

MACIEJ TRZASKA¹, MAREK KARWACKI², *PAWEŁ ŁAGUNA², MICHAŁ MATYSIAK²

Innowacyjna metoda prowadzenia ITI za pomocą preparatu czynnika VIII z frakcją Fc u pacjentów z hemofilią A z obecnością inhibitora czynnika VIII – przegląd literaturowy

Innovative method of ITI management with factor VIII Fc fusion protein in patients with haemophilia A and factor VIII inhibitors – review of literature

¹Swedish Orphan Biovitrum Sp. z o.o., Warszawa

²Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny
Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Michał Matysiak

Summary

Eradication of factor VIII inhibitors using Immune tolerance induction (ITI) treatment is the standard of care for severe haemophilia A patients presenting with factor VIII inhibitors, but is not always effective.

A description of the potential immunological tolerance effect of the IgG Fc domain of recombinant factor VIII Fc fusion protein (rFVIII Fc), as well as published experience with rFVIII Fc for ITI in patients with severe haemophilia A and high-titre inhibitors.

Review of published literature describing cases of ITI with rFVIII Fc in patients with severe haemophilia A and high-titre inhibitors between November 2015 and June 2018. Four publications has been found.

Of 56 patients with haemophilia A who presented with FVIII inhibitors, 28 achieved a negative Bethesda titre (≤ 0.6) after ITI treatment using rFVIII Fc. Additional patients continued on rFVIII Fc ITI at the time of publication, while a few were reported to have switched to bypass therapy alone or other factors. For those still undergoing ITI, longer follow-up is needed to determine final outcomes. No adverse events were reported.

Based on literature review, preliminary evidence of FVIII Fc use in high risk, first-time ITI suggests rapid time to tolerization. For rescue ITI, rFVIII Fc showed therapeutic benefit in some patients who previously failed ITI. These findings give hope but highlight the need for further evaluation in ongoing clinical trials.

Keywords

rFVIII Fc, immune tolerance induction, haemophilia A, Fc domain, immunotolerance

Wraz z wprowadzeniem nowych metod inaktywacji czynników krzepnięcia pochodzących z osocza ludzkiego i wprowadzeniem do praktyki klinicznej rekombinowanych czynników krzepnięcia udało się wyeliminować podstawowy mankament leczenia hemofilii: groźbę transmisji czynników zakaźnych na dużą populację pacjentów. W chwili obecnej najbardziej dotkliwym działaniem niepożądanym leczenia hemofilii jest wystąpienie alloprzeciwciał skierowanych przeciwko czynnikowi VIII lub IX (1). Powikłanie to dotyczy zwłaszcza pacjentów rozpoczynających terapię hemofilii, a więc na ogół dzieci poniżej 3. roku życia. Częstość występowania inhibitora FVIII w populacji chorych na ciężką hemofilię A szacuje się na około 30% (2-4). Głównym celem w leczeniu chorych na hemofilię powikłaną inhibitorem jest jego eliminacja za pomocą tzw. indukcji tolerancji immunologicznej (ang. *immune tolerance induction* – ITI). Jest to szczególnie traumatyczne wydarzenie dla rodziców, jak również trudny czas dla lekarzy prowadzących terapię. Eradykacja inhibitora w hemofilii A wiąże się bowiem najczęściej z wielomiesięcznym codziennym lub nawet dwa razy dziennie podawaniem wysokich dawek czynnika VIII (100-200 IU na kg m.c.). Dodatkowo niezbędne jest równoczesne podawanie leków omijających inhibitor (rVIIa lub aPCC) w celu hamowania krwawień. Mimo tak intensywnego leczenia sukces w eradykacji inhibitora obserwuje się u 75-94% pacjentów poddawanych pierwszy raz tej terapii (5-7). Po niepowodzeniu ITI najczęściej powtarza się tę terapię z wykorzystaniem innego czynnika krzepnięcia (np. zawierającego czynnik von Willebrand), często z dodatkiem immunosupresji przy pomocy rituximabu. W tej grupie chorych skuteczność terapii wynosi 44-73% (5-7). Jeśli podczas stosowania ITI występują krwawienia, pacjent otrzymuje leki omijające inhibitor, a następnie równocześnie jest prowadzona profilaktyka z zastosowaniem koncentratu aktywowanych czynników zespołu protrombiny (aPCC). Niestety leczenie takie jest niezwykle kosztowne. Nie usuwa ono pierwotnego problemu, czyli inhibitora.

Nową opcją terapeutyczną dla pacjentów z inhibitorem w hemofilii A może być zastosowanie rekombinowanego czynnika krzepnięcia o przedłużonym okresie półtrwania – Elocta (rFVIIIc), uzyskiwanego z komórek ludzkich. Unikatową cechą tego czynnika jest kowalencyjne wiązanie z frakcją Fc ludzkiej immunoglobuliny G1 (IgG1). Fuzja domeny Fc IgG z rekombinowanym czynnikiem VIII przedłuża jego okres półtrwania poprzez wiązanie z noworodkowym receptorem Fc (FcRn), który ulega stałej ekspresji w ciągu ludzkiego życia w komórkach nabłonka wyściełających jelita, płuca i nerki (8-10). FcRn ulega również ekspresji w komórkach śródbłonka wyściełających naczynia krwionośne, gdzie najczęściej możemy obserwować ochronne działanie IgG (11). Wiązanie domeny Fc do receptora noworodkowego zapobiega lizosomalnemu rozkładowi związanego z nim kowalencyjnie czynnika VIII i faworyzuje jego ponowne uwolnienie do krwiobiegu (12, 13). Należy zaznaczyć że fragment Fc immunoglobuliny ulega rozkładowi i nie kumuluje się w organizmie (14).

HAMOWANIE ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ I DZIAŁANIE PRZECIWPALNE IGG Fc

Domena Fc immunoglobulin wiąże się głównie do receptorów Fc_γ (Fc_γRs), co umożliwia białkom fuzyjnym, takim jak

rFVIIIc, oddziaływanie poprzez szlaki metaboliczne Fc_γRs, które występują w większości komórek układu immunologicznego (15). Rodzina receptorów Fc_γRs jest bardzo liczna. Ze względu na hamowanie odpowiedzi immunologicznej istotną rolę pełni receptor Fc_γRIIB. Przyłączenie do niego domeny Fc może prowadzić do obniżenia dojrzałości komórek dendrytycznych i makrofagów (16). Utrzymuje on również własną tolerancję poprzez regulację odpowiedzi immunologicznej na bazie przeciwciał (15). Wiązanie Fc_γRIIB przez monomeryczną formę IgG w komórkach dendrytycznych indukuje większą ekspresję tego hamującego receptora (15, 16). Długotrwałe leczenie monomerycznymi lekami fuzyjnymi Fc (np. rFVIIIc) może mieć podobny efekt i tym samym modulować immunogenność (17). Dodatkowo w domenach Fc i Fab IgG występują epitopy komórek T regulatorowych, zwane tregitopami, które są polipeptydami. Zidentyfikowano je w wielu białkach ludzkich i zwierzęcych. Tregitopy stanowią ważny element regulacyjny układu immunologicznego, indukując proliferację komórek T regulatorowych (Treg). Tregitopy mogą tłumić niechciane reakcje odpornościowe i przyczyniać się do tolerancji immunologicznej (19).

Ze względu na działanie przeciwzapalne istotną rolę pełni receptor DC-SIGN. Jest on aktywowany przez frakcję Fc IgG, dzięki czemu dochodzi do odpowiedzi przeciwzapalnej. Jest to ważne dla chorych na hemofilię, gdyż do stanów zapalnych w hemofilii dochodzi na skutek krwawień spontanicznych, podczas procesu gojenia ran oraz w stawach docelowych (15-18).

Powyższe mechanizmy zostały potwierdzone w pracy na modelu zwierzęcym (20). Porównano odpowiedź immunologiczną na czynnik rFVIIIc, rekombinowany czynnik VIII pozbawiony domeny B (BDD-rFVIII) oraz rekombinowany czynnik VIII pełnej długości (FL-rFVIII) u myszy z ciężką postacią hemofilii A.

Wielokrotne iniekcje terapeutycznych dawek rFVIIIc spowodowały u nich znacznie mniejszą produkcję przeciwciał skierowanych do tego czynnika krzepnięcia w porównaniu do BDD-rFVIII i FL-rFVIII. Podobny efekt przyniosło stymulowanie układu odpornościowego poprzez podanie wysokich dawek rFVIIIc, co przejawiało się sukcesywnym zmniejszaniem się miana przeciwciał po kolejnych podaniach. Badacze zaobserwowali wyższy odsetek regulatorowych komórek T, niższy procent prozapalnych śledzionowych limfocytów T i podwyższone miano tolerogennych cytokin i markerów (20).

INDUKCJA TOLERANCJI IMMUNOLOGICZNEJ Z WYKORZYSTANIEM RFVIIIc

W chwili obecnej aktualny status rejestracyjny nie obejmuje wskazania do zastosowania rFVIIIc (Elocta) w terapii ITI u chorych na hemofilię A w żadnym z krajów na świecie. Istotne więc są wyniki badań klinicznych, w których jak dotąd wzięło udział 233 pacjentów w wieku powyżej 6. roku życia (21). Nie zaobserwowano ani jednego przypadku wystąpienia inhibitora.

W piśmiennictwie obecnych jest kilka opisów pojedynczych przypadków obrazujących skuteczność ITI z zastosowaniem czynnika o przedłużonym okresie półtrwania z frakcją Fc, także u młodszych dzieci (21).

Jednym z pierwszych opisanych jest przypadek 15-miesięcznego chłopca z ciężką postacią hemofilii A

i inhibitorem (21). Po ponad 100 dniach ekspozycji na konwencjonalny rekombinowany czynnik krzepnięcia zauważono u niego utrzymujące się krwawienie po usunięciu dożylnego portu. W badaniach diagnostycznych stwierdzono wystąpienie inhibitora w mianie 8 BU. Ze względów logistycznych zdecydowano się na wdrożenie nisko dawkowego protokołu ITI z użyciem rFVIII50 IU/kg m.c. 3 razy w tygodniu. W toku dalszych dyskusji przekonano rodziców do zastosowania leku Elocta w tym samym schemacie dawkowania. Terapię czynnikiem o przedłużonym okresie półtrwania rozpoczęto przy mianie inhibitora wynoszącym 11 BU. Po 44 tygodniach leczenia ITI poziom inhibitora wynosił < 0,7 BU. W czasie immunotolerancji wystąpiło tylko jedno krwawienie do kostki, co było powodem zastosowania aPCC (21).

Malec i wsp. (22, 23) opisali serię trzech przypadków użycia rFVIII_{FC} w terapii ITI (22). Zestawienie przypadków ilustruje tabela 1.

Autorzy podkreślają krótki czas, w jakim osiągnięto tolerancję immunologiczną (4-12 tygodni), który jest znacząco krótszy w porównaniu z konwencjonalnymi czynnikiem krzepnięcia używanymi dotychczas w terapii ITI. Podczas prowadzonej immunotolerancji nie było potrzeby użycia preparatów omijających inhibitor. Na uwagę zasługuje drugi pacjent, który źle znosił terapię ITI prowadzoną konwencjonalnym czynnikiem krzepnięcia, a bardzo szybko zareagował po zastosowaniu rFVIII_{FC}.

Jak dotąd najlepiej udokumentowaną publikacją dotyczącą zastosowania czynnika Elocta w ITI jest retrospektywna analiza przypadków Carcao i wsp. (24). Praca ta opisuje 19 chorych na hemofilię z inhibitorem leczonych rFVIII_{FC}, podzielonych na dwie grupy:

- 7 pacjentów poddanych po raz pierwszy terapii ITI z wykorzystaniem rFVIII_{FC},
- 12 pacjentów z przetrwałym inhibitorem, u których zdecydowano się zastosować w drugiej lub kolejnej próbie ITI czynnik o przedłużonym okresie półtrwania.

W pierwszej grupie eradykację inhibitora udało się uzyskać u 4 pacjentów, którzy po zakończeniu terapii kontynuują leczenie profilaktyczne z wykorzystaniem rFVIII_{FC}. Średni czas uzyskania tolerancji immunologicznej wyniósł 7,8 miesiąca. Pozostali pacjenci tej grupy nadal kontynuują terapię ITI.

Uwagę zwraca fakt rozpoczęcia terapii ITI przy wysokim mianie inhibitora: od 11 BU do ponad 1100 BU. Sześciu pacjentów z tej grupy miało co najmniej jeden czynnik zwiększający ryzyko niepowodzenia terapii ITI.

Z grupy drugiej, składającej się z 12 pacjentów z przetrwałym inhibitorem, u 7 uzyskano negatywne miano inhibitora ($\leq 0,6$ BU) w medianie czasu leczenia ITI wynoszącej 3,3 miesiąca. Jeden pacjent kontynuuje terapię ITI z wykorzystaniem czynnika Elocta, a 4 pacjentów nie zareagowało obniżeniem miana inhibitora. Trzech z nich kontynuuje zaproponowaną terapię, u jednego zaprzestano terapii ITI – pacjent otrzymuje jedynie leki omijające inhibitor. Dwóch pacjentów, u których uzyskano początkowo dobrą odpowiedź na prowadzoną terapię, przedstawiono na inne czynniki z powodu nawrotu inhibitora.

Podsumowując obie grupy, 16 z 19 pacjentów pozostaje leczonych czynnikiem Elocta za pomocą terapii ITI lub leczenia profilaktycznego. U żadnego pacjenta nie stwierdzono działań niepożądanych związanych z rFVIII_{FC}.

Ostatnim opublikowanym doniesieniem jest praca Abraham i Srivastava dotycząca pacjentów z Indii (25). Jest to do tej pory największa opisana grupa pacjentów, u której zastosowano rFVIII_{FC} w terapii ITI – 33. Do analizy włączono pacjentów z mianem inhibitora > 5 BU. Siedmiu z nich miało potwierdzoną rodzinną historię występowania inhibitora. Mediana wieku w momencie wykrycia inhibitora w opisywanej populacji wynosiła 15 lat. W zależności od wagi pacjenta, względów logistycznych oraz dostępności czynnika, terapię ITI z rFVIII_{FC} prowadzono w zakresie dawek od 50 IU na kg masy ciała 3 razy w tygodniu do 200 IU na kg masy ciała każdego dnia. W momencie opracowania doniesienia u 14 (42%) pacjentów udało się uzyskać tolerancję immunologiczną na podawany czynnik z frakcją Fc. W tej grupie, średni czas, jaki upłynął do negatywnego odczytu przeciwciał przeciwko czynnikowi VIII, wynosił 16 tygodni.

DYSKUSJA

Przedstawiony przegląd przypadków jest niezwykle trudny do analizy. Związane jest to z eksperymentalnym zastosowaniem czynnika krzepnięcia o przedłużonym okresie

Tab. 1. Zastosowanie rFVIII_{FC} w terapii ITI w trzech przypadkach

Pacjent	1	2	3
Wcześniejsza terapia ITI	Nie	Tak	Nie
Wiek w momencie rozpoczęcia ITI	13 miesięcy	9 miesięcy	10 lat
Historyczne miano inhibitora (BU)	32	442	16
Początkowa dawka rFVIII _{FC}	200 IU/kg co drugi dzień	200 IU/kg 3 x/tydzień	100 IU/kg co drugi dzień
Czas do uzyskania anty-FVIII = 0	12 tygodni	4 tygodnie	11 tygodni
Czas do uzyskania odzysku > 60%	18 tygodni	17 tygodni	17 miesięcy
Czas do uzyskania t _{1/2} > 6 h	18 tygodni	17 tygodni	17 tygodni
Krwawienia wymagające użycia leków omijających inhibitor	0	0	0

Tab. 2. Porównanie dwóch badań klinicznych

	VerITI-8 Study Clinicaltrials.gov NCT03093480	ReITrate Clinicaltrials.gov NCT03103542
Podstawowe kryterium włączenia	Wysokie miano inhibitora podczas pierwszej terapii ITI	Nieudane próby terapii ITI
Główne punkty końcowe	Czas do uzyskania tolerancji immunologicznej w ciągu 48 tygodni	Liczba pacjentów, u których uzyskano tolerancję immunologiczną w ciągu 60 tygodni
Dawka	200 IU/kg/dziennie z dostosowaniem dawki do leczenia profilaktycznego	200 IU/kg/dziennie z dostosowaniem dawki do leczenia profilaktycznego
Kraje	USA, Europa, Kanada, Japonia	USA, Europa, Kanada
Przewidywana liczba pacjentów	N = 30	N = 20

półtrwania w terapii ITI uzależnionym głównie od indywidualnego doświadczenia i wiedzy lekarza prowadzącego pacjenta z hemofilią.

Trudność sprawia choćby interpretacja zastosowanej dawki początkowej czynnika Elocta (od 50 do 202 IU/kg m.c.) i częstości podania czynnika w tygodniu (od trzech podań w tygodniu do podawania codziennego). Niemniej przedstawione przypadki wskazują, że po zastosowaniu czynnika z frakcją Fc możemy oczekiwać szybszego wyeliminowania inhibitora w porównaniu do czynników rekombinowanych.

Niebagatelny aspekt może też być prowadzenie terapii ITI z podawaniem rFVIIIc 2-3 razy w tygodniu w porównaniu do „klasycznej” terapii ITI prowadzonej codziennie.

Nowy schemat dawkowania może być znacznie łatwiej zaakceptowany przez pacjenta i jego rodzinę, przyczyniając się do podniesienia komfortu życia. Należy jednak zaznaczyć, że w świetle przedstawionych przypadków dawka rFVIIIc powyżej 100 IU/kg m.c. podawana codziennie prowadzi do szybszej immunotolerancji w porównaniu do leczenia prowadzonego np. co drugi dzień lub w dawkach poniżej 100 IU/kg m.c.

Wydaje się także, że immunomodulacyjny efekt frakcji Fc może być przyczynkiem do mniejszej immunogenności tego czynnika w porównaniu do konwencjonalnych czynników krzepnięcia.

Kilku autorów uważa, że uzyskiwanie rekombinowanych czynników krzepnięcia, takich jak Elocta, z komórek ludzkich w porównaniu do komórek zwierzęcych zapewni pełne potranslacyjne modyfikacje białek identyczne z ludzkimi, w tym glikozylację (26-28). Ta ostatnia jest najbardziej krytyczną potranslacyjną modyfikacją białek terapeutycznych, ponieważ wpływa m.in. na immunogenność rekombinowanych czynników krzepnięcia (26-28).

W czynniku rFVIIIc nie wykrywa się również glikanów pochodzenia zwierzęcego (NGNA i α -Gal) w odróżnieniu

od czynników rekombinowanych uzyskiwanych z komórek ssaków (29, 30).

Wiele potencjalnych wątpliwości w zastosowaniu czynnika krzepnięcia z frakcją Fc w eradykacji inhibitora zostanie wyjaśnionych po zakończeniu aktualnie prowadzonych dwóch badań klinicznych (tab. 2).

Pierwsze badanie (VerITI-8) dotyczy pacjentów z ciężką postacią hemofilii A, u których inhibitor pojawił się po raz pierwszy. Schemat terapeutyczny przewiduje podanie czynnika Elocta raz dziennie w dawce 200 IU/kg m.c. przez maksymalny czas 48 tygodni. W przypadku sukcesu w eliminacji inhibitora, zgodnie z założeniami próby klinicznej, dawka czynnika będzie sukcesywnie zmniejszana przez okres 16 tygodni. Zakładana dawka w tym okresie zależeć będzie od osądu badacza: 50 lub 100 IU/kg raz dziennie do 6 tygodnia, a następnie 50 lub 100 IU/kg co drugi dzień do 16 tygodnia (31).

Drugie badanie (ReITrate) dotyczy pacjentów z przetrwałym inhibitorem, którzy mieli przynajmniej jedną nieudaną próbę eradykacji przeciwciał skierowanych do czynnika VIII. Uczestnicy otrzymają rFVIIIc w dawce 200 IU/kg raz dziennie lub podzieloną na kilka wstrzyknięć dziennie według uznania badacza przez maksymalny okres 60 tygodni. Uczestnicy, którzy spełnią kryteria sukcesu ITI, przez okres 16 tygodni otrzymają sukcesywnie zmniejszaną dawkę czynnika, aż do uzyskania dawki profilaktycznej, zgodnie z oceną badacza. Przez kolejny okres obserwacji wynoszący 32 tygodnie pacjent będzie nadal otrzymywał leczenie profilaktyczne rFVIIIc (32).

W tym krótkim omówieniu chcieliśmy przedstawić krótki opis aktualnego stanu wiedzy na temat zastosowania czynnika VIII o przedłużonym działaniu w leczeniu pacjentów z hemofilią A i inhibitorem, pragnąc z jednej strony zwrócić uwagę na jego użyteczność, a z drugiej na możliwość poprawy jakości życia tych chorych, co chyba przesądzi o przyszłości tego rodzaju terapii.

Konflikt interesów
Conflict of interest

Maciej Trzaska jest pracownikiem Swedish Orphan Biovitrum Sp. z o.o. Oddział w Polsce.
Maciej Trzaska is an employee of Swedish Orphan Biovitrum LLC Branch in Poland.

Adres do korespondencji

*Paweł Łaguna
Katedra i Klinika Pediatrii,
Hematologii i Onkologii
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Żwirki i Wigury 63A, 02-109 Warszawa
tel.: +48 (22) 317-96-17
pawelaguna@onet.eu

Piśmiennictwo

1. Windyga J: Profilaktyka krwawień u chorych na hemofilię A powikłaną inhibitorem czynnika VIII. *Hematologia* 2011; 2(4): 311-317.
2. Łaguna P, Klukowska A: Postępowanie z dziećmi chorymi na hemofilię powikłaną inhibitorem. *Journal of Transfusion Medicine* 2017; 10(1): 12-18.
3. DiMichele DM, Hoots WK, Pipe SW et al.: International workshop on immune tolerance induction: consensus recommendations. *Haemophilia* 2007; 13 (suppl. 1): 1-22.
4. Astermark J, Altisent C, Batorova A et al.; European Haemophilia Therapy Standardisation Board: Non-genetic risk factors and the development of inhibitors in haemophilia: a comprehensive review and consensus report. *Haemophilia* 2010; 16(5): 747-766.
5. Santagostino E: More than a decade of international experience with a pdFVIII/VWF concentrate in immune tolerance. *Haemophilia* 2013; 19 (suppl. 1): 8-11.
6. Escuriola EC, Kreuz W: A review of immune tolerance induction with Haemate P in haemophilia A. *Haemophilia* 2014; 20(3): 333-339.
7. Kurth M, Puetz J, Kouides P et al.: The use of a single von Willebrand factor-containing, plasma-derived FVIII product in hemophilia A immune tolerance induction: the US experience. *J Thromb Haemost* 2011; 9(11): 2229-2234.
8. Israel EJ, Taylor S, Wu Z et al.: Expression of the neonatal Fc receptor, FcRn, on human intestinal epithelial cells. *Immunology* 1997; 92(1): 69-74.
9. Spiekermann GM, Finn PW, Ward ES et al.: Receptor-mediated immunoglobulin G transport across mucosal barriers in adult life: functional expression of FcRn in the mammalian lung. *J Exp Med* 2002; 196(3): 303-310.
10. Haymann JP, Levraud JP, Bouet S et al.: Characterization and localization of the neonatal Fc receptor in adult human kidney. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11(4): 632-639.
11. Antohe F, Rădulescu L, Gafencu A et al.: Expression of functionally active FcRn and the differentiated bidirectional transport of IgG in human placental endothelial cells. *Hum Immunol* 2001; 62(2): 93-105.
12. Ward ES, Zhou J, Ghetie V, Ober RJ: Evidence to support the cellular mechanism involved in serum IgG homeostasis in humans. *Int Immunol* 2003; 15(2): 187-195.
13. Ober RJ, Martinez C, Vaccaro C et al.: Visualizing the site and dynamics of IgG salvage by the MHC class I-related receptor, FcRn. *J Immunol* 2004; 172(4): 2021-2029.
14. McGarry T, Hough R, Rogers S, Rechsteiner M: Intracellular distribution and degradation of immunoglobulin G and immunoglobulin G fragments injected into HeLa cells. *J Cell Biol* 1983; 96(2): 338-346.
15. Schwab I, Nimmerjahn F: Intravenous immunoglobulin therapy: how does IgG modulate the immune system? *Nat Rev Immunol* 2013; 13(3): 176-189.
16. Levin D, Golding B, Strome SE, Sauna ZE: Fc fusion as a platform technology: potential for modulating immunogenicity. *Trends Biotechnol* 2015; 33(1): 27-34.
17. Negi VS, Elluru S, Sibénil S et al.: Intravenous immunoglobulin: an update on the clinical use and mechanisms of action. *J Clin Immunol* 2007; 27(3): 233-245.
18. Sondermann P, Pincetic A, Maamary J et al.: General mechanism for modulating immunoglobulin effector function. *PNAS* 2013; 110(24): 9868-9872.
19. De Groot AS, Moise L, McMurry JA et al.: Activation of natural regulatory T cells by IgG Fc-derived peptide "Tregitopes". *Blood* 2008; 112(8): 3303-3311.
20. Krishnamoorthy S, Liu T, Drager D et al.: Recombinant factor VIII Fc (rFVIII-Fc) fusion protein reduces immunogenicity and induces tolerance in hemophilia A mice. *Cell Immunol* 2016; 301: 30-39.
21. Groomes C, Gianferante D, Crouch G et al.: Brief report. Reduction of Factor VIII Inhibitor Titers During Immune Tolerance Induction With Recombinant Factor VIII-Fc Fusion Protein. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63: 922-924.
22. Malec LM, Journeycake J, Ragni MV: Extended half-life factor VIII for immune tolerance induction in haemophilia. *Haemophilia* 2016; 22(6): e552-e554.
23. Malec LM, Journeycake JM, Ragni MV: Durability of response of immune tolerance induction using extended half-life rFVIII-Fc. *ASH* 2016. Poster 3793.
24. Carcao M, Shapiro A, Staber JM et al.: Recombinant factor VIII Fc fusion protein for immune tolerance induction in patients with severe haemophilia A with inhibitors – A retrospective analysis. *Haemophilia* 2018; 24(2): 245-252.

25. Abraham A, Srivastava A: Immune tolerance induction using a recombinant FVIII_h (Eloctate): A report of early responses from India. *Haemophilia* 2018; 24 (suppl. 5): 46.
26. Swiech K, Picanço-Castro V, Covas DT: Human cells: new platform for recombinant therapeutic protein production. *Protein Expr Purif* 2012; 84(1): 147-153.
27. Peters RT, Low SC, Kamphaus GD et al.: Prolonged activity of factor IX as a monomeric Fc fusion protein. *Blood* 2010; 115(10): 2057-2064.
28. Ghaderi D, Zhang M, Hurtado-Ziola N, Varki A: Production platforms for biotherapeutic glycoproteins. Occurrence, impact, and challenges of non-human sialylation. *Biotechnol Genet Eng Rev* 2012; 28: 147-175.
29. Lu Q, Mei B, Peters RT: Detection of non-human sialic acid N-glycolylneuraminic acid in factor VIII products by ultra-performance liquid chromatography with fluorescent labelling. 24th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), 29 June-4 July 2013; Amsterdam, Netherlands. Poster PB 4.55-1.
30. Zhang M, Mezo A: Enzymatic release and detection of galactose-alpha-1,3-galactose (a-Gal) in recombinant FVIII products. *Haemophilia* 2012; 18 (suppl. 3): 105.
31. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03093480>.
32. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03103542>.

nadesłano: 9.07.2018

zaakceptowano do druku: 30.07.2018