

# Indukcja tolerancji immunologicznej w hemofilii powikłanej inhibitorem w świetle nowych badań

## Immune tolerance induction in patients with haemophilia and inhibitors in the light of new studies

Krystyna Zawilska

Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego  
 Centrum Diagnostyczno-Lecznicze INTERLAB w Poznaniu

Wytworzenie przez organizm chorego na hemofilię inhibitora (krążącego antykoagulantu) jest najpoważniejszym powikłaniem leczenia substytucyjnego hemofilii. Inhibitorem nazywane są poliklonalne alloprzeciwciała, głównie klasy IgG, pojawiające się u części chorych na hemofilię A lub B, w odpowiedzi na podawany dożylnie koncentrat czynnika VIII lub czynnika IX i blokujące jego aktywność prokoagulacyjną. Inhibitor pojawia się u 20–30% chorych z ciężką hemofilią A, u 5–10% pacjentów z umiarkowaną i łagodną hemofilią A, w 76% w wieku poniżej 10 lat, najczęściej w ciągu pierwszych 50 dni ekspozycji na czynnik VIII [1, 2]. Drugi szczyt występowania inhibitora opisano u pacjentów w wieku powyżej 50 lat, szczególnie po toczeniu większej ilości czynnika, na przykład w związku z zabiegiem operacyjnym albo urazem [3–5]. Po osiągnięciu łącznie 150 dni ekspozycji ryzyko inhibitora uznaje się za małe. Może on pojawić się po zmianie preparatu czynnika VIII/IX na inny lub w mechanizmie wzbudzenia odpowiedzi immunologicznej na antygen uprzednio tolerowany, a przyczyny tego zjawiska pozostają niejasne.

Inhibitory o małym mianie, stale utrzymującym się poniżej 5 jednostek Bethesda (j.B.)/ml, stanowią mniejszy problem kliniczny, ponieważ rzadko uniemożliwiają leczenie czynnikiem VIII/IX i dosyć często samoistnie zanikają. Większość inhibitorów stanowią jednak tak zwane inhibitory o dużym mianie, przekraczającym 5 j.B./ml. Neutralizują one podawany czynnik VIII/IX, niezależnie

od jego dawki. W przypadku pacjentów silnie reagujących na antygen (*high responders*) po podaniu deficytowego czynnika miano inhibitora rośnie, osiągając niekiedy bardzo duże wartości. Przy braku ekspozycji na czynnik VIII/IX miano takiego inhibitora stopniowo opada, może on nawet stać się niewykrywalny. Wiadomo jednak, że ponowna stymulacja antygenowa doprowadza po 3–5 dniach do gwałtownego wzrostu miana przeciwciał, co nazywamy odpowiedzią anamnesticzną. U chorych należących do grupy osób słabo reagujących na antygen (*low responders*) miano inhibitora nie zmienia się w istotnym stopniu po podaniu czynnika i zwykle pozostaje niewielkie (< 5 j.B./ml) przez cały czas, do momentu eradykacji lub samoistnego zaniknięcia inhibitora. Inhibitory o bardzo małym mianie mogą być niewykrywalne testem Bethesda, powodują jednak skrócenie czasu półtrwania czynnika ( $T_{1/2}$ ) i zmniejszenie jego odzysku w osoczu. Podobne skutki są następstwem obecności tak zwanych inhibitorów nieneutralizujących, których epidemiologia oraz znaczenie kliniczne nie zostały dotąd wyjaśnione.

Według aktualnych zaleceń w leczeniu hemofilii należy dążyć do trwałej eliminacji inhibitora [6, 7]. Eradykację inhibitora u części chorych można uzyskać poprzez regularne podawanie dużych dawek czynnika VIII/IX. Jest to tak zwany protokół indukcji tolerancji immunologicznej wobec czynnika VIII/IX (ITI, *immune tolerance induction*). Celem ITI jest umożliwienie ponownego leczenia koncentratem czynnika VIII/IX

**Adres do korespondencji:** prof. dr hab. n. med. Krystyna Zawilska, Centrum Diagnostyczno-Lecznicze INTERLAB, ul. 28 Czerwca 1956 r. nr 161, 61–505 Poznań, tel.: 61 833 39 49, faks: 61 833 17 85 i 61 852 76 11, e-mail: k.zawilska@interia.pl

**Tabela 1.** Aktualne wytyczne dotyczące indukowania tolerancji immunologicznej (ITI) u pacjentów z hemofilią A powikłaną inhibitorem o wysokim mianie**Table 1.** Recent guidelines of immune tolerance induction in patients with haemophilia and high-responding inhibitors

Procedura	ICP	EPR	UKHCDO
Początek ITI, gdy miano inhibitora wynosi < 10 j.B./ml	Tak	Tak	Tak
Unikać toczenia preparatów zawierających czynnik VIII przed ITI	Tak	—	Tak
Dawkowanie koncentratu czynnika VIII	Dobre rokowanie — brak zaleceń Złe rokowanie — 200 j./kg codziennie	≥ 100 j./kg codziennie	Brak zaleceń
Rodzaj koncentratu czynnika VIII	rVIII lub pdVIII; do rozważenia pdVIII po nieudanej ITI za pomocą rVIII	pdVIII po nieudanej ITI za pomocą rVIII	Większość ITI za pomocą rVIII
Dodatkowa immunomodulacja	Do rozważenia po nieudanej ITI	Nie u dzieci w wieku < 6 lat	Nie w pierwszej linii indukcji ITI

ICP — *International Concensus Panel* [10]; EPR — *European Practice Report* [11]; UKHCDO — *United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organisation guidelines* [12]; j.B. — jednostka Bethesda; rVIII — koncentrat rekombinowanego czynnika VIII; pdVIII — koncentrat osoczopochodnego czynnika VIII

i poprawa parametrów farmakokinetycznych deficytowego czynnika w osoczu. W przypadku hemofilii A stan immunotolerancji definiuje się jako zwiększenie czasu półtrwania czynnika VIII w osoczu do 6 lub więcej godzin i jego odzysku *in vivo* do co najmniej 66% wartości prawidłowej. Niekiedy sukces jest częściowy: udaje się zmniejszyć miano inhibitora do wartości stale mniejszych niż 5 j.B./ml i w ten sposób wyeliminować odpowiedź anamnestyczną, co umożliwi leczenie krwawień koncentratem czynnika VIII/IX w zwiększonych dawkach. Indukcję tolerancji immunologicznej (ITI) uważa się za nieskuteczną, jeżeli po 33 miesiącach nie udaje się osiągnąć nawet częściowej odpowiedzi. Należy również rozważyć jej przerwanie, jeżeli po wstępnym, naturalnym wzroście miana inhibitora nie spada ono o 20% lub więcej w ciągu każdych kolejnych 6 miesięcy (licząc od 4. miesiąca od rozpoczęcia procedury). W przypadku inhibitora o małym mianie ITI zwykle się nie stosuje, choć niekiedy podejmuje się taką próbę u dzieci, jeżeli inhibitor nie zaniknie samoistnie po 6 miesiącach.

W hemofilii B ITI wywołuje się rzadko, z powodu ryzyka anafilaksji oraz możliwości wystąpienia zespołu nerczycowego, który nie zawsze się cofa po zaprzestaniu ITI, jak również biorąc pod uwagę znacznie mniejsze szanse uzyskania eradykacji inhibitora niż w przypadku hemofilii A [8]. Poleca się raczej próby odczulania i leczenia immunosupresyjnego [9].

Za korzystne czynniki rokownicze uzyskania immunotolerancji powszechnie uznaje się: miano inhibitora poniżej 10 j.B./ml bezpośrednio przed włączeniem programu ITI, maksymalne „historyczne” miano inhibitora poniżej 200 j.B./ml i rozpoczęcie ITI w czasie krótszym niż 5 lat od wykrycia inhibitora.

Optymalny sposób przeprowadzania ITI (dawka i rodzaj koncentratu czynnika krzepnięcia) nie został dotąd ustalony. Aktualne wytyczne indukowania tolerancji immunologicznej u pacjentów z hemofilią A powikłaną inhibitorem o wysokim mianie zestawiono w tabeli 1.

Zgodnie z obowiązującymi wytycznymi z rozpoczęciem procedury ITI należy odczekać do czasu, gdy miano inhibitora osiągnie poziom poniżej 10 j.B./ml. Ostatnio ukazało się jednak doniesienie, z którego wynika, że istotniejsze znaczenie ma czas, jaki upłynął od wykrycia inhibitora do rozpoczęcia ITI. Nakar i wsp. podsumowali wyniki ITI przeprowadzonej u pacjentów z hemofilią A (aktywność czynnika VIII ≤ 5%), u których stosowano 100 j. lub więcej koncentratu czynnika VIII codziennie. Immunotolerancję udało się wyindukować u 48/58 pacjentów z całej grupy (84%), w tym u 100% spośród 19 *low responders* i u 77% pacjentów z 39-osobowej grupy *high responders*. Najbardziej interesujące było jednak uzyskanie eradykacji inhibitora u wszystkich 13 chorych, u których miano inhibitora przed rozpoczęciem ITI wynosiło powyżej 10 j.B./ml, średnio 25,61 (10–275) j.B./ml,

a procedurę tę rozpoczęto przed upływem pierwszego miesiąca od wykrycia inhibitora. Zdaniem autorów oczekiwanie na obniżenie się miana inhibitora zagraża wystąpieniem krwawień i nie poprawia wyników ITI, dlatego korzystnym dla pacjentów będzie wdrożenie tej procedury jak najwcześniej, zaraz po wykryciu inhibitora, niezależnie od jego miana [13].

Optymalna dawka koncentratu czynnika krzepnięcia stosowana w ITI nie została ustalona. Międzynarodowa próba kliniczna, w której porównano dawkę 50 j./kg koncentratu czynnika VIII stosowaną 3 razy w tygodniu z dawką 200 j./kg podawaną codziennie u chorych na hemofilię A powikłaną inhibitorem przerwano z powodu zwiększonej liczby krwawień w grupie otrzymującej mniejszą dawkę koncentratu [14]. Tylko to jedno badanie spełniło kryteria opublikowanej w 2014 r. metaanalizy, w której uwzględniono 44 badania kliniczne, oceniające skuteczność i bezpieczeństwo różnych metod eradykacji inhibitora u pacjentów z hemofilią A lub B [15]. W badaniu tym uczestniczyło 115 chłopców w wieku poniżej 7 lat z hemofilią A *high responders* z dobrymi czynnikami rokowniczymi ITI. Sukces ITI okazał się niezależny od dawki koncentratu czynnika VIII — immunotolerancję uzyskano u 24 pacjentów otrzymujących małą dawkę i 22 pacjentów leczonych dużą dawką — RR 1,07 (95% CI: 0,68–1,68). Zużycie koncentratu czynnika krzepnięcia było 8-krotnie większe w grupie, w której stosowano dużą dawkę. Wśród chłopców otrzymujących większą dawkę koncentratu czynnika VIII co najmniej jedno krwawienie podczas ITI wystąpiło u 36/57 (63,1%), a u leczonych małą dawką u 50/58 (96,2%) — RR 1,36 (95% CI: 1,09–1,71). Autorzy metaanalizy sugerują, że poza mniejszą liczbą krwawień uzyskane wyniki mogą ponadto wskazywać na szybszą eradykację inhibitora po zastosowaniu większej dawki koncentratu czynnika VIII. Dane te należy ostrożnie interpretować, gdyż analizowane grupy pacjentów były zbyt małe i analizy nie uzyskały pełnej mocy statystycznej. Wartość badania zwiększyłaby się, gdyby do każdej grupy włączono minimum 75 osób. Zdaniem autorów do czasu uzyskania bardziej wiarygodnych wyników randomizowanych prób klinicznych sposób przeprowadzania ITI należy ustalać indywidualnie w każdym przypadku. Zaplanowano badanie kliniczne *Randomised Study of First Time Immunotolerance Induction in Patients With Severe Type A Haemophilia With Inhibitor at High Risk of Failure* (RESIST NAIVE) w celu oceny

skuteczności pierwszej próby ITI u pacjentów z ciężką postacią hemofilii A powikłanej inhibitorem z niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi uzyskania immunotolerancji (wiek > 7 lat, miano inhibitora > 10 j.B./ml bezpośrednio przed włączeniem programu ITI, maksymalne „historyczne” miano inhibitora > 200 j.B./ml, rozpoczęcie ITI > 2 lata od wykrycia inhibitora). Próbę tę przerwano z powodu trudności w rekrutowaniu uczestników badania. W trakcie realizacji jest nierandomizowane obserwacyjne badanie kliniczne *The Observational Immune Tolerance Induction Research Program* (ObsITI). W okresie do lutego 2013 r. włączono do tego rejestru 256 pacjentów leczonych według protokołu Bonn ITI. Celem prowadzenia rejestru jest analiza czynników wywierających wpływ na skuteczność tego protokołu [16].

W przypadku nieuzyskania immunotolerancji podejmuje się czasem drugą próbę jej wywołania, zmieniając preparat, zwiększając jego dawkę lub dodając lek immunosupresyjny (np. rytuksymab). Rola czynnika von Willebranda (vWF, *von Willebrand factor*) zawartego w osoczo pochodnych koncentraty czynnika VIII (pdFVIII) w procedurze ITI budzi wiele kontrowersji. Koncepcja o jego większej skuteczności, w porównaniu z rekombinowanymi koncentratami czynnika VIII (rFVIII) niezawierającymi vWF, wyniknęła między innymi z badań *in vitro*, na których podstawie wysnuto przypuszczenie, że vWF może „maskować” epitopy inhibitora, chroniąc w ten sposób czynnik VIII przed szybką degradacją [17]. Wykazano także, że aktywność inhibitorów skierowanych przeciw domenom A2 i łańcuchowi lekkiemu czynnika VIII jest mniejsza, jeśli czynnik ten zawiera vWF [18]. Badania kliniczne oceniające zależność pomiędzy sukcesem ITI a zawartością vWF w koncentracie czynnika VIII dały rozbieżne wyniki [17, 19–24], prawdopodobnie z powodu zbyt małej liczby włączonych do tych badań pacjentów. W 2014 r. opublikowano metaanalizę wybranych 13 prób klinicznych, w których uczestniczyli pacjenci poddawani ITI po raz pierwszy, bez stosowania immunomodulacji i u których porównano skuteczność pdFVIII z rVIII. Immunotolerancję osiągnięto u 70% (95% CI: 52–89) pacjentów otrzymujących koncentrat czynnika VIII zawierający vWF i u 84% (95% CI: 75–93) leczonych koncentratem bez vWF. Wniosek o porównywalnej skuteczności obu rodzajów koncentratów czynnika VIII w indukowaniu immunotolerancji musi być jednak przyjęty z zastrzeżeniem, gdyż analizowane populacje nie były heterogenne — różniły się pod względem

wieku, miana inhibitora, dawkowania koncentratu i czasu od wykrycia inhibitora do początku ITI. W ocenie punktu końcowego brano ponadto pod uwagę tylko dwa ujemne wyniki oznaczeń w kierunku inhibitora, dane odnośnie do czasu półtrwania czynnika VIII w osoczu i jego odzysku *in vivo* nie były dostępne [25]. Badanie RESIST EXP ma na celu ocenę skuteczności drugiej procedury ITI przeprowadzonej z zastosowaniem pdFVIII u pacjentów, u których niepowodzeniem zakończyła się indukcja immunotolerancji za pomocą koncentratu czynnika VIII bez czynnika von Willebranda. Rekrutacja do tego badania ma się zakończyć w czerwcu 2020 r.

W podsumowaniu można stwierdzić, że nowe badania wskazują na konieczność weryfikacji poglądów na temat ITI. Nie jest wykluczone, że procedurę indukowania immunotolerancji w hemofilii A należałoby rozpoczynać jak najwcześniej po wykryciu inhibitora, niezależnie od jego miana. Dawki koncentratu należy dobierać indywidualnie, nie ma jeszcze przekonujących danych, że stosowanie koncentratu czynnika VIII w dużych dawkach (200 j./kg codziennie) jest bardziej skuteczne niż jego podawanie w małych dawkach (50 j./kg 3 razy/tydz.). Istnieje możliwość, że ITI dużymi dawkami koncentratu czynnika VIII powoduje wcześniej eradykację inhibitora i jest bardziej bezpieczna, gdyż wiąże się z mniejszą liczbą krwawień. Nie wykazano, żeby koncentraty zawierające vWF były bardziej skuteczne, w porównaniu z koncentratami czynnika VIII niezawierającymi vWF. Wszystkie te informacje wynikają jednak z badań obciążonych wadami metodycznymi, wynikającymi z małej liczby włączonych pacjentów albo z ich heterogenności. Niezwykle trudno przeprowadzić odpowiednio zaplanowane badanie kliniczne w chorobie sieroczej, w której na określony punkt końcowy wpływa wiele różnorodnych czynników.

## Piśmiennictwo

- Ehrenforth S., Kreuz W., Charrer I. i wsp. Incidence and development of factor VIII and factor IX inhibitors in haemophiliacs. *Lancet* 1992; 339: 594–598.
- Wight J., Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemophilia* 2003; 9: 418–435.
- Hay C.R. Factor VIII inhibitors in mild and moderate-severity haemophilia A. *Haemophilia* 1998; 4: 558–563.
- Kempton C.L., Soucie J.M., Miller C.H. i wsp. In non-severe hemophilia A the risk of inhibitor after intensive factor treatment is greater in older patients: a case-control study. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8: 2224–2231.
- Eckhardt C.L., Van der Bom J.G., Van der Naald M., Peters M., Kamphuisen P.W., Fijnvandraat K. Surgery and inhibitor development in hemophilia A: a systematic review. *J. Thromb. Haemost.* 2011; 9: 1948–1958.
- Coppola A., Di Minno M.N., Santagostino E. Optimizing management of immune tolerance induction in patients with severe haemophilia A and inhibitors: towards evidence-based approaches. *Br. J. Haematol.* 2010; 150: 515–528.
- Srivastava A., Brewer A.K., Mauser-Bunschoten A.K. i wsp. Guidelines for the management of hemophilia, 2<sup>nd</sup> ed. Prepared by the Treatment Guidelines Working Group, on behalf of the World Federation of Hemophilia (WFH), *Haemophilia*; Epub 6 Jul 2012. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2012.02909.x.
- Batorova A., Morongova A., Taganella G. i wsp. Challenges in the management of haemophilia B with inhibitor. *Sem. Thromb. Haemost.* 2013; 39: 767–771.
- Beutel K., Hauch H., Rischewski J., Kordes U., Schneppenheim J., Schneppenheim R. ITI with high-dose FIX and combined immunosuppressive therapy in a patient with severe haemophilia B and inhibitor. *Hamostaseologie* 2009; 29: 155–157.
- Di Michele D.M., Hoots W.K., Pipe S.W. i wsp. International workshop on immune tolerance induction: consensus recommendations. *Haemophilia* 2007; 13 (supl. 1): 1–22.
- Astermark J., Morado M., Racino A. i wsp. Current European practice of immune tolerance induction therapy in patients with haemophilia and inhibitors. *Haemophilia* 2006; 12: 363–371.
- Hay C.R.M., Brown S., Collins P.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.
- Nakar C.T., Manco-Johnson M.J., Lail A. i wsp. Prompt immune tolerance induction at inhibitor diagnosis regardless of titer may increase overall success in hemophilia A with inhibitors: experience of two US centers. 55<sup>th</sup> ASH Meeting, 2013; abstr. 575.
- Hay C.R., Di Michele D.M. The principal results of the International Immune Tolerance Study: a randomized dose comparison. *Blood* 2012; 119: 1335–1344.
- Athale A.H., Marcucci M., Iorio A. Immune tolerance induction for treating inhibitors in people with congenital haemophilia A or B. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014; 4: CD010561.
- Kreuz W., Escuriola-Ettingshausen C. Observational Immune Tolerance Induction (ObsITI) research program. [www.obsiti.com](http://www.obsiti.com)
- Ettingshausen C.E., Kreuz W. Role of von Willebrand factor in immune tolerance induction. *Blood Coagul. Fibrinol.* 2005; 16 (supl. 1): S27–S31.
- Gensana M., Altisent C., Aznar J.A. i wsp. Influence of von Willebrand factor on the reactivity of human factor VIII inhibitors with factor VIII. *Haemophilia* 2001; 7: 369–374.
- Auerswald G., Spranger T., Brackmann H.H. The role of plasma-derived factor VIII/von Willebrand factor concentrates in the treatment of hemophilia A patients. *Haematologica* 2003; 88: EREP05.
- Orsini F., Rotschild C., Beurrier P. i wsp. Immune tolerance induction with highly purified plasma derived factor VIII containing von Willebrand factor in hemophilia A patients with high-responding inhibitors. *Haematologica* 2005; 90: 1288–1290.
- Gringeri A., Musso R., Mazzucconi M.G. i wsp. RITS-FITN-HES Study Group. 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.
22. Greninger D.A., Saint-Remy J.M., Jacquemin M. i wsp. The use of factor VIII/von Willebrand factor concentrate for immune tolerance induction in haemophilia A patients with high-titre inhibitors: association of clinical outcome with inhibitor epitope profile. *Haemophilia* 2008; 14: 295–302.
  23. Kurth M., Puetz J., Kouides P. i wsp. The use of a single von Willebrand factor-containing, plasma-derived FVIII product in haemophilia A immune tolerance induction: the US experience. *J. Thromb. Haemost.* 2011; 9: 2229–2234.
  24. Valentino L.A., Recht M., DiPaola J. i wsp. Experience with a third generation recombinant factor VIII concentrate (Advate) for immune tolerance induction in patients with haemophilia A. *Haemophilia* 2009; 15: 718–726.
  25. Van Velzen A.S., Peters M., van der Bom J.G., Fijnvandraat K. Effect of von Willebrand factor on inhibitor eradication in patients with severe haemophilia A: a systematic review. *Br. J. Haematol.* doi:10.1111/bjh.12942, 1–11.