

Лекарственные препараты фактора VIII, актуальные вопросы разработки, клинического исследования и применения (часть 1)

Ж. И. Авдеева^{1,*}, А. А. Солдатов¹, В. П. Бондарев¹, В. Д. Мосягин¹, В. А. Меркулов^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

По информации Всемирной федерации гемофилии, в настоящее время в мире насчитывается около 400 тыс. пациентов с заболеванием гемофилией. Тяжелые клинические проявления заболевания, связанные с генетически детерминированным дефицитом активности фактора свертывания крови, требуют проведения постоянной заместительной терапии препаратами свертывания крови. Длительное применение препаратов белковой природы часто приводит к формированию специфических антител, что вызывает снижение или потерю эффективности лекарственного препарата или является причиной выраженных побочных реакций, вплоть до анафилаксии. В связи с этим актуальным является поиск новых оптимальных подходов к способам лечения гемофилии, что требует разработки новых лекарственных препаратов факторов свертывания крови и совершенствования технологии производства ранее зарегистрированных препаратов, а так и использования препаратов «нефакторной» терапии. Цель работы — представление результатов анализа актуальных вопросов, касающихся разработки и особенностей плазменных и рекомбинантных лекарственных препаратов фактора VIII, новых подходов к лечению гемофилии А, в том числе и использования препаратов «нефакторной» терапии. В обзоре представлены обобщенные современные данные об этиологии, клинических проявлениях, осложнениях, связанных с проводимой терапией гемофилии А. Приведены сведения о лекарственных препаратах факторов свертывания крови (плазменных и рекомбинантных), используемых в качестве заместительной терапии при указанной патологии. Отражены сведения о перспективных разработках новых лекарственных препаратов, базирующихся на современных достижениях биотехнологии. Имеющиеся разработки открывают перспективы успешного применения таких препаратов в клинической практике.

Ключевые слова: гемофилия А; фактор свертывания крови VIII; препараты фактора VIII (препараты плазмы крови, рекомбинантные); новые подходы к терапии гемофилии

Для цитирования: Авдеева ЖИ, Солдатов АА, Бондарев ВП, Мосягин ВД, Меркулов ВА. Лекарственные препараты фактора VIII, актуальные вопросы разработки, клинического исследования и применения (часть 1). *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021;21(1):39–49. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-1-39-49>

*** Контактное лицо:** Авдеева Жанна Ильдаровна; Avd-cytok@yandex.ru

Factor VIII products: key aspects of development, clinical research and use (part 1)

Zh. I. Avdeeva^{1,*}, A. A. Soldatov¹, V. P. Bondarev¹, V. D. Mosyagin¹, V. A. Merkulov^{1,2}

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University,
8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

According to the World Federation of Hemophilia (WFH), there are currently about 400 thousand patients with hemophilia in the world. Severe clinical manifestations of the disease associated with a genetically determined deficiency of blood clotting factor activity require continuous replacement therapy with blood clotting medicines. Long-term use of protein-based medicines often leads to the formation of specific antibodies, which causes a decrease in or loss of efficacy of the medicine or results in severe adverse reactions, including anaphylaxis. Therefore, it is important to search for new optimal approaches to hemophilia treatment, which requires the development of new blood clotting factor products, improvement of the production technology for already authorised products, as well as the use of non-factor products. The aim of the study was to present the results of the analysis of key issues related to the development and characteristics of plasma-derived and recombinant factor VIII products, new approaches to hemophilia A treatment, including the use of non-factor products. The review summarises current data on the etiology, clinical manifestations, and complications of hemophilia A treatment. It provides information on the blood clotting factor products (plasma-derived and recombinant) used as replacement therapy. It also provides information on advanced research projects for the development of new biotechnology-derived products which have good prospects of successful clinical use.

Key words: hemophilia A; coagulation factor VIII; factor VIII products (blood plasma products, recombinant products); new approaches to hemophilia treatment

For citation: Avdeeva ZH, Soldatov AA, Bondarev VP, Mosyagin VD, Merkulov VA. Factor VIII products: key aspects of development, clinical research and use (part 1). *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021;21(1):39–49. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-1-39-49>

* **Corresponding author:** Zhanna I. Avdeeva; Avd-cytok@yandex.ru

Гемофилия является одним из орфанных заболеваний. В настоящее время согласно информации Всемирной федерации гемофилии в мире насчитывается около 400 тыс. пациентов с указанным заболеванием¹. Количество пациентов, включенных в Федеральный регистр по нозологии «гемофилия» по всем субъектам Российской Федерации, по состоянию на середину 2020 г. составляет 9400 человек, из которых 6328 — пациенты с гемофилией А². Клиническая картина указанного заболевания обусловлена проявлением патологических изменений в системе свертывания крови пациентов за счет нарушения процесса тромбопластинообразования. Тяжелые клинические проявления заболевания и последующие осложнения требуют проведения постоянной заместительной терапии препаратами свертывания крови, поскольку развитие гемофилии А связано с генетически детерминированным дефицитом активности фактора свертывания крови. Возмещение фактора свертывания обеспечивает сохранение жизни и трудоспособности пациентов. Однако длительное введение препаратов белковой природы часто сопровождается формированием антител, так называемых ингибирующих антител, которые нейтрализуют специфическое действие лекарственного препарата или вызывают аллергические реакции вплоть до анафилаксии. В связи с этим актуальным является поиск новых оптимальных подходов к способам лечения гемофилии, что требует разработки новых лекарственных препаратов факторов свертывания крови и совершенствования технологии производства ранее зарегистрированных препаратов. При этом необходимо учитывать, что особые оптимальные способы лечения требуются для пациентов, у которых сформировались АТ к препарату в процессе проводимой терапии.

Цель работы — представление результатов анализа актуальных вопросов, касающихся разработки и особенностей плазмменных и рекомбинантных лекарственных препаратов фактора VIII, новых подходов к лечению гемофилии А, в том числе и использования препаратов «нефакторной» терапии.

Общие положения

В основе механизмов, определяющих развитие гемофилии, лежат нарушения генов, кодирующих факторы свертывания крови, что является причиной снижения продукции факторов коагуляции крови (VIII, IX или XI) или полное отсутствие их синтеза. Гены, кодирующие продукцию факторов VIII и IX (Xq28 и Xq27 соответственно), локализованы в X-хромосоме, их мутация и обуславливает развитие указанной наследственной патологии. Также причиной развития гемофилии может быть не наследственная, а спонтанная мутация генов, кодирующих продукцию VIII или IX факторов коагуляции крови³. Это отмечают у одной трети пациентов с данной патологией.

Выделяют три типа гемофилии: гемофилия типа А встречается наиболее часто (в 85% всех случаев), обусловлена дефицитом фактора VIII (FVIII); гемофилия типа В встречается в 13% случаев, обусловлена недостаточной активностью фактора IX (FIX); гемофилия типа С наблюдается в 1–2% случаев, развивается из-за недостаточности фактора XI (FXI). Все типы гемофилии характеризуются сходной клинической симптоматикой, однако для проведения адекватной терапии необходимо установление четкого диагноза.

Основным клиническим проявлением гемофилии является склонность к спонтанным или вызванным травмой наружным или внутренним кровотечениям. У пациентов часто развиваются подкожные или внутримышечные гематомы, кровоизлияния в суставы даже при незначительных травмах, реже кровоизлияния в брюшную полость, желудочно-кишечные кровотечения, формирование забрюшинных гематом, гематурия и др. При хирургическом вмешательстве, травме возможны обширные кровотечения, которые могут привести к тяжелым последствиям вплоть до летального исхода. Частота встречаемости кровоизлияний в различных участках тела приведена в таблице 1. Наиболее подробно информация

Таблица 1. Частота встречаемости кровотечений при гемофилии⁴

Table 1. Frequency of bleedings in hemophilia⁴

Локализация кровоизлияний Site of bleeding	Частота встречаемости, % Frequency, %
Гемартрозы (кровоизлияния в суставы, чаще голеностопный, коленный и локтевой, реже плечевой, запястный и тазобедренный) Hemarthroses (joint bleedings; more common in ankles, knees, elbows, less common in shoulders, wrists, and hips)	70–80
Гематомы (кровоизлияния в мышечную ткань) Hematomas (muscle hemorrhage)	10–20
Другие тяжелые кровотечения Other sites (major bleeds)	5–10
Кровоизлияния в центральную нервную систему Central nervous system	менее 5 lower than 5

¹ Report on the Annual Global Survey 2019. World Federation of Hemophilia. <https://elearning.wfh.org/resource/report-on-the-annual-global-survey-2019/>

Пресс-релиз к Всемирному дню гемофилии 2020. Всероссийское общество гемофилии; 2020. <https://hemophilia.ru/news/1147-press-reliz-vserossijskogo-obschestva-gemofilii-k-vsemirnomu-dnju-gemofilii.html>

² Пресс-релиз к Всемирному дню гемофилии 2020. Всероссийское общество гемофилии; 2020. <https://hemophilia.ru/news/1147-press-reliz-vserossijskogo-obschestva-gemofilii-k-vsemirnomu-dnju-gemofilii.html>

³ Воробьев АИ, Андреев ЮН, Баркаган ЗС, Буланов АЮ. Руководство по гематологии. 3-е изд. Т. 3. М.: Ньюдиамед; 2005.

Румянцев АГ, Румянцев СА, Чернов ВМ. Гемофилия в практике врачей различных специальностей. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.

Рукавицын ОА, ред. Гематология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2017.

⁴ Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd ed. Haemophilia. 2020;26(Suppl 6):1–158. <https://doi.org/10.1111/hae.14046>

об указанном заболевании приведена в ряде отечественных руководств, международных документах, работах отечественных и зарубежных авторов [1–9].

Ранее нами опубликована статья по вопросам, связанным с гемофилией типа В [10], в настоящем обзоре приведены данные анализа наиболее дискуссионных вопросов, связанных с наиболее часто встречающимся типом гемофилии — гемофилией типа А.

Гемофилия типа А, вопросы патогенеза

Гемофилию типа А относят к классическому типу гемофилии. Заболевание обусловлено дефицитом FVIII, который отсутствует в крови пациентов полностью или находится в функционально неполноценной форме и не может принимать участия в свертывании крови за счет нарушения образования активной тромбоназы. Дефицит FVIII (гемофилия А) встречается у 1 из 5–10 тыс. новорожденных.

В зависимости от тяжести клинических проявлений выделяют легкую, умеренную и тяжелую формы заболевания, что связано со степенью нарушения коагуляционной активности фактора свертывания крови, то есть остаточной активностью FVIII в плазме крови⁵.

У пациентов с легкой формой клинические проявления заболевания в виде кровотечений отмечаются, как правило, в школьном возрасте и только после полученных травм или хирургических вмешательств. При этом кровотечения обычно менее интенсивные и наблюдаются реже, чем при более тяжелых формах заболевания. Уровень активности фактора свертывания крови составляет более 5% от нормы, при этом у одной трети пациентов уровень активности FVIII — от 25 до 49%.

У пациентов со среднетяжелой формой клинические симптомы развиваются в дошкольном возрасте. Проявления геморрагического синдрома (кровотечения в мышцы и суставы), как правило, выражены умеренно, обширные гематомы развиваются только в результате значительных травм. Обострения заболевания отмечаются с частотой 2–3 раза в год, уровень активности фактора свертывания крови составляет от 1 до 5% от нормального.

Среди всех диагностируемых случаев гемофилии в 60–70% заболевание протекает в тяжелой форме, при этом проявления тяжелого геморрагического синдрома отмечают у детей начиная с первых дней и месяцев жизни. Симптоматика заболевания включает кровотечения из пупочной раны, десен (при прорезывании и смене молочных зубов), в месте инъекции; периодические спонтанные кровотечения в суставы, что сопровождается развитием гемартрозов; развитие гематом мягких тканей; послеоперационные кровотечения; желудочно-кишечные и внутримозговые кровотечения. Уровень активности фактора свертывания крови составляет менее 1% от нормального уровня.

Фактор VIII (антигемофильный глобулин А) синтезируется в печени, селезенке, клетках эндотелия, лейкоцитах, почках и принимает участие в первой фазе плазменного гемостаза (протромбиназообразование). Ген FVIII расположен на длинном плече хромосомы X (Xq28). Содержание FVIII в плазме — 0,01–0,02 г/л, средний период полужизни в кровотоке составляет ≈12 ч. Процент активности FVIII в плазме здорового человека составляет 70–150% (от нормы); минимальный уровень, необходимый для гемостаза, — 20–35%.

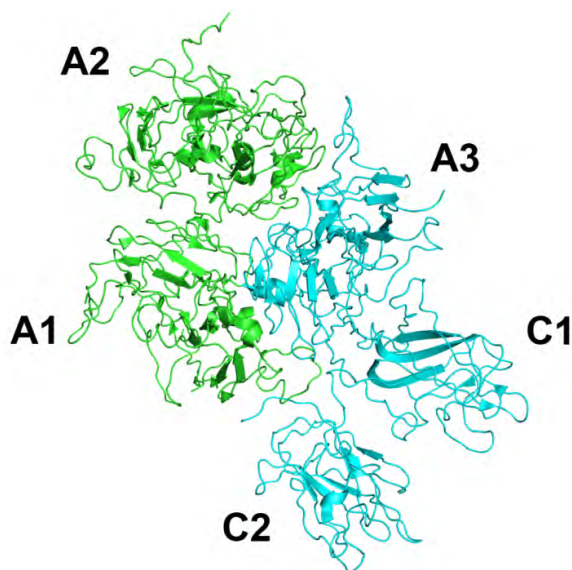


Рис. 1. Структура молекулы фактора VIII⁶. A1, A2 — домены тяжелой цепи; A3, C1, C2 — домены легкой цепи.

Fig. 1. Factor VIII molecular structure⁶. A1, A2—heavy chain domains; A3, C1, C2—light chain domains.

Молекулярная масса гликопротеина FVIII составляет приблизительно 280 кДа. Молекула FVIII представляет собой гетеродимер (рис. 1), состоящий из легкой цепи (доменов A3, C1 и C2), тяжелой цепи (доменов A1 и A2) и домена В.

FVIII является важным кофактором для активации FX активированным FIX (FIXa). Прежде чем FVIII станет физиологически активным, его молекула должна подвергнуться протеолитическому расщеплению в двух различных участках под действием тромбина.

В нормальных условиях FVIII циркулирует в плазме крови в виде комплекса, состоящего из трех субъединиц, обозначаемых VIII-к (коагулирующая единица), VIII-АГ (основной антигенный маркер) и VIII-фВ (фактор Виллебранда, связанный с VIII-АГ). VIII-фВ регулирует синтез коагуляционной части антигемофильного глобулина (VIII-к) и участвует в сосудистотромбоцитарном гемостазе.

Фактор Виллебранда (vWF) — антигеморрагический сосудистый фактор, синтезируется клетками эндотелия сосудов и мегакариocyтами, содержится в плазме и в тромбоцитах, служит внутрисосудистым белком-носителем для FVIII. Около 95% FVIII связано с vWF, который стабилизирует молекулу FVIII, защищает ее от протеолиза, увеличивая период полувыведения из сосудистого русла, и способствует транспорту к месту повреждения [3, 4, 8, 9]. Комплекс FVIII с фактором vWF формируется за счет нековалентного взаимодействия между FVIII-C1, -C2 и -A3 доменами и D'D3 регионом vWF [9, 11].

Формирование комплекса FVIII/vWF играет важную роль в проявлении физиологической активности FVIII; при участии тромбина и ионов Ca²⁺ происходит активация FVIII, который усиливает действие активированного FIX (FIXa), ускоряя переход FX в активную форму (FXa). Связывание vWF с FVIII увеличивает период полувыведения последнего не только за счет указанных выше факторов, но также и за счет подавления LRP-рецептор-

⁵ Клинические рекомендации «Гемофилия» (утв. Минздравом России). Год утверждения (частота пересмотра): 2018 (пересмотр не реже 1 раза в 3 года).

⁶ Hemlibra® (emicizumab-kxwh) for the treatment of haemophilia A with inhibitors. <https://www.clinicaltrialsarena.com/projects/hemlibra-emicizumab-kxwh-treatment-haemophilia-inhibitors/>

Matkoksloski [CC BY 3.0], via Wikimedia Commons. https://en.wikipedia.org/wiki/Factor_VIII#/media/File:Fviii_2R7E.png

опосредованного клиренса. Кроме того, vWF защищает FVIII от эндцитоза дендритными клетками с последующей презентацией клеткам иммунной системы, тем самым препятствует формированию иммунного ответа на антигенные сайты FVIII [12–14].

Следует отметить, что vWF, находясь в комплексе с FVIII, экранирует известные потенциальные сайты связывания, локализованные на тяжелой (домен A2) и легкой цепи (A3/C2 домен) молекулы FVIII, препятствуя взаимосвязи с ИАТ, что очень существенно при наличии АТ к FVIII у пациентов с ингибиторной формой гемофилии.

В крови пациентов с гемофилией А FVIII отсутствует (в 90–92% случаев) или находится в функционально неполноценной форме (в 8–10% случаев), которая не может принимать участия в свертывании крови. У пациентов с гемофилией при резко сниженном содержании в плазме крови субъединицы VIII-к концентрация vWF находится в пределах нормы. В связи с этим продолжительность кровотечения при гемофилии А находится в пределах нормы, а при болезни Виллебранда длительность кровотечения увеличена.

Изменение в содержании и нарушении активности FVIII наблюдается не только при гемофилии А. Так, отчетливое снижение активности FVIII отмечается при ДВС-синдроме начиная со II стадии вследствие коагулопатии потребления. Содержание FVIII снижается при болезни Виллебранда, а также при формировании ингибиторов — специфических АТ к FVIII, на фоне проводимой терапии препаратами, полученными из плазмы крови или рекомбинантными. Тяжелые заболевания печени также могут привести к снижению содержания FVIII в крови. Известно, что активность FVIII значительно повышается после спленэктомии⁷.

Разработка лекарственных препаратов и способов лечения пациентов с гемофилией А

Для лечения гемофилии в качестве заместительной терапии используют препараты, которые получают из плазмы крови доноров (концентраты на основе плазмы крови), а также биотехнологические лекарственные препараты.

Известно, что ранее используемые криопреципитаты и лиофилизированные концентраты факторов свертывания крови, произведенные из плазмы, полученной путем объединения от значительного числа доноров, стали причиной инфицирования пациентов с гемофилией ВИЧ, а также вирусами гепатитов В и С. Высокая частота передачи ВИЧ с препаратами крови привела в начале 1980-х гг. к инфицированию 60–70% пациентов с тяжелой формой гемофилии; при этом почти все пролеченные пациенты были также инфицированы вирусом гепатита С (в то время называемым вирусом гепатита ни А, ни В) [15].

Указанная трагическая ситуация послужила мощным стимулом к разработке высокоэффективных способов инактивации и элиминации вирусов при производстве плазменных препаратов факторов свертывания крови. С конца 1980-х гг. случаев заражения ВИЧ пациентов с гемофилией за счет использования препаратов плазменного происхождения не на-

блюдалось. Рекомендации по обеспечению безопасности в процессе производства таких препаратов представлены в международных⁸ и отечественных документах, а также отражены в научных сообщениях ряда авторов [15–18].

Вопросам совершенствования способов инактивации потенциальной вирусной контаминации плазменных препаратов для обеспечения минимизации рисков передачи вирусной инфекции уделяется внимание и в настоящее время.

На основе использования достижений молекулярной биологии в 1984 г. был клонирован ген фактора свертывания крови VIII, что послужило основой для разработки препаратов на основе рекомбинантного белка FVIII (rFVIII). Первый лекарственный препарат rFVIII был зарегистрирован и получил одобрение Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (FDA) в 1992 г.

Препараты первого поколения получены путем встраивания полной последовательности кДНК FVIII в вектор экспрессии, в результате чего клетки-продуценты синтезировали полноразмерный рекомбинантный белок FVIII человека. Однако экспрессия целевого белка при ферментации была очень низкой, поскольку молекула фактора оставалась связанной с мембраной клеток-продуцентов (клетки CHO) и в итоге подвергалась деградации. Вскоре после разработки первого рекомбинантного препарата FVIII начали разрабатывать рекомбинантные препараты FVIII второго и третьего поколения. К препаратам второго поколения относят препараты на основе рекомбинантного белка FVIII с удаленным В-доменом. При этом удаление из конструкции кДНК последовательности В-домена привело к усилению экспрессии целевого белка в 20 раз. Следует отметить, что удаление В-домена не нарушает прокоагулянтную активность FVIII; молекулы FVIII с удаленным В-доменом обладают неизменной прокоагулянтной активностью по сравнению с полноразмерным FVIII [19, 20].

Разработка новых биотехнологических лекарственных препаратов, в том числе и препаратов на основе белка FVIII с модифицированной последовательностью аминокислот, продолжается и в настоящее время.

Условия производства биотехнологических лекарственных препаратов регламентируются требованиями GMP, включая требования к обеспечению вирусной безопасности, которые представлены в ряде отечественных и международных документов⁹.

Перспективные разработки новых биотехнологических лекарственных препаратов на основе фактора VIII и разработка альтернативных подходов к лечению пациентов с гемофилией

Лечение пациентов с гемофилией за последние 50 лет значительно улучшилось. Это связано с разработкой и внедрением новых лекарственных препаратов, начиная от концентратов плазмы крови и очищенных белков, выделенных из плазмы, до препаратов, полученных с использованием технологии рекомбинантных ДНК, включая препараты на основе модифи-

⁷ Методы оценки системы гемостаза. Учебное пособие для врачей. Уфа: Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России; 2013. <http://library.bashgmu.ru/elibdoc/elib556.pdf>

⁸ Guidance on plasma-derived medicinal products (EMA/CHMP/BWP/706271/2010). EMA; 2011.

⁹ Q5A (R1) Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin. ICH; 1999. <https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/MEDIA425.pdf>

Note for guidance on virus validation studies: the design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses (CPMP/BWP/268/95). EMEA; 1996.

Guideline on virus safety evaluation of biotechnological investigational medicinal products (EMA/CHMP/BWP/398498/2005). EMEA; 2008.

Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

цированных белков с увеличенным периодом полувыведения, препараты белков слияния (fusion proteins) и др.

Продолжаются исследования по разработке лекарственных препаратов, обеспечивающих альтернативный подход для лечения гемофилии за счет восстановления гемостатического баланса путем вмешательства в процесс коагуляции. Указанная стратегия лечения, обозначаемая термином «нефакторная терапия» (nonfactor therapy, NFT), базируется на использовании препаратов, обеспечивающих прокоагулянтный профилактический эффект без замещения отсутствующего фактора свертывания крови, таких как FVIII-миметики, препараты-ингибиторы эндогенных антикоагулянтов, аптамеры и др. [21–25].

Основные проблемы, которые должны быть решены при разработке новых препаратов для лечения пациентов с гемофилией — снижение частоты дозирования препарата и снижение его иммуногенного потенциала. Все традиционные препараты FVIII, несмотря на значительный прогресс в лечении гемофилии, характеризуются приблизительно одинаковыми параметрами фармакокинетики (ФК). Период полувыведения таких препаратов, как правило, колеблется от 8 до 14 ч, что требует при проведении профилактической терапии введения препарата не реже 3–4 раз в неделю. Отмечают, что период полувыведения одного и того же препарата у различных пациентов находится в пределах от 6 до 24 ч. Решающее значение на сроки циркуляции FVIII имеет фоновое значение уровня vWF; при этом период полувыведения FVIII коррелирует с уровнями vWF в циркуляции до инфузии лекарственного препарата. Некоторые авторы высказывают предположение о возможной взаимосвязи вариабельности фармакокинетических показателей препарата FVIII у отдельных пациентов не только с особенностями клиренса эндогенного vWF, но и с группой крови, объемом распределения, ассоциированным с возрастом, а также тяжестью клинических проявлений заболевания. Так, имеются сообщения о том, что у пациентов с группой крови 0 может наблюдаться более короткий период полувыведения FVIII [26, 27].

Необходимость частого введения препарата создает трудности в проведении профилактической терапии пациентов с гемофилией. Часть из них, особенно в подростковом возрасте, переходит на режим неотложного лечения по требованию, то есть на режим введения препарата только с целью купирования кровотечения. Это сопровождается неблагоприятным течением заболевания и развитием осложнений в виде артропатии и др. Особенно остро данный вопрос касается пациентов младшего детского возраста, поскольку в ряде случаев для частого введения препарата может потребоваться имплантация устройства центрального венозного доступа (ЦВД), что сопровождается риском развития инфекций и тромбоэмболических осложнений. Проблема венозного доступа особенно актуальна для пациентов с ингибиторной формой гемофилии [28–30].

На основе современных достижений продолжают исследования по разработке модифицированных биотехнологических препаратов, характеризующихся увеличенным периодом полувыведения, что позволяет оптимизировать схему лечения путем введения препарата с большим интервалом между инъекциями [31].

Удлинение срока циркуляции препарата может быть достигнуто путем химической модификации молекулы фактора свертывания крови, слияния терапевтического белка с белком, имеющим более длительный период полувыведения (например, с Fc-фрагментом иммуноглобулина G (IgG-Fc), альбумином или vWF), а также за счет изменения структуры молекулы фактора свертывания крови [32–35].

Химическая модификация молекулы FVIII за счет конъюгации с полиэтиленгликолем (ПЭГ) продлевает период полувыведения и время циркуляции терапевтического белка за счет увеличения размера молекулы и, как следствие, уменьшения клиренса препарата FVIII через почки. Сайт-специфическое или сайт-неспецифическое пегилирование проводят, используя ПЭГ с молекулярной массой 20, 40 или 60 кДа [36–38].

Разработаны и находятся на этапе клинических исследований рекомбинантные препараты на основе белков слияния (fusion proteins), например с Fc-фрагментом иммуноглобулина (FVIII/IgG-Fc). Увеличение периода полувыведения препарата в таком случае обусловлено способностью модифицированной молекулы FVIII взаимодействовать с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) за счет Fc-фрагмента IgG [39–43].

Независимо от используемой стратегии по модификации белка FVIII увеличение периода полувыведения достигается приблизительно только в 1,5 раза, что позволяет снизить частоту инфузии до двух раз в неделю. Следует отметить, что для FIX подобные модификации молекулы позволяют увеличить период полувыведения до 2,5 раз. Выяснение причины влияния таких различий на пролонгацию полувыведения указанных белков является предметом постоянных научных исследований.

Проводятся исследования препаратов с модифицированной структурой молекулы FVIII, в частности разработан препарат на основе рекомбинантного FVIII с усеченным В-доменом, полученным из последовательности, кодирующей 10 аминокислот из N-конца и 11 аминокислот из С-конца естественного В-домена (turoctocog alfa). Молекулярная структура белка с удаленным В-доменом повышает ее стабильность, обеспечивает необходимую оптимальную протеолитическую активацию FVIII тромбином, а также более прочное связывание с vWF, что позволяет применять препарат в качестве заместительной терапии FVIII у пациентов с гемофилией А [44].

Проводятся исследования рекомбинантного препарата на основе одноцепочечного FVIII [45, 46]. Известно, что FVIII процессируется и секретируется как гетеродимер, состоящий из легкой и тяжелой цепей, соединенных мостиком из ионов металлов. При определенных условиях эта структура может диссоциировать, в результате чего формируются неактивные цепи FVIII. Проведены доклинические сравнительные исследования разработанного одноцепочечного FVIII (rVIII-SingleChain) с полноразмерным рекомбинантным FVIII на экспериментальных животных — мышах с гемофилией А и мышах, нокаутированных по vWF, крысах, кроликах и обезьянах *Сynomolgus*. Анализ результатов изучения препаратов показал, что одноцепочечный FVIII характеризуется выраженной гемостатической эффективностью и хорошей переносимостью, проявляя более благоприятные фармакокинетические и фармакодинамические (ФК/ФД) свойства в опытах на различных видах экспериментальных животных. Отмечено, что ФД эффективность сопоставима с полноцепочечным и лишенным В-домена рекомбинантным FVIII. Исследованиями методом плазмонного резонанса установлено, что одноцепочечный FVIII имеет более высокую степень аффинности к vWF по сравнению с полноразмерным рекомбинантным FVIII, что объясняет улучшенные ФК параметры исследуемого белка [45, 46].

Новый подход к лечению гемофилии включает разработку препаратов, принцип механизма действия которых отличается от действия препаратов заместительной терапии. Такие препараты активируют систему каскада свертывания крови или оказывают подавляющее действие на активность факторов противосвертывающей системы гемостаза. К таким препара-

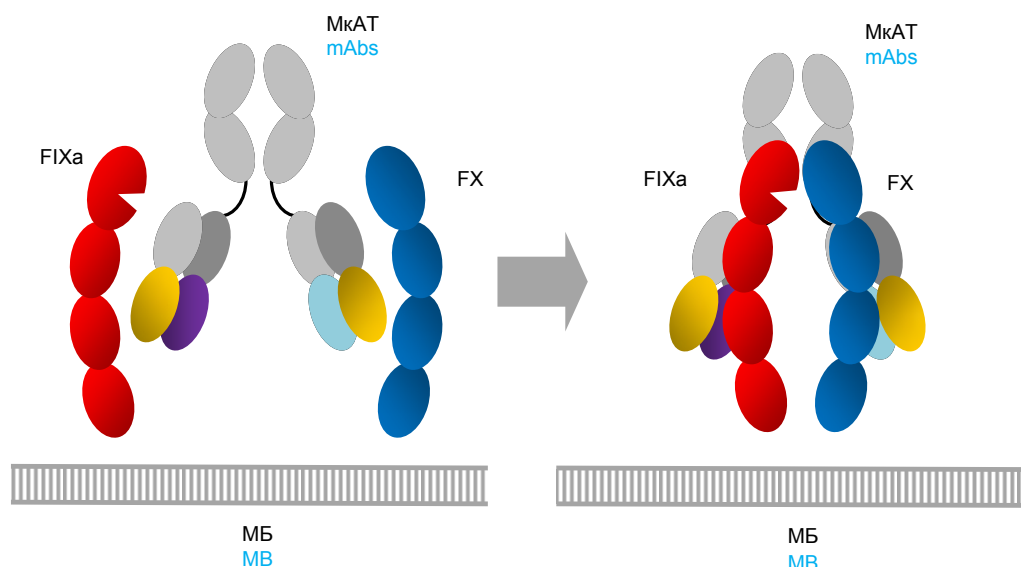


Рис. 2. Механизм имитации функции активированного FVIII биспецифичными МкАТ, специфичными к FIXa и FX. FIXa, FX — факторы свертывания крови; МБ — фосфолипидная мембрана¹⁰.
Fig. 2. The mechanism of mimicking the function of activated FVIII by anti-FIXa/FX bispecific mAbs. FIXa, FX—blood coagulation factors; MB—phospholipid membrane¹⁰.

там, которые включают в терапию пациентов с гемофилией, относятся препараты МкАТ, блокаторы ингибитора пути тканевого фактора, блокаторы антитромбина III, аптамеры и др.

Разработаны рекомбинантные гуманизированные биспецифичные МкАТ (эмицизумаб) на основе иммуноглобулина G4 (IgG4), которые способны связывать FIXa и FX. Известно, что FVIII является важным кофактором для активации FX активированным FIX (FIXa). Указанные МкАТ характеризуются FVIIIa-кофакторной активностью, поскольку они, связывая активированный FIX с FX, восполняют функцию отсутствующего активированного FVIII, который необходим для эффективного гемостаза [47–52].

На рисунке 2 представлена схема механизма имитации функции активированного FVIII (кофактора FVIIIa) биспецифичными МкАТ, специфичными к FIXa и FX.

Следует отметить, что рекомбинантный белок эмицизумаб не имеет структурного сходства и гомологичных последовательностей с FVIII и, соответственно, не индуцирует и не усиливает выработку ингибиторов непосредственно к FVIII, что является большим преимуществом по сравнению с препаратами на основе FVIII.

Первые клинические исследования препарата эмицизумаб начаты в 2012 г. Результаты последующих международных долгосрочных исследований продемонстрировали клиническую эффективность и относительную безопасность этого препарата для профилактического лечения пациентов с гемофилией А. Особенно важно, что клинические исследования свидетельствовали об успешном его применении при лечении пациентов различного возраста как с ингибиторами, так и без них [23, 53–59].

В обзорных статьях авторов-разработчиков (M. Shima и T. Kitazawa) нового препарата приведена информация о молекулярной характеристике, этапах доклинического и клинического изучения препарата [47, 60, 61].

Разработанный в Японии лекарственный препарат на основе рекомбинантного белка эмицизумаб получил одобрение бо-

лее чем в 60 странах мира, включая Японию, США, ЕС. В 2018 г. препарат зарегистрирован в Российской Федерации¹¹.

Преимущество указанного нового терапевтического препарата заключается в возможности менее частого введения (один раз в первые 4 недели, затем один раз в 2 или 4 недели), подкожном способе введения (включая детей младшего возраста), снижении риска развития ингибиторов и клинической эффективности независимо от наличия ингибиторов. Важно, что препарат может быть применен для пациентов детского возраста и ранее нелеченных пациентов (РНП) с целью более раннего начала терапии для эффективного подавления кровотечений.

Также продолжаются исследования по разработке лекарственных препаратов, обеспечивающих альтернативный подход для лечения гемофилии за счет восстановления гемостатического баланса путем вмешательства в процесс коагуляции. Так, в настоящее время разрабатываются препараты, оказывающие влияние на белки системы гемостаза, в частности препараты антител к ингибитору пути тканевого фактора (anti-TFPI). Известно, что ингибитор тканевого фактора (TFPI) является важным антикоагулянтом внешнего пути свертывания, синтезируется различными клетками, но преимущественно эндотелиальными. Основная функция белка — ингибирование фактора VIIa, связывающегося с тканевым фактором, и фактора Ха. TFPI уменьшает коагуляцию путем нейтрализации каталитической активности FXa и ингибирования комплекса TF-FVIIa в присутствии FXa. Подавление активности TFPI может восстановить функциональный гемостаз через внешний путь свертывания крови без проявления активности факторов VIII или IX. В настоящее время разработаны и изучаются препараты, которые, специфически связываясь с TFPI, модулируют его активность и которые могут быть применены для лечения пациентов с гемофилией. Важным является всестороннее изучение структуры и понимание механизмов проявления функциональной активности TFPI в модуляции кровотечения при ге-

¹⁰ European Biotechnology. <https://european-biotechnology.com/up-to-date/latest-news/news/roche-set-to-extend-hemlibra-label.html>

¹¹ <http://grls.rosminzdrav.ru>

мофилии и физиологического воздействия терапевтических агентов, направленных на TFPI [62, 63].

Разработанный препарат на основе МКАТ (конкизумаб), специфичных к TFPI, способен путем связывания TFPI подавлять его активность. При проведении доклинических исследований на модели гемофилии кролика показано восстановление уровня тромбина в плазме крови при дефиците FVIII и FIX и снижение потери крови при травме. Результаты клинических исследований свидетельствуют о благоприятном профиле безопасности при внутривенном и подкожном введении, отмечен дозозависимый прокоагулянтный эффект конкизумаба и тенденция к снижению частоты кровотечений [25, 64–66].

Разрабатываются препараты на основе аптамеров — коротких одноцепочечных олигонуклеотидов, которые подобно МКАТ способны с высокой степенью аффинности и специфичности связываться с молекулой-мишенью. В частности, разработан и исследуется препарат на основе аптамера BAX 499 — пегилированного олигонуклеотида (молекулярная масса ПЭГ 40 кДа), направленного против ингибитора TFPI [63, 67, 68].

Исследованы механизмы, определяющие влияние ингибиторов TFPI на динамику формирования фибринозного сгустка, и их совместное применение с факторами свертывания крови. Установлено, что инактивация TFPI ускоряет начальную фазу роста сгустка, возможно совместное применение ингибиторов TFPI с рекомбинантным FVIIa. Показано, что ингибирование TFPI *in vitro* оказывает более выраженный ускоряющий эффект на свертывание в плазме с дефицитом FVIII, чем в плазме здоровых доноров, то есть увеличение концентрации FVIII в крови снижает относительный эффект антагониста TFPI на размер сгустка [63].

С целью восстановления баланса гемостаза разрабатываются препараты на основе природных антикоагулянтов. Разработаны и проводятся клинические исследования нескольких вариантов препарата на основе FVIIa с повышенным потенциалом и (или) длительным периодом полувыведения; наиболее изученным является Eptacog beta¹². Разрабатывается препарат на основе ингибитора APC (активированный протеин C), являющегося эндогенным белком, проявляющим антикоагулянтную активность за счет инактивации FVa, что приводит к замедлению превращения протромбина в тромбин.

Преимущество всех разрабатываемых новых терапевтических средств заключается в возможности менее частого введения препаратов (один раз в 1–4 недели), подкожном способе введения (включая детей младшего возраста), снижении риска развития ингибиторов и клинической эффективности независимо от наличия ингибиторов.

Стратегия генной терапии при гемофилии предполагает непосредственное введение пациенту вирусного вектора, несущего терапевтический ген. В настоящее время разработано несколько релевантных вирусных векторов, кодирующих FVIII или FIX под контролем гепатоспецифического промотора. Имеются сообщения о том, что при гемофилии А проводятся клинические исследования с использованием вектора на основе аденоассоциированного вируса (AAV5), несущего ген, кодирующий продукцию FVIII с удаленным В-доменом [69, 70].

Указывают на несколько преимуществ векторов на основе AAV по сравнению с векторами на основе других вирусов, в том числе ретро- и лентивирусов. Так, рекомбинантные AAV векторы не подвергаются сайт-специфической интеграции в ДНК клеток-хозяина, они в основном локализуются в ядре трансдуцированных клеток в виде нереплицирующихся эписом. Однако, несмо-

тря на большие надежды, возлагаемые на генную терапию, ряд серьезных проблем в терапии гемофилии А сохраняется. Нельзя полностью исключить риск инсерционного мутагенеза вследствие случайного интегрирования гена AAV после его трансдукции в клетки организма-хозяина. Возможно формирование нейтрализующих АТ, а также клеточно-опосредованного иммунитета, направленного на АГ капсида AAV, что приводит к снижению экспрессии фактора свертывания крови, разрушению трансдуцированных гепатоцитов и повышению активности печеночной трансаминазы. При выборе доз вводимого вектора сложно обеспечить долгосрочную экспрессию клинически значимого уровня FVIII, сохраняя его безопасность. В ряде случаев при использовании высоких доз вектора пациентам необходимо назначение кортикостероидной терапии для предотвращения токсического воздействия проводимой терапии на печень и предупреждения развития дисфункции печени [69, 70].

Согласно современным представлениям принципы будущей генной терапии гемофилии могут основываться на «перезаписи» гена FVIII или FIX в гепатоцитах [71]. Предполагается, что такая концепция редактирования генома обеспечит идеальный терапевтический подход для восстановления аберрантных генов. Это может быть достигнуто с помощью искусственных нуклеаз, нацеленных на двухцепочечные разрывы в определенных сайтах ДНК. Обсуждается вопрос об использовании новых принципов генной терапии, базирующихся на концепции редактирования генома с целью восстановления аберрантных генов (в частности, путем использования метода направленного мутагенеза с целью добавления гена в геном организма — «нокин технология» / knock-in technique).

Разрабатываются и продолжаются исследования препаратов РНК-интерференционной (RNAi) терапии при гемофилии, механизм действия которой основывается на подавлении экспрессии гена при последовательном включении следующих процессов: двухцепочечная РНК подвергается процессингу за счет воздействия фермента Dicer, короткие фрагменты РНК включаются в нуклеопротеиновый комплекс RISC, который разрушает мРНК, содержащую участки, комплементарные РНК в составе комплекса. На рисунке 3 приведена схема механизма, лежащая в основе RNAi терапии.

Для лечения гемофилии разработан новый подход, основанный на РНК-интерференции, направленной на антифактор. Основанием этого является предположение, что совместное наследование протромботических мутаций может улучшить клиническую картину гемофилии. В частности, проводятся исследования препарата — антисмыслового олигонуклеотида (siRNA), связывающего матричную РНК (мРНК) антифактора III (альфа 2-глобулина). Известно, что антифактор III — основной плазматический белок, универсальный ингибитор всех ферментных факторов свертывания, в комплексе с гепарином инактивирует тромбин, синтезирующийся в печени и эндотелиальных клетках. Механизм действия препарата опосредован РНК-интерференцией, направленной на антифактор. За счет малой интерферирующей РНК (siRNA) подавляется трансляция антифактора путем связывания и разрушения мРНК антифактора, что приводит к подавлению экспрессии гена и предотвращению синтеза антифактора. В доклинических и клинических исследованиях показано, что генетический нокаут антифактора приводит к дозозависимому снижению его уровня в циркулирующей крови, что способствует увеличению FXa, необходимого для перехода протромбина в тромбин. На основании результатов анализа исследований, проведенных

¹² LFB S.A. announced today the acceptance by U.S. Food and Drug Administration of the filed Biologic License Application for Coagulation Factor VIIa Recombinant, (eptacog beta activated). <https://www.groupe-lfb.com/lfb-content/uploads/2017/01/pr-bla-sevenfact-def.pdf>

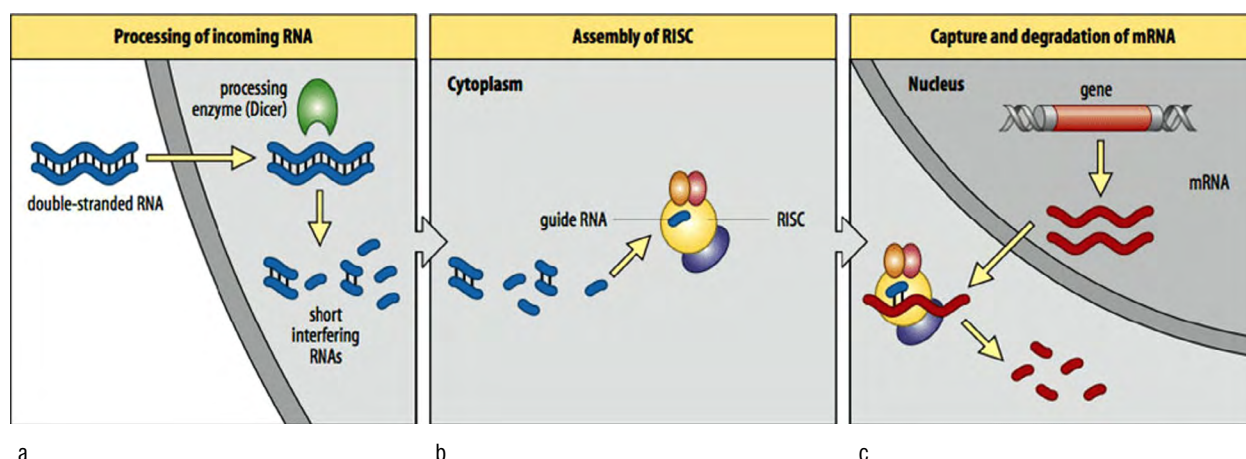


Рис. 3. Схема РНК-интерференции: а — процессирование двухцепочечной РНК в АПК клетке; б — встраивание коротких фрагментов РНК в нуклеопротеиновый комплекс RISC; с — деградация мРНК, содержащей участки, комплементарные РНК¹³.

Fig. 3. RNA interference pathways: а—processing of double-stranded RNA in an APC; б—incorporation of short RNA fragments into RISC; с—degradation of mRNA containing regions complementary to RNAs¹³.

на модели гемофилии А у мышей и нечеловекообразных приматов (NHP), показано, что применение препарата ALN-AT3 стимулировало гемостаз у мышей и приводило к улучшению генерации тромбина у NHP с ингибиторами к FVIII. Преимуществом препарата является то, что он вводится подкожно 1 раз в месяц и может быть использован для лечения пациентов с наличием нейтрализующих АТ к препаратам свертывания крови. Данные клинических исследований I–II фазы свидетельствовали о приемлемом уровне эффективности и безопасности, однако смерть пациента в сентябре 2017 г. вызвала приостановку исследования препарата FDA. Однако после установления причины гибели пациента и коррекции протокола было принято решение о продолжении исследования [24, 72].

Клинические исследования, проведенные с участием здоровых добровольцев и пациентов с гемофилией без ингибиторов, показали, что при введении препарата отмечено значительное дозозависимое снижение антитромбина (от 70 до 89% от исходного уровня) и увеличение продукции тромбина [70].

В опубликованной обзорной статье В. Ни с соавт. [73] приведен анализ имеющихся в настоящее время сведений о возможностях и проблемах, связанных с разработкой препаратов на основе малой интерферирующей РНК. Основные проблемы, требующие решения, касаются способов эффективной и безопасной доставки siRNAs в нужные ткани и клетки и способов повышения эффективности siRNAs в отношении их активности, стабильности, специфичности и обеспечения минимизации потенциальных побочных эффектов.

Разработка новых биотехнологических препаратов и новых подходов к лечению гемофилии на основе применения препаратов, различающихся принципами механизма их действия, продолжается. Это обусловлено как необходимостью обеспечения эффективности лечения пациентов, особенно с тяжелой формой заболевания, так и обеспечения безопасности, в частности иммунологической безопасности проводимой терапии. Внедрение в клиническую практику эффективных и безопасных лекарственных препаратов для лечения гемофилии А требует необходимости проведения клинических исследований в соответствии с требованиями отечественных и международных документов. Вопросы, связанные с принципами проведения клинических исследований препаратов FVIII плазменного происхождения и рекомбинантных, будут отражены во второй части статьи.

Заключение

Проблемы орфанного заболевания — гемофилии А, часто характеризующегося тяжелой клинической симптоматикой, требуют постоянного внимания научного сообщества. Несмотря на то что замещение дефицитного фактора свертывания крови в настоящее время остается основной стратегией лечения пациентов с гемофилией А, достижения в области биотехнологии открывают путь к разработке новых препаратов, базирующихся на различных подходах нормализации функционирования системы гемостаза. Особый подход к выбору оптимального способа лечения требуется для пациентов, у которых сформировались антитела к препарату в процессе проводимой терапии. Разработка новых способов лечения пациентов с гемофилией, основанных на научных достижениях в области современной биотехнологии, совершенствовании технологии производственного процесса выделения факторов свертывания крови из плазмы крови доноров, использовании достижений генной терапии, открывает перспективы успешного их применения в клинической практике.

Окончание следует.

Вклад авторов. Ж. И. Авдеева — сбор и анализ информации, изложенной в научной литературе и методических рекомендациях, написание текста рукописи; А. А. Солдатов — сбор публикаций по тематике обзора, доработка текста рукописи; В. П. Бондарев — формирование концепции статьи, критический пересмотр содержания текста рукописи; В. Д. Мосягин — подготовка и редактирование текста рукописи; В. А. Меркулов — окончательное утверждение версии рукописи для публикации.

Authors' contributions. Zhanna I. Avdeeva—collection and analysis of scientific literature and guidelines, writing of the paper; Aleksandr A. Soldatov—collection of papers on the topic of the review, finalisation of the paper; Vladimir P. Bondarev—elaboration of the concept of the study, revision of the paper; Vyacheslav D. Mosyagin—writing, formatting and editing of the text; Vadim A. Merkulov—final approval of the paper for publication.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022000147-4).

¹³ http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL3530/DEVO_06/box6a.jpg

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project № 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022000147-4).

Конфликт интересов. В. А. Меркулов, В. П. Бондарев являются заместителями главного редактора журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение», Ж. И. Авдеева, В. Д. Мосягин являются членами редакционной коллегии журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение».

Conflict of interest. Vadim A. Merkulov and Vladimir P. Bondarev are Deputy Editors-in-chief of the *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. Zhanna I. Avdeeva, Vyacheslav D. Mosyagin, and Vyacheslav B. Ivanov are members of the Editorial Board of the *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

Литература/References

1. Волкова СА, Боровков НН. *Основы клинической гематологии*. Учебное пособие. Н. Новгород: НижГМА; 2013. [Volkova SA, Borovkov NN. *Clinical Hematology Basics*. Study guide. Nizhny Novgorod: NizhGMA; 2013 (In Russ.)]
2. Бломбек М, Антонович И, ред. *Нарушения свертывания крови. Практические рекомендации по диагностике и лечению*. М.: Медицинская литература; 2014. [Blombek M, Antonovich J, eds. *Blood coagulation disorders. Practical recommendations for diagnosis and treatment*. Moscow: Meditsinskaya literatura; 2014 (In Russ.)]
3. Зозуля НИ, Свиринов ПВ. *Диагностика и лечение гемофилии. Национальные клинические рекомендации*. М.: Национальное гематологическое общество; 2014. [Zozulya NI, Svirin PV. *Diagnosis and treatment of hemophilia*. Moscow: Natsional'noe gematologicheskoe obshchestvo; 2014 (In Russ.)]
4. Сараева НО. *Гематология*. Учебное пособие. Изд. 2-е, перераб. Иркутск: ИГМУ; 2015. [Saraeva NO. *Hematology*. Study guide. 2nd ed. Irkutsk: IGMU; 2015 (In Russ.)]
5. Орлова НА, Ковнир СВ, Воробьев ИИ, Габиров АГ, Воробьев АИ. Фактор свертывания крови VIII — от эволюции к терапии. *Acta Naturae*. 2013;5(2):19–39. [Orlova NA, Kovnir SV, Vorobiev II, Gabibov AG, Vorobiev AI. Blood clotting factor VIII: from evolution to therapy. *Acta Naturae*. 2013;5(2):19–39 (In Russ.)] <https://doi.org/10.32607/20758251-2013-5-2-19-39>
6. Зозуля НИ, Чернов ВМ, Тарасова ИС, Румянцев АГ. Нерешенные вопросы оказания медицинской помощи пациентам с ингибиторной формой гемофилии в России. *Российский журнал детской гематологии и онкологии*. 2019;6(2):48–53. [Zozulya NI, Chernov VM, Tarasova IS, Romyantsev AG. Unsolved issues of providing medical care to patients with hemophilia with inhibitors in Russia. *Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*. 2019;6(2):48–53 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21682/2311-1267-2019-6-2-48-53>
7. Mannucci PM, Tuddenham EG. The hemophilias — from royal genes to gene therapy. *N Engl J Med*. 2001;344(23):1773–9. <https://doi.org/10.1056/nejm200106073442307>
8. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN, eds. *Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
9. DeLoughery TG, ed. *Hemostasis and thrombosis*. 2nd ed. Georgetown, TX: Landes Bioscience; 2019. <https://www.springer.com/us/book/9783030193294>
10. Авдеева ЖИ, Солдатов АА, Бондарев ВП, Меркулов ВА. Аспекты клинических исследований препаратов для лечения гемофилии. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020;20(1):30–
41. [Avdeeva Zhi, Soldatov AA, Bondarev VP, Merkulov VA. General considerations on clinical trials of hemophilia medicines. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2020;20(1):30–41 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-1-30-41>
11. Pipe SW, Montgomery RR, Pratt KP, Lenting PJ, Lillicrap D. Life in the shadow of a dominant partner: the FVIII-VWF association and its clinical implications for hemophilia A. *Blood*. 2016;128(16):2007–16. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-04-713289>
12. Lenting PJ, Van Schooten CJ, Denis CV. Clearance mechanisms of von Willebrand factor and factor VIII. *J Thromb Haemost*. 2007;5(7):1353–60. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02572.x>
13. Dasgupta S, Repessé Y, Bayry J, Navarrete AM, Wootla B, Delignat S, et al. VWF protects FVIII from endocytosis by dendritic cells and subsequent presentation to immune effectors. *Blood*. 2007;109(2):610–2. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-05-022756>
14. Saenko EL, Ananyeva NM. Receptor-mediated clearance of factor VIII: implications for pharmacokinetic studies in individuals with haemophilia. *Haemophilia*. 2006;12(Suppl 4):15–22. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2006.01329.x>
15. Mannucci PM. Viral safety of coagulation factor concentrates: memoirs from an insider. *J Thromb Haemost*. 2018;16(4):630–3. <https://doi.org/10.1111/jth.13963>
16. Русанов ВМ, Левин И. *Лечебные препараты крови*. М.: Медпрактика-М; 2004. [Rusanov VM, Levin I. *Blood medicines*. Moscow: Medpraktika-M; 2004 (In Russ.)]
17. Зубкова НВ. Обеспечение инфекционной безопасности препаратов из плазмы крови доноров. *Гематология и трансфузиология*. 2014;59(2):44–9. [Zubkova NV. Infection safety of donor plasma preparations. *Gematologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2014;59(2):44–9 (In Russ.)]
18. Velthove KJ, Over J, Abbink K, Janssen MP. Viral safety of human plasma-derived medicinal products: impact of regulation requirements. *Transfus Med Rev*. 2013;27(3):179–83. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2013.05.002>
19. Hay CR, Palmer BP, Chalmers EA, Hart DP, Liesner R, Rangarajan S, et al. The incidence of factor VIII inhibitors in severe haemophilia A following a major switch from full-length to B-domain-deleted factor VIII: a prospective cohort comparison. *Haemophilia*. 2015;21(2):219–26. <https://doi.org/10.1111/hae.12563>
20. Gringeri A, Tagliaferri A, Tagariello G, Morfini M, Santagostino E, Mannucci P. Efficacy and inhibitor development in previously treated patients with haemophilia A switched to a B domain-deleted recombinant factor VIII. *Br J Haematol*. 2004;126(3):398–404. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2004.05058.x>
21. Franchini M, Mannucci PM. Direct oral anticoagulants and venous thromboembolism. *Eur Respir Rev*. 2016;25(141):295–302. <https://doi.org/10.1183/16000617.0025-2016>
22. Arruda VR, Doshi BS, Samelson-Jones BJ. Novel approaches to hemophilia therapy: successes and challenges. *Blood*. 2017;130(21):2251–6. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-08-742312>
23. Shima M, Hanabusa H, Taki M, Matsushita T, Sato T, Fukutake K, et al. Factor VIII-mimetic function of humanized bispecific antibody in hemophilia A. *N Engl J Med*. 2016;374(21):2044–53. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1511769>
24. Sehgal A, Barros S, Ivanciu L, Cooley B, Qin J, Racie T, et al. An RNAi therapeutic targeting antithrombin to rebalance the coagulation system and promote hemostasis in hemophilia. *Nat Med*. 2015;21(5):492–7. <https://doi.org/10.1038/nm.3847>
25. Chowdary P, Lethagen S, Friedrich U, Brand B, Hay C, Abdul Karim F, et al. Safety and pharmacokinetics of anti-TFPI antibody (concizumab) in healthy volunteers and

- patients with hemophilia: a randomized first human dose trial. *J Thromb Haemost.* 2015;13(5):743–54. <https://doi.org/10.1111/jth.12864>
26. Fischer K, Pendu R, van Schooten CJ, van Dijk K, Denis CV, van den Berg HM, Lenting PJ. Models for prediction of factor VIII half-life in severe haemophiliacs: distinct approaches for blood group O and non-O patients. *PLoS One.* 2009;4(8):e6745. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006745>
 27. Fijnvandraat K, Peters M, ten Cate JW. Inter-individual variation in half-life of infused recombinant factor VIII is related to pre-infusion von Willebrand factor antigen levels. *Br J Haematol.* 1995;91(2):474–6. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1995.tb05325.x>
 28. Hacker MR, Geraghty S, Manco-Johnson M. Barriers to compliance with prophylaxis therapy in haemophilia. *Haemophilia.* 2001;7(4):392–6.
 29. De Moerloose P, Urbancik W, Van Den Berg HM, Richards M. A survey of adherence to haemophilia therapy in six European countries: results and recommendations. *Haemophilia.* 2008;14(5):931–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2008.01843.x>
 30. Journeycake JM, Buchanan GR. Catheter-related deep venous thrombosis and other catheter complications in children with cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24(28):4575–80. <https://doi.org/10.1200/jco.2005.05.5343>
 31. Mahdi AJ, Obaji SG, Collins PW. Role of enhanced half-life factor VIII and IX in the treatment of haemophilia. *Br J Haematol.* 2015;169(6):768–76. <https://doi.org/10.1111/bjh.13360>
 32. Strohl WR. Fusion proteins for half-life extension of biologics as a strategy to make biobetters. *BioDrugs.* 2015;29(4):215–39. <https://doi.org/10.1007/s40259-015-0133-6>
 33. Baldo BA. Chimeric fusion proteins used for therapy: indications, mechanisms, and safety. *Drug Saf.* 2015;38(5):455–79. <https://doi.org/10.1007/s40264-015-0285-9>
 34. Ivens IA, Baumann A, McDonald TA, Humphries TJ, Michaels LA, Mathew P. PEGylated therapeutic proteins for haemophilia treatment: a review for haemophilia caregivers. *Haemophilia.* 2013;19(1):11–20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2012.02931.x>
 35. Konkle BA, Stasyshyn O, Chowdary P, Bevan DH, Mant T, Shima M, et al. Pegylated, full-length, recombinant factor VIII for prophylactic and on-demand treatment of severe hemophilia A. *Blood.* 2015;126(9):1078–85. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-03-630897>
 36. Tiede A, Brand B, Fischer R, Kavakli K, Lentz SR, Matsushita T, et al. Enhancing the pharmacokinetic properties of recombinant factor VIII: first-in-human trial of glycoPEGylated recombinant factor VIII in patients with hemophilia A. *J Thromb Haemost.* 2013;11(4):670–8. <https://doi.org/10.1111/jth.12161>
 37. Turecek PL, Bossard MJ, Graninger M, Gritsch H, Höllriegl W, Kaliwoda M, et al. BAX 855, a PEGylated rFVIII product with prolonged half-life. Development, functional and structural characterisation. *Haemostaseologie.* 2012;32(Suppl 1):S29–38.
 38. Coyle TE, Reding MT, Lin JC, Michaels LA, Shah A, Powell J. Phase I study of BAY 94-9027, a PEGylated B-domain-deleted recombinant factor VIII with an extended half-life, in subjects with hemophilia A. *J Thromb Haemost.* 2014;12(4):488–96. <https://doi.org/10.1111/jth.12506>
 39. Mahlangu J, Powell JS, Ragni MV, Chowdary P, Josephson NC, Pabinger I, et al. Phase 3 study of recombinant factor VIII Fc fusion protein in severe hemophilia A. *Blood.* 2014;123(3):317–25. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-10-529974>
 40. Shapiro AD, Ragni MV, Kulkarni R, Oldenburg J, Srivastava A, Quon DV, et al. Recombinant factor VIII Fc fusion protein: extended-interval dosing maintains low bleeding rates and correlates with von Willebrand factor levels. *J Thromb Haemost.* 2014;12(11):1788–800. <https://doi.org/10.1111/jth.12723>
 41. Peters RT, Toby G, Lu Q, Liu T, Kulman JD, Low SC, et al. Biochemical and functional characterization of a recombinant monomeric factor VIII-Fc fusion protein. *J Thromb Haemost.* 2013;11(1):132–41. <https://doi.org/10.1111/jth.12076>
 42. Powell JS, Josephson NC, Quon D, Ragni MV, Cheng G, Li E, et al. Safety and prolonged activity of recombinant factor VIII Fc fusion protein in hemophilia A patients. *Blood.* 2012;119(13):3031–7. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-09-382846>
 43. Young G, Mahlangu JN, Kulkarni R, Nolan B, Liesner R, Pasi J, et al. Safety, efficacy, and pharmacokinetics of recombinant factor VIII Fc fusion protein (rFVIII-Fc) in previously-treated children with severe hemophilia A (Kids-A-LONG). *Blood.* 2014;124(21):1494. <https://doi.org/10.1182/blood.V124.21.1494.1494>
 44. Ezban M, Vad K, Kjalke M. Turoctocog alfa (NovoEight®) — from design to clinical proof of concept. *Eur J Haematol.* 2014;93(5):369–76. <https://doi.org/10.1111/ejh.12366>
 45. Zollner SB, Raquet E, Müller-Cohrs J, Metzner HJ, Weimer T, Pragst I, et al. Preclinical efficacy and safety of rVIII-SingleChain (CSL627), a novel recombinant single-chain factor VIII. *Thromb Res.* 2013;132(2):280–7. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2013.06.017>
 46. Zollner S, Raquet E, Claar P, Müller-Cohrs J, Metzner HJ, Weimer T, et al. Non-clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of rVIII-SingleChain, a novel recombinant single-chain factor VIII. *Thromb Res.* 2014;134(1):125–31. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2014.03.028>
 47. Kitazawa T, Igawa T, Sampei Z, Muto A, Kojima T, Soeda T, et al. A bispecific antibody to factors IXa and X restores factor VIII hemostatic activity in a hemophilia A model. *Nat Med.* 2012;18(10):1570–4. <https://doi.org/10.1038/nm.2942>
 48. Lenting PJ, Denis CV, Christophe OD. Emicizumab, a bispecific antibody recognizing coagulation factors IX and X: how does it actually compare to factor VIII? *Blood.* 2017;130(23):2463–8. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-08-801662>
 49. Kitazawa T, Esaki K, Tachibana T, Ishii S, Soeda T, Muto A, et al. Factor VIIIa-mimetic cofactor activity of a bispecific antibody to factors IX/Xa and X/Xa, emicizumab, depends on its ability to bridge the antigens. *J Thromb Haemost.* 2017;117(7):1348–57. <https://doi.org/10.1160/th17-01-0030>
 50. Kitazawa T, Shima M. Emicizumab, a humanized bispecific antibody to coagulation factors IXa and X with a factor VIIIa-cofactor activity. *Int J Hematol.* 2020;111(1):20–30. <https://doi.org/10.1007/s12185-018-2545-9>
 51. Yada K, Nogami K. Novel insights and new developments regarding coagulation revealed by studies of the anti-factor IXa (activated factor IX)/factor X bispecific antibody, emicizumab. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020;40(5):1148–54. <https://doi.org/10.1161/atvbaha.120.312919>
 52. Muto A, Yoshihashi K, Takeda M, Kitazawa T, Soeda T, Igawa T, et al. Anti-factor IXa/X bispecific antibody (ACE910): hemostatic potency against ongoing bleeds in a hemophilia A model and the possibility of routine supplementation. *J Thromb Haemost.* 2014;12(2):206–13.
 53. Lippi G, Favaloro EJ. Emicizumab (ACE910): clinical background and laboratory assessment of hemophilia A. *Adv Clin Chem.* 2019;88:151–67. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2018.10.003>
 54. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, Schmitt C, Callaghan MU, Young G, et al. Emicizumab prophylaxis in hemophilia A with inhibitors. *N Engl J Med.* 2017;377(9):809–18. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1703068>
 55. Young G, Liesner R, Chang T, Sidonio R, Oldenburg J, Jiménez-Yuste V, et al. A multicenter, open-label, phase 3 study of emicizumab prophylaxis in children with hemophilia A with inhibitors. *Blood.* 2019;134(24):2127–38. <https://doi.org/10.1182/blood.2019001869>

56. Mahlangu J, Oldenburg J, Paz-Priel I, Negrier C, Niggli M, Mancuso ME, et al. Efficacy of emicizumab prophylaxis in patients who have hemophilia A without inhibitors. *N Engl J Med*. 2018;379(9):811–22. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1803550>
57. Pipe SW, Shima M, Lehle M, Shapiro A, Chebon S, Fukutake K, et al. Efficacy, safety, and pharmacokinetics of emicizumab prophylaxis given every 4 weeks in people with haemophilia A (HAVEN 4): a multicentre, open-label, non-randomised phase 3 study. *Lancet Haematol*. 2019;6(6):e295–305. [https://doi.org/10.1016/s2352-3026\(19\)30054-7](https://doi.org/10.1016/s2352-3026(19)30054-7)
58. Shima M, Nogami K, Nagami S, Yoshida S, Yoneyama K, Ishiguro A, et al. A multicentre, open-label study of emicizumab given every 2 or 4 weeks in children with severe haemophilia A without inhibitors. *Haemophilia*. 2019;25(6):979–87. <https://doi.org/10.1111/hae.13848>
59. Uchida N, Sambe T, Yoneyama K. A first-in-human phase 1 study of ACE910, a novel factor VIII-mimetic bispecific antibody, in healthy subjects. *Blood*. 2016;127(13):1633–41. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-06-650226>
60. Shima M. Bispecific antibodies and advances in non-gene therapy options in hemophilia. *Res Pract Thromb Haemost*. 2020;4(4):446–54. <https://doi.org/10.1002/rth2.12337>
61. Lenting PJ, Denis CV, Christophe OD. Efficacy of emicizumab, a bispecific antibody recognizing coagulation factors IX and X: how does it actually compare to factor VIII. *Blood*. 2017;130(23):2463–8. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-08-801662>
62. Peterson JA, Maroney SA, Mast AE. Targeting TFPI for hemophilia treatment. *Thromb Res*. 2016;141(Suppl 2):S28–30. [https://doi.org/10.1016/s0049-3848\(16\)30359-0](https://doi.org/10.1016/s0049-3848(16)30359-0)
63. Chowdary P. Anti-tissue factor pathway inhibitor (TFPI) therapy: a novel approach to the treatment of haemophilia. *Int J Hematol*. 2020;111(1):42–50. <https://doi.org/10.1007/s12185-018-2548-6>
64. Eichler H, Angchaisuksiri P, Kavakli K, Knoebl P, Windyga J, Jiménez-Yuste V, et al. A randomized trial of safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of concizumab in people with hemophilia A. *J Thromb Haemost*. 2018;16(11):2184–95. <https://doi.org/10.1111/jth.14272>
65. Chowdary P. Inhibition of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) as a treatment for haemophilia: rationale with focus on concizumab. *Drugs*. 2018;78(9):881–90. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0922-6>
66. Dockal M, Hartmann R, Fries M, Thomassen MC, Heinzmann A, Ehrlich H, et al. Small peptides blocking inhibition of factor Xa and tissue factor-factor VIIa by tissue factor pathway inhibitor (TFPI). *J Biol Chem*. 2014;289(3):1732–41. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.533836>
67. Waters EK, Genga RM, Schwartz MC, Nelson JA, Schaub RG, Olson KA, et al. Aptamer ARC19499 mediates a procoagulant hemostatic effect by inhibiting tissue factor pathway inhibitor. *Blood*. 2011;117(20):5514–22. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-10-311936>
68. Parunov LA, Soshitova NP, Fadeeva OA, Balandina AN, Kopylov KG, Kumsikova MA, et al. Drug-drug interaction of the anti-TFPI aptamer BAX499 and factor VIII: studies of spatial dynamics of fibrin clot formation in hemophilia A. *Thromb Res*. 2014;133(1):112–9. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2013.10.036>
69. Rangarajan S, Walsh L, Lester W, Perry D, Madan B, Laffan M, et al. AAV5-factor VIII gene transfer in severe hemophilia A. *N Engl J Med*. 2017;377(26):2519–30. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1708483>
70. Pasi J, Rangarajan S, Mitchell N, Lester W, Laffan M, Madan B, et al. First-in-human evidence of durable therapeutic efficacy and safety of AAV gene therapy over 3-years with Valoctocogene Roxaparvotec for severe haemophilia A (BMN 270-201 Study). *J Thromb Haemost*. LB 01.2. 2019.
71. Shima M. Current progress and future direction in the treatment for hemophilia. *Int J Hematol*. 2020;111:16–9. <https://doi.org/10.1007/s12185-019-02786-9>
72. Machin N, Ragni MV. An investigational RNAi therapeutic targeting antithrombin for the treatment of hemophilia A and B. *J Blood Med*. 2018;9:135–40. <https://doi.org/10.2147/jbm.s159297>
73. Hu B, Zhong L, Weng Y, Peng L, Huang Y, Zhao Y, et al. Therapeutic siRNA: state of the art. *Sig Transduct Target Ther*. 2020;5(1):101. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0207-x>

Об авторах / Authors

Авдеева Жанна Ильдаровна, д-р мед. наук, проф. Zhanna I. Avdeeva, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9377-1378>

Солдатов Александр Алексеевич, д-р мед. наук. Aleksandr A. Soldatov, Dr. Sci. (Med.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6624-2692>

Бондарев Владимир Петрович, д-р мед. наук, проф. Vladimir P. Bondarev, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6472-6386>

Мосягин Вячеслав Дмитриевич, д-р мед. наук, проф. Vyacheslav D. Mosyagin Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-0269-8337>

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф. Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Поступила 14.09.2020

После доработки 10.02.2021

Принята к публикации 26.02.2021

Received 14 September 2020

Revised 10 February 2021

Accepted 26 February 2021