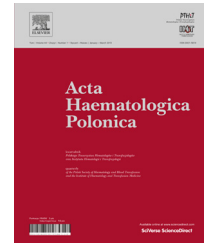


Contents lists available at [ScienceDirect](http://www.sciencedirect.com)

Acta Haematologica Polonica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/achaem

Praca poglądowa/Review

Koncentraty czynników krzepnięcia o przedłużonym działaniu w leczeniu hemofilii



Coagulation factor concentrates with prolonged half-life in haemophilia treatment

Anna Klukowska^{1,*}, Krystyna Zawilska², w imieniu Grupy ds. Hemostazy
Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów

¹Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii WUM, Kierownik: prof. dr hab. med. Michał Matysiak,
Warszawa, Polska

²Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego; Centrum Diagnostyczno-Lecznicze INTERLAB, Poznań, Polska

INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 06.03.2015

Zaakceptowano: 21.04.2015

Dostępne online: 02.05.2015

Słowa kluczowe:

- hemofilia
- koncentraty czynnika VIII i IX
- glikol polietylenowy
- fuzja z albuminą
- fuzja z fragmentem Fc immunoglobuliny G
- czas półtrwania

Keywords:

- Haemophilia
- Factor VIII and factor IX concentrates
- Polyethylene glycol
- Fusion with albumin
- Fusion with Fc fragment of immunoglobulin G
- Half-life

ABSTRACT

The treatment of patients with haemophilia A and B is based on substitution of factor VIII and factor IX. The half-life of factor VIII (about 11 hours) and factor IX (about 18 hours) are rather short, so frequency of prophylactic infusions of factor VIII and factor IX concentrates are not less than 3 or 2 times a week. The development of new factor VIII and factor IX concentrates with longer half-lives makes possible the prolongation of time between doses and the improvement of prophylaxis efficacy. The fusion of factor IX to polyethylene glycol, Fc fragment of immunoglobulin G or albumin prolonged half-life of this coagulation protein to almost 100 hours. The half-life of factor VIII concentrate, with recombinant factor VIII combined with polyethylene glycol or Fc fragment of immunoglobulin G is prolonged to about 19 hours. Modification of factor VIII structure to produce single-chain protein with increased binding to von Willebrand factor is a new promising project as well. The introduction of coagulation concentrates with prolonged half-life will improve the quality of life of patients with severe type of haemophilia.

© 2015 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

* Adres do korespondencji: Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii WUM, ul. Marszałkowska 24, 00-576 Warszawa, Polska. Tel.: +48 22 52 27 419.

Adres email: aklukowska@poczta.onet.pl (A. Klukowska).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.achaem.2015.04.006>

0001-5814/© 2015 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

Poznanie budowy genu czynnika VIII (cz. VIII) i jego sklonowanie w 1984 roku umożliwiło wytwarzanie rekombinowanego czynnika VIII od 1992 roku [1-4]. W ciągu następnych 10 lat od koncentratów I generacji zawierających albuminę w charakterze stabilizatora cz. VIII, poprzez koncentraty II generacji stabilizowane dwucukrami, udało się opracować III generację koncentratów cz. VIII, zupełnie pozbawionych białek ludzkich i zwierzęcych [5]. Rekombinowany cz. VIII (rcz. VIII) pochodzi z linii komórkowych ssaków, do których jest on wprowadzony, a następnie uwalniany za pomocą metod inżynierii genetycznej [4-6]. Najczęściej stosowane są komórki jajnika chomika chińskiego lub nerki noworodka chomika [7]. Jeden z koncentratów cz. VIII uzyskuje się z zastosowaniem komórek ludzkich [8]. Koncentraty rekombinowanego cz. VIII mają takie same właściwości biochemiczne i hemostatyczne jak cz. VIII osoczo pochodny i podobny profil farmakokinetyczny, z czasem półtrwania około 11 godzin [9, 10]. Zawierają pełną cząsteczkę cz. VIII lub pozbawioną całej lub części domeny B [11-13].

Rekombinowany koncentrat czynnika IX (rcz. IX), dostępny od 1998 roku, jest wytwarzany przez komórki chomika chińskiego, podobnie jak rcz. VIII [14]. Właściwości hemostatyczne rcz. IX są identyczne jak koncentratu osoczo pochodnego, jednak potranslacyjne modyfikacje rcz. IX powodują zmiany w jego farmakokinetyce, czego skutkiem jest o około 30% mniejsze odzyskanie rcz. IX w porównaniu z osoczo pochodnym [15]. Czas półtrwania obu rodzajów cz. IX jest jednakowy i wynosi około 16 godzin [16].

Krótki czas półtrwania cz. VIII i IX powoduje konieczność profilaktycznego podawania dożylnie koncentratu deficytowego czynnika krzepnięcia zwykle przynajmniej 3 razy w tygodniu chorym na hemofilię A i 2 razy w tygodniu chorym na hemofilię B, w celu zapobiegania krwawieniom m.in. do stawów i artropatii hemofilowej. Jest to bardzo uciążliwe, powoduje opuszczanie dawek, przerwy w profilaktyce,

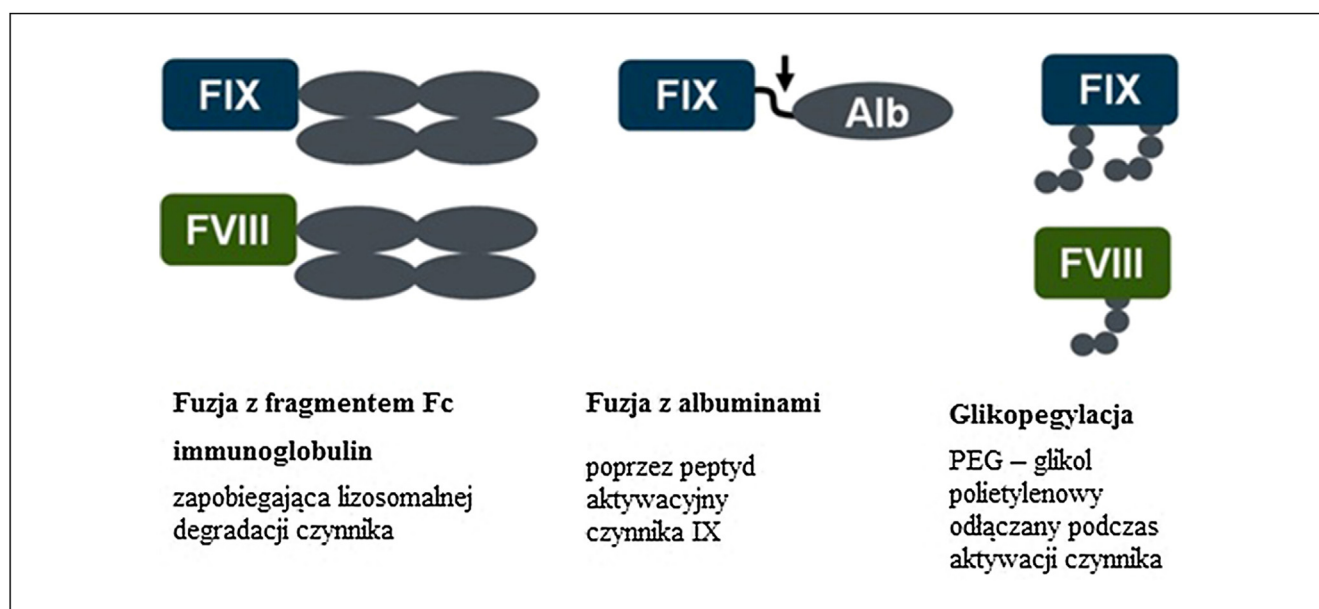
a nawet jej zaprzestanie, czego skutkiem mogą być niebezpieczne dla zdrowia i życia krwawienia. Pojawienie się nowych koncentratów cz. VIII i IX o przedłużonym czasie półtrwania daje nadzieję na możliwość rzadszego wkluwania się do żyły, czego skutkiem byłoby lepsze stosowanie się chorych do zasad przepisanej im profilaktyki oraz większa jej skuteczność. Ma to szczególne znaczenie dla profilaktyki stosowanej u małych dzieci i u pacjentów z trudnym dostępem żylnym. Może też umożliwić uniknięcie subterapeutycznych poziomów deficytowego czynnika u pacjentów z osobniczym krótkim okresem półtrwania tego czynnika oraz u pacjentów, którzy wymagają utrzymania zwiększonej minimalnej docelowej aktywności czynnika (*trough level*) np. w przypadku dużej aktywności fizycznej, narażającej na częste urazy. Dalszej obserwacji u takich pacjentów wymaga wpływ na stan ich stawów zmniejszenia częstości wysokich szczytowych poziomów czynnika krzepnięcia, uzyskiwanych zaraz po wstrzyknięciu koncentratu.

Zastosowanie nowych technologii spowodowało przedłużenie czasu półtrwania rcz. IX do około 100 godzin, co umożliwia skuteczną profilaktykę przez podawanie preparatu raz na tydzień, a nawet co 2 tygodnie [17, 18]. Dla rcz. VIII udało się uzyskać wydłużenie czasu półtrwania jedynie od 15 do 19 godzin [19, 20].

W celu utrzymania nowych koncentratów o przedłużonym czasie półtrwania wykorzystano następujące technologie (Ryc. 1):

- 1) łączenie czynnika VIII lub IX z glikolem polietylenowym (PEGylacja),
- 2) łączenie czynnika VIII lub IX z fragmentem Fc immunoglobuliny G,
- 3) łączenie czynnika IX z albuminą.

Najnowsza technologia znajdująca się na etapie badań doświadczalnych to modyfikacja budowy rcz. VIII w kierunku pojedynczego łańcucha.



Ryc. 1 – Technologie mające na celu przedłużenie czasu półtrwania czynnika VIII i IX
Fig. 1 – Technologies to prolong half-life of factor VIII and factor IX

PEGylacja

Liposomy mogą służyć jako kapsułki dla różnych substancji leczniczych. Przeszkodą jest szybka eliminacja liposomów przez komórki fagocytarne układu siateczkowo-śródbłonkowego. Aby pokonać tę niedogodność, przyłączono kowalencyjnie do powierzchni liposomu syntetyczny polimer lipidowy w postaci glikolu polietylenowego [21, 22]. PEGylacja liposomu zmniejsza jego wychwyty przez układ siateczkowo-śródbłonkowy. Rekombinowany cz. VIII zostaje połączony wiązaniami niekowalencyjnymi z PEGylowanymi liposomami, przez co zwiększa się jego masa cząsteczkowa, co powoduje obniżenie proteolitycznej degradacji czynnika przez specyficzne receptory białkowe i zmniejszenie kłębuszkowej filtracji [23]. Glikol polietylenowy jest przyłączany do peptydu aktywacyjnego rekombinowanego cz. IX i w czasie aktywacji rcz. IX związanego z PEG przez aktywny czynnik XI peptyd ten jest odłączany, z pozostawieniem dzikiego typu aktywnego cz. IX [24]. Glikol polietylenowy jest wydalaný przez nerki i wątrobę.

Badania kliniczne z PEGylowanym rcz. VIII prowadzone są przez firmę Bayer (BAY 94-9027), Novonordisk (N8-G) i Baxter (BAX855), a z rcz. IX przez firmę Novonordisk (N9-GP) [24-27]. PEGylowany rcz. VIII pozbawiony domeny B w badaniach klinicznych wykazał lepsze właściwości farmakokinetyczne w porównaniu z zarejestrowanym rcz. VIII-FS (oba preparaty firmy Bayer), z wydłużeniem czasu półtrwania do 19 godzin [27]. Podobny czas półtrwania ma rekombinowany cz. VIII z częścią domeny B składającą się z 21 aminokwasów, do której przyłączony został glikol polietylenowy [28]. Preparat całej cząsteczki rcz. VIII związany z glikolem polietylenowym (BAX855) ma 1,5-2 razy wydłużony czas półtrwania w porównaniu z rcz. VIII (Advate) przy zachowanych właściwościach funkcjonalnych [26]. W opublikowanym ostatnio badaniu przeprowadzonym na mysim modelu hemofilii A porównano farmakodynamiczny skutek BAX855 i Advate w aspekcie czasu trwania ochrony przed popunkcyjnym krwawieniem do stawu. Stwierdzono, że pojedyncza dawka rcz. VIII zapobiega krwawieniu do 24 godzin po jej podaniu, natomiast PEGylowany rcz. VIII chroni staw przed krwawieniem przez 48 godziny [29].

Wcześniejsze badania rcz. VIII związanego z PEGylowanymi liposomami (BAY 79-4980) nie wykazały znaczącej różnicy w badaniach farmakokinetycznych w porównaniu z rcz. VIII-FS, a podawany raz w tygodniu preparat wykazał mniejszą skuteczność niż standardowa profilaktyka preparatem Kogenate podawanym 3 razy w tygodniu [20, 30]. Randomizowane, kontrolowane, z podwójnie ślepą próbą badanie prowadzone u chorych na ciężką postać hemofilii A w wieku od 12 do 70 lat zostały wstrzymane przez sponsora, ponieważ roczna liczba krwawień była większa w grupie pacjentów otrzymującej badany produkt niż w grupie leczonej 3 razy w tygodniu koncentratem cz. VIII-FS [30]. Czas półtrwania PEGylowanego rcz. IX (N9-GP – pochodna rIXa – nonacog alfa) wydłużono do 93 godzin, czyli pięciokrotnie w stosunku do rcz. IX, a wzrost cz. IX po podaniu N9-GP był o 94% większy niż po rcz. IX i 20% większy niż po osoczopochodnym cz. IX. [24]. Ostatnio opublikowano wyniki wielośrodowego badania 3 fazy, w którym stosowano

PEGylowany rcz. IX profilaktycznie w 2 dawkach – 10j/kg mc albo 40j/kg mc raz w tygodniu (randomizacja) lub w razie krwawienia u chorych na hemofilię B w wieku od 13 do 70 lat [31]. Wszyscy badani byli wcześniej przynajmniej przez 150 dni leczeni koncentratem cz. IX. Preparat był bezpieczny i skuteczny w leczeniu krwawień i w profilaktyce. Skuteczność profilaktyki, biorąc pod uwagę średnią roczną liczbę krwawień, była większa w grupie pacjentów otrzymujących dawkę 40j/kg mc niż 10j/kg mc. Podczas badania wolnych od krwawień było 45% chorych otrzymujących większą dawkę i tylko 17% pacjentów, u których stosowano mniejszą dawkę N9-GP. Ponadto w pierwszej grupie 66,7% badanych nie miało krwawień do stawów, do których wcześniej obserwowano nawroty krwawień, a w drugiej grupie takich chorych było tylko 7,7%. W obu grupach średnia aktywność cz. IX przed jego podaniem wynosiła powyżej 1%, w grupie z dawką 10 j/kg – 8,5%, a w grupie, w której koncentrat stosowano w dawce 40j/kg mc, aktywność ta osiągnęła 27,3%. U żadnego pacjenta nie stwierdzono neutralizujących inhibitorów, powikłań zakrzepowo-zatorowych ani reakcji alergicznych w trakcie całego badania. Te wyniki indywidualnego badania farmakokinetycznego pozwalają przypuszczać, że PEGylowany rcz. IX będzie skuteczny przy regularnym profilaktycznym podawaniu go nawet co 2-3 tygodni.

Białka fuzyjne

Do białek fuzyjnych należą immunoglobulina G (IgG) z częścią Fc oraz albumina. Ich czas półtrwania wynosi około 20 dni. Zarówno ludzka albumina, jak i IgG z domeną Fc zostały wykorzystane przez przyłączenie do rcz. VIII lub rcz. IX w celu uzyskania koncentratu o przedłużonym czasie półtrwania [18, 19, 32]. Koncentrat rcz. VIII-Fc, w którym pozbawiona domeny B cząsteczka cz. VIII została połączona z częścią Fc IgG1 po badaniach 3 fazy został zarejestrowany w USA w 2014 [33]. Czas półtrwania tego produktu został wydłużony do 19 godzin w stosunku do 12 godzin rcz. VIII, u około 30% pacjentów czynnik można było podawać co 5 dni. Nie stwierdzono tworzenia się inhibitora ani istotnych działań ubocznych. Potwierdzono skuteczność profilaktycznego podawania rcz. VIII-Fc, stosując preparat co 3 dni lub 2 razy w tygodniu, gdyż nie zarejestrowano w ciągu roku żadnych krwawień. Wydłużenie przerwy między dawkami rcz. VIII-Fc do 4 lub 5 dni wiązało się natomiast ze zwiększeniem mediany rocznej liczby krwawień do 2,0 [34].

Koncentrat rcz. IX-Fc, który powstał wskutek połączenia rcz. IX z receptorem Fc ludzkiej IgG1, osiągnął czas półtrwania 82,1 godziny [32, 35]. Po badaniach 3 fazy rcz. IX-Fc został zarejestrowany w 2014 roku w USA. Preparat podawano profilaktycznie w odstępach od 1 do 2 tygodni w dawkach od 50 do 100 j/kg mc, osiągając zmniejszenie mediany rocznej liczby krwawień odpowiednio do 3,0 i 1,4, w porównaniu z 17,7 krwawień w grupie leczonej „na żądanie”. U 44% pacjentów nie wystąpiły krwawienia podczas badania. Średni czas półtrwania wahał się od 66,4 godzin u dzieci w wieku 2-5 lat do 86,5 godziny u dorosłych. Aktywność czynnika IX utrzymywała się na poziomie >1% przez średnio 11,5 dnia. Podczas sporadycznego leczenia („na żądanie”) u 90,4% chorych krwawienie ustąpiło po

Tabela I – Koncentraty czynnika VIII i IX o przedłużonym działaniu
Table I – Factor VIII and factor IX concentrates with prolonged half-life

Rodzaj technologii	Nazwa preparatu	Rodzaj białka
PEGylacja	Bay 94-9027	rcz. VIII bez domeny B
	BAX 855	rcz. VIII – pełna cząsteczka
	N8-GP	rcz. VIII bez domeny B
	N9-GP	rcz. IX
Połączenie z IgG-Fc	rcz. VIII-Fc*	rcz. VIII bez domeny B
	rcz. IX-Fc*	rcz. IX
Połączenie z albuminą	CSL 654/rcz. IX-FP	rcz. IX

* koncentrat zarejestrowany w USA

1 infuzji rcz. IX-Fc., a tylko u 2,7% trzeba było zastosować 3 infuzje. Przeprowadzono 14 większych zabiegów operacyjnych (w tym 5 operacji wymiany stawu kolanowego) pod osłoną rcz. IX-Fc, efekt hemostatyczny tego czynnika we wszystkich zabiegach oceniono jako doskonały albo bardzo dobry. Preparat był dobrze tolerowany, nie stwierdzono tworzenia się inhibitora [35].

Rekombinowany cz. IX połączono z rekombinowaną albuminą, aby wykorzystać długi czas półtrwania albuminy [17]. Badania II/III fazy przeprowadzone wśród chorych na hemofilię B z zastosowaniem rIX-FP w różnych dawkach wykazały, że średnie stężenie cz. IX po 7 dniach od podania 25j/kg mc wynosi 7,4% n, a 14 dni po podaniu 50j/kg mc 5,5% n. Stwierdzono pięciokrotne wydłużenie czasu półtrwania rcz. IX-FP oraz 44% i 29% wyższy wzrost stężenia cz. IX po jego podaniu w porównaniu z odpowiednio rcz. IX i osoczopochodnym cz. IX [36]. Aktualnie 3 większe badania kliniczne są prowadzone w celu oceny poprawy klinicznej przy leczeniu tym preparatem chorych na hemofilię B [37]. Omawiane koncentraty czynnika VIII i IX przedstawiono w tabeli I.

Pojedynczy łańcuch rekombinowanego czynnika VIII

Naukowcy z firmy CSL Behring opracowali zmodyfikowany rcz. VIII pozbawiony domeny B, łącząc ciężki i lekki łańcuch wiązaniem kowalencyjnym w postaci jednołańcuchowej cząsteczki. Taki zmodyfikowany rcz. VIII ma znacząco większe powinowactwo do czynnika von Willebrandta, co w efekcie powoduje wydłużenie czasu półtrwania jednołańcuchowego rcz. VIII (rcz. VIII-SC) 1,6–2 krotnie [38]. Badania przedkliniczne przeprowadzone u różnych gatunków zwierząt (myszy, szczurów, królików i małp) wykazały skuteczność hemostatyczną, bezpieczeństwo, dobrą tolerancję oraz brak wzrostu ryzyka prozakrzepowego nowego preparatu. W badaniach na modelach zwierzęcych działanie hemostatyczne jednołańcuchowego rcz. VIII było porównywalne ze stosowanymi u chorych na hemofilię koncentratów rcz. VIII o pełnej długości (Advate®, Helixate®) i pozbawionymi domeny B (ReFacto®). Rekombinowany cz. VIII powstający

wskutek aktywacji rcz. VIII-SC jest porównywalny w budowie do tego, który pojawia się z endogenego dwułańcuchowego cz. VIII w procesie aktywacji [39]. Dało to podstawę do rozpoczęcia badań klinicznych u ludzi chorych na hemofilię A [40].

Wprowadzenie rekombinowanych czynników krzepnięcia o przedłużonym czasie działania niesie za sobą problemy farmako-ekonomiczne. Jak ocenić długofalową korzyść stosowania tych preparatów? Rzadsze podawanie oszczędza żyły pacjentów, zmniejsza czas zużywany na podawanie czynnika, prawdopodobnie spowoduje większą zgodność między zaleconą i stosowaną terapią. W efekcie zwiększy się skuteczność zapobiegania krwawieniom, stan zdrowia i jakość życia pacjentów chorych na hemofilię. Proste kalkulacje oparte na cenie jednostkowej leku nie sprawdzą się w tym przypadku. A chorzy czekają na leki o przedłużonym działaniu i wiążą z nimi wielkie nadzieje.

Wkład autorów/Authors' contributions

KZ – koncepcja pracy, zebranie danych, przygotowanie pracy. AK – koncepcja pracy, zebranie danych, przygotowanie pracy, przygotowanie literatury.

Konflikt interesu/Conflict of interest

AK, KZ – wykłady, konsultacje dla Baxter, Novonordisk, CSL Behring, Pfizer.

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] Gitschier J, Wood WI, Goralka TM, et al. Characterization of the human factor VIII gene. *Nature* 1984;312:326–330.
- [2] Wood WI, Capon DJ, Simonsen CC, et al. Expression of active human factor VIII from recombinant DNA clones. *Nature* 1984;312:330–337.
- [3] Vehar GA, Keyt B, Eaton D, et al. Structure of human factor VIII. *Nature* 1984;337–342.
- [4] Pipe SW. Hemophilia: new protein therapeutics. *Hematology* 2010;203–209.
- [5] Ragni MV. New-generation recombinant factor concentrates: bridge to gene therapy. *Haemophilia* 2001; 7(suppl. 1):28–35.
- [6] Ezban M, Vad K, Kjalke M, Turoctocogalfa. (NovoEight®) – from design to clinical proof of concept. *European Journal of Haematology* 2014. <http://dx.doi.org/10.1111/ejh.12366>:1-8.

- [7] Nielsen PF, Bak S, Vandahl B. Characterization of tyrosine sulphation in rFVIII (turoctocogalfa) expressed in CHO and HEK-293 cells. *Haemophilia* 2012;1-2. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2516.2012.02881.x>.
- [8] Valentino LA, Negrier C, Kohla G, et al. The first recombinant FVIII produced in human cells – an update on its clinical development programme. *Haemophilia* 2014; 20(suppl.1):1-9.
- [9] Björkman S, Blanchette VS, Fisher K, et al. Comparative pharmacokinetics of plasma- and albumin-free recombinant factor VIII in children and adults: the influence of blood sampling schedule on observed age-related differences and implications for dose tailoring. *J Thromb Haemost* 2010;8:730-736.
- [10] Martinowitz U, Bjerre J, Brand B, et al. Bioequivalence between two serum-free recombinant factor VIII preparations (N8 and ADVATE®) – an open-label, sequential dosing pharmacokinetic study in patients with severe haemophilia A. *Haemophilia* 2011;17:854-859.
- [11] Thim L, Vandahl B, Karlsson J, et al. Purification and characterization of a new recombinant factor VIII (N8). *Haemophilia* 2010;16:349-359.
- [12] Kreuz W, Gill JC, Rothschild C, et al. Full-length sucrose-formulated recombinant factor VIII for treatment of previously untreated or minimally treated young children with severe haemophilia A. *ThrombHaemost* 2005; 93:457-467.
- [13] Musso R, Santagostino E, Faradji A, et al. Safety and efficacy of sucrose-formulated full-length recombinant factor VIII: Experience in the standard clinical setting. *Thromb Haemost* 2008;99:52-58.
- [14] White GC, Beebe A, Nielsen B. Recombinant factor IX. *Thromb Haemost* 1997;78:261-265.
- [15] Monahan PE, Di Paola J. Recombinant factor IX for clinical and research use. *Seminars in Thrombosis and Haemostasis* 2010;36:498-509.
- [16] White G, Shapiro A, Ragni M. Clinical evaluation of recombinant factor IX. *Seminars in Haematology* 1998; 35(supp.2):33-38.
- [17] Metzner HJ, et al. Genetic fusion to albumin improves the pharmacokinetic properties of factor IX. *Thromb Haemost* 2009;102:634-644.
- [18] Peters RT, Low SC, Kamphaus GD, et al. Prolonged activity of factor IX as a monomeric Fc fusion protein. *Blood* 2010;115:2057-2064.
- [19] Peters RT, Toby G, Lu Q, et al. Biochemical and functional characterization of a recombinant monomeric factor VIII-Fc fusion protein. *J Thromb Haemost* 2013;11:132-141.
- [20] Powell JS, Nugent DJ, Harrison JA, et al. Safety and pharmacokinetics of a recombinant factor VIII with pegylated liposomes in severe hemophilia A. *J ThrombHaemost* 2008;6:277-283.
- [21] Baru M, Carmel-Goren L, Barenholz Y, et al. Factor VIII efficient and specific non-covalent binding to PEGylated liposomes enables prolongation of its circulation time and haemostatic efficacy. *ThrombHaemost* 2005;93:1061-1068.
- [22] Pan J, Liu T, Kim JY, et al. Enhanced efficacy of recombinant FVIII in noncovalent complex with PEGylated liposome in hemophilia A mice. *Blood* 2009;114:2802-2811.
- [23] Oldenburg J, Albert T. Novel products for haemostasis – current status. *Haemophilia* 2014;20(suppl.4):23-28.
- [24] Negrier C, Knobe K, Tiede A, Giangrande P, Moss J. Enhanced pharmacokinetics properties of a glycoPEGylated recombinant factor IX: a first human dose trial I patients with hemophilia B. *Blood* 2011;118:2695-2701.
- [25] Mei B, Pan C, Jiang H, et al. National design of a fully active, long-acting PEGylated factor VIII for hemophilia A treatment. *Blood* 2010;116:270-279.
- [26] Turecek PL, Bossard MJ, Graininger M, et al. BAX855, a PEGylated rFVIII product with prolonged half-life. Development, functional and structural characterization. *Hamostaseologie* 2012;32(suppl. 1):S29-S38.
- [27] Coyle TE, Reding MT, Lin JC, et al. Phase I study of BAY 94-9027, a PEGylated B-domain deleted recombinant FVIII with an extended half-life, in subjects with hemophilia A. *ThrombHaemost* 2014. <http://dx.doi.org/10.1111/jth.12506>.
- [28] Tiede A, Brand B, Fisher R, et al. Enhancing the pharmacokinetics properties of recombinant factor VIII: first-in-human trial of glycoPEGylated recombinant factor VIII in patients with hemophilia A. *J ThrombHaemost* 2013;11:670-678.
- [29] Valentino LA, Cong L, Enockson C, et al. the biological efficacy profile of BAX 855, a PEGylated recombinant factor VIII molecule. *Haemophilia* 2015;21:58-63.
- [30] Powell J, Martinowitz U, Windyga J, et al. Efficacy and safety of prophylaxis with once-weekly BAY 79-4980 compared with thrice weekly rFVIII-Fc in haemophilia A patients. A randomized, active-controlled, double-blind study. *Thromb Haemost* 2012;108:913-922.
- [31] Collins PW, Young G, Knobe K, et al. Recombinant long-acting glycoPEGylated factor IX in hemophilia B: a multinational randomized phase 3 trial. *Blood* 2014;124:3880-3886.
- [32] Shapiro AD, Ragni MV, Valentino LA, et al. Recombinant factor Fc fusion protein (rFIXFc) demonstrates safety and prolonged activity in a phase 1/2a study in hemophilia B patients. *Blood* 2012;119:666-672.
- [33] Mahlangu J, Powell JS, Ragni MV, et al. *Blood* 2014;123:317-325.
- [34] Oldenburg J, Shapiro AD, Ragni MV, et al. Dosing intervals and bleeding rates before and following treatment with recombinant factor VIII FC fusion protein in patients with severe Haemophilia A: Experience from the Along Clinical Study. *Haemophilia* 2014;20. S2 abstract 1129.
- [35] Powell JS, Pasi KJ, Ragni MV, et al. Phase 3 study of recombinant factor IX Fc fusion protein in hemophilia B. *N Engl J Med* 2013;369:2313-2323.
- [36] Santagostino E, Negrier C, Klamroth R, et al. Safety and pharmacokinetics of a novel recombinant fusion protein linking coagulation factor IX with albumin (rFIX-FP) in hemophilia B patients. *Blood* 2012;120:2405-2411.
- [37] CSL Behring's PROLONG - 9FP clinicaldevelopmental program - www.clinicaltrials.gov.
- [38] Zollner SB, Raquet E, Müller-Cohrs J, et al. Preclinical efficacy and safety of rVIII-Single Chain (CSL627), a novel recombinant single-chain factor VIII. *Thromb Res* 2013;132:280-287.
- [39] Schmidbauer S, Witzel R, Kreuter J, et al. Characterization of recombinant single chain FVIII, rVIII-SingleChain (CSL627). *Haemophilia* 2012;18:37.
- [40] Bensen-Kennedy D. Bringing new therapy options to the hemophilia community. *Thromb Res* 2013;131:S15-S18.