

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 13.03.2023
Принята к печати 17.04.2023

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-3-58-64

Факторы риска появления патологических ингибиторов свертывания у детей с тяжелой гемофилией А

Е.В. Дмитриев, А.В. Любушкин

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Республика Беларусь, Минский район, д. Боровляны

Контактная информация:

Дмитриев Евгений Вячеславович,
врач-гематолог ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Республика Беларусь
Адрес: Республика Беларусь, 223053, Минский район, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43
E-mail: jenyadmitriev24@gmail.com

Цель исследования: определить роль потенциальных факторов риска возникновения патологических ингибиторов свертывания у ранее не леченных пациентов (РНЛП) (или минимально леченных пациентов) с тяжелой гемофилией А. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (Республика Беларусь). В исследование включены 89 мальчиков, состоявших на диспансерном учете в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (Республика Беларусь) с 1998 по 2022 г. по поводу тяжелой гемофилии А. Возраст выявления гемофилии, представленный как медиана (10–90-й процентиля), составил 8,0 (1,0–21,0) месяца, базовая активность фактора VIII – 0,7% (0,4–0,95%). Первое введение препаратов фактора свертывания крови VIII выполнено в возрасте 11,0 (1,0–31,0) месяца. Из 89 пациентов ингибиторная форма тяжелой гемофилии А диагностирована у 23 детей. Кумулятивная частота возникновения патологических ингибиторов свертывания в целом по группе среди РНЛП составила $31,0 \pm 5,6\%$. Кумулятивная частота ингибиторных форм гемофилии ($37,0 \pm 6,9\%$) у пациентов с нулевыми мутациями превышала (log-rank-тест, $p = 0,041$) аналогичный показатель ($6,5 \pm 6,0\%$) у пациентов с ненулевыми мутациями. Использование одного и того же плазменного концентрата фактора свертывания крови (КФСК) VIII, разрешенного с периода новорожденности, в том числе и для профилактического введения, было сопряжено ($\chi^2 = 8,53$; $p = 0,004$) со снижением частоты возникновения ингибиторов к фактору VIII до $21,3 \pm 8,5\%$ по сравнению частотой $45,2 \pm 7,8\%$ в группе пациентов, получавших КФСК различных производителей. Возраст (до 1 года или старше) первого введения КФСК не оказал влияния на формирование патологических ингибиторов свертывания (log-rank-тест, $p = 0,746$). Такие показатели, как возраст выявления гемофилии (отношение шансов (ОШ) 0,99; 95% доверительный интервал (ДИ) 0,931,024; $p = 0,991$), базовая активность фактора VIII (ОШ 0,99; 95% ДИ 0,98–1,06; $p = 0,09$), не были связаны с появлением патологических ингибиторов. Также не были связаны с выявлением ингибиторов результаты первых в жизни ребенка определений отношения величины активированного частичного тромбопластинного времени пациента к величине данного показателя в контроле (ОШ 1,89; 95% ДИ 0,72–5,09; $p = 0,21$) и показателя восстановления (ОШ 0,74; 95% ДИ 0,27–2,01; $p = 0,55$). Мы подтвердили, что одним из основных факторов риска возникновения патологических ингибиторов свертывания в ответ на введение КФСК VIII являются аномалии гена F8. Применение плазменного КФСК VIII, рекомендованного для введения РНЛП с периода новорожденности, одного производителя способствовало снижению частоты возникновения ингибиторов по сравнению с пациентами, получавшими КФСК различных производителей.

Ключевые слова: дети, гемофилия А, факторы риска, ингибиторы свертывания, профилактика ингибиторов

Дмитриев Е.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (3): 58–64. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-3-58-64

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 13.03.2023
Accepted 17.04.2023

Risk factors for coagulation inhibitor development in children with severe hemophilia A

E.V. Dmitriev, A.V. Liubushkin

The Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, the Republic of Belarus, Minsk Region, Borovlyany

Correspondence:
Evgeny V. Dmitriev,
a hematologist at the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Belarus
Address: 43 Frunzenskaya St., Borovlyany 223053, Minsk Region, Belarus
E-mail: jenyadmitriev24@gmail.com

Aim of the study: to examine the role of potential risk factors in inhibitor development in previously untreated patients (PUPs) (or minimally treated patients) with severe hemophilia A. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (the Republic of Belarus). The study included 89 boys who underwent regular follow-up for severe hemophilia A at the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (the Republic of Belarus) from 1998 to 2022. The median age (10th–90th percentile) at diagnosis of hemophilia was 8.0 (1.0–21.0) months, the baseline factor VIII activity was 0.7% (0.4–0.95%). Age at first exposure to factor VIII concentrate was 11.0 (1.0–31.0) months. Out of 89 patients, 23 children had severe hemophilia A with inhibitors. The cumulative incidence of inhibitors in the whole group of PUPs was $31.0 \pm 5.6\%$. The cumulative incidence of hemophilia A with inhibitors was higher in the patients with null mutations ($37.0 \pm 6.9\%$) than in the patients with non-null mutations ($6.5 \pm 6.0\%$) (the log-rank test, $p = 0.041$). The use of plasma-derived FVIII concentrate (approved for use in neonates and for prophylaxis) from one manufacturer was associated ($\chi^2 = 8.53$; $p = 0.004$) with a lower incidence of factor VIII inhibitors (up to $21.3 \pm 8.5\%$) compared with the incidence in the group of patients treated with FVIII

concentrates from different manufacturers ($45.2 \pm 7.8\%$). Age (> 1 year old or < 1 year old) at first exposure to FVIII had no effect on the formation of inhibitors (the log-rank test, $p = 0.746$). Such factors as age at diagnosis of hemophilia (odds ratio (OR) 0.99; 95% confidence interval (CI) 0.93–1.024; $p = 0.991$) and baseline factor VIII activity (OR 0.99; 95% CI 0.8–1.06; $p = 0.09$) were not associated with inhibitor development. The first measurements of activated partial thromboplastin time (APTT) ratio (patient APTT value over the APTT reference value) (OR 1.89; 95% CI 0.72–5.09; $p = 0.21$) and FVIII recovery *in vivo* (OR 0.74; 95% CI 0.27–2.01; $p = 0.55$) were not associated with inhibitor development either. We have confirmed that one of the main risk factors for FVIII inhibitor development is F8 gene mutations. The incidence of inhibitors among the patients who received plasma-derived FVIII concentrates (recommended for use in PUPs in the neonatal period) from one manufacturer was lower than among those who received FVIII from different manufacturers.

Key words: children, hemophilia A, risk factors, clotting inhibitors, inhibitor prophylaxis

Dmitriev E.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (3): 58–64.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-3-58-64

Наиболее серьезным осложнением заместительной терапии при тяжелой гемофилии является выработка иммунной системой пациента антител к вводимому экзогенному фактору свертывания, представляющему чужеродный для пациента белок [1, 2]. Эти антитела нейтрализуют гемостатический эффект введенного фактора, что приводит к рецидивирующим эпизодам кровотечения, прогрессирующему повреждению суставов и иногда к угрожающим жизни неотложным состояниям [3]. Возможная роль, которую играют факторы риска в развитии ингибиторов, такие как характер генетических нарушений [4], возраст начала лечения [5], выбор первого лекарственного препарата, режим и интенсивность введения [6], является предметом длительной дискуссии. Дополнительные факторы риска, такие как массивность кровотечения, хирургическое вмешательство [7], сопутствующие инфекции или вакцинации [8], также вовлечены в контекст обсуждения сигналов иммунологической опасности [9], приводящих к иммунным нарушениям, связанным с введением экзогенного фактора свертывания крови для остановки кровотечения.

Данные, представленные в литературе, в большинстве случаев носят наблюдательный характер, противоречивы по многим позициям и, следовательно, не могут твердо поддержать или опровергнуть гипотезу о возможной минимизации иммуногенных осложнений, связанных с выработкой патологических ингибиторов свертывания на введение чужеродного для пациента с гемофилией фактора свертывания.

Возможность снижения частоты образования ингибиторов у ранее не леченных пациентов (РНЛП) с тяжелой гемофилией А путем минимизации воздействия факторов риска изучена недостаточно. Данное обстоятельство определило цель настоящего исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (Республика Беларусь). В исследова-

ние включены 89 мальчиков, состоявших на диспансерном учете в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (Республика Беларусь) с 1998 по 2022 г. по поводу тяжелой гемофилии А. Возраст выявления гемофилии, представленный как медиана (10–90-й процентиля), составил 8,0 (1,0–21,0) месяца, базовая активность фактора VIII – 0,7% (0,4–0,95%). Первое введение препаратов свертывания крови VIII выполнено в возрасте 11,0 (1,0–31,0) месяца. Из 89 пациентов ингибиторная форма тяжелой гемофилии А диагностирована у 23 детей.

В зависимости от характера генетических нарушений выделено 2 группы пациентов: 1-я группа – 60 человек с нулевыми мутациями и 2-я группа – 22 пациента с ненулевыми мутациями (таблица 1).

Анализ архивных материалов позволил идентифицировать концентрат факторов свертывания крови (КФСК) VIII, применявшийся на протяжении первых 50 дней введения, у 82 пациентов, а возраст первого введения – у 81 ребенка. Плазменный КФСК VIII одного производителя, разрешенный с периода новорожденности, в том числе и для профилактического введения, получали 50 пациентов, плазменный концентрат различных производителей – 29 детей, рекомбинантный КФСК VIII – 3 ребенка. Выбор лекарственного средства осуществляли в зависимости от наличия препарата в аптеке.

Коагулологические исследования выполнены на автоматическом коагулометре ACL-9000 фирмы Instrumentation Laboratory (США) с использованием оригинальных реагентов. Исследование свертывания крови включало выполнение рутинных хронометрических показателей (активированное частичное тромбoplastиновое время (АЧТВ), протромбиновое время, тромбиновое время, фибриноген), определение активности фактора VIII одностадийным клоттинговым методом. Ингибитор к фактору VIII в единицах Бетезда (БЕ/мл) определяли методом M. Kasper (1968) с поправкой Nijmegen modification [10]. Использование показателя R (АЧТВ), равного отношению величины показателя АЧТВ пациента к величине данного показателя в контроле (пул нормальной контрольной плазмы), позволяло

Таблица 1

Характеристика выделенных групп пациентов в зависимости от вида генетических аномалий. Медиана (10–90-й процентиля)

Table 1

Patient characteristics according to the type of genetic abnormalities. Median (10th–90th percentiles)

Анализируемый признак Analyzed feature	Характер генетических нарушений, вид мутации The nature of genetic disorders, the type of mutation		
	Нулевые (1-я группа, n = 60) Null mutations (Group 1, n = 60)	Ненулевые (2-я группа, n = 22) Non-null mutations (Group 2, n = 22)	Достоверность различия (U-test) The significance of difference (U-test)
Семейный анамнез по гемофилии: Family history of hemophilia: да, n (%) yes, n (%) нет, n no, n	23 (38,3) 37	14 (63,6) 8	p = 0,132
Базовая активность фактора VIII, % Baseline FVIII activity, %	0,68 (0,35–1,0)	0,72 (0,39–1,05)	p = 0,791
Возраст выявления гемофилии, месяцы Age at diagnosis of hemophilia, months	7,0 (0,2–14,0)	5,5 (0,5–23,0)	p = 0,847
Возраст первого введения КФСК VIII, месяцы Age at first exposure to FVIII, months	9,0 (2,0–16,0)	11,5 (1,5–25,0)	p = 0,623
Количество дней введения КФСК VIII от первого введения до события The number of exposure days to FVIII, from the first exposure day to an event	87,0 (10,0–150,0)	104,0 (25,0–156,0)	p = 0,101
Время от первого введения до события, нед Time from the first exposure to an event, weeks	124,0 (25,0–160,0)	128,0 (17,0–185,0)	p = 0,906
Первый показатель R (АЧТВ) до введения КФСК The first APTT Ratio (R) measurement before the administration of FVIII	2,78 (2,24–3,6)	2,66 (2,08–3,3)	p = 0,275
Коагуляционный ответ на введение КФСК в день выбора режима введения, %/МЕ × кг ⁻¹ Coagulation response to the administration of FVIII on the day when a treatment regimen was chosen, %/ME × kg ⁻¹	1,82 (1,23–3,10) n = 37	1,8 (0,99–2,96) n = 18	p = 0,906
Ингибиторы свертывания: Clotting inhibitors: да, n (%) yes, n (%) нет, n no, n	19 (31,6) 41	1 (4,5) 21	p = 0,027
Пациенты, получавшие плазменный концентрат: Patients who received plasma-derived FVIII concentrate: одного производителя, n from one manufacturer, n различных производителей, n (%) from different manufacturers, n (%)	31 29 (48,3)	19 3 (15,8)	p = 0,191

Примечание. Событие – выявление патологических ингибиторов 0,6 ВЕ/мл и более или достижение 50-го дня введения.

Note. An event is the detection of FVIII inhibitors at ≥ 0.6 BU/mL or the completion of 50 exposure days. APTT – activated partial thromboplastin time.

оценить глубину гипокоагуляции у различных пациентов на момент выявления гемофилии до первого введения КФСК. Регистрация показателя восстановления (*recovery in vivo*), отражающего прирост коагуляционной активности на введение КФСК VIII в дозе 1 МЕ/кг на момент принятия решения о выборе режима введения препарата могла косвенно указать на потенциальную возможность появления ингибиторной формы заболевания. Для исследований на каждом этапе требовалось до 1,5 мл стабилизированной цитратом натрия (1:9) крови, взятой путем пункции периферической вены без наложения жгута.

Для проведения генетического исследования гена *F8* было получено информированное согласие родителей пациентов, утвержденное этическим комитетом ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (Республика Беларусь). Для генетического исследования использовали кровь, полученную путем пункции периферической вены и стабилизированную калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты

(К₂ЭДТА). После лизиса эритроцитов из лейкоцитарной суспензии стандартным методом фенол-хлороформной экстракции выделяли геномную ДНК. Инверсию 22-го интрона гена *F8* выявляли по протоколу выполнения инвертированной полимеразной цепной реакции, описанному Rossetti и соавт. (2005, 2008) [11, 12] с небольшими модификациями [13]. Детекцию инверсии 1-го интрона гена *F8* проводили по протоколу Vagnall и соавт. [14]. Генетический анализ всех экзонов и прилегающих к ним регионов сплайс-сайтов гена *F8* выполняли с применением кастомной панели (Qiagen, Германия), включающей гены *F8*, *F9*, *VWF*, *ADAMTS13*, *F13A1*, *F13B*, методом высокопроизводительного секвенирования на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina, США). Все клинически значимые изменения подтверждали с помощью капиллярного секвенирования по Сэнгеру на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500 (Thermo Scientific, США). По результатам генетического исследования 82 пациентов в гене *F8* были выявлены следующие генетические нарушения:

инверсия 22-го интрона обнаружена у 37 детей, инверсия 1-го интрона – у 1, аномальный паттерн инверсии 1-го интрона – у 2, миссенс-мутации – у 14, нонсенс-мутации – у 8, мутации в сайтах сплайсинга – у 5, небольшие делеции – у 7, небольшие дупликации – у 7, крупная делеция – у 1. Генетические нарушения, которые по классификации Pavlova и соавт. [15] отнесены к нулевым мутациям, выявлены у 60 пациентов, к ненулевым мутациям – у 22 мальчиков. Среди 20 пациентов с ингибиторной формой тяжелой гемофилии А, включенных в исследование, инверсию 22-го интрона имели 15 мальчиков, из них с транзиторным типом ингибитора – 4. Транзиторный тип ингибитора также имели 5 детей: нонсенс-мутацию – 1 пациент, мутации в сайтах сплайсинга – 3, миссенс-мутацию – 1.

Статистическая обработка выполнена с использованием программы Statistica 6.0. Результаты представлены как медиана (10–90-й процентиля). Достоверность различия (для $p < 0,05$) в сравниваемых выборках определена по критерию Манна–Уитни (U-test). Взаимосвязь анализируемых показателей определяли непараметрическим критерием Гамма (G). Для оценки взаимосвязи между предикторными переменными и частотой события во времени использовали регрессионный анализ пропорциональных рисков Кокса. Дискретные величины анализируемых признаков после построения характеристической кривой и расчета порогового значения были переведены в бинарную систему отклика. Кумулятивную частоту патологических ингибиторов к фактору свертывания VIII рассчитывали методом Каплана–Мейера, сравнение результатов проводили с использованием критерия log-rank. При оценке значимости статистических различий использовали порог значений для $p < 0,05$. Цензурирование наблюдений произведено на 29.05.2022.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среди 89 мальчиков с тяжелой гемофилией А на протяжении 22 лет патологические ингибиторы к фактору свертывания крови VIII обнаружены у 23. Кумулятивная частота выявления патологических ингибиторов свертывания среди 89 пациентов с тяжелой гемофилией А составила $31,0 \pm 5,6\%$ (рисунок 1).

Выявлена тесная корреляционная зависимость (таблица 2) между фактом выявления патологических ингибиторов свертывания, с одной стороны, и регистрацией нулевых мутаций гена F8 ($G = -0,81$; $p = 0,0001$), использованием в первые 50 дней введения КФС VIII различных производителей ($G = 0,607$; $p = 0,0001$), семейным гемофилическим анамнезом (наличие тяжелой гемофилии А у других членов семьи мужского пола) ($G = 0,35$; $p = 0,023$) – с другой.

Рисунок 1

Кумулятивная частота ингибиторной формы тяжелой гемофилии А у детей с 1998 по 2022 г.

Figure 1

The cumulative incidence of severe hemophilia A with inhibitors in children, from 1998 to 2022

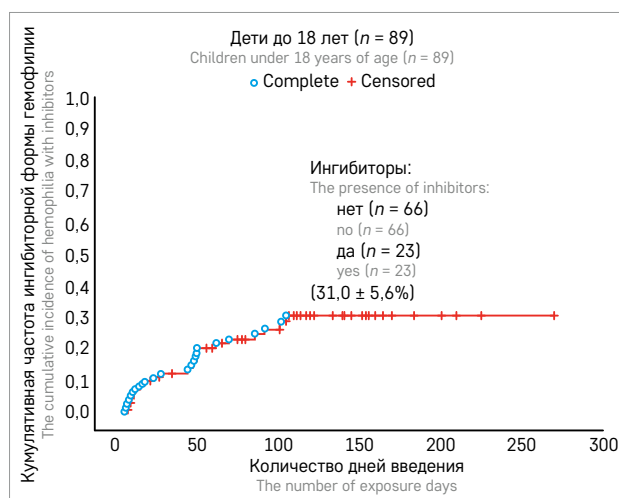


Таблица 2

Взаимосвязь анализируемых признаков с выявлением патологических ингибиторов свертывания у детей с тяжелой гемофилией А

Table 2

A correlation between the analyzed factors and the presence of clotting inhibitors in children with severe hemophilia A

Анализируемый признак Analyzed factor	Коэффициент Гамма Gamma coefficient	p
Генетическая мутация (нулевая/ненулевая) Genetic mutation (null or non-null)	-0,81	0,0001
Пациенты, получавшие первые 50 дней введения КФС одного производителя, – 1, различных производителей – 2 Patients who received factor VIII products for the first 50 exposure days from one manufacturer – 1, from different manufacturers – 2	0,61	0,0001
Семейный гемофилический анамнез (да/нет) Family history of hemophilia (yes/no)	0,35	0,023
Базовая активность фактора VIII, % Baseline factor VIII activity, %	-0,062	0,610
Возраст выявления гемофилии А, месяцы Age at diagnosis of hemophilia A, months	-0,032	0,794
Возраст первого введения КФС VIII, месяцы Age at first exposure to FVIII, months	-0,045	0,718
Показатель R (АЧТВ), пациент/контроль (первое определение в жизни пациента) APTT ratio (R), patient/control ratio (the first measurement)	0,048	0,710
Показатель восстановления (R) перед принятием решения о режиме введения Recovery value (R) before deciding on the mode of treatment	-0,239	0,162

Генетические факторы риска возникновения ингибиторов свертывания

Среди 60 пациентов с нулевыми мутациями, приводящими к нарушению синтеза фактора свертывания крови VIII, ингибиторная форма гемофилии

диагностирована у 19. Среди 22 пациентов с ненулевыми мутациями, при которых замена аминокислотного остатка в молекуле лекарственного средства приводит к потере гемостатического эффекта синтезируемого белка, патологические ингибиторы свертывания к фактору VIII выявлены только у 1 ребенка. Кумулятивная частота выявления патологических ингибиторов к фактору свертывания крови VIII при тяжелой гемофилии А у пациентов с нулевыми мутациями ($38,6 \pm 7,3\%$) превышала (log-rank-тест, $p = 0,014$) аналогичный показатель, зарегистрированный у мальчиков с ненулевыми мутациями ($4,6 \pm 4,4\%$) (рисунок 2).

Относительный риск (ОР) возникновения ингибиторной формы гемофилии при нулевых мутациях в пределах 95% доверительного интервала (ДИ) в 6,97 (0,99–49,0) раза выше, чем при ненулевых. Это подтверждала величина $\chi^2 = 8,05$ ($p = 0,005$) с поправкой на правдоподобие.

Выбор концентрата фактора свертывания крови как фактора риска возникновения ингибиторов свертывания

Среди 50 пациентов, получавших плазменный КФС VIII (одного производителя), рекомендованный для детей с периода новорожденности, в том числе и для профилактического применения, патологические ингибиторы свертывания возникли у 8 (16,0%) детей, не зарегистрировано появление ингибиторов у 42 (84,0%); кумулятивная частота возникновения ингибиторов составила $21,3 \pm 8,5\%$. Плазменный КФС VIII разных производителей ($n = 29$) и рекомбинантный КФС VIII ($n = 3$) получали 32 пациента: патологические ингибиторы выявлены у 13 (40,0%), не выявлено ингибиторов у 18 (56,0%). Кумулятивная частота появления патологических ингибиторов свертывания среди пациентов, получавших КФС различных производителей ($45,2 \pm 7,8\%$), почти в 2 раза превышала ($p = 0,027$) аналогичный показатель у детей, получавших плазменный КФС VIII (одного производителя), рекомендованный для детей с периода новорожденности ($21,3 \pm 8,5\%$). Использование КФС различных производителей на протяжении первых 50 дней введения повышало риск появления патологических ингибиторов свертывания к фактору VIII по сравнению с использованием плазменного КФС одного производителя (ОР 2,88; 95% ДИ 1,36–6,07).

Возраст первого введения концентрата фактора свертывания крови как фактор риска возникновения ингибиторов свертывания

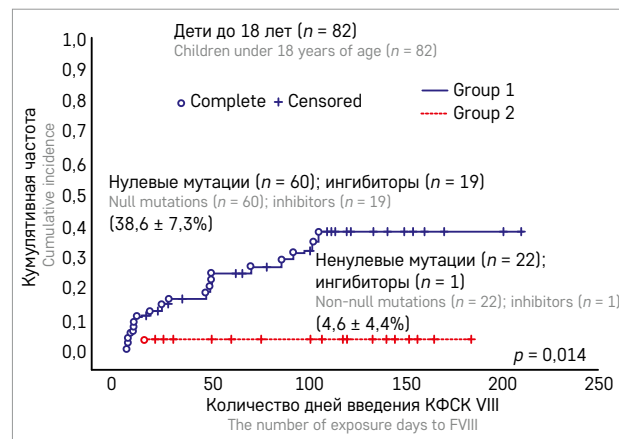
Возраст первого дня введения КФС в 81 наблюдении варьировал от 1 до 28 месяцев. В возрасте до 1 года первое введение КФС выполнено 46 паци-

Рисунок 2

Кумулятивная частота возникновения патологических ингибиторов свертывания к фактору VIII в зависимости от генетических нарушений при тяжелой гемофилии А у детей (1998–2022 гг.)

Figure 2

The cumulative incidence of inhibitor development to factor VIII according to the genetic abnormalities in severe hemophilia A in children (1998–2022)



ентам: патологические ингибиторы свертывания выявлены у 13 (28,0%) детей, не возникло ингибиторов у 33 (72,0%) младенцев. Кумулятивная частота выявления патологических ингибиторов свертывания составила $34,1 \pm 7,4\%$. В возрасте старше 1 года первое введение КФС выполнено 35 пациентам: ингибиторы зарегистрированы у 9 (26,0%) мальчиков, не выявлено ингибиторов у 26 (74,0%) малышей. Кумулятивная частота выявления патологических ингибиторов свертывания составила $28,0 \pm 8,0\%$. Возраст первого введения КФС на формирование патологических ингибиторов свертывания влияния не оказал (log-rank-тест, $p = 0,746$). Это подтверждала величина показателя ОР (1,099; 95% ДИ 0,53–2,27). Преобладание нулевых мутаций (10:1) в группе детей до 1 года по сравнению с более старшими пациентами (2:1) не влияло на возникновение ингибиторов свертывания ($\chi^2 = 1,726$; $p = 0,189$).

Значение других предикторов появления патологических ингибиторов свертывания

Для выявления риска возникновения патологических ингибиторов свертывания для каждой из предикторных переменных, характеризующих пациента, проведен однофакторный анализ (таблица 3).

Такие показатели, как возраст выявления гемофилии (ОШ 0,99; 95% ДИ 0,93–1,024; $p = 0,991$), базовая активность фактора VIII (ОШ 0,99; 95% ДИ 0,98–1,06; $p = 0,09$), не были связаны с появлением патологических ингибиторов. Также не были связаны с выявлением ингибиторов результаты первого в жизни ребенка определения отношения величины АЧТВ пациента к величине данного показателя в контроле (ОШ 1,89; 95% ДИ 0,72–5,09;

Таблица 3

Однофакторный анализ признаков, характеризующих пациентов, в качестве предикторов ингибиторной формы заболевания

Table 3

A univariate analysis of patient characteristics as predictors of inhibitor development

Анализируемый признак Analyzed factor	<i>p</i>	Отношение шансов Odds ratio	-95% ДИ -95% CI	+95% ДИ +95% CI
Первый R (АЧТВ)*: > 3,21 – 2; < 3,20 – 1 First APTT ratio (R) measurement*: > 3.21 – 2; < 3.20 – 1	0,21	1,89	0,72	5,09
Восстановление (R)*: ≤ 1,56%/МЕ × кг ⁻¹ – 1; > 1,57%/МЕ × кг ⁻¹ – 2 Recovery (R)*: ≤ 1.56%/IU × kg ⁻¹ – 1; > 1.57%/IU × kg ⁻¹ – 2	0,55	0,74	0,27	2,01
Семейный анамнез (да/нет) Family history (yes/no)	0,1	1,76	0,89	3,4
Базовый фактор VIII*: < 0,79% – 1; ≥ 0,8% – 2 Baseline FVIII*: < 0.79% – 1; ≥ 0.8% – 2	0,11	2,56	0,82	8,01
Возраст выявления гемофилии*: < 1 года – 1; > 1 года – 2 Age at diagnosis of hemophilia*: < 1 year – 1; > 1 year – 2	0,99	0,99	0,93	1,024

Примечание. * – пороговое значение показателя рассчитано на основании анализа Roc-кривой (receiver-operator characteristic curve).
Note. * – the threshold value of the indicator was determined using the ROC (receiver operator characteristic) curve. CI – confidence interval.

$p = 0,21$) и показателя восстановления (ОШ 0,74; 95% ДИ 0,27–2,01; $p = 0,55$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты 22 исследований, проведенных с 1990 по 2018 г., отражающих возникновение патологических ингибиторов свертывания у 819 РНЛП с тяжелой гемофилией А, показали кумулятивную частоту развития ингибитора любого титра 17% и выше для продуктов, полученных из плазмы, и 26–40% – для рекомбинантных [4]. Рандомизированное исследование SIPPET (Survey of Inhibitors in Plasma-Product Exposed Toddlers) частоты возникновения патологических ингибиторов у 251 РНЛП, получавших лечение рекомбинантными ($n = 126$) 2–3-го поколения или плазменными ($n = 125$) концентратами фактора VIII показало частоту всех ингибиторов с плазменным фактором VIII 26,8% (95% ДИ 18,4–35,2) и 44,5% (95% ДИ 34,7–54,3) с рекомбинантным фактором VIII [3]. Среди пациентов с высоким риском (нулевые мутации) кумулятивная частота возникновения ингибиторов составила 31% (95% ДИ 22–41) при лечении плазменным фактором VIII и 47% (95% ДИ 36–58) – при лечении рекомбинантным фактором VIII 2–3-го поколения [16].

Согласно представленным нами результатам, кумулятивная частота возникновения патологических ингибиторов свертывания в целом по группе среди РНЛП, получавших преимущественно (79 из 82) плазменный КФС VIII составила $31,0 \pm 5,6\%$. ОР возникновения ингибиторов к фактору свертывания крови VIII при нулевых мутациях в пределах 95% ДИ был в 6,97 (0,99–49,0) раза выше, чем при ненулевых. Кумулятивная частота ингибиторных форм гемофилии у пациентов с нулевыми мутациями ($38,6 \pm 7,3\%$) превышала (log-rank-тест, $p = 0,014$) аналогичный показатель у пациентов с ненулевыми мутациями ($4,6 \pm 4,4\%$).

Возраст первого введения КФС VIII (до 1 года или старше) РНЛП с тяжелой гемофилией А суще-

ственно не влиял ($\chi^2 = 0,065$; $p = 0,799$) на частоту выявления ингибиторов к фактору свертывания крови VIII. Использование одного и того же плазменного КФС VIII, разрешенного с периода новорожденности, в том числе и для профилактического введения, было сопряжено ($\chi^2 = 8,53$; $p = 0,004$) со снижением частоты возникновения ингибиторов к фактору VIII до $21,3 \pm 8,5\%$ по сравнению с кумулятивной частотой $45,2 \pm 7,8\%$ в группе пациентов, получавших КФС различных производителей.

Используя характеристики пациентов, доступные на момент принятия решения о выборе лекарственного средства и режима его введения, такие как возраст выявления гемофилии, возраст первого введения КФС, величина АЧТВ на момент диагностики гемофилии, базовая активность фактора VIII, величина показателя восстановления, не представляется возможным определить вероятность возникновения патологических ингибиторов свертывания к вводимому КФС VIII. Мы подтвердили, что единственный доступный предиктор повышенного риска появления патологических ингибиторов свертывания – выявление типа мутации гена *F8*.

Следует отметить, что существенным недостатком настоящего исследования является малочисленность выборки, объединившей на протяжении более 22 лет 89 пациентов. При условии рандомизации в соотношении 1:1, увеличении числа пациентов с вновь выявленными ингибиторами от 30% в контрольной группе до 40% в группе пациентов с исследуемым препаратом, мощностью исследования 80% и вероятностью ошибки первого типа 5% для отклонения нулевой гипотезы численность включенных в исследование пациентов должна быть не менее 356 [4].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наша работа подтвердила мнение исследователей о том, что одним из основных факторов риска

возникновения патологических ингибиторов свертывания в ответ на введение КФС VIII являются аномалии гена *F8*. Использование плазменного КФС VIII, рекомендованного для введения РНП с периода новорожденности, от одного производителя способствовало снижению частоты возникновения ингибиторов по сравнению с пациентами, получавшими КФС различных производителей. Возраст первого введения КФС (до 1 года или старше) на возникновение ингибиторов свертывания существенного значения не оказывал. Такие показатели, как возраст выявления гемофилии (ОШ 0,99; 95% ДИ 0,93–1,024; $p = 0,991$), базовая активность фактора VIII (ОШ 0,99;

95% ДИ 0,98–1,06; $p = 0,09$), с появлением патологических ингибиторов связаны не были.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Dmitriev E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0233-7718>

Liubuschkin A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6127-7404>

Литература

- Collins P.W., Palmer B.P., Chalmers E.A., Hart D.P., Liesner R., Rangarajan S., et al.; UK Haemophilia Centre Doctors' Organization. Factor VIII brand and the incidence of factor-VIII inhibitors in previously untreated UK children with severe haemophilia A, 2000–2011. *Blood* 2014; 124: 3389–97.
- Fischer K., Lassila R., Peyvandi F., Calizzani G., Gatt A., Lambert T., et al.; EUHASS Participants. Inhibitor development in haemophilia according to concentrate. Four-year results from the European Haemophilia Safety Surveillance (EUHASS) project. *Thromb Haemost* 2015; 113: 968–75.
- Peyvandi F., Mannucci P.M., Garagiola I., El-Beshlawy A., Elalfy M., Raman V., et al. Randomized trial of Factor VIII and neutralizing antibodies in hemophilia A. *N Engl J Med* 2016; 374: 2054–64.
- Keipert C., Drechsel-Bäuerle U., Oberle D., Müller-Olling M., Hilger A. Epidemiological Challenges in Rare Bleeding Disorders: FVIII Inhibitor Incidence in Haemophilia A Patients – A Known Issue of Unknown Origin. *Int J Environ Res Public Health* 2021; 18: 225. DOI: 10.3390/ijerph18010225
- Liesner R.J., Abraham A., Altisent C., Belletrutti M.J., Carcao M., Carvalho M., et al. Simoctocog Alfa (Nuwiq) in Previously Untreated Patients with Severe Haemophilia A: Final Results of the NuProtect Study. *Thromb Haemost* 2021; 121 (11): 1400–8. DOI: 10.1055/s-0040-1722623
- Lorenzo J.I., Lopez A., Altisent C., Aznar J.A. Incidence of factor VIII inhibitors in severe haemophilia: the importance of patient age. *Br J Haematol* 2001; 113: 600–3.
- Van der Bom J.G., Mauser-Bunschooten E.P., Fischer K., van den Berg H.M. Age at first treatment and immune tolerance to factor VIII in severe haemophilia. *Thromb Haemost* 2003; 89: 475–9.
- Gouw S.C., van den Berg H.M., Fischer K., Auerswald G., Carcao M., Chalmers E., et al.; PedNet and RODIN Study Group. Intensity of factor VIII treatment and inhibitor development in children with severe hemophilia A: the RODIN study. *Blood* 2013; 121: 4046–55. DOI: 10.1182/blood-2012-09-457036
- Hashemi S.M., Fischer K., Gouw S.C., et al.; on behalf of PedNet Study Group. Do vaccinations influence the risk of inhibitor development in patients with severe hemophilia A? Abstracts of the XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost* 2015; 13 (Suppl S2): 147.
- Hay C.R.M., Broun S., Collins P.W., Keeling D.M., Liesner R. The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom Hemophilia Centre Doctors Organisation. *Br J Haematol* 2006; 133: 591–605.
- Rossetti L.C., Radic C.P., Larripa I.B., De Brasi C.D. Genotyping the Hemophilia Inversion Hotspot by Use of Inverse PCR. *Clin Chem* 2005; 51 (7): 1154–8.
- Rossetti L.C., Radic C.P., Larripa I.B., De Brasi C.D. Developing a new generation of tests for genotyping hemophilia-causative rearrangements involving int 22h and int1h hotspots in the factor VIII gene. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 830–6.
- Любушкин А.В., Гурьянова И.Е., Дмитриев Е.В., Полякова Е.А., Вертелко В.Р., Алейникова О.В. Частота встречаемости инверсии 22 интрона гена фактора VIII среди пациентов детского возраста в Республике Беларусь. *Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа* 2022; 8 (1): 41–8.
- Bagnall R.D., Waseem N., Green P.M., Giannelli F. Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A. *Blood* 2002; 99 (1): 168–74.
- Pavlova A., Oldenburg J. Defining severity of hemophilia: more than factor levels. *Semin Thromb Hemost* 2013; 39 (7): 702–10.
- Rosendaal F.R., Palla R., Garagiola I., Mannucci P.M., Peyvandi F.; SIPPET Study Group. Genetic risk stratification to reduce inhibitor development in the early treatment of hemophilia A: a SIPPET analysis. *Blood* 2017; 130 (15): 1757–9. DOI: 10.1182/blood-2017-06-791756