

Hemofilia — wybrane doniesienia z 53. Kongresu *American Society of Hematology (ASH).* Indukcja tolerancji immunologicznej u chorych na hemofilię A powikłaną inhibitorem

Selected topics from the 53rd Annual Meeting of the American Society of Hematology

Krystyna Zawilska

Oddział Hematologii i Chorób Wewnętrznych Wielospecjalistyczny Szpital im. J. Strusia w Poznaniu

Indukcja tolerancji immunologicznej u chorych na hemofilię A powikłaną inhibitorem

Inhibitor czynnika VIII (alloprzeciwciało) pojawia się u 30% chorych z ciężką hemofilią A (VIII: C < 1% normy) i u 0,9–7% pacjentów z umiarkowaną i łagodną hemofilią A, najczęściej (76%) w wieku < 10 lat. Inhibitor tworzy się zwykle w ciągu pierwszych 50 dni ekspozycji na czynnik VIII, jednak drugi szczyt jego występowania zaobserwowano w wieku powyżej 50 lat. W hemofilii B rzadko dochodzi do powstawania inhibitora — tylko u 1,5–3% chorych.

Do zwiększenia częstości występowania nowych przypadków inhibitora u chorych w wieku powyżej 60 lat prawdopodobnie dochodzi w wyniku „przełamania” tolerancji immunologicznej, wytworzonej wcześniej w czasie wielu dni ekspozycji na czynnik VIII. Zaobserwowano, że u pacjentów zakażonych HIV znacząco rzadziej dochodzi do pojawienia się inhibitora.

Czynniki wywierające wpływ na proces tworzenia się inhibitora:

- czynniki genetyczne — rodzaj mutacji (duże delecje, mutacje nonsensowne, inwersja i translokacja intronów 1–22);
- odpowiedź immunologiczna (procesy zapalne, zabiegi operacyjne, reakcja na ciężkie krwawienia, szczypienia);

— rodzaj i sposób stosowania koncentratu czynnika krzepnięcia.

Klinicznymi skutkami obecności inhibitora nie jest zwiększenie częstości krwawień, jednak krwawienia te są znacznie trudniejsze do opanowania, szczególnie u chorych z wysokim mianem inhibitora — *high responders*. W wyniku tego dochodzi u pacjentów z inhibitorem do zwiększenia chorobowości i śmiertelności, a także do pogorszenia jakości życia.

Już w 1977 roku Brachmann i wsp. z Bonn (Niemcy) zaobserwowali, że regularne wstrzyknięcia dużych dawek czynnika VIII mogą doprowadzić do powstania tolerancji odpornościowej wobec czynnika VIII — stanu równoznacznego z eliminacją inhibitora z krwiobiegu. Postępowanie to nazwano indukcją tolerancji immunologicznej (ITI, *induction of immune tolerance*). Skuteczność ITI zależy od czynników związanych z pacjentem (historyczne miano inhibitora, maksymalne miano inhibitora, wiek, rasa, obecność stanów zapalnych, rodzaj mutacji genetycznej), a także od czynników związanych ze stosowanym leczeniem (dawka czynnika VIII, zawartość czynnika von Willebranda w koncentracie czynnika VIII, czas od wystąpienia inhibitora do początku ITI, przerywanie ITI, krwawienia podczas ITI, zakażenia dostępu naczyniowego, stosowanie leków immunomodulujących — rytuksymab, kortykosteroidy, winkrystyna, cyklosporyna, dożylna immunoglobulina, azatiopryna, cyklosporyna, cyklofosfamid, mykofenolan mofetilu).

Adres do korespondencji: prof. dr hab. med. Krystyna Zawilska, Oddział Hematologii i Chorób Wewnętrznych Wielospecjalistyczny Szpital im. J. Strusia w Poznaniu; e-mail: k.zawilska@interia.pl

Czynnikami dobrego rokowania odnośnie eliminacji inhibitora są: wczesne rozpoczęcie indukcji po pojawieniu się inhibitora, małe miano inhibitora (< 5 j.B.), miano „historyczne” poniżej 200 j.B. i stosowanie dużych dawek czynnika VIII, przy których pojawia się wykrywalna aktywność czynnika VIII w osoczu chorego. Istnieją rozbieżne opinie na temat przewagi stosowania w ITI koncentratów zawierających czynnik von Willebranda w porównaniu z preparatami rekombinowanego czynnika VIII. Indukcję tolerancji immunologicznej często przeprowadza się według protokołu z Bonn, zgodnie z którym w I fazie stosuje się czynnik VIII w dawce 100–150 j.m./kg co 12 godzin, łącznie z preparatem FEIBA w dawce 50–100 j./kg co 12 godzin. W fazie II stopniowo zmniejsza się dawki podawanych preparatów do momentu znormalizowania czasu półtrwania (T1) czynnika VIII. Protokół Van Crevelda przewiduje stosowanie dawki „neutralizującej” czynnika VIII 25–50 j.m./kg co 12 godzin przez 1–2 tygodnie, a następnie dawki „odczulającej” 25 j.m./kg co 48 godzin do uzyskania tolerancji.

W ocenie skuteczności ITI posługujemy się pojęciem odzysku (*recovery*) *in vivo*, którą definiujemy jako aktywność 30 minut po podaniu 50 j./kg cz. VIII (min. 24 godziny po ostatnim toczeniu). Badanie to należy powtórzyć po 2 tygodniach, jeśli odzysk wynosi powyżej 66%. Określa się również okres półtrwania (T1) czynnika VIII *in vivo* — aktywność czynnika VIII przed i 15, 30, 60 min, 2, 3, 4, 6, 12, 24, 48 godzin po podaniu 50 j./kg czynnika VIII (min. 3 dni po ostatnim toczeniu). Wynik ITI określa się jako „sukces”, gdy inhibitor jest niewykrywalny (2 oznaczenia) a odzysk prawidłowy, a także T1 czynnika VIII. O częściowym sukcesie mówimy, jeśli inhibitor jest obecny, stwierdza się nieprawidłowy odzysk i T1 czynnika VIII, ale pacjent może być leczony koncentratem czynnika VIII. Niepowodzeniem określa się stan braku redukcji minimum o 20% miana inhibitora po 6 miesiącach każdego cyklu leczenia (do 33 mies.) po 3-miesięcznym okresie wstępnym. U pacjentów z korzystnymi czynnikami rokowniczymi odsetek powodzeń sięga 80–90% (Ewing N.P. Immune tolerance therapy: current concepts. ASH 2011).

Indukcja tolerancji immunologicznej u dorosłych chorych na hemofilię A powikłaną inhibitorem jest szczególnie trudnym problemem. Wynika to z bardzo dużych kosztów i długiego, niekiedy kilkuletniego okresu częstego (nawet co 12 godz.) stosowania koncentratów czynnika VIII, co wiąże się z częstym brakiem współpracy ze strony chorego. U wielu chorych z powodu trudności z dostępem żylnym pojawia się konieczność założenia cewnika

do żył centralnych, co zagraża w znacznym stopniu powikłaniami zakrzepowymi i zakażeniem. U starszych pacjentów utrudnienia mogą też być związane z chorobami współistniejącymi — artropatią, zakażeniem HCV lub HIV. Dlatego też u około 90% dorosłych chorych na hemofilię powikłaną inhibitorem nie stosowano ITI lub były to tylko krótkotrwałe próby (Heisel Kurth M.A. Practical approaches to the poor prognosis patients with FVIII inhibitors. ASH 2011).

Przedstawiono wyniki ITI przeprowadzonej we Włoszech u 8 chorych na hemofilię A z inhibitorem o wysokim mianie. Czas od rozpoznania do początku ITI wynosił od 1 do 33 lat (śr. 16 lat), a czas trwania ITI od 4 do 33 miesięcy (śr. 16 mies.). Nie stosowano leków immunomodulujących. Indukcja tolerancji immunologicznej zakończyła się sukcesem u 5 pacjentów, częściowym sukcesem u 3, a niepowodzeniem u 1 pacjenta (Heisel Kurth M.A. Practical approaches to the poor prognosis patients with FVIII inhibitors. ASH 2011).

Obliczono, że u dorosłego chorego na hemofilię A powikłaną inhibitorem koszt ITI trwającej 6 miesięcy wynosi 287 000 EUR, a trwającej 36 miesięcy 17 253 000 EUR. Jest to jedna z najdroższych albo nawet najdroższa procedura medyczna.

Nowe kierunki badawcze w leczeniu hemofilii

Podczas ASH przedstawiono następujące tematy badań, mogących przyczynić się do postępu w zakresie leczenia hemofilii:

- koncentraty czynników krzepnięcia o przedłużonym czasie działania;
- koncentraty czynników krzepnięcia pozbawione działania immunogennego — modyfikacja epitopów w domenach A1, A2 i C2 cząsteczki czynnika VIII;
- czynniki hamujące działanie inhibitora szlaku czynnika tkankowego (TFPI);
- terapia genowa.

Terapia genowa w hemofilii B

Gen czynnika IX jest znacznie mniejszy niż gen kodujący czynnik VIII. Dlatego próby wdrożenia terapii genowej dotyczą głównie pacjentów z hemofilią B. Zespoły z *University College London Cancer Institute* (Wielka Brytania) oraz z *St. Jude Children's Research Hospital* w Memphis (Stany Zjednoczone) przeprowadziły badanie kliniczne fazy I/II, w którym drogą jednorazowej infuzji do żyły obwodowej dokonano transferu genu czynnika IX do wątroby

mężczyzn z ciężką postacią hemofilii B. Celem było uzyskanie wzrostu aktywności czynnika IX we krwi do powyżej 1%, co może się wiązać ze zmianą fenotypu hemofilii na niezagrażający krwawieniami i może pozwolić na uniknięcie konieczności profilaktycznych toczeń koncentratu czynnika IX, którego koszt w ciągu całego życia wynosi średnio 20 mln USD/pacjenta. Jako wektora użyto hepatotropowego adenowirusa o serotypie 8 (AAV), którego łącznie z transgenem czynnika IX (scAAV2/8-LP1-hFIXco) podano dożylnie 6 chorym na ciężką postać hemofilii B (czynnik IX \leq 1%). Zastosowano dawki eskalowane: małą dawkę — 2×10^{11} /kg u 2 chorych, średnią dawkę — 6×10^{11} /kg u 2 chorych i dużą dawkę — 20×10^{11} /kg u pozostałych 2 chorych. Czas obserwacji wynosił 6–16 miesięcy. U wszystkich badanych aktywność czynnika IX wzrosła proporcjonalnie do dawki i utrzymywała się między 2–11%. Profilaktykę krwawień można

było przerwać u 4 pacjentów, u 2 wydłużono odstępy między kolejnymi toczeniami. Powikłaniem był przemijający wzrost aktywności enzymów wątrobowych u 2 pacjentów z grupy dużej dawki, który ustąpił po leczeniu kortykosteroidami. Nie wykryto przeciwciał neutralizujących czynnik IX. Z badania wynika wniosek, że terapia genowa może zmienić fenotyp ciężkiej hemofilii w postać łagodną, a jedynym powikłaniem tego sposobu leczenia może być przemijająca dysfunkcja wątroby. Konieczne jest przeprowadzenie badań z udziałem większej grupy chorych (Nathawani A.C. i wsp. Adeno-associated viral vector mediated gene transfer for hemophilia B. ASH 2011, abstr. 5). Jest to przełom w terapii genowej hemofilii, który nastąpił po niepowodzeniach sprzed ponad 10 laty, gdy w 1999 roku na *University of Pennsylvania* (Stany Zjednoczone) zmarł po terapii genowej młody mężczyzna.