



Contents lists available at ScienceDirect

Acta Haematologica Polonicajournal homepage: www.elsevier.com/locate/achaem**Praca poglądowa/Review****Zmiany rodzaju koncentratu czynnika krzepnięcia u chorego na hemofilię – korzyść czy ryzyko?****Coagulation factor concentrate switching in patient with haemophilia – benefit or risk?****Anna Klukowska***

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii WUM, kierownik: prof. dr hab. med. Michał Matysiak, Warszawa, Polska

INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 18.11.2015

Zaakceptowano: 11.03.2016

Dostępne online: 19.03.2016

Słowa kluczowe:

- hemofilia
- osoczopochodny koncentrat czynnika VIII
- osoczopochodny koncentrat czynnika IX
- rekombinowany koncentrat czynnika VIII
- rekombinowany koncentrat czynnika IX
- zmiana koncentratu

Keywords:

- Haemophilia
- Plasma-derived factor VIII concentrate
- Plasma-derived factor IX concentrate
- Recombinant factor VIII concentrate

A B S T R A C T

Patients with haemophilia are treated with a variety of coagulation factor concentrates. They usually change concentrate types many times during their lifetime for different, often independent, reasons. Since recombinant coagulation factor concentrates VIII and IX became available, some patients in well-developed countries have started using these products instead of previously applied plasma-derived concentrates. At the moment, there are different types of concentrates available, including first, second and third generation recombinant concentrates, and factor VIII concentrates with full length or B deleted domain molecule. The drug's efficacy and safety are both taken into consideration when evaluating coagulation concentrates. When we talk of concentrates' safety, we consider virus safety, non-increased risk of inhibitor development and no adverse events as a potential threat to the patient's health. With the modern methods of blood donor tests and effective methods of viral inactivation having been introduced, the plasma-derived coagulation factor concentrates are currently as safe as recombinant concentrates with regard to elimination of enveloped viruses, including HIV or HCV. However, they still fail to eliminate completely the transmission of non-enveloped viruses such as e.g. hepatitis A virus (HAV) or parvovirus B19. Meanwhile, the risk of inhibitor development continues to be the subject of investigation. The results of many studies indicate there are no statistically significant differences in inhibitor incidence between patients treated with plasma-derived coagulation factor concentrates and recombinant concentrates but the results of randomized study (SIPPET) presented in December 2015 during ASH show 1,87-fold higher inhibitor incidence in recombinant factor VIII group than the plasma derived group in previous untreated children. The question concerning the potentially increased risk of inhibitor development following a switch from plasma-derived to recombinant coagulation factor concentrates, or a switch from one recombinant concentrate to another in previously treated patients,

* Adres do korespondencji: Katedra i Klinika Pediatrii Hematologii i Onkologii I Wydziału Lekarskiego WUM, Samodzielny Publiczny Dziecięcy Szpital Kliniczny, ul. Marszałkowska 24, 00-576 Warszawa, Polska. Tel.: +48 22 522 74 37; fax: +48 22 621 53 62.

Adres email: aklukowska@poczta.onet.pl.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.achaem.2016.03.001>

0001-5814/© 2016 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

- Recombinant factor IX concentrate
- Concentrate switch

should thus be answered negatively. At the same time, further investigation is required in this field, particularly in small children.

© 2016 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

Wstęp

Hemofilia jest wrodzonym zaburzeniem krzepnięcia krwi znanym od ponad 2000 lat, jednakże nazwa została wprowadzona w 1828 roku w Niemczech przez Hopffa, studenta profesora Schönleina [1]. Dopiero w latach pięćdziesiątych XX wieku wyodrębniono drugi typ hemofilii, chorobę Christmasy, którą następnie określono nazwą hemofilii B w odróżnieniu od klasycznej postaci hemofilii A [2]. Odkrycie grobowców rodziny carskiej Romanowów w 1991 i 2007 roku i badania genetyczne pozwoliły na odkrycie, że hemofilia, której sławną nosicielką była królowa Wiktorja (1837–1901) to hemofilia B. Określono mutację sprawczą w genie czynnika IX [3]. Naturalny przebieg choroby, zwłaszcza ciężkiej postaci, prowadzi do poważnego uszkodzenia stawów w następstwie krwawień oraz przedwczesnej śmierci w wyniku trudnych do opanowania krwawień. Dopiero wprowadzenie preparatów krwi pozwalających na korekcję niedoborowego czynnika krzepnięcia poprawiło sytuację chorych. Celem pracy jest omówienie zmian rodzaju preparatu czynnika VIII lub IX u chorego na hemofilię w aspekcie bezpieczeństwa leczonego pacjenta.

Historia leczenia chorych na hemofilię

W połowie lat pięćdziesiątych XX wieku dostępne było jedynie świeżo mrożone osocze, którym ze względu na obciążenie krążenia nie można było osiągnąć pełnej korekcji czynnika krzepnięcia w ciężkiej postaci hemofilii. Kamieniem milowym w leczeniu hemofilii A było opracowanie metody wytwarzania krioprecypitatu w latach 1959–1965, który w Polsce zaczął być produkowany w 1969 roku [4–6]. Czynniki IX w koncentracji zespołu protrombiny (PCC) pojawił się w 1953 roku, a w Polsce w 1970 roku [7, 8].

Czysty czynnik IX (cz. IX) produkowany z osocza dostępny był dopiero w 1992 roku, co miało istotne znaczenie wobec występowania powikłań zakrzepowych po PCC powtarzanych w dużych dawkach w okresie pooperacyjnym lub stosowanych do leczenia poważnych krwawień [9].

Wcześniej, w latach siedemdziesiątych XX wieku, pojawił się koncentrat osoczo pochodnego czynnika VIII, ale w Polsce dopiero w latach dziewięćdziesiątych [10]. Paradoksalnie było to korzystne dla polskich chorych leczonych krioprecypitatem i osoczem od polskich dawców krwi, bo uchroniło ich od epidemii zakażenia wirusem HIV, która objęła w latach 1978–1985 pacjentów w krajach Europy Zachodniej i Ameryki Północnej [11].

Poznanie budowy genu czynnika VIII (cz. VIII) w 1984 roku pozwoliło na opracowanie technologii wytwarzania

koncentratu rekombinowanego cz. VIII w 1992 roku [12]. Koncentrat rekombinowanego czynnika IX zaczęto produkować w 1998 roku, chociaż już w 1982 roku sklonowano gen czynnika IX [13, 14].

Bezpieczeństwo wirusologiczne koncentratów czynników krzepnięcia

Koncentraty rekombinowanych czynników VIII i IX uważane są za bezpieczne i zalecane jako preparaty z wyboru w leczeniu chorych na hemofilię [15, 16].

Wyróżnia się 3 rodzaje rekombinowanych koncentratów czynnika VIII:

1. Pierwszej generacji, w których stabilizatorem cz. VIII jest albumina, a białka zwierzęce są dodawane do podłoża hodowlanego.
2. Drugiej generacji, w których stabilizatorem cz. VIII są związki cukru i białka zwierzęce są w podłożu hodowlanym.
3. Trzeciej generacji – pozbawione białek ludzkich i zwierzęcych.

Rekombinowany koncentrat cz. IX jest preparatem trzeciej generacji [17].

Poprawiło się bezpieczeństwo koncentratów osoczo pochodnych czynników krzepnięcia poprzez wprowadzenie nowoczesnych metod badania krwi dawców oraz zastosowanie różnych metod inaktywacji wirusów. Od 1985 roku skutecznie inaktywowany jest HIV, a od 1992 roku wirus zapalenia wątroby typu B i C. Tylko wirusy bezotoczkowe, takie jak Parvo B19 i zapalenia wątroby typu A wymagają dodatkowych metod inaktywacji, jak np. nanofiltracja, nie zawsze w pełni skutecznych. Aktualnie wymagane jest stosowanie dwóch różnych metod w celu inaktywacji wirusów i osoczo pochodne koncentraty czynników krzepnięcia uważane są za względnie bezpieczne. Potencjalne ryzyko transmisji patogenów jest powodem, dla którego koncentraty rekombinowanych czynników krzepnięcia VIII i IX są preparatami z wyboru w leczeniu chorych na hemofilię. Koncentraty rekombinowane zalecane są w Wielkiej Brytanii, Irlandii, Danii, Szwecji, Kanadzie i USA. U pacjentów leczonych czynnikami osoczo pochodnymi powinno się stopniowo przechodzić na czynniki rekombinowane [18].

Na świecie rekombinowane koncentraty cz. VIII stosowane są u około 40% chorych na hemofilię A, a osoczo pochodnymi koncentratami cz. VIII leczonych jest około 60% pacjentów [19]. Trzeba dodać, że proporcje te dotyczą chorych leczonych, a około nawet 80% populacji chorych na hemofilię w krajach ekonomicznie słabo rozwiniętych nie ma w ogóle dostępu do preparatów leczniczych.

Przyczyny zmian koncentratów czynnika krzepnięcia

Zmiany preparatów czynnika krzepnięcia są bardzo częste wśród chorych na hemofilię. Mogą dotyczyć zmiany w obrębie grupy czynników osoczo pochodnych lub w obrębie grupy czynników rekombinowanych. Wśród tych ostatnich pacjent leczony czynnikiem zawierającym cząsteczkę cz. VIII o pełnej długości może zmienić preparat na cz. VIII pozbawiony domeny B lub odwrotnie. Często pacjenci dotychczas leczeni czynnikiem osoczo pochodnym zmieniają go na rekombinowany. Bywa również odwrotnie, gdy chory biorący udział w badaniu klinicznym z nowym rekombinowanym czynnikiem VIII lub IX wraca do wcześniej stosowanego czynnika osoczo pochodnego. Zjawiskiem dopiero zaczynającym się jest zmiana czynnika VIII lub IX na czynniki o przedłużonym czasie półtrwania lub w przyszłości zapewne również zmiana rodzaju czynnika dłużej działającego [20].

Przyczyny zmiany czynników krzepnięcia są bardzo różne. Wśród nich jest sposób i preferencje zakupów w danym kraju, koszty preparatu, zmiana kraju zamieszkania, wynik przetargu, wybór koncentratu przez lekarza lub pacjenta, strach przed zakażeniem lub inhibitorem, łatwość stosowania.

Najważniejszymi jednak czynnikami w wyborze koncentratu czynnika krzepnięcia jest skuteczność i bezpieczeństwo. Skuteczność ocenia się na podstawie zdolności korekcji niedoboru czynnika krzepnięcia i czasu do zatrzymania krwawienia od momentu podania koncentratu. Na bezpieczeństwo, oprócz wymienionego powyżej ryzyka zakażenia wirusami przenoszonymi drogą krwi, ma wpływ zagrożenie pojawieniem się inhibitora oraz różne reakcje niepożądane związane z podaniem preparatu.

Inhibitory czynnika VIII i IX

Wytworzenie inhibitora czynnika VIII lub IX jest najpoważniejszym aktualnie powikłaniem leczenia hemofilii koncentratami tych czynników. Inhibitor zmniejsza skuteczność leczenia, zwiększa jego koszt, pogarsza jakość życia chorych [21]. Do czynników ryzyka wystąpienia inhibitora należą:

1. Młody wiek chorego.
2. Liczba dni przetoczeń poniżej 50.
3. Rodzaj zmian w genie cz. VIII lub IX.
4. Ciężka postać hemofilii.

Wymienia się również czynniki pobudzające układ immunologiczny, takie jak zakażenia, krwawienia, szczepienia, zabiegi operacyjne towarzyszące leczeniu czynnikiem VIII oraz intensywne, długie leczenie cz. VIII wczesnym okresie jego stosowania jako sprzyjające powstaniu inhibitora [22].

Do początku grudnia 2015 uważano, że wyniki badań nie wykazują różnic w częstości rozwoju inhibitora pomiędzy grupami pacjentów leczonych osoczo pochodnymi lub rekombinowanymi koncentratami cz. VIII i cz. IX [23, 24]. Jednak przedstawione na Kongresie Amerykańskiego Towarzystwa Hematologicznego wyniki randomizowanego badania SIPPET dowodzą 1,87-krotnie częstszego występowania inhibitora u dzieci leczonych rekombinowanymi koncentratami cz. VIII

niż koncentratami osoczo pochodnymi [25]. Badanie przeprowadzono u 251 wcześniej nieleczonych chorych na ciężką postać hemofilii A. Biorąc pod uwagę tylko wysokie stężenia inhibitora, stwierdzono, że pojawił się u 18,5% dzieci leczonych osoczo pochodnymi preparatami cz. VIII, a u 28,4% chorych leczonych koncentratami rekombinowanymi. Są to dane dobrze opracowane statystycznie i trzeba je wziąć pod uwagę. Czas pokaże, jak wpłyną na zalecenia dotyczące leczenia chorych na hemofilię, a zwłaszcza dzieci.

Częstość występowania inhibitorów u pacjentów wcześniej nieleczonych jest wysoka (do 30%), zwłaszcza w hemofilii A, w przeciwieństwie do pacjentów uprzednio leczonych (niezwykle rzadko). Wobec czego immunogenność nowego koncentratu cz. VIII lub IX bada się najpierw w grupie pacjentów wcześniej leczonych (> 150 dni przetoczeń), zanim chorzy wcześniej nieleczeni rozpoczną jego stosowanie (EMA, FDA).

Ryzyko wystąpienia inhibitora wskutek zmiany koncentratu czynnika VIII i IX

Badania chorych na hemofilię wykonane w populacji kanadyjskiej, brytyjskiej i irlandzkiej nie wskazują na zwiększenie częstości powstawania inhibitora po zmianie koncentratu czynnika VIII na aktualnie dostępny [26–31]. Wprawdzie początkowo wykazano wzrost inhibitora wśród wcześniej leczonych Kanadyjczyków po zmianie osoczo pochodnego koncentratu na rekombinowany, ale po ponownym wykonaniu badań inhibitora w laboratorium centralnym okazało się, że poprzednie oznaczenia w laboratoriach lokalnych dały wyniki fałszywie ujemne u 7,9% testowanych [26, 27]. Metaanaliza prospektywnych badań sugeruje, że cząsteczka czynnika VIII pozbawiona domeny B jest bardziej immunogenna niż cząsteczka o pełnej długości, jednak badaniom tym zarzuca się brak grupy kontrolnej, która nie zmieniła preparatu na pozbawiony domeny B [28, 32]. Taką grupę kontrolną miała populacja brytyjska, w której ponad 500 pacjentów zmieniło w 2010 roku rekombinowany cz. VIII o pełnej długości cząsteczki na cz. VIII zawierający cząsteczkę pozbawioną domeny B, a ponad 600 pacjentów pozostało na dotychczas stosowanym preparacie rekombinowanego cz. VIII [33]. W grupie pacjentów zmieniających czynniki u 4 pojawił się inhibitor, natomiast 1 pacjent wytworzył inhibitor, nie zmieniając leczenia. Różnica między grupami nie była znamienna statystycznie. Ogólna zapadalność na inhibitor nie różniła się również znacząco od obserwowanej u pacjentów Wielkiej Brytanii w wieku powyżej 5 lat w okresie 1990–2009 [30]. W badaniu tym brano pod uwagę pacjentów uprzednio leczonych przez więcej niż 50 dni. Wyniki badania Rodina analizującego dzieci minimalnie leczone również wskazują, że zmiana koncentratu czynnika VIII nie jest czynnikiem ryzyka wystąpienia inhibitora [24]. Przeprowadzono również retrospektywne badania czasu półtrwania, skuteczności i bezpieczeństwa w czasie zmiany preparatu rcz. VIII o cząsteczki pełnej długości (Helixate®, CSL Behring; Recombinate®, Baxter; Kogenate®, Bayer) na preparat pozbawiony domeny B (ReFacto®, Wyeth) i ponownie na cząsteczkę pełnej długości (Advate®, Baxter; Helixate®, CSL Behring; Recombinate®, Baxter). Nie wykazano różnic w czasie półtrwania,

zużyciu koncentratów, częstości krwawień i skuteczności przy zabiegach chirurgicznych pomiędzy preparatami [28].

Zmiana czynnika VIII w całej populacji irlandzkich chorych na hemofilię A w 2006 roku z rcz.VIII 2. generacji produkowanego z zastosowaniem komórek nerki młodych chomików (Kogenate®, Bayer) na rcz.VIII 3. generacji, do produkcji którego użyto komórki jajnika chomika chińskiego (Advate®, Baxter) nie spowodowała wystąpienia inhibitora [29]. U chorych z wcześniej dokumentowanym inhibitorem, którzy w czasie zmiany czynnika nie wykazywali obecności inhibitora, nie pojawił się on również po zmianie preparatu. Przed 2005 rokiem większość chorych na hemofilię w Irlandii była leczona rcz. VIII pozbawionym domeny B (ReFacto®, Wyeth, [Pfizer]), wobec czego pacjenci przeszli w krótkim stosunkowo okresie 2 zmiany rodzaju czynnika VIII.

Prospektywne badanie przeprowadzone u chorych na ciężką postać hemofilii w wieku > 12 lat, którzy zmienili rcz. VIII pozbawiony domeny B, moroctocog alfa (ReFacto®, Wyeth [Pfizer]) lub inny rekombinowany lub osoczopochodny cz.VIII na rcz.VIII, moroctocog alfa niezawierający albuminy ani białek zwierzęcych z dodatkowym procesem inaktywacji wirusów w postaci nanofiltracji (ReFacto AF, Wyeth [Pfizer]), nie wykazały zwiększonego ryzyka wystąpienia inhibitora [34]. Ponadto u pacjentów stwierdzano stabilne wartości wzrostu cz.VIII w badaniach farmakokinetycznych oraz dobrą skuteczność ocenioną na podstawie wskaźnika krwawień w ciągu roku i liczby dawek czynnika potrzebnych do opanowania krwawienia [34].

Zmiana koncentratu rcz.VIII pierwszej generacji (Kogenate®, Bayer) na koncentrat drugiej generacji (Kogenate-FS®, Bayer) nie spowodowała pojawienia się nowych inhibitorów wśród 274 chorych na hemofilię A, zarówno dzieci, jak i dorosłych z kanadyjskich Ośrodków Wszelchnego Leczenia Hemofilii w ciągu ponad dwóch lat obserwacji w latach 2000–2003 [27].

Sposób inaktywacji wirusów może wpływać na strukturę cząsteczki czynnika VIII, prowadząc do zwiększenia częstości występowania inhibitorów. Stwierdzono to wśród pacjentów holenderskich i belgijskich po wprowadzeniu nowego pasteryzowanego osoczopochodnego czynnika VIII na początku lat dziewięćdziesiątych XX wieku [35, 36].

W odniesieniu do hemofilii B, w której częstość wystąpienia inhibitora jest o wiele niższa i wynosi 1–4%, przy zmianie koncentratu cz.IX z osoczopochodnego na rekombinowany (BeneFIX®, Wyeth [Pfizer]) nie stwierdzono różnic w częstości występowania inhibitorów. W kluczowych badaniach produktu rcz.IX oceniających profilaktykę, leczenie „na żądanie” i okołoperacyjne, rozwój inhibitora był rzadki [10, 37–39]. W międzynarodowym, wieloośrodkowym badaniu przeprowadzonym wśród 56 pacjentów z ciężką i umiarkowaną hemofilią B, po zmianie koncentratu z czynnika osoczopochodnego na rekombinowany IX, jeden pacjent wytworzył przejściowy inhibitor o niskim mianie, który nie miał wpływu na dalsze leczenie i został samoistnie wyeliminowany po 19 miesiącach [37]. W badaniu porejestracyjnym rcz. IX (BeneFIX®, Wyeth [Pfizer]) w populacji kanadyjskiej, po zmianie czynnika IX z osoczopochodnego na rekombinowany, 2 z 244 (0,82%) pacjentów leczonych BeneFIX wytworzyło inhibitor *de novo* (38). Częstość wystąpienia inhibitora w analizie *post hoc*

oceniającej bezpieczeństwo rcz.IX ((BeneFIX®, Wyeth [Pfizer]), w głównych badaniach w okresie 15 lat wynosiła 1,2% (5/412 pacjentów) [40]. Warto dla porównania dodać, że w przypadku pacjentów uprzednio nieleczonych raport Europejskiej Agencji Leków podsumowujący długoletnie dane bezpieczeństwa BeneFIX wykazał, że w latach 1995–2010 inhibitory stwierdzono u 3,1% (5/163) pacjentów pediatrycznych poniżej 6. roku życia [41], co mieści się w zakresie oczekiwanej epidemiologii dla inhibitorów w hemofilii B.

W Polsce często dochodzi do zmiany rodzaju koncentratu czynnika krzepnięcia, zwłaszcza wśród czynników osoczopochodnych. Wynika to z zakupu centralnego jednego preparatu o najniższej cenie, naturalnie spełniającego kryteria bezpieczeństwa zawarte w warunkach przetargu. Przy zakupach dodatkowych organizowanych doraźnie dla uzupełnienia braków, może dojść do sytuacji kilkakrotnego zmieniania preparatu przez pacjenta w ciągu roku. Nie jest to korzystne dla mającego zaufanie do stosowanego dotychczas preparatu pacjenta, a w sytuacjach pobudzających układ immunologiczny może sprzyjać wystąpieniu inhibitora [22].

Każdy chory na hemofilię powinien być regularnie badany na obecność inhibitora. Przed każdą zmianą koncentratu czynnika VIII lub IX, jak również po zmianie wskazane jest oznaczenie inhibitora oraz obserwacja skuteczności leczenia. Nie powinno zmieniać się rodzaju preparatu u dzieci z ciężką postacią hemofilii przed osiągnięciem 50 dni leczenia, przed zabiegiem operacyjnym lub krwawieniem wymagającym intensywnego, dłuższego leczenia, ponieważ każdy z tych czynników jest niezależnym czynnikiem ryzyka powstania inhibitora.

Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

Finansowanie/Financial support

Nie występuje.

Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

- [1] Hynes HE, Owen ChA, Bowie EJW, Thompson JH. Development of the present concept of haemophilia. *Mayo Clin Proc* 1969;44:193.
- [2] Ingram GIC. The history of haemophilia. *J Clin Path* 1976;29:469.
- [3] Lannoy N, Hermans C. The “royal disease” – haemophilia a or B?. A haematological mystery is finally solved. *Haemophilia* 2010;16:843–847.

- [4] Pool JG, Hersgold EJ. High-potency antihaemophilic factor concentrate prepared from cryoglobulin precipitate. *Nature* 1964;203: 312-.
- [5] Pool JG, Shannon AF. production of high-potency concentrate of antihaemophilic globulin in a closed-bag system. Assay in vitro and in vivo. *Engl J Med* 1965;273:1443.
- [6] Łopaciuk S, Nałęczńska A, Daszyński J, Klenowska Z. Nowy koncentrat globuliny przeciwhemofilowej (czynnika VIII) otrzymany metodą krioprecypitacji i przy użyciu dekstranu. *Acta Haematol Pol* 1971;2:103.
- [7] Łopaciuk S, Poszwiński P. Doświadczenia w preparatyce i klinicznym stosowaniu nowego koncentratu cz. IX. *Acta Haematol Pol* 1978;9:107.
- [8] Ziemiński JM, Łopaciuk S, Poszwiński P, Uszyński L. Zabiegi operacyjne w hemofilii B. *Pol Tyg Lek* 1973;28:1462.
- [9] Limentani SA, Gowell KP, Deitcher SR. High-purity factor IX concentrates for treatment of haemophilia B: relative purity and thrombogenic potential. *ActaHaematol* 1995;94(suppl. 1):12-17.
- [10] Fisher K, Lassila R, Peyvandi F, et al. inhibitor development in haemophilia according to concentrate. Four-year results from the European HAemophilia Safety Surveillance (EUHASS) project. *ThrombHaemost* 2015;113. <http://dx.doi.org/10.1160/TH14-10-0826>.
- [11] Mannucci PM. Back to the future: a recent history of haemophilia treatment. *Haemophilia* 2008;14(suppl 3): 10-18.
- [12] Gitschier J, Wood WI, Goralka TM, et al. Characterization of the human factor VIII gene. *Nature* 1984;312:326-330.
- [13] Choo GH, Gould KG, Rees DJ, Brownlee GC. Molecular cloning of the gene for human anti-haemophilic factor IX. *Nature* 1982;299:178-180.
- [14] Harrison S, Adamson S, Bonam D, et al. The manufacturing process for recombinant factor IX. *SeminHematol* 1998;35:4-10.
- [15] MASAC recommendation regarding the use of recombinant clotting factor products with respect to pathogen transmission. National Hemophilia Foundation. Document 226. www.hemophilia.org.
- [16] MASAC recommendation concerning products licensed for the treatment of haemophilia and other bleeding disorders. National Hemophilia Foundation. Document 225. www.hemophilia.org.
- [17] Monahan PE, Di Paola J. Recombinant factor IX for clinical and research use. *SeminThrombHaemost* 2010;36:498-508.
- [18] Klukowska A. Jak wybrać koncentrat czynnika krzepnięcia dla dziecka chorego na hemofilię? *Acta Haematologica Polonica* 2014;45:49-53.
- [19] Mannucci PM, Mancuso ME, Santagostino E. How we choose factor VIII to treat hemophilia. *Blood* 2012;119:4108-4114.
- [20] Iorio A, Pucetti P, Makris M. Clotting factor concentrate switching and inhibitor development in hemophilia A. *Blood* 2012;120:720-727.
- [21] Morfini M, Haya S, Tagariello G, et al. European study on orthopaedic status of haemophilia patients with inhibitors. *Haemophilia* 2007;13:606-612.
- [22] Kurnik K, Bidlingmaier C, Engl W, et al. New early prophylaxis regimen that avoids immunological danger signals can reduce FVIII inhibitor development. *Haemophilia* 2010;16:256-262.
- [23] Iorio A, Halimeh S, Holzhauser S, et al. Rate of inhibitor development in previously untreated hemophilia A patients treated with plasma- derived or recombinant factor VIII concentrate: a systemic review. *J Thromb Haemost* 2010;8:1256-1265.
- [24] Gouw SC, van der Bom JG, Ljung R, et al. Factor VIII products and inhibitor development in severe hemophilia A. *N Engl J Med* 2013;368:231-239.
- [25] Peyvandi F, Mannuccio PM, Garagiola I, et al. 5 source of factor VIII replacement (plasmatic or recombinant) and incidence of inhibitory alloantibodies in previously untreated patients with severe hemophilia A: the multicenter randomized Sippet study. *Blood* 2015;126(23):3. ASH. 57-th Annual Meeting & Exposition. Orlando. December 5-8, 2015.
- [26] Giles A, Rivard G, Teitel J, Walker I. Surveillance for factor VIII inhibitor development in the Canadian hemophilia A population following the widespread introduction of recombinant factor VIII replacement therapy. *Transfus Sci* 1998;19:139-148.
- [27] Rubinger M, Lillicrap D, Rivard GE, et al. A prospective surveillance study of factor VIII inhibitor development in the Canadian haemophilia A population following the switch to a recombinant factor VIII product formulated with sucrose. *Haemophilia* 2008;14:281-286.
- [28] Rea C, Dunkerley A, Sørensen B, Rangarajan S. Pharmacokinetics, coagulation factor consumption and clinical efficacy in patients being switched from full-length FVIII treatment to B-domain-deleted r-FVIII and back to full-length FVIII. *Haemophilia* 2009;15:1237-1242.
- [29] Bacon CL, Singleton E, Brady B, et al. Low risk of inhibitor formation in haemophilia A patients following en masse switch in treatment to a third generation full length plasma and albumin- free recombinant factor VIII product (Advate). *Haemophilia* 2011;17:407-411.
- [30] Gouw SC, Bom JG van der, van den Berg M. Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the Canal cohort study. *Blood* 2007;109:4648-4654.
- [31] Mannucci PM. Factor VIII inhibitors in previously treated hemophilic patients. *J ThrombHaemost* 2011;9:2328-2329.
- [32] Aledort LM, Navickis RJ, Wilkes MM. Can B-domain deletion alter the immunogenicity of recombinant factor VIII?. A meta-analysis of prospective clinical studies. *J Thromb Haemost* 2011;9:2180-2192.
- [33] Hay CRM, Palmer BP, Chalmers EA, et al. The incidence of factor VIII inhibitors in severe haemophilia A following a major switch from full-length to B-domain-deleted factor VIII: a prospective cohort comparison. *Haemophilia* 2015;21:219-226.
- [34] Parra R, Nemes L, Jimenez-Yuste V, et al. Prospective surveillance study of haemophilia A patients switching from moroctocogalfa or other factor VIII products to moroctocogalfa albumin-free cell culture (AF-CC) in usual care settings. *Thromb Haemost* 2015;114:1-9.
- [35] Peerlinck K, Arnout J, Gilles JG, et al. A higher than expected incidence of factor VIII inhibitors in multitransfused haemophilia A patients treated with an intermediate purity pasteurized factor VIII concentrate. *Thromb Haemost* 1993;69:15-18.
- [36] Mauser-Bunschoten EP, Rosendal FR, Nieuwenhuis HK, et al. Clinical course of factor VIII inhibitors developed after exposure to a pasteurized Dutch concentrate compared to classic inhibitors in haemophilia A. *Thromb Haemost* 1994;71:703-706.
- [37] Roth DA, Kessler CM, Pasi KJ, et al. Human recombinant factor IX: safety and efficacy studies in hemophilia B patients previously treated with plasma-derived factor IX concentrates. *Blood* 2001;98(13):3600-3606.
- [38] Poon MC, Lillicrap D, Hensman C. Recombinant factor IX recovery and inhibitor safety: a Canadian post-licensure surveillance study. *Thromb Haemost* 2002;87:431-435.
- [39] Recht M, Pollman H, Tagliaferri A, Musso R, Janco R, Richey Neuman W. A retrospective study to describe the incidence of moderate to severe allergic reactions to factor IX in subjects with hemophilia B. *Haemophilia* 2011;17:494-499.

- [40] Rendo PA, Smith LA, Lee Hsiao-Yu B, Shafer FA. Nonacogalfa: an analysis of safety data from six prospective clinical studies in different patient populations with haemophilia B treated with different therapeutic modalities. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 2015;26(8):912-918.
- [41] United Kingdom. European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Human Use. Assessment Report BeneFIX. EMA/37098/2013. London: EMA, 2013. Procedure No EMEA/H/C/000139/II/0108.