

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Michaela Baťová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Hemofilie
Bakalářská práce

2023

Michaela Baťová

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Haemophilia
Bachelor thesis

2023

Michaela Baťová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Michaela Baťová**
Osobní číslo: **C19211**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Hemofilie**
Téma práce anglicky: **Haemophilia**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracovat teoretickou rešerši na téma hemofilie.
2. V úvodu krátce zmínit historii poznání tohoto onemocnění.
3. Popsat genetickou podstatu hemofilie.
4. Rozdělit a charakterizovat jednotlivé typy onemocnění.
5. Uvést možnosti léčby.

Rozsah pracovní zprávy: 25 s.
Rozsah grafických prací: dle potřeby
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

LS.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem „**Hemofilie**“ jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 14.6.2023

Michaela Baťová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala Mgr. Šárce Štěpánkové Ph.D. za vedení bakalářské práce, trpělivost, věnovaný čas a cenné rady v průběhu zpracování. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Pavle Bradáčové za poskytnutí kazuistik do mé práce. Také děkuji své rodině a přátelům za jejich podporu a trpělivost při vypracování bakalářské práce, ale i během celého studia.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá charakteristikou všech typů hemofilie. První část se věnuje historii hemofilie a obecné funkci hemostázy s koagulačními faktory. V druhé části jsou popsány všechny typy hemofilie a jejich klinický obraz. Třetí část zahrnuje diagnostiku a rozsáhlé možnosti léčby. Poslední část je věnována životu s hemofilií, jejím statutem ve světě a kazuistikám.

KLÍČOVÁ SLOVA

Hemofilie, získaná hemofilie, poruchy hemostázy, mutace genu, srážecí faktory, diagnostika, léčba, genová terapie

TITLE

Haemophilia

ANNOTATION

The bachelor thesis deals with the characteristics of all types of haemophilia. The first part deals with the history of haemophilia and the general function of haemostasis with coagulation factors. The second part describes all types of haemophilia and their clinical presentation. The third part includes diagnosis and extensive treatment options. The last part is dedicated to life with haemophilia, its status in the world and case reports.

KEYWORDS

Haemophilia, acquired haemophilia, haemostasis disorders, gene mutations, clotting factors, diagnosis, treatment, gene therapy

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Schéma genetického přenosu hemofilie A	20
Obrázek 2: Schéma postupu testu Nijmegen–Bethesda	31
Obrázek 3: Diagnostika hemofilie A	33
Obrázek 4: Diagnostika hemofilie B	33

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Léčiva pro hemofilii A a B	35
Tabulka 2: Výsledky vyšetření před a po podání koncentrátu Elocta (kazuistika 1)	49
Tabulka 3: Výsledky vyšetření před a po podání koncentrátu Elocta (kazuistika 2)	51
Tabulka 4: Výsledky vyšetření před a po podání koncentrátu Adynovi (kazuistika 3) ..	52

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AAV	adeno–asociované virové vektory
AAV2	adeno–asociovaný virový vektor sérotypu 2
AAV5	adeno–asociovaný virový vektor sérotypu 5
AAV6	adeno–asociovaný virový vektor sérotypu 6
AAV8	adeno–asociovaný virový vektor sérotypu 8
APC	aktivovaný protein C
aPCC	koncentrát aktivovaného protrombinového komplexu (Activated Prothrombin Complex Concentrates)
APTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas (Activated Partial Tromboplastine Time)
DNA	deoxyribonukleová kyselina (Deoxyribonucleic Acid)
ELISA	imunologická metoda sloužící k detekci a stanovení koncentrace antigenů nebo protilátek (Enzyme–Linked ImmunoSorbent Assay)
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti (Human Immunodeficiency Virus)
IgG	imunoglobulin G
ITI	indukce imunitní tolerance (Immune Tolerance Induction)
LD–PCR	polymerázová řetězová reakce dlouhých řetězců DNA (Long Distance PCR)
mRNA	messengerová ribonukleová kyselina (Messenger Ribonucleic Acid)
PC	protein C
PCR	polymerázová řetězová reakce (Polymerase Chain Reaction)
PEG	polyethylenglykol
PT	protrombinový čas (Prothrombin Time)
rFVIIa	rekombinantní faktor VIIa

siRNA	skupina dvouvláknové ribonukleové kyseliny o délce 20–25 nukleotidů (Small Interfering RNA)
TFPI	inhibitor dráhy tkáňového faktoru (Tissue Factor Pathway Inhibitor)
tPa	tkáňový aktivátor plazminogenu
uPa	urokinázový aktivátor plazminogenu
WFH	Světová hemofilická federace (World Federation of Hemophilia)

Obsah

Úvod.....	14
1 Historie.....	15
1.1 Královská nemoc.....	15
2 Hemostáza a koagulační faktory.....	17
2.1 Primární hemostáza.....	17
2.2 Plazmatické faktory.....	17
2.3 Koagulace.....	18
2.4 Fibrinolytický systém.....	18
3 Hemofilie A.....	20
3.1 Klinický obraz.....	21
4 Získaná hemofilie A.....	23
4.1 Klinický obraz.....	23
4.2 Těhotenství.....	23
4.3 Nádorové onemocnění.....	24
4.4 Autoimunitní onemocnění.....	25
5 Hemofilie B.....	26
5.1 Klinický obraz.....	26
5.2 Hemofilie B Leyden.....	26
5.3 Získaná hemofilie B.....	27
6 Hemofilie C.....	28
6.1 Klinický obraz.....	28
7 Diagnostika.....	29
7.1 Stanovení aktivity koagulačních faktorů.....	29
7.2 Detekce inhibitorů.....	30
7.3 Genetická analýza.....	31
8 Léčba.....	34

8.1	Substituční terapie.....	34
8.2	Inhibitory.....	35
8.3	Léčba pacientů s inhibitory	36
8.3.1	Indukce imunitní tolerance	36
8.3.2	Bypassová činidla	37
8.4	Nefaktorová substituční terapie.....	38
8.4.1	Emicizumab	38
8.4.2	Fitusiran	39
8.4.3	Concizumab	40
8.4.4	Serpin PC	40
8.5	Genová terapie	41
8.5.1	Genová terapie hemofilie B	41
8.5.2	Genová terapie hemofilie A.....	42
8.5.3	Nežádoucí aspekty	42
9	Život s hemofilií.....	44
10	Světová hemofilická federace	46
11	Hemofilie v České republice.....	47
11.1	Český národní hemofilický program.....	47
12	Kazuistika č. 1.....	48
12.1	Vyšetření	49
13	Kazuistika č. 2.....	50
13.1	Vyšetření	50
14	Kazuistika č. 3.....	52
14.1	Vyšetření	52
	Závěr	53
	Seznam použitých zdrojů.....	55

Úvod

Tématem bakalářské práce je hemofilie. Onemocněním byla postižena britská královská rodina a tím zanechala hemofilie hlubokou historickou stopu ve světě.

Jedná se o závažné dědičné onemocnění postihující srážení krve. Příčinou je mutace genu srážecího faktoru, která je vázaná na chromozom X a dědí se především z matky na syna. Ženy jsou většinou bez příznaků a pouze přenašečky mutace, muži jsou plně postiženi. Mutace genu srážecího faktoru způsobí jeho nedostatek nebo poruchu jeho funkce. Z tohoto důvodu nemůže hemostáza plnit svou funkci. Konkrétně se sníží tvorba trombinu, která vede k nedostatečné tvorbě sraženiny. Existuje řada typů hemofilie, které se odlišují defektem jiného srážecího faktoru. Nejčastěji se vyskytuje u pacientů hemofilie typu A, u které je postižen srážecí faktor VIII. U hemofilie B je to srážecí faktor IX. Defekt faktoru XI je velmi vzácný a tato forma se nazývá hemofilie C. Existují i získané formy hemofilie.

Příznaky hemofilie jsou nezastavitelné krvácivé epizody nejčastěji do měkkých tkání, kloubů nebo svalů, které doprovází výrazná bolest. Pokud se tyto epizody nezačnou zavčas léčit, nemocný může vykrváctet a zemřít. Opakované krvácivé stavy mohou vést až ke ztrátě hybnosti kloubů a pacient je odkázán k invaliditě. Je tedy nadmíru důležité, aby se krvácení co nejdříve zastavilo a podala se vhodná léčba.

Samotná laboratorní diagnostika není složitá, kámen úrazu je ale vůbec onemocnění odhalit. Nejvíce záleží na hladině daného srážecího faktoru. Pokud má nemocný skoro nulovou hladinu faktoru je velmi pravděpodobné, že už v dětství prodělal těžké krvácivé stavy a hemofilii má potvrzenou již z raného dětství. Naopak pacienti, kteří mají mírnou či střední hladinu srážecího faktoru mají mírné příznaky onemocnění. Jsou většinou diagnostikováni až poté, co prodělali krvácení do kloubů nebo svalů, a to může nastat až v dospělosti.

Léčba hemofilie spočívá ve většině případů v intravenózní substituci srážecího faktoru buď přímo v době krvácení, nebo jako preventivní léčba. Přípravky pro léčbu onemocnění se v současnosti pořád zdokonalují, aby byly pro pacienty co nejvíce šetrné a pohodlné.

1 Historie

Pravděpodobně první psaná zmínka o hemofilii se nachází v židovském díle zvaném Babylónský talmud, který byl sepsán ve 2. století. V díle je uvedena událost, která je velice podobná příznakům hemofilie, ale nepojednává přímo jako o nemoci. Pokud matce zemrou její dva synové následkem vykrvácení po obřízce, tak nesmí provést obřízku svému třetímu synovi. Text neobsahuje žádný lékařský popis ani léčbu onemocnění. Informace ve spisech jsou považovány pouze jako možné pozorování příznaků hemofilie [1, 2].

Další zmínka o hemofilii se nachází v encyklopedii zvané Kitab Al-Tasrif, v překladu Metoda lékařství. Tuto encyklopedii sepsal španělský lékař Abul Qasim A-Zahravi, který je známý i pod jménem Albucasis. Albucasis byl vážený lékař, který žil v 10. století. V encyklopedii se nachází přesný popis krvácivé poruchy, kterou přenášely zdánlivě zdravé matky na své syny. Sám přiznal, že nezjistil důvod vzniku onemocnění. Dále Albucasis popsal nejstarší způsob léčení hemofilie tzv. kauterizaci. Kovový nástroj se zahřál do červena a přiložil se pacientovi na ránu. Teplo napomáhalo srážet krev a i zabíjet mikroby v otevřené ráně. Jednalo se o rychlou zástavu akutního krvácení, která se stala oblíbenou i na bojištích [2, 3].

První modernější objev krvácivého onemocnění učinil americký lékař John Conrad Otto v 18. století. Svůj výzkum publikoval v článku s názvem Popis hemoragické dispozice vyskytující se v některých rodinách. Dokázal vystopovat krvácivé onemocnění třemi generacemi rodiny. Dle tohoto výzkumu poznal, že onemocnění je dědičné a přenášejí jej ženy bez příznaků na své syny. Tento článek odstartoval postupnou definici hemofilie v 19. století [2].

Název hemofilie dal krvácivému onemocnění německý vědec J. L. Schönlein. Tento název poté publikoval jeho student F. Hopff v roce 1828 a stal se oficiálním. Výraz hemofilie znamená „související s krví“. Schönlein později preferoval výraz hemorafilie, který znamená „související s krvácením“. Tyto dva termíny se poté začaly objevovat jako synonyma, ale nakonec se upřednostnil název hemofilie [1].

1.1 Královská nemoc

Hemofilie se dostala nejvíce do povědomí po zjištění, že právě tímto onemocněním trpěla většina evropských království mezi 19. a 20. stoletím. Rodina britské královny Viktorie

touto nemocí trpěla a rozšířila ji dál po Evropě. Královna Viktorie byla přenašečkou a předala gen choroby dál svým dětem. V rodokmenu britské královské rodiny nebyla hemofilie zaznamenána, až u královny Viktorie, která byla jediným dítětem. Je pravděpodobné, že gen zdědila od svého otce vévody Edwarda. Viktorie se narodila, když jejímu otci bylo 52 let a tímto se také prokázalo, že mutace genu se častěji vyskytuje u dětí starších otců [2, 4].

Celkově měla královna devět dětí a hemofilii zdědily její dvě dcery, princezny Alice a Beatrice, a její syn princ Leopold. Obě princezny byly přenašečky a prostřednictvím jejich dětí se hemofilie rozšířila do Ruského, Španělského i Německého království [2, 4].

Během života princ Leopold trpěl několika krvácivými stavy. Ve svých 29 letech si vzal německou princeznu, se kterou zplodil dceru přenašečku a syna. V roce 1884 utrpěl úraz hlavy a zemřel na krvácení do mozku [2, 4].

Princezna Alice předala hemofilii svému synovi a dvěma dcerám. Její syn princ Friedrich měl krvácivé stavy a nakonec zemřel ve třech letech z důsledku pádu z okna na krvácení do mozku. Dcera princezna Alexandra se provdala za ruského cara Mikuláše II. a předala hemofilii svému synovi Alexejovi. Car a carevna Alexandra se snažili svému synovi zajistit tu nejlepší péči. Po řadě neúspěšných lékařů se jako poslední pokoušel vyléčit malého careviče léčitel Rasputin. Ten používal hypnózu a modlení, aby zastavil bolest a krvácivé stavy. V roce 1916 byl na Rasputina spáchán atentát, který nepřežil. Za dva roky od incidentu byla zavražděna bolševiky i celá carská rodina a carevič Alexej zemřel ve svých 13 letech [2, 4].

Poslední dcera královny Viktorie, princezna Beatrice, byla také přenašečkou genu hemofilie. Princezna Beatrice se svým manželem princem Henrym zplodila čtyři potomky. Dva ze tří synů byli hemofilici a její dcera byla přenašečkou onemocnění. Starší syn princ Leopold zemřel ve 32 letech během operace kolene. Mladší syn princ Maurice byl zabit v boji při První světové válce. Dcera princezna Viktorie si vzala španělského krále Alfonse XIII. a předala hemofilii svým dvěma synům. Oba dva synové zemřeli při autonehodě [2, 4].

Současná britská královská rodina gen hemofilie nezdědila, jelikož se králem stal Viktoriin první syn Eduard VII., který hemofilikem nebyl [2, 4].

2 Hemostáza a koagulační faktory

Hemostáza neboli srážení krve je důležitý proces v lidském těle, který probíhá v cévním řečišti po poranění cévy. Postup hemostázy podléhá uzavřením poškozené cévy, vytvořením krevní sraženiny, následně jejím rozpuštěním a obnovením cirkulace krve v cévě [5].

2.1 Primární hemostáza

Prvním krokem je primární hemostáza, která směřuje k uzavření cévní stěny a zastavení krváčení. Vytvoří se primární hemostatická zátka, jiným názvem fibrinová zátka. Hlavní složky primární hemostázy jsou trombocyty a cévní stěna. Trombocyty mají receptory glykoproteinové povahy, které se naváží na kolagenní vlákna obsažená v subendoteliích v porušené cévní stěně. Na tomto procesu adheze se podílí i adhezivní proteiny jako je např. von Willebrandův faktor. Adherované trombocyty posléze změň svůj tvar a aktivuje se kaskáda biochemických pochodů. Ke konci primární hemostázy dochází k agregaci trombocytů. Nakonec vznikne bílý rozpustný trombus neboli primární destičková zátka [5, 6].

2.2 Plazmatické faktory

Hemostázy se účastní proteiny přítomné v plazmě, které se nazývají plazmatické faktory. Rozdělují se dle jejich funkce a místa účinku na koagulační faktory, přirozené inhibitory krevního srážení a faktory fibrinolýzy. Tvorba plazmatických faktorů probíhá v játrech a zároveň některé faktory vyžadují ke své tvorbě vitamin K. Dle pořadí jejich objevení se značí římskými číslicemi a pokud je faktor aktivovaný, tak se označuje písmenem „a“ [5, 7].

V plazmě jsou přítomné v různých formách. Nejčastěji ve formě enzymu jako neaktivní proenzym (zymogen). Enzym se stane koagulačně aktivním až po proteolytickém štěpení. Do této formy faktorů patří serinové proteázy, které zahrnují koagulační faktory II, VII, IX, X, XI, XII a prekalikrein; faktory fibrinolýzy plazminogen, tkáňový a urokinázový aktivátor plazminogenu (tPa a uPa) a protein C [5, 7].

Další varianta plazmatických faktorů je forma kofaktoru. Po proteolytickém štěpení se tyto faktory účastní syntézy koagulačně aktivních komplexů. Jedná se o faktory III, V, VII, kininogen a protein S [5, 7].

Mezi plazmatické faktory patří i fibrinogen, který je substrát trombinu. Trombin svým působením na fibrinogen navodí jeho štěpení. Na konci této reakce se z fibrinogenu stane fibrin. Dále to jsou adhezivní plazmatické proteiny, mezi které náleží von Willebrandův faktor a fibronectin, taktéž i přirozené inhibitory krevního srážení [5, 7].

2.3 Koagulace

Krevní srážení je podmíněno kaskádovitou enzymatickou reakcí. Neaktivní formy plazmatických faktorů jsou štěpeny a tím přetvořeny na aktivní formy. Existují dva systémy koagulační kaskády, a to zevní a vnitřní. V organismu působí oba systémy soudržně. Posléze se jejich cesty spojují při aktivaci FX a společně vytváří trombin [7, 8].

Zevní systém kaskády aktivuje poranění, při kterém se začne uvolňovat tkáňový faktor a ten se naváže na FVII. Vzniká aktivovaný komplex spolu s fosfolipidy a vápenatými ionty, který se nazývá zevní tenáza. V následujícím kroku komplex aktivuje faktor X na FXa [5, 7, 8].

Vnitřní systém kaskády se aktivuje FXII a FXI po kontaktu s kolagenem, jenž vznikl po obnažení cévy po poranění. Následuje kaskádovitá aktivace FIX a FVIII, které dohromady s fosfolipidy a vápenatými ionty vytvářejí komplex zvaný vnitřní tenáza. Vnitřní tenáza podmiňuje aktivaci FX na FXa. Do vnitřního systému lehce zasahuje i zevní systém, jelikož komplex zevní tenázy také aktivuje FIX [5, 7, 8].

Aktivovaný FXa ještě s jeho kofaktorem FVa, fosfolipidy a vápenatými ionty tvoří komplex s označením protrombináza. Protrombináza generuje přeměnu protrombinu na trombin. Dalším krokem je přeměna fibrinogenu na fibrinové monomery, která je podmíněna trombinem. Trombin dále aktivuje FXIIIa a spolu s tímto faktorem stabilizují polymery fibrinu na nerozpustný fibrin [8, 9].

2.4 Fibrinolytický systém

Mezi hlavní funkce fibrinolýzy patří rozpouštění stabilního fibrinového koagula. Fibrinolytický systém zahrnuje mnoho dalších funkcí, které se podílejí na regulaci rovnováhy v organismu [7, 9].

Jelikož je krev fyziologicky v tekutém stavu, může vzniklá fibrinová zátka způsobit až nekontrolovatelné uzavření cévy. Z tohoto důvodu se musí zátka rozpustit [5, 7, 9].

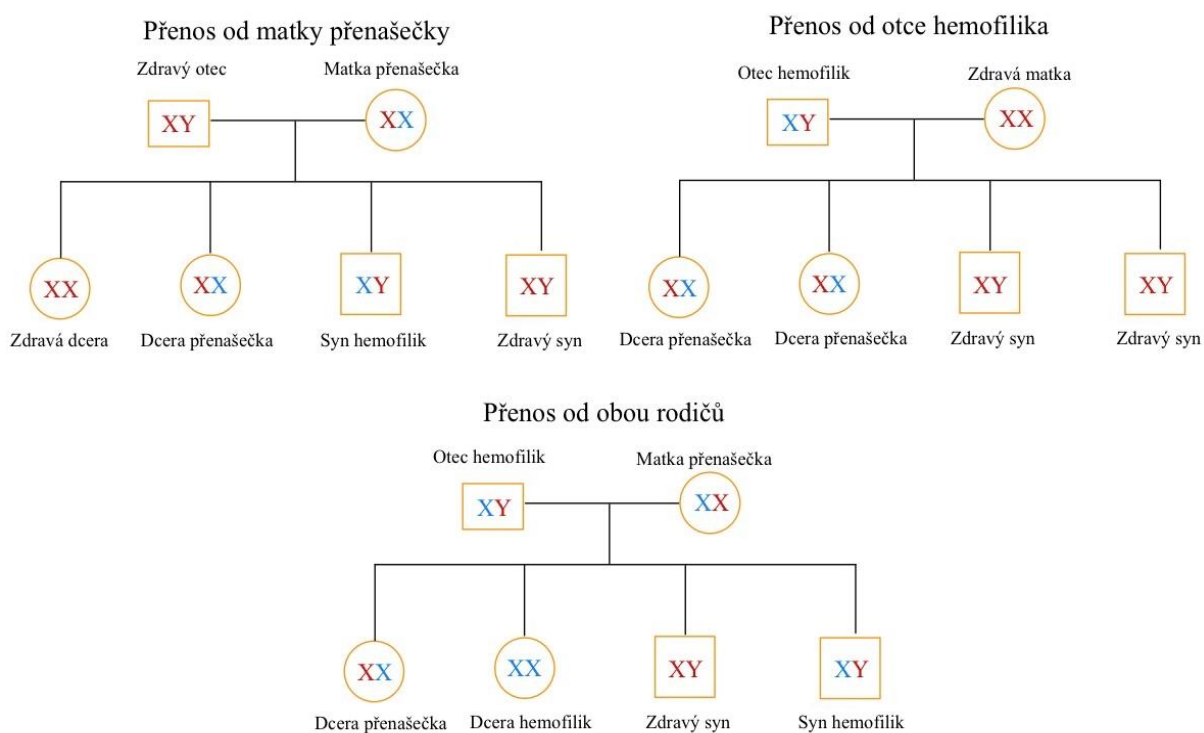
Za hlavní enzym fibrinolytického systému se považuje plazminogen. Prvním aktivátorem plazminogenu je tkáňový aktivátor plazminogenu (tPa), který je uvolněn z poškozeného endotelu do krevního řečiště. Druhým aktivátorem je urokináza (uPa), která je extravaskulární [9].

Plazminogen se aktivuje na plazmin současně s aktivací hemokoagulačních procesů. Plazmin reaguje v místě fibrinového koagula proteolyticky. Tento proces směřuje k jeho rozpuštění a obnovení krevního průtoku [7, 9].

3 Hemofilie A

Hemofilie typu A je dědičné onemocnění vázané na chromozom X. Příčinou tohoto onemocnění je mutace v genu pro FVIII, kterého je posléze nedostatečné množství. Jedná se o gen Xq28, který přísluší dlouhému raménku chromozomu X. Mutace způsobí chybění genu nebo jeho části na chromozomu. Následně faktor nedokáže plnit svou funkci v koagulaci krve [10–12].

Plně se projevuje u mužů, kteří mutovaný gen na chromozomu X zdědili po matce. Ženy jsou pouze přenašečky v heterozygotní formě. Existují i výjimky, kdy se u ženy plně rozvine hemofilie, a to v případě homozygotní formy. Tato forma může vznikat jako odezva na pokrevní vztahy v hemofilické rodině [10, 11]. Podrobnější schéma dědičnosti choroby je znázorněno na obrázku 1.



Obrázek 1: Schéma genetického přenosu hemofilie A, převzato a upraveno z [12]

Obecné rozšíření choroby se udává jako jeden případ z 5 000 živě narozených mužů. U 30 % potvrzených hemofiliků není hemofilie zjištěna v historii jejich rodiny a jedná se tak o sporadické mutace genu [11, 12].

Míra krvácení se rozlišuje pomocí tří fenotypů. Prvním fenotypem je těžká forma, která vyjadřuje hladinu FVIII v plazmě menší než 1 %. Hladinu FVIII mezi 1 až 5 % v plazmě

charakterizuje střední forma. Třetím fenotypem je mírná forma, kde je míra FVIII v plazmě od 5 do 40 % [11, 12].

3.1 Klinický obraz

Typickým znakem hemofilie A je hemartróza neboli krvácení do kloubů spojené s krvácením do svalů. Pohybový aparát je v těle nejvíce zatěžovaný a postižený mikrotraumaty. Proto hemartróza zasahuje hlavně nosné klouby jako jsou ramena, lokty, kyčle, kolena a kotníky. Akutní krvácení do kloubů se projevuje nepohodlím a omezenou hybností, následně bolestí a otoky. I po úspěšném zastavení krvácení může docházet k zánětům, které vedou k poškození prokrvení kloubu. Důsledek hemartrózy je v posledním kroku vznik hemofilické artropatie, respektive ztrátě chrupavky. Krvácení do kloubů ve většině případů začíná v noci, protože k tomu dochází ve formě opožděné reakce [10–12].

Krvácení do svalu představuje 10–25 % ze všech krvácení. Svalový hematom je u hemofiliků velmi častý a je příčinou jejich invalidity. Až 75 % nemocných s těžkou formou hemofilie za svůj život tento hematom prodělá. Jejich vznik podmiňuje zranění i spontánní výskyt. Projevy zahrnují bolest, sníženou mobilitu a ztrátu funkce svalu. Nebezpečné ztráty krve značí krvácení do větších svalů a vytváření pseudotumorů nebo pseudocyst. Častým projevem je krvácení do bedrokyčelního svalu, který při větších ztrátách krve může vést až ke smrti nemocného. Tento hematom stlačuje femorální nervy a důsledkem je specifická chůze [11, 12].

Před modernizací diagnostických postupů bylo až v 75 % případů příčinou smrti intrakraniální krvácení. Nyní s možností provedení vyšetření počítačové tomografie nebo magnetické rezonance se hodnota snížila na 30 %. Z důvodu větší fyzické aktivity a tím vyšším rizikem poranění hlavy se intrakraniální hematom objevuje spíše u dětí a mladistvých s hemofilií. Mezi nespecifické příznaky patří šok, hypotenze a anémie. Specifické příznaky mohou být bolest hlavy, opakované zvracení, problematická chůze, změny chování až křeče a dvojité vidění. Nejdůležitější je rychlé odhalení krvácení a jeho léčba [12].

Dalšími příznaky jsou krvácení po traumatu a po operaci, krvácení do trávicího traktu nebo krvácení z dásní a dutiny nosní a také hematurie. U těžké až střední formy hemofilie vzniká krvácení bez zjevné příčiny. Pacienti s těžkou formou jsou diagnostikováni již při narození nebo v dětství. Příkladem odhalení je krvácení z pupečníku u novorozenců při

odběru krve nebo nadbytečné krvácení po obřízce. Naopak hemofilie s lehkou formou se ve většině případů odhalí až u většího poranění nebo při operaci nemocného. Je možné, že se u takovéto formy hemofilie ani neprokáže [11].

4 Získaná hemofilie A

Získaná hemofilie A patří mezi vzácné krvácivé poruchy. Organismus vytváří autologní protilátky namířené proti FVIII u jedinců s normální hemostázou. Ty poté částečně nebo úplně neutralizují funkci srážecího faktoru. Příčinou je porucha imunitního kontrolního mechanismu. Autoprotilátky jsou třídy IgG a na jejich produkci se podílí interakce mezi T lymfocyty. Jsou namířené buď proti epitopu A2 nebo C2 molekuly FVIII [13, 14].

Na rozdíl od vrozené hemofilie, inhibitory nelineárně inaktivují FVIII a tím nelze titr FVIII použít k predikci závažnosti krvácení. Původ choroby je buď idiopatický, nebo je spojen s malignitami, autoimunitním onemocněním, těhotenstvím a léky. Až u 17 % zdravých jedinců se objevují tyto protilátky, které ale výjimečně neovlivňují FVIII. K samovolnému vymizení inhibitoru může docházet až u 1/3 nemocných [15].

Získaná hemofilie A se vyskytuje u mužů i žen, incidence se zvyšuje s věkem a u dětí je neobvyklá. Onemocnění se objevuje více u mužů nad 65 let a činí přibližně 14,7 jedinců na milion ročně. Další již menší výskyt případů je u těhotných žen [14].

Hemoragické příznaky se většinou objeví náhle. Kvůli nedostatečné informovanosti lékařů o této chorobě bývá diagnóza opožděna a pacienti nedostávají potřebnou a správnou léčbu [13].

4.1 Klinický obraz

Krvácivost je odlišná od krvácivosti hemofilie A. Objevuje se sice spontánně, ale projevuje se podkožními modřinami nebo krvácením do měkkých tkání. Svalové krvácení, hematurie, gastrointestinální krvácení i intrakraniální krvácení bývá častější než hemartrózy. Diagnózu navodí i prvotní krvácivost při traumatu, operacích nebo peripartálním období těhotenství. U 97 % nemocných se vyskytují život ohrožující krvácivé epizody [13, 14].

4.2 Těhotenství

Těhotenství může také spouštět tvorbu autoprotilátek proti FVIII, ale důvod, proč tomu tak je, není zatím pochopen. Inhibitory se vytvářejí ve většině případů po porodu. Diagnóza je obvykle stanovena po prvním těhotenství. Onemocnění se však může vyvinout až po několikátém těhotenství, kdy předchozí těhotenství byla bez jakéhokoliv podezření na krvácení [16, 17].

Nejčastějšími příznaky jsou krvácení poporodní, kožní a svalové. Objevit se může i neobvyklé krvácení jako je hematurie a hemotorax. Dále je to prodloužené krvácení po odběrech krve nebo při stomatologickém výkonu [16].

Vliv na hladinu FVIII u plodu může mít matka, která si autoprotilátky vytvořila ještě před porodem. Jde o prenatální získanou hemofilii A s transplacentárním přenosem protilátky. Zatím je, ale tato forma nejasná [15, 17].

Hladina FVII je individuální. Titr inhibitoru má nižší hladinu a to 20 BU/ml. Až v 62 % dochází k jeho spontánnímu vymizení v průběhu 16–30 měsíců. Inhibitor se ale může znovu vytvořit v dalším těhotenství. V každém případě se při dalším těhotenství ženy monitorují ve spolupráci se specializovaným hematologem [15, 17].

4.3 Nádorové onemocnění

Získaná hemofilie A se objevuje ve spojení s nádorovým onemocněním u 10–15 % nemocných. Postihuje muže i ženy s průměrným věkem 68 let. Stejně jako v předchozích případech není mechanismus vzniku autoprotilátek objasněn. Spojení získané hemofilie a nádorového onemocnění se objevuje jak u solidních karcinomů, tak i u hematologických malignit. Nachází se hlavně u karcinomu prostaty, plic a tlustého střeva. Hematologické malignity zahrnují lymfom, chronickou lymfocytární leukémii, plazmatickou dyskrazii, chronické myeloproliferativní novotvary, dále akutní myeloidní leukémii a myelodysplastický syndrom [18].

Uvádí se, že ve 22 % případů dochází k vymizení inhibitoru již při samotné léčbě karcinomu. Jako terapie první volby je léčba primární malignity u pacientů s časným stadiem rakoviny. U pacientů s řádným karcinomem je to imunosupresivní léčba [15, 18].

Autoprotilátka proti FVIII bývá v nižším titru, u mužů přibližně 18 BU/ml a u žen 10 BU/ml. U pacientů s nádorovým onemocněním je vyšší pravděpodobnost opakovaného krvácení. Jedná se hlavně o krvácení do kůže a sliznic. Krvácení do měkkých tkání může způsobit závažný pokles hemoglobinu, které poté vede k hemoragickému šoku až smrti [18, 19].

Důležité je rozlišit získanou hemofilii od jiných koagulopatií, které také způsobují abnormální krvácení. Podobně jevící se jsou onemocnění jako diseminovaná intravaskulární koagulace, trombotické mikroangiopatie, imunitní trombocytopenie, heparinem indukovaná trombocytopenie nebo von Willebrandova choroba [19].

4.4 Autoimunitní onemocnění

Mezi autoimunitní stavy, které stimulují tvorbu autoprotilátek FVIII patří systémový lupus erythematoses, revmatoidní artritida, roztroušená skleróza, Sjögrenův syndrom a terporální artritida. Titr inhibitorů je na rozdíl od jiných souvisejících stavů vysoký. Často je zapotřebí další léčba, protože inhibitor spontánně neustoupí [20, 21].

Systémový lupus erythematoses je autoimunitní onemocnění, při kterém se tvoří autoprotilátky a zánět v mnoha orgánech. Přidruženou získanou hemofilií A má k tomuto onemocnění 5,7 % pacientů [22].

Spojení získané hemofilie A s revmatoidní artritidou se objevuje u 4–8 % případů. Obvykle se vyskytuje u starších pacientů, bez spojitosti s příčinou, aktivitou nebo závažností [23].

Roztroušená skleróza se získanou hemofilií A je velmi vzácná. Jedná se o chronické zánětlivé onemocnění centrálního nervového systému. Pacientů s tímto spojením je málo. Lékaři jsou proto méně obeznámeni a následně nemohou zahájit včasnou a správnou léčbu [24].

5 Hemofilie B

Hemofilie B je vzácné dědičné krvácivé onemocnění vázané na chromozom X. Krvácivá porucha je způsobena mutací genu, který kóduje koagulační faktor IX. Objevuje se u jednoho postiženého z 30 000 živě narozených zdravých mužů. Z toho vychází, že je méně častá než hemofilie typu A. Mechanismus dědičnosti je stejný jako u typu A. Onemocnění je také nazýváno jako Vánoční nemoc, dle prvního vyšetřeného pacienta [25, 26].

Gen FIX je menší než gen FVIII a nachází se na dlouhém raménku blíž k centroměře v místě Xq27. Hemofilie B je charakterizována méně závažnou mutací. Jedná se o bodovou mutaci, delecii nebo inzerci genu. Závažnost mutace posléze určuje míru aktivity FIX v plazmě [10, 25].

5.1 Klinický obraz

Dle hladiny FIX se hemofilie dělí na mírnou (5–40 % FIX), střední (1–5 % FIX) a těžkou (<1 % FIX). I přes méně závažné mutace genu FIX má hemofilie B obdobné a stejně závažné klinické příznaky jako hemofilie A. Jde hlavně o krvácení do kloubů a svalů, větší krvácení při traumatech a operacích nebo spontánní krvácení u středních a těžkých forem. Uvádějí se rozdíly ve frekvenci krvácení, respektive hemofilici s typem B mají mírnější fenotyp krvácení než hemofilici s typem A bez ohledu na závažnost onemocnění [25, 26].

Přenašečky hemofilie B s normálními hladinami FIX, které nemají krvácivé příznaky nejspíše zůstanou neidentifikovány. U žen s větším deficitem FIX se může projevit mírná hemofilie, vzácně i těžká forma. Výskyt deficitu FIX u přenašečky je způsoben nenáhodnou inaktivací chromozomu X během embryogeneze. Příznaky mohou být silné menstruační krvácení, poporodní krvácení i typické krvácivé příznaky hemofilie B [27].

5.2 Hemofilie B Leyden

Jedná se o vzácnou formu hemofilie B. Projevuje se ve většině případů u chlapců v pubertě, kdy přechází ze závažného fenotypu krvácení na mírný fenotyp s nízkým deficitem FIX. Může dojít až k úplné remisi krvácivých příznaků po pubertě. Vzácně mají tuto formu hemofilie i dívky [28, 29].

Hemofilie B Leyden je charakterizována bodovou mutací v promotorové oblasti genu pro FIX. Výzkum prokázal, že androgenní steroidy mají vliv na fenotyp hemofilie B. Vysoký účinek mají v pubertě, kdy se v těle zvyšuje jejich tvorba. Pozitivní účinky na hladinu FIX má i růstový hormon [28, 29].

5.3 Získaná hemofilie B

Získaná hemofilie B navozená autoprotiilátkami IgG proti FIX je velmi vzácná, a proto i méně prozkoumána. Inhibitory proti FIX vznikají přidruženě k autoimunitním onemocněním, nádorům, u těhotných po porodu nebo idiopaticky stejně jako u získané hemofilie A. Dále vznikají ve spojení k hepatitidám a vzácně i s virem lidské imunitní nedostatečnosti (HIV). Klinické příznaky jsou obdobné jako u získané hemofilie A [30, 31].

Dalším neobvyklým způsobem vzniku tohoto onemocnění je důsledek ortotopické transplantace jater. Do doby transplantace neměl pacient žádné krvácivé poruchy ani hemofilii potvrzenou v rodinné anamnéze. V několika případech se stal dárce jater jedinec s hemofilií, který nebyl diagnostikován před svou smrtí a byl bez potvrzené hemofilie v rodinné anamnéze. Za fyziologických podmínek se tvoří koagulační faktor IX v játrech. U dárce s genovou mutací FIX se v játrech tvoří velmi malé množství tohoto faktoru a vzniká jeho deficit. Z toho vyplývá, že u příslušného příjemce těchto jater se rozvine hemofilie po jejich transplantaci. Provedením biopsie s následnou analýzou DNA se potvrdí mutace genu pro FIX u transplantovaných jater pacienta. Naopak mutace genu není prokázána v DNA pacienta z periferní krve [32, 33].

6 Hemofilie C

Hemofilie C neboli Rosenthalův syndrom způsobuje nedostatek koagulačního faktoru XI. Jedná se o vzácnou dědičnou poruchu s prevalencí jednoho nemocného z milionu zdravých jedinců. Zvýšený výskyt onemocnění se objevuje u populací, kde dochází k příbuzenským sňatkům. Příkladem je populace aškenázských Židů, kde je prevalence deficitu FXI asi 5 % [34–36].

Vzniká mutací v genu pro FXI na chromozomu 4, postihuje tedy muže i ženy. Typy genetických mutací jsou různé a stále se identifikují nové varianty. Zatím bylo popsáno přibližně 250 typů mutací tohoto genu. Koagulační FXI se podílí na tvorbě trombinu a prozánětlivého systému. Proto defekt FXI může změnit i mechanismus zánětlivé odpovědi a hojení ran, které doprovází opakované infekce [34–36].

6.1 Klinický obraz

Onemocnění se zpravidla ohlašuje až krvácivými příznaky při chirurgickém zákroku. Spontánní krvácení je u hemofilie C velmi vzácné, spíše dochází ke krvácení v dutině ústní, hltanu nebo v urogenitálním traktu v důsledku traumatu nebo operace. Obecně v oblastech s vysokou fibrinolytickou aktivitou. Ani u těžkého deficitu FXI nejsou pozorovány hemartrózy, krvácení do svalů a měkkých tkání jako je to u ostatních typů hemofilie. Klinické příznaky u žen zahrnují i menoragii a zvýšené poporodní krvácení [34–36].

Hladina FXI nedopovídá závažnosti krvácení, ale obecně se onemocnění dělí do tří úrovní: mírné (nad 40 % FXI), střední (20–40 % FXI) a těžké (pod 15–20 % FXI) [34-36].

7 Diagnostika

Diagnostika hemofilie je založena na laboratorním vyšetření. Základem jsou koagulační testy, genetické vyšetření a vyšetření přenašečství. Důležitým aspektem je i klinické vyšetření, konkrétně rodinná anamnéza [10].

Rutinní laboratorní testy předcházejí konkrétní diagnostiku hemofilie prodlouženým aktivovaným tromboplastinovým časem s normálním protrombinovým časem [37].

Dle každoročních průzkumů je patrné, že rozdíl mezi odhadnutým počtem hemofiliků a diagnosticky potvrzených hemofiliků je značně větší. Dokazují to data nasbíraná v roce 2018, kdy bylo identifikováno přibližně 250 000 pacientů s hemofilií, ale dle odhadů prevalence by mělo být identifikováno kolem 750 000 hemofiliků. Hlavní příčinou je zanedbaná diagnostika v zemích, kde se teprve vyvíjejí systémy zdravotní péče a testy jsou tam omezeně dostupné [37].

7.1 Stanovení aktivity koagulačních faktorů

Stanovení koagulační aktivity FVIII nebo FIX se vyžívá k určení stupně deficitu těchto faktorů a tím i formy hemofilie. Dříve se k vyšetření využívala dvoustupňová metoda, která má podstatnou nevýhodu v manuálnosti a technické náročnosti. Nyní, díky automatizaci, se běžně využívá metoda jednostupňová, a to pro svou jednoduchost a spolehlivost [38].

Aktivitu FVIII lze stanovit již z pupečnickové krve novorozence a v raném věku dítěte. Naopak FIX je faktor závislý na vitamínu K a jeho hodnota je při narození snižena. Z tohoto důvodu mohou být výsledky zkresleny a za stabilní se považují až v 6 měsících věku [10, 39].

Aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT) je nespecifický test vnitřního systému koagulace. Slouží k detekci faktorů VIII, IX, XI a XII. Při nedostatku těchto faktorů se APTT prodlužuje. Test se také může prodlužovat vlivem jiných faktorů, složek krve nebo i léky (inhibitory, prokalikrein, heparin...). Proto je důležité tyto aspekty zohlednit před samotným vyšetřením. Je to jednostupňová metoda, která funguje na principu smíchání plazmy pacienta a plazmy s deficitem daného koagulačního faktoru. Samotné měření APTT, při kterém probíhá tvorba vnitřní tenázy (FIXa + FVIIIa), protrombinázy, trombinu a nakonec fibrinu, probíhá bez přerušení. Doba srážení posléze přímo závisí na aktivitě měřeného faktoru pacienta. Současně se měří i kalibrovaná

normální plazma nebo vhodný standard, jehož výsledek umožňuje výpočet procentuální aktivity měřeného faktoru v plazmě pacienta [38, 40, 41].

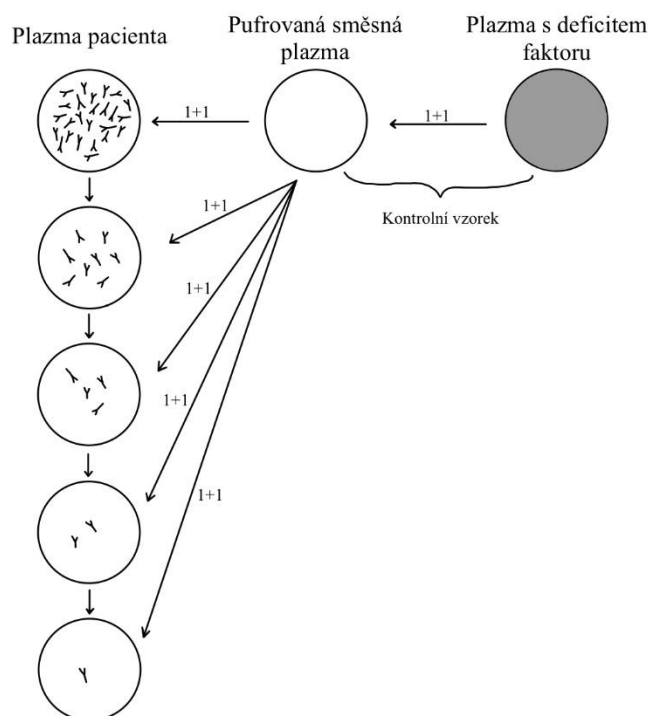
Další metodou pro stanovení aktivity koagulačních faktorů jsou chromogenní testy, které jsou dvoustupňové. K silně zředěné plazmě se přidá specifické činidlo, které způsobí tvorbu vnitřní tenázy. Tento komplex zapříčiní aktivaci FX, který je mírou pro aktivitu FVIII a FIX. Vznikající FXa štěpí peptid v chromogenním substrátu za vzniku chromoforu, jehož intenzita se měří fotometricky. Pro procentuální výpočet aktivity faktoru se také využívá současné měření s kalibrovaným standardem [38, 40, 41].

Vlivem velkého rozsahu odlišných mutací genů pro tyto koagulační faktory mohou nastat nesrovnalosti ve výsledcích obou stanovení. Dalším důvodem je i proměnlivá citlivost testů, různé druhy činidel APTT i rozdílný původ koagulačních faktorů chromogenních testů. Proto je nutné, aby se při prvotní potvrzující diagnóze hemofilie použily oba tyto testy aktivity, které fungují na odlišných principech [40, 41].

7.2 Detekce inhibitorů

Pomocí testu Nijmegen–Bethesda se stanovují protilátky pacienta, které inhibují aktivitu FVIII nebo FIX. Ještě před samotným stanovením protilátek je důležitý krok eliminace srážecích faktorů a uvolnění protilátek z vazby na FVIII nebo FIX. Tento krok se provádí tepelnou inaktivací vzorků plazmy pacienta při 56 °C na 30 minut a déle. Plazma pacienta se následně sériově zředí s plazmou s deficitem stanovovaného faktoru. Každé jednotlivé ředění se smíchá v poměru 1:1 s pufovanou směsnou plazmou. Jako kontrolní vzorek poslouží smíchání pufované směsné plazmy s plazmou s deficitem faktoru, také v poměru 1:1. Aktivita faktoru se měří až po inkubaci při 37 °C u všech ředění a vypočítá se relativně k aktivitě kontrolního vzorku [40, 42]. Schéma postupu je znázorněno na obrázku 2.

Jednotkou pro vyjádření titru inhibitoru je BU/ml, která vysvětluje že 1 BU/ml inhibuje aktivitu daného faktoru o 50 % a 2 BU/ml o 75 %. Ideálním výpočtem BU/ml je lineární funkce grafu ze změřených a vypočtených hodnot relativní aktivity měřeného faktoru [40, 42].



Obrázek 2: Schéma postupu testu Nijmegen–Bethesda, převzato a upraveno z [40]

Mezi další typy testů detekce protilátek se řadí ELISA, imunoprecipitační test nebo fluorescenční imunotest. Citlivost těchto testů je mnohokrát větší, než u funkčních testů jako je Bethesda. Principem ELISA metody je měření vazby IgG protilátky na daný srážecí faktor pevně zachycený na plastovém povrchu měřicí destičky. Na podobném principu metody funguje i fluorescenční imunotest, který má FVIII nebo FIX pevně zachycen na fluorescenčních kuličkách. Dále tato stanovení dokáží vyhodnotit i imunoglobulinové podtřídy [42].

7.3 Genetická analýza

Genetická analýza k identifikaci mutace genů F8 nebo F9 je důležité a doporučované stanovení pro všechny pacienty s hemofilií. Slouží k určení a potvrzení ženských přenašeček, které pak může vést k identifikaci jedince při narození nebo ještě před porodem pomocí prenatální diagnostiky. Pro prenatální diagnostiku se provádí odběr choriových klků v 11.–14. týdnu nebo aminocentéza po 15. týdnu těhotenství. Genetické vyšetření také slouží pro budoucí genové terapie hemofilie [39, 43, 44].

Těžkou formu hemofilie A charakterizuje inverze intronu 22 a intronu 1 genu pro FVIII. Inverze intronu 22 se vyskytuje přibližně u 40–45 % pacientů a inverze intronu 1 u 1–6 % pacientů. Inverze neboli přetočení intronu se detekuje pomocí metody PCR. Pokud nejsou

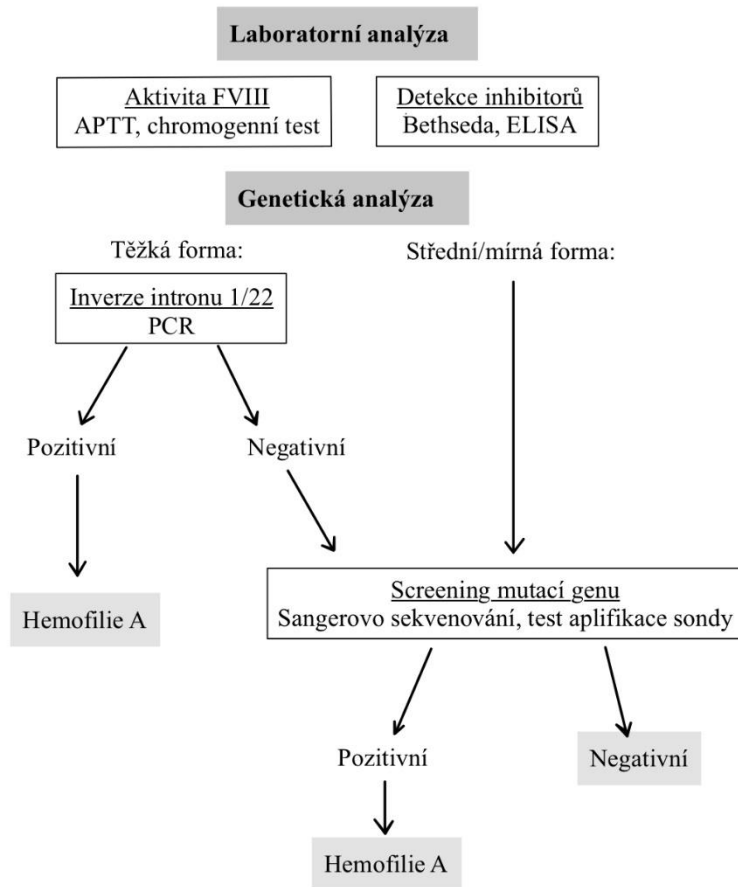
přítomny tyto dvě genetické variace, hlavně u střední a mírné formy hemofilie A, musí se provést přímým Sangerovým sekvenováním úplný screening mutací genu. Tento screening pokrývá všechny exony, hranice intron–exon, a i promotorovou část genu. Zhruba 67 % popsaných molekulárních defektů u hemofilie A tvoří bodové mutace neboli missense. Další malé inserce a delece odpovídají 25 % a 6 % mutací jsou velké delece. Mezi laboratorní stanovení pro detekci insercí a delecí se řadí nejčastěji test amplifikace sondy závislý na multiplexní ligaci [39, 43, 44].

U hemofilie B se stanovuje molekulární charakterizace sekvenční analýzou osmi exonů, hranic intron–exon a promotorové oblasti genu pro FIX. Stejně jako u hemofilie A převažují bodové mutace a to ze 70 %. Pomocí soupravy pro amplifikaci sondy lze detekovat delece i duplikace v genu F9. U hemofilie B není charakteristická žádná genetická variace jako je inverze intronů u hemofilie A [39, 43, 44].

Při identifikaci dědičných krvácivých poruch závisí úspěšnost jak na genetické heterogenitě, tak i na typu zvolené molekulární analýzy. Míra detekce defektů v genech F8 i F9 je okolo 95 %, zbylých 5 % je většinou způsobeno nesprávnou diagnózou. Často je hemofilie A zaměňována s von Willebrandovou chorobou typu 2, protože je jejich klinický obraz velice podobný. V druhém případě je chybně zaměňován deficit koagulačního faktoru závislého na vitaminu K (protrombin, FVII, FX) za hemofilii B [44].

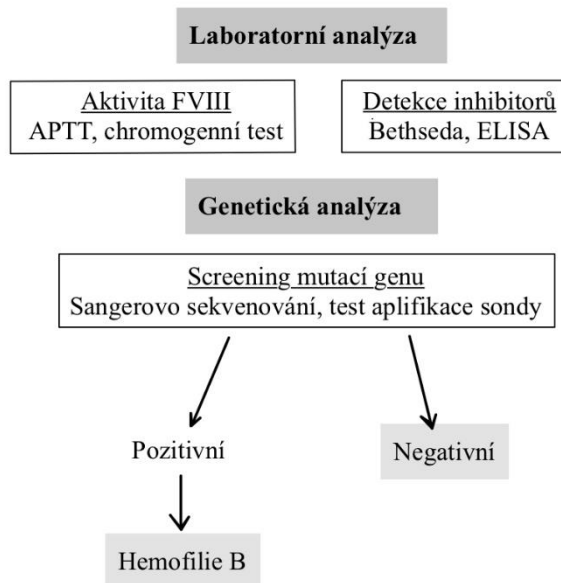
Postup laboratorní diagnostiky hemofilie A i B je popsán na obrázcích 3 a 4.

Hemofilie A



Obrázek 3: Diagnostika hemofilie A, převzato a upraveno z [44]

Hemofilie B



Obrázek 4: Diagnostika hemofilie B, převzato a upraveno z [44]

8 Léčba

8.1 Substituční terapie

Hlavní léčebnou strategií hemofilie je substituční terapie. Principem dosažení správné hemostázy je intravenózní podání srážecího faktoru, který je v deficitu. Správné množství faktoru se získá výpočtem, který zohledňuje hladinu faktoru v deficitu pacienta s hladinou potřebnou k účinné léčbě. Na konec se ještě udělá přepočítání na 1 kg hmotnosti pacienta. Výpočet saturační dávky je následující:

saturační dávka = (požadovaná – výchozí hladina faktoru v %) × tělesná hmotnost v kg × 0,6

Jedna jednotka faktoru zvýší jeho hladinu o 2 %. Dávka v jednotkách se tedy musí přepočítat na procentuální vzestup hladiny, to nám udává koeficient 0,6. Tato saturační dávka se podává v případě potřeby zastavení krvácení [10].

V minulém století se hemofilie léčila podáním krevní plazmy od dárce. Pozdější výzkum dokázal ze zmražené dárcovské plazmy separovat a lyofilizovat koncentráty faktoru VIII nebo IX. Nežádoucím účinkem této léčby byla infekce tisíce pacientů virem HIV a hepatitidy C z kontaminovaných koncentrátů. Nyní jsou k dispozici komerční rekombinantní proteinové produkty bez přenosu patogenů krví [39, 45].

Substituce se využívá i k prevenci krvácivosti a destrukci kloubů. Primární profylaxe je dlouhodobá a léčba se aplikuje 2–3× týdně, než se u nemocného rozvine kloubní onemocnění. Zahájena může být již od 2 let pacienta, pokud je včas diagnostikován. Sekundární profylaxe začíná až po propuknutí kloubního onemocnění. Obvyklá dávka je 25–40 UI/kg pacienta, ale existuje i nízkodávkový režim s 10–20 UI/kg. Tato prevence se musí dále přizpůsobit k fyzické aktivitě hemofilika, dávkovacímu režimu s laboratorním sledováním a dlouhodobým výsledkům [39, 45].

Krátký poločas rozpadu stávajících přípravků pro léčbu je hlavním omezením. U FVIII je to 8–12 hodin a u FIX 24 hodin. Důsledkem je častá frekvence jejich podání. Prodloužení poločasů rekombinantních koagulačních faktorů se podařilo tzv. PEGylací. Jejím principem je kovalentní vazba polymerů polyethylenglykolu (PEG) na terapeutické látky. Prodloužení poločasu proteinů se může dosáhnout i fúzí s jiným proteinem, který má delší poločas (např. albumin). Oba způsoby oddalují lysozomální degradaci proteinů a jsou znovu uváděny do oběhu [45, 46].

Přehled licencovaných produktů pro léčbu hemofilie A a B je uvedený v tabulce 1.

Tabulka 1: Léčiva pro hemofilii A a B [46]

Rekombinantní koncentrát FVIII	Koncentrát FVIII získaný z plazmy	Rekombinantní koncentrát FIX	Koncentrát FIX získaný z plazmy
Advate	Beriate	Alprolix	AlphaNine SD
Adynovi	Haemoctin	BeneFIX	Mononine
Afstyla	Hemofil	Idelvion	
Elocta	Immunate	Refluxia	
Esperoct	Monoclata	Rixubis	
Jivi	Octanate		
Kogonate Bayer	Wilate		
Kovaltry			
Helixate NexGen			
NovoEight			
Nuwiq			
Obizur			
Recombinate			
Refecto AF			
Vihuma			

Pravidelné sledování pacientů s hemofilii potvrzuje vysokou účinnost a bezpečnost léčby, jak s plazmovým, tak i rekombinantním faktorem. Problém nastává nejen v dostupnosti, ale také v ceně. Více než 400 000 hemofiliků zůstávají bez přístupu jakékoli terapie [45].

Substituční terapie se využívá i u hemofilie C. Mezi varianty léčby patří zmrazená plazma, koncentráty FXI a nízkodávkový rekombinantní faktor rFVIIa. Koncentráty zmrazené plazmy a FXI jsou podávány každých 48–72 hodin. Dále se využívají antifibrinolytická činidla, ta zahrnují kyselinu ϵ -aminokapronovou a kyselinu tranexovou. Používají se k léčbě menších krvácivých epizod, při silném krvácení nebo jako prevence poporodního krvácení [35, 36].

8.2 Inhibitory

Největším problémem léčby substituční terapií je vývoj neutralizačních protilátek proti FVIII nebo FIX. Jedná se o polyklonální molekuly IgG, které mají vysokou afinitu. U těžké hemofilie A se tvorba objeví u 20–30 % pacientů a u mírné až střední formy

se tvoří u 5–10 % pacientů. U hemofilie B je vývoj inhibitorů vzácnější, konkrétně u méně než 5 % pacientů s těžkou formou. Důsledkem vytvoření protilátek v těle hemofilika se stává substituční léčba neúčinná a zároveň se zvyšuje riziko mortality. Vývoj je určen souhrou mezi environmentálními a genetickými faktory. Další příčinou jsou i opakované vyšší dávky substituční terapie. Jiným předpokladem pro vznik je léčba pacientů s vysokými dávkami koncentrátů. Z tohoto důvodu je v některých zařízeních doporučeno, aby první léčba nebyla podávána současně s operací nebo imunizací [47, 48].

Inhibitory se obecně rozdělují dle typu jejich odpovědi po expozici se srážecím faktorem. Vysoce reagující inhibitor má titer >5 BU, naopak inhibitor s nízkou odezvou má ≤ 5 BU. Větší část inhibitorů je trvalá, ale obvykle alespoň klesají na nižší úroveň reakce, pokud není napaden imunitní systém. Další dělení dle kinetiky rozděluje inhibitory na typ I. s rychlou kinetikou a silnou vazbou a na typ II. s pomalejší kinetikou a slabší vazbou na molekulu srážecího faktoru [10, 47].

8.3 Léčba pacientů s inhibitory

První volbou léčby pacientů s těžkou formou hemofilie spolu s vyvinutými inhibitory se doporučuje jejich zničení pomocí indukce imunitní tolerance (ITI). Výsledkem se stává pacient imunně tolerantní vůči podávanému faktoru a může se navrátit zpět k běžné substituční terapii. Úspěšnost tohoto žádoucího výsledku je přibližně mezi 51–79 %. Dále jsou k dispozici bypassová činidla, která léčí krvácivé epizody a zároveň jsou i náhradou za ITI pokud nebyla u pacienta účinná [48, 49].

8.3.1 Indukce imunitní tolerance

Navození periferní tolerance FVIII nebo FIX zahrnuje pravidelné a dlouhodobé vystavení pacienta danému srážecímu faktoru. K dosažení úspěšné imunitní tolerance dochází často až po několika letech. Medián jsou 2 roky. Další nevýhodou je cenová dostupnost [49, 50].

Důležité buňky, na které cílí indukce imunitní tolerance, jsou T-lymfocyty, specifické B-lymfocyty a plazmatické buňky produkující inhibitory. Důvod letité eradikace inhibitorů jsou právě plazmatické buňky, které mají dlouhou životnost [50, 51].

K dispozici jsou tři mechanismy k navození imunitní tolerance. První mechanismus jsou již zmiňované dávky vysokých koncentrací srážecích faktorů. Výsledkem je tlumení diferenciace B-paměťových lymfocytů na plazmatické buňky. Další mechanismus je

na principu chronické expozice srážecím faktorem v nezápřítlivém stavu. To zapříčiní vyčerpání a následnou anergii T-lymfocytů neboli neschopnost imunitní reakce na srážecí faktory. Poslední možností je navození vývoje antiidiotypických protilátek, které neutralizují škodlivé autoprotilátky a potlačují funkce B-lymfocytů [50].

Existují 3 léčebné protokoly Bonnův, Van Creveldův a Malmö. Nejvíce využívaný je Bonnův protokol. Má 87% úspěšnost a je vhodný pro velmi náročné pacienty. Na začátku indukce se podává srážecí faktor dvakrát denně v dávce 100–150 IU/kg. Pro pacienty s vysokým rizikem krvácení se využívá i bypassové činidlo. Zbylé dva protokoly používají nižší dávky faktoru nebo léčbu kombinují s imunosupresivními léky, které zkracují její dobu a cenovou náročnost [49, 50].

Tyto metody indukce jsou účinné hlavně pro inhibitory anti-FVIII. U hemofilie B s inhibitory anti-FIX je indukce imunitní tolerance poněkud složitější, úspěšnost se pohybuje okolo 50 %. Některým pacientům musí být odmítnuta tato forma léčby kvůli spojení hemofilie B s alergickými reakcemi nebo nefrotickým syndromem. Důvod vývoje těchto druhotných onemocnění ve spojení s hemofilií zatím není znám, ale pravděpodobně jsou příčinou genetické mutace. Indukce imunitní tolerance u hemofiliků s typem B je často kombinována s imunosupresí [52, 53].

8.3.2 Bypassová činidla

Bypassová činidla zajišťují produkci trombinu, který je potřebný k zástavě krvácení. Tento proces, ale nevyžaduje FVIII ani FIX, na které si pacient vytvořil protilátky. Činidla zahrnují rekombinantní faktor VIIa (rFVIIa) a koncentráty aktivovaného protrombinového komplexu (aPCC). Srážecí faktor VIIa přímo aktivuje vnější dráhu koagulace. Koncentráty aPCC řídí protrombin a FXa k dosažení hemostázy, protože obsahují mnoho zymogenů a aktivovaných koagulačních faktorů. Oba tyto typy činidel mají celkovou míru účinnosti více jak 80 %. Výběr, které z těchto činidel bude vhodné pro daného pacienta, je čistě na předpokladu jeho reakce. K této předpovědi slouží automatické testy tvorby trombinu a tromboelastografie. Bylo prokázáno, že *in vitro* výběr typu činidla odpovídá klinické hemostatické odpovědi pacienta. U jedinců, kteří mají špatnou reakci na rFVIIa i aPCC jako samostatné látky, může být použita kombinace obou látek. Dále kyselina trenexanová zlepšuje stabilitu činidel u menšího počtu hemofiliků. S bypassovými činidly se může dosáhnout prevence krvácivých epizod, jak při operacích, tak v běžném životě [54–56].

Dříve byly koncentráty aPCC součástí Borského protokolu k navození imunitní tolerance u pacienta. Nyní je kombinace rFVIIa nebo aPCC s ITI vyhrazena pro krvácivé pacienty, kteří mají titr inhibitorů nad 10 BU/kg. Klinická indikace by měla být přehodnocena v momentě, kdy pacientovi klesne titr inhibitoru pod 10 BU/kg. Jinak se zvyšuje riziko vzniku trombóz [54, 57].

Nevýhodou každodenní léčby s rFVIIa je kratší poločas rozpadu, který činí pouze 2–3 hodiny na rozdíl od aPCC, který má poločas 8–12 hodin. Tato léčba je pro pacienta náročnější a finančně nákladná. Naopak nevýhoda koncentrátů aPCC je možné zvýšení titru inhibitoru, protože obsahují malé množství FVIII. Z těchto důvodů je třeba pečlivě posoudit schopnost pacienta reagovat na konkrétní bypassové činidlo [54, 57].

8.4 Nefaktorová substituční terapie

Jedná se o novodobé produkty, které se snaží obnovit a znovu vyrovnat hemostázu. Jejich cílem není náhrada chybějícího faktoru, ale působení na jiné složky koagulace [58].

8.4.1 Emicizumab

Emicizumab je humanizovaná specifická protilátka typu IgG. Jejím cílem je napodobit funkci chybějícího FVIII u těžké hemofilie A. Je schopna na sebe navázat srážecí faktory IXa a X. Tímto procesem docílí aktivace FX, kterou indukuje právě přítomnost FIXa a obnoví se hemostáza [58, 59].

V oběhu emicizumab přetrvává mnohem déle než klasický FVIII. Důvodem je jeho odlišná molekulární struktura, která nepodléhá stejným fyziologickým mechanismům jako koagulační faktor. Další výraznou výhodou je jeho poločas rozpadu. Ten činí okolo 4–5 týdnů a dávkovací režimy se tím razantně prodlouží. Pokud si pacient vytvořil inhibitory proti FVIII a indukce imunitní tolerance u něj byla neúčinná, a i profylaxe pomocí bypassových činidel byla složitá, je volba emicizumabu velmi výhodná a usnadňuje terapii. Z tohoto plyne, že díky své odlišné molekulární podobnosti s FVIII může být využit i u pacientů s rozvinutými inhibitory. Bylo prokázáno, že u pacientů s těžkou formou hemofilie A se snížila míra krvácení o 87 % ve srovnání s žádnou profylaxí ve všech věkových skupinách. U dětských pacientů je léčba emicizumabem také bezpečná s účinností až 90 %. Časně zahájená profylaxe přispívá k udržení zdravých kloubů a prevenci intrakraniálního krvácení [58–60].

Z důvodu nízké imunogenicity humanizovaných protilátek, je vývoj protilátek proti emicizumabu velmi nepravděpodobný. Přesto by vyvinuté inhibitory neměly ovlivnit účinnost emicizumabu ani by neměly reagovat s FVIII a neohrozily tak substituční terapii. Riziko vzniku trombóz je u samotné profylaxe emicizumabem nulové. Výjimkou jsou případy, kdy u pacienta vznikla trombóza v důsledku kombinace emicizumabu s koncentráty aPCC, které byly použity pro zástavu krvácivé epizody. Tato kombinace se díky těmto případům nedoporučuje. Naopak je prokázáno úspěšné dodatečné použití rFVIIa pro pooperační léčbu [58, 59].

Rutinní laboratorní sledování pacienta tato léčba nevyžaduje. Výsledky laboratorních testů jako je APTT, aktivita FVIII a zjištění titru inhibitoru FVIII jsou ovlivněny emicizumabem a jsou brány jako nespolehlivé. Tento fakt je problémem hlavně pro vyšetření před chirurgickým zákrokem nebo při vážném traumatickém krvácení, kdy přesnost výsledků je důležitá. Náhradou za zmiňované testy jsou testy chromogenní, ale ty jsou pro některé laboratoře nedostupné [58, 60].

8.4.2 Fitusiran

Nová terapie, která je účinná u hemofilie typu A i B bez inhibitoru, tak i s nimi. Principem fitusiranu je inhibice produkce antitrombinu v játrech, pomocí malé interferující molekuly siRNA. Ta se váže a následně degraduje mRNA, která kóduje antitrombin. Výsledkem je zvýšení tvorby trombinu a tím i podpora hemostázy. Pro docílení správného stupně tvorby trombinu jako u zdravých jedinců se musí u pacientů snížit hladina antitrombinu i více než 75 %. Dle výsledků studií se u pacientů s těžkou hemofií A i B míra krvácivosti snížila o 90 %. Jeho hlavní využití je profylaxe [61, 62].

Výhodou fitusiranu je jeho subkutánní podání a jeho prodloužený farmakodynamický účinek. Přibližně polovina pacientů dosáhne trvalé hladiny antitrombinu pod 35 % po aplikaci 50 mg fitusiranu jednou za dva měsíce. Druhá polovina pro dosažení hodnot vyžaduje zvýšení dávky na 80 mg fitusiranu měsíčně [61, 62].

Kombinace fitusiranu s bypasseovými činidly při krvácivých epizodách je bezpečná. Dokonce se v této kombinaci může se stejným účinkem použít menší dávka bypasseových činidel. Riziko trombózy, ať už samotného fitusiranu nebo této kombinace, zatím nebyla prokázána u žádného pacienta. Ani jeden případ nenaznačuje, že by si pacient vytvořil protilékové protilátky [62].

8.4.3 Concizumab

Concizumab je protilátka IgG namířená proti inhibitoru dráhy tkáňového faktoru (TFPI). Funkce TFPI je vazba na komplex tkáňový faktor–FVIIa a tím zabrání aktivaci FX. Dále také jeho druhá doména váže již zaktivovaný FXa. U zdravých jedinců TFPI svou funkcí fyziologicky vypíná přeměnu protrombinu na trombin a tím udržuje správnou hemostázu. Naopak hemofilikům může jeho funkce vést k nadměrnému krvácení [63, 64].

Konkrétně je concizumab namířen na druhou doménu TFPI vázající FXa a tím zabrání jeho inhibici. Tímto procesem se zvýší produkce a aktivace FXa, která byla předtím blokována. Zároveň se tím zvýší tvorba trombinu a hemostáza bude v rovnováze. Léčivo je určeno pro terapii hemofilie typu A i B bez vyvinutých inhibitorů i s nimi. Podává se subkutánně jednou denně. Obvyklá udržovací dávka profylaxe je 0,15 mg/kg, ale může být dle potřeb pacienta zvýšena až na 0,25 mg/kg [63, 64].

Vývoj protilátek proti concizumabu během profylaxe vznikne přibližně u 25 % hemofiliků, ale jejich klinický význam se neprojeví. U pacientů, kteří si je vytvořily nebyly zaznamenány žádné změny v laboratorních parametrech, zvýšené krvácení nebo jiné nežádoucí účinky. V roce 2020 výzkum zmírnil riziko trombózy pomocí upravení dávkovacího režimu. Nežádoucí vznik trombózy se totiž projevil u několika pacientů léčených concizumabem, ti ale k tomu měli predispozice [63, 64].

8.4.4 Serpin PC

Tato forma terapie cílí na aktivovaný protein C (APC) k obnovení rovnováhy hemostázy. Prekurzor proteinu C aktivuje trombin. Zaktivovaný protein C má antikoagulační funkci a proteolyticky inaktivuje FVIIIa a FVa. Svou funkcí snižuje tvorbu FXa a následnou tvorbu trombinu. Alfa1–antitrypsin, inhibitor aktivátoru plazminogenu a inhibitor proteinu C jsou přirozeně se vyskytující inhibitory APC [46, 61, 65].

Serpin je inhibitor proteinu C, ale zároveň i prokoagulačních proteáz (trombin, FXa, FXIa a komplex FVIIa–tkáňový faktor). Tato rozsáhlá inhibice způsobila prodloužení APTT až na 5 minut, proto se musela změnit specifita serpinu. Žádoucí bylo zachovat nebo zvýšit inhibici APC a zároveň snížit inhibici ostatních prokoagulačních proteáz. Modifikací se ale dosáhlo pouze nízké míry inhibice APC a krátkého poločasu rozpadu v organismu. Proto modifikovaný serpin nebyl zařazen mezi kandidáty na léčivo [65].

Modifikace alfa1–antitrypsinu se naopak ukázala jako výhodnější. Vznikl serpin PC s účinnou inhibicí APC a poločasem rozpadu 5–7 dní. Kladné výsledky výzkumu

na hemofilickém myším modelu prokázaly jeho účinnost při obnově hemostázy *in vivo*. Pravděpodobnost, že by serpin PC ovlivnil protizánětlivé funkce aktivovaného proteinu C je velmi malá a zatím nebyla prokázána ani při vysokých dávkách. V současnosti je serpin PC stále ve fázi klinického výzkumu s dobrovolníky s hemofilií A i B bez vyvinutých inhibitorů i s nimi [61, 65].

8.5 Genová terapie

Principem genové terapie při léčbě hemofilie je náhrada vlastního defektního genu pacienta. Nápomocný je fakt, že u hemofilie je již malé zvýšení hladiny deficitních srážecích faktorů významným zlepšením pro fenotyp krvácení. K terapii se využívají virové vektory, konkrétně rekombinantní adeno–asociované virové vektory (AAV). Použití přirozeně se vyskytujících virů a vektorů je zatím nejúčinnější způsob zavedení terapeutických genů do cílových somatických buněk. Původ AAV vektorů je divoký typ parvovirů s jednovláknovou DNA, který je u lidí nepatogenní a slabě imunogenní, V současné době je k dispozici více než 100 přirozeně se vyskytujících sérotypů AAV s odlišnými imunogenními vlastnostmi. Jejich účinnost spočívá v zacílení rychle se dělících buněk tkání, jako jsou například játra. Pro zlepšení exprese DNA vektorů se k jejich transgenu přidávají silnější tkáňově specifické promotory [66–68].

8.5.1 Genová terapie hemofilie B

Expresní dráha FIX je významně méně komplexní než u FVIII. První studie využily podání AAV sérotypu 2 do jaterní tepny u pacientů s těžkou formou hemofilie B. Hladina FIX sice pacientovi stoupla o 10 % normální úrovně, ale pouze po dobu 2 měsíců. Poté nastal nežádoucí pokles na původní hladinu. Dalším nežádoucím aspektem byly zvýšené hladiny jaterních transferáz, které se s poklesem hladiny FIX vrátily do normálních hodnot [66, 67].

Použití vektoru, který byl pseudotypizovaný kapsidou AAV sérotypu 8 se jevil jako klíčový aspekt k úspěchu. U pacientů s těžkou hemofilií B se s ním podařilo dosáhnout trvalé exprese FIX na terapeutických úrovních. Další výhodou AAV8 oproti AAV2 je podání do periferní cirkulace bez nutnosti invazivního postupu katetrizace jaterní tepny. I tvorba neutralizačních protilátek anti–AAV8 je nižší než u AAV2. V některých případech se vyskytlo přechodné zvýšení hladiny alaninaminotransferázy, ale hladiny bilirubinu, alkalické fosfatázy a gama–glutamyltransferázy zůstaly v normálním rozmezí. Hladina alaninaminotrasferázy se normalizovala pomocí dodatečné léčby

kortikosteroidy. Hladina FIX zůstala stabilní 10 let po dobu sledování. Tímto se u pacienta snížila četnost spontánního krvácení i roční spotřeby koncentrátů FIX. U pacientů nebyly prokázány neutralizační protilátky proti FIX ani u nich nebyla pozorována pozdní toxicita. Po dobu sledování se potvrdilo, že léčba nezanechává dlouhodobé poškození jater [66, 68].

S pokroky v technologii další výzkumy zkouší jiné modifikace kapsidy AAV obsahující různé mutace pro účinnější transdukcii lidských hepatocytů [66, 68].

8.5.2 Genová terapie hemofilie A

Použití stejných vektorů jako u hemofilie B brání špatný profil exprese FVIII u hemofilie A. Dle použití kodónu vysoce exprimovaných lidských genů se reorganizovala cDNA divokého typu lidského FVIII. Další zábranou byla velikost genu FVIII, který byl příliš velký na zabalení do virového vektoru AAV. Řešením bylo odstranění FVIII B-domény, která je pro kofaktorovou aktivitu postradatelná. Tím se až 10× zlepšila exprese lidského faktoru [66, 67].

Pro hemofilii A se u první klinické studie použil pseudotypový vektor AAV sérotypu 5. Výsledky vypadaly velice slibně a vykazovaly střední hladiny faktoru po 1 roce. Dlouhodobé sledování pacientů ale ukázalo výrazné snížení exprese hladiny FVIII po 3 letech v porovnání s výsledky po roce. V jiné studii byly využity nižší dávky AAV5 a pacienti dosáhli exprese FVIII v ustáleném stavu po 8 až 27 týdnech s nezaznamenaným poklesem FVIII po 2 letech. Tento výzkum dosáhl dostatečnou prevenci krvácivých epizod bez nutnosti profylaxe. Využití AAV6–B prokázalo za 24 týdnů hladinu FVIII v normálním rozmezí bez krvácivých příhod. Po roce sledování se nic nezměnilo, ale individuální údaje některých pacientů vykazují pokles v čase [67, 68].

V této době je pořád omezený počet pozorování genové terapie pro hemofilii A. Zatím je mezi různými studiemi i v rámci dávkování vysoká variabilita a výsledky nejsou jednotné. Na rozdíl od hemofilie B je pravděpodobné, že exprese FVIII klesá v průběhu času po přenosu genu. Důvod, proč tomu tak je, je zatím nejasný. Roli může hrát nadměrná velikost transgenu FVIII [66, 68].

8.5.3 Nežádoucí aspekty

S podáním AAV cíleným na játra je spojeno riziko vzniku jaterní toxicity, která může způsobit ztrátu nebo snížení exprese transgenu. Zvýšené hladiny transferáz lze snadno udržet v normě krátkou léčbou kortikosteroidy nebo kombinací s jinými

imunopresivními látkami bez známek pozdní recidivy. Tuto toxicitu nebylo možné znovu opakovat na zvířecím modelu a tím je její patofyziologický základ nejasný. Stejně tak i proč je zvýšená hladina transferáz omezena jen na počáteční období přenosu genu a neobjevuje se znovu po určité době [67, 68].

Mezi další překážky genové terapie hemofilie se řadí tvorba anti-AAV protilátek typu IgG. Dlouhotrvající AAV kapsidově specifickou humorální imunitu si vyvinuli všichni jedinci ve výzkumu. Zvýšené hladiny protilátek nemají přímé klinické důsledky. Avšak úspěšný genový transfer vektorem může být ohrožen přetrvávajícími protilátkami ve vysokých titrech [66, 68].

Po přenosu genu zprostředkovaného AAV bylo posouzeno riziko mutagenese jako nízké. Přesto v játrech může vzácně dojít k integraci genomu AAV, kterou potvrdila studie hlubokého sekvenování. Výzkum byl nedávno schopný najít u vzorku lidského hepatocelulárního karcinomu fragmenty genomu AAV2 integrované v blízkosti jeho proonkogenů. Studie na zvířecím modelu ale potvrzuje vzácný výskyt spojení AAV s karcinomem. Nicméně, by lékař měl vždy posoudit všechna pacientova rizika vzniku nádorů a přídatných anamnéz, než se zahájí genová terapie [66, 68].

9 Život s hemofilií

Hodnocení kvality života dětí a dospělých hemofiliků zahrnuje změny ve fyzickém, emocionálním i sociálním vývoji. S pokroky v léčbě se výrazně zlepšila kvalita a délka jejich života. Snižít frekvence krvácení u pacientů s hemofilií se podařilo profylaktickou léčbou ve formě pravidelných infuzí koncentrátů FVIII nebo FIX. Poškození kloubů spojené s krvácením však samotná profylaxe zabránit nedokáže. Další její nevýhoda je již zmiňovaná invazivní intravenózní infuze několikrát do týdne [69–71].

Nejčastějšími obavami pacientů s hemofilií jsou vysoké náklady na léčbu a důsledky arropatie kloubů. S bolestí a postižením souvisí chronický stres a následná deprese nebo úzkosti. Bolest, která vzniká opakujícím se krvácením do kloubů, pacienti popisují jako intenzivní, hroznou, otravnou a nesnesitelnou. Chronickou bolestí trpí zejména ti, kteří neměli přístup v raném věku k substitučnímu faktoru nebo k profylaxi [71, 72].

Vzhledem ke své nemoci se dospělí s těžkou formou hemofilie snaží v běžném životě chovat opatrně a předcházet případným zraněním. Je to z důvodu těžkého krvácení, které zajisté hemofilici s těžkou formou prodělali v minulosti a jsou plně obeznámeni s komplikacemi i z vlastní zkušenosti. Větší část pacientů s mírnou či střední formou je bez rodinné anamnézy a jsou diagnostikováni později v životě. Bez ohledu na mírné příznaky se tito pacienti dopouští menší opatrnosti a pozornosti ke zranění. Výsledkem tohoto chování může být nezaléčené zranění, které vede k dalším nepříjemným komplikacím v dospělosti. S rostoucím věkem se bohužel obecně vyskytuje nedostatek pozornosti nebo bagatelizace nemoci. Tento postoj může poté vést i k problémům s dodržováním léčby [71, 73].

Zásadní pro dosažení účinnosti je také dobré spojení s ošetřujícími zdravotnickými pracovníky. Hlavním cílem je důvěrný vztah, porozumění a motivace pacienta ze stran zdravotníků. Kýženým výsledkem je otevřená komunikace pacienta o jakýchkoliv potížích. Pacient by měl být poučen o přínosech i obtížích profylaktické léčby, aby nedošlo k jeho ztrátě motivace. Poradenství od zdravotníků by mělo zahrnovat aspekty, jako je spokojenost pacienta i jeho emoční potřeby [71].

Dalším stresorem pro hemofilika je neadaptační reakce rodiny nebo jejich pocit bezmoci. Naopak u většiny pacientů je jejich rodina velký zdroj materiální i emocionální podpory. Aktivně a adaptivně se s nemocí vyrovnat může jedinci pomoci právě rodina, která má v kvalitě jeho života významnou roli. Kvalitu života zejména dětských hemofiliků

negativně ovlivňuje až přehnaná ochrana rodiny. Konzultace se zdravotníky ohledně těchto témat by měla být pro rodinu pacienta nabídnuta [71, 74].

Hmotnost je jedna z dalších důležitých proměnných. Rizikové faktory pro rozvoj a progresi kloubních problémů je právě nadváha a obezita hemofiliků. Aby nedošlo ke zhoršení stavu nosných kloubů, je potřeba u pacientů s hemofilií udržovat váhu v normálním rozmezí [69].

Kvůli riziku krvácení se až do 70. let minulého století u hemofiliků nedoporučovaly fyzické a sportovní aktivity. Nyní jsou sportovní aktivity považovány za prospěšné, a dokonce tvoří součást léčby. U dospělých i dětí s hemofilií mají totiž tyto aktivity pozitivní vliv na vnímání kvality života. Dále zlepšují sociální a psychologické aspekty a podporují lepší celkové zdraví [69, 75].

10 Světová hemofilická federace

Na celém světě se diagnóza a léčba hemofilie výrazně liší. V zemích s méně rozvinutou zdravotnickou infrastrukturou chybí základní znalosti o nemoci a dostatečná kapacita pro diagnostiku a léčbu hemofilie. Odlišnost zemí se také odráží od jejich sociálně-ekonomického statusu. Více rozvinuté země se pro získávání hlubších poznatků o nemoci musí mezi sebou porovnávat. Tento způsob slouží ke snadné obhajobě pokročilých úrovní péče a léčby hemofilie. Tyto poznatky sbírá a porovnává právě Světová hemofilická federace [76].

Světová hemofilická federace (WFH) byla založena 25. června 1963 s cílem vytvořit mezinárodní hemofilickou organizaci. Tato organizace se zavázala zlepšit péči o lidi s poruchami krvácení bez ohledu na to, kde žijí. Prostřednictvím výměny informací z různých zemí se vyvinuly úspěšné programy a aktivity pro sdílení znalostí. Organizace zařídila i školení pro zlepšení diagnostiky a léčby v rozvojových zemích. Dále WFH sleduje a podporuje bezpečnost a dodávky používaných léčiv. Od svého vzniku pořádá WFH světové kongresy. Vznikla tak globální síť poskytovatelů zdravotní péče a národních hemofilických asociací. V průběhu let se tento kongres vyvinul na největší světové setkání, které se věnuje poruchám krvácení. Během posledních 60 let nastal obrovský pokrok v léčbě hemofilie a WFH v tomto pokroku sehrála klíčovou roli [77, 78].

11 Hemofilie v České republice

V současné době je v České republice registrováno okolo 1 066 pacientů s hemofilií. Hemofilii A má přibližně 930 osob a hemofilii B 136 osob. Vzniklá hemofilická centra zajišťují komplexní péči o dětské i dospělé pacienty. Kritéria Světové hemofilické federace pro tyto centra splňují v Praze, Brně a Ostravě. Již od 70. let minulého století se začala v Brně zajišťovat systematická péče pro pacienty s hemofilií neboli brněnská hemofilická škola. Od jejího založení tam hemofilici dostávají správnou léčbu, ale také se tam vyvíjí a zlepšuje laboratorní diagnostika nemoci. Odpovídající centra pro léčbu hemofilie se objevují i v některých krajských nemocnicích. Léčba pacientů v České republice ale není v každé nemocnici dostupná. Chybí jim buď erudovaný hematolog, který by měl dostatečné znalosti a zkušenosti s léčbou, nebo je důvodem jejich nedostatek krevních derivátů k léčbě [79, 80].

Léčba pacientů se v Česku hradí ze zdravotního pojištění pacienta. Pro představu v roce 2019 zaplatila Všeobecná zdravotní pojišťovna 25 852 918 Kč za léčbu pouze jednoho pacienta s hemofilií z Ústeckého kraje. Celkem za rok 2019 pojišťovna zaplatila 282 597 953 Kč za léčbu dvaceti pacientů. V roce 2021 Všeobecná zdravotní pojišťovna zaplatila v průměru 560 000 Kč za léčbu hemofilie pro jednoho pacienta. Dle závažnosti onemocnění pacientů se výrazně liší částky, které pojišťovny ročně uhradí. Pravidelné statistiky pojišťoven potvrzují, že léčba hemofilie patří mezi ty nejdražší [81, 82].

11.1 Český národní hemofilický program

Cílem tohoto celostátního programu je zlepšovat úroveň péče o pacienty s hemofilií. Díky dostupnosti různorodé léčby a zdokonalování laboratorní diagnostiky došlo během posledních 20 let k významnému pokroku. Zdravotnická zařízení dle Českého národního hemofilického programu musí splňovat určitá kritéria na personál, technický materiál a organizaci. V České republice jsou tři stupně péče: nejvyšší, střední a nižší. Odborné společnosti a zdravotní pojišťovny mají plný dohled nad plněním těchto kritérií zdravotnickými zařízeními, která status obhájila [83].

12 Kazuistika č. 1

První kazuistika [84] pojednává o chlapci, který se narodil roku 2013 ve východní Ukrajině ve městě Izyum. Jeho matka je zdráva, ale je možné, že je přenašečka hemofilie A. Sama nikdy nepodstoupila DNA vyšetření a ani nezná svou hladinu FVIII. Informace o svojí straně rodiny poskytnout nemůže, jelikož byla v dětství umístěna do dětského domova a odtamtud byla adoptována. Svě rodiče ani další pokrevní příbuzné nezná. Otec je zdrav. Sourozence chlapec nemá.

Do roka věku neměl chlapec žádné krvácivé projevy, pouze občasné drobné modřiny. V roce 2014 byl poprvé hospitalizován v nemocnici v Charkově kvůli febrilii. V tu dobu se mu objevil větší hematom v oblasti pravé hýždě a byl výrazně anemický. Z tohoto důvodu dostal transfuzi.

O dva měsíce později byl vyšetřen v nemocnici v Kyjevě, kde mu byla potvrzena těžká forma hemofilie A s hladinou FVIII 2 % bez přítomnosti inhibitorů. Od března 2015 do května 2018 dojížděl do Lvova, kde dostával 500 jednotek plazmatického koncentráту FVIII Gena v rámci studie 2× týdně. Od května 2018 byl sledován v Izyumi a 1× ročně v Charkově, kdy začal dostávat koncentrát Immunate střídavě s Elmoclote 2× týdně 500 j. Při potížích mu bylo doporučeno dávku koncentrátů zvýšit na 1 000 j. Jeho rodiče nebyli v aplikaci koncentráту zaučeni a preparát tedy aplikovala sestra z domácí péče.

Do roku 2020 krvácel občas z nosu, ale krvácení se zastavilo cca do 5 minut. Dále si v průběhu jednou stěžoval na bolest levé dolní končetiny, která byla bez jasného krvácení a bez otoku kloubů. Celkem 14 dní dostával zvýšenou dávku 1 000 j. koncentráту Immunate 2× denně a jeho stav se zlepšil. Do této doby ani nepodstoupil žádnou operaci ani neměl žádný úraz.

V dubnu 2022 při válečném konfliktu na Ukrajině uprchl s rodiči do Čech, konkrétně do Mostu. S sebou si přivezl zásobu koncentráту Immunate v chladícím zařízení, která měla vydržet cca na tři měsíce. Tentýž měsíc začal krváčet do pravého lýtka. Byl hospitalizován v nemocnici v Ústí nad Labem a plně substituován. Po propuštění pokračovala substituce ambulantně v nemocnici v Mostě 3× týdně 1 000 j. koncentrátem Immunate a jeho stav se zlepšil.

V červnu 2022 byl z koncentráту Immunate převeden na koncentrát Elocta. Matka byla zaučena v aplikaci léku a nyní ho podává sama v domácím prostředí bez další asistence.

Při akutním krvácení byla doporučena aplikace koncentrátu Elocta v dávce 500–1 750 j. dle místa a tíže krvácení v intervalu 8–12–24 hodin. Tím by se měla dosáhnout hladina FVIII na 30–100 %.

12.1 Vyšetření

Tabulka 2 zobrazuje hodnoty vyšetření koagulace a hladiny FVIII před podání koncentrátu Elocta 1 000 j. a po jeho podání.

Tabulka 2: Výsledky vyšetření před a po podání koncentrátu Elocta (kazuistika 1)

Čas po aplikaci	APTT	APTT-R	PT	Hladina faktoru FVIII
72 hodin	73,9	2,35	11,70	2,4 %
1 hodina	38,5	1,23	12,30	68,6 %

V květnu 2022 byl chlapec na DNA vyšetření mutace genu pro FVIII v Praze. Byla mu metodou LD-PCR prokázána homozygotní přítomnost inverze v intronu 22, která odpovídá fenotypu pacienta.

Chlapcově matce bylo doporučeno provedení stejných vyšetření.

13 Kazuistika č. 2

Chlapec narozen v roce 2008 [84] byl diagnostikován a sledován pro těžkou formu hemofilie A bez inhibitorů od roku 2009. Jeho matka je potvrzená přenašečka hemofilie A. Obecná spolupráce s chlapcovou rodinou je ale problematická.

Zpočátku měl chlapec pouze slizniční krvácení, na které byl sledován na klinice dětské hematologie a onkologie nemocnice Motol.

Krvácení do pravého kolenního kloubu začalo v říjnu 2016 a postupně se rozvinulo v arthropatii. Substituce po dobu potíží byla nedostatečná. Poté krvácel nejspíše 2× do pravého kotníku a 1× do levého kotníku. Chlapec se nedostavil na plánovanou kontrolu do nemocnice v Motole a byl vyšetřen až v lednu roku 2017. Od té doby bylo přesunuto sledování a profylaktická léčba na hematologii nemocnice v Ústí nad Labem na žádost matky.

V nemocnici v Ústí nad Labem byl poprvé vyšetřen v březnu roku 2017, kdy měl chlapec otok kolenního kloubu a čerstvé krvácení do pravého loketního kloubu. Byla zahájena léčba koncentrátem Kogenate on demand a poté profylaxe 3× týdně 500 j.

V říjnu 2018 se u chlapce znovu objevilo krvácení do pravého loketního kloubu a byl zaměněn koncentrát Kogenate za Kovaltry.

Rodiče chlapce i po poučení o léčbě stále nespolupracovali. V říjnu 2019 chlapec spadl a začal krváčet do pravého bedrokyčelního svalu. Rodiče s sebou potřebnou substituci neměli a tím chlapec nemohl dostat bezprostřední léčbu. Důsledkem byla hospitalizace v nemocnici a léčba 27 500 j. koncentrátu Kovaltry. Po propuštění chlapec docházel na další aplikaci 1 500 j. Kovaltry 3× týdně.

V roce 2022 se jeho profylaktická léčba změnila na koncentrát Elocta 2 000 j. střídavě s 1 500 j. 2× týdně, kterou si chlapec aplikuje sám.

Při akutním krvácení se doporučila aplikace koncentrátu Elocta v dávce 1 000–3 000 j. v intervalu 8–12–24 hodin dle lokace a tíže krvácení.

13.1 Vyšetření

Tabulka 3 obsahuje údaje koagulačního vyšetření a hladiny FVIII před a po aplikaci 1 500 j. koncentrátu Elocta.

Tabulka 3: Výsledky vyšetření před a po podání koncentrátu Elocta (kazuistika 2)

Čas po aplikaci	APTT	APTT-R	PT	Hladina faktoru FVIII
96 hodin	73,1	2,33	11,40	2,1 %
72 hodin	66,9	2,13	11,70	3,5 %
30 minut	37,3	1,19	11,50	65,0 %

DNA vyšetření mutace genu chlapec podstoupil již v nemocnici v Motole s pozitivním výsledkem.

14 Kazuistika č. 3

Jedná se o muže narozeném v roce 1985 [84] s těžkou formou hemofilie A. Je sledován na hematologii nemocnice v Ústí nad Labem. Jeho strýc je také hemofilik a jeho matka je potvrzená přenašečka hemofilie A.

V minulosti měl krvácivé epizody především do loktů, kotníku a pravého ramene. Tyto epizody se děly během proxylaxe s nižší dávkou. Muži se poté vyvinula hemofilická artropatie pravého kotníku i pravého ramene.

Od července 2020 se muži změnila profylaktická léčba na preparát s prodlouženým účinkem, konkrétně na koncentrát Adenovi 2 000 j. 2× týdně. Ten byl u muže úspěšný a míra krvácivých epizod se u něj zmenšila.

Krvácení se znovu objevilo v květnu 2022 do levého lokte. Muž si sám dle doporučení aplikoval zvýšené dávky koncentráту Adynovi a byl pod lékařským dohledem.

Muž byl v roce 2021 zařazen do studie ADYNOVI, kdy v průběhu s lékařem vyplňuje odborné dotazníky a vede si deník.

14.1 Vyšetření

Tabulka 4 zobrazuje hodnoty vyšetření koagulace a hladiny FVIII před podání koncentráту Adynovi 2 000 j. a po jeho podání.

Tabulka 4: Výsledky vyšetření před a po podání koncentráту Adynovi (kazuistika 3)

Čas po aplikaci	APTT	APTT-R	PT	Hladina faktoru FVIII
96 hodin	98,6	3,14	11,10	0,5 %
3 hodiny	38,1	1,22	12,10	65,5 %

Závěr

Tato bakalářská práce pojednává o poruše srážení krve zvané hemofilie. Cílem bylo seznámení s rozdíly mezi typy hemofilie, dále s formou diagnostiky a možnostmi léčby.

Úvod práce pojednává o rozsáhlé historii hemofilie, která sahá až do 2. století našeho letopočtu. Do povědomí veřejnosti se dostala ve 20. století, kdy se zjistilo, že právě tímto onemocněním byla postižena britská královská rodina. V té době byl vývoj léčby hemofilie teprve na začátku a hemofilici umírali již ve svém raném dětství na banální zranění.

V práci jsou zachyceny všechny typy hemofilie, které se odlišují defektem jiného srážecího faktoru. Nejčastěji se u pacientů vyskytuje hemofilie A, v populaci činí až 1:5 000 případů. Hemofilie B je vzácnější a činí výskyt v populaci 1:30 000. Získané formy hemofilií jsou způsobeny vznikem autoprotilátek vůči danému faktoru. Vznik autoprotilátek je ve většině případů indukovaný těhotenstvím, nebo jiným autoimunitním či nádorovým onemocněním. Klinické příznaky hemofilie jsou u všech typů podobné. Nejjobávanějším je intrakraniální krvácení a rozvoj artropatie nosných kloubů.

Včasná a správná diagnostika hraje významnou roli v hemofilii. Jedná se o testy srážení krve, které jsou většinou dobře dostupné. Dále se provádí stanovení hladiny srážecích faktorů, které je již při nízkých hladinách alarmující. Diagnózu ale potvrzuje hlavně genetická analýza, která potvrdí mutaci genu srážecího faktoru. Pokud se zjistí, že matka nenarozeného dítěte je přenašečka tohoto onemocnění, dělá se i prenatální diagnostika plodu. Nejlepší možné potvrzení hemofilie je v raném dětství dítěte, aby se mohlo předejít případným komplikacím v dospělosti.

Hemofilie je zatím nevyléčitelné onemocnění, které většinou zasahuje do života v podstatě ihned po narození. Léčba krvácení zastavuje, ale hlavně se snaží mu předcházet. Bohužel zatím nedokáže krvácivé stavy zcela eliminovat, ale místo toho, aby nemocný krvácel několikrát do měsíce, má jen několik krvácivých stavů za rok. Nevýhodou jsou intravenózní infuze, které jsou pro pacienta nepříjemné v tak častém intervalu. Na substituční léčbu může pacient reagovat rozvinem protilátek proti podávaným faktorům. Tento fakt blokuje tuto formu léčby a pacient musí přejít na jiný způsob terapie. Naštěstí dnešní doba nabízí i nefaktorovou substituční léčbu. Ta je nejen účinná, ale mnohem pohodlnější pro pacienty s rozvinutými protilátkami i bez nich. Její výhodou je hlavně prodloužený interval podání, kdy se pacientovy podává například jen

jednou za měsíc. Další výhodou je její subkutánní podání namísto intravenózního. Významný pokrok ve výzkumu učinila genová terapie. Bylo prokázáno, že již po několika málo dávkách této terapie pacienti neměli krvácivé epizody v řádu několika let. Výzkum je, ale pořád v procesu a terapie se musí ještě zdokonalit. Genová terapie je vyhlídka na lepší budoucnost v léčbě hemofilie. Léčba hemofilie se stále vyvíjí dopředu a postupně se i snižují její ekonomické náklady.

Kvalita života hemofiliků se rapidně zlepšila. Je důležité, aby pacienti dodržovali zdravý životní styl a předcházeli případným zraněním.

Seznam použitých zdrojů

- [1] SCHRAMM, W. The history of hemophilia - a short review. *Thrombosis research* [online]. 2014, **134**(1), 4-9.
- [2] KAADAN, A. N. a M. ANGRINI. Who discovered hemophilia?. *International Society for the History of Islamic Medicine* [online]. 2010, 8-9. Dostupné z: https://www.academia.edu/1952510/Who_discovered_hemophilia?
- [3] RAABE, M. *Hemophilia: Genes and disease*. New York: Infobase Publishing, 2008. ISBN 978-0-7910-9648-2.
- [4] MCKUSICK, V. A. The royal hemophilia. *Scientific American* [online]. 1965, **213**(2), 88-95.
- [5] ŠLECHTOVÁ, J. Hemostáza-jak ji možná neznáme. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2007, **15.36**(2), 97-101.
- [6] BROOS, K a KOLEKTIV. Platelets at work in primary hemostasis. *Blood Reviews* [online]. 2011, **25**(4), 155-167.
- [7] PENKA, M., TESAŘOVÁ, E. a KOLEKTIV. *Hematologie a transfuzní lékařství I*. Praha: Grada Publishing, 2011. ISBN 978-80-247-7192-2.
- [8] DAHLBÄCK, B. Blood coagulation. *The Lancet* [online]. 2000, **355**(9215), 1627-1632.
- [9] CHAPIN, J. C. a K. A. HAJJAR. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Reviews* [online]. 2015, **29**(1), 17-24.
- [10] INDRÁK, K. a KOLEKTIV. *Hematologie*. Praha: TRITON, 2006. ISBN 80-7254-868-9.
- [11] MASSIMO, F. a P. M. MANNUCCI. Hemophilia A in the third millennium. *Blood Reviews* [online]. 2013, **27**(4), 179-184.
- [12] MANSOURITORGHABEH, H. Clinical and Laboratory Approaches to Hemophilia A. *Iranian Journal of Medical Sciences* [online]. 2015, **40**(3), 194-205.
- [13] MAZZUCCONI, M.G., E. BALDACCI, A. FERRETTI a C. SANTORO. Acquired Haemophilia A: An Intriguing Disease. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* [online]. 2020, **12**(1).
- [14] KESSLER, C. M. a P. KNÖBL. Acquired haemophilia: an overview for clinical practice. *European Journal of Haematology* [online]. 2015, **95**(81), 36-44.

- [15] SMEJKAL, P., A. BULÍKOVÁ, G. CHLUPOVÁ a J. ZAVŘELOVÁ. Získaná hemofilie A. *Vnitřní lék* [online]. 2012, **58**(7-8), 571-578.
- [16] DEWARRAT, N., M. GAVILLET, A. ANGELILLO-SCHERRER, O. NAVEIRAS, F. GRANDONI, D. A. TSAKIRIS, L. ALBERIO a S. BLUM. Acquired haemophilia A in the postpartum and risk of relapse in subsequent pregnancies: A systematic literature review. *The Official Journal of the World Federation of Hemophilia* [online]. 2021, **27**(2), 199-210.
- [17] TENGBORN, L., F. BAUDO, H. KÜHNE, P. KNOEBL, H. LÉVASQUE, P. MARCO, F. PELLEGRINI, L. NEMES a P. COLLINS. Pregnancy-associated acquired haemophilia A: results from the European Acquired Haemophilia (EACH2) registry. *Bjog: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* [online]. 2012, **119**(12), 1529-1537.
- [18] NAPOLITANO, M., S. SIRAGUSA, S. MANCUSO a C. M. KESSLER. Acquired haemophilia in cancer: A systematic and critical literature review. *Haemophilia* [online]. 2017, **24**(1), 43-56.
- [19] KRAŠEK, V., A. KOTNIK, H. ZAVRTANIK, J. KLEN a S. ZVER. Acquired haemophilia in patients with malignant disease: A case report. *World Journal of Clinical Cases* [online]. 2021, **9**(10), 2409-2418.
- [20] FAVALORO, E. F., L. PASALIC a G. LIPPI. Autoimmune Diseases Affecting Hemostasis: A Narrative Review. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, **23**(23), 14715.
- [21] PATEL, R. S., K. E. HARMAN, C. NICHOLS, R. M. BURD a S. PAVORD. Acquired haemophilia heralded by bleeding into the oral mucosa in a patient with bullous pemphigoid, rheumatoid arthritis, and vitiligo. *Postgraduate Medical Journal* [online]. 2006, **82**(963).
- [22] SHEN, P., J. LI, S. TU, G. CHEN a Ch. CHEN. Acquired hemophilia A in a woman with systemic lupus erythematosus. *Medicine* [online]. 2020, **99**(43).
- [23] GHOZLANI, I., A. MOUNACH, M. GHAZI, A. KHERRAB a R. NIAMANE. Targeting Acquired Hemophilia A with Rheumatoid Arthritis by a Rituximab Shot: A Case Report and Review of the Literature. *American Journal of Case Reports* [online]. 2018, **19**, 582-588.
- [24] SIDAROUS, G. K., A. M. ROY a A. SASAPU. Acquired Hemophilia A in a Patient With Multiple Sclerosis. *The Permanente Journal* [online]. 2022, **26**(2), 153-157.

- [25] CASTAMAN, G. a D. MATINO. Hemophilia A and B: molecular and clinical similarities and differences. *Haematologica* [online]. 2019, **104**(9), 1702-1709.
- [26] DOLAN, G., G. BENSON, A. DUFFY, et al. Haemophilia B: Where are we now and what does the future hold?. *Blood Reviews* [online]. 2018, **32**(1), 52-62.
- [27] STABER, J., S. E. CROTEAU, J. DAVIS, E. F. GRABOWSKI, P. KOUIDES a R. F. SIDONIO JR. The spectrum of bleeding in women and girls with haemophilia B. *Haemophilia* [online]. 2017, **24**(2), 180-185.
- [28] GANDHI, J., K. C. MCLEAN, K. GERNANDER a Ch. E. HOLMES. Pregnancy outcomes in female carriers of haemophilia B Leyden. *British Journal of Haematology* [online]. 2020, **190**(4), 261-264.
- [29] AHMED, S. Z., M. O'ROURKE, V. JENKINS, I. REGAN a B. NOLAN. Progressive increase in FIX level in males with haemophilia B Leyden and c.35G > A mutation in early childhood not related to androgen effect. *British Journal of Haematology* [online]. 2020, **189**(6), 262-265 [cit. 2023-03-22].
- [30] ESCOBAR, M. N. A., J. M. V. VALERO, P. A. AZNAR, et al. A new case of acquired haemophilia B in the context of liver autoimmune disease. *Trombosis Research* [online]. 2022, **209**(1), 5-7.
- [31] PÁRAMO, L., L. J. E. OLIVERA, I. NORENA, M. A. AMAYA a J. C. SANTACRUZ. First Case of Acquired Hemophilia B in a Patient with HIV Infection: Case Report and Literature Review. *Cureus* [online]. 2019, **11**(3), 4179.
- [32] BERGSTROM, K., A. STEVENS, L. SRIVATHS, J. ECONOMIDES a D. L. YEE. Haemophilia B acquired from liver transplantation: a case report and literature review. *Haemophilia* [online]. 2015, **21**(4), 328-330.
- [33] GOMIDE, L. M. S., V. WEIHERMANN, I. C. DE OLIVEIRA, et al. Hemophilia B acquired after cadaveric liver transplantation: a case report. *Journal of Surgical Case Reports* [online]. 2022. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jscr/article/2022/9/rjac393/6691899>
- [34] JAYAKRISHNAN, T., D. SHAH a P. MEWAWALLA. Hemophilia C: A Case Report With Updates on Diagnosis and Management of a Rare Bleeding Disorder. *Journal of Hematology* [online]. 2019, **8**(3), 144-147.
- [35] LEWANDOWSKA, M. D. a J. M. CONNORS. Factor XI Deficiency. *Hematology/Oncology Clinics of North America* [online]. 2021, **35**(6), 1157-1169.

- [36] DHAHA, Y., W. E. BORGI, H. ELMAHMOUDI, M. ACHOUR, S. F. SALEM, F. B. LAKHAL, B. MEDDEB a E. GOUIDER. Factor XI deficiency: About 20 cases and literature review. *Journal of the Tunisian Society of Medical Sciences* [online]. 2022, **100**(1), 20-25.
- [37] SRIVASTAVA, A. Diagnosis of haemophilia and other inherited bleeding disorders – Is a new paradigm needed?. *Haemophilia* [online]. 2020, **27**(3), 14-20.
- [38] BOWYER, A. E., E. M. DUNCAN a J. P. ANTOVIC. Role of chromogenic assays in haemophilia A and B diagnosis. *Haemophilia* [online]. 2018, **24**(4), 578-583.
- [39] PEYVANDI, F., I. GARAGIOLA a G. YOUNG. The past and future of haemophilia: diagnosis, treatments, and its complications. *The Lancet* [online]. 2016, **388**(10040), 187-197.
- [40] MÜLLER, J. a KOLEKTIV. An Update on Laboratory Diagnostics in Haemophilia A and B. *Hamostaseologie* [online]. 2022, **42**(4), 248-260.
- [41] TRIPODI, A., R. C. SANTORO, S. TESTA, et al. Position paper on laboratory testing for patients with haemophilia. A consensus document from Siset, AICE, SIBioC and SIPMeL. *Blood Transfusion* [online]. 2019, **17**(3), 229-236.
- [42] MILLER, C. H. Laboratory testing for factor VIII and IX inhibitors in haemophilia: A review. *Haemophilia* [online]. 2018, **24**(2), 186-197.
- [43] SWYSTUN, L. L. a P. D. JAMES. Genetic diagnosis in hemophilia and von Willebrand disease. *Blood Reviews* [online]. 2017, **31**(1), 47-56.
- [44] PEZESHKPOOR, B., J. OLDENBURG a A. PAVLOVA. Insights into the Molecular Genetic of Hemophilia A and Hemophilia B: The Relevance of Genetic Testing in Routine Clinical Practice. *Hamostaseologie* [online]. 2022, **42**(6), 390-399.
- [45] MANNUCCI, P. M. a M. FRANCHINI. Present and future challenges in the treatment of haemophilia: a clinician's perspective. *Blood Transfusion* [online]. 2013, **11**(4), 77-81.
- [46] TOMEO, F., S. MARIZ, A. L. BRUNETTA, V. STOYANOVA-BENINSKA, K. PENTTILA a A. MARGELLI. Haemophilia, state of the art and new therapeutic opportunities, a regulatory perspective. *British Journal of Clinical Pharmacology* [online]. 2021, **87**(11), 4183-4196.
- [47] OSOOLI, M. a E. BERNTORP. Inhibitors in haemophilia: what have we learned from registries? A systematic review. *Journal of Internal Medicine* [online]. 2014, **277**(1), 1-15.

- [48] LJUNG, R., G. AUERSWALD, G. BENSON, et al. Inhibitors in haemophilia A and B: Management of bleeds, inhibitor eradication and strategies for difficult-to-treat patients. *European Journal of Haematology* [online]. 2019, **102**(2), 111-122.
- [49] BERNTORP, E. Immune tolerance induction in development. *Blood* [online]. 2023, **141**(16), 1901-1902.
- [50] SCHEP, S. J., R. E. G. SCHUTGENS, K. FISCHER a M. L. BOES. Review of immune tolerance induction in hemophilia A. *Blood Reviews* [online]. 2018, **32**(4), 326-338.
- [51] SCHEP, S. J., R. E. G. SCHUTGENS, K. FISCHER, J. VOORBERG a M. BOES. Role of Regulatory Cells in Immune Tolerance Induction in Hemophilia A. *Hemasphere* [online]. 2021, **5**(5), 557.
- [52] ASTERMARK, J., K. HOLSTEIN, Y. L. ABAJAS, et al. The B-Natural study—The outcome of immune tolerance induction therapy in patients with severe haemophilia B. *Haemophilia* [online]. 2021, **27**(5), 802-813.
- [53] ATHALE, A. H., M. MARCUCCI a A. IORIO. Immune tolerance induction for treating inhibitors in people with congenital haemophilia A or B. *Cochrane Library* [online]. 2014, **2014**(4).
- [54] KEMPTON, Ch. L. a S. L. MEEKS. Toward optimal therapy for inhibitors in hemophilia. *Blood* [online]. 2014, **124**(23), 3365-3372.
- [55] SHAPIRO, A. D., I. S. MITCHELL a S. NASR. The future of bypassing agents for hemophilia with inhibitors in the era of novel agents. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* [online]. 2018, **16**(12), 2362-2374.
- [56] JU, H. Y., H. L. JANG a Y. S. PARK. The efficacy of bypassing agents in surgery of hemophilia patients with inhibitors. *Blood Research* [online]. 2015, **50**(3), 173-178.
- [57] CARPENTER, S. L., K. KHAIR, A. GRINGERI a L. A. VALENTINO. Prophylactic bypassing agent use before and during immune tolerance induction in patients with haemophilia A and inhibitors to FVIII. *Haemophilia* [online]. 2018, **24**(4), 570-577.
- [58] FASSEL, H. a C. MCGUINN. Haemophilia: factoring in new therapies. *British Journal of Haematology* [online]. 2021, **194**(5), 835-850.
- [59] OKAYGOUN, D., D. D. OLIVEIRA, S. SOMAN a R. WILLIAMS. Advances in the management of haemophilia: emerging treatments an their mechanisms. *Journal of Biomedical Science* [online]. 2021, **28**(64).

- [60] SHIMA, M. a R. F. SIDONIO JR. Substitution therapy. *Haemophilia* [online]. 2020, **27**(3), 53-59.
- [61] SWAN, D., J. MAHLANGU a J. THACHIL. Non-factor therapies for bleeding disorders: A primer for general haematologist. *EJHaem* [online]. 2022, **3**(3), 584-595.
- [62] PASI, K. J., T. LISSITCHKOV, V. MAMONOV, et al. Targeting of antithrombin in hemophilia A or B with investigational siRNA therapeutic fitusiran—Results of the phase 1 inhibitor cohort. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* [online]. 2021, **19**(6), 1436-1446.
- [63] PASCA, S. Concizumab as a Subcutaneous Prophylactic Treatment Option for Patients with Hemophilia A or B: A Review of the Evidence and Patient's Perspectives. *Journal of Blood Medicine* [online]. 2022, **13**, 191-199.
- [64] SHAPIRO, A. D., P. ANGCHAIKUSIRI, J. ASTERMARK, et al. Long-term efficacy and safety of subcutaneous concizumab prophylaxis in hemophilia A and hemophilia A/B with inhibitors. *Blood Advances* [online]. 2022, **6**(11), 3422-3432.
- [65] POLDERDIJK, S. G. I., T. P. BAGLIN a J. A. HUNTINGTON. Targeting activated protein C to treat hemophilia. *Current Opinion in Hematology* [online]. 2017, **24**(5), 446-452.
- [66] NATHWANI, A. C. Gene therapy do hemophilia. *Hematology: The American Society of Hematology Education Program* [online]. 2022, **2022**(1), 569-578.
- [67] LEEBEEK, F. W. G. a W. MIESBACH. Gene therapy for hemophilia: a review on clinical benefit, limitations, and remaining issues. *Blood* [online]. 2021, **138**(11), 923-931.
- [68] PERRIN, G. Q., R. W. HERZOG a D. M. MARKUSIC. Update on clinical gene therapy for hemophilia. *Blood* [online]. 2019, **133**(5), 407-414.
- [69] CUESTA BARRIUSO, R., A. TORRES ORTUNO, S. PÉREZ ALENDA, J. JOSÉ CARRASCO, F. QUEROL a J. NIETA MUNUERA. Sporting Activities and Quality of Life in Children With Hemophilia: An Observational Study. *Pediatric Physical Therapy* [online]. 2016, **28**(4), 453-459.
- [70] BUCHBINDER, D. a M. V. RAGNI. What is the role of prophylaxis in the improvement of health-related quality of life of patients with hemophilia?. *Hematology: American Society of Hematology Education Program* [online]. 2013, **2013**(1), 52-55.

- [71] TORRES ORTUNO, A., R. CID SABATEL, J. BARBERO a M. GARCÍA DASÍ. Life experience of the adult and ageing patient with haemophilia. Practical aspects for psychological support. *Vox Sanguinis* [online]. 2017, **112**(4), 301-309.
- [72] RAMBOD, M., F. SHARIF, Z. MOLAZEM, K. KHAIR a S. VON MACKENSEN. Health-Related Quality of Life and Psychological Aspects of Adults With Hemophilia in Iran. *Clinical and Applied Trombosis/Hemostasis* [online]. 2018, **24**(7), 1073-1081.
- [73] PETRINI, P. Identifying and overcoming barriers to prophylaxis in the management of haemophilia. *Haemophilia* [online]. 2007, **13**(2), 16-22.
- [74] GOLDSTEIN, G. a G. KENET. The impact of chronic disease on the family. *Haemophilia* [online]. 2002, **8**(3), 461-465.
- [75] VON MACKENSEN, S. Quality of life and sports activities in patients with haemophilia. *Haemophilia* [online]. 2007, **13**(2), 38-43.
- [76] STONEBRAKER, J. S., P. H. B. BOLTON MAGGS, M. BROOKER, et al. The World Federation of Hemophilia Annual Global Survey 1999-2018. *Haemophilia* [online]. 2020, **26**(4), 591-600.
- [77] SKINNER, M. W. a E. MYLES. World Federation of Hemophilia: 50 years of advancing treatment for all. *Haemophilia* [online]. 2013, **19**(4), 475-480.
- [78] SKINNER, M. W. WFH: Closing the global gap-achieving optimal care. *Haemophilia* [online]. 2012, **18**(4), 1-12.
- [79] PENKA, M., J. BLATNÝ, M. MATÝŠKOVÁ, P. SMEJKAL a E. TESAŘOVÁ. Hemofilie z pohledu vývoje zajištění péče o nemocné. *Vnitřní Lék* [online]. 2009, **55**(1), 48-51.
- [80] Hemofilie v České republice. *Hemofilie* [online] c2023. Dostupné z: <https://www.hemofilie.cz/o-hemofilii>.
- [81] Nejdražší byla léčba hemofilie. Vloni stála VZP u jednoho pacienta přes 25 milionů korun. *Všeobecná pojišťovna České republiky* [online]. 2020. Dostupné z: <https://www.vzp.cz/o-nas/aktuality/nejdrazsi-byla-lecba-hemofilie-vloni-stala-vzp-u-jednoho-pacienta-pres-25-milionu-korun>.
- [82] VZP loni zaplatila v průměru 560 tisíc Kč za léčbu jednoho hemofilika, výjimkou ale nejsou částky v řádu milionů. *Všeobecná pojišťovna České republiky* [online]. 2022. Dostupné z: <https://www.vzp.cz/o-nas/aktuality/vzp-loni-zaplatila-v-prumeru-560-tisic-kc-za-lecibu-jednoho-hemofilika-vyjimkou-ale-nejsou-castky-v-radu-milionu>.

- [83] Deklarace. *Český národní hemofilický program* [online]. 2012. Dostupné z: https://www.cnhp.cz/res/file/deklarace/cnhp-deklarace_2014-04_deklarace.pdf.
- [84] Podklady poskytnuty vedoucí hematologické laboratoře Ing. Pavlou Bradáčovou z Masarykovi nemocnice v Ústí nad Labem.