



Hæmofili



Blødernes lange rejse



A
VIII

B
IX

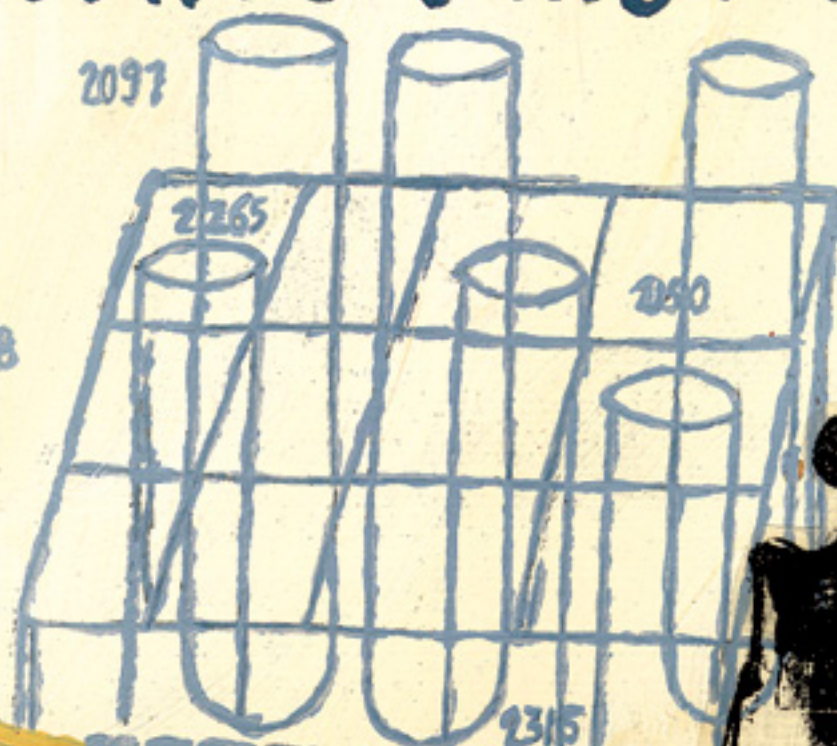
2148

2097

2265

2050

2315



HÆMOFILI

En bløder fortæller



Historien handler om livsmod. Hans Paulsen er bløder og blev født i 1952. Barndommen var præget af utallige indlæggelser. Som ung oplevede han miraklet, da faktorlægemidlerne kom. Senere fik han chokket – smittet med hiv. I dag glæder Hans sig over, at genteknologisk medicin kan give nutidens bløderbørn et næsten normalt liv uden frygt for infektioner.

Hans Paulsen er bløder i svær grad. Diagnosen blev først stillet, da han var fire år gammel, men det var heller ikke let, for hos ham skyldtes sygdommen en nyopstået mutation, og der var ingen andre blødere i familien. Desuden var lægernes kendskab til den sjældne sygdom meget begrænset sammenlignet med i dag.

Forældrene blev dog hurtigt klar over, at der var noget galt. Drengen fik hele tiden blå mærker, og hans led svulmede op den ene gang efter den anden. En af Hans' tidligste erindringer er, at han altid skulle

have lange bukser på, når han var i byen med sin mor. "Ellers kunne folk jo tro, at hun havde slået mig."

Da Hans var tre et halvt år, svulmede hans ankler så voldsomt op, at han blev indlagt på Gentofte Amtssygehus. Men lægerne fandt ikke ud af årsagen, så de skar begge fodled op og drænedes blodet. Først et halvt år senere blev diagnosen stillet på Dronning Louises Børnehospital. "Dengang blev bløderbørn ofte endnu ældre, inden lægerne opdagede, hvad der var galt. Ingen vidste ret meget om sygdommen," siger Hans.

FAKTA

Blødersygdomme

Hæmofili rammer næsten udelukkende drenge. Over halvdelen af tilfældene nedarves i familier, mens resten skyldes nyopståede mutationer i X-kromosomet. Blodet indeholder en række proteiner, koagulationsfaktorer, som i fællesskab standser blødninger ved at få blodet til at koagulere. Blødere mangler en af faktorerne, eller den pågældende faktor fungerer ikke ordentligt. Ved den mest udbredte type af blødersygdommen, hæmofili A, mangler bløderen faktor VIII, mens blødere med hæmofili B mangler faktor IX. Sygdommen medfører, at kroppen har svært ved at standse større blødninger. Ved mindre ydre blødninger dannes der til sidst sårskorpe, så derfor medfører små rifter og sår ingen risiko for at forbløde. Det

største problem er indre blødninger, som især opstår i musklerne og i led som knæ, ankler, albuer og skuldre.

Uden behandling medfører hæmofili hyppige blødninger, som resulterer i smerter, skader i leddene, nedsat bevægelighed og en øget risiko for en tidlig død. Med moderne medicin, injektioner med faktor VIII eller faktor IX, kan en bløder leve et næsten normalt liv, hvis behandlingen starter i de tidlige barneår, inden der opstår fysiske skader. Medicinen tages både forebyggende og ved blødninger.

Der findes omkring 400.000 blødere på verdensplan. Under en fjerdedel har adgang til god behandling.

Kabaler og jordnødder

Som alle andre drenge havde Hans krudt et vist sted, og han ville gerne spille fodbold og lege vildt. Men sådan blev det ikke. "I perioder var jeg tvunget til stillesiddende sysler, fx spil, kabaler og tegneserier, og ofte måtte jeg ligge i sengen. Når jeg fik blødninger i leddene, gjorde det rigtigt ondt, men jeg fik ingen smertestillende medicin. Når blødningerne var overstået, måtte jeg i gang med at træne mig selv op igen. Tit nåede jeg det ikke, før den næste blødning kom, og efterhånden blev det svært at tage sig sammen." Lægerne havde ikke meget at byde på. "Han skal spise jordnødder," sagde de til min mor. Rådet var rigtigt nok på den tid, men virkningen var minimal. Senere fik jeg medicin, som hed prednison, og min mor mente, at det hjalp, men efter et par år var bivirkningerne så voldsomme, at lægerne standsede behandlingen."





FAKTA Den første behandling

Den første vellykkede behandling af en bløder blev beskrevet i det lægevidenskabelige tidsskrift *The Lancet* i 1940. En 11-årig dreng med svær hæmofili blev opereret for skelen. Bagefter begyndte han at bløde, og blødningen fortsatte gennem seks døgn. På det tidspunkt var " huden næsten så kold og bleg som på et lig, og pulsen kunne ikke føles ved håndleddet." Så gav lægerne drengen en transfusion med blod fra en sund ung kvinde, og det standsede hurtigt blødningen.

I de følgende år kom forskere med mange fantasifulde bud på behandlinger af hæmofili. Så sent som i 1966 hævdede en forsker i det anerkendte videnskabelige tidsskrift *Nature*, at jordnøddesmør var en effektiv behandling af sygdommen.

På trods af hyppige blødninger og mange indlæggelser gik Hans i en almindelig skole. Beskeden hjemmefra var nemlig klar: "Du skal!" Men let var det ikke. Ofte var fødderne så hævede, at Hans kun med møje og besvær kunne klemme sig ned i sin fars store militærstøvler, og så var det svært at cykle. Cyklen blev stillet ved skolens brandtrappe, der førte lige op til klasselokalet. Derhjemme måtte far ofte bære sin dreng op i soveværelset, som lå på første sal.

Da Hans var 11 år gammel, begyndte han at få transfusioner med halvanden måneds mellemrum. På det tidspunkt var der blevet udviklet en metode til at isolere plasma, som er blod uden røde blodlegemer, hvide blodlegemer og blodplader. Plasma indeholder koagulationsfaktorerne. Hver transfusion varede 2-3 timer. "Behandlingen var sikkert gavnlig, men transfusionerne kunne ikke holde blødningerne væk. Dengang var den gennemsnitlige levealder for en bløder med svær hæmofili 15-16 år, men det vidste jeg heldigvis ikke," siger Hans.

FAKTA 1965

Kryopræcipitat

I 1965 kom det første gennembrud i medicinsk behandling af hæmofili - kryopræcipitat. Først adskiltes blodplasmaet fra blodlegemer og blodplader ved centrifugering. Derpå nedfryses plasmaet til minus 20 °C, hvorefter det langsomt optøs til plus 4 °C. Herved udfældes størstedelen af plasmaets indhold af faktor VIII sammen med von Willebrand-faktor og fibrinogen. Udfældningen nedfryses igen, indtil kryopræcipitatet skal bruges.

Behandlingen virkede. Kryopræcipitat kunne både forebygge og standse blødninger, men ”kryoen” var en plage for brugerne. Den tyktflydende væske, der lignede gule ærter, blev leveret i store literflasker. De store kanyler stoppede ofte til og måtte renses med saltvand, mens de sad i armen, for kanylen måtte ikke fjernes under en behandling, som nogle gange kunne vare i flere dage.

Kryopræcipitat er stadig den eneste behandlingsmulighed i mange udviklingslande, fordi kryopræcipitat både er billigere og mindre teknologisk krævende at fremstille end faktorkoncentrat.

1968: Faktor VIII

I 1968 blev det første faktorkoncentrat, faktor VIII, kommercielt tilgængeligt. Koncentratet udvindes af humant blod. Faktor VIII benyttes til behandling af hæmofili A. 80 procent af alle blødere har hæmofili A.

1972-1976: Faktor IX

I denne periode kom koncenterater af faktor IX med en stigende grad af renhed på markedet til behandling af hæmofili B, som knap 20 procent af bløderne har.

Omkring den tid, hvor Hans skulle starte i gymnasiet, blev den første effektive blødermedicin – kryopræcipitat – taget i brug i Danmark. Men det fik han ingen glæde af, fordi hans sygdom er hæmofili B. Kryopræcipitat indeholder faktor VIII, som bruges til at behandle hæmofili A.

Hans tilbragte de første tre måneder af sin gymnasietid i en seng på en voksenafdeling på Rigshospitalet – han var blevet for lang til at ligge i sengene på Dronning Louises Børnehospital – og den indlæggelse blev langt fra den sidste, mens han gik i gymnasiet. Men hovedet fejlede ikke noget, og Hans fik sin studentereksamen i 1972.

Fig. 1.1: Student i 1972.



Miraklet og det nye liv

På det tidspunkt havde svenske læger udviklet et nogenlunde rent faktor IX koncentrat, som blev leveret i store flasker. Fibre i præparatet tilstoppede jævnligt de tykke kanyler, som ofte måtte udskiftes to eller tre gange under en behandling. ”Men medicinen var et mirakel. Blødningerne blev forebygget, og pludselig kunne jeg gøre en masse ting, jeg aldrig havde kunnet før. Fx kom jeg på ferie i Nordjylland, hvor en passende beholdning af præparatet var deponeret på det nærmeste hospital. Det var som at få et nyt liv,” siger Hans.

I de følgende år blev behandlingen forbedret, og fra 1976 kunne Hans tage sine forebyggende injektioner hjemme. Tilmed kunne han selv behandle mindre blødninger, så han slap for at tage på hospitalet hver gang. ”I begyndelsen var jeg for tilbageholdende, for medicinen var dyr, og jeg var jo vant til at tåle blødninger. Jeg lærte dog hurtigt at bruge medicinen rigtigt.”

Men den ubehandlede sygdom i barneårene havde haft sin pris. Begge ankler var helt stive, og skuldre og albuer havde det heller ikke godt. I 1976 gjorde store problemer med slidgigt i hofte og et fald det

nødvendigt at få indopereret en ny hofte, hvilket er blevet gentaget fem gange siden. ”I dag er lægerne meget dygtigere, og efter et par dage i sengen er man oppe igen og klar til genoptræning. Dengang lå jeg på hospitalet i en måneds tid, inden den langvarige genoptræning kom i gang.”

Lige fra barnsben blev Hans af sine forældre sporet ind på en boglig uddannelse. Da han ønskede at arbejde med mennesker og følte, at han havde evnen, tog han en uddannelse som socialrådgiver med økonomisk støtte fra Revalideringen, som også bevilgede en invalidebil, så han kunne komme rundt.

Det var i det hele taget en god tid. Hans var glad for sit arbejde, som han stadig har, og han fandt sig en kone, og de fik to døtre sammen. ”Jeg havde ikke de store bekymringer. Jeg havde job og familie og tog på rejser. Dengang tænkte jeg ikke over, at der var risiko for at blive smittet af medicinen.”

Men virkeligheden bankede på døren. Sidst i 1970'erne blev Hans smittet med leverbetændelse, hepatitis B og C, som han aldrig siden er sluppet af med. Og i 1985 blev det konstateret, at han - som så mange andre blødere - var smittet med hiv.



Smitte fra faktorkoncentrater

1980'erne

Der skal meget blod og mange donorer til at fremstille en portion faktorkoncentrat. I industrien forarbejdes over 2000 kvartlitters plasmaportioner i en arbejdsdag. Derfor var risikoen for smitte med hiv, hepatitis og andre virus sygdomme betydelig, før screening og varmebehandling blev indført. I Danmark skete dette i 1986.

Ved varmebehandling opvarmes faktorkoncentratet til en temperatur på 80 °C gennem 72 timer, hvilket inaktiverer alle vira.

Risiko i dag

Den eneste kendte smitte, som ikke neutraliseres ved varmebehandling, er den menneskelige form for kogalskab, variant Creutzfeldt Jakobs sygdom (vCJD). Her er smitstoffet et muteret protein, der kaldes en prion. Prioner er ekstremt termotabile, hvorfor de ikke bliver nedbrudt ved varmebehandlingen. Sygdommen rammer hjernen, men længe inden udbruddet har prionerne spredt sig i lymfesystemet, hvilket

indebærer en risiko for, at hvide blodlegemer, lymfocytter, kan indeholde smitten.

I England viste en undersøgelse i 2004, at en vCJD-patient udviklede symptomerne på den dødelige sygdom tre og et halvt år efter en blodtransfusion. Det kan ikke udelukkes, at patienten havde spist inficeret oksekød, men sandsynligheden er kun mellem 1:15.000 og 1:30.000. Et indicium på smitte via transfusionen er, at patienten er meget ældre end flertallet af vCJD-patienter. vCJD forårsaget af inficeret oksekød har nemlig især ramt teenagere og unge først i 20'erne. Da denne patient ikke var ung, peger den fremskredne alder på en anden smitekilde end inficeret oksekød.

vCJD er især et problem i England, hvor kogalskab opstod. Mistanken om, at vCJD kan smitte via blod, fik i 1998 de britiske myndigheder til at indføre særlige sikkerhedsforanstaltninger for blodprodukter. Ingen danske blødere er smittet med vCJD.

Da aids var en dødsdom

På det tidspunkt blev aids betragtet som en dødsdom, og alle hiv-smittede levede på lånt tid. For Hans var det dog ikke det værste. ”Jeg var nok selv blevet inficeret nogle år før, og min største frygt var, om jeg havde smittet min kone og mine døtre. Men det var heldigvis ikke sket,” siger Hans.

Dengang midt i 1980'erne var aids omgivet af stor uvidenhed. Kunne man blive smittet ved at kysse eller give hånd? Eller kun gennem blod og sæd? Selv professionelle var grebet af irrationel frygt. ”Da jeg bad min tandlæge om at tage handsker på, smed hun mig ud af sin klinik. På det tidspunkt blev jeg indlagt på Kirurgisk Afdeling på Rigshospitalet for

at få foretaget min anden hofteoperation, og her var plejepersonalet meget bange for at blive smittet med hiv. På døren ind til stuen var der placeret en stor gul trekant, hvorpå der stod ”Infektionsfare”. Personalet iførte sig nærmest rumdragter, og alt, hvad jeg rørte ved, blev destrueret efter brug.”

”Jeg fik god støtte fra min nærmeste familie. Men selvfølgelig var det svært for os alle sammen, og min ældste datter, som dengang var ni år, var meget bekymret. Ingen vidste, om jeg kun havde et års tid tilbage at leve i, så vi planlagde ikke ret langt frem i tiden,” fortæller Hans.

Bekymringen var ikke ubegrundet. 63 af de 92 danske blødere, som blev behandlet med faktor-

koncentrat i den første halvdel af 1980'erne, er døde af aids, og ofte skete det hurtigt efter, at sygdommen var blevet diagnosticeret. "Jeg har kendt mange af dem, og det var umuligt at vide, om det var min tur næste gang."

"Diagnosen hiv-positiv var især et chok for de unge. Hvordan skulle de sige det til kæresten? Og var der mening i at begynde på en uddannelse, hvis man alligevel snart skulle dø? De stod i et frygteligt dilemma," siger Hans.

Livet gik videre

Hans har ikke fået aids, og den nuværende behand-

ling med kombination af flere lægemidler har forvandelt hiv-smitte fra en dødsdom til behandling på livstid. Behandlingen for infektionerne med hiv og hepatitis medfører store bivirkninger, men Hans har fra barnsben lært at tage tingene, som de kommer.

"Da det blev klart, at man kan leve i årevis som hiv-positiv, ændrede det livsperspektivet for alle smittede blødere. Igen var det sværest for de unge, som nu pludselig skulle tage stilling til et langt liv, uddannelse og kærester. Mange følte, at de havde spildt år på at leve i dødens skygge."

I dag behandles alle blødere i Danmark med gensplejsede faktorpræparater.

1990'erne

Rekombinant medicin

I 1992 kom den første rekombinante faktor VIII på markedet. Faktoren produceres i kulturer af gensplejsede hamsterceller. Medicinen er efter al sandsynlighed helt uden smitterisiko.

I 1997 blev rekombinant faktor IX lanceret på verdensmarkedet. De rekombinante faktorkoncentrater er meget dyre og anvendes kun i verdens rige lande. En optimal medicinering af en bløder koster op mod en million kr. om året.

Raske bløderbørn

For Hans, som har været aktiv i Danmarks Bløderforening siden 1970'erne, er det en enorm glæde at se, hvordan bløderbørn i dag kan leve et aktivt liv med langt større udfoldelsesmuligheder, end han selv havde som dreng. Sport og god fysisk form er med til at minimere risikoen for blødninger. Især svømning, bordtennis, badminton, bowling, sejlsport og cykling står højt på

hitlisten, mens blødere bør holde sig fra meget voldsomme sportsgrene som boksning og rugby. Fodbold og håndbold ligger i grænselandet. Her kan man

risikere blødninger, og blot en enkelt blødning kan være nok til at skabe problemer 5-10 år senere.

"Den moderne blødermedicin er et mirakel; sådan opfatter jeg det, og jeg støtter forskning i nye behandlingsformer som genterapi, som måske med tiden kan føre til udvikling af en egentlig kur for blødersygdommen," siger Hans Paulsen.



Når blodet størkner

Kroppens smidighed er den vigtigste beskyttelse mod blodtab. Når vi bevæger os, glider de forskellige væv hen over hinanden på velsmurte overflader, og muskler omslutter de større blodkar og beskytter dem. Blodkarrene ligger løst bundet i vævene, og ved mindre stød og slag forskubbes de, så man undgår, at de brister. Når der går hul på et blodkar, starter hæmostasen øjeblikkeligt.

Hæmostasen og den efterfølgende heling af bruddet består af fire hovedtrin:

- Først trækker det skadede blodkar sig sammen og lukker i videst muligt omfang af for blodcirkulationen.
- Så strømmer blodplader til det bristede blodkar, hvor de binder sig til brudstedet og danner den første prop i hullet.

En koagulationskaskade får nu flydende blod til at koagulere, så der dannes en prop af fibre og blodplader i og omkring brudstedet. Ved en ydre blødning dannes der sårskorpe på huden, mens der ved brud på en slimhinde eller en karvæg dannes en fibrinprop. Både sårskorpe og fibrinpropper er stærke nok til at modstå blodtrykket og fleksible nok til at tåle bevægelse.

Når blødningen er standset, skrumper sårskorpen eller fibrinproppen langsomt og trækker derved bruddets ender sammen. Under sammentrækningen erstatter nye kropsceller gradvist skorpen eller proppen og danner arvæv. Bruddet er nu helet.

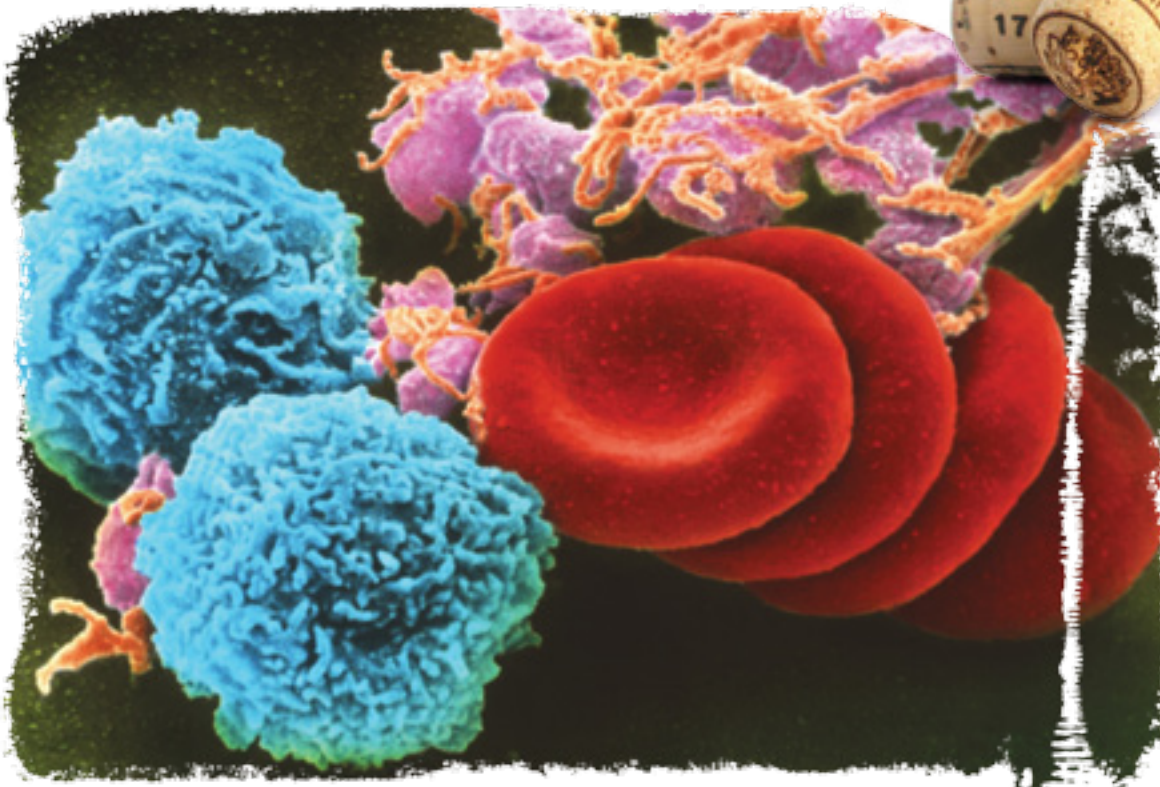


Fig. 1.2: De tre typer blodceller: Røde blodlegemer (røde), hvide blodlegemer (blå) og blodplader (pink). Blodpladerne er spundet ind i stærke og fleksible fibrinfibre (orange), som danner et krydsbundet netværk mellem blodpladerne. Sådanne fibrinpropper lukker huller i bristede blodkar og standser blødninger.

Koagulationskaskaden

Sårskorpe dannes ved hjælp af koagulationsfaktorer, der arbejder sammen om at danne en fibrinprop i et bristet blodkar. Med undtagelse af faktor IV (Ca^{2+}) er faktorerne proteiner, hvoraf hovedparten dannes i leveren. Under normale forhold cirkulerer de fleste af koagulationsfaktorerne i blodbanen i en inaktiv form, der ikke får blodet til at koagulere.

Når der opstår et brud i et blodkar, går der hul på endothelet; det tynde lag af epithelceller på indersiden af karvæggen. Herved eksponeres kollagen i bindevævet, og de først ankomne blodplader binder sig til kollagenet. Samtidig eksponerer bindevævscellerne vævsfaktor, et membranbundet protein, der fungerer som receptor for faktor VII, som cirkulerer i blodet. Ved bindingen til vævsfaktor spaltes faktor VII til sin aktive form, faktor VIIa.

På overfladen af bindevævscellerne begynder kom-

plekset af vævsfaktor og faktor VIIa at omdanne små mængder af faktor X i blodet til den aktive form, faktor Xa. Faktor Xa omdanner med faktor Va som co-faktor små mængder af prothrombin til thrombin. Thrombin omdanner små mængder af faktorerne V, VIII og XI til deres aktive former.

Samtidig aktiverer thrombin blodpladerne, som i stigende antal binder sig til kollagen på brudstedet, hvor de danner den første, skrøbelige prop i hullet. Ved aktivering ændrer blodpladerne form. De runde pladers glatte overflader omdannes til en burrellignende struktur, der klæber sig godt fast til kollagen. De aktiverede blodplader eksponerer nu negativt ladede phospholipider på deres overflader. Under normale forhold er phospholipiderne gemt af vejen på indersiden af blodpladernes cellemembraner.

Nogle af koagulationsfaktorerne i blodet binder sig til de eksponerede phospholipider. Da disse faktorer har særlige aminosyrerester med to negative ladninger (γ -carboxyglutaminsyre) flere steder i den N-terminale del, kan der dannes en "sandwich" med kompleksbindinger til Ca^{2+} i midten (se fig. 1.4 og fig. 1.15). De følgende trin i den accelererende koagulationskaskade finder alle sted på overfladen af de aktiverede blodplader. Når de inaktive koagulationsfaktorer bindes til overfladerne af blodpladerne, kan de lettere omdannes til deres aktive former: Faktor VIIa, faktor IXa, faktor VIIIa. Aktivering af hver enkelt faktor er forudsætningen for aktivering af den næste. Det næstsidste trin i kaskaden er aktivering af faktor X til faktor Xa. Denne aktivering katalyseres enten af et kompleks bestående af faktor VIIa, Ca^{2+} og vævsfaktor eller af et kompleks bestående af faktor VIIIa, IXa, Ca^{2+} og phospholipid.

På overfladen af de aktiverede blodplader danner faktor Xa kompleks med faktor Va, og komplekset omdanner prothrombin i blodet til thrombin, som

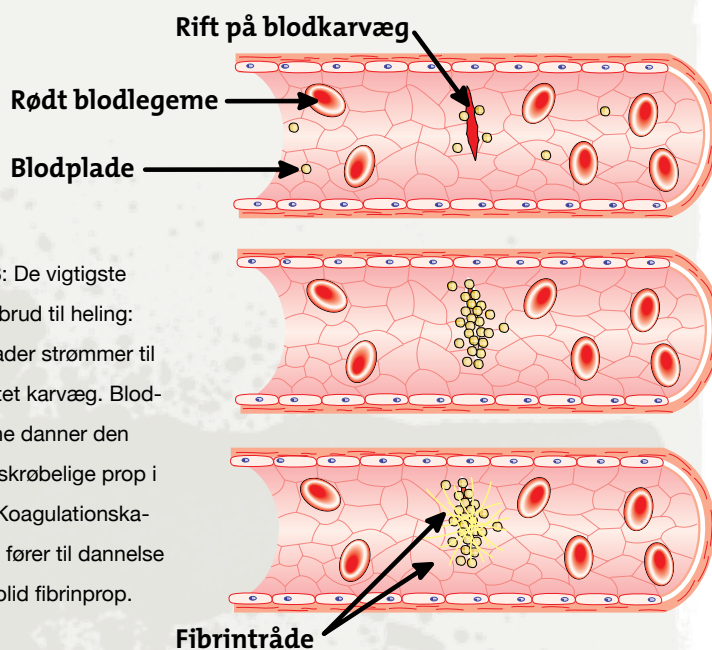


Fig. 1.3: De vigtigste trin fra brud til heling: Blodplader strømmer til en bristet karvæg. Blodpladerne danner den første, skrøbelige prop i hullet. Koagulationskaskaden fører til dannelse af en solid fibrinprop.

nu produceres i store mængder. Thrombin omdanner fibrinogen til fibrin – kaskadens slutprodukt – som opbygger fibre mellem blodpladerne ved brudstedet og skaber den stærke og fleksible prop i det bristede blodkar.

Koagulation sker kun ved bristede blodkar. Thrombin, som slipper ud i blodcirkulationen, inaktiveres af enzymet antithrombin-III i plasmaet eller bindes til specifikke receptorer på intakte endothelceller. Her ændres proteinets specificitet, så det ikke længere aktiverer blodplader eller omdanner fibrinogen.

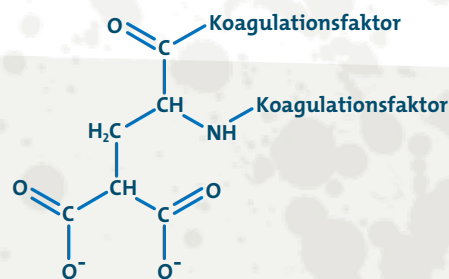


Fig. 1.4: Aminosyreresten γ -carboxyglutaminsyre i en koagulationsfaktor med Ca^{2+} og et fosfolipid.

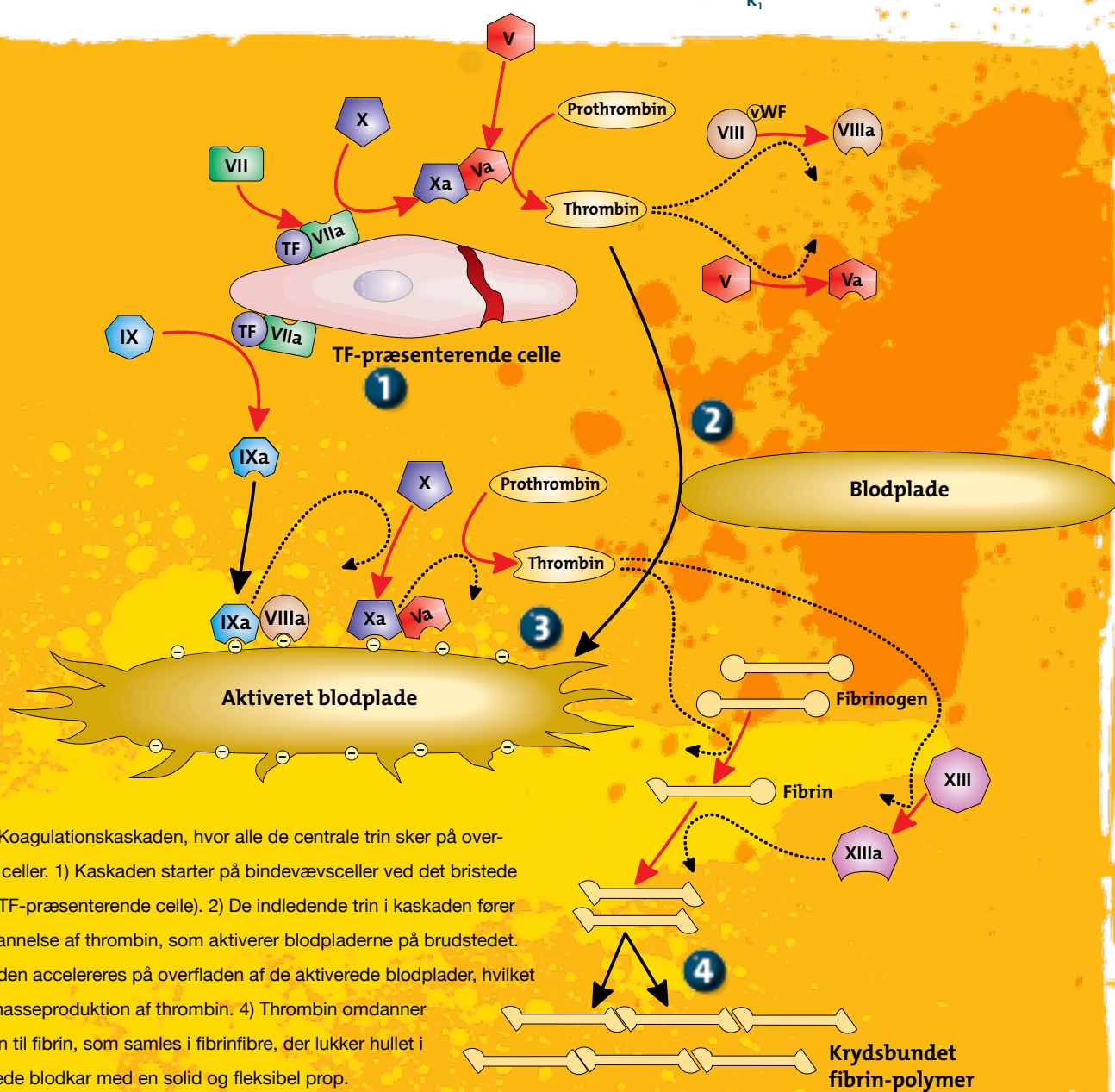
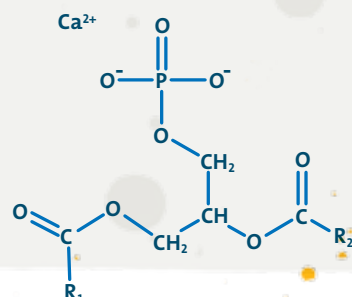


Fig. 1.5: Koagulationskaskaden, hvor alle de centrale trin sker på overfladen af celler. 1) Kaskaden starter på bindevævsceller ved det bristede blodkar (TF-præsenterende celle). 2) De indledende trin i kaskaden fører bl.a. til dannelse af thrombin, som aktiverer blodpladerne på brudstedet. 3) Kaskaden accelereres på overfladen af de aktiverede blodplader, hvilket fører til masseproduktion af thrombin. 4) Thrombin omdanner fibrinogen til fibrin, som samles i fibrinfibre, der lukker hullet i det bristede blodkar med en solid og fleksibel prop.

FAKTA

Koagulationsfaktorer

Faktor I: Fibrinogen. Forstadium til fibrin.

Faktor II: Prothrombin. Forstadium til enzymet thrombin.

Faktor III: Vævsfaktor. Membranbundet protein.

Faktor IV: Ca^{2+} .

Faktor V: Proaccelerin. Den aktive form er co-faktor til faktor Xa.

Faktor VI: Blev tidligere anset for at være en aktiveret form af faktor V. Regnes ikke længere for at indgå i hæmostasen.

Faktor VII: Proconvertin. Forstadium til enzymet faktor VIIa. Aktiveres ved kompleksdannelse med vævsfaktor.

Faktor VIII: Anti-hæmofili-faktor. Den aktive form er co-faktor til faktor IXa. Mangel fører til hæmofili A. Er nødvendig for dannelse af faktor X på overfladen af de aktiverede blodplader.

Faktor IX: Christmas-faktor. Forstadium til enzymet faktor IXa. Opkaldt efter navnet på den bløder, hvor mangel på faktoren først blev opdaget. Mangel fører til hæmofili B. Er nødvendig for dannelse af faktor X på overfladen af de aktiverede blodplader.

Faktor X: Stuart-faktor. Forstadium til enzymet faktor Xa, som danner kompleks med faktor Va. Komplekset omdanner prothrombin til thrombin.

Faktor XI: Plasma thromboplastin antecedent. Forstadium til enzymet faktor XIa, som aktiverer faktor IX.

Faktor XII: Hageman-faktor. Forstadium til enzymet faktor XIIa, der aktiverer faktor XI.

Faktor XIII: Fibrinstabiliserende faktor. Forstadium til enzymet faktor XIIIa, der krydsbinder fibrinfibre i sårskorpe og fibrinpropper.

Von Willebrand-faktor: Danner kompleks med og stabiliserer faktor VIII i blodet.



FAKTA

Syntese og aktivering af faktor VIII

Faktor VIII syntetiseres i leveren, og i blodbanen indgår faktoren i et kompleks med von Willebrand-faktor, som beskytter den cirkulerende faktor VIII mod enzymatisk nedbrydning i blodet.

Når der opstår en blødning, frigives faktor VIII fra von Willebrand-faktor nær det bristede blodkar. I de tidligste faser af hæmostasen sker aktivering af faktor VIII ved, at thrombin spalter molekylet. På den måde dannes en beskeden mængde faktor VIIIa.

Når thrombin har aktiveret blodpladerne ved det

bristede blodkar, bindes komplekset af faktor VIII og von Willebrand-faktor til blodpladernes overflader ved hjælp af von Willebrand-faktor, hvor faktor VIII aktiveres. Faktor VIIIa er ikke i sig selv enzymatisk aktivt, men fungerer som co-faktor for faktor IXa's aktivering af faktor X. Ved tilstedeværelse af negativt ladede phospholipider og Ca^{2+} øger faktor VIIIa den faktor IXa medierede aktivering af faktor X til faktor Xa ca. 10.000 gange.

FAKTOR VIII

VON WILLEBRAND-FAKTOR

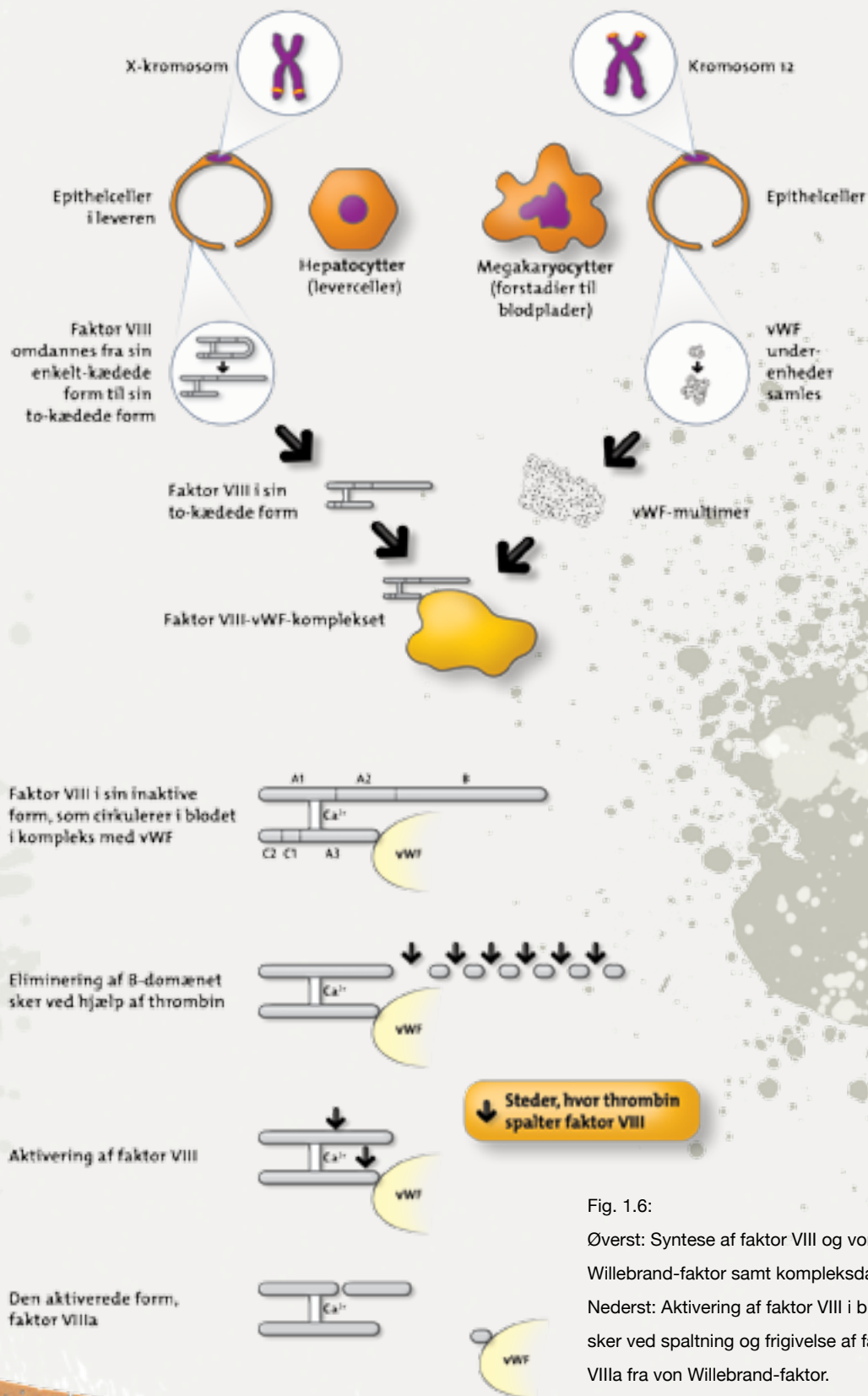
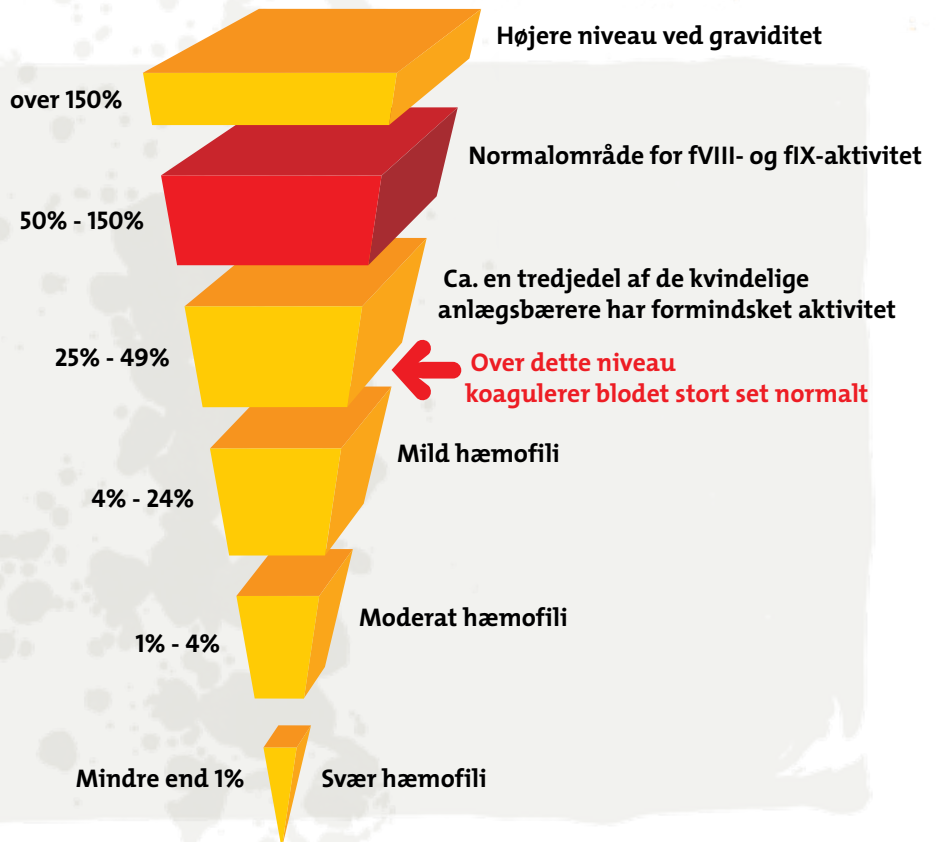


Fig. 1.6:
Øverst: Syntese af faktor VIII og von Willebrand-faktor samt kompleksdannelsen. Nederst: Aktivering af faktor VIII i blodet sker ved spaltning og frigivelse af faktor VIIIa fra von Willebrand-faktor.

Blødersygdommene

Fig. 1.7: Niveauerne af faktor VIII og faktor IX varierer stærkt i befolkningen, hvorfor normalområdet er 50-150 procent af gennemsnittet på 100 procent. Kvindelige anlægsbærere danner mindre mængder fungerende faktor VIII eller IX end gennemsnittet, men nok til at deres blod kan koagulere; dog langsommere end normalt. Mandlige blødere kan have svær, moderat eller mild hæmofili.



Blødersygdommene skyldes genetisk betinget mangel på fungerende faktor VIII eller faktor IX. Der findes andre blødersygdomme – sjældne koagulations-sygdomme – der kan skyldes mangel på faktorerne I, II, V, VII, X, XI eller XIII. Desuden findes von Willebrands sygdom, der skyldes mangel på von Willebrand-faktor. Både de sjældne koagulationssygdomme og von Willebrands sygdom nedarves i modsætning til hæmofili autosomt (ikke kønsbundet). Når der opstår en blødning hos en person med hæmofili, forløber de tidlige faser af hæmostasen normalt; blodpladerne strømmer til det bristede blodkar og danner den første prop. Men da både faktor VIII og faktor IX er nødvendige for at accelerere dannelsen af faktor X på overfladen af blodpladerne, standser

koagulationskaskaden helt eller delvist. Derfor er bløderne meget længe om at danne fibrinpropper og sårskorpe, hvilket gør det svært at standse blødninger. Hos ubehandlede blødere kan selv en beskeden blødning, fx ved en tandudtrækning, føre til, at personen forbløder til døde.

Blødere inddeles i tre grupper:

- Blødere med svær hæmofili har fra 0 til 1 procent af det gennemsnitlige niveau af fungerende faktor VIII eller IX i blodet.
- Ved moderat hæmofili er niveauet på 1-4 procent.
- Ved mild hæmofili ligger niveauet på 4-24 procent af gennemsnittet.

Skader uden behandling

Mennesker med svær hæmofili kan uden den mindste anledning få smertefulde indre blødninger i musklerne og i bløde kropsvæv som fedtlaget under huden, hvor der kan dannes store blodfyldte cyster. Samtidig kan små sår medføre langvarige blødninger.

Imidlertid er det mest karakteristiske symptom på svær hæmofili blødninger i leddene; især ankler, knæ og albuer. Det angrebne led fyldes med blod og bliver stift, hævet, varmt og ømt. Leddets funktion normaliseres gradvist i takt med, at blodlegemerne nedbrydes, og væsken genoptages i kredsløbet, hvorved hævelsen forsvinder.

En enkelt ledblødning eller to medfører sjældent varige skader. Men ved ubehandlet svær hæmofili kommer ledblødningerne igen og igen; i gennemsnit 35 gange om året. Med tiden nedbrydes brusk i leddet, ledkapslen misdannes, og knoglerne bliver skøre. Konsekvensen er, at leddet bliver permanent beskadiget, stift og svært at bøje. Kronisk leddlidelse hos blødere medfører ofte smerter, vekslende grader af funktionshæmning og hos enkelte svær invaliditet. Uden behandling bliver blødere med svær hæmofili sjældent over 15 år gamle. Den typiske dødsårsag er hjerneblødning, som kan fremkaldes af små stød eller slag mod hovedet. Gennemsnitsalderen for ubehandlede blødere med moderat hæmofili er ca. 30 år, mens ubehandlede blødere med mild hæmofili normalt lever 50-60 år.



Fig. 1.8: Det ligner mishandling, men der er tale om en blødning hos en dreng med svær hæmofili.

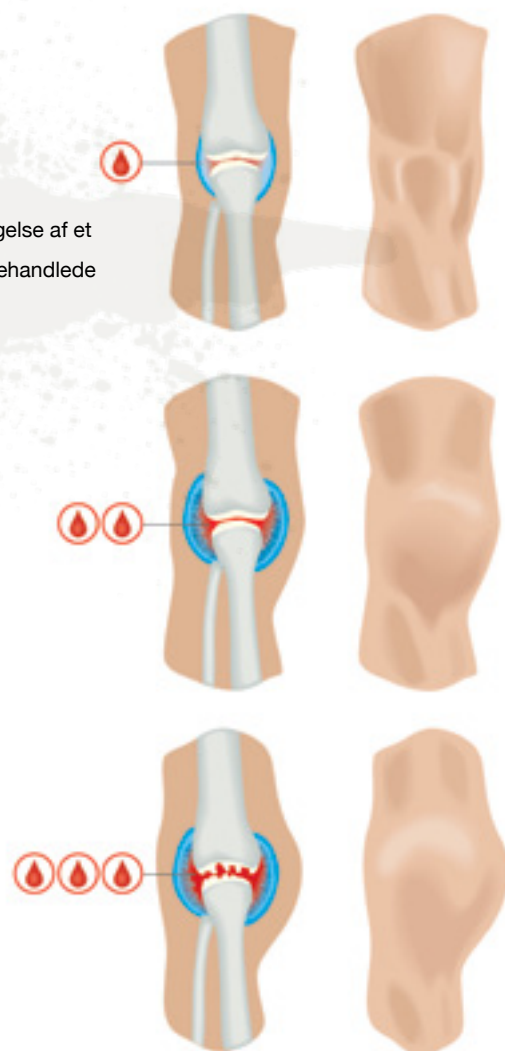


Fig. 1.9: Gradvis ødelæggelse af et knæled ved gentagne ubehandlede blødninger.

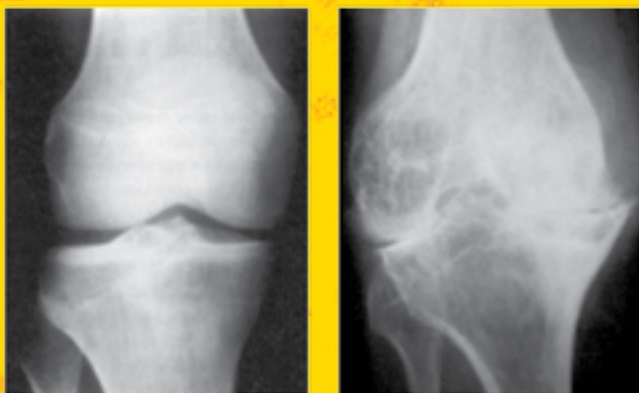


Fig. 1.10: Tv: Røntgenbillede af knæled hos en rask voksen person. Rummet mellem lårbensknoglen og skinnebenet er fyldt med brusk, som ikke absorberer røntgenstrålerne, og som derfor ikke er synligt på billedet. Th: Knæled hos bløder, der har haft gentagne blødninger i leddet. Brusken er væk, og knoglerne er blevet bløde og fyldt med cyster.

Genetik og diagnostik

Hæmofili skyldes mutationer i generne for faktor VIII eller faktor IX, som begge findes på X-kromosomet.

Mænd har et Y-kromosom med godt 200 aktive gener, hvoraf ingen er involveret i blodkoagulation, samt et X-kromosom med over 1000 aktive gener. Hvis der findes et muteret gen for faktor VIII eller faktor IX på X-kromosomet, er manden bløder.

Kvinder har to X-kromosomer. Hvis en kvinde har et muteret gen for faktor VIII eller faktor IX på det ene X-kromosom, er kvinden anlægsbærer. Hun rammes ikke af blødersygdommen, fordi hendes raske X-kromosom koder for dannelsen af tilstrækkeligt med faktor VIII eller faktor IX til, at blodet kan koagulere næsten som normalt. I meget sjældne tilfælde kan en kvinde være bløder; i så fald findes det muterede gen på begge hendes X-kromosomer, eller det raske gen kan være inaktiveret i alle hendes leverceller.

1 ud af 10.000 nyfødte drenge har hæmofili A, mens 1 ud af 30.000 drenge fødes med hæmofili B. Knap halvdelen af tilfældene skyldes nyopståede mutationer, mens resten har været kendt og er blevet nedarvet i familierne i en eller flere generationer.

Arvegang i familier

Når en mandlig bløder får børn med en rask kvinde, vil alle deres døtre blive anlægsbærere, fordi de arver det abnorme X-kromosom fra deres far. Derimod vil parrets sønner være fri for sygdommen, fordi de får deres enlige X-kromosom fra moderen. Når en rask mand får børn med en kvindelig anlægsbærer, er der 50 procents risiko for, at sønnerne bliver blødere, fordi en søn enten kan arve det abnorme eller det raske X-kromosom fra moderen. På samme vis er der 50 procents risiko for, at parrets døtre bliver anlægsbærere.

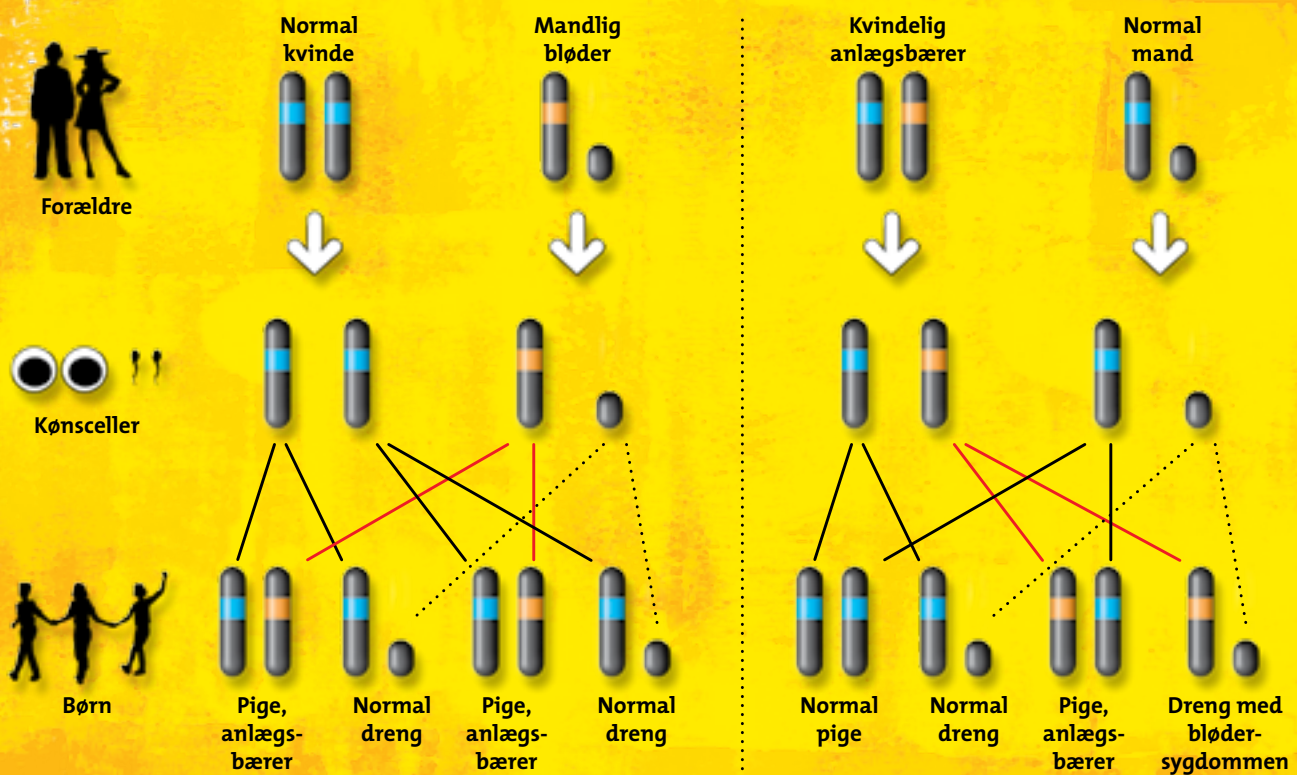
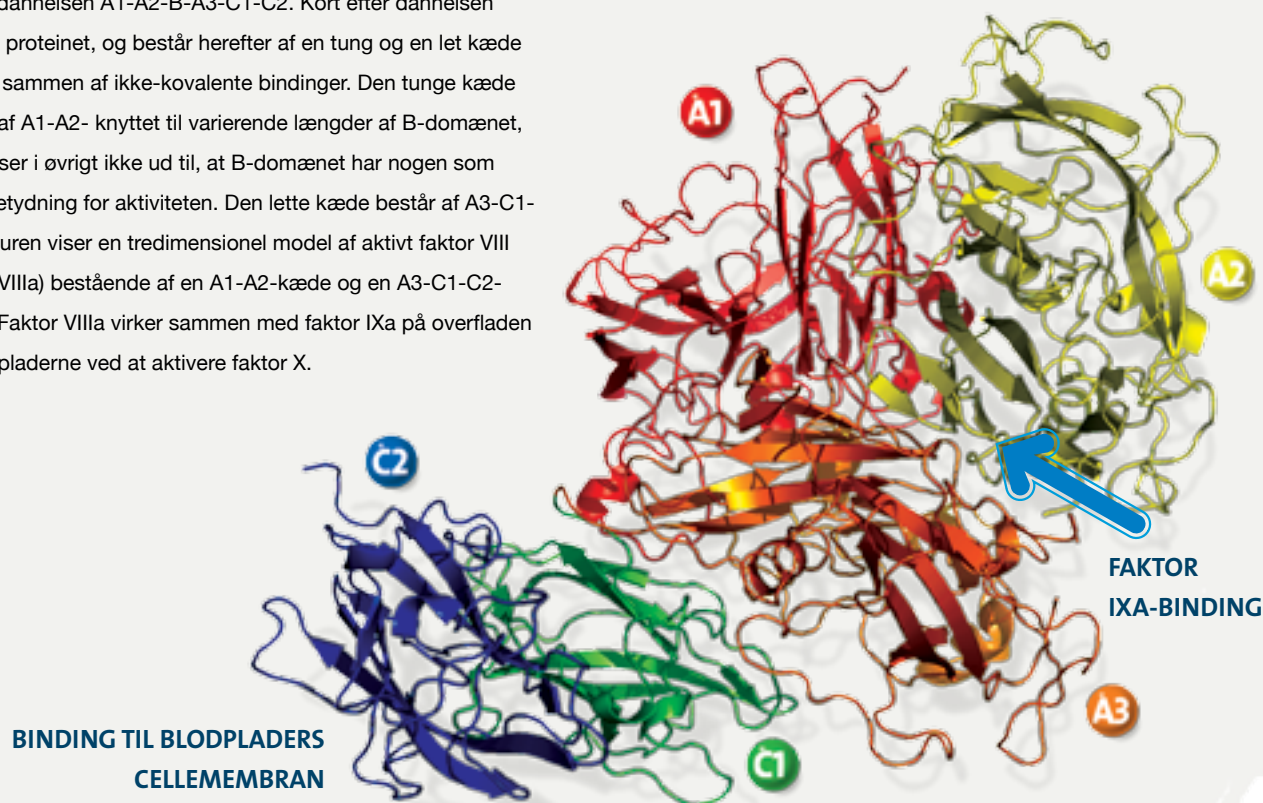


Fig. 1.11: Arvegangen ved hæmofili.

Fig. 1.12: Faktor VIII er et stort protein på 2332 aminosyrer. Analyser af aminosyresekvensen afslører, at proteinet kan opdeles i tre A-, et B- og to C-domæner med stor overensstemmelse i aminosyresekvensen mellem A-domænerne og mellem C-domænerne indbyrdes. Proteinets overordnede struktur er ved dannelsen A1-A2-B-A3-C1-C2. Kort efter dannelsen spaltes proteinet, og består herefter af en tung og en let kæde knyttet sammen af ikke-kovalente bindinger. Den tunge kæde består af A1-A2- knyttet til varierende længder af B-domænet, og det ser i øvrigt ikke ud til, at B-domænet har nogen som helst betydning for aktiviteten. Den lette kæde består af A3-C1-C2. Figuren viser en tredimensionel model af aktivt faktor VIII (faktor VIIIa) bestående af en A1-A2-kæde og en A3-C1-C2-kæde. Faktor VIIIa virker sammen med faktor IXa på overfladen af blodpladerne ved at aktivere faktor X.



Nyopstået hæmofili

Når drenge får sygdommen ved en nyopstået mutation, opdages det normalt tidligt, hvis der er tale om svær eller moderat hæmofili, typisk når drengen begynder at gå – og falde – fordi han får store blå mærker. En anden indikator er hyppige blødninger fra mundhulen, næsen eller andre slimhinder. Ved nyopstået mild hæmofili opdages sygdommen ofte først senere i livet; fx ved kraftige blødninger efter ulykker eller ved operationer.

Når der er mistanke om nyopstået hæmofili, anvendes en såkaldt APTT-test (Aktiveret Partiel Thrombin Tid). Her måles koagulationstiden af drengens blodplasma under standardiserede betingelser i laboratoriet og sammenlignes med koagulationstiden af plasma fra en rask person.

Hvis tiden er forlænget, er det et udtryk for, at der er

noget galt med koagulationssystemet.

Næste trin er at måle mængden og funktionen af drengens faktor VIII og faktor IX i blodet. I det følgende benyttes faktor VIII som eksempel.

Mængden kan bestemmes direkte ved hjælp af antistoffer; hvis den fx ligger på 3 procent af gennemsnittet, er diagnosen moderat hæmofili A.

Selv om mængden af faktor VIII er i normalområdet, kan der alligevel godt være tale om hæmofili, hvis faktorens funktion er nedsat. Funktionen undersøges ved at tilsætte plasma fra drengen til en plasmaprøve, som ikke indeholder faktor VIII. Hvis koagulationstiden er længere end normalt, er aktiviteten af drengens faktor VIII nedsat. Jo længere tid, der går, jo mere nedsat er aktiviteten.

Når blødersygdommen er konstateret, anvendes genetiske metoder til at identificere mutationen.

Et utal af mutationer

Faktor VIII er et af de største humane proteiner; det er opbygget af 2332 aminosyrer. Genet for faktor VIII er tilsvarende stort og består af 186.000 basepar. Genet indeholder 26 exons, der koder for aminosyrer. Når det gælder svær hæmofili A, skyldes 38 procent af tilfældene inversioner, hvor en DNA-sekvens vender forkert. I andre tilfælde er hele genet eller mindre dele af det gået tabt. Sygdommen kan også skyldes, at ekstra basepar er tilføjet eller forsvundet (frame-shift mutation), at stopkoder er opstået inde i genet, eller små mutationer som fører til, at en enkelt aminosyre i proteinet udskiftes med en anden. I 2003 var der beskrevet 943 forskellige mutationer i genet. Genet for faktor IX indeholder 33.500 basepar og 8 exons. Proteinets består af 415 aminosyrer. I 2004 var 962 forskellige mutationer påvist i genet.



FAKTA

Ægsortering

Ægsortering – præimplantationsdiagnostik – er et alternativ til fosterdiagnostik for hæmofili. Her undersøges kunstigt befrugtede æg inden opsætning i kvindens livmoder. I Danmark tilbydes en udgave af metoden, som påviser fostrets køn. Parret har så mulighed for at fravælge drengefoster, som har 50 procents risiko for at blive blødere. På eksperimentelt plan er der nu også udviklet en teknik, der kan bestemme, om et drengefoster vil få hæmofili eller være fri for blødersygdommen.

Inden diagnosticeringen stimuleres kvindens ægløsning, hvorpå æggene udtages og befrugtes. Derpå dyrkes de i laboratoriet i tre dage. På det tidspunkt indeholder æggene 6-10 celler og kaldes blastocyster. Normalt anvendes blastocyster med 8 celler ved ægsortering. En af cellerne suges ud af embryoet med en tynd pipette, og arvmassen isoleres. Barnets køn kan fx påvises ved hjælp af *in situ* hybridisering. Her bru-

Gentest

Ved en gentest leder lægerne først efter kendte mutationer. Hvis det ikke lykkes at finde nogle af dem, kan den specifikke mutation påvises ved at sekventere hele genet.

Søstre til kvinder, der har født en bløderdreng, tilbydes anlægsbærerdiagnostik. I første omgang måles koncentrationen og aktiviteten af faktor VIII eller faktor IX i kvindens blod. Hvis koncentrationen eller aktiviteten af den relevante faktor er lav, er det sandsynligt, at kvinden er anlægsbærer. I så fald gennemføres en gentest. Hvis mutationen i familien er kendt, anvender lægerne normalt en kombination af PCR (Polymerase Chain Reaction) og DNA-elektroforese, som påviser mutationen direkte.

Anlægsebærere tilbydes fosterdiagnostik og rådgivning i tilfælde af graviditet. Fosterdiagnostik kan enten udføres som moderkageprøver fra 10. uge af graviditeten eller som fostervandsprøver efter 16. uge af graviditeten.

ges der små DNA-prober, som binder sig til specifikke gensekvenser på Y-kromosomet. En fluorescerende markør er koblet til DNA-proberne. Så kan man se i et mikroskop, om de binder sig til et Y-kromosom. Hvis det er tilfældet, vil det pågældende foster udvikle sig til et drengebarn, hvorfor det frasorteres. Kun pigefoster opsættes i kvindens livmoder.

Ved den nye eksperimentelle metode, som kan vise, om et drengefoster vil udvikle blødersygdommen, er de indledende trin de samme. Når den kvindelige anlægsebærers mutation er kendt, kan en analyse af DNA fra den udsugede celle bruges til at vise, om fostret har arvet hendes abnorme eller normale X-kromosom. Et drengefoster med det normale X-kromosom opsættes i kvindens livmoder.

Ægsortering rummer visse risici, selv om de hidtidige erfaringer ikke tyder på, at blastocyster tager skade af, at en af cellerne udsuges. Men da man fjerner en ud-

af otte kopier af fostrets arvmasse, kan skader ikke udelukkes.

Ægssortering rejser også etiske problemstillinger. Er det rimeligt at frasortere fostre på grund af deres køn? Eller på grund af deres egenskaber? Når det gælder en alvorlig sygdom som hæmofili, vil nogle finde, at

ægssortering er retfærdiggjort, mens andre vurderer, at ægssortering er uberettiget, fordi der findes en god behandling til blødere.

Problemstillingen vil blive sat på spidsen, hvis det en dag bliver muligt at udvælge fostre med overlegne fysiske og intellektuelle egenskaber eller at skabe egentlige *designer-babies*, hvor man manipulerer med normale fostres arvmasse inden opsætning i kvindens livmoder.

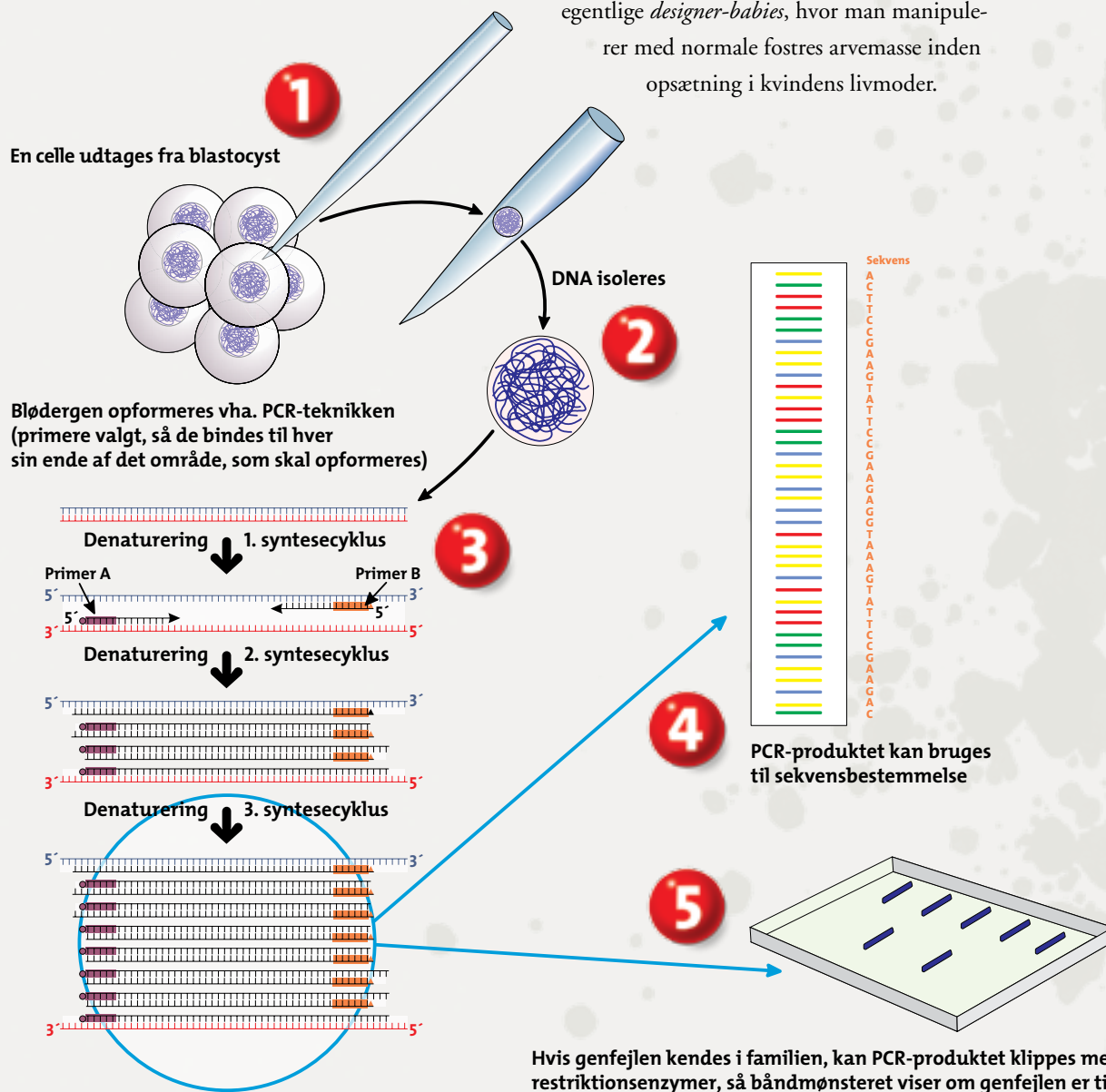


Fig. 1.13: Bestemmelse af, om et drengefoster har blødersygdommen: 1) En celle fjernes fra blastocysten. 2) DNA isoleres fra cellen. 3) PCR-metoden anvendes til at opformere den DNA-sekvens, hvori mutationen findes på moderens abnorme X-kromosom. Ved PCR anvendes to primere – genetiske fiskekroge – der binder sig til hver sin ende af DNA-sekvensen. Mellem de to primere kører enzymet DNA-polymerase hver sin vej hen ad de to strenge i DNA-dobbeltspiralen og kopierer strenge undervejs. På den måde fremstilles en kopi af DNA-sekvensen. Ko-

peringen gentages igen og igen, indtil der er nok kopier til at gennemføre en videre analyse. 4) Den PCR-kopierede DNA-sekvens sekventeres, hvorved nukleotidernes type og rækkefølge bestemmes. Analysen viser, om drengefostret har arvet moderens abnorme X-kromosom og vil udvikle hæmofili. 5) Hvis man kender den nøjagtige mutation, kan det være lettere at klippe PCR-produktet med restriktionsenzym. Så vil båndmønstret (DNA-længderne) vise, om drengefostret har arvet moderens defekte gen.

Behandling af hæmofili



Fig. 1.14: Hans injicerer sin medicin hver tredje dag.

Forebyggelse

Ved svær hæmofili er forebyggende behandling essentiel, fordi den forhindrer spontane blødninger og de efterfølgende, irreversible skader. Derfor bør behandlingen indledes, inden de første skader opstår; dvs. når barnet er 1½ til 2 år gammelt.

Målet er at holde faktorkoncentrationen i blodet på et niveau, der aldrig kommer under 1-3 procent af det gennemsnitlige niveau i befolkningen. Forebyggelsen ændrer med andre ord svær hæmofili til moderat eller mild hæmofili, hvor spontane blødninger er sjældne. Den præcise dosering fastsættes individuelt ved at indgive en standarddosering af faktorkoncentrat, hvorefter halveringstiden i blodet bestemmes. For faktor VIII ligger halveringstiden på 8-12 timer, mens halveringstiden for faktor IX er 20-30 timer. Dosis afpasses efter den individuelle halveringstid i blodet. Injektionerne tages hver anden dag ved hæmofili A og hver tredje dag ved hæmofili B på grund af den længere halveringstid.

Behandling

Spontane blødninger opstår især ved svær hæmofili, mens blødninger efter mindre legemsbeskadigelser

Behandling af hæmofili er erstatningsterapi, der går ud på at forsyne bløderen med den koagulationsfaktor, som han mangler. Behandlingen gives forebyggende, i forbindelse med blødninger og før operationer.

Medicinen injiceres i en vene.

rammer alle blødere. Behandling med faktorkoncentrat bør indledes straks ved enhver mistanke om blødning. Man kan sammenligne med brand, hvor man let kan slukke et lille bål, men hvor slukningen er anderledes krævende og skaderne tilsvarende større, hvis der når at gå ild i hele skoven.

Ved milde blødninger i muskler og led skal faktorkoncentrationen i blodet hæves til 30-40 procent af det normale niveau.

Ved alvorlige blødninger hæves faktorkoncentrationen til 60-80 procent af det normale niveau.

Ved operationer hæves faktorkoncentrationen til 100 procent af det normale niveau.

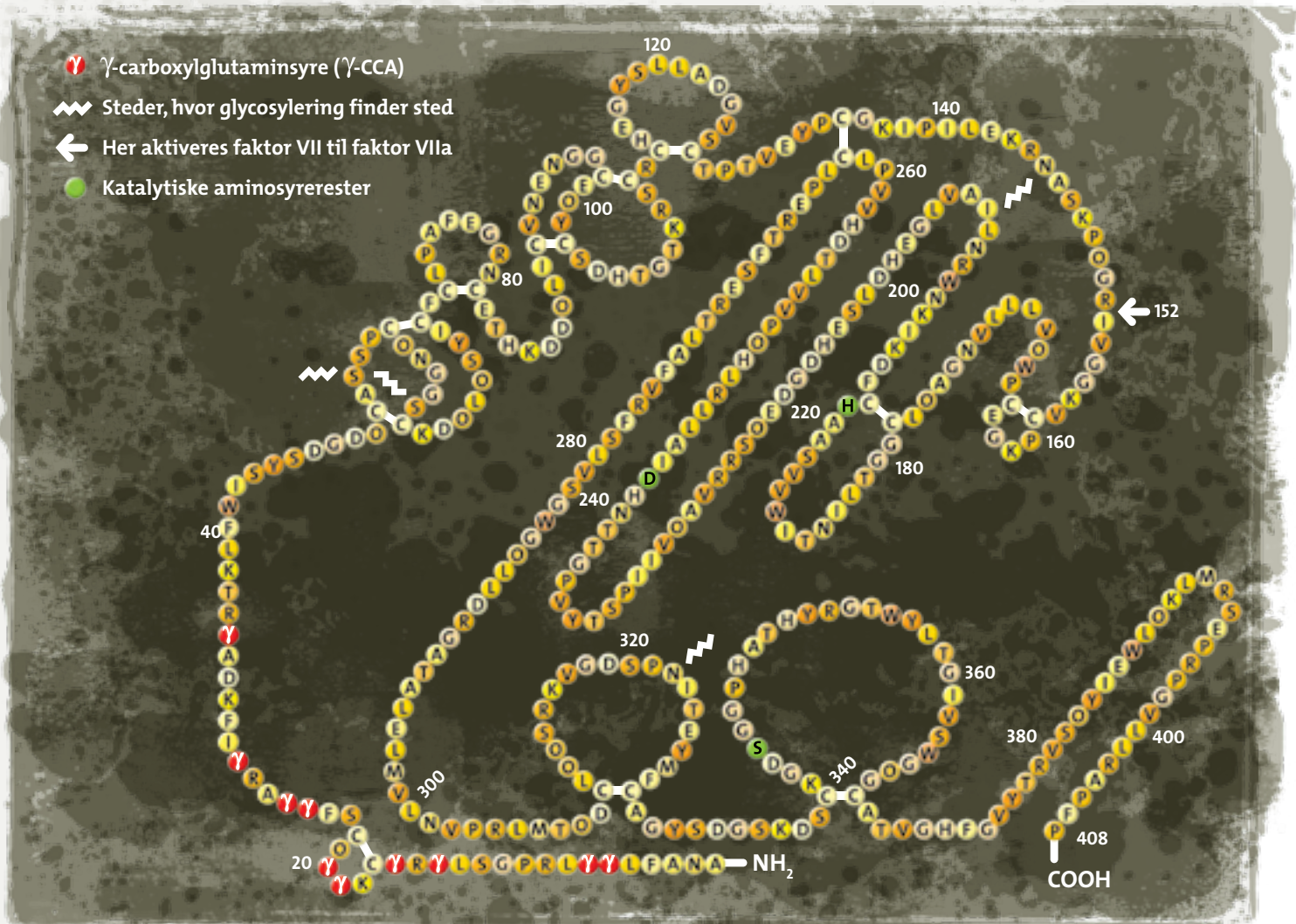
Inhibitorpatienter

Omkring hver femte patient med svær hæmofili danner antistoffer mod faktormedicinen, som immunforsvaret opfatter som fremmed, fordi kroppen enten ikke selv danner faktor VIII eller faktor IX, eller fordi den danner så defekte udgaver af proteinerne, at kroppen opfatter den tilførte faktor som fremmed. Antistofferne kaldes inhibitorer, og de får immunfor-

Fig. 1.15: Human faktor VII. Efter proteinet er fremstillet i ribosomet, modificeres molekylet ved 1) γ -carboxylering af 10 glutamin aminosyrerester i den N-terminale del af molekylet. 2) N-glycosylering af asparagin aminosyrerester i positionerne 145 og 322. 3) O-glycosylering af serin aminosyrerester

i positionerne 52 og 60. Proteinet omdannes til sin aktive enzymatiske form ved spaltning af peptidbindingen mellem arginin 152 og isoleucin 153. Det aktive enzym består af 406 aminosyrer i to kæder, der holdes sammen af en disulfidbinding mellem cystein 135 og cystein 262 samt af

hydrogenbindinger. Binding til de aktiverede blodplader sker ved hjælp af aminosyrerne 1-40. Binding af faktor X sker ved hjælp af aminosyrerne 41-152. Faktor X aktiveres til faktor Xa ved hjælp af serinproteasedelen, aminosyrerne 153-406; specielt er histidin 193, asparaginsyre 242 og serin 344 vigtige.



svaret til at eliminere medicinen fra blodet. Det gør den normale behandling uvirksom.

I det følgende benyttes hæmofili A som eksempel. Her er det første trin i diagnosticeringen af en inhibitorpatient at måle koncentrationen og aktiviteten af faktor VIII i blodet, når værdierne er i bund lige inden en forebyggende injektion. Herefter måles værdierne igen efter injektion af faktor VIII. Hvis koncentrationen eller aktiviteten efter indgiften stadig er for lav, bekræftes diagnosen ved specifik påvisning af faktor VIII antistoffer og deres aktivitet. Når lægerne opdager, at en bløder danner inhibitorer,

prøver de at gøre personens immunforsvar tolerant over for faktor VIII ved at give meget store doser af til to gange i døgnet. Målet er at opnå en så massiv koncentration af faktor VIII i blodet, at de antistofdannende celler frasorteres, fordi immunsystemet efterhånden opfatter den tilførte faktor VIII som naturligt forekommende i kroppen. Jo tidligere efter diagnosticeringen, behandlingen indledes, jo større er chancerne for succes.

Hvis det ikke lykkes at stoppe dannelsen af antistofferne, må bløderen behandles med alternative faktor-koncentrater, som øger blodets evne til at koagulere

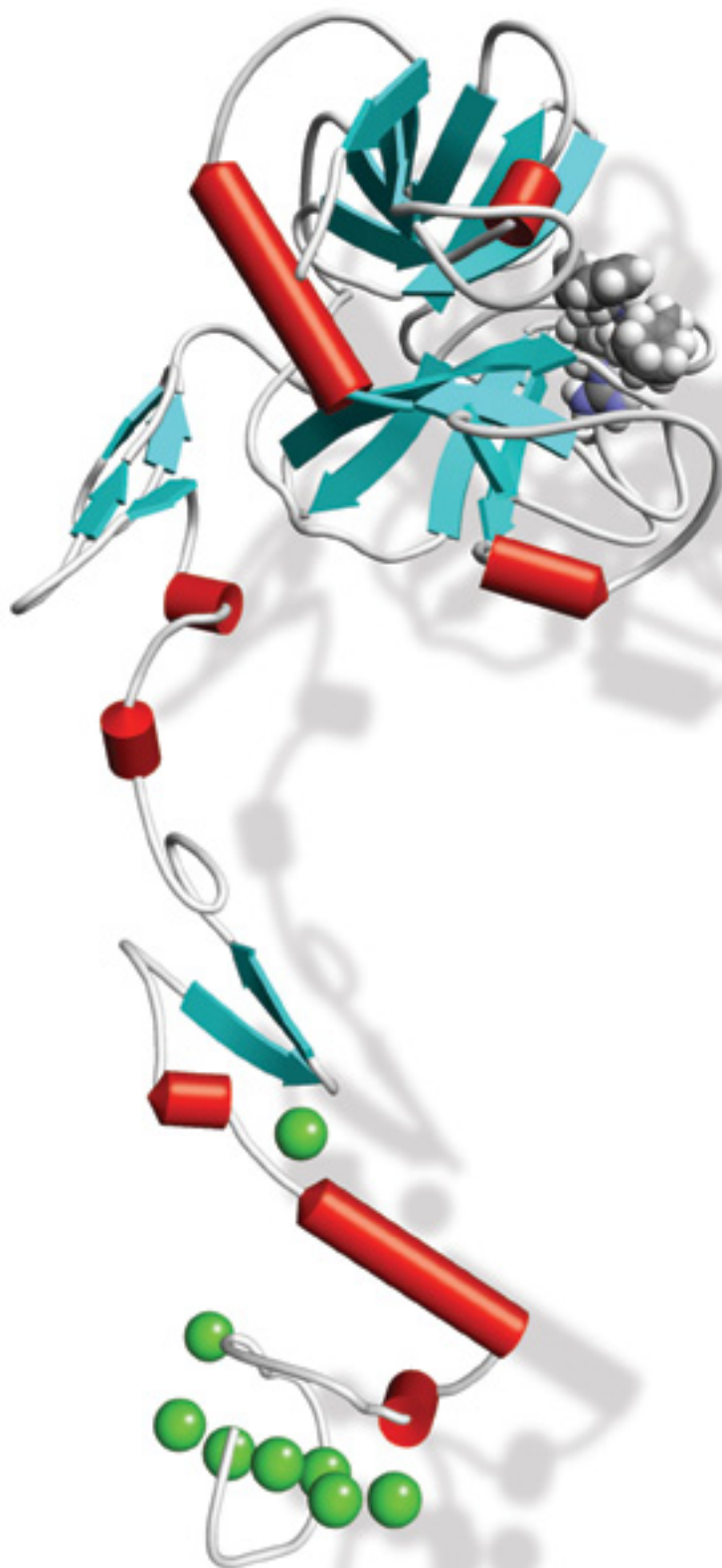


Fig. 1.16a: Tredimensionel struktur af faktor VIIa. Røde cylindere angiver stykker med α -helix, mens pile angiver β -foldebladstruktur. Enzymets aktive center ses, hvor der er bundet en inhibitor (L-phe-phe-arg-chlormethylketon), vist på figuren med en kalotmodel. Enzymets N-terminale del ses nederst, hvor der er bundet Ca^{2+} , vist som grønne kugler.

uden hjælp fra faktor VIII. Et af de alternative lægemidler er rekombinant faktor VIIa, som blødere ikke danner antistoffer imod, fordi de har faktoren i kroppen i forvejen. Rekombinant faktor VIIa anvendes både ved forebyggende behandling af inhibitorpatienter og til behandling af blødninger.

I begge situationer anvendes doser, som ligger langt over blodets normale niveau af faktor VIIa. Virkningen udøves på overfladen af aktiverede blodplader, som danner den første prop i et bristet blodkar. Her bindes rekombinant faktor VIIa til blodpladernes overflader, hvor rekombinant faktor VIIa aktiverer faktor X til faktor Xa. Det sætter gang i produktionen af thrombin og dermed af fibrin, så der dannes fibrinpropper. De store doser er nødvendige for at opnå den fornødne effekt, fordi faktor X skal aktiveres uden medvirken fra faktor VIII eller IX, der normalt accelererer koagulationskaskaden på overfladen af de aktiverede blodplader.

Selv om faktor VIIa ved behandlingen cirkulerer i blodet i sin aktive form, skaber medicinen ikke koagulation i hele kredsløbet, hvilket ville medføre blodpropper. Fidusen er, at faktor VIIa ikke binder sig til inaktive blodplader. Binding til blodpladerne sker kun, når de aktiveres ved brudstedet og eksponerer negativt ladede phospholipider på deres overflader. Rekombinant faktor VIIa er i mere end 90 procent af tilfældene i stand til at standse svære blødninger hos inhibitorpatienter.

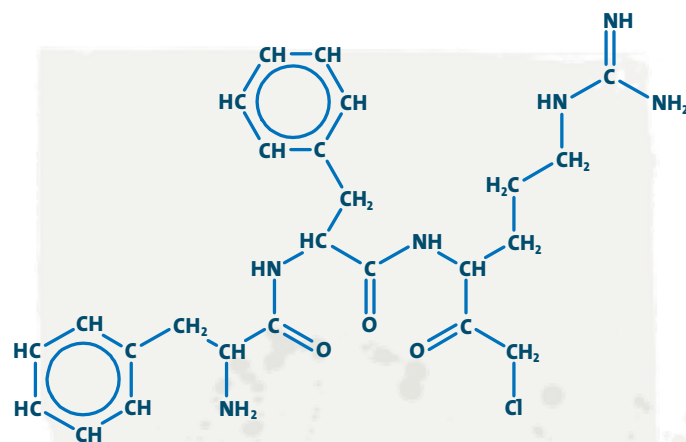


Fig. 16b: Strukturen af inhibatoren L-phe-phe-arg-chlormethylketon.

Ny forskning giver håb: Blødermedicin kan redde ofre for ulykker, skud og knivstikkeri



I dag anvendes rekombinant faktor VIIa til at behandle en lille gruppe blødere, der danner inhibitorer. Men nye undersøgelser peger på, at faktor VIIa-produktet NovoSeven kan standse livstruende blødninger generelt. De mest lovende resultater er opnået ved behandling af traumer, dvs. voldsomme blødninger som følge af trafikulykker, fald, skudsår og knivstikkeri.

Det første tegn på, at faktor VIIa har potentialet til at redde liv ved traumer, viste sig i 1999, da en israelsk soldat blev skudt i underlivet, som blev flået op af kuglen. Blødningen var så voldsom, at blodtransfusioner ikke kunne holde blodtrykket oppe, og normalt ville lægerne have opgivet at redde mandens liv. Men en læge gjorde alligevel et sidste forsøg og gav ham en dosis rekombinant faktor VIIa. På blot ti minutter blev blødningen dramatisk reduceret, og efter endnu en dosis standsede blødningen helt. Soldaten overlevede.

Rekombinant faktor VIIa er ikke godkendt til behandling af traumer, men Novo Nordisk A/S har i

samarbejde med hospitaler i syv lande gennemført et lovende fase II-forsøg (kliniske forsøg inddeles i fire faser, se side 42-43). I forsøget deltog patienter med traumer som følge af vævsskader, der især skyldtes trafikulykker, samt voldsofre med sår efter skud eller knivstikkeri.

Færre blodportioner

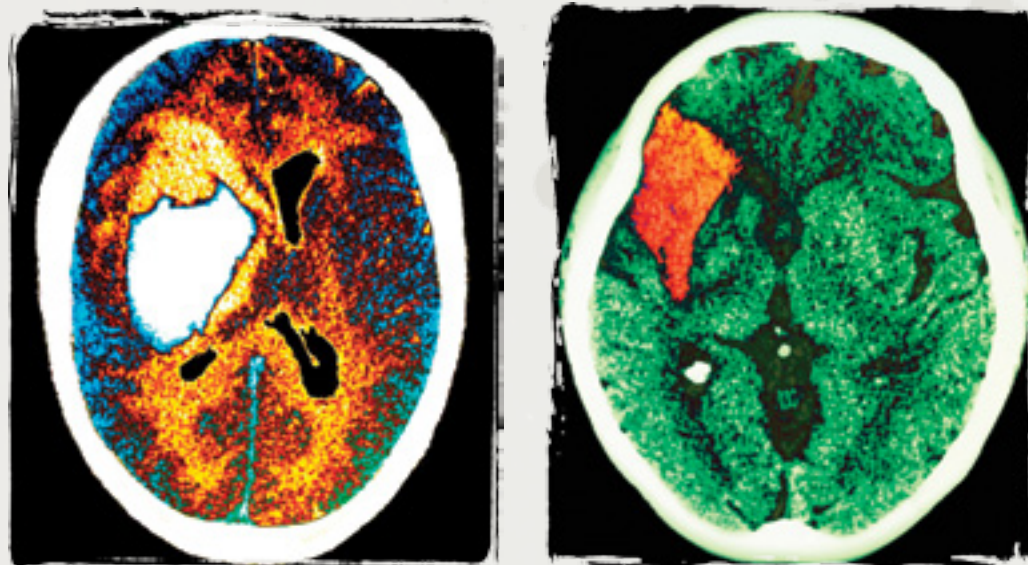
Det primære mål med fase II-forsøget var at undersøge, om rekombinant faktor VIIa kan nedbringe behovet for massive blodtransfusioner i de første to døgn efter behandlingens start. Det viste sig at være tilfældet, især når det gælder trafikofre.

Massive blodtransfusioner medfører risiko for potentielt dødelige organsvigt eller akut åndedrætssyndrom. For nylig har et internationalt studie med 5.000 traume patienter vist en klar sammenhæng mellem antallet af givne blodportioner og risikoen for at dø. Dødeligheden blandt de patienter, som havde fået mere end 20 blodportioner, var over 50 procent, mens dødeligheden blandt de patienter, som kunne klare sig med



Fig. 1.17: Traumer rammer især unge, og voldsomme blødninger er den hyppigste dødsårsag for mennesker under 45 år i den vestlige verden. Traumer opstår især efter trafikulykker og vold med skydevåben og knive.

Fig. 1.18: Slagtilfælde kan enten skyldes hjerneblødninger eller blodpropper i hjernen, og forudsætningen for medicinsk behandling er en sikker diagnose af årsagen. Blodpropper behandles nemlig med blodfortyndende medicin, som vil være gift for patienter med hjerneblødninger. Diagnosen stilles med CT-scanninger. Ved en hjerneblødning bliver det skadede område lyst i billedet, mens det skadede område bliver mørkt ved blodpropper (her rødt).



11-20 blodportioner, lå på 30 procent.

Fase II-forsøget viste, at injektioner med faktor VIIa formindskede behovet for transfusioner med i gennemsnit 2,6 blodportioner hos de eksperimentelt behandlede trafikofre sammenlignet med kontrolgruppen. Behovet for blodportioner blev ligeledes nedsat hos de behandlede patienter med sår efter skud eller knivstikkeri, men her var forskellen til kontrolgruppen ikke statistisk signifikant.

Studiet gav også anledning til en anden væsentlig konklusion. Nemlig at behandling med rekombinant faktor VIIa ikke medfører øget risiko for små blodpropper i luftvejene eller i hjernen. Disse livsfarlige bivirkninger undgås, fordi blødermedicinen ikke frembringer systemisk koagulation i blodkredsløbet, men kun ved de bristede blodkar.

Øget overlevelse

Forsøget blev udført på 32 hospitaler i Australien, Canada, Frankrig, Tyskland, Singapore, Sydafrika og Storbritannien. Det væsentligste kriterium for at deltage var, at patienterne havde fået seks blodtransfusioner inden for de første fire timer efter indlæggelsen. Samtlige patienter var i aldersgruppen mellem 16 og 65 år.

I alt 143 patienter med traumer som følge af vævsskader, primært trafikofre, samt 134 patienter med sår efter skud og knivstikkeri blev udvalgt. Derpå blev begge grupper inddelt i to undergrupper. Den ene undergruppe fik den sædvanlige behandling plus tre

injektioner med rekombinant faktor VIIa inden for tre timer, mens den anden undergruppe fungerede som kontrolgruppe, hvor patienterne fik den almindelige behandling plus et placebo.

I løbet af de første meget kritiske 48 timer var der nogenlunde lige mange dødsfald i de eksperimentelt og normalt behandlede undergrupper. Men blandt de patienter, der klarede sig igennem de første 48 timer, medførte den eksperimentelle behandling en forøget overlevelse både blandt trafikofre og voldsofre.

I gruppen af trafikofre drejede det sig om 56 eksperimentelt behandlede patienter, hvoraf 51 stadig var i live en måned senere. I den lidt større kontrolgruppe overlevede 61 patienter de første to døgn, mens 52 var i live en måned senere. I gruppen af voldsofre overlevede 58 eksperimentelt behandlede patienter de første to døgn, og 51 var i live en måned senere. Det samme gjaldt for 44 ud af 54 patienter i kontrolgruppen.

Novo Nordisk A/S har nu i samarbejde med hospitaler i Europa, Asien, Sydamerika og USA indledt et fase III-studie med deltagelse af 1.500 patienter. Studiet ventes afsluttet i 2010, og det vil forhåbentlig give et definitivt svar på, om NovoSeven kan redde livet for nogle af de traumepatienter, som forbløder til døde med den nuværende behandling.

Rigtig mange – især unge liv – står på spil. Omkring fem millioner mennesker dør hvert år af traumer i den vestlige verden.

FAKTA

Den svære vej til behandling af hjerneblødninger

Et vellykket fase II-studie er ingen garanti for, at en lovende lægemiddelkandidat bliver til et kommercielt lægemiddel. Det måtte Novo Nordisk A/S sande med hensyn til at bruge rekombinant faktor VIIa til behandling af hjerneblødninger.

Et fase II-studie fra 2005 tydede ellers på, at faktor VIIa både reducerede dødeligheden og andelen af

patienter, som må leve med svære handicap efter en hjerneblødning. Men effekterne var knap så gode i et efterfølgende fase III-studie.

Derfor har Novo Nordisk A/S ikke søgt om godkendelse til at bruge blødermedicinen til behandling af hjerneblødninger.



Genterapi – fra behandling til kur?

Ved genterapi erstattes et manglende eller uvirksomt gen med det korrekte gen, som indføres i de relevante celler i kroppen. Så udtrykker cellerne genet og danner proteinet. Hvis alt går lige efter bogen, er sygdommen helbredt for altid.

Hæmofili er en ideel kandidat til genterapi, fordi sygdommen skyldes mangel på et enkelt protein, som cirkulerer i blodplasma i små mængder. Samtidig er målet beskedent i den forstand, at en genterapeutisk syntese af den manglende faktor på blot 1-2 procent af det normale niveau er nok til at forvandle svær hæmofili til moderat hæmofili.

Den eksperimentelle behandlingsform er afprøvet med succes i mus med blødersygdommen, hvor genterapien har ført til stabile niveauer på op til 30 procent af faktor VIII eller faktor IX i musenes blod. Det er også lykkedes at få dannet de manglende faktorer i hunde og rhesusaber med hæmofili, men effekten har ikke været lige så stabil. Kliniske forsøg med at

behandle blødere har vist, at selv om genterapi i princippet er simpel, så er den nye behandlingsform svær at omsætte til praksis.

Ind i cellerne med virus

En af de store vanskeligheder ved genterapi er at få indført generne i målcellerne på en måde, så generne udtrykkes stabilt og i tilstrækkelig grad. Ved alle hidtidige forsøg med at behandle mennesker har man brugt harmløse eller svækkede vira som vektorer til at indføre generne i kroppen. Når det gælder blødersygdommen, satser flere forskergrupper på adeno-associeret virus (AAV), som aldrig inficerer mennesker under normale forhold.

Inhibitorer?

Et åbent spørgsmål ved behandling af svær hæmofili med genterapi er risikoen for, at patienterne danner antistoffer, inhibitorer, mod de proteiner, som de

Eksperimentel genterapi til behandling af svær hæmofili B

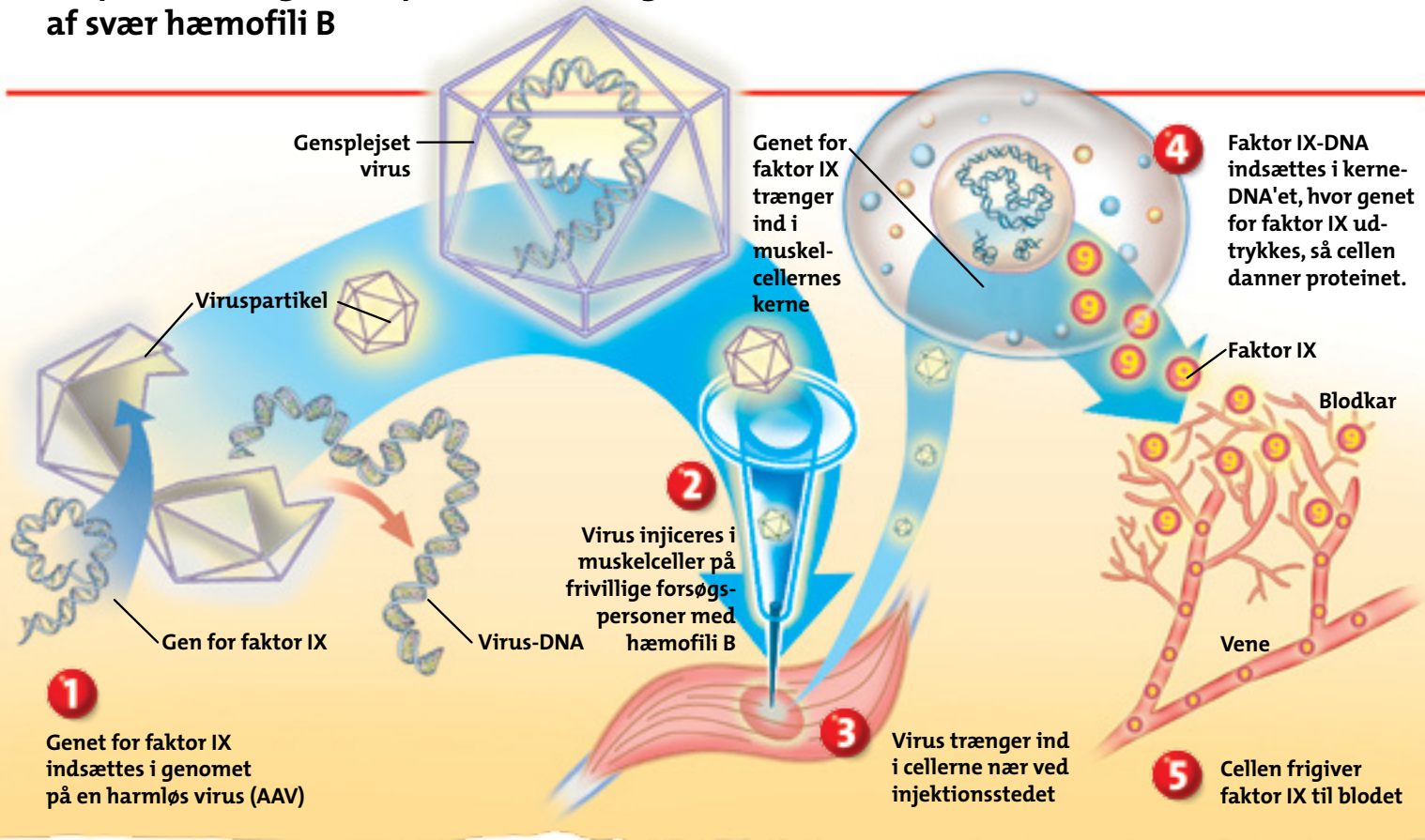


Fig. 1.19: Princip for genterapi til behandling af hæmofili.

indsatte gener koder for – på samme måde, som det kan ske ved almindelig erstatningsterapi. Det prøvede amerikanske forskere fra Stanford University og Childrens Hospital of Philadelphia at tage højde for, da de i 1999 indledte en serie forsøg med at behandle svær hæmofili B. For det første udvalgte forskerne tre patienter, som selv danner faktor IX, omend i en uvirksom form. For det andet blev AAV-virus injiceret i muskelceller, hvor virus kun indføres i cellerne i et meget begrænset område, som kunne fjernes ved en biopsi, hvis behandlingen gik galt. Men genterapien gik godt. Der var ingen bivirkninger, patienterne dannede ingen inhibitorer, og faktor IX kunne påvises i blodet, da der var gået 12 uger efter injektionen. Selv om forsøget kun skulle teste sikkerhed ved lave doser, nåede koncentrationen af faktor IX op over tærskelværdien på 1 procent. Efter genterapien kunne to ud af de tre patienter i en pe-

riode klare sig med færre forebyggende injektioner af almindelig medicin end normalt.

I et nyere forsøg blev tre andre blødere behandlet med injektioner direkte i leveren, hvor faktor IX normalt produceres, hvilket har været mest effektivt i dyreforsøg. I starten gik alt godt, men i 2004 standsede firmaet Avigen i Californien det kliniske forsøg, fordi to af bløderne fik forhøjede niveauer af bestemte leverenzymmer, hvilket tyder på, at deres immunforsvar var gået til angreb på de genetisk omdannede leverceller. Forskerne fra Stanford og Childrens Hospital undersøger nu i dyreforsøg, om immunreaktionen kan undgås ved at supplere genterapien med samtidig indgivelse af medicin, der undertrykker immunforsvaret i en kort periode.

Trods vanskelighederne skrider udviklingen af genterapi hele tiden fremad. Men en egentlig kur for blødersygdommen ligger nok mindst ti år ude i fremtiden.

Produktion af rekombinant medicin

Alle danske blødere behandles i dag med rekombinante faktorkoncentrater. Her beskrives produktion af rekombinant faktor VIIa på Novo Nordisk A/S. Tilsvarende metoder anvendes ved produktion af rekombinant faktor VIII og faktor IX, som fremstilles af firmaer som Aventis Behring, Bayer HealthCare, Baxter og Wyeth.

Udgangspunktet er en cellekultur med nyreceller fra babyhamstere, hvor genet for faktor VII er indsat, så hamstercellerne producerer det humane protein. En beholdning af cellerne opbevares i en såkaldt masterbank. Her lagres cellerne i afdampet gas fra flydende nitrogen ved en temperatur på minus 196 °C, hvilket sikrer cellernes stabilitet. Inden lagringen er cellerne blevet testet for korrekt funktion af det humane gen samt fravær af bakterier, vira og svampesporer. En arbejdscelebank er etableret ud fra en enkelt beholder fra masterbanken. Herfra hentes celler til opformering, først i mindre bioreaktorer og siden i store tusindliters reaktorer. Under opformeringen dyrkes cellerne på overfladen af mikropartikler, som holdes flydende i vækstmediet ved omrøring. Faktor VII udskilles til vækstmediet.

Ved høsten adskilles cellerne og vækstmediet, hvorpå oprensningen indledes. Første trin er en anionisk ionbyttingskromatografi (se fig. 1.21), hvor vækstmediet passerer gennem en kolonne, som er positivt ladet. Herved tiltrækkes negativt ladede aminosyrer til kolonnens overflade, hvilket får faktor VII og andre negativt ladede proteiner til at binde sig til kolonnen. Kolonnen elueres (udtrækkes) med en opløsning med stigende saltkoncentration. Efterhånden som saltkoncentrationen stiger i kolonnen, vil de proteiner, der er bundet til kolonnen, elueres afhængigt af deres ladning. Ens molekyler vil blive elueret ved én bestemt saltkoncentration, og på den måde separeres faktor VII fra andre proteiner i vækstmediet.

- 
- 1 Arbejdscelebank
 - 2 Opformering af celler i laboratorieskala
 - 3 Opformering af celler i industrielle bioreaktorer
 - 4 Adskillelse af celler og vækstmedium
 - 5 Høst af rekombinant faktor VII fra vækstmediet
 - 6 Første anioniske ionbyttingskromatografi
 - 7 Inaktivering af virus
 - 8 Immunoaffinitetskromatografi
 - 9 Anden anioniske ionbyttingskromatografi
 - 10 Tredje anioniske ionbyttingskromatografi
 - 11 Faktor VIIa klar til påfyldning...
 - 12 ...og pakning

Fig. 1.20: Produktion af rekombinant faktor VIIa trin for trin.

Efter det første oprensningstrin tilføres den isolerede faktor et opløsningsmiddel, som dræber eventuelle vira.

Det næste oprensningstrin finder sted ved immunoaffinitetskromatografi. Her passerer væsken gennem en kolonne, hvor indersiden er dækket med antistoffer, som specifikt binder faktor VII. Metoden giver en meget effektiv oprensning. Hvordan faktoren præcist elueres fra kolonnen på Novo Nordisk A/S, er en

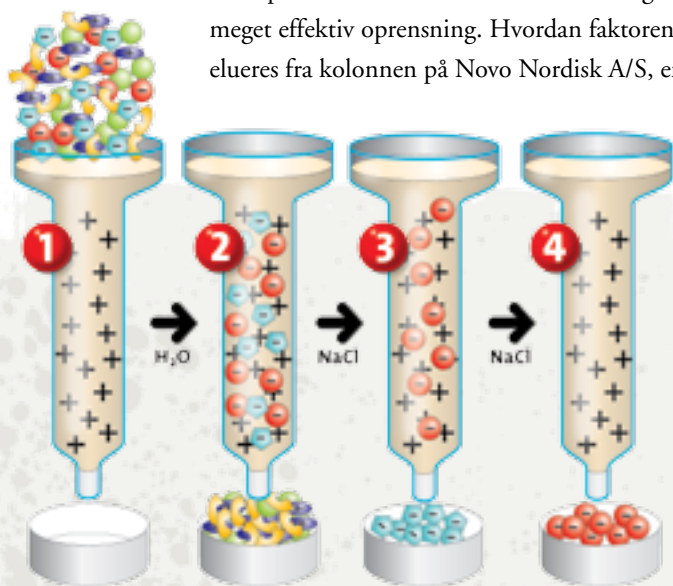


Fig. 1.21: Anionisk ionbytningkromatografi: 1+2: Vækstmediet passerer gennem kolonnen. Proteiner med negativ ladning, herunder faktor VII, bindes til kolonnens positivt ladede overflade, mens positivt ladede proteiner passerer igennem. 3+4: Kolonnen elueres med en opløsning med stigende saltkoncentration. Efterhånden som saltkoncentrationen stiger, vil de bundne proteiner blive elueret hver for sig afhængigt af deres ladning. På den måde separeres faktor VII fra andre proteiner i vækstmediet.

fabrikshemmelighed. Men i følge litteraturen kan immunoaffinitetskolonner elueres ved at sænke pH. Ved lavt pH vil en del af de grupper i antistofferne og proteinet, der vekselvirker med hinanden, få en anden ladning, end de havde ved højere pH. Når ladningerne ændres, vil antistofferne binde proteinet dårligere, og proteinet vil blive elueret.

Aktivering

Den rekombinante medicin består af faktor VIIa. Aktivering af faktor VII finder sted ved, at peptidkæden i faktor VII klippes over efter aminosyreresten arginin 152, hvorved den aktive form med to kæder dannes. Aktiveringen sker under den anioniske ionbytningkromatografi. Mekanismen er ikke fuldt forstået, men den skyldes sandsynligvis, at vækstmediet indeholder spormængder af faktor VIIa, som enten kan være blevet aktiveret af proteaser i hamstercellerne eller af proteaser i vækstmediet. Teorien går ud på, at de små mængder faktor VIIa autoaktiverer faktor VII, når store mængder af proteinet koncentrerer på samme sted i kolonnen.

For at sikre en så høj grad af aktivering som muligt gennemføres to ekstra runder med anionisk ionbytningkromatografi. Herved bliver udbyttet af rekombinant faktor VIIa næsten 100 procent.

Efter oprensning og aktivering frysetørres faktorproduktet og fyldes på glas. Ved brug opløses det frysetørrede præparat i vand, før det injiceres.

FAKTA

Svin – fremtidens medicinproducenter?

Optimal medicinering af en bløder koster op mod en million kr. om året. Den høje pris betyder, at mange blødere selv i verdens rigeste lande kun behandles ved akutte blødninger. Fx får 77 procent af alle bløderbørn i USA ingen forebyggende behandling. I udviklingslandene må langt de fleste blødere klare sig helt uden behandling eller med gammeldags præparater som kryopræcipitat.

Hvis situationen skal forbedres, er der behov for billige produktionsmetoder. En af de mest lovende eksperimentelle

teknologier er at fremstille faktor VIII eller faktor IX i transgene søer, som udskiller den humane faktor i deres mælk.

Søer danner betydelige mængder af det humane protein. Amerikanske forskere vurderer, at blot 60 transgene søer kan forsyne 3000 blødere med faktor til forebyggende behandling.

At fremstille en transgen so ved gensplejsning er dyrt. Hvis medicinen skal blive billig, er det derfor nødvendigt, at det humane transgen nedarves stabilt gennem mange generationer, så medicin-

producerende søer kan fremstilles ved avl.

En pille?

Hvis det en dag lykkes at producere billig human faktor VIII og IX i transgene svin, kan nye metoder til indgift komme på tale. I dag er injektion nødvendig for at opnå tilstrækkelig effekt af den kostbare medicin. Hvis medicinen en dag bliver billig, kan man bruge inhalationsspray eller måske endda tabletter. Dét vil især gøre livet lettere for bløderbørn, som ofte finder injektionerne traumatiske.

