate după alela patologică la peste 20% din populația mexicană [34,35].

În Republica Moldova, *MTHFR* reprezintă una din genele a cărei variante alelice sunt studiate în cadrul maladiilor, cum ar fi distrofia musculară Duchenne și pierderile de sarcină [36].

Anterior, evaluarea reducerii activității bolii era efectuată doar în rezultatul examenului clinic. Însă, pe parcursul introducerii tratamentelor inovatoare, au fost elaborate și validate teste, care pot furniza informații specifice despre pacienții cu AJI. Un exemplu ar fi măsurarea scorului de activitate a bolii în baza aprecierii numărului de articulații dolore și tumefiate, aprecierii bolii după scara vizuală analogă a durerii de către pacient și includerea unui parametru de laborator, care să estimeze gradul de inflamație sistemică, acesta reprezentând viteza de sedimentare a hematiilor și/sau proteina C reactivă [37].

Elaborarea recentă a unor noi scoruri, cu explorarea neinvazivă, caracteristică artritei juvenile idiopatice, prezintă similitudini de apreciere cantitativă a articulațiilor activ implicate la copiii bolnavi, dar și permite medicului să se expună prin evaluarea globală a bolii prin apreciere vizuală analogă [38,39]. O altă metodă de apreciere a rezultatului terapeutic, elaborată de către Colegiul American de Reumatologie, include studierea ameliorării a 6 parametri funcționali și de laborator. La moment, aceasta este considerată cea mai obiectivă pentru trialurile clinice [39–41].

Tratamentul de fond cu MTX în AJI poate eșua din cauza apariției efectelor secundare toxice, exprimate atât clinic, cât și subclinic. A fost propus un scor cu rezultat calitativ pentru a prezice toxicitatea gastrointestinală la administrarea de MTX. Acest scor este un instrument util pentru studierea răspunsului negativ la copiii și la adulții cu artrită reumatoidă, care administrează MTX. Scorul de severitate a intoleranței la *metotrexat* indică simptomele anticipatorii, post-administrare și cele comportamentale, astfel, este, fără îndoială, una dintre cele mai accesibile tehnici neinvazive de cercetare a toxicității și complianței pacienților [42,43].

Metodele moderne, care prin modul său neinvaziv, pot aprecia gradul de afectare subclinică a organelor implicate în stocarea și metabolizarea *metotrexatului*, în special la populația pediatrică. Printre acestea se numără investigarea prin ecografie standard 2D pentru ficat și sistemul cardiovascular. Cu toate acestea, indicațiile pentru efectuarea elastografiei hepatice devin frecvente în aprecierea gradului de fibroză perivasculară, constituind un suport în depistarea unor schimbări în timp, pe substrat de normă a valorilor enzimelor citolitice [44,45]. Mecanismul de utilizare a ultrasunetului facilitează modul neinvaziv de apreciere, cu excepția senzațiilor ușoare de pulsație, care sunt emise de transductorul specific de dimensiuni dependente de vârstă. Toate asigurările tehnice și grila cu valori normale pentru populația pediatrică sunt cu mare acuratețe expuse în ghidul Federației Europene pentru Ultrasonografie în Biologie și Medicină, potrivit ultimei actualizări din anul 2017 [46]. Această tehnică a fost utilizată preponderent în cadrul evaluării pacienților cu artrită reumatoidă, aducând argumente pentru lipsa relației dintre doza cumulativă de *metotrexat* și hepatotoxicitate [47–49].

Până în prezent, faptul că pacienții cu sau fără varianta polimorfă pentru rs1801133 și rs1801131 compuse ale genei *MTHFR* ar avea un rezultat mai prost în urma administrării de MTX

rămâne o direcție științifică contradictorie [50]. Noile cercetări au demonstrat că răspunsul la tratament și toxicitatea sunt plurifactoriale și necesită validare în ansamblu sub forma unui model de predicție.

Luând în considerație cele expuse mai sus, un studiu detaliat al influenței polimorfismului genetic al *MTHFR* asupra răspunsului terapeutic și înregistrarea reacțiilor adverse a pacienților cu AJI în perioada administrării de *metotrexat*, în relație cu scorurile și indicii clinici și paraclinici de activitate a bolii, reprezintă un instrument eficient de optimizare și diminuare a reacțiilor toxice a medicației de fond.

**Scopul lucrării:** aprecierea rolului polimorfismelor genei *MTHFR* ca predictor ai eficacității și toxicității *metotrexatului* în artrită juvenilă idiopatică în vederea elaborării recomandărilor privind optimizarea tratamentului cu *metotrexat*.

#### **Obiectivele studiului:**

1. Determinarea prezenței variantelor polimorfe în gena *MTHFR* în artrită juvenilă idiopatică.
2. Evaluarea clinică a scorurilor de activitate a bolii și intoleranței la *metotrexat* în artrita juvenilă idiopatică.
3. Evaluarea toxicității hepatice a *metotrexatului* în funcție de prezența variantei polimorfe a genei *MTHFR* în artrita juvenilă idiopatică.
4. Evaluarea funcțională a toxicității cardiace a *metotrexatului* în funcție de prezența variantei polimorfe a genei *MTHFR* în artrita juvenilă idiopatică.
5. Elaborarea recomandărilor privind testarea polimorfismului genetic în AJI.

#### **Ipoteza de cercetare**

Copiii cu artrită juvenilă idiopatică, care poartă variantele polimorfe ale genei cercetate, au eficacitate terapeutică redusă și toxicitate hepatică și cardiacă sporită la administrarea de *metotrexat*.

#### **Noutatea științifică a rezultatelor cercetării:**

- a) a fost demonstrat că varianta polimorfă heterozigot compusă și homozigot pentru *MTHFR* sunt prezente la o treime din subiecții cu AJI care administrează *metotrexat*;
- b) aplicarea scorurilor clinice pentru aprecierea eficacității și toxicității *metotrexatului*, demonstrează specificitate și sensibilitate înaltă pentru testarea variantelor polimorfe a *MTHFR* în AJI;
- c) elastografia tranzitorie unidimensională a demonstrat caracterul individual de afectare hepatică în tratamentul AJI;
- d) a fost demonstrată importanța Doppler tisular în aprecierea funcției sistolice și diastolice ventriculare la pacienții cu AJI.

### **Problema științifică importantă soluționată**

A fost analizată corelarea dintre varianta polimorfă și rezultatele terapiei DMARD, care facilitează adaptarea sa la statutul genetic individual al pacienților cu AJI din RM și optimizează tratamentul de fond cu *metotrexat*.

### **Importanța teoretică a cercetării**

Studiul realizat a evaluat polimorfismele genetice ale *MTHFR* în relație cu particularitățile clinico-paraclinice ale subiecților cu AJI. Evaluarea a fost apreciată prin intermediul următoarelor instrumente: examenul clinic standard, scorul DAS28, scorul JADAS-71, indicele ACR Pedi 30, Scorul de Severitate a Intoleranței la *metotrexat*, parametrii standard ECG în 12 derivații, parametrii ecografiei standard 2D ai ficatului, parametrii FibroScan, parametrii ecografiei 2D standard + Doppler Tisular cardiace. Studiul a generat cunoștințe suplimentare privind testarea genetică cu rol în stabilirea oportunității de inițiere a MTX la subiecții cu AJI, facilitând prognozarea individualizată a probabilității de intoleranță.

### **Valoarea aplicativă a lucrării**

În baza rezultatelor obținute se va propune elaborarea recomandărilor practice, ce vor include abordarea farmacogenetică a pacientului prin determinarea statutului genetic individual anterior terapiei imunosupresorii – metodă eficientă pentru predicția eficacității tratamentului și posibilelor efecte toxice. Rezultatele cercetării vor fi implementate în calitate de suport metodologic în activitatea specialiștilor reumatologi, cardiologi, gastroenterologi și hepatologi pediatri, precum și geneticienilor și farmacologilor, ce activează în instituțiile medico-sanitare de profil pediatric, implicați în procesul de evaluare a conduitei copilului cu AJI.

**Aprobarea rezultatelor** obținute a fost efectuată în corespundere cu etapele fundamentale ale studiului. Principalele rezultate au fost prezentate, discutate și aprobate la ședințele Departamentului Pediatrie al IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și Seminarului Științific de Profil, precum și în cadrul:

- conferințelor naționale:

Conferința Națională de Pediatrie „Progrese în Tratamentul Artritei Juvenile Idiopatice” (2020, Chișinău, Moldova); Conferința Științifică Anuală a USMF „Nicolae Testemițanu” (2021, Chișinău, Moldova); a 5-a Conferință Națională cu Participare Internațională „Biennale Chișinău-Sibiu” – „Managementul Interdisciplinar al Copilului” (2022, Chișinău, Moldova); Conferința Științifică Anuală a USMF „Nicolae Testemițanu” (2022, Chișinău, Moldova); Conferința Științifică Anuală a USMF „Nicolae Testemițanu” (2023, Chișinău, Moldova);

- conferințelor științifice internaționale:

The 7th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera (2018, Chișinău, Moldova); Congresul al 25-lea al Societății Europene de Reumatologie Pediatrică

(2018, Lisabona, Portugalia; Conferința Națională de Pediatrie „Ghiduri și Protocoale în Pediatrie” (2018, București, România); a 3-a Conferință Națională cu Participare Internațională „Biennale Sibiu-Chișinău” (2019, Sibiu, România); The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera (2020, Chișinău, Moldova); Conferința Națională de Pediatrie „Ghiduri și Protocoale în Pediatrie” (2021, București, România); XXIII Конгресс Педиатров России с Международным Участием «Актуальные проблемы педиатрии» (2021, Москва, Российская Федерация; International Black Sea Coastline Countries Scientific Research Symposium – VI (2021, Giresun, Turkey); a XXXIV-a Ediție a Conferinței Naționale „Zilele Pediatriei Ieșene N.N.Trifan” cu Participare Internațională (2022, Iași, România); Congresul al 28-lea al Societății Europene de Reumatologie Pediatrică (2022, Praga, Cehia); a XXXV-a Ediție a Conferinței Naționale „Zilele Pediatriei Ieșene N.N.Trifan” cu Participare Internațională (2023, Iași, România); Ediția a 7-a a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională (2023, Iași, România); Conferința Națională de Pediatrie cu Participare Internațională (2023, Chișinău, Moldova); Young Investigators Meeting (2023, Rotterdam, Olanda); Congresul al 29-lea al Societății Europene de Reumatologie Pediatrică (2023, Rotterdam, Olanda).

**Cuvinte-cheie:** artrita juvenilă idiopatică, *MTHFR*, copii, *metotrexat*, FibroScan, toxicitate, eficacitate.

**Publicații la tema tezei:** Rezultatele științifice la tema tezei sunt expuse în 24 de publicații, dintre care 6 articole, inclusiv – 2 în reviste internaționale indexate SCOPUS; 1 – în revistă națională categoria B; 3 – în culegerile materialelor conferințelor naționale; 18 teze – la foruri naționale și internaționale, precum și 6 brevete de inovație, 1 certificat de drept de autor și 6 acte de implementare instituționale, 10 comunicări orale la conferințele științifice naționale și internaționale, 6 postere la conferințe științifice internaționale.



## VOLUMUL ȘI STRUCTURA TEZEI

### Sumarul compartimentelor tezei

Teza este scrisă în limba română cu titlu de manuscris. Este expusă pe 146 de pagini, redactate la calculator și conține: introducere, revista literaturii, materiale și metode de cercetare, rezultatele obținute, discuții, concluzii generale și recomandări practice. Bibliografia include 164 de titluri. Lucrarea este ilustrată cu 17 tabele, 38 de figuri și 22 de anexe.

**Capitolul 1 „Viziuni contemporane despre susceptibilitatea genetică pentru intoleranța medicamentoasă în artrita juvenilă idiopatică”** – conține analiza literaturii de specialitate dedicată aspectelor genetice ale artritei juvenile idiopatice, mecanismelor de reglare metabolică a ciclului foliaților, noțiunilor generale despre susceptibilitate genetică și rolul polimorfismului genei *MTHFR* în tratamentul AJI. Acest capitol prezintă realizările obținute pe parcursul ultimilor ani, problemele nesoluționate până în prezent și direcțiile de perspectivă în cercetările acestui domeniu al reumatologiei. Sunt analizați și unii indicatori epidemiologici, cum ar fi valorile incidenței și prevalenței AJI și genotipurile cercetate la nivel național și global. Sunt prezentate particularitățile ce vizează mecanismele patofiziologice de stabilire a intoleranței la *metotrexat* în AJI, sunt discutate scorurile și indicii clinici și paraclinici de apreciere a activității bolii și toxicității hepatice și cardiace și relația lor cu polimorfismul genetic cercetat. Este accentuat rolul variantelor polimorfe a genei *MTHFR* în screeningul intoleranței la MTX și semnificația teoretică și practică a testării sale timpurii. Sunt discutate și analizate metodele standard de măsurare a indicilor predictivi ai afectării organice în AJI, precum și implicarea simptomelor comportamentale în complianța la tratament.

**Capitolul 2 „Material și metode de cercetare”** – prezintă caracteristica generală a loturilor de cazuri și de control, care au inclus 68 de subiecți diagnosticați cu AJI, conform criteriilor ILAR, cu vârsta între 1 și 18 de ani. Sunt descrise criteriile de includere a subiecților în studiu și metodologia de calcul al volumului eșantionului. Este prezentat designul studiului (tip studiu clinic controlat). Capitolul oferă detalii privind metodologia aplicată în decursul studiului: metodele generale de cercetare utilizate și cele de acumulare a datelor primare. Este descrisă metodologia testării după cele 3 scoruri și 1 indice de evaluare terapeutică. De asemenea, este expusă și metodologia folosită pentru studiul genetic referitor la polimorfismele rs1801133 și rs1801131 a genei *MTHFR* cercetate, precum și Protocolul de studiu cu parametrii imagistici cercetați. Sunt descrise metodele de evaluare statistică pentru aprecierea rezultatelor studiului, care au stat la baza formulării concluziilor generale.

**Capitolul 3 „Asocierea polimorfismelor genei *MTHFR* cu aspectele clinice și paraclinice ale artritei juvenile idiopatice în timpul utilizării *metotrexatului*”** – prezintă rezultatele studiului ce țin de particularitățile clinico-epidemiologice ale artritei juvenile idiopatice. În acest capitol sunt descriși subiecții din ambele loturi de studiu în baza indicatorilor demografici și sociali. Ulterior, sunt expuse rezultatele examinărilor clinice și paraclinice, care au avut drept scop identificarea gradului activității bolii, evoluția sa, randamentul simptomelor de toxicitate gastrointestinală pentru AJI și stabilirea relației lor cu polimorfismul genei *MTHFR*. Sunt prezentate rezultatele metodelor electrofiziologice și imagistice aplicate, pentru determinarea calitativă și cantitativă a afectării organice hepatice și cardiace în urma administrării de *metotrexat*. Subcapitolul dedicat rezultatelor investigațiilor genetice asupra polimorfismelor rs1801133 și rs1801131 a genei *MTHFR* la subiecții cu artrită juvenilă idiopatică analizează comparativ loturile în baza genotipurilor depistate. Sunt expuse rezultatele și relația cercetată asupra subiecților cu AJI, conform scorurilor de evaluare aplicate. Spre finalul capitolului, au fost prezentate rezultatele cercetării relațiilor dintre parametrii clinici și cei paraclinici, inclusiv imagistici la subiecții cu AJI. Astfel, s-a obținut caracteristica screeningului potențial pentru prognozarea utilității individuale a inițierii terapiei de fond.

**Capitolul 4 „Discuțiile asupra rezultatelor cercetării”** – include discutarea tuturor rezultatelor, compararea acestora cu date similare din literatura de specialitate și sublinierea aspectelor de noutate pe plan național, dezvoltate în lucrare.

# 1. VIZIUNI CONTEMPORANE DESPRE SUSCEPTIBILITATEA GENETICĂ ȘI INTOLERANȚA MEDICAMENTOASĂ ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ

## 1.1. Spectrul polimorfismului genei *MTHFR* în populație

Structura biochimică a metilentetrahidofolat reductazei a fost descrisă pentru prima dată în anul 1991, iar topografia sa genetică pe brațul scurt al cromozomului 1 a fost determinată în anul 1995 [51]. De menționat că varianta 677C>T a genei *MTHFR* a sporit afecțiunile implicate de acest genotip, cum ar fi: malformații congenitale, complicații ale sarcinii, cancerogeneză, boli cardiovasculare la adulți și tulburări psihiatrice. Deși mai multe dintre aceste asocieri rămân neconfirmate sau controversate, scopul cercetărilor rămâne de a examina distribuția geografică și etnică a genotipurilor asociate. Informațiile exacte despre o astfel de distribuție pot contribui la studierea asocierilor dintre deficitul genetic individual și bolile care pot rezulta (prin furnizarea de date de referință în populație) și genetica populației (prin evidențierea variațiilor geografice și etnice evolutive), precum și la evaluarea impactului acestor asociații [51,52].

Wilcken et al. publică rezultatele prevalenței alelei T printre populația multor țări pe un eșantion de 7130 de noi-născuți (figura 1) [51]. Datele arată o distribuție crescută pentru homozigoți în regiunea Americii Centrale, zonei Mediteraniene și Asiei de Est.

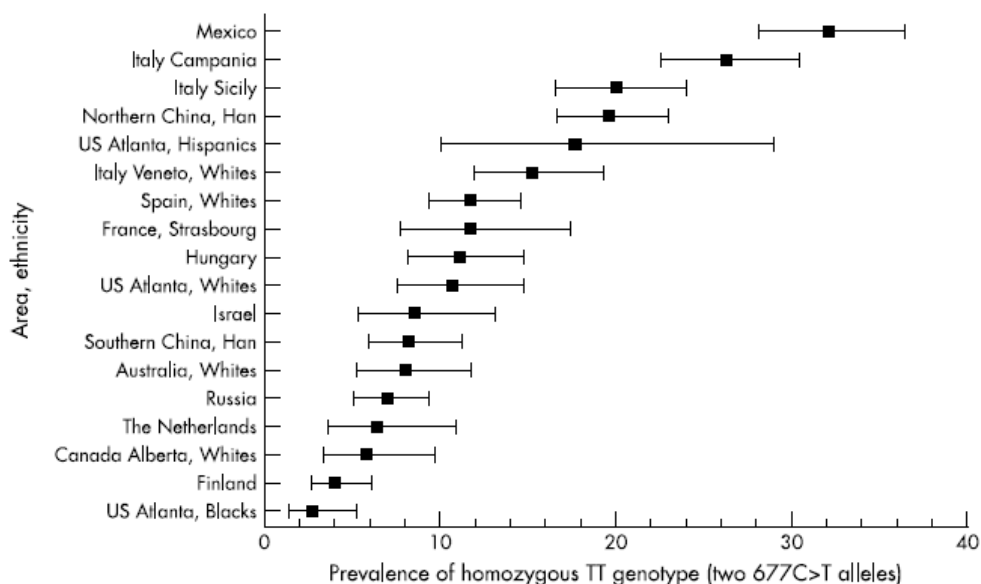


Figura 1. Prevalența genotipului TT homozigot (două alele 677C>T) în rândul nou-născuților după zona geografică și origine etnică, ICBDMMS 2003 [51]

Distribuția celor trei genotipuri (CC, CT, TT) pentru locusul 677 al genei *MTHFR* în majoritatea regiunilor a fost similară cu cea așteptată prin echilibrul Hardy-Weinberg a cărui condiție este stabilitatea frecvenței alelelor și genotipurilor în populație de la o generație la alta (tabelul 1). Nu au fost găsite diferențe dintre sexe semnificative statistice. În urma cercetării, a fost

demonstrat un exces relativ de homozigoți TT în regiunea Campania, Italia, și un exces de heterozigoți în Helsinki, Finlanda, și sudul Chinei ( $p < 0,05$ ).

Tabelul 1. Distribuția genotipurilor *MTHFR*, așteptările Hardy-Weinberg și valoarea p [51]

Area	Sample No	Genotype (No)			Observed/expected			p value, $\chi^2$
		CC	CT	TT	CC	CT	TT	
Europe								
Italy, Sicily	468	138	236	94	1.0	1.0	1.0	p < 0.05
Italy, Campania	500	172	196	132	1.2	0.8	1.2	
Italy, Veneto Italian whites	385	128	198	59	1.0	1.1	0.9	
Spain, multicentre Spanish whites	601	265	265	71	1.0	1.0	1.0	p < 0.05
France, Strasbourg	178	72	85	21	1.0	1.0	0.9	
The Netherlands	188	97	79	12	1.0	1.1	0.9	
Finland, Helsinki	545	293	230	22	1.0	1.1	0.6	
Hungary	378	165	171	42	1.0	1.0	1.0	
Russia	587	312	234	41	1.0	1.0	1.0	
Middle East Israel	210	120	72	18	1.0	0.9	1.3	
China								
North, Han	643	201	315	127	1.0	1.0	1.0	p < 0.05
South, Han	430	167	228	35	0.9	1.2	0.7	
Oceania Australia Whites	288	146	119	23	1.0	1.0	1.0	
Americas								
Mexico	500	91	248	161	1.0	1.0	1.0	
USA, Atlanta								
Whites	300	142	126	32	1.0	1.0	1.1	
Blacks	298	231	59	8	1.0	0.9	1.7	
Hispanics	62	22	29	11	1.0	1.0	1.0	
Asian	26	16	9	1	1.0	1.0	0.9	
Other, unknown	100	63	32	5	1.0	1.0	1.1	
Canada, Alberta Whites	240	136	90	14	1.0	1.0	1.0	

O variantă polimorfă a genei reprezintă o modificare a unei secvențe ADN, care este diferită de secvența ADN așteptată. Varianta cea mai comună din gena *MTHFR* este C677T. Această variantă a fost denumită *MTHFR* 677 C>T, rs1801133 sau *MTHFR* 677 C→T. Aspectul respectiv înseamnă că în locusul 677 din gena *MTHFR*, Citozina este baza azotată ADN așteptată și Timina este baza azotată ADN achiziționată. De notat că fiecare persoană are două copii ale genei *MTHFR*: una de la mama sa și una de la tatăl său. Posibilele genotipuri ale genei *MTHFR* cu locusul 677 sunt reprezentate în figura 2 [52]. Transmiterea autozomală recesivă a variantei polimorfe în *MTHFR* se referă la modul în care anumite trăsături genetice sunt transmise de la părinți la copii. În acest tip de transmitere, trăsăturile recesive sunt exprimate doar atunci când o persoană moștenește două copii ale unei gene recesive, câte una de la fiecare părinte. Cu alte cuvinte, pentru ca o trăsătură recesivă să se manifeste, o persoană trebuie să moștenească genele recesive atât de la mamă, cât și de la tată.

Acest tip de transmitere poate duce la apariția unor afecțiuni genetice și a altor trăsături recesive într-o familie. Este important să înțelegem transmiterea autozomală recesivă pentru a putea evalua riscul unei anumite condiții genetice în cadrul unei familii și pentru a stabili strategii de consiliere genetică și de prevenție.

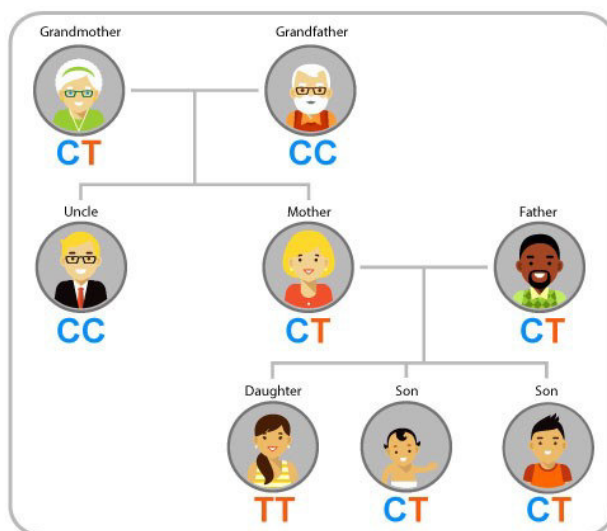


Figura 2. Genotipuri *MTHFR* C677T (Center for Disease Control) [35]

*Notă.* *MTHFR* 677 CC (două copii ale C, câte un exemplar de la fiecare părinte); *MTHFR* 677 CT (o copie a lui C de la un părinte, o copie a lui T de la celălalt părinte); sau *MTHFR* 677 TT (două copii ale T, câte un exemplar de la fiecare părinte). \*Un genotip este o combinație a setului de gene responsabile pentru o anumită trăsătură.

Numărul de persoane, care posedă fiecare dintre aceste genotipuri, va varia de la populație la populație. În condițiile consumului de acid folic, la persoanele cu genotipul *MTHFR* 677 TT se determină o concentrație medie de acid folic în sânge, care este cu aproximativ 16% mai mică decât la persoanele cu genotipul *MTHFR* 677 CC [53].

O altă variantă a polimorfismului genei este varianta heterozigotă *MTHFR* A1298C. Această variantă a genei apare în locusul 1298 din gena *MTHFR*, unde baza ADN așteptată Adenină este înlocuită cu Citozină. Actualmente, nu există suficiente dovezi, care să demonstreze că varianta *MTHFR* A1298C poate afecta semnificativ modul în care organismul uman procesează acidul folic [27].

Ultimele date oferite de CDC în 2009 [35] demonstrează că frecvența cea mai mare a alelei C este la populația rasei albe non-hispanice în valoare de 31,1% (Î 95%: 28,2 – 34,1;  $p < 0,001$ ), precum și genotipul heterozigot 1298 AC în valoare de 41,3% (Î 95%: 38,2 – 44,4;  $p < 0,001$ ). Referitor la alela T, prevalența cea mai mare este la hispanici (mexicani) de 44,6% (Î 95%: 41,7 – 47,5;  $p < 0,001$ ). Genotipul heterozigot 677 CT ia valori de 49,4% (Î 95%: 46,3 – 52,5;  $p < 0,001$ ) și homozigot 677 TT - de 19,9% (16,7 – 23,5;  $p < 0,001$ ), pentru etnia similară. Resursa globală arată o distribuție a alelei C de 25,2% (Î 95%: 22,2 – 28,5;  $p = 0,030$ ) și a genotipului 1298 AC de 37,8% (32,9 – 42,9;  $p = 0,041$ ) pentru intervalul de vârste 12 – 19 ani. Pentru același interval de vârstă, alela T înregistrează o rată de răspândire de 30,7% (Î 95%: 26,5 – 35,3;  $p = 0,0764$ ), iar genotipurile 677 CT și 677 TT sunt răspândite în 39% (Î 95%: 32,2 – 46,4;  $p = 0,551$ ) și respectiv 11,2% (Î 95%: 8,4 – 14,7;  $p = 0,551$ ). De asemenea, a fost cercetată răspândirea alelelor și genotipurilor în

funcție de sex. Astfel, s-a demonstrat o diferență ne semnificativă statistic dintre sexul masculin și feminin în răspândirea alelei C (28,6% vs 28,2%;  $p=0,784$ ) și a alelei T (30,4% vs 31,1%; 0,628). În cazul genotipurilor, situația rămâne similară astfel pentru genotipul 1298 AC (38,6% vs 39%;  $p=0,935$ ), pentru 677 CT (38,8% vs 40,7%;  $p=0,731$ ) și pentru 677 TT (11% vs 10,8%;  $p=0,731$ ).

Răspândirea globală pentru rasa albă non-hispanici a alelei C în relație cu vârsta 12 – 19 ani a constituit 27,5% (ÎI 95%: 23,1 – 32,2), iar a alelei T pentru cei hispanici (mexicani) pentru aceeași grupă de vârste – de 48,1% (ÎI 95%: 42,5 – 53,7). Genotipul 1298 AC înregistrează valoarea de 39,5% (ÎI 95%: 33,8 – 45,5) la non-hispanici, iar genotipul 677 CT și 677 TT – 47% (ÎI 95%: 37,9 – 56,4) și 24,6% (ÎI 95%: 17,2 – 33,8) [34].

Au fost, de asemenea, efectuate studii, care au constatat că frecvența genotipurilor și alelei polimorfismului C677T printre populația Republicii Moldova este de: CC – 40,84%, CT – 43,66%, TT – 15,49%, a alelei C – 62,68% și a alelei T – 37,32%. În cazul populației RM, a fost stabilit un nivel mediu al polimorfismului C677T ( $H_o=0,437$ ), iar răspândirea genotipurilor și alelelor nu diferă esențial de valoarea teoretică ce rezultă din echilibrul Hardy-Weinberg ( $\chi^2=2,76$ ,  $p=0,09$ ). Frecvențele genotipurilor observate pentru polimorfismul A1298C au fost următoarele: AC – 45%; AA – 43%, CC – 12%. Distribuția frecvențelor claselor genotipice se încadrează în limitele echilibrului Hardy-Weinberg ( $p=0,91$ ) [54].

## 1.2. Evaluarea genetică cu scop de diagnostic timpuriu al intoleranței la *metotrexat*

Gena *MTHFR* codifică proteina reglatoare *MTHFR*, care face ca organismul uman să proceseze acidul folic. MTX este un antagonist de folat bine cunoscut, care intră în celulă prin transport activ mediat de purtătorul de folat redus (RFC1) [28]. *Metotrexatul* stopează ciclul acidului folic prin inhibarea dihidrofolat reductazei [55] și influențează alte enzime importante implicate în calea folatului, cum ar fi metilentetrahidrofolat reductaza (enzima care interferează cu sinteza acidului nucleic și favorizează moartea celulară) [56]. Dezechilibrul homeostaziei folaților poate determina oprirea sintezei ADN și ar putea perturba reacția de metilare a ADN-ului și a proteinelor. Recent, a fost determinată structura cristalină a *MTHFR* uman de lungime aproape completă, care demonstrează că domeniul catalitic (DC) bine conservat, este atașat domeniului reglator (DR) printr-un linker care traversează între ele (figura 3). În structură s-a determinat S-adenosilhomocisteina (AdoHcy) legată de RD, reprezentând enzima activă [53]. Deficiența severă de *MTHFR*, definită ca activitate reziduală mai mică de 20% din valoarea medie de control, este caracterizată din punct de vedere biochimic prin hiperhomocisteinemie, homocistinurie, creșterea cistationinei plasmatică și metionină plasmatică scăzută [57].

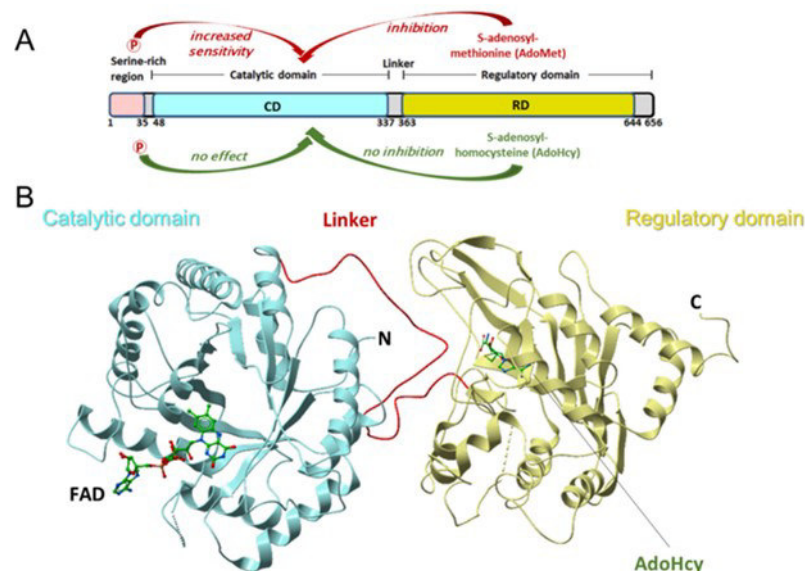


Figura 3. **Reprezentarea schematică și structurală a *MTHFR* uman** [53]

**Notă.** A. Organizarea domeniilor *MTHFR*. Numerele date reprezintă limitele aproximative ale aminoacizilor. B. Structura ilustrativă a *MTHFR* bazată pe PDB: 6FCX. Sunt indicate arhitectura domeniului și liganzii. FAD: flavin adenin dinucleotidă. AdoHcy: S-adenosilomocisteină

Primul studiu la nivel de genom, care a cercetat variantele genetice pentru răspunsul la *metotrexat* în AJI, a fost publicat de către Cobb și colaboratorii [58]. Acest studiu a avut scopul general de a îmbunătăți înțelegerea variabilității răspunsului la tratament cu *metotrexat* în AJI și, în cele din urmă, să definească un model multifactorial al rezultatelor răspunsului, care implică mai multe variante genetice și factori de mediu. Studiul a fost realizat de Consorțiul Internațional CHARMS-JIA GWAS și a inclus, în urma unui control strict de calitate pentru analiza genomică, 694 de cazuri de AJI. Variabilele demografice și clinice au fost colectate la momentul inițial și după 6 luni (mediana 6,2 luni, interval 4-8 luni) de terapie cu *metotrexat* (doza mediană 11,3 mg/m<sup>2</sup>, interval 10-15). Răspunsul clinic a fost evaluat aplicând criteriile ACR Pedi 30 și a divizat copiii în funcție de răspuns la tratament în patru categorii: non-responderi (categoria de referință, 31%), ACR Pedi 30 (8,6%), ACR Pedi 50 (14,6%) și ACR Pedi 70 (45,8%) [57,58].

De notat că, majoritatea studiilor următoare pentru SNP-urile, care sunt predictorii pentru non-răspunsul la *metotrexat*, au fost efectuate printre populația adultă, care suferă de artrită reumatoidă.

După cum menționează Avramovic et al. [59], în cadrul unui studiu monocentric pe un eșantion de 119 copii, au fost identificate asocieri semnificative dintre instalarea reacțiilor adverse la terapia cu MTX și genotipurile *MTHFR* rs1801133, *MTRR* rs1801394 și *ABCC2* rs2273697. Practic o pătrime din probanzi au fost clasificați drept non-responderi, dintre care jumătate au fost trecuți la terapia biologică. *MTHFR* rs1801133 a demonstrat asocieri cu aceste reacții adverse în

studiile pe copii, precum și conform mai multor metaanalize la pacienții cu AR [31,60–62]. În plus, acestea au fost asociate și cu non-răspunsul la MTX.

În AR rezultatele privind testarea genetică ca screening al non-responderilor sunt mai extinse atât monocentric, cât și multicentric. Un studiu din Algeria efectuat de Berkani și echipa, pe un eșantion de 54 de pacienți diagnosticați cu AR, a raportat 16,67% de cazuri de reacții adverse la MTX după un an de tratament. Compararea frecvențelor genotipice și alelice ale polimorfismului A1298C în funcție de toxicitatea MTX nu a arătat diferență semnificativă. În mod similar, nu a fost găsită nicio diferență semnificativă prin analiza frecvenței variantei polimorfe C677T în funcție de toxicitatea MTX. Cu toate acestea, alela T a fost asociată semnificativ cu efectele adverse MTX [ $p = 0,019$ , OR: 3,63, Î 95% (1,12–12,80)], în timp ce alela C părea să aibă un efect protector [ $p = 0,019$ , OR: 0,28, Î 95% (0,08–0,90)] [63].

Totodată, după șase luni de tratament cu MTX, 57,41% dintre pacienți au avut răspuns bun, 18,52% moderat și 24,07% non-responderi, conform criteriilor de răspuns EULAR. Analiza frecvențelor genotipice a SNP-ului A1298C nu a arătat nicio diferență semnificativă. Cu toate acestea, alela A a fost mai frecventă în răspuns bun (82,26%) și moderat (80%). O diferență semnificativă a fost găsită prin compararea frecvențelor alelice A1298C și a nivelurilor de răspuns EULAR ( $p = 0,04$ ). Mai mult, alela A a fost asociată semnificativ cu un răspuns EULAR bun și/sau moderat la MTX ( $p = 0,02$ , OR: 3,28, Î 95%: (1,11–9,42)). Dimpotrivă, alela C a fost asociată semnificativ cu un răspuns EULAR slab [63].

Un alt studiu realizat care a inclus în total 35 de SNP-uri din 14 gene implicate în căile metabolice intracelulare a MTX și reacțiile de fază II, au fost genotipizate la 233 de pacienți cu artrită reumatoidă tratați cu MTX. Regresiile logistice binare au fost efectuate prin abordări bazate pe genotip/haplotip. Au fost creați indicii de risc genetic de non-răspuns și toxicitate. Luând în considerare calea folaților, homozigoții *MTHFR* rs1801131 A și homozigoții *MTHFR* rs1801133 T au fost asociați cu un profil de non-răspuns la MTX [64].

O metaanaliză efectuată de către Chen et al., a evaluat 1243 de surse OVID MEDLINE și OVID EMBASE, dintre care 12 studii cu eșantioane substanțiale în Olanda, Belgia, Germania, Marea Britanie, SUA și Italia, au fost extrase pentru a totaliza asupra necesității testării SNP-urilor în AJI. În total, au fost analizate 32 de situsuri genetice corelate cu eficacitatea tratamentului [62]. Din cele 32 de situsuri genetice analizate, doar trei au demonstrat rezultate concludente pentru trei modele genetice. Polimorfismul în *MTHFR* C677T (rs1801133) a fost asociat cu non-răspunsul în modelul recesiv (OR: 0,40; Î 95%: 0,19–0,84).

Un studiu efectuat în Ljubljana de către Avramovič et al. a demonstrat determinantele farmacogenetice, care s-au dovedit a fi genotipul ABCC2 rs2804402 împreună cu alte 5 din ciclul folaților, asociați semnificativ statistic cu timpul până la atingerea remisiunii clinice [59].



Astfel, factorii genetici contribuie la fundamentarea variabilității de la pacient la pacient în plan de răspuns la tratament. Doar prin intermediul înțelegerii patogeniei AJI și AR va fi posibilă estimarea apariției toxicității la MTX [60].

### **1.3. Indicii de activitate clinică în AJI**

Având în vedere schimbările în activitatea bolii în AJI, există o provocare atunci când unele componente sugerează că boala este mai activă, în timp ce altele sugerează că este mai puțin activă. Astfel, se face apel la un indice compus, grupat și ponderat corespunzător, care poate oferi un singur răspuns. De exemplu, variabilele de bază propuse de Colegiul American de Reumatologie (ACR) pentru AJI au fost combinate într-o definiție pentru a diviza pacienții în mod dihotomic, în cei care se ameliorează clinic și cei care nu [65,66].

ACR Pedi 30 se referă la o îmbunătățire de cel puțin 30% într-un set standardizat de criterii de evaluare a răspunsului la tratament, cunoscut sub numele de ACR Pedi 30. Acest set de criterii include mai mulți indicatori, cum ar fi numărul de articulații cu inflamație, durerea și evaluarea generală a bolii de către pacient sau părinte.

Pentru a îndeplini criteriile ACR Pedi 30, un pacient trebuie să înregistreze o îmbunătățire de cel puțin 30% dintr-un anumit număr de criterii din lista standardizată. Această îmbunătățire poate fi observată într-o perioadă de timp specifică, de obicei la șase luni sau la un an după începerea tratamentului.

Utilizarea indicelui ACR Pedi 30 în practica clinică permite medicilor să evalueze și să compare răspunsul la tratament între diferiți pacienți și între diferite tratamente. Îmbunătățirea de 30% în cadrul acestui indice este considerată un semn al unor răspunsuri terapeutice semnificative la tratament și poate indica necesitatea continuării sau ajustării regimului terapeutic.

Este important să subliniem că ACR Pedi 30 este doar unul dintre mai multe criterii de evaluare utilizate în AJI și că evaluare completă a răspunsului la tratament poate implica și alte criterii, cum ar fi ACR Pedi 50 (îmbunătățire de 50%), ACR Pedi 70 (îmbunătățire de 70%) și altele. De asemenea, evaluarea clinică a pacientului de către medic rămâne esențială în gestionarea adecvată a bolii.

Variabilele din setul de bază includ evaluarea globală de către medic a activității bolii, evaluarea părinților și/sau pacientului, a bunăstării generale, capacitatea funcțională, numărul de articulații cu artrită activă, numărul de articulații cu mișcări limitate și VSH. Metodele de consens au fost utilizate pentru a defini îmbunătățirea; de exemplu, un răspuns ACR Pedi 30 necesită o îmbunătățire  $\geq 30\%$  față de valoarea inițială în 3 din 6 variabile, cu  $\leq 1$  variabilă rămasă înrăutățindu-se cu 30%.

Evident, o multitudine de factori biochimici, cum ar fi citokinele proinflamatorii, fie izolate sau grupate în panneluri de screening, au fost probate în calitate de markeri de apreciere sau prognozare a creșterii spontane a activității bolii reumatice la copii, în special AJI. Cel mai bine cunoscut marker este proteina S100 și fracțiunea MRP 8/14, care, cu o putere predictivă mare, pot evalua rata de recăderi [67–70]. Cu toate acestea, acești biomarkeri, până în prezent, nu au fost incluși în anumite scoruri validate pentru aprecierea gradului activității bolii.

Indicele DAS combină informații referitoare la numărul de articulații umflate și sensibile, pe lângă o măsură a stării generale de sănătate și răspunsul în faza acută. DAS28 se bazează pe un număr de 28 de articulații umflate și sensibile, cu un scor cuprins între 0 și 9,4, și poate fi utilizat pentru a evalua în mod obiectiv răspunsul pacientului la tratament. Cut-off-urile au fost reglementate pentru a clasifica pacienții în remisie, precum și cu activitate scăzută, moderată și înaltă a bolii încă în anii 1990 [71].

Tot Avramovič et al. utilizează scorul JADAS-71 pentru punerea în evidență a non-responderilor prin rata de sub 30% de efect terapeutic la 6 luni de administrare de MTX și trecerea la terapia biologică [59].

În general, validarea scorului JADAS în cele 3 variante clinice ale sale (JADAS-10, JADAS-27, JADAS-71) a servit drept o nouă treaptă evolutivă în reumatologia copilului pentru elucidarea mai exactă a dinamicii activității bolii comparabil cu DAS28 și CDAI [72]. Autorii demonstrează prin 2 trialuri clinice faptul că acest scor discriminează cu mare precizie dintre acel raport de evoluție pozitivă apreciat prin intermediul ACR Pedi 30, 50 și respectiv 70%.

Muller et al., în cadrul unui trial randomizat, simplu – orb, pentru aprecierea corectă a directivei Treat-to-Target până la remisia bolii cu durata de 2 ani pentru sDMARD, utilizează pe larg scorul clinic JADAS-10, dar și indicele ACR Pedi 30/50/70/90 [73,74]. Rezultatele trialului au fost referite la datele de consens CARRA.

Complementar scorurilor utilizate, este luată în considerare și administrarea comparativă a regimurilor de dozare a *metotrexatului*. Subiecții unei cercetări [75], care au primit atât MTX în doze sub 0,5mg/kg/săptămână, cât și AINS nu au avut nicio diferență semnificativă între grupuri în ceea ce privește schimbarea numărului de articulații active, în timp ce subiecții din grupul cu doze mari, dar care nu au luat AINS, au avut mai multe articulații active ( $p = 0,036$ ) la 6 luni de administrare.

#### **1.4. Scorul de intoleranță la *metotrexat* în AJI**

Comorbiditățile pot varia în funcție de subtipul specific de AJI și de severitatea bolii, iar gestionarea lor poate fi esențială pentru îmbunătățirea calității vieții pacienților. Uveita este una dintre complicațiile oftalmologice cele mai frecvente asociate cu AJI și reprezintă o inflamație a tractului uveal, care poate duce la afectarea vederii dacă nu este tratată corespunzător.

Din cauza inflamației cronice a articulațiilor în AJI, pot apărea modificări structurale ale articulațiilor, cum ar fi eroziunile osoase și îngustarea spațiului articular. Acestea pot duce la disfuncție articulară și deformități pe termen lung.

La fel, copiii cu AJI pot prezenta întârzieri în creștere și dezvoltare, în special în cazurile cu boală activă și tratament cu corticosteroizi sau alte medicamente imunosupresoare. Datorită inflamației cronice și a tratamentului cu corticosteroizi, pacienții cu AJI sunt predispuși la pierderi de masă osoasă și la osteoporoză, ceea ce poate crește riscul de fracturi. Există dovezi că pacienții cu artrită juvenilă idiopatică pot prezenta un risc crescut de afecțiuni cardiovasculare, cum ar fi hipertensiunea arterială și disfuncția endotelială [76,77]. Impactul cronic al bolii și tratamentul pe termen lung pot afecta sănătatea mentală și bunăstarea emoțională a copiilor cu AJI, conducând la anxietate, depresie și probleme sociale.

Managementul adecvat al comorbidităților este esențial pentru îmbunătățirea prognosticului și a calității vieții pacienților cu artrită juvenilă idiopatică. Este important ca aceștia să fie monitorizați în mod regulat de către un echipaj medical multidisciplinar, care să includă reumatologi, oftalmologi, pediatri și alți specialiști relevanți pentru a detecta și gestiona corect aceste comorbidități.

Un trial dublu – orb randomizat a studiat valoarea efectelor secundare a *metotrexatului* în doze mici la pacienții cu AR [78]. Dintre cei 2.391 de subiecți randomizați la MTX, 2.156 (90,20%) au prezentat orice efect advers și 2.080 (87,0%) au prezentat un efect advers specific unui sistem de organe. Ratele relative ale efectelor secundare gastrointestinale (HR 1,91; ÎI 95%: 1,75-2,10), pulmonare (HR 1,52; ÎI 95%: 1,16-1,98), infecțioase (HR 1,15; ÎI 95%: 1,01-1,30) și hematologice (HR 1,15; ÎI 95%: 1,07-1,23) au fost crescute pentru MTX în doze mici cu placebo. Patologia hepatică a fost mai frecventă în grupul MTX cu înregistrarea a cinci cazuri de ciroză (rata 0,11; ÎI 95%: 0,01 – 0,20, la 100 persoane-ani) față de placebo, care nu a înregistrat ciroza ( $p = 0,03$ ).

Utilizarea acidului folic în tratamentul artritei juvenile idiopatice este o practică obișnuită, mai ales atunci când pacienții primesc *metotrexat*. Acidul folic joacă un rol esențial în procesele de diviziune celulară. Suplimentarea cu acid folic în timpul tratamentului cu *metotrexat* poate contribui la menținerea unei cantități adecvate de acid folic în celule, susținând astfel eficacitatea tratamentului. În pofida utilizării acidului folic, mulți pacienți cu AJI prezintă reacții adverse gastrointestinale după administrarea de MTX. Ca și consecință, se estimează o rată de abandonare a tratamentului de fond de până la 35%, ceea ce sporește riscul de recăderi la pacienții deja în remisie, sau obținerea remisiei în terapia complexă ulterioară [79]. Pacienții cu AJI și AR dezvoltă, de asemenea, efecte adverse gastrointestinale anticipative și asociative, cum ar fi vomă sau durerile abdominale, care apar înainte și după administrarea de MTX, precum și simptome

comportamentale, cum ar fi neliniște și plâns, atunci când administrează MTX, posibil ca rezultat la simptomele fizice menționate [80].

În acest sens, pentru o tolerabilitate mai mare, se acordă atenție sporită terapiei de relaxare sau medicației antiemetice, chiar dacă până astăzi nu au fost elaborate studii vaste pentru populația pediatrică. Doar pentru pacienții cu AR se consideră echilibrarea simptomaticeii adverse cu ajutorul suplimentării acidului folic. La copii, actualmente, aceste recomandări au fost clasificate la nivel IIC și valabile doar exclusiv pentru efectele adverse minore [81,82].

Pentru a cuantifica aceste efecte secundare, în 2011, Bulatovic și colaboratorii publică elaborarea și validarea scorului de severitate a intoleranței la *metotrexat* (MISS) [42]. Chestionarul MISS inițial a fost validat la pacienții cu AJI din University Medical Center Utrecht prin determinarea capacității sale de a discrimina între pacienții cu și cei fără intoleranță la MTX, așa cum este stabilit de standardul de aur. Acest scor poate ajuta medicii să evalueze severitatea reacțiilor adverse la *metotrexat* și să ia decizii în ceea ce privește ajustarea dozei, schimbarea modului de administrare sau adoptarea altor măsuri pentru a gestiona intoleranța la acest medicament.

Este important de menționat că scorul MISS este un instrument de evaluare subiectivă și că interpretarea sa ar trebui să fie realizată de către profesioniștii medicali cu experiență în gestionarea terapiei cu *metotrexat* și a reacțiilor adverse asociate. Deoarece nu existau instrumente disponibile concepute pentru a măsura intoleranța la MTX, descrierea medicului cu privire la prezența sau absența intoleranței la MTX a fost considerată standardul de aur. Medicii considerau pacientul fiind cu intoleranță la MTX dacă acesta sau părinții săi confirmau prezența simptomelor gastrointestinale înainte și după administrarea de MTX, natura persistentă a acestor simptome și/sau un efect negativ al acestor simptome în zilele după administrare de MTX [42].

Același grup de autori publică un studiu realizat în Olanda pe un eșantion de 291 de pacienți care au primit MTX pentru tratamentul AR și artritei psoriazice [80]. Pacienții au notat cel puțin un efect secundar advers gastrointestinal cu o pondere de 42,3%. De asemenea, s-a menționat faptul că la tineri intoleranța a fost mai frecventă.

Un studiu multicentric din Arabia Saudită, care a inclus 117 pacienți cu AR, a sistematizat informația demografică și cea referitoare la MTX pentru a studia factorii predominanți, care pot induce intoleranță terapeutică. Sistematizarea a inclus nivelul educațional, tabagismul, calea și timpul de administrare a MTX. Componenta comportamentală a MISS a fost implicată în majoritatea cazurilor de intoleranță, aceasta cu acuratețe fiind reprezentată grafic [83].

Un alt exemplu de evaluare a necesității de intervenție timpurie asupra intoleranței terapeutice este o cercetare clinică prospectivă cu durata de 3 ani. Din totalul de 150 de pacienți indieni cu AR, scorul MISS mai mare de 6 puncte a fost notat la 14% din respondenți. Majoritatea pacienților cu intoleranță au administrat MTX pe calea orală [84].

S-a notat că intoleranța la MTX apare treptat în primele luni de administrare și aceasta nu modifică semnificativ scorul MISS la distanță de 1 an [85]. Responderii au potențialul de a evolua pozitiv spre un indice cel puțin ACR Pedi 70 în aceeași perioadă de timp. Factorii care pot influența responderii în cazul AJI includ gravitatea bolii unde pacienții cu forme mai severe de AJI pot avea un răspuns mai slab la *metotrexat* în comparație cu cei cu forme mai ușoare ale bolii. În rând cu aceasta se mai enumeră durata tratamentului, factori genetici și managementul concomitent al bolii prin asocierea cu alte medicamente, cum ar fi agenții biologici sau alte medicamente imunosupresoare.

### **1.5. Instrumente de evaluare a toxicității hepatice la administrarea de *metotrexat***

Influența toxică a medicamentelor în cadrul bolilor cronice, în special a celor reumatismale, este controversată de mai multe cercetări, care au adus dovezi discrete despre posibila depistare subclinică a manifestărilor. Ghidul ACR 2011 recomandă aprecierea valorilor hemoleucogramei complete, creatininei serice și enzimelor hepatice anterior inițierii *metotrexatului*. De asemenea, se recomandă repetarea acestor analize odată ce va fi modificată doza preparatului, dar și o dată la 3-4 luni după stabilizarea acestei doze.

Hepatotoxicitatea se referă la capacitatea unui agent sau substanță de a provoca leziuni sau daune hepatice. Aceasta poate fi cauzată de o varietate de factori, inclusiv medicamente, substanțe chimice, infecții virale, alcool, suplimente alimentare și plante medicinale. Leziunile hepatice pot varia de la inflamație ușoară la afecțiuni hepatice severe, cum ar fi hepatita acută sau cronică, steatoza hepatică, ciroza și chiar insuficiența hepatică.

Hepatotoxicitatea poate fi clasificată în trei tipuri principale:

- 1) Hepatotoxicitate directă: Aceasta apare atunci când substanțele toxice au un efect direct asupra celulelor hepatice, provocând leziuni hepatice. De exemplu, unele medicamente, cum ar fi paracetamolul în doze mari sau anumite antibiotice, pot fi hepatotoxice și pot provoca leziuni directe hepatice.
- 2) Hepatotoxicitate idiosincronică: Acest tip de hepatotoxicitate apare ca o reacție individuală la un anumit agent, în care leziunile hepatice se dezvoltă la un număr mic de persoane, care utilizează substanța, în timp ce majoritatea persoanelor care o utilizează nu experimentează efecte adverse hepatice. Aceasta poate fi dificil de prevăzut și de gestionat.
- 3) Hepatotoxicitate metabolică: Apare atunci când substanțele toxice sunt metabolizate în ficat și produc produse metabolice care sunt toxice pentru celulele hepatice. De exemplu, consumul excesiv de alcool poate duce la hepatotoxicitate metabolică prin intermediul metabolizării acetaldehidei, un produs toxic al alcoolului.

Semnele și simptomele hepatotoxicității pot varia și pot include durere în partea superioară a abdomenului, icter (colorarea galbenă a pielii și a ochilor), oboseală, greață, vărsături, pierdere în greutate și modificări în funcția ficatului observate în analizele de sânge, cum ar fi creșterea nivelului de enzime hepatice. La creșterea valorilor enzimelor hepatice peste 3 ori de norma estimată de ESPGHAN, *metotrexatul* urmează a fi sistat [1].

La copiii cu AJI, care au inițiat și continuă tratamentul cu MTX, valorile ALT nu depășesc limitele de normă stipulate de către AASLD și ESPGHAN [86,87]. Astfel, necesitatea de a găsi o metodă neinvazivă, care să estimeze afectarea subclinică a ficatului, este importantă. Beneficiul sporirii dozei de MTX, în cazul utilizării lui în monoterapie, cât și în terapia combinată cu AINS, nu a fost demonstrat. Din contra, acest fapt poate duce doar la creșterea valorilor serice ALT sau AST [75].

Odată cu evoluția ingineriei biomoleculare au fost stipulate mai multe paneluri de biomarkeri, altele decât cei tradiționali, care pot ajuta în aprecierea injuriei organice, până ca aceasta să se exprime clinic. Printre acești biomarkeri moleculari hepatici se numără testele genetice (HLA-B\*57:01, DRB1\*07, etc.), markerii serici (SDH, OPN, GSTα, etc.), markerii histologici (FABP 1, CDH5, etc.), markeri studiați prin tehnologiile omice (regucalcin, peroxiredoxin-1, etc.), și microARN (miR-122, miR-192, etc.). Trei scoruri bine definite (RUCAM, CDS și DDW-J), care au inclus 2 biomarkeri tradiționali ALT și ALP, sunt utilizate pentru aprecierea injuriei hepatice medicamentos induse [88]. Scorul RUCAM evaluează o serie de criterii clinice și de laborator pentru a stabili gradul de probabilitate ca un anumit medicament să fie responsabil pentru o reacție adversă. Aceste criterii includ:

- 1) Timpul între administrarea medicamentului și debutul simptomelor: Se evaluează perioada de timp între administrarea medicamentului și apariția simptomelor. O perioadă mai scurtă între administrare și debutul simptomelor poate crește probabilitatea ca medicamentul să fie cauza reacției adverse.
- 2) Excluderea altor cauze posibile: Se evaluează dacă alte cauze pot explica simptomele pacientului și dacă acestea pot fi excluse.
- 3) Istoricul utilizării medicamentului: Se evaluează dacă simptomele pacientului au apărut în mod similar la administrarea anterioară a aceluiași medicament.
- 4) Reapariția simptomelor la retragerea medicamentului: Se evaluează dacă simptomele pacientului au dispărut după retragerea medicamentului și dacă au reapărut la reintroducerea acestuia.
- 5) Reacțiile adverse cunoscute ale medicamentului: Se evaluează dacă simptomele sunt compatibile cu reacțiile adverse cunoscute ale medicamentului.
- 6) Evaluarea criteriilor de veridicitate: Se evaluează criterii specifice pentru anumite tipuri de

reacții adverse, cum ar fi teste de laborator specifice sau manifestări clinice.

Scorul RUCAM generează un punctaj total bazat pe aceste criterii, iar acest punctaj indică probabilitatea ca medicamentul să fie cauza reacției adverse.

Dezavantajul acestor scoruri constă în faptul că desconsideră paternul injuriei hepatice și acestea sunt înalt sensibile pentru pacienții japonezi, respectiv nu au fost testate printre alte populații.

În artrita juvenilă idiopatică (AJI), ecografia hepatică poate fi importantă din mai multe motive, principalul fiind monitorizarea tratamentului. Mulți copii cu AJI primesc *metotrexat*, astfel ecografia hepatică poate fi utilizată pentru a monitoriza ficatul în timpul tratamentului cu *metotrexat* și pentru a detecta eventualele complicații hepatice, cum ar fi hepatotoxicitatea.

Ulterior, prin această metodă pot fi detectate complicațiile hepatice asociate cu AJI. Unele forme de AJI, în special AJI sistemică, pot implica complicații hepatice, cum ar fi hepatomegalia sau disfuncția hepatică.

Deoarece AJI poate fi asociată cu alte afecțiuni hepatice, cum ar fi hepatita autoimună sau boala hepatică steatozică non-alcoolică, ecografia hepatică poate ajuta la diagnosticarea și gestionarea acestor afecțiuni hepatice concomitente, precum și excluderea altor cauze ale simptomelor hepatice.

Imaginile ecografice 2D oferă rezultate mai mult calitative (ecogenitate, formă, contur etc.) decât cantitative (diametre). Puținele studii, cum ar fi cele efectuate pe continentul african, utilizează diametrele cranio-caudal și antero-posterior în calitate de indici pentru hepatomegalie la pacienții cu maladii acute și cronice [89]. Acestea sunt utile pentru aprecierea de rutină a stării ficatului, nu și în contextul apariției fibrozei subclinice.

Scopul principal al elastografiei hepatice este de a detecta și cuantifica gradul de fibroză hepatică, o condiție în care țesutul hepatic sănătos este înlocuit treptat de țesut fibros în timpul proceselor patologice. Pentru a evalua apariția și gradul de fibroză perivasculară se propun pentru utilizare tehnici de elastografie hepatică. Gama largă de moduri în care această elastografie este înregistrată (Strain, TE, pSWE, ARFI, VTQ, ElastQP, 2D-SWE sau 3D-SWE) oferă cercetătorului rezultate similare cu biopsia hepatică [90].

Este important de menționat că elastografia hepatică nu înlocuiește biopsia hepatică, dar poate fi folosită ca o modalitate non-invazivă și repetabilă pentru monitorizarea evoluției bolii hepatice în timp și pentru a ghida deciziile de tratament.

Elastografia tranzitorie se bazează pe tehnologia de ultrasunet [91], viteza impulsului căreia se echivalează proporțional cu densitatea țesutului. Până la ziua de azi, cercetările monocentrice, care au studiat valorile densității hepatice la copiii sănătoși, precum și metodologia colectării probanzilor și tehnica de efectuare, au fost stocate într-o bază unică de rezultate, care, în

anul 2017, i-a permis lui Dietrich și coautorii să publice o actualizare a Ghidului și Recomandărilor EFSUMB 2013 pentru utilizarea clinică a elastografiei hepatice ultrasonografice [46].

La fel, și alte studii au consolidat stabilirea acestei tehnici în aprecierea hepatotoxicității în administrarea de *metotrexat*. O metaanaliză în acest sens este oferită de cercetătorii britanici Azzam et al., care au utilizat bazele de date Medline (PubMed), EMBASE, CINAHL și The Cochrane Library pentru a concluziona că din 35 de studii, care au întrunit criteriile testării hepatotoxicității prin biopsie hepatică, elastografie, FibroTest, teste biochimice și sisteme de scor (Fib-4, APRI, AST:ALT), doar în cazul a cinci studii, unde a fost utilizată elastografia, coeficientul de corelație cumulat a fost de 0,18 cu eterogenitate semnificativă între studii ( $P < 0,0001$ ) [92].

Un studiu efectuat în Polonia pe un eșantion de 91 de pacienți cu AR, la care li s-a apreciat starea hepatică prin intermediul elastografiei tranzitorii, s-a depistat un coeficient de corelație Spearman de 0,23 doar cu indicele de masă corporală a pacienților, fără a face referire la scorul ELF sau doza cumulativă de MTX [93].

Rattanakaemakorn et al. publică în anul 2021 rezultatele unui studiu, care a demonstrat incidența cumulativă a fibrozei hepatice la 5 ani, estimată la 17% în grupul pacienților cu monoterapie de MTX pentru tratamentul psoriazisului, ceea ce nu a evidențiat nicio diferență semnificativă statistic, atunci când a fost determinată prin testul Log rank ( $p = 0,89$ ) figura 4 [94].

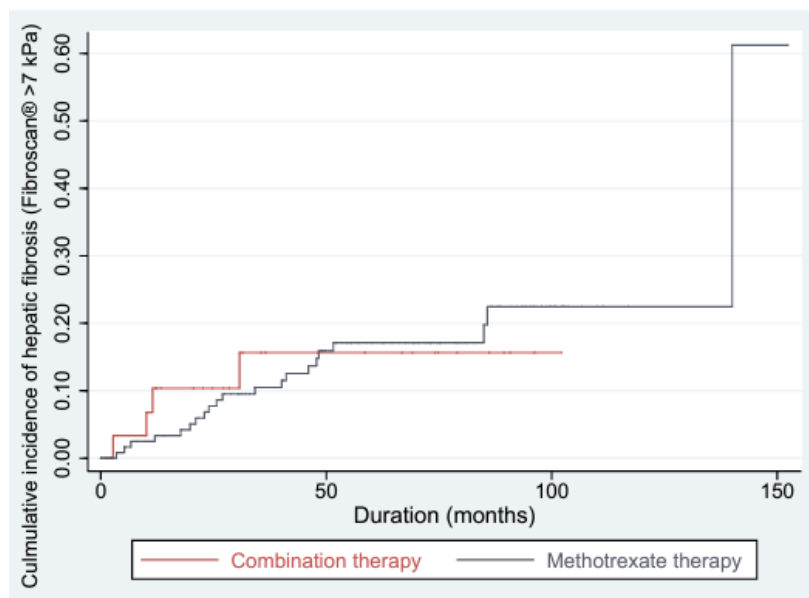


Figura 4. Incidența cumulativă a fibrozei hepatice la pacienții cu psoriazis cărora li se administrează terapie combinată cu *metotrexat* și acitretină comparativ cu cei cărora li se administrează monoterapia cu *metotrexat* [94]



## 1.6. Instrumente de apreciere a cardiotoxicității la administrarea de *metotrexat*

Efectele negative ale *metotrexatului* sunt mai bine conturate în utilizarea sa în doze mari pentru patologia oncologică de origine hematologică sau în combinație cu alte terapii antitumorale. Nominalizarea acestor efecte, cât și algoritmi de management, sunt pe deplin redați în ghidul de cardio-oncologie ESC 2016 și 2022.

Cardiotoxicitatea poate afecta diferite părți ale inimii și poate manifesta diferite simptome, inclusiv disfuncția cardiacă, care se referă la incapacitatea inimii de a pompa eficient sângele în întregul organism. Aceasta poate fi exprimată prin simptome precum dispnee (dificultate de respirație), oboseală excesivă, umflături ale picioarelor și a altor părți ale corpului, retenție de lichide.

Anumite substanțe pot afecta ritmul normal al inimii, provocând aritmii sau alte tulburări de ritm cardiac. Acestea pot include palpitații, bătăi neregulate ale inimii sau senzația de bătăi neregulate.

La fel, anumite substanțe pot provoca leziuni la nivelul mușchiului cardiac sau al vaselor de sânge, ceea ce poate duce la insuficiență cardiacă, infarct miocardic sau alte complicații cardiace. Unele medicamente sau substanțe pot determina o creștere a tensiunii arteriale, ceea ce poate fi un factor de risc pentru dezvoltarea bolilor cardiovasculare.

Cardiotoxicitatea poate fi reversibilă în unele cazuri, mai ales dacă este identificată și tratată la timp. Totuși, în unele situații, leziunile cardiace pot fi ireversibile și pot duce la complicații grave sau chiar la deces.

Există însă puține date privind riscul cardiovascular la pacienții cu AJI, deși se enumeră indici, cum ar fi hipertensiune arterială, dislipidemia și sedentarismul [76], care justifică îngrijorarea cu privire la sănătatea cardiovasculară a acestui grup chiar și la o vârstă fragedă.

Metodele neinvazive de diagnostic expuse în document sunt ECG și ecocardiografia. Electrocardiograma în 12 derivații reprezintă un test de rutină cu nivel de evidență 1 C, care poate aprecia patologia cardiovasculară achiziționată după valorile intervalului QTc [95,96].

Metoda serologică expusă în ghid este bazată pe testare NT-proBNP și a troponinei I, care reprezintă 2 biomarkeri de stratificare a riscului apariției cardiotoxicității pentru pacienții ce urmează terapia antitumorală. Datele despre utilizarea acestor markeri în evaluarea rezultatelor tratamentului la copii, cu atât mai mult în doze mici, sunt limitate. Utilitatea acestor teste nu poate defini în mod direct injuria miocardului la această grupă de pacienți.

Pentru stratificarea riscului de instalare de boală cardiovasculară, ecografia transtoracică 2D este tehnica imagistică preferată, care poate influența și decizia terapeutică. Aprecierea parametrilor 2D a funcției sistolice și diastolice ventriculare, în special a valorilor reduse a FE VS,

din care derivă definiția cardiotoxicității, precum și utilizarea Doppler tisular, sunt incluse în protocolul recomandat pentru cardio-oncologie.

Studiile monocentrice au demonstrat clinic utilitatea acestor tehnici, spre exemplu, El Eraky și colab. au publicat o cercetare care a inclus 34 de subiecți cu AJI activă și 34 de subiecți din grupul de control, a căror performanțe ventriculare au fost apreciate prin intermediul ecocardiografiei convenționale și TDI. Activitatea bolii a fost apreciată prin scorul JADAS-27. Disfuncția diastolică ventriculară a fost demonstrată prin valori E/e' medie semnificativ sporite la copiii din grupul de studiu comparativ cu cei din grupul de control [97].

Vizzardi et al. prezintă datele unui studiu efectuat în anul 2012, care arată o prevalență ridicată a disfuncției sistolice și diastolice ventriculare stângi printr-o populație de pacienți ambulatori, afectați de poliartrită reumatoidă [98].

Un alt studiu din India, de tip caz-control, cu rezultate similare, a fost inițiat pe un eșantion de 70 de copii. S-a observat că subiecții cu o durată a bolii mai mare înregistrează dimensiuni sistolice și diastolice ventriculare stângi mai mari, precum și scăzute ale FS ( $p=0,01$ ) [99]. Asemănător, Nikdoust și colab. au demonstrat scăderea FE VS pentru grupul de cazuri în studiul asupra a 94 de pacienți iranieni cu AR. Dimensiunile camerelor cardiace și TAPSE au deviat semnificativ de la valorile normale. De asemenea, s-a înregistrat o corelație inversă dintre ultimul parametru și durata bolii [100]. În mod contradictoriu este prezentat pozitiv efectul antiinflamator sistemic al MTX, care influențează fracția HDL colesterol și proteinele HDL asociate prin corecția funcțională a HDL. Pe model celular s-a demonstrat activarea receptorului A2A adenozei de către MTX, ceea ce reduce formarea celulelor spumoase și stimulează reversibil transportul colesterolic [101]. Prin urmare, *metotrexatul* se poziționează ca un factor pozitiv în scăderea riscului de apariție de boală cardiacă la pacienții cu AR [102].

Cu toate acestea, Aranda-Valera et al. relatează despre nivelurile de colesterol semnificativ crescute la pacienții cu AJI, la fel ca și nivelurile de adipocitokine, stresul oxidativ și markerii de activare endotelială în ser, ceea ce îi plasează în lista de factori de risc subclinic cardiovascular pentru 25 de subiecți diagnosticați conform ILAR [77].

Există studii care nu au evidențiat relații statistice dintre indicii Doppler și parametrii clinici, activitatea bolii sau tratamentul pe care acești copii îl urmau în AJI. Abul et al., spre exemplu, menționează despre lipsa unor simptome clinice cardiovasculare la un grup de 88 de subiecți, inclusiv copii sănătoși, precum și valori normale ale FE VS [103]. De comun cu funcția cardiacă, studiile au prezentat dovezi de afectare funcțională pulmonară ca urmare a tratamentului cu MTX la populația adultă [104].

Cercetarea funcției cardiovasculare la pacienții reumatici, din păcate, a fost axată preponderent pe populația adultă. Posibilele explicații ar fi numărul mai mare de subiecți, care ar

putea fi evaluați, și potențialul apariției efectului cardiovascular toxic pe termen lung. La copii, pentru a potența această cercetare, este necesar de apelat la valorile ecocardiografice normale rezultate din studierea mai multor populații de copii. Drept exemplu poate servi studiul olandez unde Overbeek et al., care demonstrează pe un eșantion impunător constituit din 747 de copii cuprinși între vârsta de la nou-născut până la 18 ani, noile valori ecocardiografice comparativ cu cele anterior considerate drept etalon [105]. Lucrarea prezintă noi lacune în cercetarea modificării valorilor de referință și anume, dacă acestea ar trebui să fie legate de dezvoltarea tehnologiei ecocardiografice sau dacă structurile cardiace s-au modificat în dimensiuni evolutiv. Autorii explică ultimul moment prin faptul că, copiii olandezi devin mai înalți de statură și cu adaos ponderal din contul sedentarismului.

În primă instanță, se definește termenul de cardiotoxicitate ca reducerea de peste zece la sută a FE VS până la valori sub 53% ca urmare a investigării prin ecocardiografie 2D sau 3D, IRM cardiac sau MUGA [106]. La populația adultă există recomandări protocolate, care expun spectrul de indici și metodologia obținerii lor pentru definirea ecocardiografică a cardiotoxicității, fapt care încă nu este disponibil la copii [107].

Nomogramele indicilor ventriculari pentru Doppler tisular, care au fost prezentate în studiile inițiale, au avut limitări primordial în prezentarea valorilor medii pentru fiecare grupă de vârstă, nu și exprimarea lor prin z-scor sau scară centilică [108,109]. Chiar și la aprecierea scorurilor z pentru vârste au fost înregistrați coeficienți de corelație foarte reduși [110], astfel au fost demonstrați indici de variabilitate sporită cu precizie joasă pentru utilizare clinică. Studiile, bazate pe modelul indicelui de masă corporală, sunt acceptate pentru o normalizare statistică [111,112].

În anul 2020, Yang et al. publică o analiză, care dezvăluie o serie de potențiale ținte terapeutice și oferă o ipoteză viabilă pentru dezvoltarea de noi medicamente țintite pe gene pentru tratamentul cardiotoxicității induse de chimioterapice, figura 5 [113].

### **1.7. Conceptul de medicină personalizată în AJI**

Fenotipurile artritei juvenile idiopatice au fost reevaluate din cauza influenței componente genetice și a biomarkerilor, care prin analize cluster, au demonstrat interdependența farmacogenetică [114,115]. Una dintre cele mai reușite apartenențe fenotipice este prezentată în figura 6 [116–119]. Conform acestei diagrame, se demonstrează încă o dată necesitatea abordării personalizate a managementului formelor oligoarticulară și poliarticulară seronegativă cu incidență mai mare.

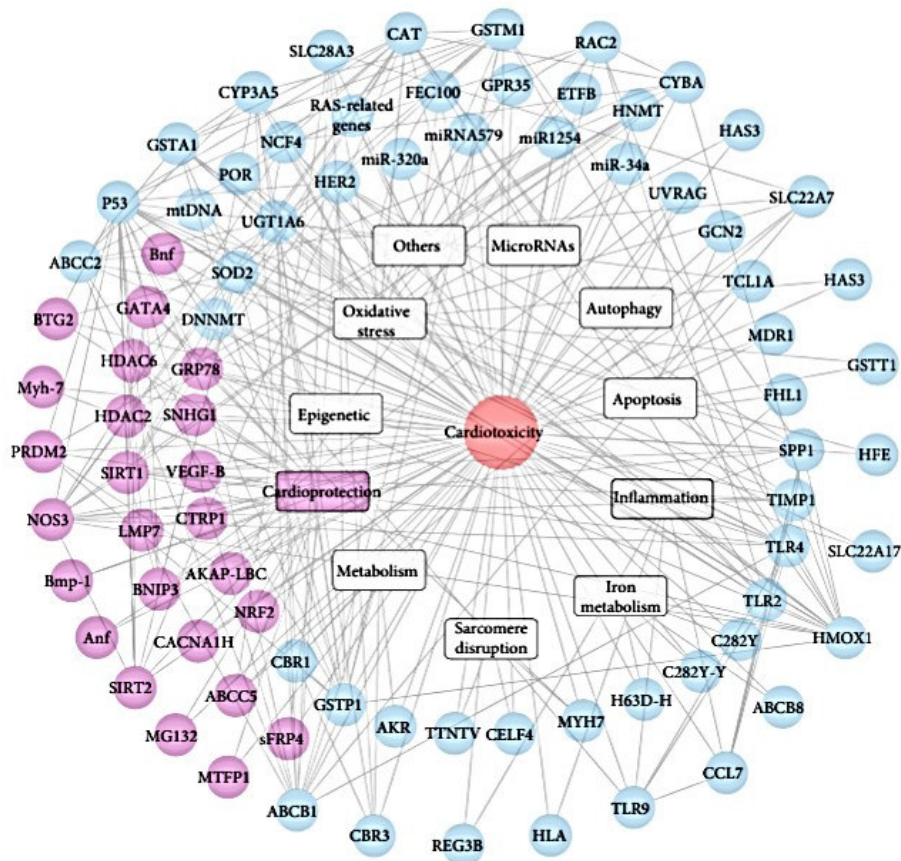


Figura 5. Graficul rețelei proteice bazate pe studii genetice care indică țintele de protecție în cardiotoxicitatea indusă de chimioterapie [113]

Conform ultimilor ghiduri ACR, treapta a treia de tratament pentru aceste forme este considerată terapie de fond sau sDMARD și constă în administrarea *metotrexatului* în doze mici [4,120].

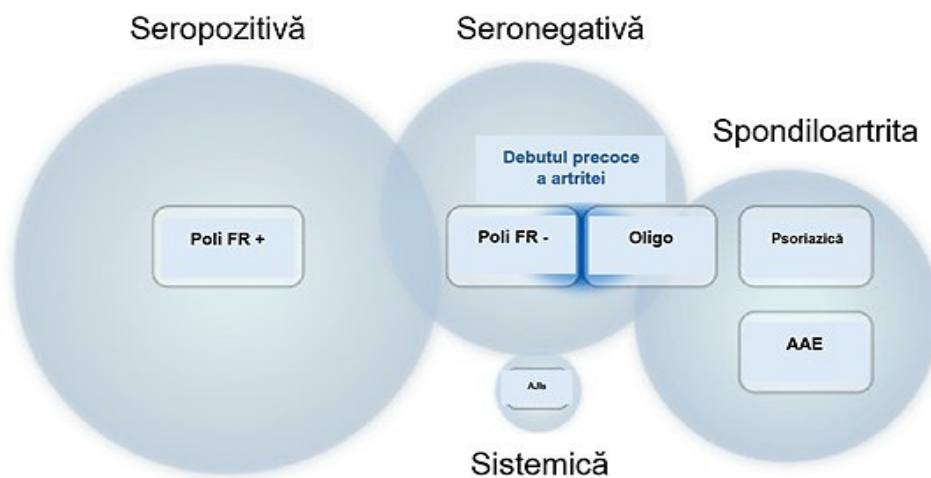


Figura 6. Clustere propuse de clasificare a artritei bazate pe studiile genetice [115]

Așadar, *metotrexatul* este considerat standard de aur în tratamentul atât a artritei juvenile idiopatice, cât și în artrita reumatoidă. Recomandările internaționale, inclusiv pentru utilizarea lui

în formele sistemice cu un anumit grad de afectare articulară (mai mult de 4 articulații), duc la inițierea indiscutabilă a *metotrexatului* în timp imediat după stabilirea diagnosticului [3,121].

Pentru estimarea rezultatelor tratamentului cu *metotrexat*, atât în monoterapie, cât și în terapia combinată, e necesar de a elucidă factorii de influență asupra evoluției favorabile a bolii. Unele studii menționează factorii clinici, cum ar fi vârsta copilului, durata maladiei, numărul articulațiilor active și stadiul radiologic [122,123].

Nu în ultimul rând, a fost pusă în discuție pe plan global cost-eficiența managementului bolii prin elucidarea transferului resurselor enorme pentru forma poliarticulară de AJI. Aceasta se datorează ratei înalte de spitalizări, în special pentru pacienții seropozitivi, precum și complicațiilor sale frecvente. Costurile directe se poziționează geografic pe arealul Regatului Unit, Olandei și Franței [124].

Este important de precizat faptul că, finalitatea așteptată, în special de către rudele pacientului, se definește prin termenul „calitate a vieții”. Mai multe studii locale [125] au încercat să aducă dovezi privind necesitatea abordării și a aspectului psihologic și celui moral al acestor pacienți, adulți sau copii, pentru ca responsabilii managementului sanitar să implementeze măsuri concrete de tratament non-farmacologic, pe lângă cel medicamentos.

Utilizarea MTX este primară față de cea a *leflunomidei* datorită experienței generale mai mari cu MTX, inclusiv la copii. În urma unor studii a pacienților care administrau AINS, inițierea tratamentului cu *leflunomidă* a fost recomandată ca o opțiune pentru activitatea înaltă a bolii fără caracteristici de prognostic rezervat, și pentru pacienții cu activitate moderată a bolii cu caracteristici de prognostic rezervat [126]. De aici rezultă că, în lipsa testelor farmacogenetice, sunt disponibile alte opțiuni farmaco-clinice pentru continuarea sDMARD.

Au existat mai multe cercetări privind asocierea genelor căilor metabolice ale MTX și toxicitatea sau răspunsul în AR decât în AJI, chiar dacă rezultate sunt variabile și de obicei fără ca acestea să se raporteze la cercetările predecesorilor [58].

Modelul clinico-genetic propus de cercetătorii din Olanda a înregistrat o concordanță statistică de 77,7% [127]. Acest model a inclus drept variabilă SNP-ul MTRR rs1801394.

Grupul de lucru de Reumatologie din Italia în cadrul MARAJIA raportează că nu sunt suficiente dovezi pentru a justifica analiza farmacocinetică și farmacogenomică înainte de tratamentul cu MTX în practica clinică curentă, deoarece rezultatele disponibile cu privire la biomarkerii capabili să prezică răspunsul la tratament sunt insuficiente [128].

Deocamdată, studiile ultimei decade asupra tratamentului AJI au tendința de a afla dacă abordarea clasică de a urma aceeași cale terapeutică pentru toți pacienții, indiferent de acești factori clinici de influență, va duce la ameliorarea stării pacientului.

Odată cu descoperirea genelor candidate, care sugerează o susceptibilitate crescută la AJI,

a apărut un interes pentru a înțelege dacă aceste diferențe genetice ar putea explica variația răspunsului la tratament [129].

Definiția medicinei personalizate rezultă din intervariația dintre diferiți pacienți, astfel utilizează profilul lor genetic pentru a ghida deciziile de prevenție, diagnostic și tratament [130,131].

Profilul genetic al pacientului în plan de eficacitate și/sau toxicitate a *metotrexatului* este structurat în baza mai multor gene ce se află pe cromozomi diferiți [132]. Gena metilentetrahidrofolat reductazei, după cum a fost menționat, reprezintă acel profil genetic, care răspunde de efectele adverse la *metotrexat*. Prin intermediul testării polimorfismului genei date, se facilitează individualizarea tratamentului de comun cu diagnosticul necompliancei medic – pacient.

### **Concluzii:**

1. Studiarea surselor bibliografice a permis evidențierea particularităților specifice ale genei *MTHFR*, care influențează dezvoltarea și evoluția reacțiilor secundare medicamentoase, precum și reducerea potențialului terapeutic.
2. Efectuarea testării molecular-genetice (prin intermediul tehnicilor moderne disponibile la nivel național) crește posibilitatea aprecierii particularităților răspunsului la tratament în AJI, elaborarea unui screening al eficacității și toxicității la *metotrexat* în funcție de distribuția variantelor polimorfe în AJI.
3. Urmărirea expresiei fenotipice a bolii și a gradului de activitate prin prisma scorurilor clinice, imagistice în funcție de variantele polimorfe genei *MTHFR*, au consolidat ipoteza precum că, în artrita juvenilă idiopatică, la pacienții cu variante polimorfe în gena respectivă, poate fi eficacitate terapeutică redusă și toxicitate hepatică și cardiacă sporită la *metotrexat*. Acest fapt a stat la baza cercetării genetice a formelor polimorfe ale genelor ciclului folat în AJI.
4. Terapia personalizată reprezintă o treaptă importantă în managementul pacientului cu AJI. Deoarece acești pacienți sunt în perioada de creștere, rezervele pentru inducerea și menținerea remisiei maladiei pot fi potențate de terapia optimală.

## 2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

### 2.1. Caracteristica generală a studiului: mărimea eșantionului, selecția loturilor și de control, designul studiului

Pentru atingerea scopului și a obiectivelor cercetării, drept protocol metodologic, a fost decisă efectuarea unui studiu analitic, observațional de tip caz-control, care a inclus 68 de probanzi cu diagnosticul de artrită juvenilă idiopatică, conform criteriilor ILAR, cu vârsta între 1 și 18 ani, în perioada 2017-2021. Astfel, 23 de probanzi admiși au fost incluși în lotul de cazuri. În funcție de genotip, copiii au fost repartizați în 2 subloturi:

- sublotul 1 - copii cu *metotrexat* și polimorfism genetic heterozigot compus C677T și A1298C (n=14);
- sublotul 2 - copii cu *metotrexat* și polimorfism genetic homozigot T677T (n=9).

Lotul de control a fost constituit din 45 de probanzi cu *metotrexat*, care nu prezintă aceste polimorfisme pentru gena *MTHFR*. Studiul a obținut avizul favorabil nr. 52 al Comitetului de Etică a Cercetării, USMF „Nicolae Testemițanu”, în cadrul ședinței din 12 aprilie 2018, iar consimțământul informat a fost semnat de fiecare subiect înainte de inițierea studiului. Ținând cont de faptul că, studiul a inclus analize genetice, a fost elaborat, aprobat și semnat un consimțământ informat suplimentar.

Luând în considerare faptul că, datele mondiale despre răspândirea genotipului heterozigot compus lipsesc, a celui homozigot TT sunt bazate pe rezultatele studiilor din populații diverse și eșantioane de calibru mic, iar în cazul populației RM incidența genotipurilor este cunoscută, a fost făcută referire la răspândirea geografică a variantei polimorfe TT pentru a calcula volumul eșantionului studiului prezent. Eșantionul de cercetare a fost calculat în baza formulei (2.1) standard pentru studiile de tip caz-control:

$$n = \frac{1}{1-f} \times \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 \times P(1-P)}{(P_0 - P_1)^2} \quad (2.1)$$

unde:

P<sub>0</sub> – Pacienți cu artrită juvenilă idiopatică cu MTX și polimorfism al genei *MTHFR*. Conform datelor bibliografice, frecvența variantei polimorfe TT reprezintă 15,49%, (P<sub>0</sub> = 0,1549) [54]

P<sub>1</sub> – Pacienți cu artrită juvenilă idiopatică cu MTX și fără polimorfism al genei *MTHFR*.

Presupunem, că în lotul de cercetare valoarea va fi de 50% (P<sub>1</sub> = 0,5), atunci:

$$P = (P_0 + P_1)/2 = 0,32 \quad (2.2)$$

Z<sub>α</sub> – valoarea tabelară. Pentru semnificație statistică a rezultatelor de 95% coeficientul Z<sub>α</sub>=1,96

Z<sub>β</sub> – valoarea tabelară. Pentru puterea statistică a comparației de 90% coeficientul Z<sub>β</sub> = 1,28

f = Proporția subiecților care se așteaptă să abandoneze studiul din motive diferite de efectul investigat  $q = 1/(1-f)$ ,  $f = 0\%$  (0).

Introducând datele în formulă s-a obținut:

$$38,36 = \frac{2(1,96 + 1,28)^2 \times 0,32 \times 0,68}{(0,1549 - 0,5)^2}$$

Astfel, pentru cercetare au fost create două loturi:

- Lot de cazuri – cel puțin câte 19 pacienți cu diagnosticul stabilit de AJI, cu terapia cu MTX și polimorfism genetic a *MTHFR*;
- Lot persoane de control – cel puțin câte 19 pacienți cu diagnosticul stabilit de AJI, cu MTX, fără polimorfism genetic a *MTHFR*.

Eșantionul a fost calculat și cu ajutorul programului computerizat QUANTO v1.2.4, destinat calculelor matematice pentru studiul asocierilor factorilor genetici, de mediu și al interacțiunilor geno-ecologice sau intergenice în dezvoltarea maladiilor multifactoriale [133]. A fost examinată asocierea genei-candidate cu AJI în administrare de metotrexat.

Exemplificăm estimarea numărului de perechi caz-control necesare pentru a studia asocierea cu gena preconizată – *MTHFR*. Admitem următoarele:

1. Prevalența maladii în populația pediatrică ( $K_p$ ) este egală cu 0,001% (conform datelor ACR).
2. Polimorfismul genei *MTHFR* determină formarea a 2 alele în locusul 677: alela nulă C (marcată, de ex., prin litera „A”) și alela funcțional competentă T (marcată prin litera „a”). Purtătorii genotipului homozigot TT prezintă risc majorat pentru dezvoltarea toxicității și ineficacității în administrare de metotrexat. Proporția subiecților din populație purtători ai genotipului pentru Republica Moldova este de 15,49%.
3. În conformitate cu legea echilibrului Hardy-Weinberg, am aflat incidența alelelor în populație. Astfel, incidența alelelor competente *MTHFR* în populație este  $q_A = \sqrt{15,49} = 0,3935$ . Modelul de moștenire este cel recesiv.
4. Admitem că riscul de dezvoltare a toxicității și ineficacității pentru purtătorii genotipului TT la subiecții cu AJI, în comparație cu cei purtători ai alelelor normale, este egal, cel puțin, cu 2,0 ( $R_g$ ).
5. Puterea studiului trebuie să fie cel puțin 80%, iar nivelul stabilit de semnificație este egal cu 0,05 (eroarea tip I). Introducând datele în program, am obținut numărul de 204 de perechi caz-control.



Outcome (*rezultat scontat*): Disease (*maladia*) AJI  
 Design (*schema studiului*): Matched case-control (*studiu caz-control*)  
 Hypothesis (*ipoteza testată*): Gene only (*studiul asocierii genelor cu maladia*)  
 Desired power (*puterea studiului*): 0.800000  
 Significance (*semnificația statistică*): 0.050000, 2-sided  
 Gene (*gena*)  
 Mode of inheritance (*modelul moștenirii*): Recessive (*recesiv*)  
 Allele frequency (*frecvența alelei în populație*): 0.3935

Disease model ( <i>modelul de studiu</i> )	Summary parameters ( <i>parametrii</i> )			
*P0 0.000008	kP 0.000010			
Rg: 2.0000	(*indicates calculated value, <i>indică valoarea calculată</i> )			
Parameter ( <i>parametru</i> )	N	Null ( <i>nul</i> )	Full ( <i>deplin</i> )	Reduced ( <i>reduș</i> )
-----				
Gene ( <i>gena</i> )	204	$\beta G=0$	$\beta G$	----

Totodată, obiectivul studiului este determinarea prezenței variantelor polimorfe în gena MTHFR în AJI la pacienții care administrează MTX. Motivată de faptul că studiul răspândirii variantelor polimorfe în populația copiilor cu AJI din RM nu corespunde acestui obiectiv, s-a utilizat calculul eșantionului, conform formulei standard pentru studiile de tip caz-control.

Probanzii din cercetare au întrunit următoarele criterii de includere:

- a) copii cu vârsta cuprinsă între 1 și 18 ani;
- b) diagnostic de artrită juvenilă idiopatică;
- c) pacienți cu AJI și tratament cu *metotrexat* pentru o perioadă de peste 6 luni;
- d) acceptul părinților sau a reprezentantului legal al pacientului (și a pacientului în cazul vârstei de 14-18 ani prin formular de informare) de a efectua examinarea molecular-genetică și a participa în studiu.

Criteriile de excludere au fost:

- a) copii cu artrită juvenilă idiopatică care nu urmează tratament cu *metotrexat*;
- b) copii cu maladii hepatice acute și cronice;
- c) copii cu malformații congenitale de cord;
- d) subiecții care au refuzat participarea în studiu.

Toți subiecții au fost examinați prin testare de polimorfism genetic pentru *MTHFR* în Laboratorul AlfaDiagnostică – baza clinică a IP USMF „Nicolae Testemițanu”. Astfel, au fost generate subploturile de cazuri (L1.1 și L1.2) și lotul de control (L2). Pe parcursul studiului, pacienții au fost

examinați în incinta IMSP Institutului Mamei și Copilului printr-un set de analize, care a inclus hemoleucograma, VSH, analiza biochimică a sângelui, testele imunologice. La fel, au fost efectuate electrocardiograma, ecocardiografia și ultrasonografia hepatică. Elastografia hepatică a fost efectuată în cadrul Laboratorului MedDiagnostica, contractat în cadrul programului de doctorat de către USMF „Nicolae Testemițanu”. Toți pacienții au fost evaluați prin intermediul scorului de severitate a intoleranței la *metotrexat*, indicelui DAS28, JADAS-71 și ACR Pedi 30. Designul studiului este reprezentat în figura 7.

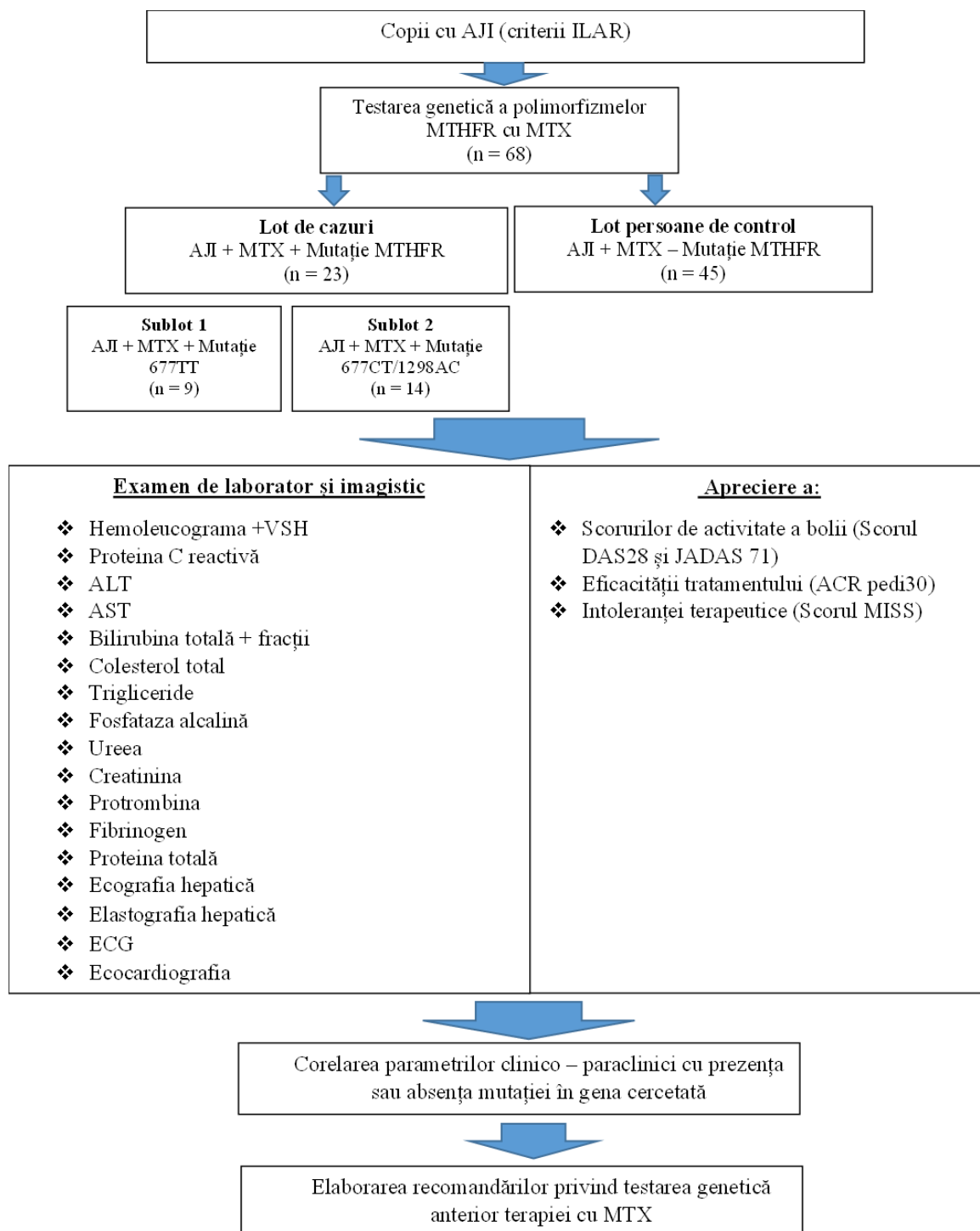


Figura 7. Designul studiului

## 2.2. Metodologia aplicată în decursul cercetării

Metodele generale de cercetare utilizate:

- 1) Clinică (examenul clinic al sistemului osteoarticular, antropometria);
- 2) Paraclinică (imagistică și funcțională – ultrasonografia hepatică, ecocardiografia și electrocardiografia, elastografia hepatică; de laborator – analiza generală, biochimică și imunologică a sângelui);
- 3) Genetică – reacția de polimerizare în lanț (Real Time PCR);
- 4) Statistică.

Metodele de acumulare a datelor primare:

- 1) Sistemul informațional de date medicale „SIAAMS” din cadrul IMSP Institutul Mamei și Copilului;
- 2) Protocolul de cercetare (întrebări despre istoricul bolii de bază, patologii concomitente, factori de prognostic rezervat al maladiei și aprecierea globală a bolii de către pacient și medic);
- 3) Rezultatele scalelor de evaluare aplicate (ACR Pedi 30, JADAS-71, DAS28, MISS).

Pentru notarea caracteristicilor subiecților cu AJI, au fost utilizate datele colectate din Sistemul informațional de date medicale „SIAAMS” pentru subiecții spitalizați în secția Reumatologie pediatrică din incinta IMSP Institutul Mamei și copilului, în perioada 2017-2021.

### Metoda clinică

Protocolul de cercetare a fost utilizat pentru interviuarea ambelor loturi, atât de cazuri, cât și de control. Chestionarul a fost structurat pentru etapa cercetării, astfel încât să permită cumulara rezultatelor necesare și a inclus o serie de întrebări concrete. Acest chestionar a fost completat pentru fiecare pacient inclus în studiu. Metoda-standard de interviuare a permis colectarea datelor despre durata simptomelor și a bolii, evaluarea globală a bolii și a simptomelor, cum ar fi durerea, evaluarea reacțiilor adverse la tratament, iar o parte din informație a fost transferată din documentația medicală. În compartimentul dedicat descrierii acestor parametri au fost menționate: vârsta copilului la debutul bolii, durata de la debutul afecțiunii, durata tratamentului cu MTX, precum și dinamica parametrilor obținuți prin aplicarea scalelor de evaluare a activității bolii, a eficacității tratamentului și a intoleranței la tratament. După extragerea datelor, toate chestionarele completate au fost supuse verificării cantitative și calitative. Datele analizate au fost codificate, ceea ce a permis unificarea prelucrării statistice.

Examenul clinic al sistemului osteoarticular a fost efectuat exclusiv la toți probanzii prin observarea și cuantificarea numărului de articulații tumefiate și dureroase, cuantificarea durerii prin intermediul scării vizuale analoge, interogarea asupra evaluării globale a bolii de către pacient sau părinte, interogarea asupra prezenței și cuantificării intensității reacțiilor adverse gastrointestinale la administrarea de *metotrexat*.

Examenul antropometric a fost efectuat la toți probanzii cu ajutorul benzii centimetrice de perete și a cântarului electronic de tip REPHNO, cu precizie de 0,1 gr., configurat metrologic, din cadrul secției de Reumatologie pediatrică sau DCSI. Datele au fost apreciate în raport cu valorile OMS/CCM pe scara centilică și z-scor pentru vârstă cu ajutorul programului Ped(z) Pediatric Calculator 3.8.0 Version © Daniel Gräfe.

Evaluarea documentației medicale a copiilor s-a efectuat asupra fișei medicale de staționar (formular 003/e) și fișei medicale de ambulatoriu (F025/e) pentru completarea datelor de identificare, comorbidităților, duratei bolii, duratei și dozei de administrare de MTX, a altor medicamente, rezultatelor de laborator și imagistice. Acordul pentru colectarea datelor de arhivă a fost aprobat de către Comitetul de Etică a Cercetării USMF „Nicolae Testemițanu” și semnat de către Directorul IMSP Institutul Mamei și Copilului.

***Scale de evaluare aplicate:***

- a) Indicele de activitate a bolii DAS28;
- b) Indicele de activitate a bolii JADAS-71;
- c) Indicele de eficacitate a tratamentului ACR Pedi 30;
- d) Scorul de severitate a intoleranței la *metotrexat* (MISS).

Printre cele mai utilizate instrumente de evaluare a activității bolii se numără indicele DAS28 (Disease Activity Score 28), care constă din evaluarea a 4 variabile: numărul de articulații dureroase și tumefiate, evaluarea globală a bolii și valoarea vitezei de sedimentare a hematiilor. Formula de calcul pentru DAS28 este:

$$\text{DAS28} = 0,56 \times \sqrt{\text{NAD28}} + 0,28 \times \sqrt{\text{NAT28}} + 0,7 \times \text{LnVSH} + 0,014 \times \text{EGB} \quad (2.3)$$

Unde:

NAD – reprezintă numărul de articulații dureroase;

NAT – numărul de articulații tumefiate;

VSH – viteza de sedimentare a hematiilor;

Ln – logaritmul natural;

EGB – evaluarea globală a activității bolii de către pacient, după scala vizuală analogă de 0-100 mm.

Acești parametri pot fi introduși și în aplicația electronică DAS28 Calculator ©2012 Tantor Systems, care calculează DAS după formula prestabilită. În funcție de valoarea obținută, a fost stabilită o activitate a bolii joasă, moderată sau înaltă. Interpretarea rezultatelor: DAS28 > 5,1 corespunde activității înalte; DAS28 < 3,2 – activității moderate; DAS28 < 2,6 corespunde activității minimale sau remisiunii maladiei.

Indicele de activitate a bolii JADAS-71 a inclus următoarele patru măsurări: evaluarea globală de către medic a activității bolii, măsurată pe o scală vizuală analogă de 0-10 cm, unde 0 = lipsă de activitate și 10 = activitate maximă; evaluarea globală a activității bolii de către pacient

sau părinte, măsurată pe scara vizuală analogă de 0-10 cm unde 0 = foarte bine și 10 = foarte slab; viteza de sedimentare a hematiilor, normalizată la o scară de la 0 la 10 conform formulei 2.4;

$$\text{VSH}_n = (\text{VSH}-20)/10 \quad (2.4)$$

și numărul de articulații active.

Această versiune a scorului a fost elaborată și validată folosind un formular de examinare reumatologică, care a inclus 71 de articulații. Este important de remarcat că, scorul JADAS-71 nu include coloana toracică și lombară, incluse în prezent în examenul reumatologic standard adoptat de Pediatric Rheumatology International Trials Organization (PRINTO) și de Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group (PRCSG). Pentru a rezolva această incongruență formală, în studiile clinice se recomandă combinarea coloanei vertebrale cervicale, toracice și lombare într-o singură articulație. Exclusiv, articulațiile sacro-iliace nu sunt incluse în numărul articulațiilor active, deoarece nu pot fi tumefiate clinic și nici nu prezintă cu limitare de mișcare. JADAS este calculat ca suma simplă a scorurilor celor patru componente ale sale, care dă un scor global de 0-101 pentru JADAS-71. Instrumentul este fezabil și are valabilitate de conținut. În plus, în procesul de analiză de validare, a demonstrat o bună validitate discriminantă și receptivitate la schimbările importante din punct de vedere clinic într-un set mare de date ale pacienților.

Indicele de eficacitate a tratamentului ACR Pedi 30 se bazează pe variabilele principale elaborate de American College of Rheumatology pentru artrita juvenilă, și anume, evaluarea globală de către medic a activității bolii (VAS de 0-10 cm), evaluarea părinților/pacientului a bunăstării generale (VAS de 0-10 cm), capacitatea funcțională, numărul de articulații cu artrită activă (definită ca efuziune articulară sau limitarea mișcării însoțită de hipertermie, durere sau sensibilitate), numărul de articulații cu amplitudine limitată de mișcare și VSH. Un răspuns ACR Pedi 30 este definit ca o îmbunătățire cu cel puțin 30% față de valoarea inițială în trei din șase variabile, cu cel mult o variabilă rămasă agravându-se cu >30%. În mod similar, recurența este definită ca agravarea a două variabile cu cel puțin 40% fără ameliorarea mai mult de o variabilă cu 30%. La scurt timp după publicarea lor, aceste criterii au devenit standardul de aur pentru evaluarea răspunsului la terapie în AJI. Criteriile ACR Pedi 30 sunt acceptate atât de FDA din SUA, cât și de Agenția Europeană pentru Medicamente pentru toate studiile de fază III în AJI, care solicită înregistrarea medicamentelor. Recent, ACR Pediatric 30 a fost adaptat pentru utilizare în studiile clinice în AJI sistemică, adăugând, pe lângă cele șase variabile de bază, demonstrarea absenței vărfurilor febrile (>38 °C) în timpul săptămânii premergătoare evaluării.

Intoleranța la *metotrexat* a fost evaluată prin intermediul scorului de severitate a intoleranței la *metotrexat* (MISS). Acest chestionar constă din patru domenii: durere abdominală, greață, vărsături și simptome comportamentale și înregistrează simptome anticipatorii, după administrarea *metotrexatului*, precum și simptome asociative, adică, simptome care apar atunci când pacientul

se gândește la *metotrexat*. Simptomele sunt evaluate în momentul răspunsului la chestionar, fără un interval de timp specific. Simptomele comportamentale includ neliniște, iritabilitate și refuzul de administrare, ca răspuns la simptomele gastrointestinale. Fiecare dintre cei 12 itemi ai scalei MISS este punctat pe o scală psihometrică (0 = fără simptome, 1 = simptome ușoare, 2 = simptome moderate; 3 = simptome severe) pentru un scor maxim de 36. Este stabilit drept intoleranță la *metotrexat* un scor de  $\geq 6$  puncte pe chestionarul MISS, incluzând cel puțin un simptom anticipator, asociativ sau comportamental.

### **Metoda paraclinică**

Laboratorul din cadrul IMSP Institutul Mamei și Copilului a procesat probele sanguine a probanzilor aflați în staționar sau din ambulator prin intermediul analizorului Sysmex XN1000 pentru hemoleucogramă prin metodele citometriei în flux de fluorescență și impedanței hidrodinamice. Viteza de sedimentare a hematiilor a fost efectuată după metoda manuală Westergren, care presupune stabilirea tubului de testare în poziție verticală într-un suport gradat milimetric și se citește nivelul de sedimentare a hematiilor în milimetri după 1 oră.

Examenul biochimic sanguin a fost procesat prin intermediul analizorului Cobas C311. Prin metoda kinetică standardizată IFCC fără piridoxal fosfat și metoda fotometrică au fost apreciate sindromul hepatocitolitic (ALT, AST), sindromul hepatopriv (proteina totală serică, protrombina), sindromul colestatic (bilirubina totală și directă, fosfataza alcalină, colesterolul seric total), sindromul mezenchimal inflamator (proteina C reactivă, fibrinogenul), și a fost evaluat nivelul ureei și creatininei serice.

Explorarea funcțională a ficatului a fost efectuată cu ultrasonograful Toshiba Aplio 300 din cadrul departamentului Diagnostic Funcțional al IMSP Institutul Mamei și Copilului, conform cerințelor în vigoare de supraveghere a pacienților cu AJI (PCN – 7 Artrita Juvenilă Idiopatică, 2016). Au fost determinați următorii parametri: dimensiunile lobului drept (mm), dimensiunile lobului stâng (mm), conturul, ecostructura, ecogenitatea, prezența formațiunilor, starea căilor biliare intrahepatice, dimensiunea venei porta (mm) și a venei lienale (mm).

Explorarea elastografică a ficatului prin FibroScan [88] a fost efectuată la 50 de subiecți din loturile de bază și control. Investigația a fost efectuată în Laboratorul MedDiagnostică, contract nr. 47 CPV 7311000-6 din 13.03.2019, din cadrul programului de doctorat. Testul reprezintă o metodă nedureroasă și nu necesită o pregătire prealabilă, iar rezultatul este eliberat pe loc. Aparatul FibroScan Touch 502 Echosens, Paris, Franța, e bazat pe conceptul de elastografie tranzitorie. Acest sistem folosește o excitație mecanică externă controlată (folosind un piston care atinge suprafața corpului), care este integrată cu un transductor ultrasonic pentru a monitoriza pulsul undelor de forfecare. Transductorul ultrasonic are o configurație focală fixă, iar viteza undei de forfecare, care este măsurată, corespunde vitezei medii a undei de forfecare în regiunea țesutului

de-a lungul „liniei A”, care este imaginea de transductor. FibroScan este conceput special pentru măsurarea rigidității ficatului, fără a afișa o imagine în modul B. Metoda este fezabilă și la sugari, dar factorii de confuzie, precum alegerea sondei, sedarea, sau aportul alimentar trebuie luați în considerare atunci când se interpretează rezultatele [132]. Valorile de referință a medianei elasticității hepatice au fost preluate din cadrul European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology. Astfel, medianele elasticității hepatice în valoare de 4,40; 4,73 și 5,10 kPa au fost atribuite grupelor de vârstă 0 – 5; 6 – 11 și respectiv 12 – 18 ani ( $p=0,001$ ).

Pentru completarea obiectivului 4, conform 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines [93], au fost efectuate electrocardiograma și ecocardiografia transtoracică.

Electrocardiograma standard în 12 derivații a fost efectuată cu analizorul ASPEL ECG GREEN v.06.101 la subiecții din cadrul studiului, cu aprecierea următorilor parametri: frecvența ritmului cardiac, interval PQ (mm), interval QT corijat (mm). Pentru realizarea contactului bun între tegumente și electrozi acestea au fost unse cu gel acustic [133]. La nivelul membrelor s-au montat electrozi: roșu pentru mâna dreaptă, galben pentru mâna stângă, verde pentru piciorul stâng și respectiv negru pentru piciorul drept. Electrozii pentru V1-V6 au fost fixați în spațiile intercostale respective.

Ecocardiografia transtoracică a fost efectuată cu ultrasonograful Aloka Prosound Alpha 7, sonda Aloka UST-52124 Pediatric Phased Array. Parametrii sistolici ai ventriculului stâng au fost:

- DTD VS – diametrul telediastolic al ventriculului stâng;
- DTS VS – diametrul telesistolic al ventriculului stâng;
- VTD VS – volumul telediastolic al ventriculului stâng;
- VTS VS – volumul telesistolic al ventriculului stâng;
- FE – fracția de ejecție a ventriculului stâng;
- s` la nivel de inel mitral septal;
- s` la nivel de inel mitral lateral.

Parametrii diastolici ai ventriculului stâng au fost: E; e`septal; e`lateral; e`mediu; E/e` mediu. Parametrii sistolici ai ventriculului drept au fost: TAPSE – mișcarea sistolică anterioară a inelului tricuspidian; S` - la nivel de perete lateral al ventricolului drept; PSAP – presiunea sistolică în artera pulmonară.

### **Metoda genetică**

Mostrele de sânge colectat de la subiecții din ambele loturi de studiu au fost păstrate în congelator la  $-20^{\circ}\text{C}$  și anonimizate de către Laborator, conform formularului de trimitere din Anexa 2 la contractul prestării servicii nr.20112017 din 20.11.2017. Frigiderele sunt încuiate cu cheie, la care accesul este limitat și sunt strict monitorizate de personalul cu drept de acces.

După examinare, ADN-ul celulelor periferice și restul porțiunilor sanguine au fost lichidate, conform amendamentelor de rigoare din alineatul 5.8 la contractul prestării servicii nr.20112017 din 20.11.2017.

Costurile analizelor genetice au fost acoperite din cadrul programului de doctorat, conform contractului semnat cu cadrul fizic în persoana studentului-doctorand.

### **Protocolul reacției de polimerizare în lanț (Real Time PCR)**

Toți cei 68 de subiecți cu AII, cu MTX, au fost testați prin reacția de polimerizare în lanț.

*Etapa 1:* S-a colectat sânge din vena cubitală, dimineața, a jeun. Sângele a fost recoltat în recipient cu K3EDTA. Tuburile cu probă au fost lent agitate, astfel ca sângele periferic să fie amestecat cu anticoagulantul și transportate în primele 2 ore la temperatura 18-25°C.

*Etapa 2:* Ulterior, a fost utilizat setul de reagenți pentru prelucrarea preliminară a sângelui periferic C-8814 РеалБест Гемолитик АО „БЕКТОР-БЕСТ” certificate ISO 9001 și ISO 13485. Până la începerea lucrului, setul a fost extras din frigider, a fost deschis și lăsat la temperatura camerei 18-25°C pe parcursul a 30 minute. În fiecare eprubetă au fost introduse câte 0,5ml soluție pentru hemoliză. Sângele integral a fost amestecat până la omogenizare prin rotirea vacuettelor. În fiecare eprubetă a fost introdus cu pipeta de unică folosință „FinnTip”, câte 250 μl de mostră sanguină analizată. Fiecare eprubetă din setul de liză se acoperă cu capac și se amestecă prin mișcări de rotație. Apoi, conținutul se centrifughează cu ajutorul microcentrifugii „Eppendorf”, Germania, la 7000 rotiri/minut pe parcursul a 3 minute. Supernatantul format din celule periferice (leucocite), după eliminarea plasmei, este colectat în volum de 0,2ml și introdus într-o eprubetă de volum 2,0ml. Acestea au fost păstrate la temperatura -20°C.

*Etapa 3:* Fraționat au fost decongelate săptămânal un număr n de probe pentru a se izola AND-ul celulelor periferice în supernatantul rezultat din centrifugare după adăugarea soluției de liză. La supernatantul colectat cu ajutorul pipetei de unică folosință s-a adăugat soluția de liză din setul de reagenți C-8896 Реал-Бест экстракция 100 pentru separarea ADN-ului. Au fost alese și marcate numărul necesar de eprubete cu volum 2,0 ml inclusiv și pentru control.

*Etapa 4:* Următoarea etapă a constituit reacția de polimerizare în lanț, cu detecție în timp real, a produsului PCR acumulat, prin măsurarea fluorescenței emise. La sfârșitul ciclurilor de amplificare se efectuează genotiparea, prin analiza curbei de topire. A fost utilizat setul de reagenți pentru determinarea diferențială a polimorfismelor mononucleotidice a genelor sistemului de coagulare a sângelui și ciclului folaților D-3803 РеалБест-Генетика Гемостаз. Analizorul utilizat CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System, Bio-Rad, SUA. Metoda de apreciere este una calitativă cu specificitatea clinică de 100%



## Interpretarea rezultatului

Echilibrul Hardy-Weinberg este un concept din genetică, care descrie situația în care frecvențele alelelor și genotipurilor unei populații rămân constante de la o generație la alta în absența factorilor perturbatori. Acest echilibru este influențat de cinci condiții: încrucișarea aleatorie, absența selecției naturale, absența migrației, mărimea populației infinit de mare și absența variantelor polimorfe.

A fost utilizată formula generală a echilibrului Hardy-Weinberg care este:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

unde:

- $p^2$  reprezintă frecvența genotipului homozigot dominant,
- $2pq$  reprezintă frecvența genotipului heterozigot,
- $q^2$  reprezintă frecvența genotipului homozigot recesiv,
- $p$  este frecvența alelei dominante în populație,
- $q$  este frecvența alelei recesive în populație.

Echilibrul Hardy-Weinberg poate fi utilizat pentru a estima frecvența genotipurilor într-o populație, cunoscând frecvența alelelor. Cu toate acestea, în practică, frecvențele genotipurilor pot fi afectate de o serie de factori, cum ar fi selecția naturală, deriva genetică și migrația.

Corectarea pentru asociere a genotipurilor se poate face folosind corecția lui Yates, care este o ajustare utilizată pentru a îmbunătăți exactitatea testelor de asociere între genotipuri și boli. Aceasta este utilizată atunci când numărul de subiecți este relativ mic sau atunci când frecvența unei anumite alele este foarte mică sau foarte mare. Corecția lui Yates este adăugarea sau scăderea unui anumit număr de la fiecare dintre celulele tabelului de contingensă (tabelele de frecvență a genotipurilor) pentru a compensa discrepanțele și a obține o estimare mai precisă a asocierii.

Formula pentru corecția lui Yates, care a fost utilizată în studiu este:

$$\chi^2 = |O-E| - 1/2$$

unde:

- $\chi^2$  reprezintă statisticul testului chi-pătrat ajustat,
- $O$  – reprezintă observațiile,
- $E$  – reprezintă valorile așteptate.

## Metodele statistice de analiză a rezultatelor obținute

Pentru analiza datelor s-au aplicat următoarele teste statistice: pentru investigații primare de asociere s-a folosit coeficientul de corelație Pearson, care este o măsură a asocierii liniare dintre două variabile, acesta luând valori între  $-1$  și  $+1$ , inclusiv cu semnificația de asociere pozitivă/negativă după semnul coeficientului și de lipsă de asociere pentru corelație egală  $0$ . Studiul interacțiunii dintre parametrii cantitativi s-a efectuat prin calculul coeficientului de

corelație Pearson ( $r$ ). Interpretarea coeficientului de corelație s-a realizat astfel :

- valori între  $\pm 0,25$   $\rightarrow$  legătura lineară inexistentă;
- valori între  $\pm 0,25$  și  $\pm 0,50$   $\rightarrow$  legătura lineară slabă;
- valori între  $\pm 0,50$  și  $\pm 0,75$   $\rightarrow$  legătura lineară medie;
- valori între  $\pm 0,75$  și  $\pm 1$   $\rightarrow$  legătura lineară puternică.

Testul Chi-pătrat este o metodă statistică, care a fost utilizată pentru a evalua dacă există o relație semnificativă între două variabile categorice. Acesta compară frecvențele observate ale diferitelor categorii cu frecvențele așteptate sub ipoteza nulă că nu există o asociere între variabile.

Pentru a realiza testul Chi-pătrat, au fost urmați pașii:

1. Am formulat ipoteza nulă ( $H_0$ ) și ipoteza alternativă ( $H_a$ ). Ipoteza nulă afirmă că nu există o asociere între variabilele categorice, în timp ce ipoteza alternativă afirmă că există o asociere între ele.
2. Am stabilit nivelul de semnificație ( $\alpha$ ) pentru test (de obicei  $\alpha=0.05$ ).
3. Softul a generat un tabel de contingență, care a arătat frecvențele observate pentru fiecare categorie a celor două variabile.
4. Au fost calculate frecvențele așteptate sub ipoteza nulă.
5. S-a calculat Chi-pătrat utilizând formula:

$$X^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Unde:

- $O_i$  reprezintă frecvențele observate pentru fiecare categorie,
  - $E_i$  reprezintă frecvențele așteptate pentru fiecare categorie sub ipoteza nulă,
  - $\sum$  reprezintă suma peste toate categoriile.
6. Am determinat gradele de libertate ( $df$ ) pentru test. Acesta este egal cu produsul dintre numărul de categorii minus 1 pentru fiecare variabilă.
  7. Am consultat tabelul Chi-pătrat pentru a determina valoarea critică corespunzătoare nivelului de semnificație și numărului de grade de libertate.
  8. Softul a generat acceptul sau respingerea ipotezei nule în funcție de compararea testului Chi-pătrat cu valoarea critică. Dacă testul este mai mare decât valoarea critică, ipoteza nulă a fost respinsă, ceea ce indică o asociere semnificativă între variabilele categorice.

Testul ANOVA (Analysis of Variance) este o metodă statistică, care a fost folosită pentru a compara media a trei sau mai multe grupuri, pentru a determina dacă există diferențe semnificative din punct de vedere statistic între ele. Aceasta se realizează prin împărțirea variației totale în date în diferite surse și apoi comparând variația între grupuri cu variația în cadrul grupurilor. ANOVA

ajută practic la determinarea dacă există diferențe în medii între grupuri și dacă acele diferențe sunt susceptibile să se datoreze hazardului sau dacă sunt semnificative din punct de vedere statistic. Acest test este folosit în mod obișnuit în cercetarea experimentală și poate oferi insight-uri valoroase în compararea simultană a mai multor grupuri.

Diferențele dintre loturi au fost analizate cu ajutorul următoarelor teste: testul Mann-Whitney U pentru eșantioane independente în cazul datelor neparametrice. Valorile  $p < 0,05$  au fost considerate semnificative. Testul Mann-Whitney, cunoscut și sub numele de testul U al lui Mann-Whitney, este utilizat în analiza statistică, pentru a evalua dacă două eșantioane independente provin din aceeași distribuție de probabilitate. Acest test presupune clasificarea datelor într-un singur set, apoi în altul, și compararea rangurilor dintre cele două seturi. Este utilizat, atunci când datele nu îndeplinesc condițiile necesare, pentru a efectua un test t-student sau când se dorește o analiză neparametrică. Testul Mann-Whitney este util în special când datele nu sunt distribuite normal sau când valorile extreme pot influența semnificativ rezultatul testului.

Analiza ROC este o metodă, care a fost utilizată în evaluarea performanței modelelor de diagnostic pentru că aceasta este adesea folosită în domeniul medical și al cercetării. Prin intermediul acestui tip de analiză s-a examinat abilitatea unui model de a discerne între două stări (de obicei, prezența sau absența unei anumite afecțiuni) pe baza diferitelor valori cut – off ale criteriului diagnostic. Analiza ROC generează o curbă ROC, care prezintă rata de valori pozitive (sensibilitatea), în funcție de rata de valori false pozitive (specificitatea). Cu cât curba se apropie mai mult de colțul din stânga sus al graficului (cu o suprafață sub curbă mai mare, AUC), cu atât modelul este considerat a avea o performanță mai bună în discriminarea între cele două stări. Interpretarea corectă se face cu ajutorul intervalului de încredere de 95% asociat: dacă  $AUC \geq 0,9$  acuratețea diagnostică este excelentă,  $AUC 0,8 \leq 0,9$  indică o acuratețe diagnostică foarte bună, iar o valoare AUC 0,8 indică un test cu acuratețe diagnostică fără valoare.

## Concluzii:

1. Pentru realizarea obiectivelor cercetării, a fost efectuat un studiu analitic, observațional de tip caz-control. Cercetarea a fost realizată pe un lot de 68 de subiecți, diagnosticați cu artrită juvenilă idiopatică, care urmează tratament cu *metotrexat*, dintre care 23 de subiecți au fost incluși în lotul de cazuri, prin selecție în funcție de prezența polimorfismului genetic, iar 45 de subiecți au constituit lotul de control.
2. Metodologia aplicată în decursul studiului a inclus metode generale de cercetare (clinică, de laborator, funcțională, imagistică), precum și aplicarea celor patru scale de evaluare a activității bolii, eficacității și intoleranței medicamentoase, care au elucidat particularitățile clinice și paraclinice la subiecții cu AJI.
3. Studiul genetic referitor la polimorfismul C677T/A1298C și T677T al genei *MTHFR* a permis divizarea subiecților ambelor loturi, conform genotipului prezentat, și a definitivat particularitățile evoluției bolii în funcție de polimorfismul genetic.
4. Aplicarea testării genotipului enzimatic a permis compararea loturilor de studiu, pentru determinarea prognosticului maladiei și importanța terapiei medicamentoase personalizate.
5. Metodele de evaluare statistică aplicate (teste de asociere, teste de corelație parametrică și nonparametrică) au facilitat analiza rezultatelor studiului și au permis formularea concluziilor generale și recomandărilor practice.

### 3. ASOCIEREA POLIMORFISMELOR GENEI *MTHFR* CU ASPECTELE CLINICE ȘI PARACLINICE A ARTRITEI JUVENILE IDIOPATICE ÎN FUNCȚIE DE UTILIZARE A *METOTREXATULUI*

#### 3.1. Descrierea probanzilor din lotul de cazuri și lotul de control

Studiul efectuat a inclus 68 de subiecți cu diagnosticul de artrită juvenilă idiopatică (AJI), care au fost diagnosticați conform criteriilor ILAR, administrează *metotrexat* (MTX) mai mult de 6 luni și care au fost internați sau consultați, fiind la evidența medicului reumatolog în cadrul secției de Reumatologie pediatrică a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2022. Dintre aceștia, 66,18% (45 de subiecți) au constituit lotul de control și 33,82% – lotul de studiu (23 de cazuri). Repartizarea pacienților în cele două loturi a fost efectuată după testarea genetică a polimorfismelor genei *MTHFR* și este reflectată în figura 8.

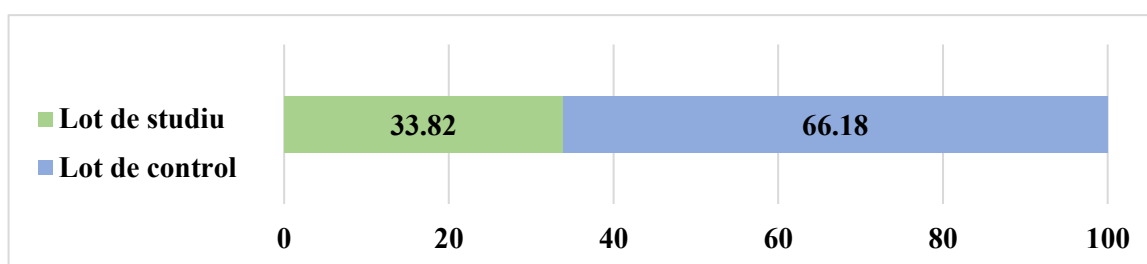


Figura 8. Repartizarea pacienților pe loturi (%)

Lotul de studiu a fost divizat în 2 subloturi corespunzător genotipului depistat (figura 9).

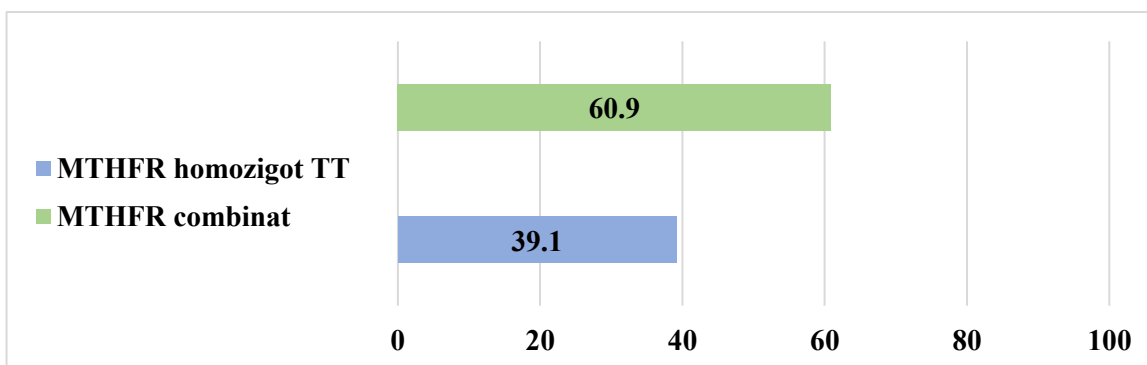


Figura 9. Repartizarea pacienților pe subloturi (%)

Conform divizării pe sexe, în lotul de control au fost înregistrate 55,56 % (25 de cazuri) fete și 44,44 % (20 de cazuri) băieți. În lotul de cazuri, băieții au constituit 47,83 % (11 cazuri), iar fetițele – 52,17 % (12 cazuri). Atât în lotul de studiu, cât și în cel de control a fost atestată o pondere a numărului de fete asupra numărului de băieți ( $\chi^2=0,070$ ;  $gl=1$ ;  $p=0,791$ ). În figura 10 este arătată repartizarea pacienților din ambele loturi conform sexului.

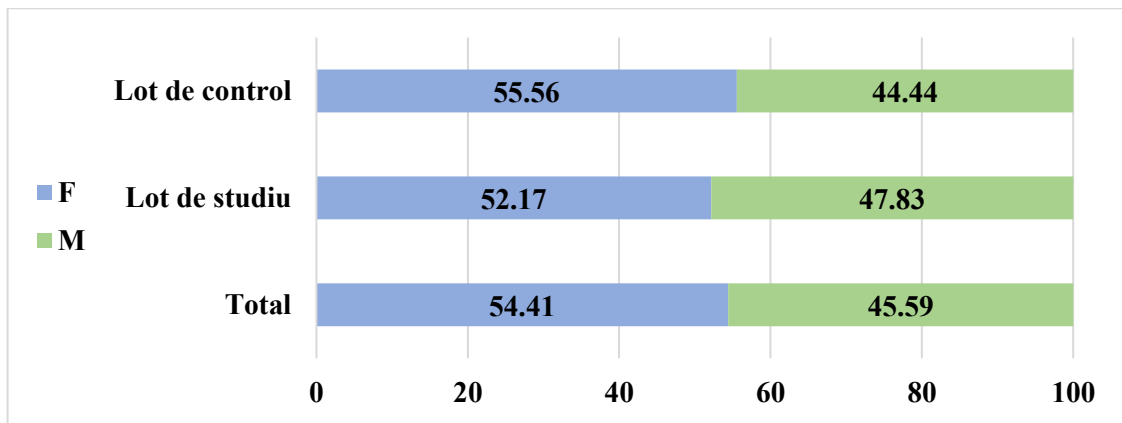


Figura 10. **Repartizarea subiecților din ambele loturi conform sexului (%)**

În ceea ce privește vârsta subiecților, ambele loturi incluse în studiu au prezentat un diapazon vădit a intervalului de vârstă cu extremele 24 – 215 luni. Rezultatele repartizării conform vârstei sunt prezentate în figura 11.

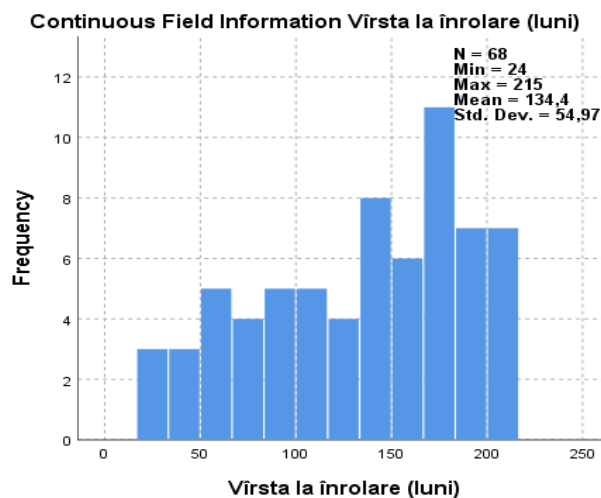


Figura 11. **Repartizarea pacienților conform vârstei (luni)**

De menționat că vârsta medie la înrolare în studiu pentru subiecții lotului de cazuri a fost 129,67 luni (DS = 52,46; Î 95%: 103,58 – 155,75), iar pentru lotul de control vârsta medie a constituit 127,94 luni (DS = 59,71; Î 95%: 106,41 – 149,47).

În același timp, în studiul realizat a fost făcută o analiză a formei clinice de diagnostic conform ILAR la subiecții înrolați. Astfel, s-a constatat, că în lotul de studiu au prevalat subiecții cu forma oligoarticulară, evoluție persistentă și constituiau 47,82% (11 cazuri) din numărul total al lotului, urmați de cei cu forma poliarticulară, seronegativă ce reprezentau 39,13% (9 subiecți) din numărul total al lotului de cazuri. În lotul de control însă formele clinice s-au oglindit cu valori de 48,9% (22 de cazuri) pentru cea poliarticulară, seronegativă, și câte 22,22% (10 cazuri) pentru formele oligoarticulară cu evoluție persistentă și cea sistemică cu artrită activă ( $\chi^2 = 6,789$ ; gl = 4; p = 0,147). Distribuția formelor clinice în cele două loturi și pentru întreg eșantionul este prezentată în figura 12.

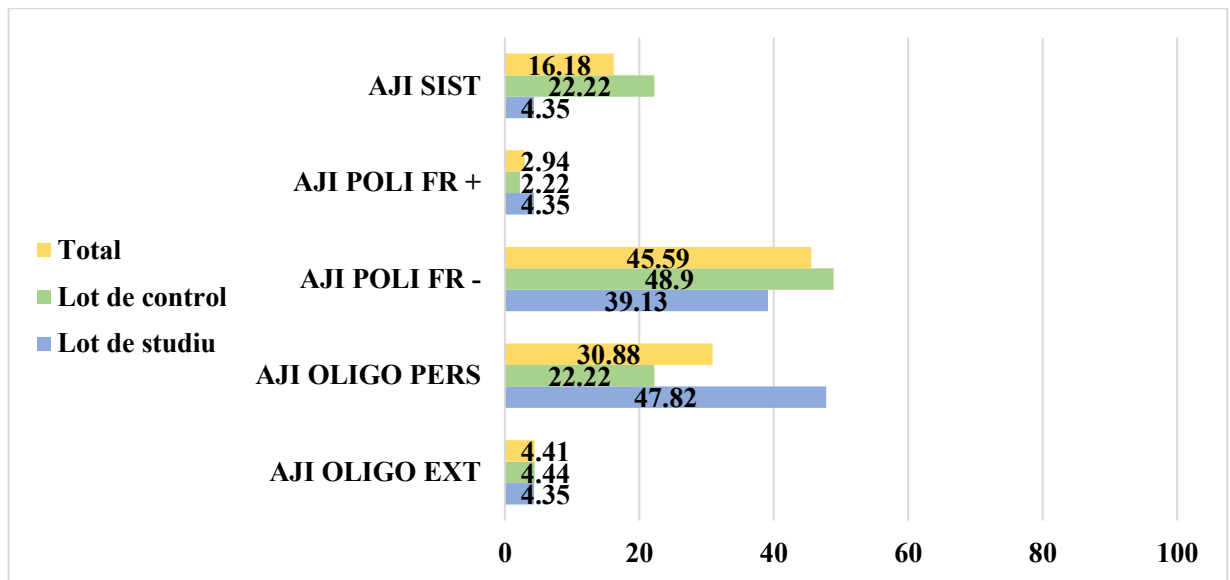


Figura 12. Repartizarea pacienților după forma clinică a AJI (%)

De asemenea, în studiu a fost făcută o analiză a duratei bolii la acești pacienți. Astfel, durata medie a maladiei de la stabilirea diagnosticului pentru lotul de studiu este de 48,5 luni (DS = 33,75; ÎÎ 95%: 31,72 – 65,28), în același timp, pentru lotul de control această valoare a constituit 55,66 luni (DS = 48,97; ÎÎ 95%: 38,00 – 73,31). Pentru subloturile de studiu au fost înregistrate media de 53,09 luni (DS = 34,57; ÎÎ 95%: 29,87 – 76,32) pentru subiecții cu polimorfism *MTHFR* compus, și, respectiv, – 41,29 luni (DS = 33,71; ÎÎ 95%: 10,11 – 72,47) la cei cu polimorfism homozigot după alela patologică.

La subiecții din ambele loturi a fost apreciată și durata administrării de *metotrexat*. În urma analizei datelor obținute, s-a constatat că subiecții din lotul de studiu prezintă o durată medie de administrare de preparat de 38,78 luni (DS = 35,94; ÎÎ 95%: 20,9 – 56,65), iar în lotul de control media timpului de administrare a constituit 35,03 luni (DS = 39,65; ÎÎ 95%: 20,73 – 49,33). Diapazonul cuprinde valoarea minimă de 6 luni și extrema de 159 de luni. Rezultatele repartizării conform duratei de administrare a MTX sunt prezentate în figura 13.

Datele antropometrice a subiecților din studiu au arătat o valoare medie a masei corporale de 36,38kg (DS = 15,76; ÎÎ 95%: 28,55 – 44,22) pentru lotul de cazuri, astfel, această valoare se situează la o medie centilică de 44,17 (DS = 31,08; ÎÎ 95%: 28,71 – 59,62), constituind un lot de copii normoponderali. Pentru lotul de control, valoarea medie a masei corporale a subiecților a constituit 33,25kg (DS = 15,76; ÎÎ 95%: 27,57 – 38,94), care se încadrează la nivelul culoarului centilic 30,84 (DS = 28,53; ÎÎ 95%: 20,56 – 41,13). Valorile extreme absolute pentru culoarele centilice a masei corporale sunt practic similare pentru ambele loturi și sunt reprezentate în figura 14.

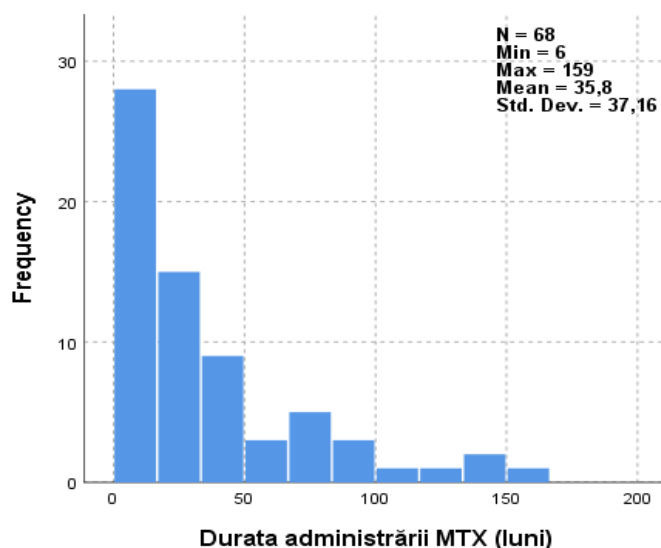


Figura 13. Repartizarea pacienților conform duratei de administrare a MTX (luni)

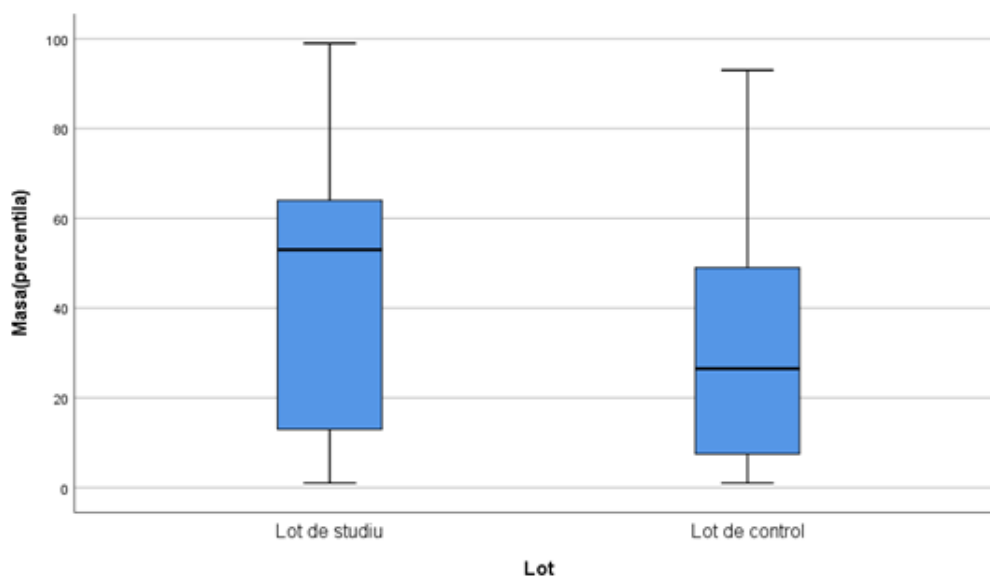


Figura 14. Distribuția valorilor centile de masă corporală la pacienții ambelor loturi (%)

Talia pacienților din lotul de studiu a alcătuit o valoare medie de 139,19 cm (DS = 26,01; Î 95%: 126,25 – 152,13) și s-a plasat în culoarul centilec mediu 47,28 (DS = 33,07; Î 95%: 30,83 – 63,73), așadar, acești copii sunt de statură normală cu o dezvoltare armonioasă. Lotul de control a înregistrat valori medii ale taliei subiecților de 135,25 cm (DS = 28,91; Î 95%: 124,82 – 145,67), care se poziționează la valoarea medie centilică 36,78 (DS = 33,63; Î 95%: 24,66 – 48,91). Analog rezultatelor obținute pentru masa corporală, observăm valorile extreme centile ale taliei similare pentru lotul de cazuri și de control, fiind afișate în figura 15.



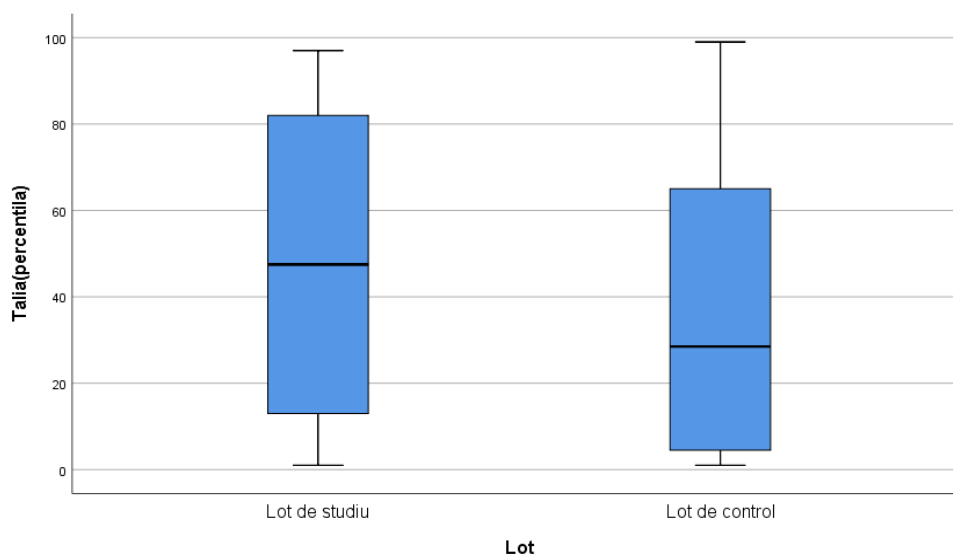


Figura 15. Distribuția valorilor centile de talie la pacienții ambelor loturi (%)

Comorbiditățile pot avea o influență semnificativă asupra prezentării, evoluției și prognosticului AJI. Astfel, subiecții din studiu au fost verificați și analizați pentru afecțiunile comorbide raportate la momentul inițial de stabilire a diagnosticului și introducerii tratamentului. Pentru lotul de cazuri și de control se raportează 55,57% (12 subiecți) și, respectiv, 73,91% (22 de subiecți) fără afecțiuni comorbide.

În afară de patologia tractului gastrointestinal, exprimată prin diagnosticul stabilit de gastrită cronică în 20,01% (4 cazuri) pentru lotul de studiu și 17,39% (9 cazuri) pentru lotul de control, uveita a fost înregistrată în 20,01% (4 cazuri) și 2,22% (1 caz) din loturile respective și, nu în ultimul rând, obezitatea fiind exprimată în lotul de studiu prin 8,70% (2 cazuri) și în lotul de control prin 2,22% (1 caz), ( $\chi^2 = 12,00$ ;  $gl = 15$ ;  $p = 0,679$ ).

Pentru fiecare din polimorfismele patologice studiate, aceste comorbidități, și anume patologia gastrică și oftalmologică, s-au repartizat identic a câte 8,69% (2 cazuri) pentru fiecare, în schimb pacienții care sufereau de obezitate au fost depistați cu varianta polimorfă compusă pentru *MTHFR* ( $\chi^2 = 3,40$ ;  $gl = 4$ ;  $p = 0,492$ ).

Au existat diferențe legate de sexul subiecților. Aspectele specifice genului ar trebui luate în considerare privind diagnosticul și tratamentul AJI, în special pentru subiecții care urmează terapia combinată cu GCS. Datele sunt expuse în figura 16.

A fost înregistrată prezența patologiei tractului gastrointestinal în rândul pacienților cu AJI forma poliarticulară, varianta seronegativă în 11,76% (8 cazuri), cât și în rândul celor cu forma oligoarticulară, evoluție persistentă 4,41% (3 cazuri). Din complicațiile extraarticulare, se remarcă uveita cu o pondere de 7,35% (5 cazuri) pentru subiecții din loturile de cercetare, care au fost diagnosticați cu AJI forma oligoarticulară de evoluție persistentă. Din numărul total de subiecți înrolați în studiu, 50% (34 de subiecți) nu au înregistrat anumite comorbidități sau complicații,

dintre aceștia 52,2% (12 subiecți) (ÎÎ 95%: 31,8 – 73,1) sunt din lotul de cazuri, iar 48,9% (22 de subiecți) (ÎÎ 95%: 35,6 – 62,5) fac parte din lotul de control.

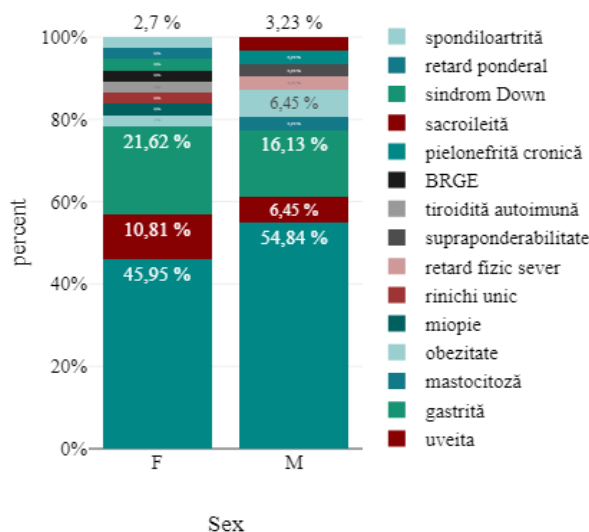


Figura 16. Distribuția afecțiunilor comorbide în dependență de sexul pacienților (%)

Examenului fizic al pacienților din studiu s-a axat pe evidențierea și analiza existenței artralgiei, a prezenței redorii matinale și duratei sale, a numărului de articulații dureroase și aprecierii gradului durerii, conform scării vizuale analoge. De asemenea, au fost înregistrate existența tumefierii articulare și a numărului articulațiilor tumefiate.

În acest mod, artralgiile și redoarea matinală au fost înregistrate la 6,7% (3 subiecți) (ÎÎ 95%: 0 – 14,6) ai lotului de control și la toți subiecții lotului de bază ( $\chi^2 = 56,14$ ;  $gl = 1$ ,  $p < 0,001$ ). Durata redorii matinale a înscris o valoare medie de 115,00 minute (DS = 65,28; ÎÎ 95%: 82,54 – 147,46), iar pentru grupul de control – 2,81 minute (DS = 8,88; ÎÎ 95%: 0 – 6,02).

Numărul articulațiilor dureroase a înregistrat valoarea medie 3,39 (DS = 2,81; ÎÎ 95%: 1,99 – 4,79) articulații pentru lotul de cazuri. Valoarea medie înregistrată în grupul de control a constituit 0,44 (DS = 1,50; ÎÎ 95%: 0 – 0,98) articulații. Distribuția acestor valori este reprezentată în figura 17. Durerile au fost evaluate conform scării metrice vizuale și au constituit o valoare medie de 56,11 mm (DS = 18,19; ÎÎ 95%: 47,06 – 65,16) pentru lotul de cazuri, și, respectiv, media de 1,56 mm (DS = 5,14; ÎÎ 95%: 0 – 3,42) pentru lotul de control. De menționat că extrema superioară pentru lotul de cazuri a fost net elevată față de cea din lotul de control (80 mm vs. 20 mm).

În continuare, a fost analizată prezentarea pacientului cu tumefiere articulară și s-au evidențiat 20% (9 subiecți) (ÎÎ 95%: 9,1 – 33,3) în lotul de control și toți pacienții grupului de cazuri ( $\chi^2 = 39,10$ ;  $gl = 1$ ;  $p < 0,001$ ). Dacă e să exprimăm cantitativ, acești subiecți prezintă o medie de 0,34 articulații (DS = 0,74; ÎÎ 95%: 0,08 – 0,61) versus 4,94 articulații (DS = 7,04; ÎÎ 95%: 1,44 – 8,45) în grupurile cercetate ( $F = 22,31$ ;  $p < 0,001$ ).

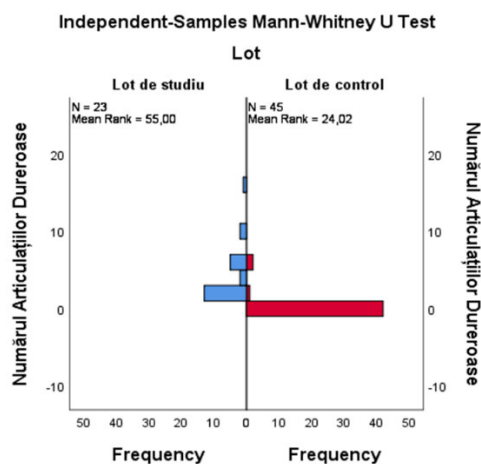


Figura 17. Distribuția numărului de articulații dureroase la pacienții lotului de studiu și de control

Am examinat dacă există diferențe în evaluările globale făcute de către medici și pacienți (figura 18) pentru eficacitatea terapeutică a medicamentelor antireumatice modificatoare ale bolii. Pentru pacienții cu varianta polimorfă C677T și A1298C compusă, a fost înregistrată valoarea medie de 59,09 mm (DS = 13,75; Î 95%: 49,85 – 68,33; Mediana = 50,00; IQR = 20), apreciată desinestătător, și 58,18 mm (DS = 13,28; Î 95%: 49,26 – 67,10; Mediana = 50,00; IQR = 20), apreciată de medic. Pentru pacienții la care a fost depistată varianta polimorfă T677T izolată, această valoare medie, stipulată de către copil sau tutelă, a constituit 64,29 mm (DS = 9,75; Î 95%: 55,26 – 73,31; Mediana = 60,00; IQR = 10), pe când din partea medicului, această valoare medie a constituit 65,71 mm (DS = 9,75; Î 95%: 56,69 – 74,74; Mediana = 70,00; IQR = 10).

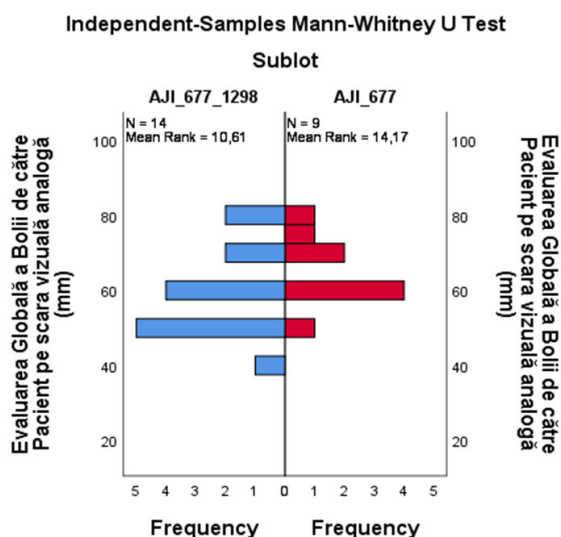


Figura 18. Distribuția nivelului global al bolii apreciate de pacienții lotului de studiu

În continuare s-a analizat dacă există factori de prognostic rezervat pentru pacienții din studiu. Factorii de prognostic sunt utilizați pentru deciziile de tratament în AJI. Activitatea înaltă a bolii, prezența precoce a eroziunilor și pozitivitatea autoanticorpilor sunt factorii de prognostic slab

utilizați, cel mai frecvent, dar sunt evaluate și alte caracteristici, cum ar fi dizabilitatea funcțională, boala extraarticulară sau multibiomarkerii. Factorii de prognostic sunt încorporați în recomandările actuale de tratament pentru managementul AJI și sunt utilizați ca și criterii de includere în studiile controlate randomizate. Pentru lotul de cazuri au fost menționați 91,3% (21 de subiecți) (ÎÎ 95%: 76,9 – 100), care au înregistrat cel puțin 1 factor de prognostic rezervat, iar în lotul de control - 13,3% (6 subiecți) (ÎÎ 95%: 4,3 – 23,4), ( $\chi^2 = 38,65$ ;  $gl = 1$ ;  $p < 0,001$ ), (OR = 68,25, ÎÎ 95%: 12,65 – 368,38).

Doi biomarkeri, asociați cu activitatea bolii în AJI, sunt proteina C reactivă (PCR) și VSH. PCR este o proteină de fază acută, produsă de ficat în cantități crescute în timpul inflamației. Deoarece originea inflamației nu este legată de creșterea PCR, aceasta nu poate fi utilizată cu ușurință pentru a distinge între o infecție și o inflamație sterilă din AJI. În studiul nostru, valoarea medie a acestui marker a constituit 20,52 mg/l (DS = 24,62; ÎÎ 95%: 8,27 – 3,76) pentru lotul de studiu și 21,72 mg/l (DS = 39,77; ÎÎ 95%: 7,38 – 36,06), ( $F = 0,03$ ;  $p = 0,850$ ).

Viteza de sedimentare a hematiilor reprezintă un alt marker general al inflamației, dar creșterea acestuia are loc mai târziu în timpul inflamației și poate fi încă prezentă atunci când inflamația este deja controlată. Prin urmare, VSH are mai puțină valoare pentru situațiile acute. Prezența crescută a proteinelor de fază acută în plasma sanguină a pacientului influențează viteza cu care eritrocitele se scufundă la fundul tubului. Pentru lotul de studiu valoarea medie a VSH a înregistrat valori de 12,11 mm/h (DS = 8,49; ÎÎ 95%: 7,89 – 16,33), iar pentru lotul de control – 17,16 mm/h (DS = 14,76; ÎÎ 95%: 11,83 – 22,48), ( $F = 2,29$ ,  $p = 0,134$ ) (figura 19).

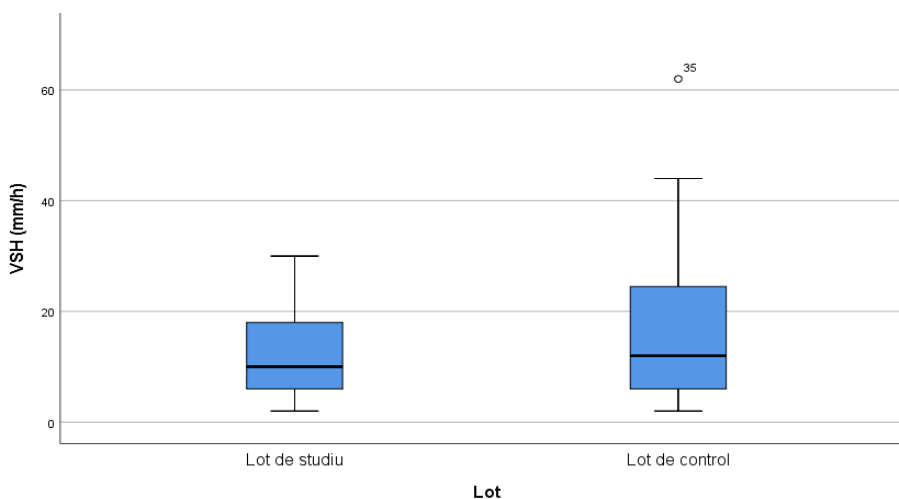


Figura 19. Distribuția valorilor VSH la pacienții ambelor loturi (mm/h)

Colegiul American de Reumatologie a dezvoltat consensul pentru tratamentul AJI, care încorporează, de asemenea, VSH și PCR ca biomarkeri. Creșterea prelungită a markerului inflamator este considerată o caracteristică de prognostic slab, iar unul dintre parametrii de activitate ridicată a bolii este nivelul VSH sau PCR mai mare de două ori de limita superioară a

normalului. Atât caracteristicile de prognostic slab, cât și activitatea ridicată a bolii ar putea justifica o abordare terapeutică mai agresivă.

Am studiat, de asemenea, și nivelul seric de fibrinogen, acesta fiind un factor cheie implicat în procesul de coagulare a sângelui în cascadă, iar depunerea fibrinei în articulații a fost identificată ca fiind caracteristică pentru AJI și AR și chiar poate fi responsabilă pentru formarea pannusului. Cu toate acestea, se știe puțin despre rolul predictiv al fibrinogenului din sângele periferic la pacienții cu AJI.

Valorile obținute în loturile de studiu au înregistrat o medie de 3,28 g/l (DS = 0,98; ÎÎ 95%: 2,79 – 3,77) și 3,16 g/l (DS = 0,85; ÎÎ 95%: 2,85 – 3,47). Majoritatea pacienților au înregistrat valori în limitele de normă care constituie 2 – 4 g/l, figura 20.

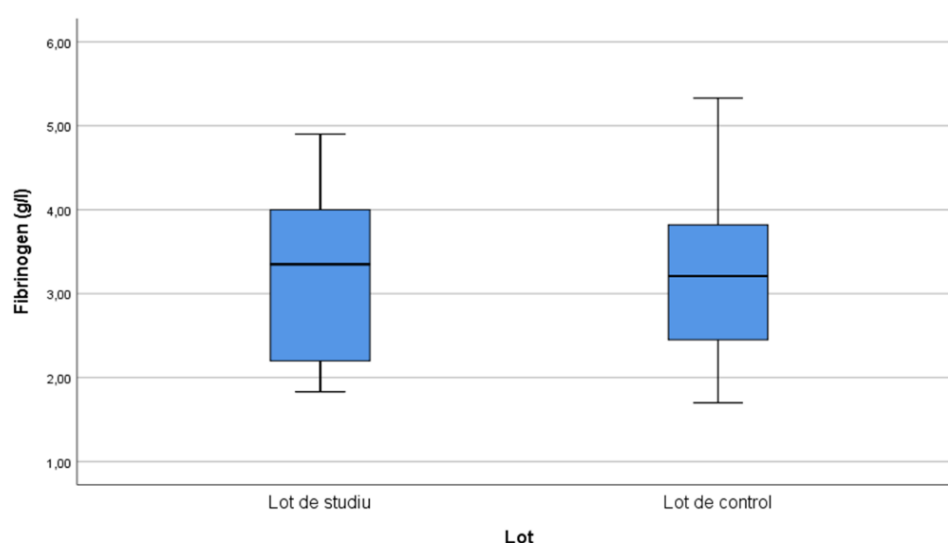


Figura 20. Distribuția valorilor fibrinogenului seric la pacienții ambelor loturi (g/l)

### 3.2. Analiza prezenței variantelor polimorfe în gena *MTHFR* la copiii cu artrită juvenilă idiopatică

În cadrul cercetării, subiecții inițial au fost investigați din punct de vedere genetic, pentru a determina polimorfismul prezent sau absent la copiii cu AJI care administrează *metotrexat* cel puțin 6 luni de zile. Astfel, în lotul de cazuri, 60,9% (14 subiecți) (ÎÎ 95%: 40 – 81) a fost notată varianta heterozigotă C/T iar la 39,1% (9 subiecți) (ÎÎ 95%: 19 – 60) - varianta polimorfă homozigotă a alelei patologice T (T/T) din locusul 677 a genei *MTHFR* ( $\chi^2 = 37,88$ ; gl = 2 ;  $p < 0,001$ ). Pentru locusul 1298, varianta heterozigotă A/C a fost determinată la 65,2% (15 subiecți) (ÎÎ 95%: 44,4 – 85), varianta homozigotă după alela normală A (A/A) – la 34,8% (8 subiecți) (ÎÎ 95%: 15 – 55,6), iar varianta homozigotă pentru alela patologică C (C/C) nu a fost determinată la nici un subiect pentru acest lot ( $\chi^2 = 4,03$ ; gl = 2;  $p = 0,133$ ). Rezultatele sunt reflectate în figura 21.

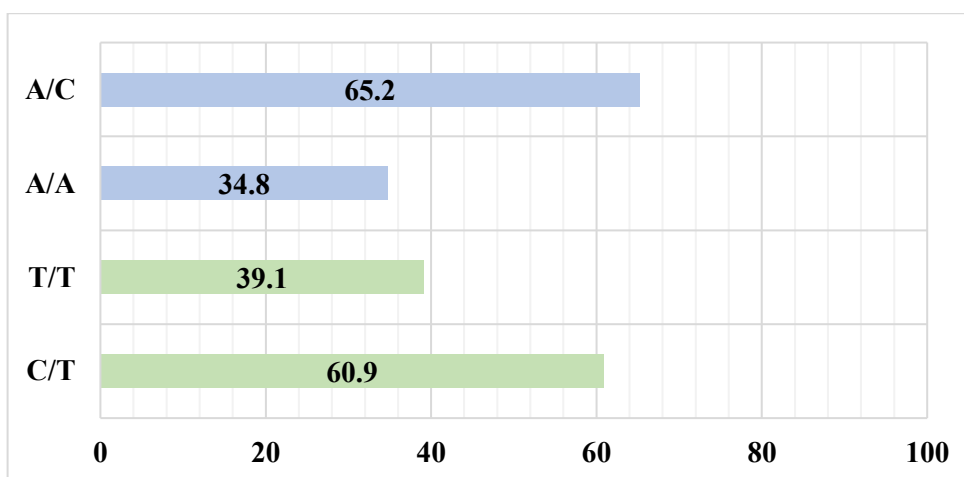


Figura 21. Repartizarea pacienților conform variantelor polimorfe determinate în lotul de studiu (%)

Comparativ cu distribuția cantitativă în locii analizați, varianta polimorfă heterozigot compusă a alelelor patologice T și C (C/T și A/C) din locii 677 și 1298 a fost determinată la 60,9% (14 subiecți), (ÎÎ 95%: 40 – 81).

De menționat că, în lotul de control s-a determinat o distribuție a variantei homozigote după alela normală C (C/C) în locusul 677, în valoare de 71,1% (32 de subiecți) (ÎÎ 95%: 57,5 – 84,4), precum și o valoare de 28,9% (13 subiecți), (ÎÎ 95%: 15,6 – 42,5) identificați cu polimorfism C/T al aceluiași locus. Pentru locusul 1298, variantele polimorfice au fost depistate după cum urmează: 51,1% (23 de subiecți), (ÎÎ 95%: 35,7 – 65,2) cu genotip homozigot normal A/A, 42,2% (19 subiecți), (ÎÎ 95%: 28,3 – 57,1) cu genotip heterozigot A/C, și, într-un final, genotipul homozigot cu ambele alele patologice C/C cu o valoare apreciată de 6,7% (3 subiecți), (ÎÎ 95%: 0 – 15,6). Rezultatele sunt reflectate în figura 22.

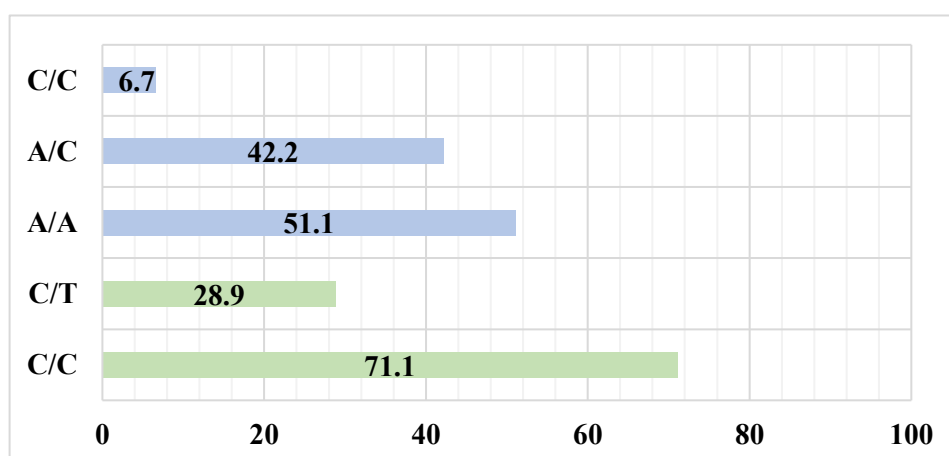


Figura 22. Repartizarea pacienților conform variantelor polimorfe determinate în lotul de control (%)

Este necesar de menționat că variantele polimorfe heterozigote izolate, ce includ alelele patologice T și C (C/T și A/C) din locii 677 și 1298, reprezintă o variantă de polimorfism al genei

*MTHFR*, care nu este luată în considerare în același context de exprimare a fenotipului clinic cercetat. Astfel, observăm o distribuție similară la toți pacienții fără variantele polimorfe T/T, C/T și A/C pentru lotul de control în cercetate. Rezultatele repartizării genotipice pe loturi, în funcție de tipul polimorfismului, sunt afișate în figura 23.

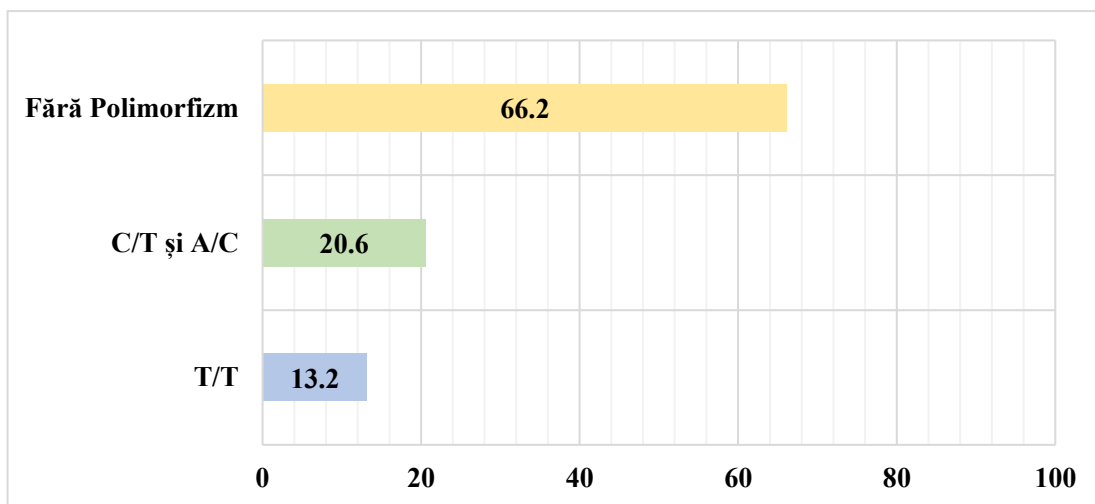


Figura 23. Repartizarea pacienților conform variantelor polimorfe în subloturi (%)

Lotul de cazuri cu număr absolut de 23 de subiecți a fost divizat în două subloturi, în funcție de varianta polimorfă, pentru a putea exprima fenotipul clinic al acestora în forma homozigotă T/T ( $\chi^2 = 20,29$ ;  $gl = 1$ ;  $p < 0,001$ ) sau heterozigotă C/T și A/C ( $\chi^2 = 34,49$ ;  $gl = 1$ ;  $p < 0,001$ ).

În scopul aprecierii eficacității testării polimorfismelor propuse, au fost examinate incidențele alelelor C și T, și respectiv A și C din locii 677 și 1298. Această examinare a permis determinarea nivelului genotipului homozigot după alela patologică T/T, precum și heterozigot C/T și A/C, care influențează apariția efectelor secundare ale tratamentului și răspunsul clinic la subiecții cu AJI din lotul de studiu.

Am utilizat formula Hardy-Weinberg pentru a calcula, cu o eroare acceptabilă, frecvențele alelice, plecând de la fenotipurile observate în populație pentru toate variantele genice apreciate în lotul de cazuri și control. Astfel, s-a notat că analiza repartizării frecvenței genotipurilor nu a determinat diferențe de la acest echilibru. Frecvența alelică la copiii cu AJI, înrolați în cercetare, a fost după cum urmează: C = 0,67, T = 0,33 și respectiv A = 0,71, C = 0,29. Frecvența genotipurilor cu distribuția pe loturi a fost facilitată de programele GENE-CALC și SCIENCE PRIMER, care reprezintă colecții de calculatoare și instrumente de conversie online a datelor, și este reprezentată în tabelul 2 (134,135).

Tabelul 2. **Comparația între genotipurile normale versus patologice în cele două loturi pentru polimorfismul *MTHFR***

Genotip <i>MTHFR</i>	Lot de cazuri Nr teoretic	Echilibru Hardy-Weinberg	$\chi^2$	p	Lot de control Nr teoretic	Echilibru Hardy-Weinberg	$\chi^2$	P
677 C/C	2,13	0,09	4,40	0,11	32,94	0,73	1,28	0,53
677 C/T	9,74	0,43			11,12	0,25		
677 T/T	11,13	0,48			0,94	0,02		
1298 A/A	10,45	0,45	5,38	0,07	23,47	0,52	0,12	0,94
1298 A/C	10,11	0,44			18,06	0,40		
1298 C/C	2,45	0,11			3,47	0,08		

Pentru a preveni supraestimarea semnificației statistice pentru datele mici, în condițiile în care unele valori tabelare au fost sub limita de 5, a fost utilizat testul  $\chi^2$  după Yate. Respectiv, pentru lotul de cazuri la polimorfismele din locusul 677 a fost obținută o valoare Yate  $\chi^2 = 2,94$  și Yate  $p = 0,23$ , iar pentru locusul 1298 o valoare Yate  $\chi^2 = 3,81$  și Yate  $p = 0,15$ . Pentru lotul de control, valorile Yate  $\chi^2 = 0,38$  și Yate  $p = 0,83$  și, de asemenea, Yate  $\chi^2 = 0,01$  și Yate  $p = 0,99$ , pentru locii 677 și 1298.

### 3.3. Evaluarea clinică (JADAS-71; indicelui ACR pedi 30; DAS28 și chestionarului MISS (Methotrexate Intolerance Severity Score). Corelarea eficacității clinice și paraclinice în funcție de varianta polimorfă a genei *MTHFR* la copiii cu AJI

În continuare, a fost analizată activitatea clinică a bolii prin intermediul scorului JADAS-71. Scorul a fost apreciat la toți pacienții incluși în studiu. În urma analizei datelor obținute, s-a constatat că subiecții cu valori înalte ale activității bolii au constituit majoritatea în lotul de studiu. În tabelul 3 sunt reprezentate valorile extreme ale activității bolii, care sunt practic de 2,5 ori mai mari în lotul de cazuri.

Tabelul 3. **Scorul JADAS-71 la pacienții incluși în studiu în funcție de lot (puncte)**

JADAS-71	Lotul de studiu n=23	Lotul de control n=45	Total n=68
Media (DS)	17,78 (7,85)	4,32 (2,82)	8,95 (8,05)
Mediana (IQR)	16,10 (7,9)	3,50 (3,9)	5,7 (10,33)
Minimum -Maximum	9,1 - 37,0	2,0 - 14,0	2,0 - 37,0
F; p			118,60; <0,001

Dacă ne referim la loturile generale de studiu, prin intermediul testului Mann-Whitney U, susținem ipoteza alternativă privind punctajul obținut pentru aprecierea activității bolii prin JADAS-71 la pacienții cu polimorfism genetic, astfel observăm curbele de distribuție din figura 24.



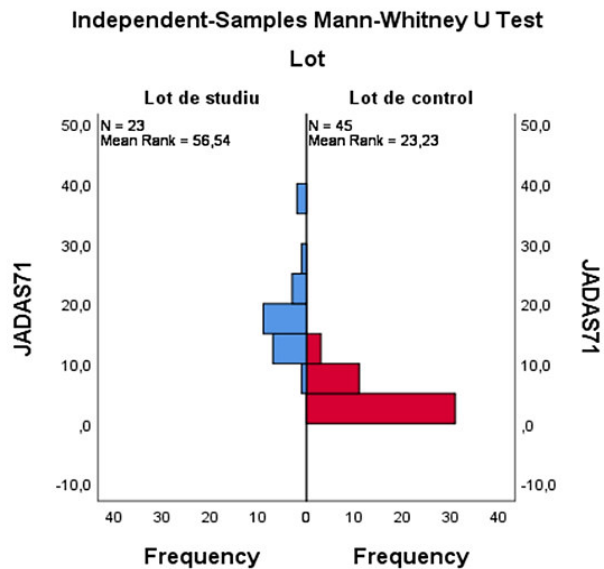


Figura 24 Distribuția scorului JADAS-71 pe loturi

De asemenea, dintre subiecții cu valori joase ale activității bolii, conform JADAS-71, 13,33% (6 cazuri) se aflau la monoterapia cu MTX, aceștia fiind homozigoți după alela normală. În cadrul monoterapiei cu MTX, JADAS-71 a înregistrat valori înalte la 8,7% (2 subiecți) (Î 95%: 0 – 22,2) cu polimorfism heterozigot compus.

Totodată, la distribuția statistică pentru polimorfismul compus și acel mononucleotidic, susținem ipoteza nulă, astfel nu se înregistrează o diferență statistică față de această variabilă ( $p=0,899$ ), figura 25.

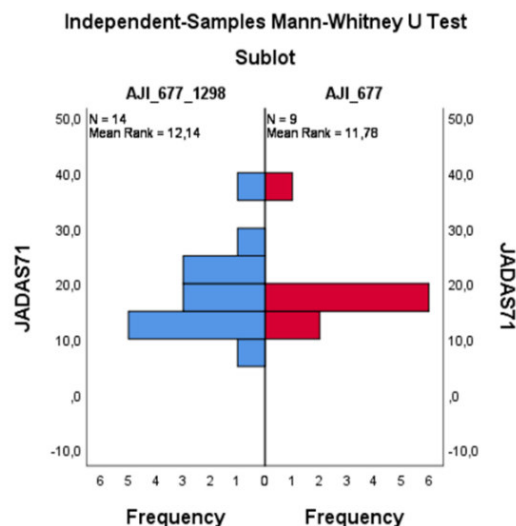


Figura 25. Distribuția scorului JADAS-71 în subloturi

Am stabilit că valoarea  $JADAS-71 \geq 11$  este o valoare de prag, care poate fi utilizată pentru identificarea cazurilor potențiale cu varianta polimorfă a *MTHFR*. În tabelul 4 de contingență se evidențiază sensibilitatea testării la nivelul de 95,7%, specificitatea fiind de 95,3% ( $\chi^2 = 53,62$ ;  $gl = 1$ ;  $p < 0,001$ ).

Tabelul 4. Tabelul de contingență pentru JADAS-71

JADAS-71		Lot		Total
		Lot studiu	Lot control	
≥11	Count	22 <sub>a</sub>	2 <sub>b</sub>	24
	% within Lot	95,7%	4,7%	36,4%
<11	Count	1 <sub>a</sub>	41 <sub>b</sub>	42
	% within Lot	4,3%	95,3%	63,6%
Total	Count	23	43	66
	% within Lot	100,0%	100,0%	100,0%

Curba ROC, construită în bază relației sensibilitate–specificitate, are valori relevante AUC=0,98 (ÎI 95%: 0,97 - 1,00, p<0,001), fapt ce confirmă corectitudinea relației stabilite. Prin urmare, se recomandă testarea polimorfismului genetic al genei *MTHFR* în cazul tratamentului cu MTX și persistenței gradului înalt al activității bolii la pacienții cu AJI, figura 26.

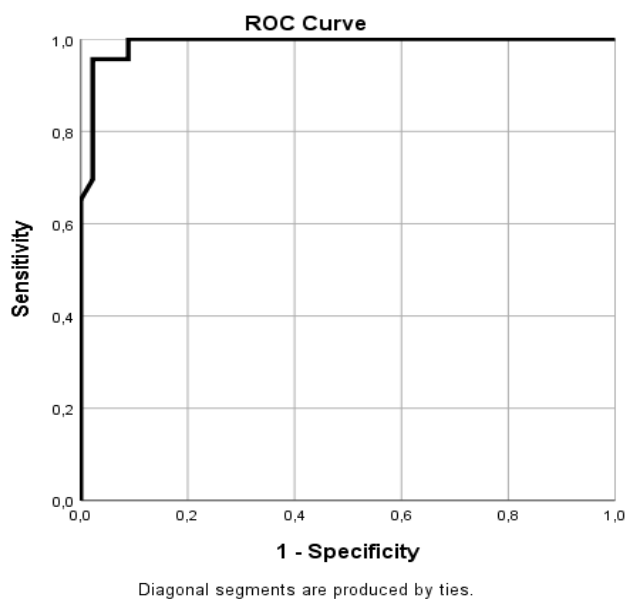


Figura 26. Curba ROC de evaluare diagnostică a JADAS-71

Efectul clinic apreciat prin scorul ACR Pedi 30 a fost marcat la 26 din 68 (38,23%) de subiecți, care au administrat MTX. Printre subiecții la care s-a atins efectul clinic, doar 5 (7,35%) pacienți se aflau la monoterapie cu MTX. Ambii subiecți (14,3%; 95% ÎI: 0 – 35,7) din lotul de studiu, la care s-a înregistrat ameliorare clinică, administrau terapie combinată cu glucocorticosteroizi (figura 27).

Șansa de a avea un rezultat mai mic de 30% la scorul ACR Pedi 30 este 12 ori mai mare pentru pacienții din lotul de studiu (OR = 12,0, ÎI 95%: 2,5 – 57,3).

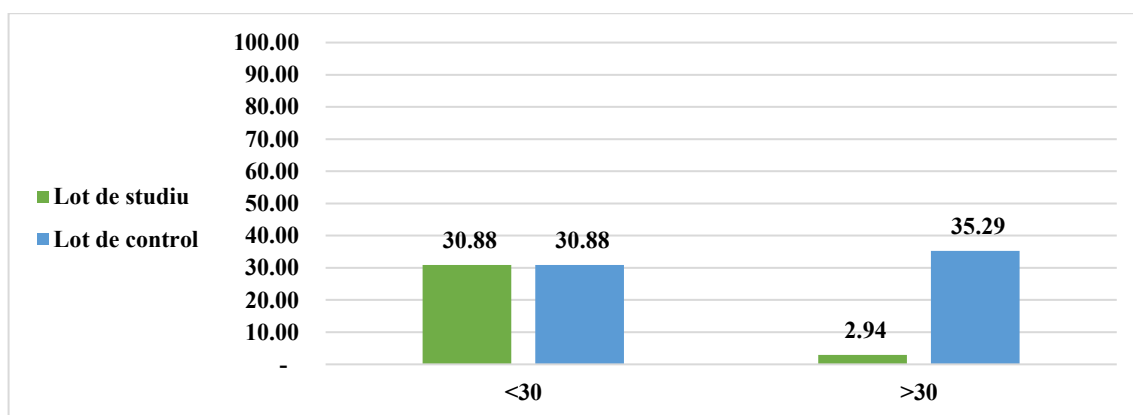


Figura 27. Distribuția răspunsului terapeutic conform ACR Pedi 30 pe loturi (%)

Simultan, a fost evaluată activitatea clinică prin intermediul scorului DAS28. Acest scor este pe larg utilizat atât în reumatologia adultului, cât și în pediatrie. După prelucrarea datelor obținute, s-a constatat o valoare medie a scorului de 3,91 (95% ÎI: 3,51 – 4,32) pentru lotul de studiu, ceea ce corespunde activității moderate a bolii. În tabelul 5, se observă decalajul mediei pentru lotul de control, acesta constituind 2,15 (95% ÎI: 1,83 – 2,46), care corespunde remisiunii bolii.

Tabelul 5. Scorul DAS28 la pacienții incluși în studiu în funcție de lot (puncte)

DAS28	Lotul de studiu n=23	Lotul de control n=45	Total n=68
Media (DS)	3,91 (0,81)	2,15 (0,86)	2,74 (1,19)
Mediana (IQR)	3,98 (1,14)	2,08 (1,24)	2,49 (1,89)
Minimum – Maximum	2,45 – 5,60	0,70 – 4,86	0,70 – 5,60
F; p			83,44; <0,001

Dacă ne referim la distribuția gradului de activitate a bolii în loturile generale, observăm predominarea activității moderate a bolii în lotul de studiu, contrar remisie exprimate în lotul de control ( $p < 0,001$ ;  $\chi^2 = 39,59$ ) (figura 28).

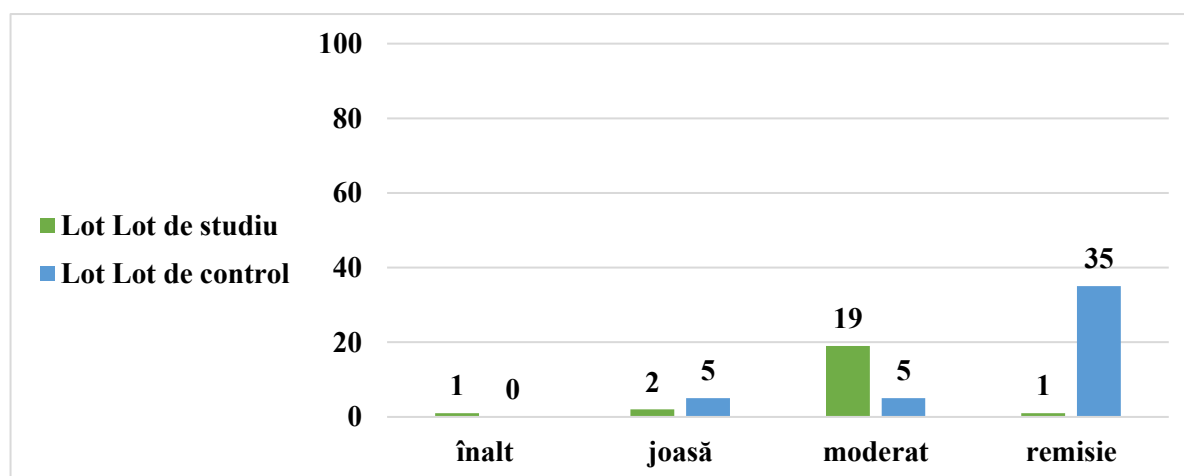


Figura 28. Repartizarea gradului activității bolii pe loturi (%)

De asemenea, a fost studiată corelația dintre gradul de activitate a maladii după DAS28 și durata bolii subiecților aflați la tratamentul cu MTX. Aceasta s-a dovedit a fi statistic ne semnificativă ( $r = 0,05$ ;  $p < 0,687$ ).

Am utilizat din nou testul Mann-Whitney U, prin care susținem ipoteza alternativă privind scorul obținut pentru aprecierea gradului activității bolii prin DAS28 la pacienții cu polimorfism genetic. Astfel, observăm curbele de distribuție din figura 29, care poartă caracter diferit de locație și formă ( $p < 0,001$ ).

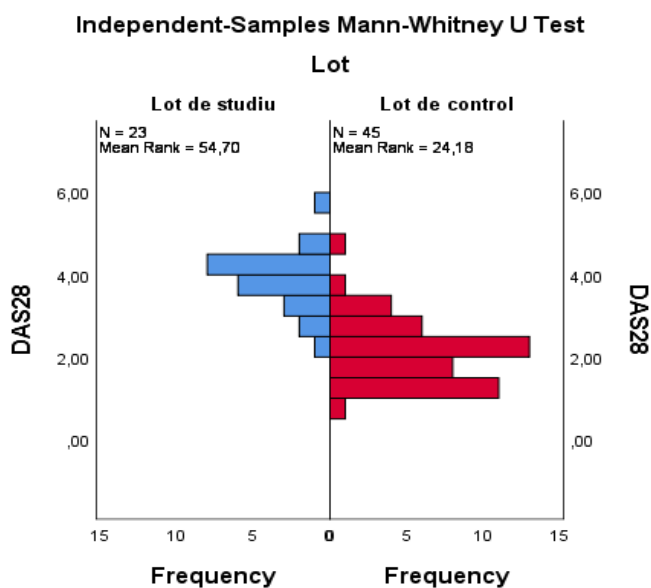


Figura 29. Distribuția scorului DAS28 pe loturi

Analiza a stabilit că valoarea  $DAS28 \geq 3,245$  este o valoare de prag, care poate fi folosită pentru identificarea cazurilor potențiale cu varianta polimorfă. În tabelul 6 de contingență, se evidențiază sensibilitatea testării la nivelul de 87,0%, specificitatea fiind de 93,3% ( $\chi^2 = 43,83$ ;  $p < 0,001$ ).

Tabelul 6. Tabelul de contingență pentru DAS28

DAS28		Lot		Total
		Lot studiu	Lot control	
$\geq 3.245$	Count	20 <sub>a</sub>	3 <sub>b</sub>	23
	% within Lot	87,0%	6,7%	33,8%
$< 3.245$	Count	3 <sub>a</sub>	42 <sub>b</sub>	45
	% within Lot	13,0%	93,3%	66,2%
<b>Total</b>	Count	23	45	68
	% within Lot	100,0%	100,0%	100,0%

Curba ROC, construită în bază relației sensibilitate–specificitate, are valori relevante  $AUC = 0,949$  (ÎI 95%: 0,89 - 1,00,  $p < 0,001$ ), fapt ce confirmă corectitudinea relației stabilite. Prin

urmare, este recomandată testarea polimorfismului genetic al genei *MTHFR* în cazul continuării tratamentului cu MTX și persistenței gradului înalt al activității bolii la pacienții cu AJI, figura 30.

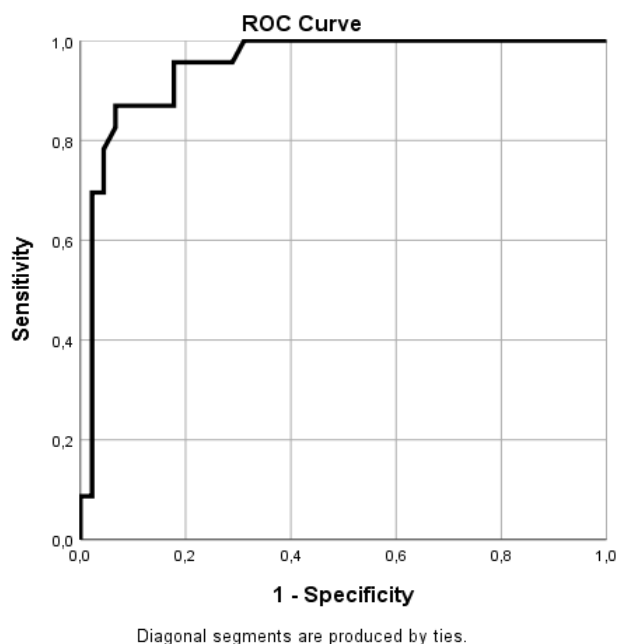


Figura 30. Curba ROC de evaluare diagnostică a DAS28

A fost măsurată intoleranța la *metotrexat*, utilizând chestionarul MISS (Methotrexate Intolerance Severity Score). Acest scor permite să apreciem neinvaziv toxicitatea gastrointestinală prin intermediul chestionarului de lucru, prin intervierea directă a subiecților. Toți subiecții din loturile generale au completat chestionarul. După prelucrarea rezultatelor obținute, s-a constatat o valoare medie a scorului de 10,22 (Î 95%: 8,73 – 11,71) pentru lotul de studiu, ce reprezintă criteriu cert pentru definirea intoleranței gastrointestinale la MTX. În tabelul 7, se observă disproporția mediei acestui scor în lotul de control, acesta constituind 2,84 (Î 95%: 2,29 – 3,40), care nu corespunde definirii intoleranței conform MISS.

Tabelul 7. Scorul MISS la pacienții incluși în studiu în funcție de lot (puncte)

MISS	Lotul de studiu n=23	Lotul de control n=45	Total n=68
Media (DS)	10,22 (3,00)	2,84 (1,54)	5,32 (4,25)
Mediana (IQR)	9,50 (5,0)	3,0 (2,0)	4,0 (6,0)
Minimum - Maximum	7,0 – 18,0	0 – 6,0	0 – 18,0
	F; p		210,62; <0,001

Testul Mann-Whitney U în cazul dat confirmă ipoteza alternativă privind scorul obținut pentru aprecierea intoleranței la MTX la pacienții cu polimorfism genetic. Curbele de distribuție din figura 31 sunt cu caracter diferit de locație și formă ( $p < 0,001$ ).

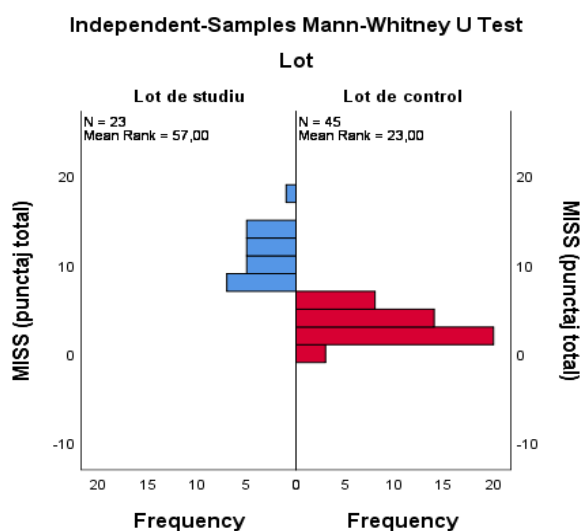


Figura 31. Distribuția scorului MISS pe loturi

În cazul aplicării indicilor și scorurilor pentru aprecierea eficacității clinice, o legătură liniară medie după Pearson au înregistrat-o subiecții lotului de studiu cu varianta polimorfă *MTHFR* compusă, în urma aprecierii valorii numerice a scorului JADAS-71 și, respectiv, DAS28. În același timp, cea mai slabă legătură liniară Pearson este înregistrată de către pacienții lotului de studiu cu aceeași varianta polimorfă, fiind apreciat indicele ACR Pedi 30 ( $p=0,039$ ). Diferența dintre subiecții cu varianta polimorfă homozigotă după alela patologică are valoarea slabă a legăturii lineare după Pearson, pentru utilizarea scorurilor JADAS-71 și DAS28, ceea ce denotă o capacitate predictorie discret inferioară a celor cu varianta polimorfă heterozigotă compusă. Această valoare denotă, de asemenea, o diferență cantitativă substanțială între subiecții cu diferite tipuri de variantă polimorfă din lotul de studiu. Carența dovezii statistice, și anume a legăturii liniare puternice, este cauzată de numărul mic de subiecți în subloturi, complexitatea testelor, precum și de variabilitatea în timp a indicilor și scorurilor pentru fiecare subiect din studiu. Rezultatele înregistrate sunt prezentate în tabelul 8.

Tabelul 8. Asocierea dintre scorurile de apreciere a activității bolii și polimorfismul genetic

Scoruri de activitate a bolii	Varianta polimorfă cercetată a genei	indice Pearson	p
JADAS - 71	<i>MTHFR</i> homozigot TT	,436**	<0,001
	<i>MTHFR</i> compus	,581**	<0,001
ACR Pedi 30	<i>MTHFR</i> homozigot TT	-,307*	0,011
	<i>MTHFR</i> compus	-,251*	0,039
DAS28	<i>MTHFR</i> homozigot TT	,409**	0,001
	<i>MTHFR</i> compus	,532**	<0,001

În același timp, au fost obținute rezultate paradoxale, după indicatorul calitativ al gradului de activitate a bolii exprimat prin DAS28, care au fost observate doar în cazul subiecților, care intră în categoria variantei polimorfe compuse, la care indicele Pearson este  $-0,388^{**}$  ( $p=0,001$ ), comparativ cu subiecții homozigoți după alela patologică, care au înregistrat un indice Pearson  $-0,192$  ( $p=0,117$ )

Această constatare, cu regret, nu are o susținere statistică, deoarece nu are o tendință statistic semnificativă. Acest lucru poate fi explicat prin faptul că numărul de subiecți nu este suficient de mare pentru a face o concluzie statistică mai generală. După testul Mann-Whitney U în grupele independente din figura 32:  $U = 61,500$ ,  $p=0,925$ . De asemenea, testul Pearson Chi-Squared  $\chi^2 = 3,665$ ,  $p = 0,300$

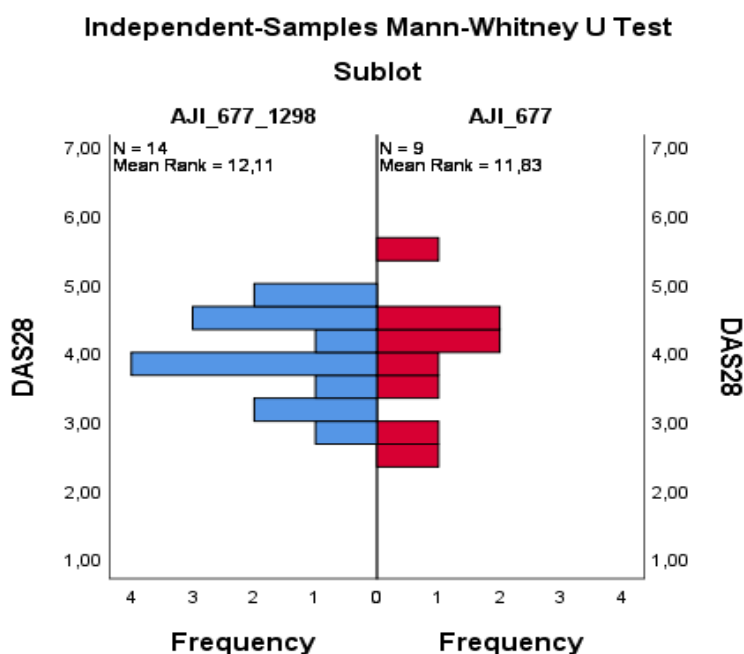


Figura 32. Distribuția scorului DAS28 în subploturi

### 3.4. Evaluarea toxicității hepatice a MTX la pacienții cu AJI în funcție de variantele polimorfe în gena *MTHFR*

Datorită determinării precoce a intoleranței clinice și eficacității joase în urma terapiei cu MTX la subiecții din studiu, s-a propus aprecierea valorilor markerilor tradiționali, care indică instalarea injuriei hepatice medicamentoase. Printre aceștia se enumeră valoarea bilirubinei totale, a alaninaminotransferazei, a aspartataminotransferazei și a fosfatazei alcaline.

Pentru lotul de studiu și lotul de control au fost apreciate valorile markerilor de mai sus, rezultatele fiind expuse în tabelele 9 și 10.

Tabelul 9. **Markerii hepatici tradiționali apreciați în lotul de studiu**

Indicatori	Bilirubina totală (μmol/l)	Fosfataza alcalină (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)
Media (DS)	10,02 (2,49)	377,06 (104,47)	23,20 (16,61)	29,83 (15,57)
Mediana (IQR)	9,55 (3,2)	351,00 (142)	16,95 (9,9)	29,10 (16,1)
Minimum-Maximum	5,7 – 16,0	198,0 – 594,0	8,3 – 75,0	14,6 – 81,0
Î 95%	8,78 - 11,26	325,10 - 429,01	14,93 - 31,46	22,08 - 37,57

Tabelul 10. **Markerii hepatici tradiționali apreciați în lotul de control**

Indicatori	Bilirubina totală (μmol/l)	Fosfataza alcalină (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)
Media (DS)	10,39 (4,42)	347,91 (136,14)	20,38 (25,30)	21,68 (10,43)
Mediana (IQR)	9,05 (3,2)	325,0 (213,0)	13,80 (7,7)	20,0 (8,0)
Minimum-Maximum	3,4 – 31,0	137,0 – 621,0	7,0 – 150,0	10,3 – 60,0
Î 95%	8,79 - 11,98	298,82 - 396,99	11,25 - 29,50	17,92 - 25,44

Pentru transaminazele hepatice se observă un decalaj substanțial al valorilor minime și maxime, care practic se regăsesc sub tripla valoare acceptată de NASPHGAN, care recomandă interpretarea ALT în baza limitelor superioare specifice sexului pacientului (22 U/L pentru fete și 26 U/L pentru băieți). Raportul după sexe a pacienților din lotul de studiu prezintă ALT peste valoarea normală, expus în figura 33.

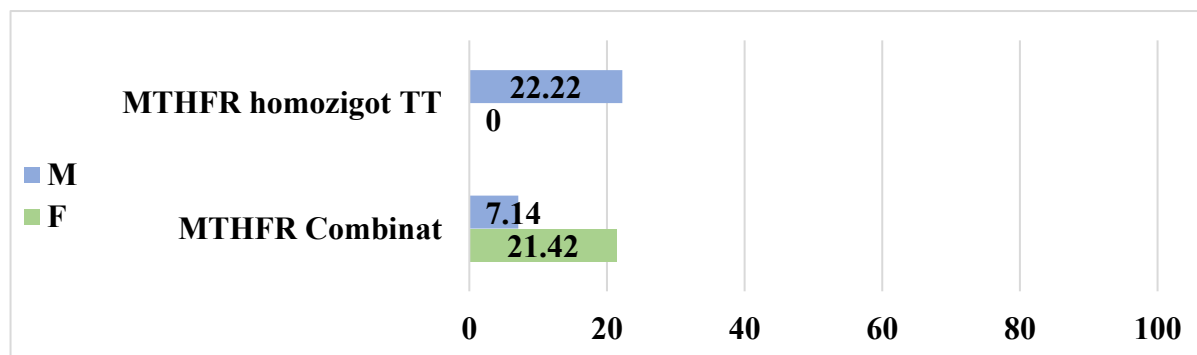


Figura 33. **Repartizarea după sexe a pacienților în funcție de ALT (%)**

Datele sunt aparent similare și pentru subiecții din lotul de control, cu excepția valorii maxime pentru ALT, care a fost înregistrată la un singur pacient (1,47%) din cadrul studiului.

Deci, pacienții cu AJI, care administrează MTX și se prezintă cu polimorfism al genei *MTHFR*, nu înregistrează valori nesemnificativ diferite ale markerilor tradiționali, în comparație cu cei fără polimorfism.

În continuare, vectorul cercetării a fost îndreptat spre detalierea evaluării toxicității gastrointestinale, și în particular a toxicității hepatice, întrucât prezintă semne clinice comune de sistem. Astfel, au fost cercetate și apreciate simptomele anticipatorii, asociative și comportamentale ale scorului MISS, care în raport cu polimorfismul genetic prezintă relații



semnificativ statistice. Cele din urmă sporesc puterea diagnostică a testării acestor variante polimorfe, chiar și anterior inițierii terapiei cu MTX.

La capitolul durere abdominală după administrarea de MTX, în lotul de studiu 11 (47,8%; ÎI 95%: 26,9 - 70,0) respondenți au caracterizat-o de intensitate ușoară, iar 12 (52,2%; ÎI 95%: 30,0 - 73,1) – de intensitate moderată. În lotul de control, 16 (35,6%; ÎI 95%: 21,4 - 51,0) subiecți au manifestat dureri abdominale de intensitate ușoară, iar 29 (64,4%; ÎI 95%: 49,0 - 78,6) – nu au acuzat dureri abdominale.

Un alt simptom, identificat după administrarea preparatului, a fost greața (nausea), aceasta în lotul de bază fiind de intensitate ușoară la 9 (39,1%; ÎI 95%: 20,0 - 60,0) pacienți și de intensitate moderată la 5 (21,7%; ÎI 95%: 5,3 - 41,4) pacienți. Nausea a fost absentă la 9 (39,1%; ÎI 95%: 19,3 - 59,3) subiecți. Pentru lotul de control s-a înregistrat un număr de 7 (15,6%; ÎI 95%: 5,3 - 27,5) subiecți, care au manifestat greață de intensitate ușoară. În total, în grupul martor, 38 (84,4%; ÎI 95%: 72,5 - 94,7) de pacienți nu au prezentat greață după medicație.

Voma la subiecții analizați în grupul de cazuri a fost apreciată în calitate de simptom de intensitate ușoară de către 6 (26,1%; ÎI 95%: 8,7 - 44,8) subiecți, și, respectiv, de intensitate moderată de către 4 (17,4%; ÎI 95%: 3,7 - 33,3) subiecți. Nu au prezentat vomă după administrarea de MTX - 13 (56,5%; ÎI 95%: 37,0 - 77,8) respondenți. În lotul de control, a fost înregistrat 1 (2,2%; ÎI 95%: 0 - 7,7) pacient cu vomă de intensitate ușoară după MTX, respectiv, restul pacienților incluși în studiu nu prezintă acest simptom post-administrare.

În plus, pacienții pot dezvolta simptome anticipative, care apar înainte de aportul de MTX, și simptome asociative, atunci când pacienții se gândesc la medicament, precum și simptome comportamentale. Aceste efecte adverse apar ca răspuns la simptomele anterioare experimentate de pacienții tratați cu MTX și nu sunt adesea evidente clinic; prin urmare, acestea sunt adesea gestionate inadecvat. Deși suplimentarea cu acid folic în timpul tratamentului cu MTX poate reduce astfel de efecte, mulți pacienți întrerup tratamentul, lucru care afectează negativ controlul bolii și calitatea vieții. Rezultatele obținute la prelucrarea datelor din chestionar sunt afișate în tabelul 11.

S-a constatat că factorul predominant, care direcționează intoleranța la MTX, sunt factorii comportamentali, așa cum se arată în diagrama radar din figura 34.

În cadrul acestei cercetări s-a încercat analiza structurii morfologice a ficatului, ca urmare a evenimentelor de toxicitate și intoleranță medicamentoasă în AJI. Metodele imagistice non-invazive, cu o specificitate și sensibilitate oportună pentru populația pediatrică în acest aspect, este ecografia standard 2D și elastografia tranzitorie unidimensională (FibroScan).

Ecografia 2D a ficatului nu a demonstrat diferențe semnificativ statistice privitor la dimensiunile și caracteristica structurală a imaginilor obținute. Valorile medii ale lobului drept au fost 109,94 mm (ÎI 95%: 101,86 - 118,03) pentru lotul de bază, iar pentru lotul de control - 107,6 mm (ÎI 95%: 101,48

– 112,65). Pentru lobul stâng au fost determinate valoarea medie de 48,94 mm (ÎÎ 95%: 44,39 – 53,49) în lotul de studiu și 46,56 mm (ÎÎ 95%: 42,75 – 50,38) în lotul de control.

Tabelul 11. **Importanța simptomelor scorului MISS pentru loturile de studiu**

Simptome	Tip	Forma	Lot de studiu n (%)	Lot de control n (%)	$\chi^2$	P
<b>Durere abdominală</b>	Anticipatorie	Absentă	9 (39,1)	44 (97,8)	30,495	<0,001
		Ușoară	12 (52,2)	1 (2,2)		
		Moderată	2 (8,7)	-		
	Asociativă	Absentă	12 (52,2)	41 (91,1)	13,762	0,001
		Ușoară	10 (43,5)	4 (8,9)		
		Moderată	1 (4,3)	-		
<b>Nausea</b>	Anticipatorie	Absentă	19 (82,6)	44 (97,8)	5,141	0,023
		Ușoară	4 (17,4)	1 (2,2)		
	Asociativă	Absentă	10 (43,5)	40 (88,9)	16,901	<0,001
		Ușoară	11 (47,8)	5 (11,1)		
		Moderată	2 (8,7)	-		
		Severă	-	-		
<b>Voma</b>	Anticipatorie	Absentă	18 (78,3)	43 (95,6)	4,930	0,026
		Ușoară	5 (21,7)	2 (4,4)		
<b>Simptome comportamentale</b>	Oboseală	Absentă	2 (8,7)	16 (35,6)	22,921	<0,001
		Ușoară	4 (17,4)	21 (46,7)		
		Moderată	13 (56,5)	8 (17,8)		
		Severă	4 (17,4)	-		
	Plîns	Absent	5 (21,7)	33 (73,3)	16,500	<0,001
		Ușor	16 (69,6)	11 (24,4)		
		Moderat	2 (8,7)	1 (2,2)		
	Irascibilitate	Absentă	3 (13,0)	30 (66,7)	21,791	<0,001
		Ușoară	13 (56,5)	14 (31,1)		
		Moderată	7 (30,4)	1 (2,2)		
	Refuză medicamentul	Nu refuză	1 (4,3)	27 (60,0)	25,611	<0,001
		Ușor	12 (52,2)	16 (35,6)		
		Moderat	10 (43,5)	2 (4,4)		

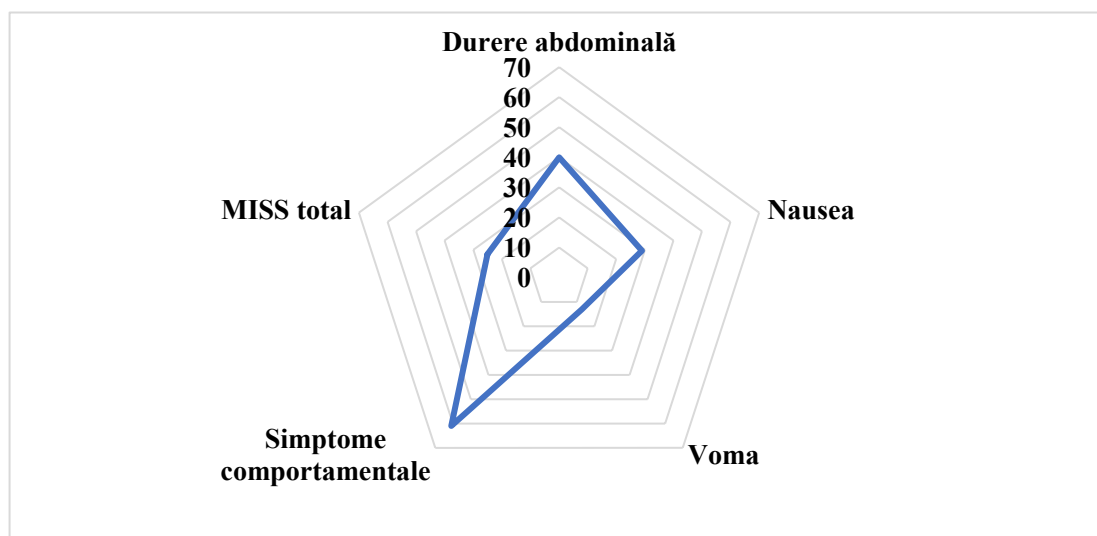
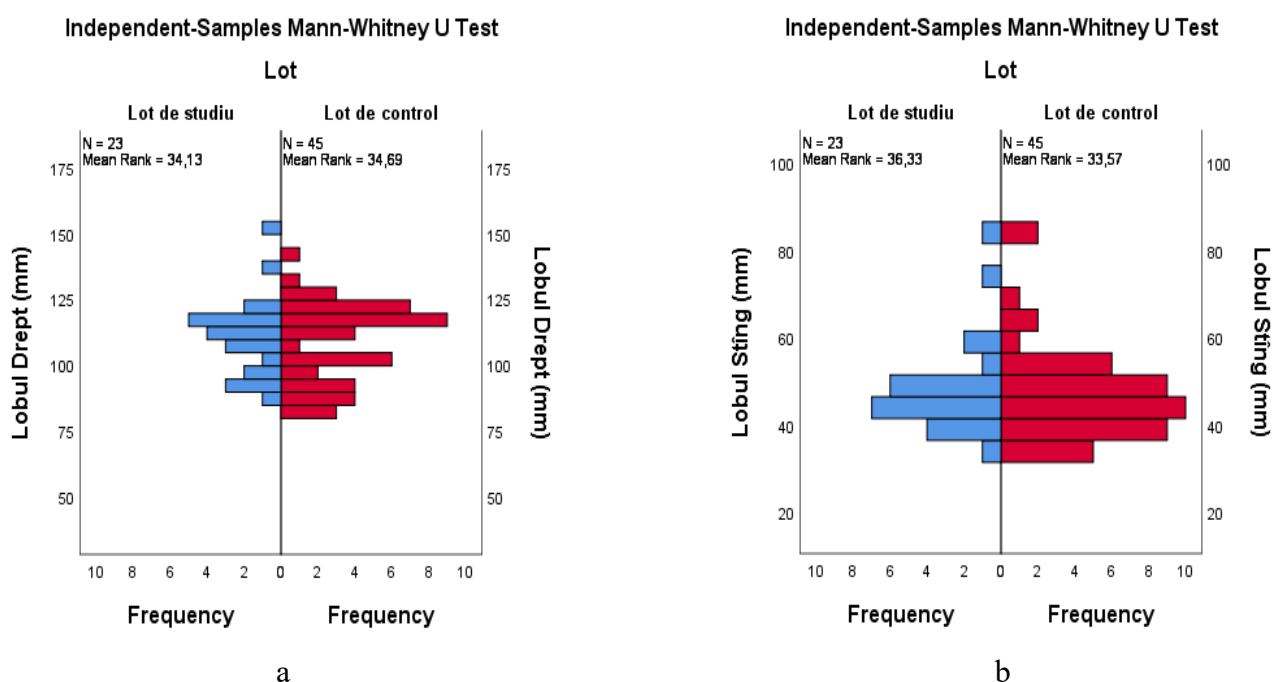


Figura 34. **Diagrama radar a Scorului de Severitate a Intoleranței la Metotrexat (MISS) și componentele aferente.**

Testul Mann-Whitney U demonstrează omogenitatea curbelor de distribuție pe loturi pentru ambele dimensiuni în figura 35. Dimensiunile venei portă în lotul de studiu a înregistrat o medie de 8,16 mm (Î 95%: 7,38 – 8,94), ne semnificativ mai mare, decât media înregistrată pentru grupul de control - 7,76 (Î 95%: 7,22 – 8,31). Mai mult decât atât, nu a fost elucidată discrepanță statistică între loturi în ceea ce privesc valorile fenotipice ale ficatului: conturul ( $\chi^2= 0,241$ ;  $gl = 1$ ;  $p= 0,624$ ; OR = 2,00, Î 95%: 0,12 – 33,51), parenchimul ( $\chi^2= 0,400$ ;  $gl = 1$ ;  $p= 0,527$ ; OR = 1,51, Î 95%: 0,42 – 5,41) și ecogenitatea ( $\chi^2= 0,154$ ;  $gl = 1$ ;  $p= 0,694$ ; OR = 0,78, Î 95%: 0,22 – 2,72). În ambele loturi, prin intermediul ecografiei 2D, nu au fost înregistrate formațiuni de volum în parenchimul hepatic.



**Figura 35. Distribuția dimensiunilor lobului drept hepatic pe loturi (a); Distribuția dimensiunilor lobului stâng hepatic pe loturi (b).**

Accesul la această investigație (FibroScan) este limitat de costurile tehnice. În prezentul studiu, FibroScan s-a aplicat la 50 de pacienți: 32 din lotul de control și 18 din lotul de studiu. Scopul acestei investigații a fost de a stabili o corelație între imaginea elastografică (densitatea) periportală a țesutului hepatic, în multe cazuri asociate cu fibroză locală, cu structura afecțiunii morfologice vizualizată exclusiv prin elastografie.

Astfel, a fost posibil de presupus cu o probabilitate înaltă, specifică fiecărui pacient în particular, despre prezența afecțiunii subclinice în baza imaginilor și indicilor obținuți. Tabloul elastografic de densitate sporită s-a profilat la 37 (54,41%) de pacienți, preponderent în lotul de control (24 (53,3%; Î 95%: 39,1 – 68,3) vs. 13 (56,5%; Î 95%: 35,0 – 76,0);  $\chi^2= 0,447$ ;  $p= 0,800$ .

Prin urmare, nu s-au obținut date despre o relație sensibilitate – specificitate, care ar ajuta să

depistăm prospectiv pacienții cu variantele polimorfe în gena *MTHFR* prin intermediul elastografiei hepatice. Analiza ROC nu prezintă valori relevante AUC=0,471 (Î 95%: 0,29 – 0,64, p=0,739).

După prelucrarea rezultatelor statistice obținute asupra densității hepatice, s-a constatat o valoare medie a medianei elasticității hepatice de 5,34 (Î 95%: 4,84 – 5,84) pentru lotul de studiu, ceea ce reprezintă o valoare de 1,13 ori mai mare decât media elasticității pentru toate grupele de vârstă în populația pediatrică sănătoasă. În tabelul 12, se denotă lipsa discrepantei mediei în lotul de control, acesta constituind 5,38 (Î 95%: 5,01 – 5,75).

**Tabelul 12. Mediana elasticității hepatice la pacienții incluși în studiu (kPa)**

<b>Mediana elasticității hepatice</b>	<b>Lotul de studiu n=18</b>	<b>Lotul de control n=32</b>	<b>U (p)</b>	<b>F (p)</b>
Media (DS)	5,34 (1,0)	5,38 (1,03)	304,50 (0,738)	0,02 (0,887)
Mediana (IQR)	5,30 (1,6)	5,40 (1,5)		
Interquartile Range	1,6	1,5		
Minimum-Maximum	3,6 – 6,9	2,8 – 7,8		

Semnificația clinico-diagnostică a leziunilor ecografice moderate și moderat-severe, observate prin valorile maxime (7,8 kPa) ale medianei elasticității hepatice, confirmă estimarea efectului cumulativ al preparatului și rata de răspuns la tratament, care a fost determinată individual la 9 (20%) pacienți din grupul de control dintre care 7 (15,55%) urmau monoterapia cu MTX.

Totodată, este important de a menționa diferențele care au fost înregistrate pentru pacienții investigați prin FibroScan, care au administrat MTX în monoterapie și acei care au urmat terapia combinată (F = 4,16; p = 0,022) (tabelul 13).

**Tabelul 13 Mediana elasticității hepatice la pacienții incluși în studiu în dependență de tratamentul administrat (kPa)**

	<b>N</b>	<b>Media (DS)</b>	<b>Î 95%</b>	<b>Minimum - Maximum</b>
<b>Monoterapie</b>	19	5,85 (0,99)	5,37 – 6,33	3,6 – 7,8
<b>Glucocorticosteroizi</b>	28	5,11 (0,93)	4,75 – 5,48	2,8 – 6,8
<b>Glucocorticosteroizi + Biologica</b>	3	4,70 (0,69)	2,97 – 6,42	3,9 – 5,1
<b>Total</b>	50	5,37 (1,01)	5,08 – 5,65	2,8 – 7,8

### **3.5. Evaluarea funcțională a toxicității cardiace a MTX la pacienții cu AJI în funcție de variantele polimorfe în gena *MTHFR***

În continuare, a fost analizați care indici electrocardiografici și ecocardiografici sunt importanți în aprecierea evenimentelor de toxicitate și intoleranță medicamentoasă la pacienții care

administrează MTX. În ciuda aprobării comune a screening-ului secvențial prin studii imagistice cardiace, pentru a identifica cardiotoxicitatea, nu este clar care dintre multiplele definiții ar trebui adoptată sau dacă una este mai specifică decât cealaltă pentru dezvoltarea viitoare a IC clinice. Conform documentelor de consens de ecocardiografie, cardiotoxicitatea, în urma administrării medicamentelor citostatice, s-a definit ca o scădere a FEVS  $\geq 10\%$  la o valoare  $< 53\%$ .

De asemenea, frecvența screening-ului cardiac în timpul tratamentului cu preparate imunosupresoare nu este clară. Utilitatea diagnostică adițională pentru ecografia 2D este posibilitatea achiziționării informațiilor structurale, patologiei valvulare achiziționate, patologiei dobândite a pericardului și funcția diastolică prin Doppler tisular.

După prelucrarea datelor electrocardiografice, s-a obținut o frecvență a contracțiilor cardiace practic similară pentru lotul de studiu și lotul de control (media 80,11 bpm (ÎÎ 95%: 73,58 – 86,64) vs. 81,59 bpm (ÎÎ 95%: 75,63 – 87,56). Media intervalului PQ pentru lotul de studiu a înregistrat o valoare de 128,50 ms (ÎÎ 95%: 120,49 – 136,51), iar pentru lotul de control a constituit 136,69 ms (ÎÎ 95%: 131,52 – 141,85). În același sens a fost calculat intervalul QTc, care a înscris o valoare medie de 379,67 ms (ÎÎ 95%: 355,77 – 403,57) în grupul de bază, și 382,41 ms (ÎÎ 95%: 371,61 – 393,20) pentru grupul de control. Extremele pentru acest indice nu au depășit valorile normale pentru populația pediatrică, de sub 460 ms. Diferențele ne semnificative dintre mediile obținute pentru loturile de studiu se datorează diapazonului de vârste omogen pentru ambele loturi. Aplicând testul Mann-Whitney U la rezultatele electrocardiografice, s-a obținut valoarea 525,00 ( $p= 0,923$ ) pentru frecvența contracțiilor cardiace, valoarea 665,50 ( $p= 0,055$ ) pentru intervalul PQ, și valoarea 480,00 ( $p= 0,627$ ), ceea ce confirmă ipoteza nulă privind importanța acestor indici pentru prognosticul toxicității la subiecții cu polimorfismul genei *MTHFR*. Nu au fost înregistrate diferențe de valori ale acelorași indici și la nivel de subploturi. Axa electrică a cordului la subiecții lotului de studiu și a lotului de control a fost analizată după distribuția statistică Pearson Chi-pătrat cu realizarea unei valori ne semnificative statistic  $\chi^2= 3,921$ ;  $p= 0,270$ . Pentru subploturile de studiu s-au înregistrat la fel valori ne semnificative statistic  $\chi^2= 0,795$ ;  $p= 0,851$ .

Indicii ecocardiografici standard, care au fost studiați, sunt prezentați în tabelele 14 și 15.

Tabelul 14. **Indicii ecocardiografici apreciați în lotul de studiu**

	<b>DTD VS (mm)</b>	<b>DTS VS (mm)</b>	<b>VTD VS (ml)</b>	<b>VTS VS (ml)</b>	<b>FE (%)</b>
Media (DS)	39,83 (6,01)	23,67 (3,71)	68,6 (20,94)	21,28 (6,45)	69,33 (3,23)
Mediana (IQR)	39,0 (11,0)	23,50 (6,0)	62,0 (39,0)	19,50 (11,0)	70,0 (4,0)
Minimum-Maximum	27,0 – 49,0	17,0 – 29,0	39,0 – 98,0	13,0 – 33,0	63,0 – 75,0
ÎÎ 95%	36,84 – 42,82	21,82 – 25,51	57,64 – 78,47	18,07 – 24,49	67,72 – 70,94

Tabelul 15. **Indicii ecocardiografici apreciați în lotul de control**

	<b>DTD VS (mm)</b>	<b>DTS VS (mm)</b>	<b>VTD VS (ml)</b>	<b>VTS VS (ml)</b>	<b>FE (%)</b>
Media (DS)	37,94 (5,57)	23,03 (3,55)	62,44 (18,36)	20,0 (6,70)	68,72 (3,62)
Mediana (IQR)	40,0 (9,0)	24,0 (6,0)	68,0 (27,0)	21,50 (12,0)	68,50 (7,0)
Minimum-Maximum	27,0 – 46,0	16,0 – 29,0	26,0 – 97,0	8,0 – 32,0	64,0 – 77,0
Î 95%	35,93 – 39,95	21,75 – 24,31	55,82 – 69,06	17,58 – 22,42	67,41 – 70,02

În urma analizei datelor obținute prin ecocardiografia 2D putem relata că, dimensiunile și volumele pentru ventriculul stâng au fost nesemnificativ diferite între loturi. A fost utilizat testul Mann-Whitney U, care a confirmat ipoteza nulă privind utilitatea acestor indici în evaluarea cardiotoxicității la administrarea de MTX (U= 451,000; p= 0,387 pentru DTD VS; U= 483,000; p= 0,652 pentru DTS VS; U= 460,500; p= 0,460 pentru VTD VS; U= 500,000; p= 0,820 pentru VTS VS; și respectiv 463,500; p= 0,482 pentru FE).

Fracția de ejeție a ventriculului stâng (FEVS) reprezintă procentul de sânge pompat cu fiecare bătaie raportat la cantitatea totală de sânge, care se află în ventriculul stâng. Respectiv, fiind unul din parametrii ecocardiografici centrali, care definește cardiotoxicitatea la medicația chimioterapică, a prezentat interes în evaluarea acestor pacienți. Atât pentru lotul de studiu (69,33% (Î 95%: 67,72 – 70,94 %)), cât și pentru lotul de control (68,72% (Î 95%: 67,41 – 70,02 %)), valorile medii nu au deviat statistic, respectiv nici nu au întrunit condiția ghidului ESC 2022 pe Cardio-oncologie pentru un declin al FEVS  $\geq 10\%$  până la o valoare de  $< 53\%$ .

Prin Doppler tisular au fost apreciați parametrii sistolici longitudinali ai ventriculului stâng (s' septal și lateral), aceștia ca rezultat fiind semnificativi statistic în aprecierea reducerii funcției cardiace la pacienții asimptomatici, care prezintă polimorfism genetic pentru *MTHFR* (tabelul 16).

Tabelul 16. **Indicii ecocardiografici ai funcției sistolice a VS importanți pentru loturile de studiu**

<b>Indici Doppler tisular</b>	<b>U (p)</b>	<b>F (p)</b>
<b>s' septal (cm/s)</b>	912,50 (<0,001)	33,70 (<0,001)
<b>s' lateral (cm/s)</b>	853,50 (<0,001)	23,64 (<0,001)

Au fost apreciați de asemenea parametrii sistolici ai ventriculului drept (TAPSE și S'). Testul Mann-Whitney U pentru eșantioane independente, cu un p= 0,731 pentru TAPSE și respectiv p= 0,943 pentru S', demonstrează că acești doi parametri nu sunt semnificativ diferiți între subiecții cu varianta polimorfă și cei fără varianta polimorfă.

Am utilizat Doppler tisular și pentru a aprecia parametrii diastolici ai ventriculului stâng (e' septal, lateral și medie, E, E/e' medie). Indicele cu semnificație statistică mare a fost E/e' medie – 8,00 (Î 95%: 7,66 – 8,34), (tabelul 17).

Tabelul 17. **Indicii ecocardiografici ai funcției diastolice a VS importanți pentru loturile de studiu**

<b>Indici Doppler tisular</b>	<b>U (p)</b>	<b>F (p)</b>
<b>E (cm/s)</b>	333,00 (0,017)	9,57 (0,003)
<b>e` septal (cm/s)</b>	696,50 (0,020)	4,69 (0,034)
<b>e` lateral (cm/s)</b>	761,50 (0,002)	7,08 (0,010)
<b>e` medie (cm/s)</b>	763,50 (0,001)	7,06 (0,010)
<b>E/e` mediu</b>	210,50 (<0,001)	14,91 (<0,001)

Valorile PSAP pentru lotul de cazuri au fost exprimate prin media de 26 mmHg (ÎÎ 95%: 24,95 – 27,05), iar pentru lotul de control media ia valori de 25,31 mmHg (ÎÎ 95%: 24,59 – 26,03). Valoarea minimă PSAP a fost de 22 mmHg, iar cea maximă a atins pragul de 30 mmHg, cu o medie de 25,5 mmHg și o mediană de aceeași valoare. Rezultatele obținute sunt redată în figura 36.

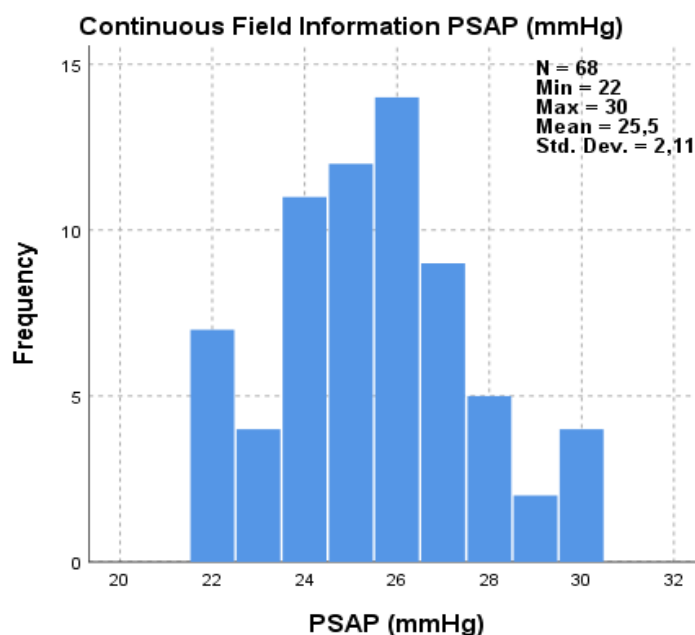


Figura 36. **Repartizarea pacienților conform valorilor PSAP (mmHg)**

Măsurarea presiunii sistolice în artera pulmonară este importantă în evaluarea funcției cardiace și pulmonare. Ea poate fi efectuată prin utilizarea unor metode invazive, precum cateterizarea cardiacă, în care un cateter este introdus în artera pulmonară, pentru a măsura direct presiunea, sau prin metoda non-invazivă pen, care s-a utilizat în acest studiu – ecocardiografia Doppler, care poate estima presiunea sistolică în artera pulmonară prin evaluarea fluxului sanguin în artera pulmonară.

De menționat că presiunea sistolică în artera pulmonară este afectată de o serie de factori, inclusiv de volumul de sânge pompat în artera pulmonară în timpul contracției ventriculului drept, rezistența vasculară pulmonară (care este determinată de starea vaselor de sânge pulmonare),

precum și de alte condiții medicale, care pot afecta circulația pulmonară, cum ar fi hipertensiunea pulmonară sau boli cardiace congenitale.

### 3.6. Algoritmii pentru genotipare a MTHFR în AJI

În urma analizei datelor obținute în cercetare, au fost elaborate algoritmele de optimizare a conduitei diagnostice și recomandării terapeutice în artrită juvenilă idiopatică, figurile 37 și 38.

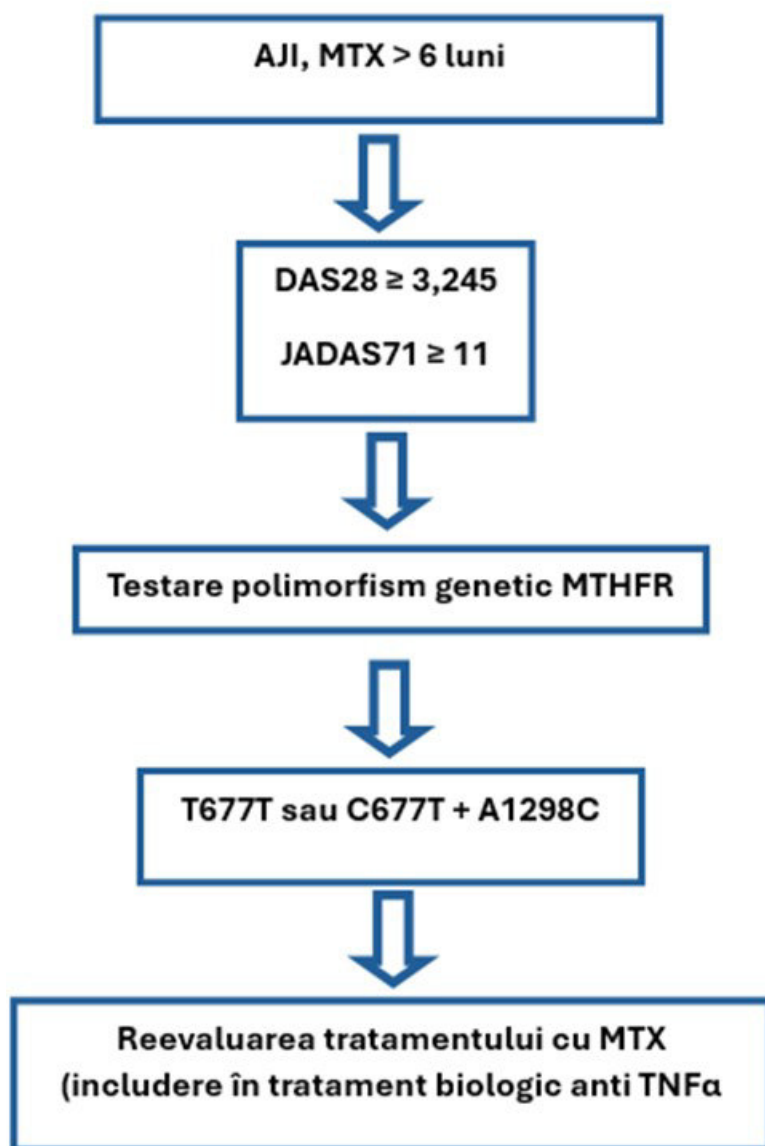


Figura 37. Algoritmii de diagnostic al ineficienței tratamentului cu MTX



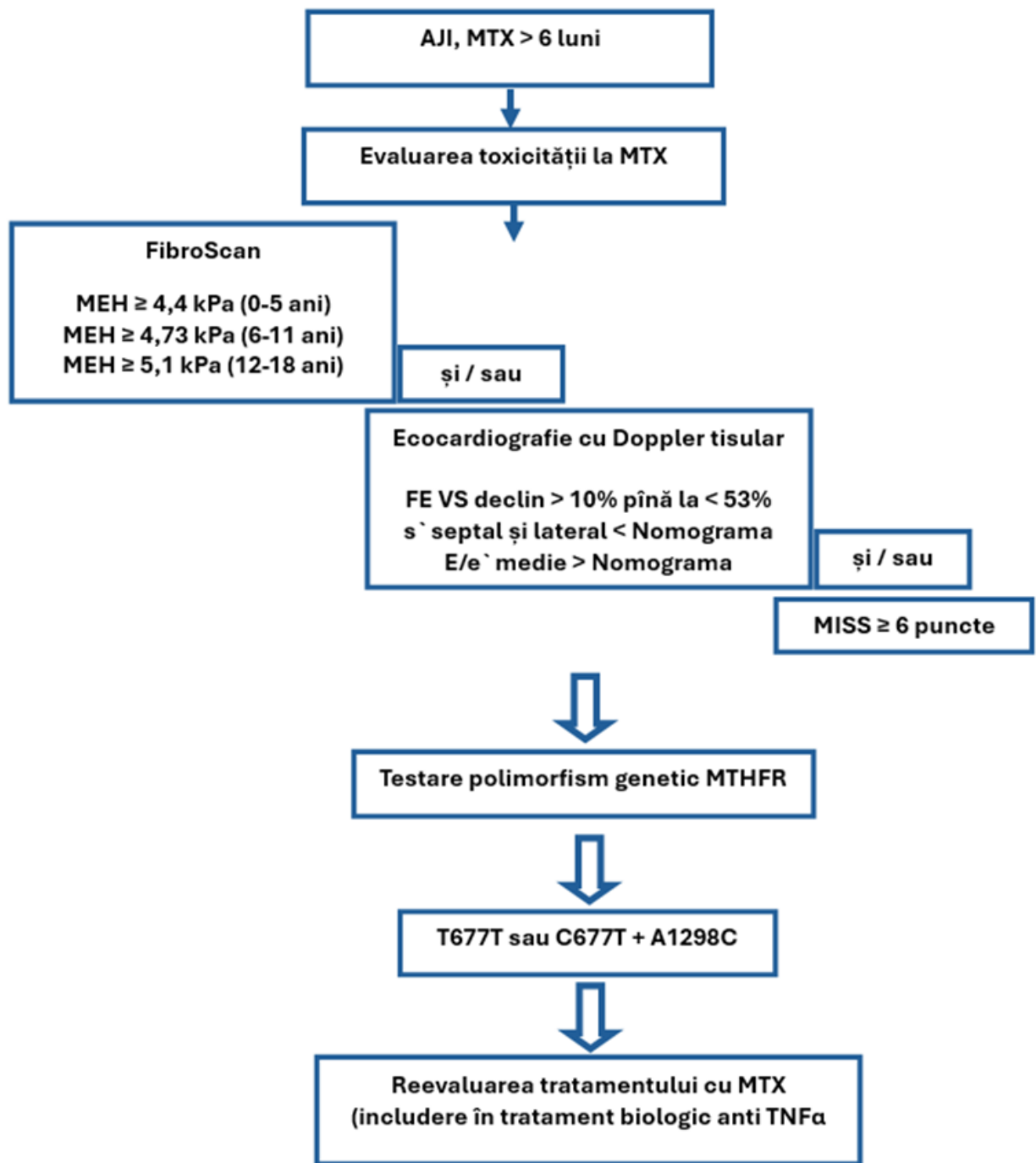


Figura 38. Algoritm de diagnostic al toxicității tratamentului cu MTX

#### 4. DISCUȚII ASUPRA IMPORTANȚEI TESTĂRII GENEI *MTHFR* PÂNĂ LA ÎNȚIEREA TRATAMENTULUI CU *METOTREXAT* ÎN AJI

Înțelegerea eficacității și prevenirea toxicității medicamentoase în terapia antiproliferativă reprezintă o necesitate primordială pentru pacienții cu AJI. Printre primele studii, ce datează din 1986, Truckenbrodt et al. descriu non-responderii la terapia convențională de primă treaptă și concluzionează prin ideea că MTX ar trebui luat în considerare pentru copiii cu artrită, care pune viața în pericol sau cu invaliditate severă, care nu răspunde la alte terapii [136]. Și iată că, activitatea bolii are un răspuns imprevizibil și neclar, până în prezent, la utilizarea de *metotrexat*. În acest studiu ne-am propus investigarea efectului toxic și aprecierea precoce a non-responderilor prin prisma testării genetice a *MTHFR* la 68 de pacienți cu AJI, care utilizează MTX.

În prezent, datorită costurilor terapiei, eficacității și ratei scăzute de efecte secundare clinic manifestate, *metotrexatul* (MTX) este terapia de elecție pentru tratamentul AJI [61,124,137]. Din păcate, aproape o treime dintre pacienți nu prezintă un răspuns adecvat la MTX, din cauza ameliorării insuficiente a simptomelor bolii sau apariției reacțiilor adverse, care duc la întreruperea tratamentului. Acești pacienți pierd fereastra de timp optimă pentru inițierea terapiei biologice și se confruntă cu manifestări mai severe ale bolii [138]. Pentru a permite predicția răspunsului la terapia cu MTX, au fost efectuate numeroase studii de farmacogenetică asupra genelor, care codifică proteinele implicate în mecanismul de acțiune al MTX.

Actualmente, aspectele cheie ale medicinei personalizate se bazează pe analiza genetică, și anume secvențierea ADN-ului unui individ pentru a identifica variații genetice, care pot influența riscul de a dezvolta anumite afecțiuni medicale sau modul în care răspunde la tratament. Cunoașterea profilului genetic al unui individ poate ajuta la identificarea riscului său personal de a dezvolta anumite boli, permițând astfel intervenții preventive mai personalizate și programe de screening mai eficiente.

Utilizarea informațiilor genetice poate ajuta la diagnosticarea mai precisă a anumitor afecțiuni medicale și la diferențierea subtipurilor de boli, care pot necesita abordări terapeutice diferite.

Astfel, medicina personalizată își propune să ofere tratamente care să țină cont de specificul genetic al fiecărui pacient. Acest lucru poate include utilizarea unor medicamente, care sunt mai susceptibile, să fie eficiente, sau care prezintă un risc mai mic de efecte secundare în funcție de profilul genetic al pacientului. Aceasta recunoaște că nevoile de sănătate ale fiecărei persoane pot evolua în timp și că tratamentul optim poate necesita ajustări pe măsură ce se obțin noi informații genetice sau se schimbă starea de sănătate a pacientului.

Scopul final al medicinei personalizate este identificarea markerilor, care vor permite

diagnosticarea și predicția rapidă și precisă a rezultatului terapiei specifice pentru fiecare pacient [61]. Provocările majore ale medicinei personalizate sunt natura complexă a bolilor multifactoriale și natura complexă a farmacocineticii și farmacodinamicii medicamentelor.

Printre subiecții cu artrită juvenilă idiopatică atât în lotul experimental, cât și în lotul de control, a fost atestată o prevalență a numărului de fete asupra numărului de băieți. Aceste date se reflectă din punct de vedere statistic și în literatura de specialitate [118,122,129]. În același timp, există o relație bine determinată dintre aceste valori și forma de AJI manifestă, în particular forma oligoarticulară și poliarticulară seronegativă. În AJI forma seronegativă, teste de laborator specifice, cum ar fi factorul reumatoid și factorul antinuclear, sunt negative sau nu sunt prezente în cantități semnificative. Aceasta face ca diagnosticul să fie mai dificil și necesită o evaluare clinică și imagistică mai atentă. Pronosticul poate varia în funcție de severitatea simptomelor și de răspunsul la tratament. Unii copii pot avea o remisiune completă a bolii în timp, totodată alții pot experimenta simptome persistente sau complicații asociate.

Studiile privind prezența comorbidităților, care ar potența creșterea ratei de non-răspuns la terapia cu MTX, au demonstrat polimorfismul distribuției acestor comorbidități, astfel Horneff et al. într-un eșantion de 959 de pacienți descrie 1327 de comorbidități, printre care locul de frunte îl constituie uveita [139]. De asemenea, acesta menționează faptul că există diferențe de sex la distribuția comorbidităților în AJI.

Același grup de autori publică ceva mai târziu rezultatele unui studiu german, care poziționează în scala comorbidităților dermita atopică, rinita alergică și vasomotorie și, nu în ultimul rând, uveita [140]. Atât incidența, cât și prevalența au fost exprimate mai mult la sexul feminin, iar diferența dintre sexe se evidențiază la trecerea în grupe de vârste mai mari.

Rezultatele noastre arată o prevalență a comorbidităților din partea sistemului gastro-intestinal, ceea ce este de importanță majoră pentru atingerea unui efect terapeutic scontat, dar și pentru generarea potențialului efect toxic medicamentos. Cât despre distribuția pe sexe, s-a demonstrat o pondere mai mare a celor mai frecvente comorbidități, inclusiv obezitatea, la copiii cu AJI de sex masculin.

Răspândirea variantelor alelice pentru *MTHFR* în populații este destul de variată, cu prevalență la grupul mexican și italieni privind raportul de homozigoți [141]. Polimorfismul cu un singur nucleotid al acestei gene reduce termostabilitatea enzimei *MTHFR*, datorită activității scăzute la 37° C sau mai mult. Activitatea enzimei *MTHFR* la subiecții homozigoți este cu 50-60% mai mică la 37° C și cu 65% mai mică la 46°C [33,141].

Este important să subliniem că prezența unei anumite variante genetice nu determină automat apariția unei boli sau a unei afecțiuni. Asocierea variantelor genetice ale genei *MTHFR* cu anumite condiții de sănătate, cum ar fi defectele de tub neural, riscul cardiovascular și altele, este încă subiect

de cercetare și discuție în comunitatea științifică. În plus, factorii genetici sunt doar unul dintre mulți factori, care contribuie la sănătatea generală și riscul de a dezvolta anumite boli.

Cel mai bine studiat polimorfism al genei *MTHFR* este cunoscut sub numele de C677T. Acest polimorfism poate influența nivelurile de homocisteină și poate afecta modul în care organismul procesează și utilizează acidul folic.

Pe scară largă, testările acestor variante alelice au fost efectuate la pacientele ginecopedate, fiind recunoscută ca gena trombofiliei pentru o perioadă de timp destul de mare. Atât în România, cât și în RM, genotipurile 677TT izolate și cele compuse cu locusul 1298 au demonstrat un risc mai mare pentru avorturi spontane în comparație cu grupul fără variantele polimorfe [20,36,142,143].

De asemenea, în RM studiul clinico-genetic a mai fost efectuat și asupra bolilor ereditare, ca exemplu servind distrofia musculară Duchenne/Becker [54,144,145]. A fost demonstrată influența polimorfismului genetic a genelor enzimelor implicate în ciclul foliaților printr-un model de regresie statistică asupra stării și forței musculaturii mari. La un număr impunător de pacienți cu miodistrofie a fost calculată incidența alelică, care nu a deviat de la echilibrul genetic [54].

În acest studiu, s-a demonstrat omogenitatea distribuției alelice în relație cu echilibrul Hardy-Weinberg la subiecții cu AJI. La fel, s-a efectuat o analiză cantitativă a tipului de varianta polimorfă pentru ambele loturi de studiu, care a constituit circa o treime din eșantion. Testarea variantelor polimorfe în *MTHFR* la pacienții cu boală reumatică sunt în exclusivitate efectuate primar la nivel local și nu pot fi comparate cu alte studii naționale. Există posibilitatea de a asocia prin exemplu de model de predicție a acestor testări cu modelele de predicție, deja create pentru patologiiile descrise mai sus, la nivel de republică.

Scorul DAS28 este o măsură utilizată pentru evaluarea activității bolii în cazul artritei reumatoide, o afecțiune inflamatorie cronică a articulațiilor, care afectează adulții. Totuși, în cazul artritei juvenile idiopatice, care este o afecțiune similară, dar care afectează copiii și adolescenții, acest scor nu este folosit în mod obișnuit. Motivul principal este că AJI are caracteristici și evoluție diferite față de artrita reumatoidă, iar măsurile de evaluare a activității bolii în AJI sunt adaptate pentru a reflecta aceste diferențe.

În loc de scorul DAS28, în evaluarea artritei juvenile idiopatice, medicii folosesc adesea alte instrumente și măsuri clinice, cum este Juvenile Arthritis Disease Activity Score (JADAS), care este adaptat pentru a evalua activitatea bolii în rândul copiilor cu AJI. Acest scor ia în considerare factori precum numărul de articulații inflamate și sensibile, scorul de durere al pacientului și markerii inflamatori din sânge.

JADAS poate varia în funcție de subtipul specific de AJI și de evaluarea clinică a fiecărui pacient. Este important să se utilizeze instrumente de evaluare a activității bolii, care să fie

adevrate vârstei și caracteristicilor fiecărui copil sau adolescent cu AJI și să fie administrate și interpretate de către profesioniști medicali specializați în artrita juvenilă idiopatică.

Am stabilit valori predictive înalte ale scorurilor de apreciere a activității bolii pentru subiecții din lotul de cazuri. Pentru scorul JADAS-71 s-au înregistrat valori comparabile cu cele din literatura medicală [75]. Pentru scorul DAS28 subiecții din lotul de studiu au demonstrat o activitate moderată a bolii, pe când cei din lotul de control o activitate minimală. Considerăm că este foarte important a menționa faptul că, activitatea bolii este un parametru dinamic și se măsoară la fiecare adresare sau spitalizare a pacientului cu AJI. Scorurile care apreciază activitatea bolii se bazează pe indici clinici și paraclinici în mare majoritate obiectivi, cu excepția evaluării bolii pe scară vizuală analogă numerică de către pacient sau părinte. Rezultatele noastre sunt bazate pe starea pacientului la momentul examinării, fără a considera parametrii anterior documentați.

Pentru adulții care manifestă simptome clinice, cum ar fi greața sau durerea abdominală, este bine conturat scorul de severitate a intoleranței la *metotrexat*, care include aceste simptome în funcție de gravitatea cu care acestea se înregistrează. Scorul poate fi utilizat și la pacienții pediatrici care administrează MTX pentru termen lung, fiind validat în contextul prevalenței sporite de intoleranță la MTX [42]. Totodată, unele cercetări pentru simptomele respective relatează caracterul lor, fiind expuși de obicei adolescenții de sex feminin cu durata de administrare de MTX subcutanat de peste un an [146].

Rezultatele noastre pot fi comparabile cu alte studii privind scorul MISS, valoarea maximă a punctajului obținut la pacienții din lotul de cercetare depășind de trei ori valoarea maximă pentru lotul de control. S-a demonstrat că, este necesar de atras atenția la simptomele comportamentale ale pacientului pentru a înțelege una din cauzele răspunsului slab la tratament, rezultat din non – complianță.

Deoarece s-a demonstrat că atât cantitatea, cât și durata expunerii la MTX corelează cu toxicitatea, s-a sugerat că nivelurile serice de MTX ajută la prezicerea anumitor tipuri de toxicitate, cum ar fi toxicitatea gastrointestinală și mielosupresia [147,148]. Cu toate acestea, deoarece MTX dispare din ser în 24 de ore de la administrare, nivelurile serice nu sunt suficient de precise pentru a prezice toxicitatea [149]. Prin urmare, au fost stabiliți pașii pentru monitorizarea toxicității MTX, în special pentru hepatotoxicitate, care nu implică măsurarea nivelurilor serice [148]. Mai mult, potențialul rar de afectare toxică gravă la copii și consecvența programului de monitorizare în timpul tranziției îngrijirii pediatrice la adulți au influențat decizia noului ghid ACR 2021 de a oferi o recomandare puternică pentru monitorizarea frecventă [150].

În urma investigării prin intermediul ecografiei hepatice transabdominale 2D, în cele două loturi de cercetare, a fost evidențiată o omogenitate în ceea ce privește diametrele antero-posterior și cranio-caudal. În studiile mondiale la copii, aceste valori nu au prezentat diferențe statistice față

de grupul de control [45,89,151]. De asemenea, nu au fost găsite abateri de la valorile morfologice normale pentru vârste a structurilor extrahepatice.

Ecografia 2D este o metodă neinvazivă, care poate informa cercetătorul despre eventuala toxicitate hepatică în condițiile de citoliză masivă cu sporirea infiltrării hepatice. În cazul administrării de MTX în doze mici, aceste schimbări nu sunt realizate, respectiv, datele despre ecogenitatea sporită observate la baseline de studiu, pot să clarifice posibilitatea de includere a acestor copii în tratamentul de fond.

O altă metodă imagistică, utilizată cu minim impact asupra țesutului, a fost FibroScan. Cu ajutorul ei s-a reușit să se determine valorile densității hepatice în locurile cele mai vulnerabile pentru inițierea schimbării morfologice, ca urmare a efectului toxic generat de MTX.

Studiile, inclusiv cele naționale, care au fundamentat necesitatea și oportunitatea metodei pentru AJI, au demonstrat sensibilitate și specificitate veridică comparabilă cu biopsia hepatică nu doar la pacienții simptomatici [44,91,151].

Astfel, putem explica rezultatele proprii, care denotă valori înalte a medianei elasticității hepatice pentru grupul de control comparativ cu grupul de bază, cumulara MTX poliglutamizat, la care are loc mai intens prin efect antagonist față de acidul folic la nivel celular [152]. Mai mult decât atât, e necesar de menționat că valoarea reprezentativă este demonstrată la subiecții cu monoterapie cu MTX.

Această tehnică este considerată sigură și nedureroasă și poate fi efectuată la birou sau în clinica medicului. Cu toate acestea, rezultatele elastografiei hepatice trebuie interpretate de către un profesionist medical specializat și integrate în contextul clinic al fiecărui pacient pentru a face un diagnostic și un plan de tratament adecvat.

Ținând cont de necesitatea evaluării funcției cardiace la pacienții cu AJI, studiul nostru a utilizat metode neinvazive funcționale și imagistice tradiționale. ECG și ecocardiografia transtoracică cu Doppler tisular sunt incluse în lista investigațiilor obligatorii, conform ghidurilor Societății Europene de Cardiologie, în special la pacienții care utilizează medicație de profil antitumoral [95,96,153,154]. Spre exemplu, studiul lui Witczak et al. demonstrează necesitatea aplicării acestor metode cu compararea indicilor electrocardiografici și de Doppler tisular la pacienții cu diferite maladii ale țesutului conjunctiv [155]. Sigur că investigațiile expuse aduc o valoare informativă imensă pentru clinician, dar există și alte teste non-invazive imagistice, care demonstrează funcția longitudinală și circulară a miocardului, fiind limitate la moment pentru populația pediatrică în contextul lipsei nomogramelor grupelor de vârstă [156].

Respectiv, după compilarea surselor de literatură disponibile la zi, s-a realizat o analiză obiectivă a indicilor obținuți. De menționat că nu au fost apreciate devieri semnificative statistic dintre pacienții, care prezentau polimorfism genetic patologic pentru indicii ECG. Aceasta, în mare

parte, corespunde cu datele de literatură pentru *MTHFR*, nu și pentru terapia antitumorală la general.

Pentru ambele loturi au fost descrise valori ale FE VS, care nu corespundeau definiției de consens a cardiotoxicității. Deocamdată, printre indicii funcției sistolice și diastolice ale VS, s-au evidențiat unii cu efect de relație cu polimorfismul *MTHFR*. Rezultate analoage au fost prezentate și de alte studii externe [157,158].

### **Limitări**

Ca urmare a numărului foarte mic de subiecți care administrează MTX, este posibil ca aceștia să nu reprezinte seria de particularități clinice și paraclinice în AJI. Au fost utilizate scoruri și indici reprezentativi, care de comun cu datele imagistice ale pacienților, sunt fără îndoială specifice fiecărui copil individual, astfel ar predispuce la subiectivitate, în ceea ce ține de populație. Simptomele fizice și comportamentale în condițiile de staționar sunt apreciate verbal de către copil sau părinții lui, care nu sunt mereu cuantificate și se pot schimba odată cu schimbarea activității bolii sau în funcție de gradul de complianță medic-pacient. Cu toate acestea, încrederea în scorurile care au la bază și parametri cantitativi, precum și evaluarea globală de către medic și pacient a stării sale, face ca aceste limitări să diminueze. Scorul MISS, ca test de evaluare a toxicității gastrointestinale, poate arăta rezultate obiective, fiind folosit de rutină la fiecare spitalizare pentru follow-up a pacientului.

## CONCLUZII GENERALE

1. Variantele polimorfe genetice ale *MTHFR* au fost identificate la peste o treime din subiecții înrolați. Acești pacienți pot fi caracterizați printr-un nivel sporit de heterozigozitate compusă ( $H_o = 0,43/0,44$ ) și homozigozitate izolată 0,48 observată pentru polimorfismele rs1801133 și rs1801131.
2. Rezultatele studiului au demonstrat importanța scorurilor clinice (DAS28 și JADAS-71) pentru estimarea riscului de prezență a variantelor polimorfe în gena *MTHFR*, confirmarea genetică a non-respondenților la terapia cu *metotrexat*. Prin relația de sensibilitate – specificitate, au fost determinate valorile-prag pentru testarea polimorfismului *MTHFR* (DAS28  $\geq 3,245$ ; JADAS-71  $\geq 11$ ). Indicele ACR Pedi 30 a demonstrat o rată de până la 40% de atingere a efectului clinic la distanță de peste 6 luni de administrare a *metotrexatului*, dintre care sub 10% din subiecți se aflau la monoterapie cu acest preparat.
3. Aplicarea chestionarului MISS a demonstrat intoleranța clinică la *metotrexat* pentru pacienții cu variante polimorfe în gena *MTHFR*, prin dezvoltarea simptomelor comportamentale de intensitate moderată (refuzul de administrare a *metotrexatului*), ca urmare a constituirii durerilor abdominale (n=14).
4. Studiul markerilor biochimici tradiționali pentru injuria hepatică nu au demonstrat semnificație statistică de hepatotoxicitate la *metotrexat*. Examinarea prin elastografia hepatică tranzitorie unidimensională a evidențiat valori înalte ale mediane elasticității hepatice în lotul copiilor fără varianta polimorfă în gena *MTHFR*, iar pacienții cu variante polimorfe în gena *MTHFR*, în terapie cu *metotrexat*, au înregistrat valori medii ale mediane elasticității hepatice de 1,13 ori mai mare de cât media elasticității la copiii sănătoși.
5. Studiul cardiotoxicității la copiii în terapie cu *metotrexat* a evidențiat majorarea indicelui E/e' medie determinat prin ecocardiografia cu Doppler tisular, fapt care indică o probabilă disfuncție diastolică a ventriculului stâng în cadrul cardiotoxicității medicamentoase.
6. În studiu au fost determinate criteriile de evaluare a eficacității și toxicității la *metotrexat*: scor DAS28, JADAS-71, MISS peste valoarea prag, prezența polimorfismului patologic pentru rs1801133 și rs1801131 la nivelul genei *MTHFR*, depistarea valorilor joase ale mediane elasticității hepatice (în monoterapia cu *metotrexat*) și a valorilor sporite ale indicilor sistolici și diastolici ai VS la Doppler tisular.



## RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Se recomandă testarea genetică pentru *MTHFR* la atingerea/menținerea valorii prag, identificate pentru scorurile DAS28 și/sau JADAS-71.
2. Se recomandă utilizarea scorului de severitate a intoleranței la *metotrexat*, ca metodă de predicție a efectului de complianță terapeutică ulterior inițierii tratamentului cu *metotrexat*.
3. Se recomandă utilizarea tehnicilor de elastografie hepatică și Doppler tisular pentru aprecierea afectării subclinice a organelor țintă ficat și cord în procesul administrării *metotrexatului*.
4. Testarea variantelor polimorfe genei *MTHFR* este recomandată pentru pacienții, la care eficacitatea clinică și/sau paraclinică estimată în procesul administrării *metotrexatului* nu a fost atinsă.

## BIBLIOGRAFIE

1. Beukelman T, Patkar NM, Saag KG, Tolleson-Rinehart S, Cron RQ, DeWitt EM, et al. 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: Initiation and safety monitoring of therapeutic agents for the treatment of arthritis and systemic features. *Arthritis Care Res (Hoboken)* [Internet]. 2011 Apr 30;63(4):465–82. Available from: <https://acrjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/acr.20460>
2. Huizinga T, Nigrovic P, Ruderman E, Schulze-Koops H. 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: Initiation and safety monitoring of therapeutic agents for the treatment of arthritis and systemic features. Commentary. Vol. 9, *International Journal of Advances in Rheumatology*. 2011.
3. Ringold S, Weiss PF, Beukelman T, DeWitt EM, Ilowite NT, Kimura Y, et al. 2013 Update of the 2011 American College of Rheumatology Recommendations for the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis. *Modern Rheumatology Journal* [Internet]. 2014 Sep 22;(3):9. Available from: <http://mrj.ima-press.net/index.php/mrj/article/view/567>
4. Ringold S, Angeles-Han ST, Beukelman T, Lovell D, Cuello CA, Becker ML, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis: Therapeutic Approaches for Non-Systemic Polyarthritis, Sacroiliitis, and Enthesitis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2019;71(6).
5. Thomson W, Barrett JH, Donn R, Pepper L, Kennedy LJ, Ollier WER, et al. Juvenile idiopathic arthritis classified by the ILAR criteria: HLA associations in UK patients. *Rheumatology*. 2002;41(10).
6. Yang JW, Lee E, Seo JY, Jung JY, Suh CH, Kim HA. Application of the international league against rheumatism classification criteria for systemic juvenile idiopathic arthritis as a prognostic factor in patients with adults-onset Still's disease. *Pediatric Rheumatology*. 2018;16(1).
7. Lee JJY, Eng SWM, Guzman J, Duffy CM, Tucker LB, Oen K, et al. A Comparison of International League of Associations for Rheumatology and Pediatric Rheumatology International Trials Organization Classification Systems for Juvenile Idiopathic Arthritis Among Children in a Canadian Arthritis Cohort. *Arthritis and Rheumatology*. 2022;74(8).
8. Revenco Ninel, Rotaru Natalia, Mazur-Nicorici Lucia, Mătrăgună Nelea, Cojocaru Svetlana, Bichir-Thoreac Liliana, et al. *Reumatologie pediatrică*. 2018.
9. Revenco N, Cracea A. Artrita Juvenilă Idiopatică în practica medicului de familie. *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. 2020;2(84):79–84.

10. Revenco N, Cracea A, Foca S, Bogonovschi L. Particularitățile afectării sistemului musculoscheletal și indicii paraclinici în artrita juvenilă idiopatică. *Buletin de Perinatologie*. 2016;1(69):76–83.
11. Programul Național pe Boli Rare pentru anii 2024 – 2028.
12. Collison J. Treat-to-target possible for JIA. *Nat Rev Rheumatol*. 2018;14(12).
13. Ramanan A V., Sage AM. Treat to Target (Drug-Free) Inactive Disease in JIA: To What Extent Is This Possible? Vol. 11, *Journal of Clinical Medicine*. 2022.
14. El Miedany Y, Salah S, Lotfy H, El Gaafary M, Abdulhady H, Salah H, et al. Updated clinical practice treat-to-target guidelines for JIA management: the Egyptian College of Pediatric Rheumatology initiative. *Egyptian Rheumatology and Rehabilitation*. 2022;49(1).
15. Cracea A, Revenco N. Impactul diferitor scheme de tratament asupra indicilor clinici și a modificărilor radiologice în artrita juvenilă idiopatică. *Buletin de Perinatologie*. 2019;3(84):36–41.
16. Herlin M, Herlin T. Update on Genetic Susceptibility and Pathogenesis in Juvenile Idiopathic Arthritis. *EMJ Rheumatology*. 2014;
17. Pastore S, Stocco G, Favretto D, De Iudicibus S, Taddio A, D’Adamo P, et al. Genetic determinants for methotrexate response in juvenile idiopathic arthritis. Vol. 6, *Frontiers in Pharmacology*. 2015.
18. Kurzawski M, Malinowski D, Szarmach N, Nowak A, Goryniak A, Pawlik A, et al. ATIC missense variant affects response to methotrexate treatment in rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics*. 2016;17(18).
19. Bulatović M, Heijstek MW, Van Dijkhuizen EHP, Wulffraat NM, Pluijm SMF, De Jonge R. Prediction of clinical non-response to methotrexate treatment in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(9).
20. Hlistun V, Scurtu V, Boiciuc C, Ușurelu N, Sacară V. Dereglări la nivelul genelor ciclului folat și metioninic la femeile cu pierderi reproductive. *Buletin de Perinatologie* [Internet]. 2014 [cited 2024 Jan 9];3(63):39–43. Available from: [https://www.mama-copilul.md/images/buletin-perinatologic/BP\\_2014/3\\_2014.pdf](https://www.mama-copilul.md/images/buletin-perinatologic/BP_2014/3_2014.pdf)  
<http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/17765>
21. Moșin V, Hotineanu A, Visternicean E, Crețu A. Homocisteina și polimorfismele genei MTHFR la femeile cu avort spontan recurent. *Arta Medica* [Internet]. 2017 [cited 2024 Jan 9];1(62):24–7. Available from: HOMOCISTEINA ȘI POLIMORFISMELE GENEI MTHFR LA FEMEILE CU AVORT SPONTAN RECURENT
22. Kozma K, Jurca C, Bembea M. Polimorfismul genei MTHFR (677 și 1298) la femeile cu avorturi spontane din județul Bihor. *Revista Medicală Română*. 2015;LXII(2):195–9.

23. Palomino-Morales R, Gonzalez-Juanatey C, Vazquez-Rodriguez TR, Rodriguez L, Miranda-Fillooy JA, Fernandez-Gutierrez B, et al. A1298C polymorphism in the MTHFR gene predisposes to cardiovascular risk in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(2).
24. Бергер У, Ларионова В, Черкашин Д. Структурные полиморфизмы С677Т в гене 5, 10 метилентетрагидрофолатредуктазы и А2756G в гене метионинсинтазы у мужчин, страдающих ишемической болезнью сердца. *Вестник Российской Военно-Медицинской Академии* [Internet]. 2014 [cited 2024 Jan 9];4(48):98–104. Available from: <https://www.vmeda.org/wp-content/uploads/2016/pdf/98-104.pdf>
25. Mavros M, Chiriță V, Popescu O, Ferencz B. Polimorfismul genetic al genei MTHFR in schizofrenie. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.* 2008;112(1).
26. Bucerzan S, Anghel Popp R, Vlad RM, Lazea C, Nicolaescu R, Grigorescu-Sido P. Polimorfismul C677T si A1298C al genei MTHFR ca factor de risc matern pentru trisomia 21 (Studiu monocentric). *Rev Rom Med Lab.* 2017;25(1).
27. Ueland PM. Molecular Biology of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) and Overview of Mutations/Polymorphisms. In: *MTHFR Polymorphisms and Disease.* 2021.
28. Ducker GS, Rabinowitz JD. One-Carbon Metabolism in Health and Disease. Vol. 25, *Cell Metabolism.* 2017.
29. Miller JW. Homocysteine. In: *Encyclopedia of Human Nutrition: Volume 1-4, Fourth Edition.* 2023.
30. Hiraoka M, Kagawa Y. Genetic polymorphisms and folate status. Vol. 57, *Congenital Anomalies.* 2017.
31. Stamp LK, Roberts RL. Effect of genetic polymorphisms in the folate pathway on methotrexate therapy in rheumatic diseases. Vol. 12, *Pharmacogenomics.* 2011.
32. Födinger M, Hörl WH, Sunder-Plassmann G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. Vol. 13, *Journal of Nephrology.* 2000.
33. Matthews RG. Methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase: Biochemistry and molecular biology. *European Journal of Pediatrics, Supplement.* 1998;157(2).
34. Schneider JA, Rees DC, Liu YT, Clegg JB. Worldwide distribution of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation [4]. Vol. 62, *American Journal of Human Genetics.* 1998.
35. MTHFR Allele and Genotype Frequencies. *Genomics & Precision Health.*
36. Sacară V, Levitschi A, Groppa St. Diagnosticul molecular-genetic în Republica Moldova: istoria și perspective. *Buletin de perinatologie, Chișinău.* 2016;1(69).

37. Wells G, Becker JC, Teng J, Dougados M, Schiff M, Smolen J, et al. Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(6).
38. Swart JF, Van Dijkhuizen EHP, Wulffraat NM, De Roock S. Clinical Juvenile Arthritis Disease Activity Score proves to be a useful tool in treat-to-target therapy in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(3).
39. Calasan MB, De vries LD, Vastert SJ, Heijstek MW, Wulffraat NM. Interpretation of the Juvenile Arthritis Disease Activity Score: Responsiveness, clinically important differences and levels of disease activity in prospective cohorts of patients with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (United Kingdom).* 2014;53(2).
40. Burgos-Vargas R, Horneff G, Tse SML, Quartier P, Unnebrink K, Anderson JK. Performance of disease activity measures in pediatric patients with enthesitis-related arthritis. *Arthritis & rheumatology.* 2017;69.
41. Alexeeva EI, Bzarova TM, Valieva SI, Denisova R V., Isaeva KB, Chistyakova EG, et al. Efficacy and Safety of Adalimumab Long-Term Administration with Immunosuppressants at Juvenile Idiopathic Arthritis without Systemic Manifestations. *Current pediatrics.* 2015;14(4).
42. Bulatović M, Heijstek MW, Verkaaik M, Van Dijkhuizen EHP, Armbrust W, Hoppenreijns EPA, et al. High prevalence of methotrexate intolerance in juvenile idiopathic arthritis: Development and validation of a methotrexate intolerance severity score. *Arthritis Rheum.* 2011;63(7).
43. Kocharla L, Taylor J, Weiler T, Ting T V., Luggen M, Brunner HI. Monitoring methotrexate toxicity in juvenile idiopathic arthritis. *Journal of Rheumatology.* 2009;36(12).
44. Tokuhara D, Cho Y, Shintaku H. Transient elastography-based liver stiffness age-dependently increases in children. *PLoS One.* 2016;11(11).
45. Waelti S, Fischer T, Wildermuth S, Leschka S, Dietrich T, Guesewell S, et al. Normal sonographic liver and spleen dimensions in a central European pediatric population. *BMC Pediatr.* 2021;21(1).
46. Dietrich CF, Bamber J, Berzigotti A, Bota S, Cantisani V, Castera L, et al. EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Ultrasound Elastography, Update 2017 (Long Version). Vol. 38, *Ultraschall in der Medizin.* 2017.

47. Atallah E, Grove JI, Crooks C, Burden-Teh E, Abhishek A, Moreea S, et al. Risk of liver fibrosis associated with long-term methotrexate therapy may be overestimated. *J Hepatol.* 2023;78(5).
48. Barbulescu AL, Chisalau BA, Pirvanescu CD, Firulescu SC, Ene C, Dinescu SC, et al. The reverse of the coin: Methotrexate and liver fibrosis in a group of psoriatic arthritis patients. *Romanian Journal of Rheumatology.* 2020;29(4).
49. Lertnawapan R, Chonprasertsuk S, Siramolpiwat S. Association between cumulative methotrexate dose, non-invasive scoring system and hepatic fibrosis detected by Fibroscan in rheumatoid arthritis patients receiving methotrexate. *Int J Rheum Dis.* 2019;22(2).
50. Scheuern A, Fischer N, McDonald J, Brunner HI, Haas JP, Hügler B. Mutations in the MTHFR gene are not associated with Methotrexate intolerance in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatric Rheumatology.* 2016;14(1).
51. Wilcken B, Bamforth F, Li Z, Zhu H, Ritvanen A, Redlund M, et al. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): Findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet.* 2003;40(8).
52. MTHFR Gene, Folic Acid, and Preventing Neural Tube Defects [Internet]. 2022 [cited 2024 Jan 11]. Available from: <https://www.cdc.gov/ncbddd/folicacid/mthfr-gene-and-folic-acid.html>
53. Bezerra GA, Holenstein A, Foster WR, Xie B, Hicks KG, Bürer C, et al. Identification of small molecule allosteric modulators of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) by targeting its unique regulatory domain. *Biochimie* [Internet]. 2021 Apr;183:100–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300908421000092>
54. Sacara V, Scurtu V, Duca M, Groppa S. Analiza asociativă a genelor ciclurilor folat, metioninic și genei sintazei endoteliale NO la bolnavii de miodistrofie duchenne și la populația sănătoasă din Republica Moldova. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei Științe Medicale* [Internet]. 2014 [cited 2024 Jan 9];1(42):210–5.
55. Froese DS, Fowler B, Baumgartner MR. Vitamin B12, folate, and the methionine remethylation cycle—biochemistry, pathways, and regulation. Vol. 42, *Journal of Inherited Metabolic Disease.* 2019.
56. Crider KS, Yang TP, Berry RJ, Bailey LB. Folate and DNA methylation: A review of molecular mechanisms and the evidence for Folate's role. Vol. 3, *Advances in Nutrition.* 2012.

57. Goyette P, Rozen R. The thermolabile variant 677C→T can further reduce activity when expressed in CIS with severe mutations for human methylenetetrahydrofolate reductase. *Hum Mutat.* 2000;16(2).
58. Cobb JE, Hinks A, Thomson W. The genetics of juvenile idiopathic arthritis: Current understanding and future prospects. Vol. 53, *Rheumatology (United Kingdom)*. 2014.
59. Avramović MZ, Dolžan V, Toplak N, Accetto M, Lusa L, Avčín T. Relationship between polymorphisms in methotrexate pathway genes and outcome of methotrexate treatment in a cohort of 119 patients with juvenile idiopathic arthritis. *Journal of Rheumatology.* 2017;44(8).
60. Zhu H, Deng FY, Mo XB, Qiu YH, Lei SF. Pharmacogenetics and pharmacogenomics for rheumatoid arthritis responsiveness to methotrexate treatment: the 2013 update. *Pharmacogenomics [Internet]*. 2014 Mar;15(4):551–66. Available from: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/pgs.14.25>
61. Jekic B, Maksimovic N, Damnjanovic T. Methotrexate pharmacogenetics in the treatment of rheumatoid arthritis. Vol. 20, *Pharmacogenomics*. 2019.
62. Chen Y, Zou K, Sun J, Yang Y, Liu G. Associations between gene polymorphisms and treatment outcomes of methotrexate in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Pharmacogenomics*. 2018;19(6).
63. Berkani LM, Rahal F, Allam I, Mouaki Benani S, Laadjouz A, Djidjik R. Association of MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms with methotrexate efficiency and toxicity in Algerian rheumatoid arthritis patients. *Heliyon*. 2017;3(11).
64. Lima A, Bernardes M, Azevedo R, Seabra V, Medeiros R. Moving toward personalized medicine in rheumatoid arthritis: SNPs in methotrexate intracellular pathways are associated with methotrexate therapeutic outcome. *Pharmacogenomics*. 2016;17(15).
65. Sawhney S, Aggarwal A. Outcome measures in pediatric rheumatology. In: *Pediatric Rheumatology: A Clinical Viewpoint*. 2016.
66. Sawhney S, Agarwal M. Outcome measures in pediatric rheumatology. In: *Indian Journal of Pediatrics*. 2010.
67. Almeida B, Jordan EJ, Palman J, Bale P, Ralph E, Heard C, et al. R08 Real-life use of MRP8/14 serum level measurement in clinical practice as a predictor of outcome after stopping methotrexate in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology*. 2018;57(suppl\_8).
68. Becker ML. Role of methotrexate in juvenile idiopathic arthritis: where we have been and where we are going. *Int J Clin Rheumtol [Internet]*. 2013 Feb;8(1):123–35. Available from: <http://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/ijr.12.81>

69. Shenoi S, Ou JN, Ni C, Macaubas C, Gersuk VH, Wallace CA, et al. Comparison of biomarkers for systemic juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Res*. 2015;78(5).
70. Van Dijkhuizen PHP, Wulffraat NM. Prediction of methotrexate efficacy and adverse events in patients with juvenile idiopathic arthritis: A systematic literature review. *Pediatric Rheumatology*. 2014;12(1).
71. van Riel PLCM. The development of the disease activity score (DAS) and the disease activity score using 28 joint counts (DAS28). *Clin Exp Rheumatol*. 2014;32.
72. Consolaro A, Ruperto N, Bazso A, Pistorio A, Magni-Manzoni S, Filocamo G, et al. Development and validation of a composite disease activity score for juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2009;61(5).
73. Muller PH, Brinkman DMC, Schonenberg-Meinema D, Van Den Bosch WB, Koopman-Keemink Y, Brederije ICJ, et al. Treat to target (drug-free) inactive disease in DMARD-naive juvenile idiopathic arthritis: 24-month clinical outcomes of a three-armed randomised trial. *Ann Rheum Dis*. 2019;78(1).
74. Ringold S, Weiss PF, Colbert RA, Dewitt EM, Lee T, Onel K, et al. Childhood arthritis and rheumatology research alliance consensus treatment plans for new-onset polyarticular Juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2014;66(7).
75. Becker ML, Rosé CD, Cron RQ, Sherry DD, Bilker WB, Lautenbach E. Effectiveness and toxicity of methotrexate in juvenile idiopathic arthritis: Comparison of 2 initial dosing regimens. *Journal of Rheumatology*. 2010;37(4).
76. Coulson EJ, Ng WF, Goff I, Foster HE. Cardiovascular risk in juvenile idiopathic arthritis. Vol. 52, *Rheumatology (United Kingdom)*. 2013.
77. Aranda-Valera IC, De La Rosa IA, Roldán-Molina R, Ábalos-Aguilera MDC, Torres-Granados C, Patiño-Trives A, et al. Subclinical cardiovascular risk signs in adults with juvenile idiopathic arthritis in sustained remission. *Pediatric Rheumatology*. 2020;18(1).
78. Solomon DH, Glynn RJ, Karlson EW, Lu F, Corrigan C, Colls J, et al. Adverse effects of low-dose methotrexate: A randomized trial. *Ann Intern Med*. 2020;172(6).
79. Barral Mena E, García Cárdbaba LM, Canet Tarrés A, Enríquez Merayo E, Cruz Utrilla A, de Inocencio Arocena J. Methotrexate in juvenile idiopathic arthritis. Adverse effects and associated factors. *An Pediatr (Engl Ed)*. 2020;92(3).
80. Bulatović Čalasan M, van den Bosch OFC, Creemers MCW, Custers M, Heurkens AHM, van Woerkom JM, et al. Prevalence of methotrexate intolerance in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(6).



81. Calvo I, Antón J, López Robledillo JC, de Inocencio J, Gamir ML, Merino R, et al. Recommendations for the use of methotrexate in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Anales de Pediatría (English Edition)*. 2016;84(3).
82. Niehues T, Lankisch P. Recommendations for the use of methotrexate in juvenile idiopathic arthritis. Vol. 8, *Pediatric Drugs*. 2006.
83. Almalag H, Abouzaid HH, Alnaim L, Albaqami J, Shalhoub R Al, Almaghlouth I, et al. Risk factors associated with methotrexate intolerance in rheumatoid arthritis patients. *Open Access Rheumatol*. 2020;12.
84. Ahmad M, Sofi F. Prevalence of MTX Intolerance in Rheumatoid Arthritis- A 3 Year Prospective Hospital Based Study. *Rheumatology: Current Research*. 2016;6(2).
85. Fráňová J, FingerhutováŠ., Kobrová K, Srp R, Němcová D, Hoza J, et al. Methotrexate efficacy, but not its intolerance, is associated with the dose and route of administration. *Pediatric Rheumatology*. 2016;14(1).
86. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli R, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;64(2).
87. Bussler S, Vogel M, Pietzner D, Harms K, Buzek T, Penke M, et al. New pediatric percentiles of liver enzyme serum levels (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase,  $\gamma$ -glutamyltransferase): Effects of age, sex, body mass index, and pubertal stage. *Hepatology*. 2018;68(4).
88. Fu S, Wu D, Jiang W, Li J, Long J, Jia C, et al. Molecular biomarkers in drug-induced liver injury: Challenges and future perspectives. *Front Pharmacol*. 2020;10.
89. Gameraddin M. The Sonographic Dimensions of the Liver at Normal Subjects Compared to Patients with Malaria. *International Journal of Medical Imaging*. 2015;3(6).
90. Smith J. EFSUMB Course Book on Ultrasound. *Ultrasound Med Biol*. 2013;39(6).
91. Berliba E, Dumbrava V-T, Peltec A, Ghercavi D, Rusanovschi V. Metode neinvazive de evaluare a fibrozei hepatice. *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. 2016;4(68):35–8.
92. Azzam A, Jiyad Z, O'Beirne J. Is methotrexate hepatotoxicity associated with cumulative dose? A systematic review and meta-analysis. Vol. 62, *Australasian Journal of Dermatology*. 2021.

93. Frankowski M, Świerkot J, Gomułkiewicz M, Korman L, Skoczyńska M, Starba A. Usefulness of noninvasive diagnostic procedures for assessment of methotrexate hepatotoxicity in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2022;42(4).
94. Rattanakaemakorn P, Pinyowiwat P, Iamsurang W, Chanprapaph K, Suchonwanit P. Incidence and risk factors of hepatic fibrosis in psoriatic patients receiving methotrexate with concomitant acitretin therapy and methotrexate monotherapy. *Drug Des Devel Ther.* 2021;15.
95. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, et al. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines. Vol. 37, *European Heart Journal.* 2016.
96. Lyon AR, López-Fernández T, Couch LS, Asteggiano R, Aznar MC, Bergler-Klei J, et al. 2022 ESC Guidelines on cardio-oncology developed in collaboration with the European Hematology Association (EHA), the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) and the International Cardio-Oncology Society (IC-OS). *Eur Heart J.* 2022;43(41).
97. El Eraky AZ, Handoka NM, Ghaly MS, Nasef SI, Eldahshan NA, Ibrahim AM, et al. Assessment of left atrial mechanical functions and atrial electromechanical delay in Juvenile idiopathic arthritis by tissue Doppler echocardiography. *Pediatric Rheumatology.* 2016;14(1).
98. Vizzardì E, Cavazzana I, Bazzani C, Pezzali N, Ceribelli A, Bonadei I, et al. Echocardiographic evaluation of asymptomatic patients affected by rheumatoid arthritis. *Journal of Investigative Medicine.* 2012;60(8).
99. Bharti BB, Kumar S, Kapoor A, Agarwal A, Mishra R, Sinha N. Assessment of left ventricular systolic and diastolic function in juvenile rheumatoid arthritis. *J Postgrad Med.* 2004;50(4).
100. Nikdoust F, Zangeneh R, Tabatabaei SA. Cardiac involvement and echocardiographic characteristics in rheumatoid arthritis. *Iranian Heart Journal.* 2016;17(2).
101. Bălănescu A, Bojincă V, Bojincă M, Donisan T, Bălănescu S. Cardiovascular effects of methotrexate in immune-mediated inflammatory diseases (Review). *Exp Ther Med.* 2018 Nov 19;
102. Ahlers MJ, Lowery BD, Farber-Eger E, Wang TJ, Bradham W, Ormseth MJ, et al. Heart failure risk associated with rheumatoid arthritis-related chronic inflammation. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(10).

103. Abul MH, Erguven M, Ozben B, Ayhan YI. The Forgotten Chamber: Right-Ventricular Functions in Juvenile Idiopathic Arthritis. *Pediatr Cardiol* [Internet]. 2012 Jun 17;33(5):739–43. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00246-012-0203-1>
104. Alkady EAM, Helmy HAR, Mohamed-Hussein AAR. Assessment of cardiac and pulmonary function in children with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int*. 2012;32(1).
105. Overbeek LIH, Kapusta L, Peer PGM, de Korte CL, Thijssen JM, Daniels O. New reference values for echocardiographic dimensions of healthy Dutch children. *European Journal of Echocardiography*. 2006;7(2).
106. Lambert J, Thavendiranathan P. Controversies in the Definition of Cardiotoxicity: Do We Care? - American College of Cardiology. *Jacc*. 2016;
107. Plana JC, Galderisi M, Barac A, Ewer MS, Ky B, Scherrer-Crosbie M, et al. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: A report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2014;15(10).
108. Cantinotti M, Lopez L. Nomograms for blood flow and tissue doppler velocities to evaluate diastolic function in children: A critical review. Vol. 26, *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2013.
109. Van Der Hulst AE, Delgado V, Ten Harkel ADJ, Klitsie LM, Filippini LHPM, Bax JJ, et al. Tissue Doppler imaging in the left ventricle and right ventricle in healthy children: Normal age-related peak systolic velocities, timings, and time differences. *European Journal of Echocardiography*. 2011;12(12).
110. Dallaire F, Slorach C, Hui W, Sarkola T, Friedberg MK, Bradley TJ, et al. Reference values for pulse wave doppler and tissue doppler imaging in pediatric echocardiography. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2015;8(2).
111. Cantinotti M, Giordano R, Scalese M, Murzi B, Assanta N, Spadoni I, et al. Nomograms for mitral inflow Doppler and tissue Doppler velocities in Caucasian children. *J Cardiol*. 2016;68(4).
112. Mah K, Mertens L. Echocardiographic Assessment of Right Ventricular Function in Paediatric Heart Disease: A Practical Clinical Approach. *CJC Pediatric and Congenital Heart Disease*. 2022;1(3).
113. Yang X, Li G, Yang T, Guan M, An N, Yang F, et al. Possible susceptibility genes for intervention against chemotherapy-induced cardiotoxicity. Vol. 2020, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020.

114. Mannion ML, Cron RQ. Therapeutic strategies for treating juvenile idiopathic arthritis. *Curr Opin Pharmacol* [Internet]. 2022 Jun;64:102226. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471489222000534>
115. Eng SWM, Duong TT, Rosenberg AM, Morris Q, Yeung RSM. The biologic basis of clinical heterogeneity in juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis and Rheumatology*. 2014;66(12).
116. Nigrovic PA, Raychaudhuri S, Thompson SD. Review: Genetics and the Classification of Arthritis in Adults and Children. Vol. 70, *Arthritis and Rheumatology*. 2018.
117. Nigrovic PA, Martínez-Bonet M, Thompson SD. Implications of juvenile idiopathic arthritis genetic risk variants for disease pathogenesis and classification. Vol. 31, *Current Opinion in Rheumatology*. 2019.
118. Beukelman T, Nigrovic PA. Juvenile idiopathic arthritis: An idea whose time has gone? Vol. 46, *Journal of Rheumatology*. 2019.
119. Bridges JM, Mellins ED, Cron RQ. Recent progress in the treatment of non-systemic juvenile idiopathic arthritis. *Fac Rev*. 2021;10.
120. Onel KB, Horton DB, Lovell DJ, Shenoi S, Cuello CA, Angeles-Han ST, et al. 2021 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis: Therapeutic Approaches for Oligoarthritis, Temporomandibular Joint Arthritis, and Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. *Arthritis and Rheumatology*. 2022;74(4).
121. Klein A, Kaul I, Foeldvari I, Ganser G, Urban A, Horneff G. Efficacy and safety of oral and parenteral methotrexate therapy in children with juvenile idiopathic arthritis: An observational study with patients from the German Methotrexate Registry. *Arthritis Care Res (Hoboken)* [Internet]. 2012 Sep 27;64(9):1349–56. Available from: <https://acrjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/acr.21697>
122. Revenco N, Drușcă A, Scripnic E, Pletosu I, Foca S. Indicii de sugestivitate prognostică pentru evoluția artritei juvenile idiopatice. *Curierul Medical*. 2012;3(327):280–1.
123. Revenco N, Cracea (Drușca) A, Foca S-G, Vangheli A. Modificările articulare și activitatea paraclinică în artrita juvenilă idiopatică. *Buletin de Perinatologie*. 2009;3(43):121–5.
124. García-Rodríguez F, Gamboa-Alonso A, Jiménez-Hernández S, Ochoa-Alderete L, Barrientos-Martínez VA, Alvarez-Villalobos NA, et al. Economic impact of Juvenile Idiopathic Arthritis: a systematic review. Vol. 19, *Pediatric Rheumatology*. 2021.
125. Salaru V, Mazur-Nicorici L, Sadovici V, Mazur C, Revenco N. Health-related quality of life and psychological status in patients with knee osteoarthritis in republic of moldova. *Osteoporosis International*. 2015;1).

126. Giancane G, Alongi A, Rosina S, Tibaldi J, Consolaro A, Ravelli A. Recent therapeutic advances in juvenile idiopathic arthritis. Vol. 31, Best Practice and Research: Clinical Rheumatology. 2017.
127. Dijkhuizen EHPV, Calasan MB, Pluijm SMF, Rotte MCFJD, Vastert SJ, Kamphuis S, et al. Prediction of Methotrexate Intolerance in Juvenile Idiopathic Arthritis: A prospective, observational cohort study. *Pediatric Rheumatology*. 2015;13(1).
128. Ferrara G, Mastrangelo G, Barone P, La Torre F, Martino S, Pappagallo G, et al. Methotrexate in juvenile idiopathic arthritis: Advice and recommendations from the MARAJIA expert consensus meeting. Vol. 16, *Pediatric Rheumatology*. 2018.
129. Hersh AO, Prahalad S. Genetics of Juvenile Idiopathic Arthritis. Vol. 43, *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 2017.
130. Goetz LH, Schork NJ. Personalized medicine: motivation, challenges, and progress. Vol. 109, *Fertility and Sterility*. 2018.
131. Saxén S, Saxén H. Implementing Personalized Genetic Medicine: Interprofessional and Patient Perspectives on Connecting Medical Research with Clinical Care. *VOICES IN BIOETHICS*. 2021;7.
132. Schmeling H, Horneff G, Benseler SM, Fritzler MJ. Pharmacogenetics: Can genes determine treatment efficacy and safety in JIA? Vol. 10, *Nature Reviews Rheumatology*. 2014.
133. Gauderman J, Ph D, Morrison J. QUANTO 1.1: A computer program for power and sample size calculations for genetic-epidemiology studies,. <http://hydra.usc.edu/gxe>. 2006;(January).
134. GENE-CALC ©2018 [citat 16.06.2023]. Disponibil: <http://www.gene-calc.pl/>.
135. SCIENCE PRIMER © Andrew Staroscik 2011-2022 [citat 16.06.2023]. Disponibil: <https://scienceprimer.com/hardy-weinberg-equilibrium-calculator>.
136. Truckenbrodt H, Häfner R. Methotrexate therapy in juvenile rheumatoid arthritis: A retrospective study. *Arthritis Rheum*. 1986;29(6).
137. Katchamart W, Trudeau J, Phumethum V, Bombardier C. Methotrexate monotherapy versus methotrexate combination therapy with non-biologic disease modifying anti-rheumatic drugs for rheumatoid arthritis. Vol. 2010, *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2010.
138. Ramanan A V. Use of methotrexate in juvenile idiopathic arthritis. *Arch Dis Child* [Internet]. 2003 Mar 1;88(3):197–200. Available from: <https://adc.bmj.com/lookup/doi/10.1136/adc.88.3.197>

139. Horneff G, Minden K, Huppertz HI, Tenbrock K, Haas JP. SAT0491 Gender Specific Comorbidities in Juvenile Idiopathic Arthritis Patients: Table 1. *Ann Rheum Dis.* 2015;74(Suppl 2).
140. Horneff G, Borchert J, Heinrich R, Kock S, Klaus P, Dally H, et al. Incidence, prevalence, and comorbidities of juvenile idiopathic arthritis in Germany: a retrospective observational cohort health claims database study. *Pediatric Rheumatology.* 2022;20(1).
141. Liew SC, Gupta E Das. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: Epidemiology, metabolism and the associated diseases. Vol. 58, *European Journal of Medical Genetics.* 2015.
142. Neagoș D, Crețu R, Sfetea RC, Mierla D, Bohiltea LC. Investigarea relației dintre riscul de avort spontan și polimorfismele C677T și A1298C ale genei metilentetrahidrofolat reductazei. *Rev Rom Med Lab.* 2012;20(4).
143. Neagoș D, Crețu R, Mierla D, Pavelescu L A, Bohiltea L C. Polimorfismele C677T și A1298C ale genei metilentetrahidrofolat reductază la pacientele cu avorturi spontane în populația din România. *Revista Medicală Română.* 2012;LIX(4):315–20.
144. Sacară v, Scvorțova E, Florea V. Influența genelor ciclului folat asupra manifestărilor fenotipice în distrofia musculară Duchenne/Becker. *Buletin de Perinatologie.* 2009;2(42):45–51.
145. Sacară V, Mocan E, Scurtu V, Duca M, Groppa S. Evaluarea influenței genelor modificatoare a metabolismului asupra manifestărilor proceselor miopatie (pe exemplul distrofiei musculare Duchenne/Becker). *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei Științe Medicale.* 2014;1(42):198–204.
146. Patil P, Parker RA, Rawcliffe C, Olaleye A, Moore S, Daly N, et al. Methotrexate-induced nausea and vomiting in adolescent and young adult patients. *Clin Rheumatol.* 2014;33(3).
147. Kyvsgaard N, Mikkelsen TS, Thastum M, Christensen AE, Wehner PS, Nysom K, et al. Increased methotrexate intolerance in juvenile idiopathic arthritis compared to acute lymphoblastic leukaemia in children. *PLoS One.* 2019;14(7).
148. Raaby L, Zachariae C, Østensen M, Heickendorff L, Thielsen P, Grønbaek H, et al. Methotrexate use and monitoring in patients with psoriasis: A consensus report based on a danish expert meeting. *Acta Derm Venereol.* 2017;97(4).
149. Ranganathan P, Eisen S, Yokoyama WM, McLeod HL. Will pharmacogenetics allow better prediction of methotrexate toxicity and efficacy in patients with rheumatoid arthritis? Vol. 62, *Annals of the Rheumatic Diseases.* 2003.
150. Onel KB, Horton DB, Lovell DJ, Shenoi S, Cuello CA, Angeles-Han ST, et al. 2021 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Juvenile Idiopathic

- Arthritis: Recommendations for Nonpharmacologic Therapies, Medication Monitoring, Immunizations, and Imaging. *Arthritis and Rheumatology*. 2022;74(4).
151. Dietrich CF, Sirli R, Ferraioli G, Popescu A, Sporea I, Pienar C, et al. Current knowledge in ultrasound-based liver elastography of pediatric patients. Vol. 8, *Applied Sciences* (Switzerland). 2018.
  152. Tuková J, Chládek J, Hroch M, Němcová D, Hoza J, Doležalová P. 677TT genotype is associated with elevated risk of methotrexate (MTX) toxicity in juvenile idiopathic arthritis: Treatment outcome, erythrocyte concentrations of MTX and folates, and MTHFR polymorphisms. *Journal of Rheumatology*. 2010;37(10).
  153. Koca B, Kasapçopur Ö, Bakari S, Çelik E, Calay Ö. QT dispersion and cardiac involvement in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int*. 2012;32(10).
  154. Koca B, Bakari S, Kasapçopur Ö, Çelik E, Öztunç F, Eroğlu AG, et al. P wave dispersion in juvenile idiopathic arthritis patients with diastolic dysfunction. *Iran J Pediatr*. 2012;22(4).
  155. Witzak BN, Hetlevik SO, Sanner H, Barth Z, Schwartz T, Flatø B, et al. Effect on cardiac function of longstanding juvenile-onset mixed connective tissue disease: A controlled study. *Journal of Rheumatology*. 2019;46(7).
  156. Lianza AC, Leal GN, Aikawa NE, Kozu KT, De Fátima MDR, Sawamura KSS, et al. Heart function in juvenile idiopathic arthritis patients: A biventricular two-dimensional speckle-tracking echocardiography study. *Mod Rheumatol*. 2022;32(6).
  157. Szumera M, Korzon M. Detection of cardiac changes in juvenile rheumatoid arthritis by non-invasive methods of circulatory system investigation. *Medical Science Monitor*. 1999;5(3).
  158. Koca B, Demir T, Kasapçopur Ö. Use of tissue Doppler and its comparison with other pulse Doppler echocardiography in the evaluation of diastolic functions in patients with active juvenile idiopathic arthritis. *Clin Rheumatol*. 2015;34(8).
  159. Koestenberger M, Ravekes W, Everett AD, Stueger HP, Heinzl B, Gamillscheg A, et al. Right Ventricular Function in Infants, Children and Adolescents: Reference Values of the Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion (TAPSE) in 640 Healthy Patients and Calculation of z Score Values. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2009;22(6).
  160. Núñez-Gil IJ, Rubio MD, Cartón AJ, López-Romero P, Deiros L, García-Guereta L, et al. Determination of Normalized Values of the Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion (TAPSE) in 405 Spanish Children and Adolescents. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. 2011;64(8).

161. Uysal F, Bostan ÖM, Çil E. Determination of reference values for tricuspid annular plane systolic excursion in healthy Turkish children. *Anatol J Cardiol*. 2016;16(5).
162. Roberson DA, Cui W, Chen Z, Madronero LF, Cuneo BF. Annular and Septal Doppler Tissue Imaging in Children: Normal z-Score Tables and Effects of Age, Heart Rate, and Body Surface Area. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2007;20(11).
163. Eidem BW, McMahon CJ, Cohen RR, Wu J, Finkelshteyn I, Kovalchin JP, et al. Impact of cardiac growth on doppler tissue imaging velocities: A study in healthy children. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2004;17(3).
164. Surawicz B, Knilans TK. Chou's Electrocardiography in Clinical Practice: Adult and Pediatric. *Chou's Electrocardiography in Clinical Practice: Adult and Pediatric*. 2008.



## ANEXE

Anexa 1. Scorul DAS28

Anexa 2. Scorul JADAS-71

Anexa 3. Indicele ACR Pedi 30

Anexa 4. Scorul MISS

Anexa 5. Nomograma pentru Doppler tisular exprimate ca percentile pentru grupe de vârste [110]

Anexa 6. Valoarea TAPSE pentru vârste și suprafața corpului [111, 155, 156, 157]

Anexa 7. S` tricuspidian după vârstă. S` și E` a peretelui liber ventricular drept și a peretelui medial [158, 159]

Anexa 8. Valorile normale electrocardiografice la copii [160]

Anexa 9. Certificat de inovator Nr. 5981

Anexa 10. Act de implementare Nr. 12

Anexa 11. Certificat de inovator Nr. 5982

Anexa 12. Act de implementare Nr. 13

Anexa 13. Certificat de inovator Nr. 5985

Anexa 14. Act de implementare Nr. 15

Anexa 15. Certificat de inovator Nr. 508

Anexa 16. Act de implementare Nr. 508

Anexa 17. Certificat de inovator Nr. 509

Anexa 18. Act de implementare Nr. 509

Anexa 19. Certificat de inovator Nr. 510

Anexa 20. Act de implementare Nr. 510

Anexa 21. Adeverință privind înscrierea obiectelor dreptului de autor și ale drepturilor conexe  
Seria OȘ Nr. 7776

Anexa 22. Distincții la forumuri internaționale

## Anexa 1. Scorul DAS28

**Scorul DAS28** – Scorul activității bolii în baza a 28 de articulații (*engl. Disease Activity Score 28*)

COD UNIC ..... VÎRSTA .....  
DATA EXAMINĂRII .....

NUMĂRUL ARTICULAȚIILOR DUREROASE .....

NUMĂRUL ARTICULAȚIILOR TUMEFIATE .....

VSH (mm/h).....

EVALUAREA GLOBALĂ A BOLII (mm) .....

DAS28 = .....

## Anexa 2. Scorul JADAS-71

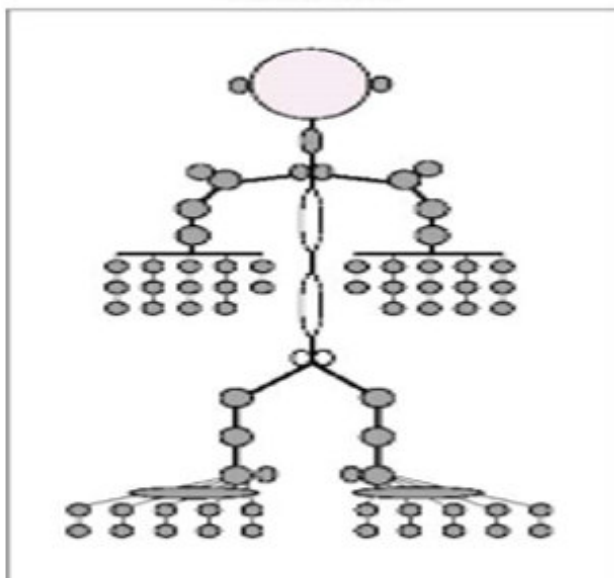
**Scorul JADAS-71** – Scorul activității bolii artritei juvenile în baza a 71 de articulații (*engl. Juvenile Arthritis Disease Activity Score 71*)

JADAS 71 (Juvenile Arthritis Disease Activity Score 71)

COD UNIC ..... Vîrsta .....

Data examinării .....

JADAS-71



Evaluarea globală a activității bolii de către medic (VAS 0 – 10 cm)



Evaluarea globală a activității bolii de către pacient (VAS 0 – 10 cm)



$$\frac{\text{VSH} \left( \frac{\text{mm}}{\text{h}} \right) - 20}{10} = \boxed{\phantom{00}}$$

TOTAL =

### Anexa 3. Indicele ACR Pedi 30

**Indicele ACR Pedi 30** – Indicele de ameliorare cu 30% a 6 parametri clinico-paraclinici la copiii cu AJI conform Colegiului American de Reumatologie

COD UNIC .....	VÎRSTA .....	
DATA EXAMINĂRII .....		
EVALUAREA GLOBALĂ A BOLII DE CĂTRE MEDIC	<30%	>30%
EVALUAREA GLOBALĂ A BOLII DE CĂTRE PACIENT/PĂRINTE	<30%	>30%
CLASA FUNCȚIONALĂ	<30%	>30%
NUMĂRUL ARTICULAȚIILOR CU ARTRITĂ ACTIVĂ	<30%	>30%
NUMĂRUL ARTICULAȚIILOR CU LIMITAREA MIȘCĂRILOR	<30%	>30%
VITEZA DE SEDIMENTARE A HEMATILOR	<30%	>30%
ACR Pedi 30		<30%      >30%

## Anexa 4. Scorul MISS

**Scorul MISS** – Scorul de severitate a intoleranței la *metotrexat* (engl. *Methotrexate Intolerance Severity Score*)

COD UNIC ..... VÎRSTA .....

DATA EXAMINĂRII .....

### Methotrexate Intolerance Severity Score (MISS)

	Fără acuze	Acuze (1 – 3 puncte)		
		Ușor	Moderat	Sever
	0	1	2	3
<b>Durere de stomac</b>				
Copilul meu prezintă durere de stomac după administrarea MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Copilul meu prezintă durere de stomac de la câteva ore la o zi pînă la administrarea MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Copilul meu prezintă durere de stomac cînd se gîndește la MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Greața</b>				
Copilul meu prezintă greață după administrarea MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Copilul meu prezintă greață de la câteva ore la o zi pînă la administrarea MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Copilul meu prezintă greață cînd se gîndește la MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Voma</b>				
Copilul meu vomită după administrarea MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Copilul meu vomită de la câteva ore la o zi pînă la administrarea MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Acuze de comportament</b>				
Copilul meu este obosit cînd administrează MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Copilul meu plînge cînd administrează MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Copilul meu este irascibil cînd administrează MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Copilul meu refuză să administreze MTX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>TOTAL .....</b>				<b>PUNCTE</b>

## Anexa 5. Nomograma pentru Doppler tisular exprimate ca percentile pentru grupe de vârste (111)

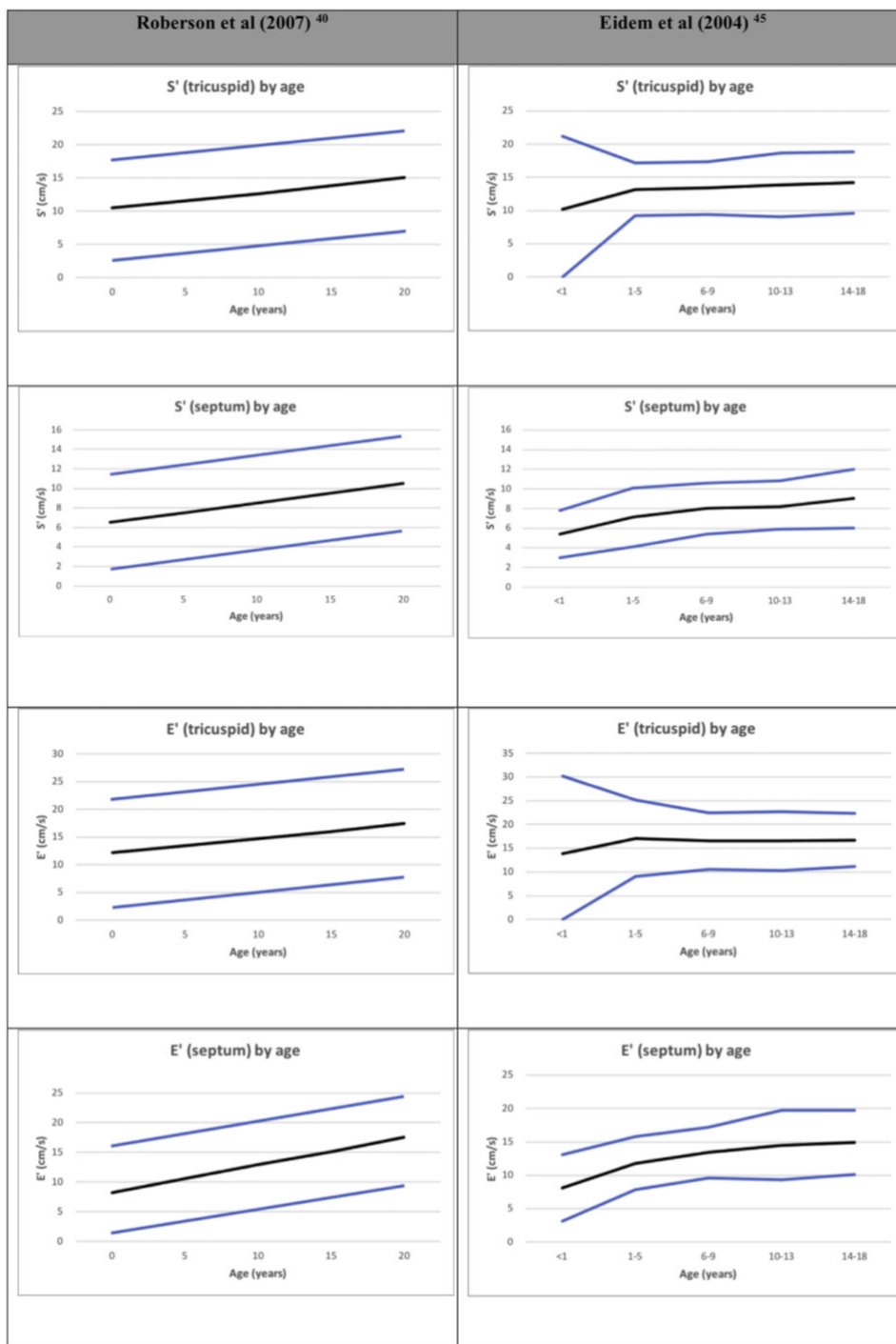
Percentiles	0-30 days	1-12 months	1-5 years	6-9 years	10-13 years	14-18 years	Total
<b>E</b>							
10	45.0	72.2	86.3	86.9	85.1	86.8	45.0
25	57.7	87.2	94.8	95.3	94.6	94.8	57.7
50	67.5	99.5	106.0	103.0	108.0	105.0	67.5
75	79.8	110.5	117.0	113.0	117.0	116.8	79.8
90	88.3	119.8	127.7	121.0	126.8	130.5	88.3
<b>A</b>							
10	45.5	60.8	50.8	47.5	44.6	42.0	45.5
25	54.0	72.4	57.6	52.1	50.7	49.6	54.0
50	66.2	84.8	65.8	59.2	58.3	57.9	66.2
75	80.6	94.4	75.2	66.7	66.5	65.1	80.6
90	96.5	105.0	85.5	74.2	76.7	76.8	96.5
<b>EDT</b>							
10	45.6	55.0	82.9	95.0	109.8	127.0	45.6
25	61.0	77.0	92.8	108.0	120.0	134.0	61.0
50	74.0	90.0	108.0	121.0	137.0	151.0	74.0
75	92.0	104.5	121.0	143.8	158.0	169.0	92.0
90	108.0	116.0	139.1	158.0	174.8	186.2	108.0
<b>Ss'</b>							
10	5.6	7.0	7.6	8.1	7.9	8.4	5.6
25	6.1	7.7	8.4	8.7	9.0	9.1	6.1
50	6.9	8.4	9.2	9.4	9.7	10.3	6.9
75	7.7	9.1	9.9	10.2	10.9	11.3	7.7
90	8.6	10.3	10.8	11.2	11.9	11.9	8.6
<b>Se'</b>							
10	5.5	6.9	12.0	12.3	11.7	12.5	5.5
25	6.1	8.3	12.9	13.6	13.6	13.6	6.1
50	7.0	10.4	14.6	14.7	15.6	15.3	7.0
75	8.5	12.0	15.6	16.4	17.3	16.6	8.5
90	11.3	13.3	17.0	18.0	19.7	18.2	11.3
<b>Sa'</b>							
10	6.4	6.5	5.7	5.4	5.2	5.6	6.4
25	7.2	7.6	6.6	6.3	6.0	6.0	7.2
50	8.6	9.4	7.3	7.1	6.9	7.6	8.6
75	9.9	11.3	8.5	8.2	8.0	8.7	9.9
90	11.4	12.6	9.8	9.3	9.4	9.8	11.4
<b>Ls'</b>							
10	5.8	7.5	7.9	8.3	8.8	8.5	5.8
25	6.5	7.9	8.7	9.0	9.6	9.3	6.5
50	7.3	8.6	9.5	10.0	10.6	10.9	7.3
75	8.1	9.3	10.3	11.1	12.3	13.0	8.1
90	9.2	11.3	11.2	12.3	13.8	14.9	9.2
<b>Le'</b>							
10	5.6	8.1	12.7	13.4	14.3	14.1	5.6
25	7.0	9.9	13.8	15.1	15.8	15.7	7.0
50	8.4	11.6	15.4	17.0	17.6	17.3	8.4
75	10.1	13.2	17.1	18.3	20.0	18.6	10.1
90	11.7	15.0	18.4	20.2	22.1	24.9	11.7
<b>La'</b>							
10	6.5	6.4	5.7	5.5	4.9	5.1	6.5
25	7.3	7.2	6.4	6.1	5.7	6.2	7.3
50	8.7	8.6	7.5	7.1	6.8	7.1	8.7
75	10.3	10.4	8.4	8.3	7.9	8.1	10.3
90	11.7	12.2	9.9	9.8	9.0	10.0	11.7
<b>E/e'</b>							
10	6.3	6.8	5.8	5.4	5.0	5.4	6.3
25	8.1	8.5	6.5	6.2	5.8	5.9	8.1
50	9.1	10.0	7.3	6.9	6.7	6.7	9.1
75	11.6	11.6	8.3	7.8	7.8	7.8	11.6
90	13.4	14.4	9.0	8.9	9.3	9.3	13.4

Anexa 6. Valoarea TAPSE pentru vârste și suprafața corpului (112,159–161)

Age	BSA (m <sup>2</sup> )	TAPSE (cm)
0-30 d	0.23 (0.17-0.28) <sup>36</sup>	1.06 (0.66-1.45) <sup>36</sup>
	0.22 (0.14-0.28) <sup>35</sup>	0.91 (0.68-1.15) <sup>35</sup>
1-3 mo	0.28 (0.21-0.44) <sup>36</sup> 0.29 (0.12-0.54) <sup>35</sup>	0.91 (0.64-1.18) <sup>153</sup>
		1.30 (0.93-1.66) <sup>36</sup>
		1.14 (0.85-1.42) <sup>35</sup>
4-6 mo	0.34 (0.29-0.56) <sup>36</sup> 0.34 (0.26-0.41) <sup>35</sup>	1.05 (0.71-1.39) <sup>153</sup>
		1.42 (1.01-1.83) <sup>36</sup>
		1.31 (1.01-1.65) <sup>35</sup>
7-12 mo	0.41 (0.29-0.56) <sup>36</sup> 0.40 (0.31-0.47) <sup>35</sup>	1.19 (0.83-1.56) <sup>153</sup>
		1.52 (0.91-2.12) <sup>36</sup>
		1.44 (1.13-1.77) <sup>35</sup>
1-2 y	0.54 (0.27-0.75) <sup>36</sup>	1.35 (0.77-1.92) <sup>153</sup>
		1.71 (1.13-2.29) <sup>36</sup>
1 y	0.47 (0.3-0.69) <sup>35</sup>	1.57 (1.06-2.09) <sup>153</sup>
2 y	0.53 (0.4-0.62) <sup>35</sup>	1.55 (1.25-1.88) <sup>35</sup>
3-4 y	0.72 (0.32-1.07) <sup>36</sup>	1.65 (1.36-1.94) <sup>35</sup>
		1.94 (1.41-2.46) <sup>36</sup>
3 y	0.63 (0.52-0.77) <sup>35</sup>	1.81 (1.33-2.29) <sup>153</sup>
4 y	0.70 (0.60-0.91) <sup>35</sup>	1.74 (1.48-2.02) <sup>35</sup>
5-8 y	0.93 (0.52-1.35) <sup>36</sup>	1.82 (1.56-2.07) <sup>35</sup>
		1.93 (1.36-2.51) <sup>36</sup>
5 y	0.77 (0.63-0.99) <sup>35</sup>	2.01 (1.45-2.57) <sup>3</sup>
6 y	0.82 (0.46-1.06) <sup>35</sup>	1.87 (1.60-2.13) <sup>35</sup>
7 y	0.94 (0.75-1.17) <sup>35</sup>	1.90 (1.62-2.18) <sup>35</sup>
8 y	0.97 (0.79-1.39) <sup>35</sup>	1.94 (1.64-2.25) <sup>35</sup>
9-12 y	1.28 (0.46-1.7) <sup>36</sup>	1.97 (1.67-2.28) <sup>35</sup>
		2.10 (1.47-2.73) <sup>36</sup>
9 y	1.00 (0.8-1.32) <sup>35</sup>	2.30 (1.63-2.96) <sup>153</sup>
10 y	1.15 (0.82-1.54) <sup>35</sup>	2.01 (1.73-2.30) <sup>35</sup>
11 y	1.28 (1.06-1.55) <sup>35</sup>	2.05 (1.79-2.31) <sup>35</sup>
12 y	1.39 (1.08-1.67) <sup>35</sup>	2.10 (1.83-2.36) <sup>35</sup>
13-18 y	1.59 (1.33-2.04) <sup>36</sup>	2.14 (1.84-2.43) <sup>35</sup>
		2.10 (1.44-2.75) <sup>36</sup>
13 y	1.48 (1.03-1.87) <sup>35</sup>	2.59 (1.87-3.31) <sup>153</sup>
14 y	1.55 (1.11-1.93) <sup>35</sup>	2.20 (1.85-2.54) <sup>35</sup>
15 y	1.59 (1.32-1.96) <sup>35</sup>	2.26 (1.86-2.65) <sup>35</sup>
16 y	1.66 (1.3-2.04) <sup>35</sup>	2.33 (1.93-2.75) <sup>35</sup>
17 y	1.77 (1.43-2.06) <sup>35</sup>	2.39 (1.98-2.78) <sup>35</sup>
18 y	1.79 (1.34-2.25) <sup>35</sup>	2.45 (2.04-2.88) <sup>35</sup>
		2.47 (2.05-2.91) <sup>35</sup>

**Anexa 7. S` tricuspidian după vârstă. S` și E` a peretelui liber ventricular drept și a peretelui medial (162,163)**

*Linia neagră: media; linia albastră: +2DS*





## Anexa 8. Valorile normale electrocardiografice la copii (164)

Age/Gestation	Heart Rate (beats/min)	QRS Axis (degrees)	PR Interval (ms)	QRS Duration (ms)	Q (III) (mV)	R (V <sub>I</sub> )	S (V <sub>I</sub> )	R (V <sub>4</sub> )	S (V <sub>4</sub> )	R (V <sub>4</sub> )	S (V <sub>4</sub> )
						(mV)	(mV)	(mV)	(mV)	(mV)	(mV)
20 weeks gestation	147	—	75.1–112.0	30.6–54.3	—	—	—	—	—	—	—
30 weeks gestation	143	—	80.7–129.2	35.4–62.9	—	—	—	—	—	—	—
40 weeks gestation	138	—	80.2–137.8	41.0–72.8	—	—	—	—	—	—	—
Days 0–1	122 (93–155)	59–193	79–161	21–76	0.01–0.51	0.5–2.6	0.1–2.3	0.3–3.0	0.3–2.8	0–1.2	0–1.0
1–3	122 (91–158)	64–196	81–139	22–67	0.01–0.51	0.5–2.7	0.1–2.1	0.6–3.0	0.2–2.7	0–1.2	0–1.0
3–7	128 (90–166)	77–193	73–136	21–68	0.01–0.48	0.3–2.4	0.1–1.7	0.6–2.9	0.3–2.6	0–1.2	0–1.0
7–30	149 (106–182)	65–161	72–138	22–79	0.01–0.56	0.3–2.1	0.1–1.1	0.8–2.9	0.3–2.3	0.2–1.7	0–1.0
Months 1–3	149 (120–179)	31–113	72–130	23–75	0.01–0.54	0.3–1.8	0.1–1.3	1.3–3.8	0.5–2.2	0.5–2.2	0–0.7
3–6	141 (106–186)	7–104	73–146	22–79	0–0.66	0.3–2.0	0.1–1.7	1.1–4.3	0.3–2.3	0.6–2.2	0–1.0
6–12	131 (108–169)	6–99	72–157	23–76	0–0.63	0.2–2.0	0.1–1.8	1.2–3.6	0.2–2.3	0.6–2.3	0–0.7
Years 1–3	119 (90–151)	7–101	81–148	27–75	0–0.53	0.3–1.8	0.1–2.1	1.1–3.5	0.3–2.0	0.6–2.3	0–0.7
3–5	109 (72–138)	6–104	83–161	30–72	0–0.42	0.2–1.8	0.2–2.2	1.3–4.5	0.2–1.8	0.8–2.4	0–0.5
5–8	100 (64–132)	11–143	90–163	32–79	0–0.32	0.1–1.4	0.3–2.3	1.2–4.4	0.2–1.9	0.8–2.7	0–0.4
8–12	91 (62–130)	9–114	88–171	32–85	0–0.27	0.1–1.2	0.3–2.5	1.1–4.2	0.2–1.9	0.9–2.6	0–0.4
12–16	80 (61–120)	11–130	92–176	34–88	0–0.30	0.1–1.0	0.3–2.2	0.7–3.9	0.1–1.8	0.7–2.3	0–0.4

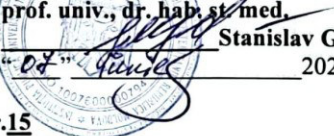







	<p>INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate</p>	Pag. 1 / 1
<p style="text-align: center;"><b>APROB</b> Prorector pentru activitate de cercetare, USMF "Nicolae Testemițanu" din RM academician al ASM, prof. univ., dr. hab. șt. med.  Stanislav GROPPA 2023</p> <p style="text-align: center;"><b>ACTUL nr.12</b> <b>DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-practic și științifico-didactic)</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Denumirea ofertei pentru implementare: „EVALUAREA POLIMORFISMELOR GENETICE T677T ȘI C677T/A1298C ALE METILENTETRAHIDROFOLAT REDUCTAZEI ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ”</li><li>2. <b>Autori:</b> Ninel REVENCO, dr.hab.șt.med., prof.univ., Vladimir IACOMI, asist.univ., doctorand</li><li>3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 5981 din 07 februarie 2023.</li><li>4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF "Nicolae Testemițanu" și secția Reumatologie a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.</li><li>5. Eficacitatea implementării: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și reumatologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Reumatologie.</li><li>6. <b>Rezultatul implementării:</b> Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale MTHFR la copiii cu artrită juvenilă idiopatică va avea efect benefic asupra micșorării riscului toxic medicamentos și reducerea ineficienței terapeutice la acești pacienți. <i>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.</i></li></ol> <p>IMSP Institutul Mamei și Copilului Director, dr. șt. med., conf. univ.  Sergiu GLADUN</p> <p>Șef Departament Didactic și Management Academic conf. univ., dr. șt. med.  Silvia STRATULAT</p> <p>Șef departament, Departamentul Cercetare, dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI</p> <p style="text-align: right;">4</p>		




	<p>INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA</p> <p>Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate</p>	<p>Pag. 1 / 1</p>
<p>APROB Prorector pentru activitate de cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” din RM academician al AȘM, prof. univ., dr. hab.șt. med.  Stanislav GROPPA "04" februarie 2023</p>		
<p>ACTUL nr.13 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI (în procesul științifico-practic și științifico-didactic)</p>		
<p>1. Denumirea ofertei pentru implementare: „EVALUAREA TOXICITĂȚII HEPATICE A METOTREXATULUI ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ PRIN FIBROSCAN”</p> <p>2. Autori: Ninel REVENCO, dr.hab.șt.med., prof.univ., Vladimir IACOMI, asist.univ., doctorand</p> <p>3. Numărul inovației: Nr. 5982 din 07 februarie 2023.</p> <p>4. Unde și când a fost implementată: rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF "Nicolae Testemițanu" și secția Reumatologie a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.</p> <p>5. Eficacitatea implementării: Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și reumatologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Reumatologie.</p> <p>6. Rezultatul implementării: Implimentarea evaluării elastografice prin FibroScan a hepatotoxicității la copiii cu artrită juvenilă idiopatică va avea efect benefic asupra prevenirii riscului toxic medicamentos și reducerea ineficienței terapeutice la acești pacienți.</p> <p><i>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.</i></p>		
<p>IMSP Institutul Mamei și Copilului Director, dr. șt. med., conf. univ.</p>		<p>Sergiu GLADUN</p>
<p>Șef Departament Didactic și Management Academic conf. univ., dr. șt. med.</p>		<p>Silvia STRATULAT</p>
<p>Șef departament, Departamentul Cercetare, dr. hab. șt. med., conf. univ.</p>		<p>Elena RAEVSCHI</p>



	<b>INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA</b>	Pag. 1 / 1
<p style="text-align: center;"><b>APROB</b> Prorector pentru activitate de cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” din RM academician al AȘM, prof. univ., dr. hab. șt. med.  Stańslav GROPPA 2023</p> <p style="text-align: center;"><b>ACTUL nr.15 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-practic și/științifico-didactic)</p> <p>1. <b>Denumirea ofertei pentru implementare:</b> „EVALUAREA SCORULUI DE SEVERITATE A INTOLERANȚEI LA METOTREXAT ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ”</p> <p>2. <b>Autori:</b> Ninel REVENCO, dr.hab.șt.med., prof.univ., Vladimir IACOMI, asist.univ., doctorand</p> <p>3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 5985 din 09 februarie 2023</p> <p>4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ”Nicolae Testemițanu” și secția Reumatologie a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.</p> <p>5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a studenților/rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și reumatologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Reumatologie.</p> <p>6. <b>Rezultatul implementării:</b> Implimentarea utilizării de rutină a scorului de severitate a intoleranței la metotrexat la copiii cu artrită juvenilă idiopatică va avea efect benefic asupra micșorării riscului toxicității și reducerea ineficienței terapeutice la acești pacienți.</p> <p style="text-align: center;"><b>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.</b></p> <p>IMSP Institutul Mamei și Copilului Director, dr. șt. med., conf. univ.  Sergiu GLADUN</p> <p>Șef Departament Didactic și Management Academic conf. univ., dr. șt. med.  Silvia STRATULAT</p> <p>Șef departament, Departamentul Cercetare, dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI</p> <p style="text-align: right;">4</p> <p></p>		



  
**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII,  
al REPUBLICII MOLDOVA  
INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ  
INSTITUTUL MĂMINI ȘI COPILULUI  
(IMSP IM și C)  
MD - 2062, Chișinău, str. Burebista, 93**


# Certificat de inovator

**Nr. 508**  
acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 16.05.2001

Numele, Prenumele: **Ninel REVENCO, Vladimir IACOMI**  
(autorilor & coautorilor)

Pentru inovația: **„EVALUAREA POLIMORFISMELOR GENETICE T677T ȘI  
C677T/A1298C ALE METILENTETRAHIDROFOLAT REDUCTAZEI ÎN  
ARTRIȚA JUVENILĂ IDIOPATICĂ”**  
(denumirea)

Director IMSP IMșiC  
**dr. șt. med., conf. univer. Sergiu GLADUN**





## Anexa 16. Act de implementare Nr. 508

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII  
AL  
REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ  
INSTITUTUL  
MAMEI ȘI COPILULUI  
(IMSP IMȘIC)

str. Burebista, 93  
MD-2062, mun. Chișinău  
Tel. + 373 22 52-36-61;  
[www.mama-copilul.md](http://www.mama-copilul.md) e-mail: [mamsicop@gmail.com](mailto:mamsicop@gmail.com)



МИНИСТЕРСТВО  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ПУБЛИЧНОЕ МЕДИКО-САНИТАРНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ  
ИНСТИТУТ МАТЕРИ И РЕБЕНКА  
(ПМСУ ИМиР)

ул. Буребиста, 93  
MD-2062, мул/г Кишинэу  
Tel. + 373 22 52-36-61;  
[www.mama-copilul.md](http://www.mama-copilul.md) e-mail:  
[mamsicop@gmail.com](mailto:mamsicop@gmail.com)

SECRETAR ȘTIINȚIFIC  
Dr. Tatiana CARAUȘ

SECRETAR ȘTIINȚIFIC  
Dr. Sergiu GLADUN

08 februarie 2022

### ACT DE IMPLEMENTARE nr. 508

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** „EVALUAREA POLIMORFISMELOR GENETICE T677T ȘI C677T/A1298C ALE METILENTETRAHIDROFOLAT REDUCTAZEI ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ”

2. **Autori:** Ninel REVENCO, dr.hab.șt.med., prof.univ., Vladimir IACOMI, asist.univ., doctorand

3. **Numărul inovației:** Nr. 508 din 07 februarie 2023.

4. **Unde și când a fost implementată:** rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ”Nicolae Testemițanu” și secția Reumatologie a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.

5. **Eficacitatea implementării:** Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și reumatologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Reumatologie.

6. **Rezultatul implementării:** Implimentarea evaluării polimorfismelor genetice ale MTHFR la copiii cu artrită juvenilă idiopatică va avea efect benefic asupra micșorării riscului toxic medicamentos și reducerea ineficienței terapeutice la acești pacienți.

Secretar științific  
dr. șt. med., conf.univ.

Tatiana CARAUȘ



  
**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII,  
al REPUBLICII MOLDOVA**  
**INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ**  
**INSTITUTUL MĂNII ȘI COPILULUI**  
**(IMSP IM și C)**  
MD - 2062, Chișinău, str. Burebista, 93

# Certificat de inovator

**Nr. 509**  
acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001

**Numele, Prenumele: Ninel REVENCO Vladimир ІАСОНІ**  
(autorilor & coautorilor)

Pentru inovația: **„EVALUAREA TOXICITĂȚII HEPATICE A  
METOTREXATULUI ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ PRIN  
FIBROSCAN”**  
(denumirea)

**Director IMSP IMșiC**  
**dr. șt. med., conf. univer. Sergiu GLADUN**



## Anexa 18. Act de implementare Nr. 509

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII  
AL  
REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ  
INSTITUTUL  
MAMEI ȘI COPILULUI  
(IMSP IMȘIC)

str. Burebista, 93  
MD-2062, mun. Chișinău  
Tel. + 373 22 52-36-61;  
[www.mama-copilul.md](http://www.mama-copilul.md) e-mail: [mamsicop@gmail.com](mailto:mamsicop@gmail.com)



МИНИСТЕРСТВО  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ПУБЛИЧНОЕ МЕДИКО-САНИТАРНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ  
ИНСТИТУТ МАТЕРИ И РЕБЕНКА  
(ИМСУ ИММР)

ул. Буребиста, 93  
MD-2062, муи/г Кишинэу  
Tel. + 373 22 52-36-61;  
[www.mama-copilul.md](http://www.mama-copilul.md) e-mail:  
[mamsicop@gmail.com](mailto:mamsicop@gmail.com)

  
Director IMSP IMȘIC  
dr. șt. med., conf. univ.  
Sergiu GLADUN  
08 februarie 2023



### ACT DE IMPLEMENTARE nr. 509

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** „EVALUAREA TOXICITĂȚII HEPATICE A METOTREXATULUI ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ PRIN FIBROSCAN”

2. **Autori:** Ninel REVENCO, dr.hab.șt.med., prof.univ., Vladimir IACOMI, asist.univ., doctorand

3. **Numărul inovației:** Nr. 509 din 07 februarie 2023.

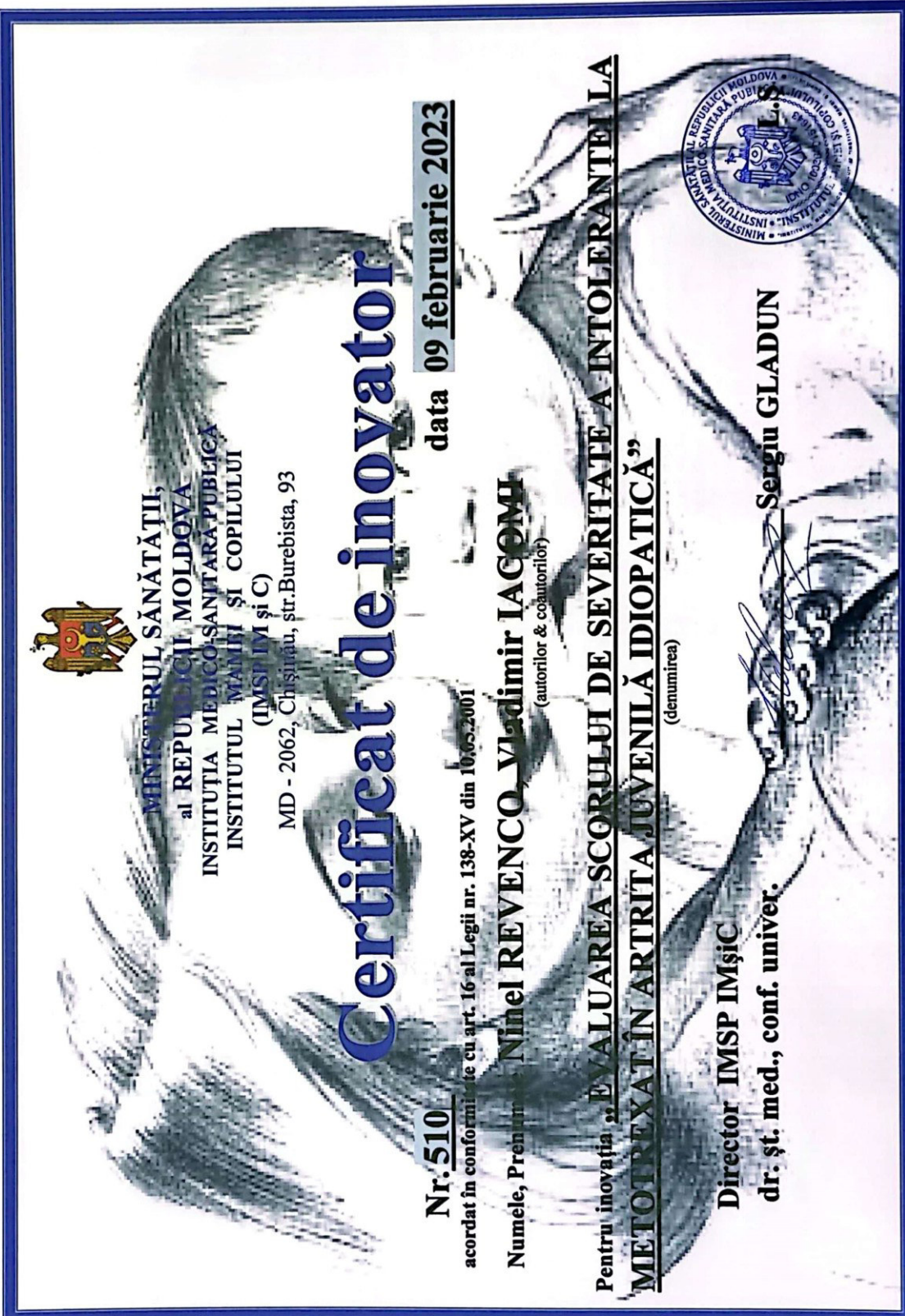
4. **Unde și când a fost implementată:** rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ”Nicolae Testemițanu” și secția Reumatologie a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.


5. **Eficacitatea implementării:** Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și reumatologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Reumatologie.

6. **Rezultatul implementării:** Implimentarea evaluării elastografice prin FibroScan a hepatotoxicității la copiii cu artrită juvenilă idiopatică va avea efect benefic asupra prevenirii riscului toxic medicamentos și reducerea ineficienței terapeutice la acești pacienți.

Secretar științific  
dr. șt. med., conf.univ.

Tatiana CARAUȘ



 **MINISTERUL SĂNĂTĂȚII,**  
al REPUBLICII MOLDOVA  
INSTITUȚIA MEDICO-SANITĂRĂ PUBLICĂ  
INSTITUTUL MĂNII ȘI COPILULUI  
(IMSP IM și C)  
MD - 2062, Chișinău, ștr. Burebista, 93


# Certificat de inovator

**Nr. 510**  
acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001

**Numele, Prenumele Ninel REVENCO, Vladimir IACOMI**  
(autorilor & coautorilor)

Pentru inovația: **EVALUAREA SCORULUI DE SEVERITATE A INTOLERANȚEI LA METOTREXAT ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ**  
(denumirea)

Director IMSP IMȘIC  
dr. șt. med., conf. univer. **Sergiu GLADUN**



## Anexa 20. Act de implementare Nr. 510

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII  
AL  
REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUȚIA MEDICO-SANITARĂ PUBLICĂ  
INSTITUTUL  
MAMEI ȘI COPILULUI  
(IMSP IMȘIC)

str. Burebista, 93  
MD-2062, mun. Chișinău  
Tel. + 373 22 52-36-61;  
[www.mama-copilul.md](http://www.mama-copilul.md) e-mail: [mamsicop@gmail.com](mailto:mamsicop@gmail.com)



МИНИСТЕРСТВО  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ПУБЛИЧНОЕ МЕДИКО-САНИТАРНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ  
ИНСТИТУТ МАТЕРИ И РЕБЕНКА  
(ПМСУ ИМНР)

ул. Бурбиста, 93  
MD-2062, мул/г Кишинэу  
Tel. + 373 22 52-36-61;  
[www.mama-copilul.md](http://www.mama-copilul.md) e-mail:  
[mamsicop@gmail.com](mailto:mamsicop@gmail.com)

APROB

Director IMSP IMȘIC  
dr. șt. med., conf. univ.  
**Sergiu GLADUN**

08 februarie 2023

### ACT DE IMPLEMENTARE nr. 510

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** „EVALUAREA SCORULUI DE SEVERITATE A INTOLERANȚEI LA METOTREXAT ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ”

2. **Autori:** Ninel REVENCO, dr.hab.șt.med., prof.univ., Vladimir IACOMI, asist.univ., doctorand

3. **Numărul inovației:** Nr. 510 din 09 februarie 2023

4. **Unde și când a fost implementată:** rezultatele studiului au fost implimentate la Departamentul Pediatrie IP USMF ”Nicolae Testemițanu” și secția Reumatologie a IMSP Institutul Mamei și Copilului, în perioada 2017-2023 aa.

5. **Eficacitatea implementării:** Valoarea aplicativă a acestei metode își găsește oglindire în activitatea științifică – ipotezele deduse cât și cunoștințele căpătate vor lărgi orizontul de cercetare la această categorie de pacienți; în procesul de instruire a studenților/rezidenților, precum și în activitatea științifică a cadrelor didactice, cu profil pediatrie și reumatologie pediatrică; și activitatea practică – cunoștințele căpătate vor îmbunătăți activitatea Clinicii de Reumatologie.

6. **Rezultatul implementării:** Implimentarea utilizării de rutină a scorului de severitate a intoleranței la metotrexat la copiii cu artrită juvenilă idiopatică va avea efect benefic asupra micșorării riscului toxicității și reducerea ineficienței terapeutice la acești pacienți.

Secretar științific  
dr. șt. med., conf.univ.

Tatiana CARAUȘ

**Anexa 21. Adeverință privind înscrierea obiectelor dreptului de autor și ale drepturilor  
conexe Seria OȘ Nr. 7776**

  
**REPUBLICA MOLDOVA**  
**Agencia de Stat pentru  
Proprietatea Intelectuală**

**ADEVERINȚĂ**  
privind înscrierea obiectelor  
dreptului de autor și ale drepturilor conexe

**SERIA OȘ NR. 7776**  
**DIN 12.02.2024**

**eliberată în temeiul Legii nr. 230/2022 privind dreptul de autor  
și drepturile conexe, prin care se confirmă înscrierea obiectului de pe verso  
în Registrul de Stat al obiectelor protejate de dreptul de autor și drepturile conexe**

**Director general**  
  
**CHIȘINĂU**



Anexa 22. Distincții la forumuri internaționale





**International Salon of Invention and Innovative Entrepreneurship**


**GOLD MEDAL**

*is awarded to Mrs/Mr*

**IACOMI Vladimir, REVENCO Ninel**

**Institution:** The State University of Medicine and Pharmacy „Nicolae Testemitanu” for participation in the **International Salon of Invention and Innovative Entrepreneurship**, category **IMPLEMENTATION OF RESEARCH RESULTS: FIBROSCAN ASSESSMENT OF METHOTREXATE LIVER TOXICITY IN JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS**

**May 16-17, 2024, Chisinau**

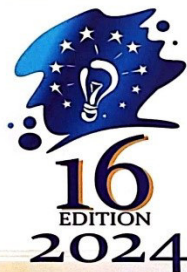


**Rector**  
**BARBĂNEAGĂ Alexandra**



**President of ISIE**  
**COROPCEANU Eduard**

EUROPEAN EXHIBITION OF CREATIVITY AND INNOVATION



**EUROINVENT  
DIPLOMA**



UNDER THE PATRONAGE OF  
MINISTERUL CERCETĂRII,  
INOVARII ȘI DIGITALIZĂRII

**GOLD  
MEDAL**

is awarded to:

**Prediction of the efficacy of methotrexate treatment in juvenile idiopathic arthritis in children and adolescents**

Ninel Revenco, Vladimir Iacomi

President of International Jury  
Prof. Dr. Eng. Mohd Mustafa Al Bakri ABDULLAH

President of Scientific Committee  
Prof. Dr. Ion SANDU

Iași, Romania  
June 8, 2024





**LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI PARTICIPĂRILOR LA FORUMURI ȘTIINȚIFICE**  
a dlui **Vladimir Iacomî**, asistent universitar, **Departamentul Pediatrie**,  
realizate la teza de doctor în științe medicale,  
cu tema „**Impactul farmacogenomic al polimorfismului genei metilentetrahidrofolat**  
**reductazei în artrita juvenilă idiopatică**”, 322.01 Pediatrie și neonatologie,  
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu” din Republica  
Moldova

**LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE**

✓ **Monografie colectivă:**

1. Revenco N., Rotaru N., Crivceanschi M., **Iacomî V.** Criterii clinice și funcționale în evaluarea copilului cu artrită. În: Revenco N., ș.a. *Reumatologie Pediatrică*. Chișinău: *Reclama*, 2018, pp. 7-39 ISBN 978-9975-58-147-9

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

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

2. Revenco N., Cracea A., Mazur-Nicorici L., Foca S., Eremciuc R., **Iacomî V.** Treatment with golimumab in juvenile idiopathic arthritis. In: *Arch. Balk. Med. Union*. 2022, 57(2):136-143. <https://doi.org/10.31688/ABMU.2022.57.2.02>
3. Revenco N., Cracea A., Mazur-Nicorici L., Foca S., Eremciuc R., Gaidarji O., **Iacomî V.**, Bogonovschi L. The clinical and paraclinical efficacy of tocilizumab in juvenile idiopathic arthritis. In: *Arch. Balk. Med. Union*. 2021, 56(2):185-192. <https://doi.org/10.31688/ABMU.2021.56.2.07>

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

✓ **articole în reviste de categoria B**

4. Revenco N., Cracea (Drușca) A., Foca S.-G., Eremciuc R., Gaidarji O., **Iacomî V.**, Bogonovschi L. Tratatamentul cu preparatul Tocilizumab la pacienții cu artrită juvenilă idiopatică – eficiența clinică și paraclinică. În: *Buletin de Perinatologie*, 2021, nr. 2(91), pp. 6-10. ISSN 1810-5289

• **Articole în lucrările conferințelor științifice:**

✓ **naționale cu participare internațională**

5. **Iacomî V.**, Revenco N., Cracea A., Eremciuc R., Foca S., Bogonovschi. Determinantele genetice în aprecierea rezultatelor tratamentului în artrita juvenilă idiopatică. În: *Materialele simpozionului național cu participare internațională "Registrul maladiilor reumatice la copii: experiența Republicii Moldova"*. Chișinău, 2022, pp. 53-61. ISBN 978-9975-58-285-8

1

Autor:

Secretar științific al Senatului,  
dr. filoz., Didina Nistreanu



  
\_\_\_\_\_  
  
\_\_\_\_\_

✓ **Naționale**

6. **Iacomi V.**, Revenco N., Eremciuc R., Foca S., Cracea A., Gaidarji O., Monitorizarea terapiei cu metotrexat în artrita juvenilă idiopatică: variații farmacogenetice. În: *Materialele conferinței naționale "Managementul interdisciplinar al copilului", Ediția a 5-a*. Chișinău, 2022, pp. 17-23. ISBN 978-9975-58-274-2
7. Revenco N., Cracea A., Foca S., Eremciuc R., **Iacomi V.**, Eficiența clinică și paraclinică a preparatului golimumab în artrita juvenilă idiopatică. În: *Materialele conferinței naționale "Managementul interdisciplinar al copilului", Ediția a 5-a*, Chișinău, 2022, pp. 11-16. ISBN 978-9975-58-274-2

• **Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice naționale și internaționale:**



8. **Iacomi V.**, Revenco N. Methylenetetrahydrofolate reductase 677 nucleotide mutation is a predictive tool in methotrexate non-responsive JIA patients. In: *Pediatric Rheumatology*. Lisabona, Portugalia, 2018, 16(Suppl 2):52, p. 59. ISSN: 1546-0096, <https://doi.org/10.1186/s12969-018-0265-6>
9. **Iacomi V.**, Revenco N. Rolul polimorfismului genetic al enzimei metilentetrahidrofolat-reductaza MTHFR în aprecierea precoce a ratei de non-răspuns la terapia cu metotrexat în artrita juvenilă idiopatică. În: *Revista Română de Pediatrie*. București, România, 2018, vol. de rezumate LXVII, p. 122. ISSN: 1454-0398
10. **Iacomi V.**, Revenco N. Impactul mutației C677T al enzimei metilentetrahidrofolat-reductaza MTHFR în dezvoltarea hepatotoxicității la terapia cu metotrexat în artrita juvenilă idiopatică. În: *Revista Română de Pediatrie*. București, România, 2018, vol. de rezumate LXVII, pp. 122-123. ISSN: 1454-0398
11. **Iacomi V.**, Revenco N. Rolul genotipului C677T al enzimei metilentetrahidrofolat reductaza în aprecierea precoce a ratei de non-răspuns la terapia cu metotrexat în artrita juvenilă idiopatică. În: *Buletin de Perinatologie*. 2018, 4(80), pp. 91-92. ISSN: 1810-5289
12. **Iacomi V.**, Revenco N. Screening the C677T polymorphism of the MTHFR gene in assessing disease severity and response to methotrexate treatment in children with juvenile idiopathic arthritis. In: *Abstract Book of The 7th International Medical*

2

Autor:

Secretar științific al Senatului,  
dr. filoz., Didina Nisteanu



  
\_\_\_\_\_  


*Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chișinău: F.E.-P. „Tipografia Centrală”, 2018, pp. 62-63. ISBN: 978-9975-47-174-9

13. **Iacomi V.**, Bursacovschi D., Revenco N. Monitoring methotrexate-induced liver toxicity in juvenile idiopathic arthritis: new perspectives. In: *Abstract Book of The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chișinău: CEP „Medicina”, 2020, p. 192. ISBN: 978-9975-151-11-5
14. **Iacomi V.**, Revenco N. Utilizarea elastografiei hepatice în terapia de lungă durată cu metotrexat la pacienții cu AJI. În: *Revista Română de Pediatrie*. București, România; 2021. Suppl. Vol. LXX, vol. de rezumate CNPED, p. 64. ISSN: 1454-0398
15. **Iacomi V.**, Revenco N. Application of FibroScan in Juvenile Idiopathic Arthritis Patients. In: *Abstract Book of The VI International Black Sea Coastline Countries Symposium*. Giresun, Turcia, 2021, p.15. ISBN:978-625-7720-37-3
16. **Iacomi V.**, Eremciuc R., Gaidarji O., Cracea A., Revenco N. Elastografia hepatică și activitatea bolii în AJI: noi perspective. În: *Materialele Conferinței Științifice Anuale "Cercetarea în Biomedicină și Sănătate: Calitate, Excelență și Performanță"*. Chișinău, 2021, p. 364. ISBN: 978-9975-82-223-7
17. **Iacomi V.**, Revenco N., Eremciuc R. Liver stiffness in low-dose methotrexate use in JIA patients. In: *Pediatric Rheumatology*. Praga, Republica Cehă, 2022, 20(suppl 2):75, p. 35. ISSN: 1546-0096, <https://doi.org/10.1186/s12969-022-00729-z>
18. **Iacomi V.**, Eremciuc R., Gaidarji O., Cracea A., Revenco N. Importanța scorului de severitate a intoleranței la metotrexat în artrita juvenilă idiopatică. În: *Materialele Conferinței Științifice Anuale "Cercetarea în Biomedicină și Sănătate: Calitate, Excelență și Performanță"*. Chișinău: „Lexon-Prim”, 2022, p. 384. ISSN 2345-1467
19. **Iacomi V.**, Revenco N., Eremciuc R. Monitorizarea tratamentului AJI prin elastografie hepatică. În: *Culegere de rezumate ale Conferinței Naționale cu Participare Internațională Zilele Pediatrie Ieșene "N.N.Trifan"*. Iași, România: „PIM”, 2022, pp. 107-108. ISBN: 978-606-13-6946-1
20. **Iacomi V.**, Revenco N. Clinical results of methotrexate treatment in Juvenile Idiopathic Arthritis. În: *Culegere de rezumate ale Conferinței Naționale cu Participare Internațională Zilele Pediatrie Ieșene "N.N.Trifan"*. Iași, România, 2023, pp. 113-114. ISBN: 978-606-13-7701-5

3

Autor:

Secretar științific al Senatului,  
dr. filos., Didina Nistoreanu



  
\_\_\_\_\_

  
\_\_\_\_\_

21. **Iacomi V.**, Revenco N. Variații genetice cu impact asupra răspunsului la metotrexat în AJI. În: *Culegere de rezumate A 7-a Ediție a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională*. Iași, România, 2023, p. 8
22. **Iacomi V.**, Revenco N. Assessment of cardiac function in the DMARD treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis. În: *Materialele Conferinței Naționale cu Participare Internațională "Actualități în Pediatrie și Impactul Imunizării asupra Morbidității și Mortalității Copiilor în Republica Moldova"*. Chișinău, 2023, pp. 67-68. ISBN: 978-9975-58-293-3
23. **Iacomi V.**, Revenco N. Clinical Outcome of Methotrexate Treatment in JIA. In: *PreS Young Investigators Meeting YIM Abstract Book*. Rotterdam, Olanda, 2023, pp. 127-128
24. **Iacomi V.**, Revenco N. Clinical Outcome of Methotrexate Treatment in JIA. In: *Pediatric Rheumatology*. Rotterdam, Olanda, 2023, 21(suppl 2):122, p. 35. ISSN: 1546-0096, <https://doi.org/10.1186/s12969-023-00879-8>
25. **Iacomi V.**, Revenco N., Amploarea componentei genetice în tratamentul AJI. În: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2023, vol. 10(3), anexa 1, p. 562. ISSN 2345-1467.
- ✓ **Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții**
- ✓ **Drept de autor**
26. Revenco N., **Iacomi V.** *Predicția eficacității tratamentului cu metotrexat în artrita juvenilă idiopatică la copii și adolescenți*. Nr. de înregistrare 2574, Seria OȘ Nr. adeverinței: 7776 din 23.01.2024. În: Baze de date internaționale de proprietate intelectuală <http://www.db.agepi.md/opere/Details.aspx?id=7348712753145146865846455381&nr=7348712753145746867846455386>
- ✓ **Certificate de inovație**
27. Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea polimorfismelor genetice T677T și C677T/A1298C ale metilentetrahidrofolat reductazei în artrita juvenilă idiopatică*. Certificat de inovator Nr. 5981 din 07.02.2023.
28. Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea toxicității hepatice a metotrexatului în artrita juvenilă idiopatică prin FibroScan*. Certificat de inovator Nr. 5982 din 07.02.2023.

4

Autor:

Secretar științific al Senatului,  
dr. filoz., Didina Nistreanu



*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*

- 29.Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea scorului de severitate a intoleranței la metotrexat în artrita juvenilă idiopatică*. Certificat de inovator Nr. 5985 din 09.02.2023.
- 30.Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea polimorfismelor genetice T677T și C677T/A1298C ale metilentetrahidrofolat reductazei în artrita juvenilă idiopatică*. Certificat de inovator Nr. 508 din 07.02.2023.
- 31.Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea toxicității hepatice a metotrexatului în artrita juvenilă idiopatică prin FibroScan*. Certificat de inovator Nr. 509 din 07.02.2023.
- 32.Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea scorului de severitate a intoleranței la metotrexat în artrita juvenilă idiopatică*. Certificat de inovator Nr. 510 din 09.02.2023.

✓ **Acte de implementare**

- 33.Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea polimorfismelor genetice T677T și C677T/A1298C ale metilentetrahidrofolat reductazei în artrita juvenilă idiopatică*. Act de implementare Nr. 12 din 07.02.2023.
- 34.Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea polimorfismelor genetice T677T și C677T/A1298C ale metilentetrahidrofolat reductazei în artrita juvenilă idiopatică*. Act de implementare Nr. 508 din 07.02.2023.
- 35.Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea toxicității hepatice a metotrexatului în artrita juvenilă idiopatică prin FibroScan*. Act de implementare Nr. 13 din 07.02.2023.
- 36.Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea toxicității hepatice a metotrexatului în artrita juvenilă idiopatică prin FibroScan*. Act de implementare Nr. 509 din 07.02.2023.
- 37.Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea scorului de severitate a intoleranței la metotrexat în artrita juvenilă idiopatică*. Act de implementare Nr. 15 din 09.02.2023.
- 38.Revenco Ninel, **Iacomi Vladimir**. *Evaluarea scorului de severitate a intoleranței la metotrexat în artrita juvenilă idiopatică*. Act de implementare Nr. 510 din 09.02.2023.

✓ **Participări cu comunicări la forumuri științifice:**

✓ **Internaționale**

5

Autor:

Secretar științific al Senatului,  
dr. filoz., Didina Nistreanu



*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*


39. **Iacomi V.**, Revenco N., Variații genetice cu impact asupra răspunsului la metotrexat în AJI. *A 7-a Ediție a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională*. Iași, România, 14-16 Septembrie 2023.
40. **Iacomi V.**, Revenco N., Tratatamentul Personalizat în Artrita Juvenilă Idiopatică. *Conferința Națională cu Participare Internațională "Bienala Sibiu-Chișinău"*, Ediția a 3-a. Sibiu, România, 3-6 Octombrie 2019.
41. **Iacomi V.**, Revenco N., Screening the C677T polymorphism of the MTHFR gene in assessing disease severity and response to methotrexate treatment in children with juvenile idiopathic arthritis. *7th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chișinău, 3-5 Mai 2018.
42. **Якоми В.**, Ревенко Н., Оценка эффективности лечения метотрексатом полиартикулярного варианта ЮИА у детей с мутацией C677T гена MTHFR. *XXIII Конгресс Педиатров России с международным участием "Актуальные проблемы педиатрии"*. Москва, Российская Федерация, 5-7 Марта 2021.
43. **Iacomi V.**, Revenco N., Application of FibroScan in Juvenile Idiopathic Arthritis Patients. *VI International Black Sea Coastline Countries Symposium*. Giresun, Turkey, 28-30 April 2021.
- ✓ **naționale**
44. **Iacomi V.**, Revenco N., Aspecte noi de monitorizare a tratamentului cu metotrexat la pacienții cu AJI. *Conferința Națională de Pediatrie Progrese în Tratatamentul Artritei Juvenile Idiopatică*. Chișinău, 19 Decembrie 2020.
45. **Iacomi V.**, Revenco N., Monitorizarea terapiei cu Metotrexat în artrita juvenilă idiopatică: variații farmacogenetice. *Conferința Națională cu Participare Internațională "Bienala Chișinău-Sibiu"*, Ediția a 5-a. Chișinău, 13-14 Mai 2022.
46. **Iacomi V.**, Eremciuc R., Gaidarji O., Cracea A., Revenco N. Importanța scorului de severitate a intoleranței la methotrexat în artrita juvenilă idiopatică. *Conferința Științifică Anuală "Cercetarea în Biomedicină și Sănătate: Calitate, Excelență și Performanță"*. Chișinău, 19-21 Octombrie 2022.
47. **Iacomi V.**, Revenco N., Prevalența intoleranței la metotrexat în diferite forme ale artritei juvenile idiopatică. *Conferința Națională cu Participare Internațională "Bienala Chișinău-Sibiu"*, Ediția a VI-a. Chișinău, 26-27 Mai 2023.

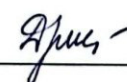
6

Autor:

Secretar științific al Senatului,  
dr. filos., Didina Nistreanu



  
\_\_\_\_\_

  
\_\_\_\_\_

48. **Iacomi V.**, Revenco N., Amploarea componentei genetice în tratamentul AJI. *Conferința Științifică Anuală "Cercetarea în Biomedicină și Sănătate: Calitate, Excelență și Performanță"*. Chișinău, 18-20 Octombrie 2023.

**Participări cu postere la forumuri științifice:**

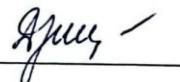
✓  **internaționale**

49. **Iacomi V.**, Revenco N., Methylenetetrahydrofolate reductase 677 nucleotide mutation is a predictive tool in methotrexate non-responsive JIA patients. *The 25th PReS Congress*. Lisbon, Portugal, 5-8 September 2018.
50. **Iacomi V.**, Bursacovschi D., Revenco N., Monitoring methotrexate-induced liver toxicity in juvenile idiopathic arthritis: new perspectives. *The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chișinău, 24–26 Septembrie 2020.
51. **Iacomi V.**, Revenco N., Eremciuc R., Monitorizarea tratamentului AJI prin elastografie hepatică. *Conferința Națională cu Participare Internațională "Zilele Pediatrie Ieșene N.N.Trifan", Ediția XXXIV*. Iași, România, 15-18 iunie 2022.
52. **Iacomi V.**, Revenco N., Eremciuc R., Liver Stiffness in Low-Dose Methotrexate Use in JIA Patients. *The 28th PReS Congress*. Prague, Czech Republic, 20-23 September 2022.
53. **Iacomi V.**, Revenco N., Clinical results of methotrexate treatment in Juvenile Idiopathic Arthritis. *Conferința Națională cu Participare Internațională "Zilele Pediatrie Ieșene N.N.Trifan", Ediția XXXV*. Iași, România, 22-24 iunie 2023.
54. **Iacomi V.**, Revenco N., Clinical Outcome of Methotrexate Treatment in JIA. *The 29 PReS Congress*. Rotterdam, The Netherlands, 28 September–01 October 2023.

Autor:

Secretar științific al Senatului,  
dr. philos., Didina Nistoreanu





7



### **Declarația privind asumarea răspunderii**

Subsemnatul, declar pe răspundere personală, că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Iacomi Vladimir

Semnătura



Data 16.04.2024

### **Declaration on accountability**

I declare the personal responsibility that information presented in this thesis are the result of my own research and scientific achievements. I realize that, otherwise, will suffer the consequences in accordance with law.

Iacomi Vladimir

Signature



Date 16.04.2024

### **Déclaration sur la responsabilité**

Je déclare la responsabilité personnelle que les informations présentées dans cette thèse sont le résultat de mes propres recherches et réalisations scientifiques. Je me rends compte que, sinon, en subiront les conséquences conformément à la loi.

Iacomi Vladimir

Signature



Date 16.04.2024



## CV-UL AUTORULUI



europass



### Vladimir Iacomi

**Data nașterii:** 28/03/1989 | **Cetățenie:** moldoveană | **Gen:** Masculin |

**Număr de telefon:** (+373) 68080995 (Număr de telefon mobil) | **E-mail:**

[vladimir.iacomi@usmf.md](mailto:vladimir.iacomi@usmf.md) | **E-mail:** [usmfdoc@gmail.com](mailto:usmfdoc@gmail.com) |

**Adresă:** Strada Lev Tolstoi 24/1, scara 4, apartament 135, MD-2001, Chisinau, Moldova (Acasă)

#### ● DESPRE MINE

Medic Pediatru  
Asistent universitar Departamentul Pediatrie IP USMF „Nicolae Testemițanu”

#### ● EXPERIENȚA PROFESIONALĂ

15/01/2024 – ÎN CURS

**MEMBRU PROIECT COST CA21168 „IMPROVING OUTCOME OF JUVENILE INFLAMMATORY RHEUMATISM VIA UNIVERSALLY APPLICABLE CLINICAL PRACTICE STRATEGIES (JIR-CLIPS)”**

Grupul de Lucru 2: Immunoglobulin A vasculitis and Kawasaki disease management in children

01/12/2023 – ÎN CURS Chisinau, Moldova

**MEDIC PEDIATRU, DEPARTAMENTUL DE URGENȚĂ IMSP SPITALUL CLINIC MUNICIPAL DE COPII „VALENTIN IGNATENCO”**

09/01/2019 – ÎN CURS Chișinău, Moldova

**ASISTENT UNIVERSITAR IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “N.TESTEMIȚANU”, DEPARTAMENT PEDIATRIE**

**Întreprindere sau sector de activitate** Activități privind sănătatea umană și asistența socială |

**Adresă** Bulevardul Ștefan cel Mare și Sfânt 165, MD2004, Chișinău, Moldova | **Site de internet** [www.usmf.md](http://www.usmf.md)

05/04/2017 – 28/11/2023 Chișinău, Moldova

**MEDIC PEDIATRU, DEPARTAMENTUL DE URGENȚĂ MEDPARK ICS “HEALTH FOREVER INTERNATIONAL” SRL**

**Întreprindere sau sector de activitate** Activități privind sănătatea umană și asistența socială |

**Adresă** Strada Andrei Doga 24, Chișinău, Moldova | **Site de internet** [www.medpark.md](http://www.medpark.md)

02/10/2017 – 02/10/2022 Chișinău, Moldova

**STUDENT - DOCTORAND PROGRAM DE DOCTORAT 322.01 PEDIATRIE ȘI NEONATOLOGIE ȘCOALA DOCTORALĂ A USMF “NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Absolvent al Școlii Doctorale a IP USMF “Nicolae Testemițanu”

**Întreprindere sau sector de activitate** Activități privind sănătatea umană și asistența socială |

**Adresă** Bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Moldova

15/01/2015 – 03/12/2018 Chișinău, Moldova

**MEDIC REZIDENT PEDIATRU** IMSP INSTITUTUL MAMEI ȘI COPILULUI

---

**Întreprindere sau sector de activitate** Activități privind sănătatea umană și asistența socială |

**Adresă** Str. Burebista 93, MD2062, Chișinău, Moldova | **Site de internet** [www.mama-copilul.md](http://www.mama-copilul.md)

01/2017 – 01/2018 Chișinău, Moldova

**LABORANT SUPERIOR** PROIECT DE CERCETARE ȘTIINȚIFICĂ DIN CADRUL PROGRAMULUI DE STAT PENTRU ANII 2017-2018

---

Proiect de cercetare științifică din cadrul Programului de Stat pentru anii 2017-2018

Diracția strategică 80.07 „Sănătate și Biomedicină”

16.00418.80.11A „Evaluarea incidenței, prevalenței, factorilor de risc, cercetarea aspectelor clinice, neuroimagistice, neurofiziologice și de remediare neurotrofică a accidentelor vasculare cerebrale la copii”  
USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova

04/04/2017 – 25/10/2017 Chișinău, Moldova

**MEDIC PEDIATRU** CAMPANIA “RENAȘTE MOLDOVA” CABINETUL PEDIATRIC MOBIL

---

24/01/2017 – 05/2017 Chișinău, Moldova

**MEDIC PEDIATRU, DEPARTAMENTUL DE URGENȚĂ** IMSP SPITALUL CLINIC MUNICIPAL DE COPII „VALENTIN IGNATENCO”

---

**Întreprindere sau sector de activitate** Activități privind sănătatea umană și asistența socială |

**Adresă** Str. Grenoble 149, MD2019, Chișinău, Moldova

13/04/2016 – 15/11/2016 Chișinău, Moldova

**MEDIC PEDIATRU** CAMPANIA “RENAȘTE MOLDOVA” CABINETUL PEDIATRIC MOBIL

---

03/07/2015 – 30/09/2015 Chișinău, Moldova

**MEDIC PEDIATRU, DEPARTAMENTUL DE URGENȚĂ** IMSP SPITALUL CLINIC MUNICIPAL DE COPII „VALENTIN IGNATENCO”

---

**Întreprindere sau sector de activitate** Activități privind sănătatea umană și asistența socială |

**Adresă** Str. Grenoble 149, MD2019, Chișinău, Moldova

20/11/2013 – 02/01/2015 Chișinău, Moldova

**ASISTENT MEDICAL** IMSP SPITALUL CLINIC MUNICIPAL DE BOLI CONTAGIOASE LA COPII

---

**Întreprindere sau sector de activitate** Activități privind sănătatea umană și asistența socială |

**Adresă** Str. Lomonosov 49, MD2028, Chișinău, Moldova

## ● **EDUCAȚIE ȘI FORMARE PROFESIONALĂ**

---

15/09/2023 – ÎN CURS România

**MEMBRU SRRP** Societatea Română de Reumatologie Pediatrică

---

23/09/2022 – ÎN CURS

**MEMBRU PRES** Paediatric Rheumatology European Society

---

2017 – ÎN CURS

**MEMBRU EACVI** European Association of Cardiovascular Imaging

---

\*Regular Member of EACVI

2016 – ÎN CURS

**MEMBRU ERS** European Respiratory Society

---

\*Gold Member Since 2016 through National/Regional Society

2 / 10

\*2017 Silver Member

2015 - ÎN CURS

**MEMBRU ESC** European Society of Cardiology

---

17/04/2024 – 18/04/2024 Chisinau, Moldova

**CERTIFICAT DE INSTRUIRE ÎN CALITATE DE FORMATOR LA CURSUL DE INSTRUIRE A FACILITATORILOR „COMUNICARE INTERPERSONALĂ ÎN IMUNIZARE” UNICEF**

---

19/11/2023 – 25/11/2023 Salzburg, Austria

**THE OPEN MEDICAL INSTITUTE CERTIFICATION OF ATTENDANCE THE SALZBURG CHOP SEMINAR IN ADOLESCENT MEDICINE OMI & AAF**

---

27/09/2023 – 01/11/2023 Rotterdam, Țările de Jos

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA THE 29TH PAEDIATRIC RHEUMATOLOGY EUROPEAN SOCIETY CONGRESS PRES PReS**

---

27/09/2023 – 28/09/2023 Rotterdam, Țările de Jos

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA YOUNG INVESTIGATORS MEETING PRES2023 PReS**

---

22/09/2023 – 24/09/2023 Chișinău, Moldova

**PARTICIPARE LA CONFERINȚA NAȚIONALĂ DE PEDIATRIE CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ Societatea de pediatrie din Republica Moldova**

---

14/09/2023 – 16/09/2023 Iași, România

**PARTICIPARE LA EDIȚIA A 7-A A CONFERINȚEI NAȚIONALE DE REUMATOLOGIE PEDIATRICĂ CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ SRRP**

---

22/06/2023 – 24/06/2023 Iași, România

**PARTICIPARE LA A XXX-A EDIȚIE A CONFERINȚEI NAȚIONALE “ZILELE PEDIATRIEI IEȘENE N.N.TRIFAN” CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ**

---

07/06/2023 – 09/06/2023 Chisinau, Moldova

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA THE 37TH BALKAN MEDICAL WEEK „PERSPECTIVES OF BALKAN MEDICINE IN THE POST COVID-19 ERA” Balkan Medical Union**

---

07/04/2023 Chisinau, Moldova

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA COLOCVIUL NAȚIONAL „DESPRE CREȘTERE ȘI TULBURĂRILE EI LA COPII” Societatea de Pediatrie din Republica Moldova**

---

31/03/2023 Chisinau, Moldova

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA SIMPOZIONUL NAȚIONAL CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ „REGISTRUL MALADIILOR REUMATICE LA COPII: EXPERIENȚA REPUBLICII MOLDOVA” Societatea de Pediatrie din Republica Moldova**

---

21/10/2022 – 22/10/2022

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA CKP 2022 - CORE KNOWLEDGE IN PAEDIATRICS COURSE European Academy of Paediatrics**

---

19/10/2022 – 21/10/2022 Chișinău, Moldova

**LECTOR PREZENTARE ORALĂ CONFERINȚA ȘTIINȚIFICĂ ANUALĂ A USMF “NICOLAE TESTEMIȚANU” USMF “Nicolae Testemițanu”**

---

20/09/2022 – 23/09/2022 Praga, Cehia

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA THE 28TH EUROPEAN PAEDIATRIC RHEUMATOLOGY CONGRESS PReS**

---

15/06/2022 – 18/06/2022 Iași, România

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE ACTIVĂ LA CONFERINȚA HIBRID "ZILELE PEDIATRIEI IEȘENE"  
EDIȚIA A XXXIV-A**

---

13/05/2022 – 14/05/2022

**MEMBRU COMITET ORGANIZATORIC ȘI AUTOR PREZENTARE ORALĂ LA A 5-A CONFERINȚĂ  
NAȚIONALĂ CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ "BIENNALE CHIȘINĂU-SIBIU" -  
"MĂNAGEMENTUL INTERDISCIPLINAR AL COPILULUI" Societatea de Pediatrie din Republica  
Moldova**

---

24/01/2022 – 28/01/2022 Salzburg, Austria

**THE OPEN MEDICAL INSTITUTE CERTIFICATION OF ATTENDANCE THE SALZBURG CHOP  
SEMINAR IN PEDIATRIC ORTHOPEDICS AND RHEUMATOLOGY OMI & AAF**

---

20/10/2021 – 22/10/2021 Chișinău, Moldova

**DIPLOMĂ DE AUTOR PREZENTARE ORALĂ LA CONFERINȚA ȘTIINȚIFICĂ ANUALĂ "CERCETAREA  
ÎN BIOMEDICINĂ ȘI SĂNĂTATE: CALITATE, EXCELENȚĂ ȘI PERFORMANȚĂ" USMF "Nicolae  
Testemițanu"**

---

19/10/2021

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA COURSE WEBINAR - OCCUPATIONAL DUST INDUCED LUNG  
DISEASES ERS**

---

28/04/2021 – 30/04/2021

**CERTIFICATE OF PARTICIPATION IN ORAL AND TECHNICAL PRESENTATION, RECOGNITION  
AND APPRECIATION OF RESEARCH CONTRIBUTIONS TO INTERNATIONAL BLACK SEA  
COASTLINE COUNTRIES SCIENTIFIC RESEARCH SYMPOSIUM - VI**

---

07/04/2021 – 10/04/2021

**CERTIFICAT DE ATESTARE A CALITĂȚII DE AUTOR DE COMUNICARE ORALĂ ÎN CADRUL  
CONFERINȚEI NAȚIONALE DE PEDIATRIE "GHIDURI ȘI PROTOCOALE ÎN PEDIATRIE" Societatea  
Română de Pediatrie, Asociația Medicală Română**

---

07/04/2021 – 10/04/2021

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA CONFERINȚA NAȚIONALĂ DE PEDIATRIE "GHIDURI ȘI  
PROTOCOALE ÎN PEDIATRIE" Societatea Română de Pediatrie, Asociația Medicală Română**

---

12/01/2021 – 12/01/2021

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA CURSUL WEBINAR - IGRAS AND OTHER TB INFECTION TESTS  
European Respiratory Society**

---

01/12/2020 – 01/12/2020

**CERTIFICAT DE EDUCAȚIE MEDICALĂ CONTINUĂ WEBINAR - BIOLOGIC THERAPIES IN  
PAEDIATRIC SEVERE ASTHMA European Respiratory Society**

---

05/09/2018 – 08/09/2018 Lisbon, Portugalia

**CERTIFICATE OF ATTENDANCE OF THE 25TH EUROPEAN PAEDIATRIC RHEUMATOLOGY  
CONGRESS OF THE PAEDIATRIC RHEUMATOLOGY EUROPEAN ASSOCIATION (PRES)**

---

07/06/2017 – 10/06/2017 București, România

**EACCME CERTIFICATE THE 8TH EUROPEDIATRICS CONGRESS JOINTLY HELD WITH THE 13  
NATIONAL CONGRESS OF ROMANIAN PEDIATRICS SOCIETY ID:725**

---

07/06/2017 București, România

**EACCME CERTIFICATE THE 8TH EUROPEDIATRICS CONGRESS JOINTLY HELD WITH THE 13  
NATIONAL CONGRESS OF ROMANIAN PEDIATRICS SOCIETY Essential Paediatric BASIC (Basic  
Assessment in Intensive Care) Workshop**

---

4 / 10

04/05/2017 – 06/05/2017 Sibiu, România

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA LUCRĂRILE CONFERINȚEI NAȚIONALE A GRUPURILOR DE LUCRU** Societatea Română de Cardiologie

---

17/03/2017 Chișinău, Moldova

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA CONFERINȚA NAȚIONALĂ "PROGRESE ÎN CARDIOLOGIA PEDIATRICĂ PRIN PRIZMA NOILOR DOVEZI ȘTIINȚIFICE DE DIAGNOSTIC ȘI TRATAMENT"**  
Societatea de Pediatrie din Republica Moldova

---

26/07/2016 – 23/12/2016 Kaunas, Lituania

**CERTIFICATE OF TRAINING IN GENERAL PEDIATRICS, PEDIATRIC CARDIOLOGY AND PEDIATRIC RHEUMATOLOGY** Lietuvos Sveikatos Mokslu Universiteto Ligonine Kauno Klinikos

---

**Adresă** Eiveniu g. 2, 50009, Kaunas, Lituania | **Site de internet** [www.kaunoklinikos.lt](http://www.kaunoklinikos.lt)

13/10/2016 – 15/10/2016 București, România

**CERTIFICATE OF ATTENDANCE OF THE MUSCULOSKELETAL ULTRASOUND COURSE - BASIC PEDIATRIC EULAR** și Societatea Română de Reumatologie

---

28/09/2016 – 01/10/2016 Genoa, Italia

**CERTIFICATE OF ATTENDANCE AT THE 23RD EUROPEAN PAEDIATRIC RHEUMATOLOGY CONGRESS** Paediatric Rheumatology European Association (PReS)

---

03/09/2016 – 07/09/2016 Londra, Regatul Unit

**CERTIFICATE OF ATTENDANCE OF THE EUROPEAN RESPIRATORY SOCIETY INTERNATIONAL CONGRESS** European Respiratory Society (ERS)

---

\*Thematic Poster Presentation T-30 "Evolution of TB in BCG unimmunised children" 05/09/2016

\*Thematic Poster Presentation T-32 "Evolution of pulmonary TB in military recruits" 05/09/2016

12/05/2016 – 14/05/2016 Sibiu, România

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA LUCRĂRILE CONFERINȚEI NAȚIONALE A GRUPURILOR DE LUCRU** Societatea Română de Cardiologie

---

22/04/2016 Chișinău, Moldova

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA CONFERINȚA ȘTIINȚIFICĂ ANUALĂ A INSTITUTULUI MAMEI ȘI COPILULUI, CONSACRATĂ REALIZĂRILOR ȘTIINȚIFICE EFECTUATE DE COLABORATORII IMSP ÎM ȘI C IMSP** Institutul Mamei și Copilului

---

09/12/2015 Chișinău, Moldova

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA SIMPOZIONUL CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ "DIAGNOSTICUL DE LABORATOR ÎN MALADIILE AUTOIMUNE LA COPII"** Societatea de Pediatrie din Republica Moldova

---

19/10/2015 – 23/10/2015 Chișinău, Moldova

**CERTIFICAT PENTRU PĂRTICIPARE LA CURSUL AVANSAT "ȘCOALA DE VARĂ ÎN SĂNĂTATEA ADOLESCENȚILOR"** Asociația Obștească "Sănătate pentru Tineri"

---

11/09/2015 Chișinău, Moldova

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA CONFERINȚA NAȚIONALĂ CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ "ACTUALITĂȚI ÎN PEDIATRIE" CONSACRATĂ CELEI DE-A 70-A ANIVERSĂRI A USMF "NICOLAE TESTEMIȚANU"** Societatea de Pediatrie din Republica Moldova

---

27/06/2015 Chişinău, Moldova

**CERTIFICAT DE ATESTARE A PARTICIPĂRII LA SCIENTIFIC CONFERENCE IN THE FIELD OF MEDICINE FOR DOCTORS SPEAKING FOREIGN LANGUAGES IN MOLDOVA** Ministerul Sănătății al Republicii Moldova

---

\*Organizată de "The Kids Academy PUZZLE" cu suportul Academiei de Științe a Moldovei și Centrului Pedagogic Inovațional "Ion Groza" în cadrul Proiectului "Elaborarea și implementarea noilor tehnologii inovatoare de predare a limbilor moderne"

21/06/2015 Москва

**УДОСТОВЕРЕНИЕ О ПОВЫШЕНИИ КВАЛИФИКАЦИИ ФГБНУ "НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ" НА БАЗЕ СИМУЛЯЦИОННО-ТРЕНИНГОВОГО ЦЕНТРА ПО ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПРОГРАММЕ "НЕОТЛОЖНАЯ ПОМОЩЬ ПРИ ОСТРЫХ СОСТОЯНИЯХ"**

---

08/06/2015 – 21/06/2015 Москва

**СЕРТИФИКАТ УЧАСТНИКА НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОГО ОБУЧАЮЩЕГО СЕМИНАРА "НЕОТЛОЖНАЯ ПОМОЩЬ ПРИ ОСТРЫХ СОСТОЯНИЯХ У ДЕТЕЙ"** Научный Центр Здоровья Детей (НЦЗД)

---

\* В объеме 72 часа

28/05/2015 Chişinău, Moldova

**CERTIFICAT DE PARTICIPARE LA CONFERINȚA ȘTIINȚIFICO-PRACTICĂ "ASISTENȚA MEDICALĂ A PACIENTULUI CU FIBROZA CHISTICĂ"**

---

14/05/2015 – 16/05/2015 Lisabona, Portugalia

**EBAC CERTIFICATE OF ATTENDANCE AT EUROPREVENT 2015** European Society of Cardiology (ESC)

---

2014 Chişinău, Moldova

**ABSOLVENT AL UNIVERSITĂȚII DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU"** Facultatea Medicină I

---

**Adresă** Strada Ștefan cel Mare 165, MD2004, Chişinău, Moldova | **Site de internet** [www.usmf.md](http://www.usmf.md)

03/09/2013 – 13/09/2013 Poznań, Polonia

**CERTIFICATE OF PERFORMED SUMMER PLACEMENT IN THE FIELD OF MEDICINE AT THE POZNAŃ UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES** Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego

---

2008 Donduşeni, Moldova

**ABSOLVENT AL LICEULUI TEORETIC "ALEXEI MATEEVICI"**

---

**Adresă** Strada E. Sîrbu 3, MD5102, Donduşeni, Moldova

31/05/2006 Nyack, Statele Unite

**ACADEMIC EXCELLENCE HIGH HONOR ROLL FOR THE 2005-06 SCHOOL YEAR** Nyack High School

---

**Adresă** 360 Christian Herald Road, NY10960, Nyack, Statele Unite | **Site de internet** [www.hs.nyackschools.org](http://www.hs.nyackschools.org)

2005 – 2006 Nyack, Statele Unite

**FUTURE LEADERS EXCHANGE (FLEX) SECONDARY SCHOOL SCHOLARSHIP**

---

**Adresă** Nyack, NY10960, Nyack, Statele Unite

## ● **COMPETENȚE LINGVISTICE**

---

Limbă(i) maternă(e): **ROMÂNĂ**

Altă limbă (Alte limbi):

	COMPREHENSIUNE		VORBIT		SCRIS
	Comprehenșiune orală	Citit	Exprimare scrisă	Conversație	
<b>RUSĂ</b>	C2	C2	C1	C1	B2
<b>ENGLEZĂ</b>	C1	C1	C1	C1	C1

Niveluri: A1 și A2 Utilizator de bază B1 și B2 Utilizator independent C1 și C2 Utilizator experimentat

## PUBLICAȚII

### 1. Articole

REVENCO, N., CRACEA, A., MAZUR-NICORICI, L., FOCA, S.-G., EREMCIUC, R., IACOMI, V., Treatment with Golimumab in Juvenile Idiopathic Arthritis. Archives of the Balkan Medical Union 2022, 57(2). p.136-143. <https://doi.org/10.31688/ABMU.2022.57.2.02>

IACOMI, V., REVENCO, N., EREMCIUC, R., FOCA, S., CRACEA, A., GAIDARJI, O., Monitorizarea terapiei cu metotrexat în Artrita Juvenilă Idiopatică: variații farmacogenetice. Conference Materials: „Interdisciplinary Management Of Children”, N5, 2022, p.17-23. ISBN 978-9975-58-274-2

REVENCO, N., CRACEA, A., FOCA, S., EREMCIUC, R., IACOMI, V., Eficiența clinică și paraclinică a preparatului Golimumab în Artrita Juvenilă Idiopatică. Conference Materials: „Interdisciplinary Management of Children”, N5, 2022, p.11-16. ISBN 978-9975-58-274-2

EREMCIUC, R., REVENCO, N., CRACEA, A., GAIDARJI, O., FOCA, S., IACOMI, V., Hypothalamic Disfunctions in Children with Juvenile Idiopathic Arthritis. Scientific Collection «InterConf», (54): with the Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Scientific and Practical Conference «Global and Regional Aspects of Sustainable Development» (May 4-5, 2021). Copenhagen, Denmark: Berlitz Forlag, 2021. p.325-337. ISBN 978-87-615-0721-1

REVENCO, N., CRACEA, A., MAZUR-NICORICI, L., FOCA, S., EREMCIUC, R., GAIDARJI, O., IACOMI, V., BOGONOVSKI, L., The Clinical and Practical Efficacy of Tocilizumab in Juvenile Idiopathic Arthritis. Archives of the Balkan Medical Union, 2(56), 2021, p.185-192. [ISSN 1584-9244](https://doi.org/10.31688/ABMU.2021.56.2.02)

REVENCO, N., CRACEA, A., FOCA, S., EREMCIUC, R., GAIDARJI, O., IACOMI, V., BOGONOVSKI, L., Tratatamentul cu preparatul Tocilizumab la pacienții cu artrită juvenilă idiopatică – eficiența clinică și paraclinică. Buletin de Perinatologie, 2(91), Chișinău, 2021, p. 6-10. [ISSN 1810-5289](https://doi.org/10.31688/ABMU.2021.91.2.02)

CAZAN, C., NEAMȚU, M.-L., IACOMI, V., Bacterial Superinfection of the Respiratory Viruses or Respiratory Viral-Bacterial Co-Infection. Acta Medica Transilvanica Suppl. Conferința Națională cu Participare Internațională "Bienala Sibiu-Chișinău", Ediția a 3-a. 2019. p.20-24. ISSN 2559 - 6500

REVENCO, N., IACOMI, V., CRIVCEANSCAIA, E., YAVORSKYI, K., KULCITCHI, S., Approach to pediatric hip pain: what to expect?. Buletin de Perinatologie, 2(83), Chișinău, 2019, p. 80-83. [ISSN 1810-5289](https://doi.org/10.31688/ABMU.2019.83.2.02)

GRAJDIERU, R., BURSACOVSKI, D., REVENCO, V., GRIB, L., GRAJDIERU, A., IACOMI, V., Updates in diagnosis and treatment of acute pericarditis. Curierul Medical, Chișinău, 2016, Vol.59, No 4, p. 38-45. [ISSN 1875-0666](https://doi.org/10.31688/ABMU.2016.59.4.02)

IACOMI, V., Complicații Septice Puerperale (Reviul Literaturii), Anale Științifice, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Chișinău, 2013, Ediția a 14-a, Vol.5, p.113-120. [ISSN 1857-1719](https://doi.org/10.31688/ABMU.2013.5.3.02)

### 2. Teze

IACOMI, V., KULCITKAIA, S., REVENCO, N., IAVORSCHI, C., VILC, V., BURSACOVSKI, D., Evolution of TB in unimmunized children. European Respiratory Journal, Nr. 48, 2016. DOI: 10.1183/13993003.congress-2016.PA2708

IACOMI, V., KULCITKAIA, S., IAVORSCHI, C., VILC, V., BURSACOVSKI, D., Evolution of pulmonary TB in military recruits. European Respiratory Journal, Nr. 48, 2016. DOI: 10.1183/13993003.congress-2016.PA2739

HADJIU, S., SPRINCEAN, M., LUPUȘOR, N., CĂLCÎ, C., PASARI, R., IACOMI, V., BANTAȘ, A., GRUZINSCHI, A., REVENCO, N., Aspecte clinice ale accidentelor vasculare cerebrale la sugari și copii de vârstă mică. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, Nr. 5(57), 2017, p.99-100. ISSN 1857-0011

CĂLCÎ, C., REVENCO, N., SPRINCEAN, M., LUPUȘOR, N., PASARI, R., IACOMI, V., BANTAȘ, A., GRUZINSCHI, A., HADJIU, S., Riscul de dezvoltare a epilepsiei în urma accidentelor vasculare cerebrale perinatale. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, Nr. 5(57), 2017, p.96-97. ISSN 1857-0011

LUPUȘOR, N., REVENCO, N., CĂLCÎ, C., SPRINCEAN, M., PASARI, R., IACOMI, V., BANTAȘ, A., GRUZINSCHI, A., HADJIU, S., Factorii de risc ai accidentului vascular cerebral la copii. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, Nr. 5(57), 2017, p.97-98. ISSN 1857-0011

SPRINCEAN, M., REVENCO, N., LUPUȘOR, N., CĂLCÎ, C., PASARI, R., IACOMI, V., BANTAȘ, A., GRUZINSCHI, A., HADJIU, S., Aspecte etiologice ale accidentelor vasculare cerebrale la copii. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale, Nr. 5(57), 2017, p.100-101. ISSN 1857-0011

IACOMI, V., REVENCO, N., Methylenetetrahydrofolate reductase 677 nucleotide mutation is a predictive tool in methotrexate non-responsive JIA patients. *Pediatric Rheumatology*, 2018, 16(Suppl 2):52, pp.59. ISSN: 1546-0096, <https://doi.org/10.1186/s12969-018-0265-6>

IACOMI, V., REVENCO, N., Rolul polimorfismului genetic al enzimei metilentetrahidrofolat-reductaza MTHFR în aprecierea precoce a ratei de non-răspuns la terapia cu metotrexat în artrita juvenilă idiopatică. *Revista Română de Pediatrie*, 2018, Volum de rezumate LXVII, pp.122. ISSN 1454-0398.

IACOMI, V., REVENCO, N., Impactul mutației C677T al enzimei metilentetrahidrofolat-reductaza MTHFR în dezvoltarea hepatotoxicității la terapia cu metotrexat în artrita juvenilă idiopatică. *Revista Română de Pediatrie*, 2018, Volum de rezumate LXVII, pp.122 - 123. ISSN 1454-0398.

IACOMI, V., REVENCO, N., Rolul genotipului C677T al enzimei metilentetrahidrofolat reductaza în aprecierea precoce a ratei de non-răspuns la terapia cu metotrexat în artrita juvenilă idiopatică. *Buletin de Perinatologie*, 2018, 4(80), pp.91-92. ISSN 1810-5289

---

IACOMI, V., REVENCO, N., Screening the C677T polymorphism of the MTHFR gene in assessing disease severity and response to methotrexate treatment in children with juvenile idiopathic arthritis. In: 7th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera, 2018, Abstract Book Chisinau, Republic of Moldova, pp.62-63. ISBN 978-9975-47-174-9.

GAIDARJI, O., REVENCO, N., EREMCIUC, R., FOCA, S., IACOMI, V., Biomarkers of Vascular Disorders in Raynaud Phenomenon. *Acta Medica Transilvanica*, 24(3), 2019, p.58-59. ISSN 2285 - 7079  
IACOMI, V., REVENCO, N., EREMCIUC, R., KULCIȚCHI, S., IAVORSCHI, C., CRIVCEANSCAIA, E., BERGHEA-NEAMȚU, C.-Ș., Pediatric Joint Pain Approach: A Case Series. *Acta Medica Transilvanica Suppl. Conferința Națională cu Participare Internațională "Bienala Sibiu-Chișinău"*, Ediția a 3-a. 2019. p.57-59. ISSN 2285 - 7079

IACOMI, V., REVENCO, N., Low-Dose Methotrexate Hepatotoxicity Estimation in Juvenile Idiopathic Arthritis. Scientific Collection «InterConf», (38): with the Proceedings of the 8 th International Scientific and Practical Conference «Science and Practice: Implementation to Modern Society» (December 16-18, 2020). Manchester, Great Britain: Peal Press Ltd., 2020. p.907-909. ISBN 978-0-216-01072-7

IACOMI, V., BURSACOVSKI, D., REVENCO, N., Monitoring methotrexate-induced liver toxicity in juvenile idiopathic arthritis: new perspectives. 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera. 24 - 26 Septembrie 2020, Abstract Book, Chisinau, Republic of Moldova, p 192. ISBN 978-9975-151-11-5.

SPÎNU, I., IACOMI, V., REVENCO, N., EREMCIUC, R., KULCIȚCAIA, S., IAVORSCHI, C., CRIVCEANSCAIA, E., The Patterns of Coxofemoral Pain. 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera. 24 - 26 Septembrie 2020, Abstract Book, Chisinau, Republic of Moldova, p 192. ISBN 978-9975-151-11-5.

IACOMI, V., REVENCO, N., Utilizarea elastografiei hepatice în terapia de lungă durată cu metotrexat la pacienții cu AJI. *Revista Română de Pediatrie, Suppl. Vol.LXX, Volum de Rezumate CNPED*. 2021, ISSN 1454-0398



IACOMI, V., REVENCO, N., Application of FibroScan in Juvenile Idiopathic Arthritis Patients. VI International Black Sea Coastline Countries Symposium. 28-30 April 2021, Abstracts Book, Giresun, Turkey, p.15.

IACOMI, V., REVENCO, N., EREMCIUC, R., Liver stiffness in low-dose methotrexate use in JIA patients. *Pediatric Rheumatology*, 2022, 20(Suppl 2):75, pp.35. ISSN: 1546-0096, <https://doi.org/10.1186/s12969-022-00729-z>

---

IACOMI, V., REVENCO, N., Clinical results of methotrexate treatment in Juvenile Idiopathic Arthritis. Culegere de rezumate ale Conferinței Naționale cu Participare Internațională Zilele Pediatrie Iașene "N.N.Trifan", 2023, pp.113-114. ISBN 978-606-13-7701-5.

IACOMI, V., REVENCO, N., Variații genetice cu impact asupra răspunsului la metotrexat în AJI. Culegere de rezumate A 7-a Ediție a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională 2023, p. 8.

REVENCO, N., CRACEA, A., FOCA, S., EREMCIUC, R., GAIDARJI, O., IACOMI, V., GRIN, O., BOGONOVSKI, L., NEDEALCOVA, E., Implementarea Registrului Național cu Artrita Juvenilă Idiopatică în Republica Moldova. Culegere de rezumate A 7-a Ediție a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională 2023, p. 11.

FOCA, S., REVENCO, N., CRACEA, A., BOGONOVSKI, L., IACOMI, V., Scoruri imagistice în evaluarea mineralizării osoase în Artrita Juvenilă Idiopatică. Culegere de rezumate A 7-a Ediție a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională 2023, p. 12.

FOCA, S., REVENCO, N., CRACEA, A., BOGONOVSKI, L., IACOMI, V., Multiple fațete clinice ale leucemiei acute la copii - provocări de diagnostic. Culegere de rezumate A 7-a Ediție a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională 2023, p. 24.

BOGONOVSKI, L., REVENCO, N., FOCA, S., IACOMI, V., Riscul de afectare cardiovasculară la copiii cu Artrita Juvenilă Idiopatică. Culegere de rezumate A 7-a Ediție a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională 2023, p. 29.

FOCA, S., REVENCO, N., CRACEA, A., BOGONOVSKI, L., IACOMI, V., Interferențe de sindrom de activare macrofagală, Artrita Juvenilă Idiopatică și infecția cu Epstein-Barr virus: caz clinic. Culegere de rezumate A 7-a Ediție a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională 2023, p. 41.

MARCOVA, N., REVENCO, N., FOCA, S., EREMCIUC, R., GAIDARJI, O., IACOMI, V., BOGONOVSKI, L., NEDEALCOVA, E., Studiul retrospectiv al manifestărilor clinice a purperei Henoch-Schonlein. Culegere de rezumate A 7-a Ediție a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională 2023, p. 47.

IACOMI, V., REVENCO, N., Assessment of cardiac function in the DMARD treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis. Materialele Conferinței Naționale cu Participare Internațională "Actualități în Pediatrie și Impactul Imunizării asupra Morbidității și Mortalității Copiilor în Republica Moldova", 2023, pp.67-68. ISBN 978-9975-58-293-3.

---

REVENCO, N., MARCOVA, N., FOCA, S., EREMCIUC, R., GAIDARJI, O., IACOMI, V., BOGONOVSKI, L., Renal involvement in children with systemic vasculitis – the experience of the tertiary level pediatric rheumatology department. Materialele Conferinței Naționale cu Participare Internațională "Actualități în Pediatrie și Impactul Imunizării asupra Morbidității și Mortalității Copiilor în Republica Moldova", 2023, pp. 73-74. ISBN 978-9975-58-293-3.

IACOMI, V., REVENCO, N., Clinical Outcome of Methotrexate Treatment in JIA . PReS Young Investigators Meeting YIM Abstract Book, 2023, pp.127-128.

### **3. Comunicări orale/poster la forurile științifice naționale/internaționale**

IACOMI, V., KULCITKAIA, S., REVENCO, N., IAVORSCHI, C., VILC, V., BURSACOVSKI, D., Evolution of TB in unimmunized children. ERS Congress 2016. 3-7 September, 2016, London, UK

IACOMI, V., KULCITKAIA, S., IAVORSCHI, C., VILC, V., BURSACOVSKI, D., Evolution of pulmonary TB in military recruits. ERS Congress 2016. 3-7 September, 2016, London, UK

IACOMI, V., REVENCO, N., Screening the C677T polymorphism of the MTHFR gene in assessing disease severity and response to methotrexate treatment in children with juvenile idiopathic arthritis. 7th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera. 3-5 May, 2018, Chisinau, Republic of Moldova

IACOMI, V., REVENCO, N., Methylenetetrahydrofolate reductase 677 nucleotide mutation is a predictive tool in methotrexate non-responsive JIA patients. PReS Congress 2018. 5-8 September, 2018, Lisbon, Portugal

IACOMI, V., REVENCO, N., Tratatamentul Personalizat în Artrita Juvenilă Idiopatică, Conferința Națională cu Participare Internațională "Bienala Sibiu-Chișinău", Ediția a 3-a. 3-6 octombrie, 2019, Sibiu, România

IACOMI, V., REVENCO, N., EREMCIUC, R., KULCIȚCAIA, S., IAVORSCHI, C., CRIVCEANSCAIA, E., Forme Atipice de Prezentare a Infecțiilor Specifice la Copii. Conferința Națională cu Participare Internațională "Bienala Sibiu-Chișinău", Ediția a 3-a. 3-6 octombrie, 2019, Sibiu, România

IACOMI, V., REVENCO, N., Aspecte nutriționale în artrita juvenilă idiopatică. Conferința Națională de Pediatrie Suportul Nutrițional la Copii în Condițiile Pandemiei Covid19. 7 Noiembrie, 2020, Chișinău, Republica Moldova

IACOMI, V., REVENCO, N., Aspecte noi de monitorizare a tratamentului cu metotrexat la pacienții cu Aji. Conferința Națională de Pediatrie Progrese în Tratatamentul Artritei Juvenile Idiopatică. 19 Decembrie 2020, Chișinău, Republica Moldova

IACOMI, V., BURSACOVSCI, D., REVENCO, N., Monitoring methotrexate-induced liver toxicity in juvenile idiopathic arthritis: new perspectives. 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera. 24 – 26 September 2020, Chisinau, Republic of Moldova

ЯКОМИ, В., РЕВЕНКО, Н., Оценка эффективности лечения метотрексатом полиартикулярного варианта ЮИА у детей с мутацией C677T гена MTHFR. XXIII Конгресс Педиатров России с международным участием "Актуальные проблемы педиатрии". 5-7 Марта 2021, Москва, Российская Федерация

IACOMI, V., REVENCO, N., Application of FibroScan in Juvenile Idiopathic Arthritis Patients. VI International Black Sea Coastline Countries Symposium. 28-30 April 2021, Giresun, Turkey

---

IACOMI, V., REVENCO, N., EREMCIUC R., Monitorizarea tratamentului Aji prin elastografie hepatica. Conferinta Nationala ZILELE PEDIATRIEI IESENE Editia XXXIV. 15-18 iunie, 2022, Iasi, Romania

IACOMI, V., REVENCO, N., EREMCIUC R., Liver Stiffness in Low-Dose Methotrexate Use in JIA Patients. PReS Congress 2022. 20-23 September, 2022, Prague, Czech Republic

IACOMI, V., EREMCIUC, R., GAIDARJI, O., CRACEA, A., REVENCO, N., Importanța scorului de severitate a intoleranței la metotrexat în artrita juvenilă idiopatică. Conferința Științifică Anuală "Cercetarea în Biomedicină și Sănătate: Calitate, Excelență și Performanță". 19 - 21 Octombrie, 2022, Chișinău, Republica Moldova

IACOMI, V., REVENCO, N., Clinical results of methotrexate treatment in Juvenile Idiopathic Arthritis. Conferinta Nationala ZILELE PEDIATRIEI IESENE Editia XXXV. 22-24 iunie, 2023, Iasi, Romania

IACOMI, V., REVENCO, N., Variații genetice cu impact asupra răspunsului la metotrexat în Aji. A 7-a Ediție a Conferinței Naționale de Reumatologie Pediatrică cu Participare Internațională, 14-16 septembrie, 2023, Iasi, Romania

IACOMI, V., REVENCO, N., Clinical Outcome of Methotrexate Treatment in JIA. The 29 Paediatric Rheumatology European Society Congress, 28 September – 01 October, 2023, Rotterdam, The Netherlands