

**VILNIAUS UNIVERSITETAS  
MEDICINOS FAKULTETAS**

Baigiamasis darbas

**Igimtos paveldimos ir spontaninės hemofilijos A diagnostika: klinikiniai ir laboratoriniai  
ypatumai**

**Diagnosis of Inherited and Spontaneous Hemophilia A: Clinical and Laboratory Features**

**Kristina Valterytė** VI kursas, 8 gr.

**Klinikinės medicinos instituto Vaikų ligų klinika**

Darbo vadovas

Asist. dr. Sonata Šaulytė Trakymienė

Klinikos vadovas

Prof. dr. Augustina Jankauskienė

2022-05-20

kristina.valteryte@mf.stud.vu.lt

## TURINYS

SANTRAUKA.....	3
SUMMARY.....	5
SANTRUMPOS .....	6
ĮVADAS .....	7
DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI .....	8
TIRIAMIEJI IR TYRIMO METODAI .....	9
REZULTATAI .....	10
DISKUSIJA .....	16
TYRIMO TRŪKUMAI IR PRIVALUMAI.....	19
IŠVADOS .....	20
SUNKIOS HEMOFILIJOS A DIAGNOSTIKOS YPATUMAI IR PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS .....	21
LITERATŪROS ŠALTINIAI .....	22

## SANTRAUKA

**Darbo autorius:** Kristina Valterytė. **Darbo vadovas:** asist. dr. Sonata Šaulytė Trakymienė.  
**Darbo pavadinimas:** Įgimtos paveldimos ir spontaninės sunkios hemofilijos A diagnostika: klinikiniai ir laboratoriniai ypatumai.

**Darbo tikslas.** Išanalizuoti naujų sunkios hemofilijos A atvejų dažnį, klinikinę bei laboratorinę diagnostiką ir palyginti spontaninių ir šeiminių atvejų klinikinius ir laboratorinius diagnostikos ypatumus.

**Metodika.** Retrospektyviai išanalizuoti duomenys pacientų, kuriems 2007 – 2021 m. Vilniaus Universiteto ligoninėje Santaros klinikose (VULSK) Vaikų ligoninėje diagnozuota sunki hemofilija A. Atlikta statistinė 21 paciento duomenų analizė, į tyrimą įtraukti su hemofilija susiję kraujavimo simptomų ir šeiminės anamnezės duomenys, bei hemofilijos diagnostikai reikšmingų laboratorinių tyrimų rezultatai.

**Rezultatai.** Sunkios hemofilijos A dažnis yra 1,4 atvejo per metus arba 21 atvejis per 15 metų. 66,7% tiriamųjų turėjo teigiamą šeiminę hemofilijos anamnezę, 33,3% – spontaniniai atvejai. Esant teigiamai šeiminei anamnezei, hemofilijos A diagnozė vidutiniškai nustatyta 6,02 mėn.  $\pm 1,40$  amžiaus vaikams, tuo tarpu, pacientams, kurių giminėje nėra sergančiųjų hemofilija A, diagnozė nustatyta 12,14 mėn.  $\pm 4,67$  amžiaus. Abiems pacientų grupėms būdingi panašūs klinikiniai kraujavimo simptomai: užsitęsęs kraujavimas po kraujo paėmimo iš piršto ar kitų nedidelių medicininių intervencijų, pradėjus ropoti ir vaikščioti kūdikiams atsirado ekchimozės, skausmingos hematomos ant galūnių. Atlikus kraujo tyrimus, spontaniniais atvejais nustatyta mažesnė hemoglobino koncentracija ir mažesnis trombocitų skaičius. Visiems pacientams skirtas profilaktinis hemofilijos A gydymas. Vidutiniškai kraujavimų profilaktika pradėta skirti 15,29 mėn.  $\pm 13,83$  amžiaus vaikams. Pacientams, turintiems paveldimą anamnezę profilaktinis gydymas pradėtas anksčiau. Vienam iš 3 gydytų pacientų išsivystė FVIII inhibitoriai – dažniausia gydymo komplikacija. Atlikus genetinę ištyrimą, nustatyta, kad dažniausia mutacija, lemianti sunkią hemofilijos A formą yra introno 22 inversija F8 gene. Ištirta 18 iš 21 pacientų mamų, siekiant nustatyti, ar jos yra geno, lemiančio susirgimą hemofilija A, nešiotojos. Nustatyta, kad visos tirtos mamos yra geno nešiotojos.

**Išvados.** Spontaninė sunki hemofilija A sudaro 1/3 įgimtos sunkios hemofilijos atvejų. Spontaninės hemofilijos A klinikinė išraiška nesiskiria nuo paveldėtos: tiek spontaninės, tiek paveldėtos hemofilijos kraujavimo simptomatika iš karto po gimimo pasireiškia labai retai. Visų sunkios hemofilijos atvejų reikšminga kraujavimo simptomatika išryškėja per pirmus 12 kūdikio gyvenimo mėnesių, o klinikinį įtarimą patvirtina reikšmingai pakitę atrankiniai krešėjimo tyrimai. Spontaninės hemofilijos genetinės mutacijos nesiskyrė nuo paveldėtos hemofilijos. Nepaisant to, kad spontaninės hemofilijos klinikinė išraiška nesiskiria nuo paveldėtos, spontaninė hemofilija

diagnozuojama dvigubai vėliau. Kraujavimų profilaktika sergant spontanine sunkia hemofilija A pradedama ženkliai vėliau nei sergant paveldima įgimta sunkia hemofilija A. Hemofilijos A, dažniausios įgimtos paveldimos ir spontaninės koaguliopatijos, diagnozė neįmanoma suaugusiojo amžiuje dėl ženklaus kraujavimo fenotipo, nustatomo kūdikystėje. Šį klinikinį fenotipą visada patvirtina ženkliai pakitę krešėjimo tyrimai. Ir atvirkščiai, tai patvirtina, kad prailgėjęs ADTL, vertinant paciento kraujavimo riziką, yra informatyvus, kai yra teigiama paciento kraujavimo anamnezė.

**RAKTAŽODŽIAI:** hemofilija A, VIII krešėjimo faktorius, paveldima hemofilija A, spontaninė hemofilija A, kraujavimas.

## SUMMARY

**Author:** Kristina Valterytė. **Scientific supervisor:** asist. dr. Sonata Šaulytė Trakymienė.  
**Title:** Congenital Hereditary and Spontaneous Haemophilia A diagnostics: Clinical and Laboratory features.

**Aim.** To analyze the frequency, clinical and laboratory features of new cases of severe haemophilia A and to compare clinical and laboratory diagnostic features of spontaneous cases with hereditary cases.

**Results.** The incidence of severe haemophilia A is 1.4 cases per year or 21 cases per 15 years. 66.7% of subjects had a positive family history of haemophilia and 33.3% were spontaneous cases. With a positive family history, the mean diagnosis of haemophilia A was 6.02 months  $\pm$ 1.40. Patients without family history of haemophilia A were diagnosed at 12.14 months  $\pm$ 4.67 old. Both groups of patients had similar clinical symptoms of bleeding: prolonged bleeding after drawing blood from a finger or other minor medical interventions, ecchymosis, and painful hematomas startend to appear on the extremities when babies start crawling and walking. Blood tests have shown lower hemoglobin levels and lower platelet counts in spontaneous cases. All patiens received prophylactic treatment of haemophilia A. On average, prophylactic treatment was started at 15.29 months 13.83 old children. In patients with a hereditary history, prophylactic treatment was initiated earlier than in spontaneous cases. One in 3 treated patients developed FVIII inhibitors, which is the most common treatment complication. All patients underwent genetic testing and were identified for mutations in the F8 gene. The most common is the inversion of intron 22 in the F8 gene. The mothers of 18 of the 21 patients were tested to see if they were carrying the gene that causes hemophilia A. All mothers tested were found to be carriers of the gene.

**Conclusions.** Spontaneous severe haemophilia A accounts for 1/3 of congenital severe haemophilia. The clinical manifestations of spontaneous haemophilia A do not differ from those of hereditary haemophilia: symptoms of bleeding immediately after birth are very rare in both spontaneous and hereditary haemophilia. In all cases of severe haemophilia, significant bleeding symptoms occur within the first 12 months of the infant's life, and clinical suspicion is confirmed by significantly altered selective coagulation laboratoty tests. Genetic mutations in spontaneous hemophilia did not differ from inherited hemophilia. Although the clinical manifestations of spontaneous hemophilia do not differ from those inherited, spontaneous hemophilia is diagnosed twice as late. Treatment in patients with spontaneous severe haemophilia A is initiated significantly later than inherited severe haemophilia A. Diagnosis of haemophilia A, the most common congenital and spontaneous coagulopathy, is not possible in adulthood due to a significant bleeding phenotype. This clinical phenotype is always confirmed by significantly altered coagulation studies. Conversely,

this confirms that prolonged APPT is informative in assessing a patient's bleeding history when assessing a patient's risk of bleeding.

KEYWORDS: haemophilia A, VIII clotting factor, hereditary haemophilia A, spontaneous haemophilia A, bleeding.

#### SANTRUMPOS

VUSLK – Vilniaus Universiteto Santaros klinikos

FVIII – VIII kraujo plazmos krešėjimo faktorius

HgB – hemoglobinas

PLT – trombocitai

ADTL – aktyvinto dalinio tromboplastino laikas

SPA – protrombino laikas (angl. *Stago prothrombin assay*)

vWF – von Willebrand'o faktorius

## ĮVADAS

Hemofilija A yra dažniausias su X chromosoma susijęs įgimtas krešėjimo sutrikimas (1). Jis atsiranda dėl mutacijų genuose, koduojančiuose VIII krešėjimo faktorių. Sergamumas hemofilija A yra 1 iš 5000 gyvų vyriškos lyties naujagimių (2). Hemofilija A pagal endogeninį kraujo plazmos VIII krešėjimo faktoriaus (FVIII) aktyvumo lygį yra skirstoma į tris sunkumo formas: lengvą – FVIII aktyvumo lygis  $>5$  ir  $<40\%$ , vidutinio sunkumo – FVIII aktyvumo lygis tarp 1 ir 5% ir sunkią – FVIII aktyvumo lygis  $<1\%$ . 4 iš 10 sergančiųjų hemofilija serga sunkia šios ligos forma (3). Pacientams, sergantiems lengva arba vidutinio sunkumo hemofilijos A forma retai pasireiškia spontaniniai kraujavimai, dažniausiai – po traumų ar invazinių procedūrų. Pacientams, sergantiems sunkia hemofilijos A forma, būdingi spontaniniai kraujavimai, dažniausiai į sąnarius, raumenis ar minkštuosius audinius. Spontaniniai kraujavimai įvyksta be jokios aiškios priežasties, todėl kraujavimo epizodo neįmanoma iš anksto numatyti ir dėl to gali būti uždelstas jo gydymas. Hemofilijos A diagnostika susideda iš asmeninės ir šeiminės kraujavimo anamnezės vertinimo bei laboratorinių tyrimų rezultatų. Esant teigiamai šeiminei hemofilijos anamnezei, hemofilijos diagnozė gali būti labai ankstyva, tuoj pat po gimimo. Esant sunkiai spontaninei hemofilijai, diagnozė gali būti pavėluota, o paciento kraujavimo rizika per vėlai įvertinta tik atlikus atrankinius krešėjimo tyrimus. Duomenų apie natūralią sunkios hemofilijos A ligos eigą iki diagnozės nustatymo nėra daug (4). Šie duomenys ypač svarbūs pirminėje sveikatos priežiūros grandyje norint įtarti hemofiliją, ypač spontanine, t.y. esant neigiamai šeimos anamnezei. Mūsų hipotezė, kad atrankiniai krešėjimo tyrimai, ypač priešoperaciniame laikotarpyje, dažniausiai atliekami baiminantis praleisti sunkias įgimtas krešėjimo patologijas, ypač tokias kaip spontanine hemofilija, kartais yra nepagrįsti. Šiame darbe nagrinėsiu įgimtos paveldimos sunkios hemofilijos, kurią lengva diagnozuoti esant teigiamai šeiminei anamnezei, ir spontaninei sunkios hemofilijos A diagnostiką – klinikinius ir laboratorinius ypatumus.

## DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Darbo tikslas: išanalizuoti naujų sunkios hemofilijos A atvejų dažnį, klinikinę bei laboratorinę diagnostiką ir palyginti spontaninių ir šeiminių atvejų klinikinius ir laboratorinius diagnostikos ypatumus.

Darbo uždaviniai:

1. Nustatyti sunkios spontaninės hemofilijos A dažnį.
2. Įvertinti ir palyginti klinikinius, laboratorinius ir genetinius požymius sergant spontanine ir paveldima hemofilija A.
3. Nustatyti ir palyginti diagnozės laiką sergant spontanine ir paveldima hemofilija A.
4. Įvertinti ir palyginti gydymo pradžią sergant spontanine ir paveldima hemofilija A.
5. Parengti praktinę išvadą ir praktines rekomendacijas.



## TIRIAMIEJI IR TYRIMO METODAI

Retrospektyviai išanalizuoti pacientai, kuriems 2007 – 2021 m. Vilniaus Universiteto ligoninėje Santaros klinikose (VULSK) Vaikų ligoninėje diagnozuota sunki hemofilija A. Tyrimui atlikti buvo gautas Bioetikos komiteto leidimas, Nr. 2022/5-1436-908.

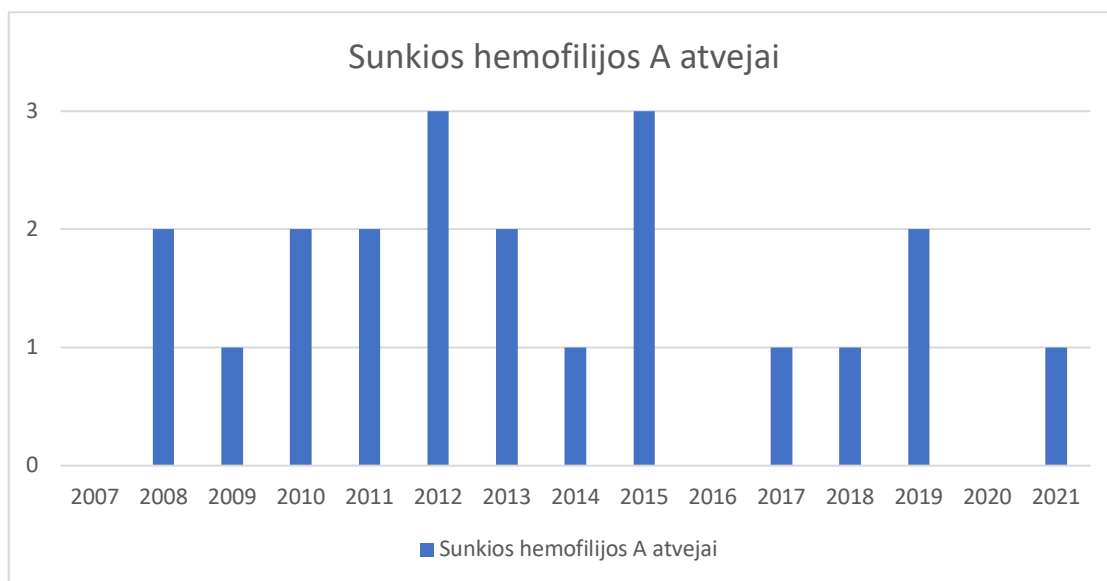
Įtraukimo į tyrimą kriterijai: amžius (nuo gimimo iki 18 m.), pacientui VULSK Vaikų ligoninėje, remiantis laboratoriniais tyrimais patvirtinta sunkios hemofilijos A diagnozė (krešėjimo faktoriaus FVIII koncentracija kraujo serume nustatyta  $\leq 1\%$ ), vyriška lytis. Analizei atrinkti duomenys: pacientų amžius, kai atsirado pirmieji hemofilijos simptomai; amžius, kai nustatyta sunkios hemofilijos A diagnozė; kraujavimo simptomatika naujagimystės periodu (nuo gimimo iki 1 mėn. amžiaus); kraujavimo simptomatika kūdikystės periodu (nuo 1 mėn. iki 12 mėn. amžiaus); F8 geno genetinė mutacija; paveldima šeiminė anamnezė; kada pradėta skirti kraujavimų profilaktika; inhibitorių prieš FVIII išsivystymas; gydymas (pakaitinė faktorių terapija, nefaktorių terapija); paciento mama (sveika ar FVIII geno mutacijos nešioja). Analizei naudoti laboratorinių tyrimų rezultatai - iš bendraklinikinio kraujo tyrimo: hemoglobinas (Hgb), trombocitų skaičius (PLT); iš biocheminių kraujo tyrimų: aktyvinto dalinio tromboplastino laikas (ADTL), protrombino laikas (SPA), fibrinogeno koncentracija, VIII krešėjimo faktoriaus koncentracija kraujo plazmoje (FVIII), von Willebrando faktorius kraujo plazmoje (vWF:Ag). Analizei atrinkti pacientų duomenys padalinti į dvi grupes: pirmoji – pacientai, turintys paveldimą šeiminingą hemofilijos anamnezę, antroji – pacientai, neturintys paveldimos šeiminingos hemofilijos anamnezės, t.y. spontaniškos mutacija. Tarpusavyje lyginami šių dviejų grupių klinikiniai ir laboratoriniai parametrai.

Surinkti duomenys buvo sukaupiti duomenų bazėje *Microsoft Excel*. Statistinė analizė atlikta statistikos programų paketu IBM SPSS (*Statistical package for Social sciences*) programos 27 versija. Kiekybiniais duomenimis aprašyti naudota mediana, maksimali ir minimali reikšmės, kokybiniai duomenys aprašyti pateikiant procentinę dalį.

## REZULTATAI

### Tiriamųjų charakteristika

Į tyrimo analizę įtraukti 21 paciento duomenys. Tiriamųjų amžius svyravo nuo 7 dienų iki 39 mėn., kai amžiaus vidurkis – 9,35 mėn.±8,29. Sunkios hemofilijos A diagnozės dažnis 1,4 atvejo per metus arba 21 atvejis per 15 metų. Naujų atvejų skaičius svyravo nuo 0 iki 3 per metus (1 pav.).



1 paveikslas. Sunkios hemofilijos A atvejai VULSK 2007-2021 m.

### Paveldima šeiminių anamnezė

Pagal tai, ar pacientas turi teigiamą paveldimą hemofilijos šeiminių anamnezę, ar neturi, pacientai buvo suskirstyti į 2 grupes. 14 pacientų turėjo teigiamą paveldimą šeiminių anamnezę, t.y. jų giminėje buvo nustatytas ir patvirtintas bent vienas hemofilijos A atvejis, 7 pacientai neturėjo paveldimos šeiminių anamnezės (1 lentelė) – šiems pacientams nustatyta spontanišė F8 geno mutacija.

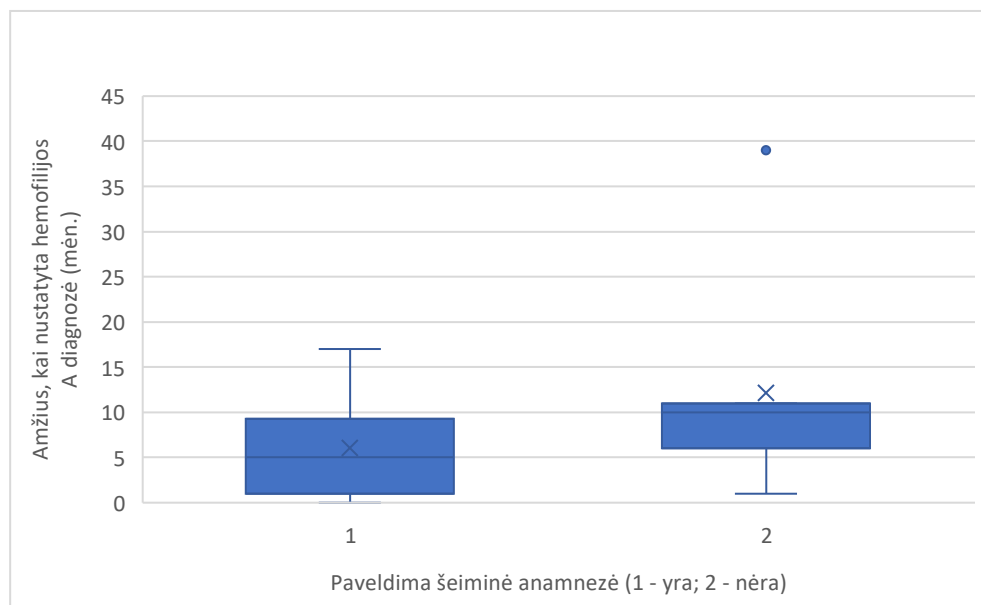
1 lentelė. Paveldima šeiminių anamnezė

	Dažnis	Procentinė išraiška
Yra	14	66.7%
Nėra	7	33.3%
Iš viso	21	100.0%

### Diagnozės laikas

Amžiaus, kai nustatyta hemofilijos A diagnozė, sunki forma, mediana – 7,0 mėn., vidurkis – 8,06 mėn. ±8,52. Anksčiausiai diagnozė nustatyta iš karto po gimimo, vėliausiai – 39 mėn. amžiaus

pacientui. 80,95% pacientų sunki hemofilija A buvo diagnozuota per pirmuosius 12 gyvenimo mėnesių. Lyginant pacientus su teigiama paveldima šeimine anamneze ir spontaninius atvejus nustatyta, kad esant teigiamai šeiminei anamnezei, hemofilijos A diagnozė vidutiniškai nustatoma 6,02 mėn.  $\pm 1,40$  amžiaus vaikams, tuo tarpu, vaikams, kurių giminėje nėra sergančiųjų hemofilija A, diagnozė nustatyta 12,14 mėn.  $\pm 4,67$  amžiaus (2 pav.).



2 paveikslas. Hemofilijos A diagnozės laikas

### Klinikiniai požymiai, sergant spontanine ir paveldima hemofilija A

Pacientų amžiaus mediana, kai atsirado pirmieji kraujavimo simptomai – 4,0 mėn., vidurkis – 4,58 mėn.  $\pm 3,84$ . Anksčiausiai simptomai atsirado netrukus po gimimo (n = 3, vienas atvejis – spontaninė sunki hemofilija A), vėliausiai – 14 mėn. amžiaus. Penkiems pacientams (23,8%) kraujavimo simptomai pasireiškė naujagimystės laikotarpiu. Klinikiniai kraujavimo požymiai: kraujavimas po vakcinos (n = 2), užsitęsęs kraujavimas po kraujo mėginio paėmimo iš piršto/venos (n = 4), vaikams pradėjus šliaužioti atsirado ekchimozės ir/ar skausmingos hematomos ant odos, minkštųjų audinių galūnių, liemens srityje (n = 10), hemartrozės (n = 1), sutrikusi sąnario fleksija ir ekstenzija (n = 1). Nė vienam iš 21 analizuoto paciento nebuvo pasireiškęs gyvybei grėsmingas (intrakranijinis) kraujavimas.

Išanalizavus duomenis pastebėta, kad nėra vyraujančio klinikinio simptomo, kuris būtų būdingesnis pacientams, sergantiems paveldima ar spontanine sunkia hemofilija A.

### Laboratoriniai tyrimai

Tiriamieji padalinti į dvi grupes: pirmoji – pacientai, turintys paveldimą šeiminių hemofilijos anamnezę, antroji – pacientai, neturintys paveldimos šeiminių hemofilijos anamnezės. Laboratorinių

kraujo tyrimų (bendraklinikinio kraujo tyrimo, biocheminių kraujo tyrimų ir krešėjimo tyrimų) rezultatai pateikti 2 – oje lentelėje. ADTL (aktyvinto dalinio tromboplastino laiko), pagrindinio atrankinio diagnostinio tyrimo rezultatai ženkliai nesiskiria tarp tiriamųjų grupių. Matyti tendencija, kad pacientams, turintiems paveldimą šeiminingą anamnezę būdinga didesnė hemoglobino koncentracija ir didesnis trombocitų kiekis kraujyje. Taip pat būdingas didesnis SPA (protrombino laikas), mažesnė fibrinogeno koncentracija. vWF:Ag reikšmės negalima palyginti tarp grupių, kadangi didžiajai daliai pacientų, neturinčių paveldimos šeiminingos anamnezės, šis tyrimas nebuvo atliktas.

2 lentelė. Laboratoriniai kraujo tyrimai, sergančiųjų paveldima ir spontanine sunkia hemofilija A

	<b>Yra paveldima šeimininga anamnezė, n=14</b>	<b>Nėra paveldimos šeiminingos anamnezės, n=7</b>
<b>HgB (g/l)</b> <b>norma: 110-130 g/l</b>	Vidurkis: 109,57 ±17,43	Vidurkis: 96,0 ±22,49
	Mediana: 111,50	Mediana: 107,00
	Min: 70	Min: 64
	Max: 136	Max: 119
<b>PLT (x 10<sup>9</sup>/l)</b> <b>norma: 140-450 x 10<sup>9</sup>/l</b>	Vidurkis: 439,29 ±116,25	Vidurkis: 329,57 ±115,32
	Mediana: 412,50	Mediana: 341,00
	Min: 253	Min: 94
	Max: 624	Max: 442
<b>ADTL (s)</b> <b>norma: 1-12 mėn. – 35,1-46,3 s; 1-5 metų – 33,6-43,8 s</b>	Vidurkis: 112,5 ±16,44	Vidurkis: 109,243 ±25,62
	Mediana: 111,85	Mediana: 104,70
	Min: 87,5	Min: 73,9
	Max: 137,1	Max: 158,0
<b>SPA (%)</b> <b>norma: 70-130%</b>	Vidurkis: 88,44 ±13,27	Vidurkis: 77,29 ±13,31
	Mediana: 90,0	Mediana: 71,0
	Min: 61	Min: 60
	Max: 106	Max: 98
<b>Fibrinogenas (g/l)</b> <b>norma: 2-4 g/l</b>	Vidurkis: 2,72 ±0,63	Vidurkis: 2,98 ±0,45
	Mediana: 2,70	Mediana: 3,10
	Min: 2	Min: 2,44

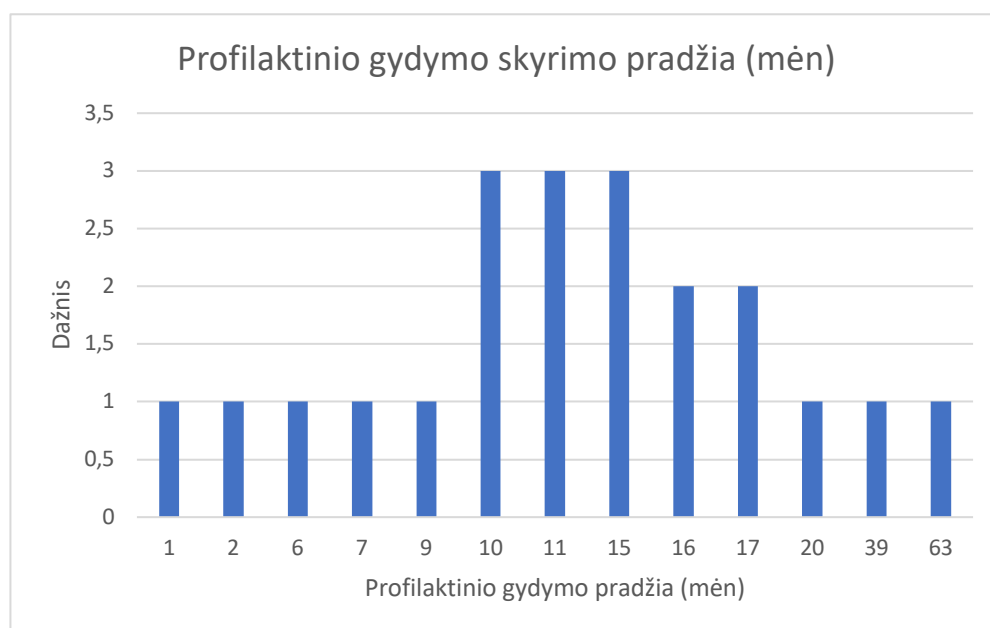
	Max: 4	Max: 3,41
<b>FVIII (%)</b>	Vidurkis: 0,5 ±0,52	Vidurkis: 0,71 ±0,76
<b>norma:</b>	Mediana: 0,5	Mediana: 1,0
<b>1-12 mėn. –54-145%;</b>	Min: 0	Min: 0
<b>1-5 metų – 36-185%</b>	Max: 1	Max: 2
<b>vWF:Ag (%)</b>	Vidurkis: 71,12 ±6,456	Vidurkis: ND
<b>norma: 50-160%</b>	Mediana: 69,0	Mediana: ND
	Min: 65	Min: ND
	Max: 82	Max: ND

### Gydymas

Vidutinis tiriamųjų amžius, kai pradėta skirti kraujavimų profilaktika – 15,29 mėn. ±13,83. Anksčiausiai – 1 mėn, vėliausiai – 63 mėn. Didžiajai daliai pacientų (n = 16) profilaktinis gydymas pradėtas skirti nuo 10 gyvenimo mėnesio ir vėliau (3 pav.). 13 pacientų (61,9%) gydyti pakaitiniu krešėjimo faktoriumi, 8 pacientai (38,1%) gavo profilaktinį hemofilijos A gydymą nefaktorių terapija (3 lentelė). Pacientams, turintiems paveldimą šeiminių anamnezę, profilaktinis gydymas pradėtas 11,36 mėn. ±4,48 amžiaus, tuo tarpu pacientams, neturintiems paveldimos šeiminių anamnezės – 23,14 mėn. ±21,11 amžiaus. Matomas statistiškai reikšmingas skirtumas – pacientams, turintiems paveldimą šeiminių anamnezę profilaktinis gydymas pradėtas anksčiau, nei spontaniniams atvejams.

3 lentelė. Gydymo pasirinkimas.

	Dažnis	Procentinė išraiška
Faktorius	13	61.9%
Ne faktorius	8	38.1%
Iš viso	21	100.0%



3 paveikslas. Profilaktinio gydymo skyrimo pradžia

### Gydymo komplikacijos

Trečdaliui pacientų išsivystė pagrindinė ir sunkiausia hemofilijos komplikacija – inhibitoriai (n =7), dviem trečdaliams (n =14) – neišsivystė (4 lentelė).

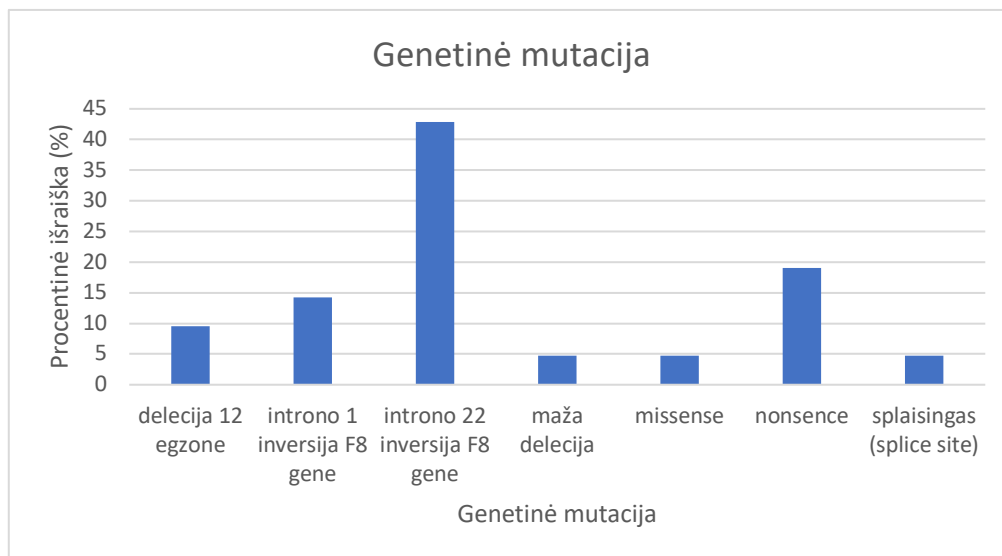
4 lentelė. Inhibitorių prieš FVIII išsivystymas.

	Dažnis	Procentinė išraiška
Išsivystė	7	33.3
Neišsivystė	14	66.7
Total	21	100.0

### Genetiniai pakitimai

Visiems tiriamiesiems buvo atliktas genetinis ištyrimas. Dažniausiai nustatyta faktoriaus 8 geno (F8) mutacija – introno 22 inversija F8 gene (n =9) 42,9% tiriamųjų, antra pagal dažnį – *nonsense* (n =4) 19%, introno 1 inversija F8 gene (n =3) 14,3%, delecija 12 egzone (n =2) 9,5% ir po 1 atvejį (4,8%) maža delecija, *missense*, *splice site* (4 pav.). Spontaniniais atvejais nustatytos genetinės mutacijos: introno 22 inversija F8 gene (n =6) ir vienam pacientui – *splice site*. 6 iš 7 (85%) spontaninių atvejų nustatyta introno 22 inversija F8 gene. Genetinių pakitimų sąryšis su paveldimos šeiminės anamnezės buvimu nerastas. Pastebėta, kad iš visų pacientų (n =7), kuriems išsivystė

inhibitoriai prieš plazmos FVIII, keturiems buvo nustatyta introno 22 inversija F8 gene, likusiems nustatytos *nonsense* ir *missense* mutacijos.



4 paveikslas. Tiriamųjų genetiniai pakitimai

Siekiant išsiaiškinti, ar genetinė mutacija yra paveldėta iš mamos, ar yra įvykusi spontaniškai, buvo atlikti genetiniai tyrimai mamoms, vaikų, sergančių sunkia hemofilija A. Ištyrus pacientų mamas, nustatyta, kad didžioji dalis mamų yra F8 geno mutacijos nešiotojos: n = 18 (85,7%) – geno nešiotija, n = 3 (14,3%) – netirta. Nesant teigiamos šeiminės anamnezės (n = 7), iš tirtų mamų n = 5 (71,43%) geno nešiotojos, n = 2 (28,57%) – netirtos. Genetinių mutacijų analizė rodo, kad didžiosios dalies berniukų, sergančių sunkia spontanine hemofilija A, mamos yra F8 geno nešiotojos (5 lentelė).

5 lentelė. Paciento mamos geno, lemiančio susirgimą hemofilija A, nešiotojos statusas

	Dažnis	Procentinė išraiška
Geno nešiotija	18	85.7%
Netirta	3	14.3%
Iš viso	21	100.0%

## DISKUSIJA

Retrospektyvinė sunkios hemofilijos atvejų per 15 metų VULSK analizė parodė, kad trečdali visų sergančiųjų sunkia hemofilija A sudaro spontaniniai atvejai. Tai tokie pacientai, kurių šeimos nariai neserga hemofilija A. Hemofilijos A atsiradimą šiems pacientams sąlygoja sporadinės arba spontaninės F8 geno mutacijos. Tai atitinka kitose populiacijose nurodomą spontaninių mutacijų dažnį apie 1/3 visų atvejų, kai giminėję nėra buvę hemofilijos atvejų (5,6).

Pacientams, turintiems teigiamą šeiminių hemofilijos anamnezę ši liga yra diagnozuojama anksčiau, lyginant su spontaniniais atvejais. Hemofilijos A diagnozės laikas priklauso ne tik nuo to, ar atvejis šeiminis, ar spontaninis, tačiau ir nuo ligos sunkumo. Sunki hemofilijos A forma diagnozuojama anksčiausiai – per pirmus 2 gyvenimo metus, vidutinio sunkumo forma – per pirmus 5-6 gyvenimo metus, lengva forma gali būti nepastebėta iki 3-4 gyvenimo dešimtmečio (7). Lyginant paveldimus ir spontaninius ligos atvejus, diagnostikos laikas taip pat reikšmingai skiriasi: hemofilija diagnozuojama vidutiniškai 0,4 mėn. amžiaus naujagimiams, jei jų broliams yra diagnozuota hemofilija, ir diagnostikos laikas yra 10,1 mėn., jei tai yra *de novo* hemofilijos atvejis (8). Tokia pati tendencija stebėta ir mūsų analizėje, kai esant teigiamai šeiminei hemofilijos A anamnezei, ši liga buvo diagnozuota vidutiniškai 6,02 mėn. amžiaus vaikams, o spontaniniai sunkios hemofilijos A atvejai diagnozuoti 6 mėn. vėliau – 12,14 mėn. amžiaus pacientams.

Tiek pacientams, turintiems šeiminių hemofilijos anamnezę, tiek neturintiems, būdingi panašūs klinikiniai simptomai – jatrogeninės kilmės kraujavimai, tokie kaip: ilgėsnis nei įprastai kraujavimas po vakcinacijos, kraujavimas po kraujo mėginio paėmimo iš piršto; taip pat ekchimozės, skausmingos hematomos galūnėse, ypač kūdikiams pradėjus ropoti, šliaužioti. Nustatyta, kad nėra konkretaus kraujavimo simptomo, kuris būtų būdingesnis vienai ar kitai pacientų grupei.

Pagrindinė priežastis, dėl kurios sunki hemofilijos A forma yra diagnozuojama kūdikystėje ar ankstyvoje vaikystėje, yra labai išreikšti klinikiniai kraujavimo simptomai. Sunkiai hemofilijos A formai būdingi kraujavimai, pasireiškiantys savaime – spontaniškai, t.y. neišprovokuoti traumos ar medicininės intervencijos. Rečiau pasireiškia naujagimiams, bet labai dažnai kūdikiams pradėjus daugiau judėti – ropoti, vaikščioti atsiranda ekchimozės, hemoragijos ant kojų ir rankų, skausmingos ir kietos minkštųjų audinių hematomos, kurias tėvai pastebi ir kreipiasi į gydymo įstaigą. Nuo 15 iki 33% pacientų su įgimtais kraujavimo sutrikimais kraujavimo simptomai pasireiškia naujagimystės periodu (4). Mūsų atlikto tyrimo duomenimis – 23,8% pacientų kraujavimas pasireiškė naujagimystės periodu. Išskirtinis simptomas, būdingas būtent sunkiai hemofilijai A yra kraujavimas į sąnarius, tačiau jis nėra labai būdingas kūdikiams. Mūsų analizė parodė, kad hemartrozė pasireiškė tik vienam pacientui iki diagnozės nustatymo – 14 mėnesių amžiaus. Pirmąjį kraujavimą į sąnarį patyrusių pacientų, sergančių sunkia hemofilijos A forma, amžiaus mediana kitų tyrimų duomenimis yra 18



mėnesių (9). Dažniausiai intrasąnarinis kraujavimas pasireiškia čiurnos, alkūnės ir kelio sąnariuose. Pasikartojantys kraujavimai į sąnarius indukuoja uždegiminius ir degeneracinius procesus, pažeidžiančius sinoviją, kremzlę ir kaulą. Geležis, su krauju patekusi į sąnarinį tarpą, skatina uždegimą ir neovaskuliarizaciją. Sąnaryje formuojasi naujos trapios kraujagyslės, kurios lengvai pradeda kraujuoti. Tokiu būdu formuojasi procesų ciklas ir sąnarys yra nuolat vis smarkiau pažeidžiamas. Galutinis rezultatas – sunkios hemofilijos A sukelta artropatija, kuri pacientams sukelia nuolatinį skausmą, sąnarių judesių amplitudės sumažėjimą, raumenų atrofiją ir gyvenimo kokybės suprastėjimą (10).

Išskiriami gyvybei grėsmingi kraujavimai – kraujavimas į *musculus iliopsoas* (1) ir intrakranijinės hemoragijos (11). Tokie kraujavimai dažniausiai pasireiškia pacientams, kuriems dar nėra skiriamas profilaktinis gydymas krešėjimo faktoriais (1). Ilgalakis neurologinis pažeidimas ir mirtis yra grėsmingiausios intrakranijinio kraujavimo pasekmės (9). Intrakranijinių hemoragijų dažnis yra 6% ir rizika didėja iki 9 mėn., vyresnio amžiaus vaikams rizikos nebedidėja (11). Tai, kad intrakranijinių hemoragijų rizika kūdikiams didėja, o vaikams stabilizuojasi, galima susieti su profilaktinio hemofilijos gydymo skyrimo pradžia. Pradėjus skirti profilaktinį gydymą, sumažėja ne tik gyvybei grėsmingų kraujavimų dažnis, bet rečiau pasireiškia ir hemartrozės, minkštųjų audinių hemoragijos. Remiantis atlikto tyrimo rezultatais, įdomu, kad nė vienam iš 21 paciento nebuvo nustatytas gyvybei grėsmingas (intrakranijinis) kraujavimas, nors tik keturiems pacientams iki 9 gyvenimo mėnesio buvo pradėtas skirti profilaktinis gydymas. 2/3 pacientų turėjo teigiamą šeiminių hemofilijos anamnezę, dėl to pacientai galėjo būti labiau stebimi ir saugomi nuo susižalojimų ir buitinių traumų ir, galimai, todėl nepasireiškė gyvybei grėsmingi kraujavimai.

Pacientams, sergantiems sunkia hemofilijos A forma, būdingi spontaniai, užsitęsę kraujavimai. Gali pasireikšti 2-5 spontaniai kraujavimo epizodai per mėnesį. Esant pasikartojančiam kraujo netekimui, pacientams vystosi anemija, dėl FVIII trūkumo ženkliai prailgėja laikas, per kurį organizmas sugeba sustabdyti prasidėjusį kraujavimą. Atlikus biocheminį kraujo tyrimą tai patvirtina didesnis nei normalus ADTL, o bendraklinikinio kraujo tyrimo rezultatuose matomas HgB koncentracija ir trombocitų skaičius dažniausiai būna normalus. Lyginant pacientus su teigiama šeimine hemofilijos anamneze ir spontanius atvejus, nustatomos panašios ADTL reikšmės, tačiau matomas didesnis skirtumas tarp HgB koncentracijos, trombocitų skaičiaus. Šis skirtumas gali būti susijęs su tuo, kad pacientams turintiems teigiamą šeiminių hemofilijos anamnezę, sunki hemofilijos A forma yra diagnozuojama anksčiau ir anksčiau pradedamas skirti profilaktinis gydymas, todėl įvyksta mažiau spontanių kraujavimų arba prasidėjus kraujavimui, jis yra efektyviau ir per trumpesnę laiką sustabdomas, taigi, yra netenkama mažiau kraujo, lyginant su pacientais, neturinčiais teigiamos paveldimos hemofilijos A anamnezės.

Sunkios hemofilijos A gydymas – profilaktiškai 2-3 kartus per savaitę į veną leidžiamas FVIII (tikslas – palaikyti FVIII aktyvumą kraujyje >3% (12)). Šio gydymo tikslas – išvengti spontaninių kraujavimų ir apsaugoti nuo susirgimo lėtine sąnarių liga – hemofiline artropatija.

Dažniausia gydymo krešėjimo faktoriais komplikacija yra inhibitorių išsivystymas. Inhibitoriai – tai aloantikūnai, neutralizuojantys VIII krešėjimo faktorių. Rizika, kad išsivystys inhibitoriai yra 25-30%. Mūsų analizuotų atvejų inhibitorių dažnis buvo panašus – 33,3%. Inhibitorių prieš krešėjimo faktorių išsivystymas yra siejamas su didesniu mirtingumu ir mirštamumu, taip pat su prastesne pacientų, sergančių hemofilija, gyvenimo kokybe (10). Kuo ankstesniame amžiuje pradamas skirti gydymas krešėjimo faktoriais, tuo didesnė tikimybė, kad išsivystys inhibitoriai. Inhibitorių prieš FVIII išsivystymo tikimybė priklauso ne tik nuo paciento amžiaus, kai buvo pradėtas skirti gydymas, bet ir nuo jo turimos genetinės mutacijos F8 gene. Nustatyta, kad pacientams, turintiems didelės delecijas ir *nonsense* mutacijas yra didžiausia tikimybė, kad susiformuos inhibitoriai. Tuo tarpu, esant *missense* ir *splicing* – mažiausia tikimybė, kad išsivystys inhibitoriai (13). Mūsų analizuotiems atvejams inhibitoriai išsivystė pacientams, turėjusiems didelės rizikos F8 geno mutacijas – *nonsense* 4 egzone, introno 22 inversija F8 gene.

Atskirai nuo atrankinių ir diagnostinių laboratorinių tyrimų, verta išskirti genetinius laboratorinius tyrimus. Genetinis hemofilijos vertinimas svarbus apibūdinant ligos biologiją, siekiant nustatyti tikslią diagnozę sunkiais ir netipiniais ligos pasireiškimo atvejais, norint prognozuoti inhibitorių susidarymo riziką, siekiant identifikuoti moteris – hemofilijos nešiotojas, taip pat atliekant prenatalinę diagnostiką. Genotipo ištyrimas turėtų būti siūlomas visiems asmenims, sergantiems hemofilija ir moterims, kurios turi riziką būti šios ligos nešiotojomis (12). Iš mūsų analizuotų duomenų pastebėta, kad genetinis ištyrimas buvo atliktas 85,7% moterų. Visos tirtos sunkia hemofilija A mamos buvo geno mutacijos nešiotojos.

Dažniausi genetiniai pakitimai, lemiantys FVIII trūkumą ar funkcijos sutrikimus, yra šie: viso F8 geno ar geno dalies delecija, taškinės geno ar geno regulatoriaus mutacijos, didelė X chromosomos galo inversija – nustatoma pusei pacientų, sergančių sunkia hemofilijos A forma (1). 30-45% pacientų, sergančių sunkia hemofilijos A forma, turi didelę DNR inversiją, apimančią F8 introną 22. Iš analizuotų pacientų dažniausiai pasitaikanti mutacija buvo introno 22 inversija F8 gene, nustatyta 42,9% nustatyta atvejų. Remiantis literatūros duomenimis, galima teigti, kad daugumos pacientų su introno 22 inversija F8 gene mutacija motinos yra hemofilijos A nešiotojos. Mūsų tyrimo duomenys – 8 iš 9 pacientų, turinčių introno 22 inversiją F8 gene, mamos yra geno mutacijos nešiotojos.

Didžioji dalis pacientų, turinčių inversijas, *nonsense* mutacijas arba delecijas, insercijas serga sunkia hemofilijos A forma. Introno 22 inversija F8 gene yra dažniausia sunkios hemofilijos A

priežastis. *Missence* ir *splicing* mutacijas dažniausiai turi sergantys vidutinio sunkumo hemofilijos A forma (14).

Visiems pacientams su sumažėjusiu VIII faktoriaus aktyvumu ir tikėtina hemofilijos A diagnoze, turi būti atliktas pilnas laboratorinis ištyrimas, siekiant atmesti Von Willebrando ligą. Ypač svarbu diferencijuoti tarp Von Willebrando ligos *Normandy* formos ir tarp lengvos formos hemofilijos A. Abejais atvejais būdingas VWF antigeno normalus kiekis, tai siejama su nedaug sumažėjusiu FVIII (12). Von Willebrando faktoriaus koncentraciją kraujo plazmoje tikslinga tirti pacientams, kai nėra šeiminės hemofilijos anamnezės arba ji yra netiksli ir yra neaiški įtariama diagnozė. Analizuojant tyrimo duomenis pastebėta, kad vWF:Ag tyrimas neatliktas 11 iš 21 pacientų. Taip gali būti todėl, kad didžioji dalis pacientų turėjo teigiamą šeiminę hemofilijos anamnezę ir pacientams, įtariant hemofiliją A buvo iš karto atliktas FVIII koncentracijos kraujo plazmoje tyrimas.

#### TYRIMO TRŪKUMAI IR PRIVALUMAI

Nepaisant to, kad hemofilija yra dažniausia iš retų įgimtų koaguliopatijų, tiriamųjų imtis yra maža, tačiau laikotarpis, per kurį buvo diagnozuoti visi aprašyti atvejai, apima 15 metų. Išanalizuoti duomenys atspindi hemofilijos situaciją visoje Lietuvoje, kadangi VULSK yra vienintelis didžiausias visapusiškos hemofilijos priežiūros centras Lietuvoje. Lietuvos sveikatos mokslų universitete gydomas tik 1 sunkia hemofilija A sergantis pacientas (nepublikuota, asmeninė komunikacija).

## IŠVADOS

1. Spontantinė sunki hemofilija A sudaro 1/3 įgimtos sunkios hemofilijos A atvejų.
2. Spontaninės hemofilijos A klinikinė išraiška nesiskiria nuo paveldėtos:
  - a. Tiek spontaninės, tiek paveldėtos hemofilijos kraujavimo simptomatika iš karto po gimimo pasireiškia labai retai.
  - b. Visų sunkios hemofilijos atvejų reikšminga kraujavimo simptomatika išryškėja per pirmus 12 kūdikio gyvenimo mėnesių, o klinikinį įtarimą patvirtina reikšmingai pakitę atrankiniai krešėjimo tyrimai.
  - c. Spontaninės hemofilijos genetinės mutacijos nesiskyrė nuo paveldėtos hemofilijos.
3. Nepaisant to, kad spontaninės hemofilijos klinikinė išraiška nesiskiria nuo paveldėtos, spontaninė hemofilija diagnozuojama dvigubai vėliau.
4. Kraujavimų profilaktika sergant spontanine sunkia hemofilija A pradedama ženkliai vėliau nei sergant paveldima įgimta sunkia hemofilija A.
5. Hemofilijos A, dažniausios įgimtos paveldimos ir spontaninės koaguliopatijos, diagnozė neįmanoma suaugusiojo amžiuje dėl ženklaus kraujavimo fenotipo, nustatomo kūdikystėje. Šį klinikinį fenotipą visada patvirtina ženkliai pakitę krešėjimo tyrimai. Ir atvirkščiai, tai patvirtina, kad prailgėjęs ADTL, vertinant paciento kraujavimo riziką, yra informatyvus, kai yra teigiama paciento kraujavimo anamnezė.

## SUNKIOS HEMOFILIJOS A DIAGNOSTIKOS YPATUMAI IR PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

Kraujavimas yra pagrindinis ir vienintelis požymis, leidžiantis įtarti sunkios hemofilijos A diagnozę.

Hemofilijos A diagnostika susideda iš klinikinės diagnostikos ir laboratorinių tyrimų. Sunkiai hemofilijos A formai būdingi neprovokuoti kraujavimai (kraujavimai, atsiradę be aiškios priežasties). Kūdikiams būdingesni jatrogeninės ir trauminės kilmės kraujavimai į minkštuosius audinius, vyresniems vaikams – kraujavimo į sąnari/ius požymiai – sąnario patinimas, apimties padidėjimas, sutrikusi fleksija ir/ar ekstenzija, skausmingumas. Didžioji dalis pacientų (2/3), kuriems diagnozuota sunki hemofilijos A forma, turi paveldimą šeiminingą anamnezę, todėl atvykus pacientui su užsitęsusiam kraujavimui būdingais klinikiniais požymiais, ar anksčiau minėtais simptomais, būtina detaliai išsiaiškinti, ar paciento artimieji neturėjo panašių skundų, ar jiems nėra diagnozuota hemofilija A, ar šeimoje nėra buvę vaikų mirčių, siejamų su kraujavimu.

Antras diagnostikos etapas yra laboratoriniai kraujo tyrimai. Jie yra skirstomi į dvi rūšis:

**1. Atrankiniai** (pirmiausia turi būti atlikti, kai pacientas turi hemofilijai būdingų simptomų ir/ar skundų). Atrankiniams tyrimams priskiriama: **BKT** (bendraklinikinis kraujo tyrimas) – labiausiai atkreipti dėmesį į HgB konc. ir trombocitų skaičių ir morfologiją. Turėtų būti norma, išskyrus tuos atvejus, jei pacientas serga sunkia hemofilijos forma ir yra gausiai nukraujavęs – tokiu atveju gali būti hemoglobino koncentracijos sumažėjimas; **ADTL** – visada reikšmingai prailgėjęs; **SPA** – norma; **fibrinogeno** koncentracija – norma. Esant lengvai hemofilijos formai, ADTL gali būti ir normalus.

**2. Patvirtinantys tyrimai** – krešėjimo faktorių koncentracijos kraujo plazmoje nustatymas ir genetinis ištyrimas. Krešėjimo faktorių koncentracijos tyrimas atliekamas, kai pacientas turi hemofilijai būdingų simptomų ir/ar skundų ir atrankiniuose tyrimuose (BKT, ADTL, SPA) randama pokyčių (15). **Kraujo plazmos VIII krešėjimo faktoriaus koncentracija (<1%)**, von Willebrando faktorius – norma. Genetinis ištyrimas (vyriškos lyties asmenims) identifikuotas hemizigotinis FVIII patogeninis variantas molekuliniais tyrimo metodais probandui patvirtina hemofilijos diagnozę (7). Identifikuotas heterozigotinis FVIII patogeninis variantas simptomų turinčioms moterims patvirtina hemofilijos geno nešiojimo diagnozę.

Kad būtų galima patvirtinti hemofilijos A diagnozę, turi būti visi 4 išvardinti kriterijai:

1. Klinikiniai kraujavimo požymiai
2. Prailgėjęs ADTL ir normalūs kiti krešėjimo rodikliai (SPA, fibrinogenas)
3. Sumažėjęs FVIII aktyvumas kraujo plazmoje (<40%)
4. Hemofilijai A būdingi genetiniai pakitimai (16).

## LITERATŪROS ŠALTINIAI

1. Mansouritorghabeh H. Clinical and Laboratory Approaches to Hemophilia A. *Iran J Med Sci* [Internet]. 2015 May [cited 2022 Jan 27];40(3):194–205. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4430880/>
2. Castaman G, Matino D. Hemophilia A and B: molecular and clinical similarities and differences. *Haematologica* [Internet]. 2019 Sep [cited 2021 Nov 22];104(9):1702–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6717582/>
3. CDC. New Study: Hemophilia Occurrence in the United States | CDC [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [cited 2021 Nov 22]. Available from: <https://www.cdc.gov/ncbddd/hemophilia/features/keyfinding-hemophilia-occurrence-US.html>
4. Kulkarni R, Soucie JM, Lusher J, Presley R, Shapiro A, Gill J, et al. Sites of initial bleeding episodes, mode of delivery and age of diagnosis in babies with haemophilia diagnosed before the age of 2 years: a report from The Centers for Disease Control and Prevention's (CDC) Universal Data Collection (UDC) project. *Haemophilia* [Internet]. 2009 [cited 2022 May 16];15(6):1281–90. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2516.2009.02074.x>
5. Mannucci PM, Tuddenham EGD. The Hemophilias — From Royal Genes to Gene Therapy. *N Engl J Med* [Internet]. 2001 Jun 7 [cited 2022 May 18];344(23):1773–9. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJM200106073442307>
6. Kulkarni R, Soucie JM. Pediatric Hemophilia: A Review. *Semin Thromb Hemost* [Internet]. 2011 Oct [cited 2022 May 18];37(07):737–44. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0031-1297164>
7. Konkle BA, Huston H, Nakaya Fletcher S. Hemophilia A. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2021 Dec 13]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1404/>
8. Chambost H, Gaboulaud V, Coatmélec B, Rafowicz A, Schneider P, Calvez T. What factors influence the age at diagnosis of hemophilia? Results of the French hemophilia cohort. *J Pediatr* [Internet]. 2002 Oct 1 [cited 2022 Feb 16];141(4):548–52. Available from: [https://www.jpeds.com/article/S0022-3476\(02\)00140-3/fulltext](https://www.jpeds.com/article/S0022-3476(02)00140-3/fulltext)
9. Mancuso ME, Male C, Kenet G, Kavakli K, Königs C, Blatný J, et al. Prophylaxis in children with haemophilia in an evolving treatment landscape. *Haemophilia* [Internet]. 2021 [cited 2022 May 13];27(6):889–96. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/hae.14412>
10. Kizilocak H, Young G. Diagnosis and Treatment of Hemophilia. :8.
11. Chalmers EA, Alamelu J, Collins PW, Mathias M, Payne J, Richards M, et al. Intracranial haemorrhage in children with inherited bleeding disorders in the UK 2003-2015: A national cohort study. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. 2018 Jul;24(4):641–7.
12. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia* [Internet]. 2020 [cited

2022 May 13];26(S6):1–158. Available from:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/hae.14046>

13. Peyvandi F, Garagiola I, Young G. The past and future of haemophilia: diagnosis, treatments, and its complications. *The Lancet* [Internet]. 2016 Jul 9 [cited 2022 May 13];388(10040):187–97. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014067361501123X>
14. Lu Y, Xin Y, Dai J, Wu X, You G, Ding Q, et al. Spectrum and origin of mutations in sporadic cases of haemophilia A in China. *Haemophilia* [Internet]. 2018 [cited 2022 May 13];24(2):291–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/hae.13402>
15. CDC. Diagnosis | Hemophilia | NCBDDD | CDC [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2011 [cited 2022 Jan 27]. Available from: <https://www.cdc.gov/ncbddd/hemophilia/diagnosis.html>
16. Hemofilijos diagnostikos, gydymo ir stebėsenos metodika.pdf [Internet]. [cited 2022 Feb 16]. Available from: <https://www.santa.lt/uploads/Projektai/Hemofilijos%20diagnostikos,%20gydymo%20ir%20steb%C4%97senos%20metodika.pdf>