

# Czynniki wpływające na skuteczność ITI u chorych na hemofilię A z inhibitorem na podstawie wybranych doniesień 5 Kongresu *European Association for Haemophilia and Allied Disorders* Rzym 22–24 lutego 2012 roku

Anna Klukowska

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

## Streszczenie

Pojawienie się inhibitora czynnika VIII (cz. VIII) jest obecnie najpoważniejszym powikłaniem leczenia chorych na hemofilię A. Częstość powstawania inhibitora określa się na 10–52%. Analizowano różne czynniki wpływające na to zjawisko. Do najpoważniejszych wydają się należeć: typ mutacji cz. VIII, występowanie inhibitora w rodzinie oraz intensywność początkowego leczenia koncentratem cz. VIII. Pojawienie się inhibitora powoduje mniejszą skuteczność leczenia krwawień, wyższy koszt leczenia, wzrost liczby krwawień i większe zaawansowanie artropatii hemofilowej oraz znaczne pogorszenie jakości życia chorych. Dlatego eliminacja inhibitora jest bardzo istotnym celem u chorego na hemofilię. Jedynym sprawdzonym sposobem pozbycia się inhibitora i prowadzenia skutecznego leczenia koncentratem cz. VIII jest wywołanie tolerancji immunologicznej.

**Słowa kluczowe:** hemofilia A, inhibitor czynnika VIII, wywoływanie tolerancji immunologicznej

*J. Transf. Med.* 2012; 5: 171–175

## Abstract

*Factor VIII (FVIII) inhibitor development is the most serious complication of haemophilic patient treatment. An inhibitor occurs in about 10–52% of patients with haemophilia A. There are different reasons of this situation. The most important among them are: type of FVIII mutation, presence of inhibitor in the family and intensity of initial treatment with concentrates of FVIII. The development of inhibitor causes lower efficacy of bleeding treatment, higher cost of treatment, increased frequency of bleeding, more advanced haemophilic arthropathy and lower quality of life. The eradication of inhibitor is very substantial goal in haemophiliac treatment. Immune tolerance induction is the only proved way to remove inhibitor and to continue successful treatment with FVIII concentrates.*

**Key words:** haemophilia A, factor VIII inhibitor, immune tolerance induction

*J. Transf. Med.* 2012; 5: 171–175

Inhibitory cz. VIII powstają jako reakcja na podawany leczniczo koncentrat cz. VIII chorym na hemofilię. Przeciwciała należą głównie do klasy IgG4, ale stwierdzano wszystkie podklasy IgG. Mają one charakter neutralizujący cz. VIII, chociaż opisywano również inhibitory nieneutralizujące, zmieniające farmakokinetykę lub stabilność cz. VIII. Większość inhibitorów wiąże się z ważnymi czynnościami domenami cz. VIII i nie dopuszcza reakcji z innymi czynnikami krzepnięcia (trombina, IXa, X, fosfolipidy, czynnik von Willebranda), inne powodują hydrolizę cz. VIII [1, 2].

Przyjęto podział pacjentów z inhibitorami na:

1. dobrze odpowiadających na bodziec antygenowy (*high responders*), u których stężenie inhibitora jest  $> 5$  jB/ml lub wzrasta do  $> 5$  jB/ml po podaniu cz. VIII;
2. słabo odpowiadających na bodziec antygenowy (*low responders*), u których stężenie inhibitora utrzymuje się  $< 5$  jB/ml;
3. z przejściowym inhibitorem — o niskim stężeniu, samoistnie ustępującym w ciągu 6 miesięcy przy niezmiennym leczeniu.

### Czynniki ryzyka

Zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe mają wpływ na powstawanie inhibitora. Czynniki genetycznymi wysokiego ryzyka powstawania inhibitora są duże delecje w obrębie genu cz. VIII, inwersje oraz mutacje nonsensowne [3]. Mutacje te są przyczyną całkowitego braku wytwarzania endogennego cz. VIII. Koncentrat cz. VIII stosowany u pacjentów z takimi mutacjami traktowany jest przez układ immunologiczny chorego jak obce białko. Małe delecje i mutacje chybione znacznie rzadziej wywołują inhibitory, ponieważ pacjenci produkują własne nieaktywne białko, powodując tolerancję układu immunologicznego na zmienione białko. Ponadto, niektóre polimorfizmy w genach wpływających na układ immunologiczny mogą zwiększać ryzyko wystąpienia inhibitora cz. VIII. Należą do nich polimorfizmy w genach IL-10 i TNF- $\alpha$  zaangażowanych w odpowiedź immunologiczną [4, 5].

### Odpowiedź immunologiczna na koncentrat cz. VIII

Przeciwciała przeciw cz. VIII są produkowane przez specyficzne komórki B pamięci za pomocą aktywowanych komórek T CD4+. Pierwotna aktywacja komórek T CD4+ wymaga współdziałania z dojrzałymi komórkami dendrytycznymi, które prezentują peptydy w kontekście kompleksów zgodności

tkankowej klasy II. Sam cz. VIII prawdopodobnie nie wywołuje wystarczającej odpowiedzi immunologicznej dopóki nie włączą się czynniki prozapalne lub inne stymulujące układ immunologiczny, nazywane „niebezpiecznymi” sygnałami [6]. Tymi sygnałami mogą być procesy związane z rozpadem komórek i tkanek, zakażenia lub inne dotychczas niezidentyfikowane czynniki.

### Mechanizmy wywołujące tolerancję immunologiczną

Wywoływanie tolerancji immunologicznej polega na długotrwałej ekspozycji układu immunologicznego na antygen cz. VIII, hamowaniu powstawania przeciwciał przeciw cz. VIII i wywołaniu trwałej tolerancji immunologicznej na białko cz. VIII. W trakcie tego procesu specyficzne dla cz. VIII komórki pamięci B, komórki pamięci T CD4 i komórki produkujące przeciwciała przeciw cz. VIII mają być całkowicie unieczynnione lub/i usunięte. Zidentyfikowano komórki T regulatorowe (Treg) o właściwościach supresyjnych, które kontrolują odporność przez wpływ na wytwarzanie komórek T. Komórki Treg produkowane są w grasicy i przez obwodowy układ chłonny [6].

Wykazano, że wysokie dawki cz. VIII hamują pobudzenie specyficznych komórek pamięci B związanych z cz. VIII i ich różnicowanie na komórki uwalniające przeciwciała [7, 8].

### Metody wywoływania tolerancji immunologicznej (ITI)

W 1977 roku po raz pierwszy została opisana metoda wywoływania tolerancji immunologicznej u pacjentów z wysokim stężeniem inhibitorów cz. VIII. Autorami byli Brackmann i Gormsen, a metoda jest zwana „protokołem Bonn”. Stosowano duże dawki cz. VIII, 100 j./kg mc., co 12 godz. oraz profilaktycznie aktywowany koncentrat zespołu protrombiny (aPCC) w takich samych dawkach [9]. Po uzyskaniu obniżenia stężenia inhibitora cz. VIII  $< 1$  jB/ml zmniejszano dobową dawkę cz. VIII do 150 j./kg raz dziennie oraz wstrzymywano podawanie aPCC [10]. Skuteczność „protokołu Bonn” wynosiła 87%.

Stosowano również protokoły ITI (*induction of immune tolerance*) z mniejszymi dawkami cz. VIII. Według „protokołu van Creveld” podawano cz. VIII w dawce 25–50 j./kg mc. 2 razy dziennie przez 1–2 tygodnie, a następnie 25 j./kg co 2. dzień [11]. Skuteczność była również wysoka.

Znany na świecie „protokół Malmö” polega na stosowaniu wysokich dawek cz. VIII w połączeniu

z cyklofosfamidem, dużą dawką IgG i usunięciem inhibitora przez adsorpcję na białku A w trakcie przepuszczania osocza pacjenta przez specjalne kolumny [12]. Choć skuteczność tego sposobu ITI była wysoka, to trudności stosowania u małych dzieci oraz niechęć do leczenia immunosupresyjnego spowodowały, że jest on rzadko stosowany [13].

Aktualnie w ITI stosuje się różne dawki cz. VIII w różnych odstępach czasu, jednak istotne jest kontynuowanie wybranego schematu bez przerwy, aż do osiągnięcia całkowitej eliminacji inhibitora. Indukcję *tolerancji immunologicznej* stosuje się u pacjentów dobrze odpowiadających na bodziec antygenowy oraz u słabo reagujących na bodziec antygenowy, u których krwawienia występują często, a cz. VIII jest nieskuteczny.

W trakcie ITI u chorych z częstymi krwawieniami profilaktycznie stosuje się aPCC [14]. Są również doniesienia o skuteczności rVIIa w zapobieganiu krwawieniom [15].

Stosowane są terminy skutecznej, częściowo skutecznej i nieskutecznej ITI [13].

Skuteczna ITI:

1. inhibitor < 0,6 jB/ml,
2. czas półtrwania cz. VIII > 6 godz.,
3. odzyskanie cz. VIII > 66% przewidywanego.

Częściowo skuteczna ITI:

1. inhibitor < 5 jB/ml,
2. czas półtrwania cz. VIII < 6 godz.,
3. odzyskanie cz. VIII < 66% przewidywanego.

Nieskuteczna ITI:

1. brak skuteczności całkowitej lub częściowej w ciągu 33 miesięcy stosowania,
2. brak redukcji inhibitora o przynajmniej 20% w kolejnych badaniach w ciągu 6 miesięcy stosowania po 3 pierwszych miesiącach, kiedy spodziewana jest odpowiedź anamnetyczna.

Po uzyskaniu całkowitej ITI zmniejsza się dawkę cz. VIII o około 10%, rozpoczynając od dawki wieczornej, kontrolując odzyskanie cz. VIII co 2–4 tygodnie i przechodząc stopniowo na jedną dawkę ranną [14]. Podobnie zmniejsza się dawkę cz. VIII przy stosowaniu jednej dawce dobowej, stopniowo zmierzając do dawek i częstości typowych dla profilaktyki.

Znane są różne czynniki wpływające na skuteczność ITI. Istotnym jest stężenie inhibitora.

Do czynników źle rokujących, co do skuteczności immunotolerancji należą:

1. wysokie historyczne stężenie inhibitora > 200 jB/ml przed rozpoczęciem ITI,
2. stężenie inhibitora > 10 jB/ml bezpośrednio przed rozpoczęciem ITI,
3. okres > 5 lat od wykrycia inhibitora do rozpoczęcia ITI.

Są to wnioski, wynikające z analizy dużych rejestrów:

1. Północnoamerykańskiego Rejestru ITI (NAITR, *North American Immune Tolerance Registry*) [16],
2. Międzynarodowego rejestru IT (IITR, *International Immune Tolerance Registry*) [17],
3. Niemieckiego Rejestru IT (GITR, *Germany Immune Tolerance Registry*) [18].

Wobec tego zaleca się wstrzymanie rozpoczęcia ITI do czasu, kiedy stężenie inhibitora obniży się < 10 jB/ml [19]. W tym okresie w leczeniu krwawień należy unikać preparatów zawierających cz. VIII, które mogą wywołać odpowiedź anamnetyczną. Stosuje się aktywowany rekombinowany czynnik VII (rVIIa).

Indukcję *tolerancji immunologicznej* powinno się rozpocząć przy stężeniu inhibitora > 10 jB/ml, jeśli w ciągu 1–2 lat nie uzyska się oczekiwanego obniżenia stężenia inhibitora lub jeśli u pacjenta występują ciężkie krwawienia.

Według NAITR skuteczność ITI wynosiła 70%. Biorąc pod uwagę tylko pacjentów dobrze odpowiadających na bodziec antygenowy, była ona niższa, 63%. W grupie tej wynosiła 83%, jeśli rozpoczęto ITI przy stężeniu inhibitora < 10 jB/ml, a tylko 40%, jeśli przy rozpoczęciu stężenie inhibitora było > 10 jB/ml [20].

Analizowano wpływ rodzaju koncentratu cz. VIII na skuteczność ITI. Są doniesienia z ośrodka niemieckiego, że preparaty cz. VIII zawierające czynnik von Willebranda (cz. vW) są bardziej skuteczne. Badania tam prowadzone wskazują również, że przy niepowodzeniu ITI z zastosowaniem rekombinowanego cz. VIII (rVIII), zamiana na cz. VIII zawierający cz. vW pozwalała na osiągnięcie całkowitej ITI u ponad połowy dzieci [21]. Inne badania nie potwierdzają jednak tych doniesień i zwykle przy ITI podaje się ten sam cz. VIII, który spowodował wystąpienie inhibitora [22].

Nie ma wystarczających dowodów na określenie optymalnej dawki cz. VIII w ITI. Według NAITR stosowana dawka nie wpływa na skuteczność ITI u pacjentów dobrze rokujących, co do skuteczności ITI, czyli z inhibitorem o stężeniu nigdy nieprzekraczającym 200 jB/ml i stężeniem < 10 jB/ml bezpośrednio przed rozpoczęciem programu. W tym roku ukazała się praca porównująca dawkowanie cz. VIII w ITI u pacjentów dobrze rokujących [23]. Do czynników „dobrego” ryzyka włączono jeszcze młody wiek pacjenta przy rozpoczęciu ITI oraz odroczenie ITI o maksimum 1–2 lata od wykrycia inhibitora. Badanie było prospektywne, randomizowane, z zastosowaniem 2 dawek cz. VIII, 50 j/kg mc. 3 razy w tygodniu lub 200 j/kg codziennie. Wybór

rodzaju cz. VIII oraz założenie żylnego cewnika centralnego pozostawiono do decyzji badacza. Całkowitą immunotolerancję uzyskano u 69,7% pacjentów; u 4,5% ITI była częściowa, a u 25,8% nie powiodła się. Nie stwierdzono znaczących różnic pomiędzy dwoma sposobami ITI, zarówno w osiągnięciu ITI, jak i w czasie do osiągnięcia ITI, chociaż faza 1 do uzyskania negatywnego stężenia inhibitora i faza 2 do osiągnięcia odzyskania cz. VIII  $\geq 66\%$  były znacząco dłuższe przy niższych dawkach niż przy wysokich. U pacjentów otrzymujących niskie dawki częściej występowały krwawienia. Jednak, ani częste krwawienia, ani zakażenia żylnego cewnika centralnego nie miały wpływu na wynik ITI. Czynniki mającymi wpływ na rezultat ITI były maksymalne historyczne stężenia inhibitora przed ITI oraz maksymalne stężenie inhibitora w trakcie ITI.

U pacjentów z czynnikami źle rokującymi, co do końcowego wyniku ITI sugeruje się większą skuteczność protokołów opartych na wyższych dawkach cz. VIII,  $> 200$  j./kg mc. [13]. Prowadzone jest wielośrodkowe badanie RESIST, do którego włączani są tacy pacjenci [24].

Mutacje w genie cz. VIII mają nie tylko wpływ na wystąpienie inhibitora, ale również na wynik prowadzonej ITI. Pacjenci z dużymi delecjami w genie cz. VIII mają mniejsze szanse na wywołanie ITI [25].

### Inhibitory w łagodnej i umiarkowanej postaci hemofilii

Inhibitory w łagodnej i umiarkowanie ciężkiej postaci hemofilii pojawiają się znacznie rzadziej niż w ciężkiej postaci choroby. Dotyczą 3–13% pacjentów i zwykle ujawniają się w życiu dorosłym. Związane są z pewnymi rzadkimi zmianami w domenach A2 i C2 genu cz. VIII. Inhibitory te zwykle reagują krzyżowo z endogennym cz. VIII, powodując obniżenie stężenia cz. VIII do  $< 1\%$  n i samoistne krwawienia [26].

Intensywne leczenie krwawień lub substytucja cz. VIII przy zabiegach operacyjnych są najczęstszą przyczyną występowania inhibitorów w łagodnej postaci hemofilii [13].

Pacjenci z łagodną postacią hemofilii A powikłanej inhibitorem słabo odpowiadają na ITI, wobec czego nie jest ona zalecana. Wydaje się, że „protokół Malmö” może być bardziej korzystny w łagodnej postaci, jednak liczba doniesień jest zbyt mała, aby można było wyciągać wnioski [13].

### Rola żylnych cewników centralnych w ITI

Częste podawanie cz. VIII przy ITI stwarza konieczność zakładania żylnych cewników centralnych u małych dzieci. Sprzyja to prowadzeniu programu bez przerw i bez zakłóceń we wstrzyknięciach preparatu, ale również powoduje występowanie zakażeń i zakrzepów związanych z cewnikiem [27, 28].

Skuteczność ITI jest mniejsza, jeżeli występują zakażenia cewnika centralnego (38%) w porównaniu z 74-procentową skutecznością programu przebiegającego bez zakażenia [29].

Czynnikiem odgrywającym rolę w osiągnięciu ITI jest rasa. Afroamerykanie prawie dwa razy rzadziej uzyskiwali pozytywny wynik ITI niż dzieci rasy kaukaskiej. Jednak czas uzyskania skutecznej ITI był taki sam, niezależnie od rasy [30].

### Piśmiennictwo

1. Ananyeva N.M., Lacroix-Desmazes S., Hauser C.A.E. i wsp. Inhibitors in haemophilia A: mechanisms of inhibition, management and perspectives. *Blood Coagulation Fibrinolysis* 2004; 15: 109–124
2. Lacroix-Desmazes S., Moreau A., Sooryanarayana Bonnemain C. i wsp. Catalytic IgG from patients with haemophilia A inactivate therapeutic factor VIII. *Journal of Immunology* 2006; 177: 1355–1363.
3. Oldenburg J., Pavlova A. Genetic risk factors for inhibitors to factors VIII and IX. *Haemophilia*. 2006; 12 (supl. 6): 15–22.
4. Astermark J., Oldenburg J., Carlson J. i wsp. Polymorphisms in the TNFA gene and the risk of inhibitor development in patients with hemophilia A. *Blood* 2006; 108: 373–945.
5. Astermark J., Oldenburg J., Pavlova A. i wsp. Polymorphisms in the IL10 but not in the IL1beta and IL4 genes are associated with inhibitor development in patients with hemophilia A. *Blood* 2006; 107: 3167–3172.
6. Reipert B.M., van den Helden P.M.W., Schwarz H.-P., Hausl C. Mechanisms of action of immune tolerance induction against factor VIII in patients with congenital haemophilia A and factor VIII inhibitors. *Br. J. Haematol.* 2006; 136: 12–25.
7. Hausl C., Ahmad R.U., Sasgary M. i wsp. High-dose factor VIII inhibits factor VIII-specific memory B cells in hemophilia A with factor VIII inhibitors. *Blood*. 2005; 106: 3415–3422.
8. Reipert B.M., Allacher P., Hausl C. i wsp. Modulation of factor VIII-specific memory B cells. *Haemophilia*. 2010; 16: 25–34.
9. Brackmann H.H., Gormsen J. Massive factor-VIII infusion in haemophiliac with factor-VIII inhibitor, high responder. *Lancet* 1977; 2: 933.
10. Brackmann H.H., Oldenburg J., Schwaab. Immune tolerance for the treatment of factor VIII inhibitors — twenty years' „Bonn protocol“. *Vox Sang.* 1996; 70 (supl.1): 30–35.
11. Mouser-Bunschoten E.P., Nieuwenhuis H.K., Roosendaal G., van den Berg H.M. Low-dose immune tolerance induction in hemophilia A patients with inhibitors. *Blood* 1995; 86: 983–988.

12. Nilsson I.M., Berntorp E., Zettervall O. Induction of immune tolerance in patients with haemophilia and antibodies to factor VIII by combined treatment with intravenous IgG, coclophosphamide, and factor VIII. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318: 947–950.
13. DiMichele D.M., Hoots W.K., Pipe W. i wsp. International workshop on immune tolerance induction : consensus recommendations. *Haemophilia*. 2007; 13 (supl.1): 1–22.
14. Brackmann H.H., Lenk H., Scharrer I. i wsp. German recommendations for immune tolerance therapy in type A haemophiliacs with antibodies. *Haemophilia*. 1999; 5: 203–206.
15. Saxon B.R., Shanks D., Jory C.B., Williams V. Effective prophylaxis with daily recombinant factor VIIa (rFVIIa-Novoseven) in a child with high titre inhibitors and a target joint. *Thromb. Haemost.* 2001; 86: 1126–1127.
16. DiMichele D.M., Kroner B.L. Analysis of the North American Immune Tolerance Registry (NAITR) 1993-1997: current practice implications. *Vox Sang.* 1999; 77 (supl. 1): 31–32.
17. Mariani G., Kroner B. International Immune Tolerance registry, 1997 update. *Vox Sang.* 1999; 77 (supl.1): 25–27.
18. Lenk H. The German National Immune Tolerance Registry, 1997 update. *Vox Sang.* 1999; 77 (supl. 1): 28–30.
19. Hay C.R.M., Brown S., Collins W. i wsp. The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom Centre Doctors Organisation. *Br. J. Haematol.* 2006; 133: 591–605.
20. DiMichele D. Immune tolerance therapy for factor VIII inhibitors: moving from empiricism to an evidence-based approach. *J. Thromb. Haemost.* 2007; 5 (supl. 1): 143–150.
21. Ettingshausen C., Kreuz W. Role of von Willebrand factor in immune tolerance induction. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2005; 16 (supl. 1): S27–31.
22. DiMichele D., Rivard G., Hay C., Antunes S. Inhibitors in haemophilia: clinical aspects. *Haemophilia* 2004; 10 (supl.4): 140–145.
23. Hay C.R.M., DiMichele D. the principal results of the International Immune Tolerance Study: a randomized dose comparison. *Blood* 2012; 119: 1335–1344.
24. Gringeri A., Musso R., Mazzucconi M.G. i wsp. Immune tolerance induction with a high purity von Willebrand factor/VIII complex concentrate in haemophilia A patients with inhibitors at high risk of a poor response. *Haemophilia* 2007; 13: 373–379.
25. Salviato R., Belvini D., Radossi P. i wsp. F8 gene mutation profile and ITT response in a cohort of Italian haemophilia A patients with inhibitors. *Haemophilia* 2007; 13: 361–372.
26. Hay C.R.M. Factor VIII inhibitors in mild and moderate-severity haemophilia A. *Haemophilia* 1998; 4: 558–563.
27. Tarrantino M.D., Lail A., Donfield S.M. i wsp. Surveillance of infectious complications associated with central venous access devices in children with haemophilia. *Haemophilia* 2003; 9: 588–592.
28. Domm J.A., Hudson M.G., Janco R.L. Complications of central venous catheters (portacaths) in children with haemophilia. *Haemophilia* 2000; 6: 66–70.
29. Carcao M.D. Side-effects and venous access issues with immune tolerance therapy. *Haemophilia* 2009; 15: 494–500.
30. Callaghan M.U., Rajpurkar M., Chiltur M. i wsp. Immune tolerance induction in 31 children with haemophilia A: is ITI less successful in African Americans? *Haemophilia* 2010: 1–7. DOI:10.1111/j.1365-2516.2010.02429x.