

Стивен Пайп      Меня зовут доктор Стивен Пайп. Я детский гематолог и профессор педиатрии и патологии Мичиганского университета. Сегодня я расскажу вам об истории лечения гемофилии от нефакторной заместительной терапии до генной терапии.

Сегодня перед нами стоят задачи определить современные и новые подходы к лечению гемофилии, включая нефакторную заместительную терапию и генную терапию.

На этом слайде показана корреляция между степенью тяжести гемофилии, зависящей от эндогенного уровня фактора VIII у пациента, и риском кровоизлияний в полость сустава. Здесь показано, что именно пациенты, страдающие по-настоящему тяжелой формой гемофилии с активностью фактора VIII менее 1 %, более всего страдают от суставных кровоизлияний. Однако даже наличие минимального количества фактора VIII, всего лишь от 1–3 % остаточного фактора VIII, значительно облегчает течение заболевания, и мы наблюдаем сокращение среднегодового количества кровоизлияний в полость сустава.

Если эндогенный уровень фактора VIII пациента выше 5 %, кровоизлияния в полость сустава становятся довольно редким явлением, а при 12–15 % риск гемартроза исчезает практически полностью. Именно это наблюдение корреляции кровоизлияний в полость сустава с эндогенным уровнем фактора у пациентов фактически послужило толчком к идее профилактического лечения, согласно которой регулярная заместительная белковая терапия должна поддерживать уровни факторов выше этих критических порогов, что, как мы надеемся, поможет облегчить течение заболевания пациента.

На этом слайде мы можем видеть проблему, с которой сталкивается традиционная заместительная терапия факторами свертывания крови. В течение нескольких минут после инфузии фактор у пациента достигает пикового уровня. Но с каждой минутой после такой инфузии уровень фактора снижается в результате фармакокинетики замещения белка, будь то фактор VIII или фактор IX. Если говорить о типичном режиме профилактического лечения с введением препарата через день, то пациенты по-прежнему в течение значительного периода, особенно в часы, предшествующие введению следующей дозы, находятся в состоянии ниже критического уровня фактора VIII или фактора IX и подвержены риску прорывного кровотечения.

Нижняя половина графика отображает воздействие факторного препарата, обладающего фармакокинетическими свойствами с увеличенным периодом полувыведения. Опять же, несмотря на то что это улучшает фармакокинетику фактора, в зависимости от того, когда пациенту вводится следующая доза, фактор все-таки может



значительное количество времени оставаться на уровне ниже критического порога и соответственно пациент может быть подвержен риску прорывного кровотечения.

Если посмотреть на профилактическую терапию с фактором VIII, то здесь представлена сводка результатов перспективных данных, собранных в рамках фазы 3 исследований ряда препаратов фактора VIII со стандартным периодом полувыведения и препаратов с увеличенным периодом полувыведения. Если мы посмотрим на диапазон нормированных значений частоты кровотечений для стандартного фактора полувыведения VIIIc, то они колеблются от 1,6 до 8,5 в годовом исчислении, а если посмотрим на процент участников, которые смогли достичь нулевых значений за период наблюдения, они колеблются от чуть более 25 % до чуть более 60 %. Что касается исследований препаратов с расширенным периодом полувыведения, мы снова видим ежегодные показатели кровоизлияний в диапазоне от 2,9 до 4,7, а процент участников, достигших нулевого числа кровоизлияний, варьируется от 38 % до 45 %.

Каковы последствия того, что пациенты продолжают страдать от кровотечений, даже время от времени, при назначенной профилактической терапии? Вот данные, представленные клиникой НТС в Бонне, Германия. Здесь доктор Ольденбург схематично описывает отдаленные результаты, которые он наблюдал в своей клинике за последние 25–30 лет. Внизу — развитие по десятилетиям в группах пациентов, а в левой части графика, на вертикальной оси, — общие баллы, и рассматриваемые нами методы оценки включают клиническую оценку и рентгенологическую оценку. Чем меньше количество баллов, тем меньше признаков повреждения суставов.

В желтом поле отображается опыт раннего детства у пациентов, которым на ранних стадиях была назначена первичная профилактика. Здесь показано, что ниже произвольного значения в 2 балла, которое является маркером клинически значимого повреждения сустава, на самом деле каких-либо признаков значительного ухудшения состояния суставов у этих молодых людей нет. И если полагаться только на инструменты клинической оценки, то вплоть до второго и третьего десятилетий бывает довольно сложно получить какие-либо доказательства наличия у этих пациентов заболеваний суставов.

Однако при использовании более чувствительного инструмента радиологической оценки доктору Ольденбургу удалось продемонстрировать признаки повреждения суставов у этих пациентов. Следует иметь в виду, что эта группа пациентов в течение всего периода сбора данных проходила первичную профилактику, все это



говорит о том, что при нынешнем уровне профилактики, который получают пациенты, мы все еще сталкиваемся с риском прогрессирования заболеваний суставов.

Далее я представил некоторые этапы, которые мы прошли в лечении гемофилии. До появления заместительной терапии и вплоть до конца 1960-х годов у нас фактически не было доступных методов лечения больных гемофилией. Эпоха заместительной терапии началась с использования препаратов фактора, получаемых из плазмы, а затем со временем и рекомбинантных препаратов, которые стали доступны в 1990-е. Когда эти препараты было трудно получить, пациенты, как правило, получали лечение только по обращению. Это оказало влияние на клинические результаты пациентов, поскольку они могли лечиться в домашних условиях и довольно быстро самостоятельно справляться с кровотечением.

Профилактика, однако, дала возможность предотвращать кровоизлияния в суставы, и, мы надеемся, полностью избежать такого исхода. Первоначально она проводилась с использованием препаратов со стандартным периодом полувыведения, но рекомбинантный метод с применением биоинженерии позволил получить модифицированные рекомбинантные факторы свертывания с увеличенным периодом полувыведения.

Тот период, в который мы только что вступили, — это эпоха нефакторной заместительной терапии. Здесь мы больше полагаемся не на замену белка, а на несколько разных стратегий, которые не предусматривают замещение ни фактора VIII, ни фактора IX. Заместительная терапия основана на применении миметиков, которые замещают активность фактора свертывания крови VIII, и также есть ряд других веществ, которые воздействуют на естественные антикоагулянты системы гемостаза, пытаясь восстановить сбалансированность гемостатической системы.

Есть целый ряд различных стратегий, составляющих часть эпохи нефакторной заместительной терапии. К ним относятся: биспецифические антитела, которые функционируют в качестве заместительной терапии, небольшие интерферирующие молекулы РНК, которые способны разрушать природные антикоагулянты, ингибиторы моноклональных антител, которые могут воздействовать на природные антикоагулянты, и даже биоинженерные серпины могут оказывать влияние на балансировку гемостатического метаболизма. Все эти технологии находятся на разных стадиях клинической разработки.

Мы находимся на пороге потенциального применения генной терапии. Это будет определено замена белков, но не за счет внутривенных



инфузий, а скорее за счет их эндогенной выработки, либо путем добавления здоровой копии гена, путем добавления генов, или, возможно, с помощью редактирования генов, и даже с применением методов клеточной терапии.

На этом слайде представлены различные свойства доставки факторов, нефакторной доставки или генной терапии, о которых мы только что говорили. В нижней части слайда представлены уровни факторов, которые достигаются, когда пациенты находятся на регулярном профилактическом лечении. Вы видите типичные пики и падения, о которых мы говорили в начале этой презентации. При использовании препаратов с длительным периодом полувыведения они изменяют фармакокинетические свойства, и в некоторых случаях они могут позволить нам повысить минимальные уровни, фиксируемые у пациентов во время такой профилактики.

Однако при использовании нефакторной терапии не существует измеримого показателя, потому что мы не заменяем фактор белком, но тем не менее сохраняем гемостатический эффект на стабильном уровне при такой доставке. И, наконец, с помощью генной терапии мы получаем объединение обоих этих методов, когда мы достигаем доставки фактора пациенту на уровне устойчивого состояния, и это также оказывает стабильный гемостатический эффект.

Еще одним способом облегчить понимание нами некоторых из нефакторных заместительных методов лечения является использование такой аналогии баланса. При нормальном гемостатическом балансе, с одной стороны, у нас есть прокоагулянты, которые пытаются способствовать коагуляции, а с другой стороны, существуют и природные антикоагулянты, уравнивающие данную тенденцию. И в устойчивом состоянии мы имеем нормальный гемостатический баланс без слишком большого количества сгустков и без больших кровотечений. Однако при потере некоторых прокоагулянтов, например при дефиците фактора, природные антикоагулянты все еще присутствуют в полном объеме, и поэтому мы наблюдаем смещение этого баланса в сторону более обильных кровотечений, и это фенотип, который мы наблюдаем, например, при гемофилии.

То, что мы делали в течение последних нескольких десятилетий, это замена прокоагулянтов, которых в организме не хватает, для восстановления гемостаза. Таким образом, в случае гемофилии А или В мы можем заменить белки фактором VIII или фактором IX. Однако если использовать эти заместительные методы лечения нельзя, например, если у пациента выработался ингибитор, мы должны полагаться на



препараты шунтирующего действия. К ним относятся активированные концентраты протромбинового комплекса и рекомбинантный фактор VIIa.

Недавно в клиническую практику была введена заместительная терапия на основе эмицизумаба, который также действует как заместительная терапия для улучшения гемостаза путем управления коагуляцией. На этом слайде изображен механизм действия эмицизумаба. Итак, слева мы видим естественное состояние, когда фактор IXa в качестве протеазы находится в непосредственной близости от фактора X на поверхности фосфолипида. Что позволяет им вступить в контакт друг с другом при сборке этого комплекса, так это наличие кофактора, а именно фактора VIIIa, и фактор VIIIa в некоторых отношениях выступает в качестве инструмента, способствующего приведению фактора IXa в правильную ориентацию и приближению его к молекулам фактора X, так что реакция коагуляции может протекать с очень высокой скоростью.

Что же достигается заменой биспецифического антитела? Это биспецифическое антитело имеет одно плечо, сродное с фактором IXa, и другое плечо, сродное с фактором X. И поэтому в присутствии этого биспецифического антитела фактор IXa и фактор X снова могут оказаться в достаточно близком соседстве, что обеспечивает более эффективное протекание реакции свертывания.

Эмицизумаб представляет собой гуманизированное биспецифическое моноклональное антитело, которое связывает активированный фактор IX, фактор IXa и фактор X для восстановления функции отсутствующей молекулы фактора VIIIa. Он не имеет структурного сходства с фактором VIII, поэтому исключает индуцирование ингибиторов фактора VIII и не будет подвержен влиянию ингибиторов фактора VIII. Его преимущество заключается в очень длительном периоде полувыведения, поскольку это антитело, и оно может находиться в кровотоке приблизительно до 30 дней, и его также можно вводить подкожно, поскольку оно обладает очень высокой биодоступностью. В настоящее время этот препарат одобрен в нескольких странах для профилактического лечения с дозировкой один раз в неделю каждые две недели или каждые четыре недели у пациентов с гемофилией A всех возрастов, с ингибиторами и без ингибиторов.

В этой таблице приведены данные высокого уровня из программ клинических исследований эмицизумаба, осуществленных HAVEN. Первоначально исследование препарата проводилось на подростках мужского пола с ингибиторами фактора VIII, это было исследование HAVEN 1, и данные верхнего уровня здесь показывают, что у пациентов,



которым была назначена профилактика препаратом эмицизумаб, было отмечено 87%-е снижение количества случаев кровотечений по сравнению с теми, кто не получал эту профилактику. И если мы посмотрим на процент пациентов, которые достигли нулевого показателя кровотечений в течение всего периода наблюдения, то 63 % тех, кто получал еженедельную профилактическую дозу эмицизумаба, достигли нулевого показателя по кровотечениям, по сравнению только с 6 % из тех, кто не получал профилактического лечения. Если мы посмотрим на профилактику кровотечений эмицизумабом по сравнению с группой пациентов, которые ранее проходили профилактику с шунтирующими препаратами в неинвазивном исследовании, то те пациенты, которые получали еженедельную дозу эмицизумаба, демонстрируют снижение на 79 % по сравнению с теми, кто принимал профилактические препараты шунтирующего действия.

Так выглядела схема клинических исследований HAVEN 1. Пациенты становились участниками этого исследования либо после эпизодического применения шунтирующих препаратов, либо после профилактического лечения этими препаратами. Если они проходили эпизодическую терапию, проводилась рандомизация 2 : 1 — либо доза эмицизумаба еженедельно, либо без профилактической терапии. Те, кто был включен в исследование после профилактического лечения, непосредственно переводились на терапию эмицизумабом, а группа пациентов, которые проходили профилактическое лечение с применением препаратов шунтирующего действия, стали частью неинтервенционного исследования. Таким образом, это позволило провести сравнение, когда эти пациенты стали участвовать в исследовании и перешли на эмицизумаб; это стало ответвлением D этого исследования. Всем пациентам назначалась ударная доза 3 мг/кг в неделю в течение четырех недель, а затем поддерживающая доза 1,5 мг/кг в неделю

На этом слайде показаны результаты по всем исследовательским группам. Для пациентов группы А, которым была назначена профилактика эмицизумабом, случаи кровотечений выделены синим цветом, кровотечения у пациентов на шунтирующих препаратах — желтым цветом, случаи лечения при спонтанном кровотечении — красным и случаи лечения при кровоизлиянии в полость сустава — оранжевым цветом. Если сравнить эти показатели с группой В, которая не получала эмицизумаба, легко увидеть заметное улучшение у группы с профилактическим применением эмицизумаба. Группа С включает пациентов, уже участвовавших в исследовании при профилактике шунтирующими препаратами, у них сохранялся хороший контроль над кровотечениями, аналогично тем, кто перешел с лечения препаратами



шунтирующего действия по обращению на профилактику эмицизумабом.

На этом слайде показаны улучшения, которые наблюдались с использованием критерия оценки эффективности для здоровья Haem-A-QoL (индекс качества жизни при гемофилии), и у пациентов, получавших профилактику эмицизумабом, было отмечено значительное улучшение, и это особенно ярко проявлялось в общем физическом здоровье и самочувствии, а также в ряде других параметров, которые подробно описаны в таблице справа.

Успешный опыт наблюдений и исследований HAVEN 1 был продолжен и развит исследованием HAVEN 2, целью которого было изучение профилактики эмицизумаба у детей младше 12 лет. Здесь ежегодные показатели кровотечений у пациентов оказались близкими к нулю. В этом исследовании не было никакого основания для сравнения, потому что все пациенты были подвергнуты профилактической терапии, но если мы посмотрим на процент пациентов, которые достигли нулевого показателя кровотечений, то он составил 87 % при еженедельной профилактике, но так как были пациенты, которые ранее проходили профилактическое лечение препаратами шунтирующего действия, то это позволило провести некоторое сравнение, и у группы, получавшей лечение эмицизумабом, число кровотечений также уменьшилось на 99 %.

Теперь мы перейдем к исследованиям HAVEN 3, сфокусированным на воздействии эмицизумаба на подростков и мужчин, у которых отсутствуют ингибиторы фактора VIII. На этом слайде показана общая схема этого исследования. Пациенты могли становиться участниками программы после эпизодической терапии или после профилактики с заменой фактора VIII. Для тех, кто получал эпизодическое лечение, была применена рандомизация 2 : 2 : 1 — эмицизумаб еженедельно, эмицизумаб каждые две недели либо без профилактического лечения. Те из них, кто участвовал в испытаниях по профилактической терапии, перешли на эмицизумаб в еженедельной поддерживающей дозировке.

В верхней строке показано, что среднегодовая частота кровотечений оставалась все еще довольно низкой, со средним значением 1,5 и 1,3 при дозировке два раза в неделю или каждые две недели соответственно. По сравнению с пациентами, которые ранее не проходили профилактическое лечение фактором VIII, было отмечено снижение кровотечений на 96 % и 97 % при еженедельной дозе и при приеме каждые две недели в профилактических целях. Если мы посмотрим на процент пациентов, достигших нулевого числа кровотечений, он составил 56 % и 60 % при еженедельной дозе и при



приеме каждые две недели соответственно по сравнению с нулевым значением в группе, которая не получала профилактического лечения. У тех пациентов, которые участвовали в исследовании с профилактикой фактора VIII в анамнезе, при переходе на еженедельную профилактику эмицизумабом отмечалось снижение на 68 %.

С точки зрения безопасности, наиболее распространенными побочными реакциями были реакции в месте инъекции, головная боль и артралгия. Были отмечены некоторые существенные тромботические осложнения, как тромбоз эмболия, так и тромботическая микроангиопатия. Это наблюдалось только в исследовании HAVEN 1. Тромботическая микроангиопатия была отмечена у 0,8 % пациентов и у 8 % пациентов, которые получали по меньшей мере одну дозу активированных концентратов протромбинового комплекса. Тромботические явления отмечались у 0,5 % пациентов и у 5,4 % пациентов, которые получали по меньшей мере одну дозу активированных концентратов протромбинового комплекса.

При более глубоком изучении состояния этих пациентов выяснилось, что все пациенты, у которых имелись такие тромботические осложнения, использовали концентраты активированного комплекса протромбина в течение более 24 часов в дозах, превышающих 100 единиц на килограмм в сутки. Таким образом, на основании этого наблюдения была разработана стратегия снижения риска для всех других исследований HAVEN, которая позволила либо избегать использования активированных концентратов протромбинового комплекса, либо стремиться использовать дозировку и продолжительность ниже этих пороговых значений риска. После того как была внедрена такая политика снижения риска, у пациентов, которые придерживались указанного режима, больше не отмечалось никаких осложнений. Эти рекомендации были включены в инструкцию по применению препарата, чтобы пациенты приняли к сведению возможные взаимодействия, указанные выше.

Возвращаясь к нашей аналогии с балансом, на этом слайде мы снова представляем гемофильное заболевание, при котором наблюдается снижение уровня прокоагулянтов, но присутствие мощных природных антикоагулянтов способствует увеличению количества кровотечений в целом. Таким образом, у нас появляется другая возможность вмешаться в этот процесс: вместо того чтобы вводить прокоагулянты, мы могли бы каким-то образом удалить или ингибировать антикоагулянты на другой стороне этого баланса и, следовательно, восстановить нормальный гемостаз.



На этом слайде показан типичный вид системы коагуляции, направляемой от внешнего пути активации свертывания крови к образованию тромбина и, в конечном счете, к образованию фибрина, с петлей амплификации через внутренний путь коагуляции для усиления генерации тромбина. Каждый компонент этого пути имеет природный антикоагулянт, регулирующий гемостаз. Ингибитор пути тканевого фактора ослабляет внешний путь, антитромбин снижает активность фактора Ха и тромбина в общем пути, а активированный протеин С способствует ослаблению внутреннего пути снижая активность кофакторов – фактора VIIIa и фактора Va.

До сих пор мы говорили о том, что эмицизумаб может использоваться в качестве замены фактора VIIIa, но в настоящее время существуют программы клинических испытаний и в отношении других стратегий восстановления гемостаза, в которых изучаются методы, связанные с каждым из этих естественных антикоагулянтных путей. Фитусиран, о котором мы упоминали, представляет собой небольшую интерферирующую РНК, которая снижает уровень антитромбина с целью восстановить нормальный гемостаз. Были также разработаны моноклональные антитела, которые могут воздействовать на ингибитор пути тканевого фактора, и существует сериновая протеаза, которая была разработана биоинженерами для целевого воздействия на активированный протеин С.

Все это подводит нас к генной терапии как к следующей вехе в развитии лечения гемофилии, к которой мы сейчас переходим. Итак, концепция здесь заключается в том, что вместо решения проблем с заменой белка, с фармакокинетическими вызовами, о которых мы только что говорили, здесь вместо регулярной доставки белка мы собираемся доставлять терапевтические трансгены в орган-мишень, в данном случае печень. Эти трансгены должны быть упакованы в какое-то средство доставки. На сегодняшний день эту роль выполняют вирусные векторы, которые могут нести в себе эти терапевтические трансгены. Их и вводят пациенту. Вирусные векторы могут попадать в орган-мишень, например в печень, где они поглощаются отдельными гепатоцитами. Раскрытие вектора позволяет трансгену получить доступ к ядру клетки, где он и остается, и там он становится частью механизма здоровой клетки. Эта клетка начинает синтезировать фактор VIII или фактор IX, восстанавливающие гемостаз.

Существует также вероятность того, что клеточная терапия *ex vivo* также может быть использована в качестве способа лечения гемофилии, и эти методики также изучаются в некоторых инновационных клинических испытаниях.



Мы изучаем все эти новые парадигмы заместительной и гемостатической терапии. Каковы их преимущества и недостатки по сравнению с внедряемой в настоящее время генной терапией? Если говорить о плюсах, присущих заместительной терапии и гемостатической ребалансировке, то они включают: подкожное введение, низкую нагрузку для пациента, они позволяют пациентам добиться стабильного гемостаза, они могут применяться и у взрослых, и у детей, и они, как представляется, имеют хорошую эффективность как для пациентов с ингибиторами, так и без них.

Есть и некоторые минусы. Вполне вероятно, что эти методы лечения не позволяют достичь нормального гемостаза, но все-таки устраняют риск повторных кровотечений в полость сустава. Мы уже упомянули о том, что некоторые из них могут нести в себе риск тромбоза, и часто доступны стратегии снижения риска, которые должны использоваться для безопасного применения этих препаратов. У нас не было времени поговорить об этом сегодня, но эти новые методы лечения создают проблемы с тем, как именно мы оцениваем гемостатический эффект. У этих пациентов все-таки могут случаться прорывные кровотечения, поэтому им все еще должен быть обеспечен доступ к традиционной терапии для лечения прорывных кровотечений. И из-за необходимости регулярной профилактики с помощью этих методов лечения пациенты все еще несут существенные ежегодные расходы.

Если посмотреть на исследуемую в настоящее время генную терапию, то одно из ее преимуществ — это возможность лечения «раз и навсегда». По сравнению с регулярной профилактической терапией, в случаях когда осуществлена доставка генетического материала в клетки печени, мы можем ожидать, что пациенты будут продолжать экспрессировать соответствующий терапевтический белок в течение многих лет. Это должно привести к устойчивому гемостазу, и возможно, с помощью генной терапии мы не только сможем добиться лечебного эффекта, но мы даже сможем поддерживать пациентов в здоровом состоянии в течение долгого времени. И благодаря тому, что это лечение по принципу «раз и навсегда», оно является первой методикой, которая дает возможность экономии ежегодных затрат.

Но есть и много потенциальных минусов. Они рассматриваются в клинических испытаниях по генной терапии. Есть некоторые проблемы с правомочностью (пригодностью пациентов к участию в исследованиях). У нас пока нет методов лечения, которые мы можем предложить детям или пациентам с ингибиторами, и значительное количество пациентов не могут использовать эти методы лечения из-за имеющегося у них иммунитета к вирусным векторам. Данная терапия связана со многими известными и неизвестными рисками. Есть иммунологические



проблемы, есть проблемы, которые могут быть связаны с клеточным стрессом из-за сверхэкспрессии этих белков в клетке, и есть неизвестные риски, связанные с потенциально возможной интеграцией и генотоксичностью. Мы не уверены в долговечности этих методов лечения или в нашей способности повторно ввести генетический материал пациентам, если лечебный эффект предыдущей процедуры сойдет на нет по прошествии продолжительного периода времени. И почти наверняка эти методы лечения, вероятно, будут связаны с высокими первоначальными затратами, даже если они приведут к общей экономии средств в последующие годы.

