

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 09.02.2024
Принята к печати 01.03.2024



EDN: LKMDLC

Контактная информация:

Полетаев Александр Владимирович,
и. о. заведующего лабораторией
клинического гемостаза ФГБУ «НМИЦ
ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава
России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: poletaev_alexandr@mail.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-200-210

Современные аспекты диагностики гемофилии А

А.В. Полетаев¹, Е.А. Серёгина^{1,2}, П.А. Жарков¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН, Москва

В последние годы происходит стремительная эволюция лечения гемофилии А, появляется все больше препаратов как факторной, так и нефакторной терапии. Одной из важных проблем заместительной факторной терапии является относительно короткий период полувыведения фактора свертывания крови VIII (FVIII), составляющий в среднем 8–12 ч, что вынуждает пациентов, особенно детского возраста, вводить препарат достаточно часто (3–4 раза/нед), снижая качество жизни и приверженность к терапии. Появление рекомбинантных препаратов FVIII с увеличенным периодом полувыведения позволяет уменьшить количество инфузий, улучшая качество жизни пациентов без снижения безопасности и эффективности. Однако особенности структуры данных препаратов приводят к изменению результатов лабораторных исследований активности FVIII, проводимых для контроля эффективности терапии. В данной статье мы рассмотрим современные методы лабораторного контроля доступных на сегодняшний день препаратов с увеличенным периодом полужизни FVIII в России, оценим степень расхождения между одностадийным клоттинговым и хромогенным методами для каждого препарата, а также возможности лаборатории в мониторинге нефакторной и сочетанной терапии гемофилии А.

Ключевые слова: гемофилия А, фактор, заместительная терапия, диагностика

Полетаев А.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (1): 200–10. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-200-210

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 09.02.2024
Accepted 01.03.2024

Modern aspects of hemophilia A diagnosis

A.V. Poletaev¹, E.A. Seregina^{1,2}, P.A. Zharkov¹

¹The Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

The evolution of hemophilia treatment is rapidly developing. Both new factor replacement and non-factor therapy have appeared in recent years. One of the most important problems of factor replacement therapy is the relatively short half-life of coagulation factor VIII (FVIII), with an average of about 8–12 hours in adults, ranging in individual patients between 6 and 24 hours, and even shorter in younger children. This forces patients, especially children, to administer the drug quite often (3–4 times a week), reducing the quality of life and adherence to treatment. The appearance of recombinant FVIII products with an increased half-life allows to reduce the number of infusions per week, improving the quality of life of patients without compromising the safety and efficacy of treatment. However, the structure of these products leads to the changes in the results of laboratory tests of FVIII activity carried out to monitor the efficacy of treatment. In this article, we will consider the current methods of laboratory control of products with an increased half-life of FVIII currently available in Russia. We want to assess the discrepancy between the one-stage clotting method and chromogenic method for each FVIII product, as well as the laboratory's capabilities in monitoring non-factor and combined therapy for hemophilia A.

Key words: hemophilia A, coagulation factor, factor replacement therapy, diagnosis

Poletaev A.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (1): 200–10.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-1-200-210

Гемофилия А – наследственное X-сцепленное геморрагическое заболевание, обусловленное дефицитом фактора свертывания VIII (FVIII) [1]. FVIII представляет собой крупный белок свертывающей системы крови, циркулирующий в комплексе с фактором Виллебранда (vWF). vWF стабилизирует и защищает FVIII от протеолиза, облегчая доставку последнего к месту повреждения [2]. Определение активности FVIII крайне важно для постановки диагноза, так как степень тяжести заболевания устанавливается на основании активности FVIII у пациента [3]. В зависимости от тяжести заболевания пациент получает соответствующую терапию, для оценки эффективности которой также необходим лабораторный контроль. Как показывают исследования,

существуют индивидуальные различия в фармакокинетике концентратов факторов свертывания, и часть пациентов нуждаются в персонализированном подборе доз и кратности введений препарата, основанных на лабораторном контроле, для достижения отсутствия кровотечений [4, 5]. Фармакокинетический контроль также крайне полезен при проведении оперативных вмешательств у пациентов с гемофилией, что позволяет эффективно и экономно использовать концентраты факторов свертывания без увеличения риска развития кровотечений [6]. Появление концентратов с увеличенным периодом полувыведения в плазме позволило сократить количество введений в неделю, но вызвало ряд вопросов в выборе методов лабораторной диагностики данных

препаратов [7]. В 2018 г. в России был одобрен для применения у пациентов с гемофилией препарат нефакторной терапии – эмицизумаб, который представляет собой химерное биспецифическое моноклональное антитело, являющееся миметиком FVIII, связывающее между собой факторы IX (FIX) и X (FX), опосредуя активацию последнего. Эмицизумаб вводится подкожно, время полужизни составляет 4–5 нед, препарат не нейтрализуется антителами против FVIII [8]. Однако поскольку механизм действия эмицизумаба отличается от FVIII, имеет значение выбор лабораторной методики для контроля эффекта препарата и мониторинга активности эндогенного FVIII и титра ингибитора у пациентов [9]. В большинстве случаев рутинный мониторинг эмицизумаба не требуется, но существуют определенная категория пациентов и состояния, при которых лабораторный контроль может быть полезен: при хирургических вмешательствах, при применении комбинации препаратов, в том числе при назначении шунтирующей терапии, или при недостаточной клинической эффективности эмицизумаба [10]. Другие новые подходы к терапии пациентов с гемофилией – использование ребалансирующих препаратов – также представляют проблему для лабораторий, так как данная терапия направлена на изменение гемостатического баланса и повышение наработки тромбина за счет снижения активности естественных антикоагулянтов [11]. Таким образом, использование в лечении концентратов EHL и нефакторной терапии, а также сочетания препаратов требует четкого понимания возможностей различных лабораторных тестов в диагностике и терапевтическом

мониторинге пациентов, получающих ту или иную терапию.

Определение активности FVIII

Основными методиками, позволяющими определить уровень FVIII, являются одностадийный клоттинговый (ОКМ) и хромогенный (ХМ) методы (рисунки 1, 2). ОКМ является модификацией активированного частичного тромбопластного времени (АЧТВ) с добавлением субстратной дефицитной плазмы по FVIII. Различные реагенты теста АЧТВ обладают разной чувствительностью и специфичностью по определению FVIII [12]. ХМ не требует дефицитной плазмы для проведения анализа, он основан на генерации активированного FX, количество которого пропорционально количеству исследуемого фактора [13]. Обе методики могут быть использованы для диагностики, определения тяжести, оценки эффективности концентратов FVIII, в том числе и пролонгированного действия, однако полученные результаты могут различаться [14–16]. По данным европейской программы внешней оценки качества в области гемостаза, из 214 лабораторий-участниц 193 (90,2%) используют в своей практике ОКМ и лишь 13 (6,1%) – ХМ [17]. Таким образом, ОКМ является наиболее распространенным методом определения активности FVIII.

Одностадийный клоттинговый метод

Одноэтапный анализ активности FVIII (ОКМ) основан на тесте АЧТВ. АЧТВ является скрининговым

Рисунок 1

Принцип ОКМ определения активности FVIII (адаптировано из [18])

FXIa – активированный фактор свертывания XI; FIXa – активированный FIX; FVIIIa – активированный FVIII; FXa – активированный FX; FVa – активированный фактор свертывания V; FII – фактор свертывания II; ФЛ – фосфолипиды; CaCl₂ – хлорид кальция

Figure 1

Schematics of FVIII activity measurement in a one-stage clotting assay (OSA) (adapted from [18])

FXIa – activated factor XI; FIX – factor IX; FIXa – activated factor IX; FVIII – factor VIII; FVIIIa – activated FVIII; FX – factor X; FXa – activated FX; FVa – activated factor V; FII – factor II; PL – phospholipid; CaCl₂ – calcium chloride

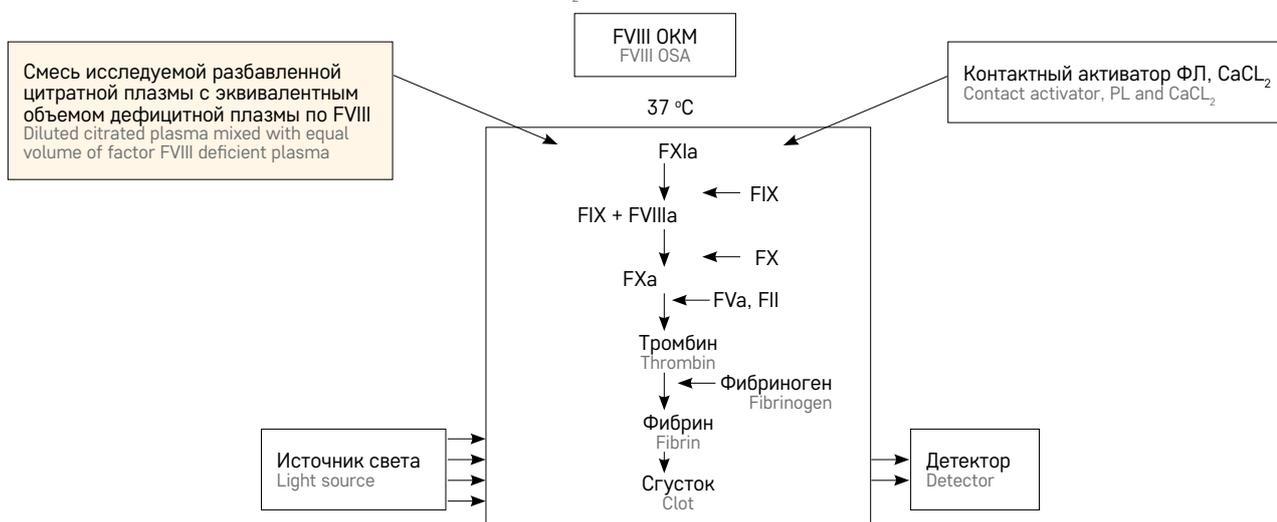
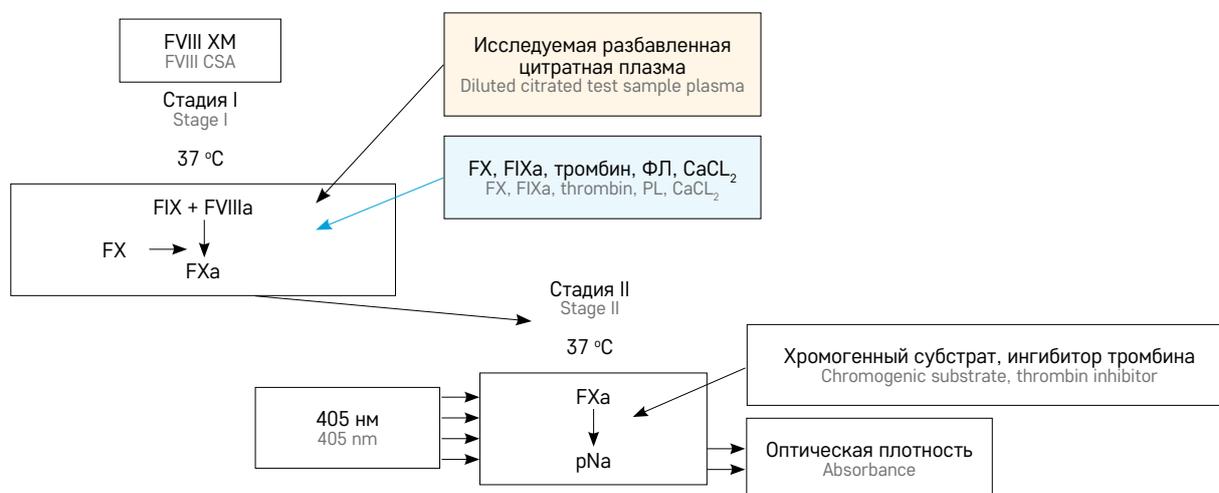


Рисунок 2
Принцип ХМ определения активности FVIII (адаптировано из [18])
pNA – паранитроанилин

Figure 2
Schematics of FVIII activity measurement in a chromogenic substrate assay (CSA) (adapted from [18])
pNA – para-nitroaniline



тестом для оценки внутреннего каскада свертывания, позволяет оценить наличие дефицита FVIII, FIX, FXI, FXII, а также присутствие специфических ингибиторов любого из факторов и неспецифических ингибиторов, таких как волчаночный антикоагулянт (ВА). До настоящего времени нет системы стандартизации теста АЧТВ, приборная и реагентная базы теста не позволяют сделать это. Поэтому рекомендуется пользоваться реактивами одного производителя в соответствии с используемым оборудованием [19]. В норме время свертывания в тесте АЧТВ составляет от 20 до 40 с, зависит от используемых наборов реагентов и удлиняется при снижении активности факторов внутреннего пути менее 30% [20]. Методология одностадийного анализа основана на смешивании плазмы пациента с плазмой, дефицитной по исследуемому фактору, с последующим определением времени свертывания смеси и аппроксимации полученного времени свертывания на калибровочную кривую. Дефицитная плазма является важнейшим компонентом одностадийного анализа, и результаты напрямую будут зависеть от качества последней [21].

Хромогенный метод

ХМ определения активности факторов (двухэтапный) может измерять активность FVIII, FIX [13, 22, 23]. На первом этапе плазма смешивается с активаторами (CaCl₂, тромбин, FIX), что приводит к наработке большого количества активного FXa, количество которого пропорционально уровню исследуемого фактора. После инкубации на втором этапе добавляется специфический хромогенный субстрат, который расщепляется активным FXa. ХМ не требует наличия дефицитной плазмы, менее подвержен

интерференции, на результат не влияет присутствие неспецифических ингибиторов (ВА) [24].

Выбор теста определения активности факторов

ОКМ является наиболее распространенным среди лабораторий как в России, так и за рубежом [17]. Преобладание ОКМ связано с различными факторами. Исторически ОКМ является базовым для многих лабораторий исследования гемостаза, и у специалистов лабораторной диагностики накопился колоссальный опыт постановки ОКМ как на автоматических, так и на полуавтоматических коагулометрах. Данный метод относительно дешев, доступен для выполнения в режиме 24/7, имеется опыт оценки полученных результатов клиницистами. ХМ многими воспринимается как более сложный и менее быстрый, на самом же деле современные наборы позволяют получать результаты примерно с одинаковыми временными затратами в сравнении с ОКМ. К несомненным преимуществам ХМ относится отсутствие чувствительности к эффекту ВА, что бывает весьма немаловажным [24]. Стоимость одного теста ХМ выше, чем стоимость ОКМ, однако рациональный подход лаборатории к планированию исследований путем замораживания и накопления проб пациентов с одномоментной периодической постановкой, или аликвотирование и замораживание реагентов, делает стоимость ОКМ и ХМ сопоставимой [25]. Британский комитет по стандартизации в гематологии, Всемирная федерация гемофилии и Северный совет по гемофилии рекомендуют использовать оба метода, в зависимости от диагностических возможностей лаборатории, для скрининга и диагностики нетяжелой гемофилии [26–28]. Российские клинические реко-

мендации по лечению гемофилии не акцентируют выбор методики для постановки диагноза, но для контроля терапии рекомендуют использовать анализ, утвержденный для каждого препарата [29]. Такой подход связан с различиями в рекомендациях по маркировке препаратов для заместительной терапии. Так, Европейская фармакопея рекомендует использование ХМ для препаратов FVIII, в то время как Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США – ОКМ [30, 31].

Различия в результатах одностадийного клоттингового и хромогенного методов

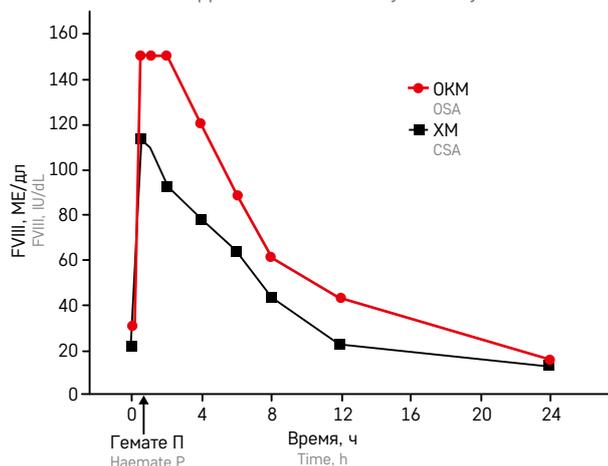
Анализы ОКМ и ХМ могут давать разные результаты активности FVIII для одного и того же образца. В большинстве случаев такая разница вызвана погрешностью между измерениями, основанными на разных реагентах. Это может свидетельствовать об аналитическом различии тестируемого образца и стандарта FVIII, когда образец представляет собой рекомбинантный препарат FVIII, а стандарт – лиофилизированную плазму. В таких случаях результаты анализов могут иметь значимые расхождения [32]. Такое расхождение мы наблюдали при исследовании фармакокинетики у пациента с тяжелой формой гемофилии А, который находился на индукции иммунной толерантности препаратом vWF + FVIII в соотношении 2,4:1 (рисунки 3).

Наибольшие различия наблюдались в первых 3 точках исследования, затем отмечалось постепенное уменьшение различий результатов ОКМ и ХМ по мере снижения концентрации препарата в крови пациента.

Рисунок 3
Активность FVIII до и после инфузии пациенту с гемофилией А препарата vWF + FVIII в соотношении 2,4:1

Активность 150% в первых 3 точках после инъекции препарата обусловлена верхней границей линейности теста

Figure 3
FVIII activity before and after the injection of von Willebrand factor + FVIII replacement product (ratio 2.4:1) in a patient with hemophilia A
FVIII activity level of 150% at the first 3 points after the injection is associated with the upper limit of the assay linearity



Учитывая распространенность, ОКМ используется для диагностики гемофилии в большинстве случаев, однако по результатам множества исследований Испании, Дании, Франции, Великобритании и Германии показана целесообразность применения обоих методов. Так, расхождение между результатами ОКМ и ХМ составило 10–51% у пациентов с нетяжелой гемофилией. Учитывая зависимость тяжести заболевания от степени глубины дефицита FVIII, такое расхождение может быть критически важным [33]. Различия в результатах ОКМ и ХМ могут быть разнонаправленными. В некоторых случаях отмечаются более высокие результаты активности FVIII в ОКМ по сравнению с ХМ. Возможно, это связано с определенными мутациями FVIII, при которых образующийся активный гетеротример является нестабильным и быстро диссоциирует, уменьшая количество образованного активного FVIII. Длительность инкубации в ХМ значительно больше, чем в ОКМ (10–12 мин в ХМ против 3 мин в ОКМ), что и является причиной снижения активности в ХМ по сравнению с ОКМ [34]. В другом случае наблюдаются более высокие результаты в тесте ХМ по сравнению с ОКМ и вызваны мутациями в сайтах связывания тромбина или активного FIXa. При данных типах мутаций более длительная инкубация ХМ и супрафизиологические концентрации активаторов приводят к получению более высоких результатов активности по сравнению с ОКМ [35]. В данном случае клинический фенотип обычно соотносится с более низкими уровнями активности.

Тест генерации тромбина

Автоматический тест генерации тромбина (ТГТ) был разработан Hemker и соавт. в 2003 г. и достаточно активно используется за рубежом как в научной, так и в клинической практике [36, 37]. Использование ТГТ позволяет оценить баланс системы гемостаза в целом. Метод основан на активации тромбина тканевым фактором в присутствии кальция и фосфолипидов и измерении протеолитической активности тромбина на добавленном флуоресцентном субстрате [38]. В ТГТ обычно используются 4 основных параметра: время задержки, время достижения пика тромбина, максимальная амплитуда генерации тромбина и эндогенный тромбиновый потенциал [36]. Еще один дополнительный параметр, скорость генерации тромбина, позволяет оценить выработку достаточного количества тромбина за короткий промежуток времени. Предполагается, что данный параметр лучше коррелирует с активностью FVIII и более полезен в клинической практике [39].

Количество добавляемого тканевого фактора может варьировать в достаточно широких пределах и зависит от поставленной задачи. Так, низкие

концентрации (< 1 мкМоль) больше подходят для низких уровней фактора и обычно используются в отдельных центрах для контроля лечения концентрациями факторов, шунтирующей терапии [40]. Высокие концентрации тканевого фактора могут приводить к истощению субстрата, особенно в сочетании с шунтирующими препаратами (ШП) [41, 42]. Для постановки исследования ТГТ возможно использование бедной и обогащенной тромбоцитами плазмы. Чаще всего используется бедная тромбоцитами плазма ввиду возможности ее замораживания и постановки большего количества образцов за раз, что сильно экономит реагенты и время. Однако результаты определения ТГТ в обогащенной тромбоцитами плазме демонстрируют более реалистичные данные, так как тромбоциты также являются важным звеном в осуществлении реакций системы гемостаза [43].

Тромбоэластография/тромбоэластометрия

Метод тромбоэластографии (ТЭГ) относится к глобальным методам оценки гемостаза и впервые описан в 1938 г. Hartret [44]. Метод позволяет оценивать процессы образования и лизиса сгустка посредством измерения вязкоупругих свойств цельной крови [45, 46]. На сегодняшний день существуют 2 современные модификации – TEG и ROTEM, которые позволяют получать результаты, отображающие инициацию, распространение, стабилизацию и в определенных случаях лизис сгустка [47]. Параметры, получаемые с помощью обоих приборов, считаются сопоставимыми, хотя и не взаимозаменяемыми напрямую. Существует несколько вариантов постановки исследования: нативная в цитратной крови без добавления активатора; с активацией внутреннего пути каолином (TEG) или эллаговой кислотой (ROTEM); с активацией внешнего пути

только для ROTEM, тогда как у TEG существует модификация RapidTEG с одновременной активацией каолином, так и тканевым фактором [47]. На данный момент комитет по стандартизации SSC Международного общества по тромбозу и гемостазу рекомендует использовать методики с активацией внутреннего пути для рутинного клинического применения [48].

Влияние препаратов пролонгированного действия на лабораторные тесты

Известной проблемой заместительной терапии гемофилии является короткий период полувыведения FVIII, который варьирует от 8 до 12 ч. Для увеличения времени полувыведения FVIII и, как следствие, для уменьшения количества введений препарата были разработаны новые концентраты с увеличенным периодом полувыведения. Текущие препараты пролонгированного действия имеют значительные изменения молекулы FVIII, которые включают ковалентное присоединение фактора свертывания к полиэтиленгликолю (пегилирование) для уменьшения взаимодействия с рецептором клиренса; интеграцию фактора свертывания с фрагментом Fc молекулы IgG1 для снижения лизосомальной деградации и замедления клиренса; связывание фактора с рекомбинантным альбумином; одноцепочечную технологию для повышения стабильности молекулы [49, 50].

Доступные для пациентов на текущий момент на территории Российской Федерации препараты пролонгированного действия представлены в таблице.

Единственным доступным для лекарственного обеспечения в рамках программы высокочрезвычайных нозологий на территории нашей страны концентратом пролонгированного действия является эфмороктоког альфа. Измерение активности концентратов пролон-

Таблица

Препараты пролонгированного действия и препараты с увеличенным периодом полувыведения, доступные в Российской Федерации [51–54]

Table

Long-acting and extended half-life products available in the Russian Federation [51–54]

Препарат Product	Особенности молекулы Features of the molecule	Коммерческое название Trade name	Период полувыведения в зависимости от возраста пациента, ч Half-life depending on the patient's age, hours			
			< 6 лет < 6 years	6–12 лет 6–12 years	12–18 лет 12–18 years	Взрослые Adults
Эфмороктоког альфа Efmorotocog alfa	Рекомбинантный FVIII с усеченным В-доменом, ковалентно связанный с Fc-доменом человеческого IgG1 B domain truncated recombinant FVIII covalently linked to the Fc domain of human IgG1	Элоктейт® Eloctate®	12,3** 14,3***	13,5** 15,9***	16** 17,5**	19** 20,9***
Руриоктоког альфа пэгол Ruriotocog alfa pegol	Пэгилированная форма рекомбинантного FVIII Pegylated form of recombinant FVIII	Аденовейт® Adynovate®	12,99***	11,93***	13,8***	15,01***
Симоктоког альфа* Simotocog alfa*	FVIII человеческий рекомбинантный Recombinant human FVIII	Нувиқ® Nuwiq®	11,9** 9,5***	13,1** 10***	17,1** 14,7***	
Лоноктоког альфа* Lonoctocog alfa*	Одноцепочечный рекомбинантный FVIII Single-chain recombinant FVIII	Афстила® Afstyla®	10,4***	10,2***	14,3***	14,2***

Примечание. * – лоноктоког альфа и симоктоког альфа не отвечают критериям пролонгированных препаратов и являются препаратами с увеличенным периодом полувыведения за счет свойств молекулы FVIII; ** – период полувыведения препарата при использовании ОКМ; *** – период полувыведения препарата при использовании ХМ.

Note. * – lonoctocog alfa and simotocog alfa do not meet the criteria of long-acting products and are products with an extended half-life due to the properties of the FVIII molecule; ** – half-life of a product measured using the OSA; *** – half-life of a product measured using the CSA.

гированного действия в плазме обычно дает значения активности, измеренной ОКМ, на 20–60% ниже активности, полученной ХМ. Причем эта разница в активности варьирует в зависимости от типа молекулы. В исследовании Lancellotti и соавт. при сравнении результатов 3 вариантов тест-систем ОКМ и 2 вариантов ХМ было показано, что наилучшей чувствительностью к определению различных концентраций препаратов обладают методики, калиброванные с использованием концентратов пролонгированного действия FVIII. Если использовать стандартные калибровки на плазматическом FVIII, результаты варьируют для разных препаратов. Так, эфмороктоког альфа продемонстрировал правильное измерение только ОКМ с эллаговой кислотой. Наиболее распространенный вариант теста с кварцевым активатором продемонстрировал значительное завышение результатов. В случае с ХМ эфмороктоког альфа продемонстрировал разнонаправленные результаты для разных концентраций. Измеренная активность FVIII в образцах с добавлением руриоктокога альфа соответствовала ожидаемой активности для всех методов, за исключением ОКМ с эллаговой кислотой, который значительно снизил полученные результаты во всех концентрациях. Для туроктокога альфа расхождения активности наблюдались для ОКМ с эллаговой кислотой и для обоих тестов ХМ [55]. В исследовании Ketteler и соавт. при использовании ОКМ измеренная активность FVIII была близка к расчетной активности для большинства препаратов пролонгированного действия, за исключением лоноктокога альфа, для которого выявлено значительное снижение активности при использовании ОКМ. Однако при сравнении 2 методик также были выявлены расхождения в результатах для всех исследуемых концентратов [56]. Учитывая накопленный опыт применения препаратов пролонгированного действия, Центр гемофилии Соединенного Королевства представил руководство по лабораторному мониторингу заместительной терапии при гемофилии. В данном руководстве представлены рекомендуемые методики для различных препаратов, а также те наборы и методы, от использования которых лучше воздержаться. Для большинства препаратов возможно использование 2 методик, самым универсальным в плане выбора реагентов для ОКМ является эфмороктоког альфа, для остальных препаратов есть ограничения. Для лоноктокога альфа использование ОКМ изначально не рекомендуется, но в случае отсутствия ХМ в лаборатории необходимо умножить результат на коэффициент 2 для получения истинного уровня FVIII у пациента [57]. Использование глобальных тестов гемостаза для оценки эффективности заместительной терапии концентратами факторов свертывания активно применяется зарубежными специалистами вслед-

ствие большей доступности методик, в частности ТГТ. Большое количество исследований продемонстрировали сильную корреляционную зависимость между активностью FVIII и параметрами ТГТ [40, 41, 58, 59]. Исследователи отмечали значительную вариабельность в результатах между пациентами после инфузии стандартных доз препаратов FVIII, что обусловлено, скорее всего, индивидуальными особенностями биохимии свертывания каждого конкретного пациента [59]. Исследование van Veen и соавт. продемонстрировало, что некоторые пациенты могут генерировать нормальный уровень тромбина при снижении активности FVIII, тогда как другие имеют снижение генерации тромбина при нормальных значениях FVIII [41]. Схожие результаты были получены при использовании ТЭГ, которые показали, что пациенты с тяжелой формой гемофилии А имеют разный клинический фенотип, коррелирующий с параметрами ТЭГ. Пациенты с легким фенотипом и отсутствием гемартрозов в анамнезе имели лучшие параметры образования сгустка по сравнению с пациентами с более тяжелым фенотипом [60]. Обе методики могут быть полезны в оценке эффективности заместительной терапии в сложных клинических случаях, при необходимости индивидуального подбора доз концентрата.

Нефакторная терапия

Появление эмицизумаба произвело настоящую революцию в лечении тяжелой гемофилии А, особенно ингибиторной формы [61]. Но в то же время поставило новые задачи перед лабораторией – встал вопрос о необходимости контроля эмицизумаба у определенных групп пациентов и выбора лабораторных тестов [10]. В 2022 г. Совет экспертов России опубликовал методические рекомендации по ведению больных гемофилией А, получающих эмицизумаб. Согласно рекомендациям, лабораторный мониторинг концентрации эмицизумаба для контроля эффективности или рутинного решения вопроса о лечебной тактике при развитии кровотечения не требуется. Эффективность терапии оценивается только на основании клинической картины. При появлении у пациента спонтанных кровотечений и нарастании их частоты рекомендуется измерить АЧТВ, при удлинении рекомендуется обратиться в экспертные центры по лечению гемофилии для принятия решения по дальнейшей тактике терапии [62]. Это обусловлено тем, что рутинные тесты, такие как АЧТВ, активность FVIII и титр ингибитора FVIII, оказались неинформативными для контроля за этими пациентами из-за особенности действия эмицизумаба, который не нуждается в генерации тромбина для связывания с FIX и FX. Это приводит к укорочению времени АЧТВ и значительному завышению актив-

ности FVIII, измеренной ОКМ [9, 63]. На сегодняшний день единственная методика, позволяющая оценить концентрацию эмицизумаба, – модифицированный ОКМ, откалиброванный с помощью эмицизумаба [64]. Данная методика позволяет оценить, находится ли концентрация препарата в крови пациента в пределах диапазона клинической эффективности эмицизумаба (30–70 мкг/мл) [65]. При необходимости оценки собственной активности FVIII и титра ингибитора необходимо использовать ХМ с бычьими компонентами, которые нечувствительны к эффекту эмицизумаба [9]. Наиболее оптимальной стратегией лабораторной диагностики считается использование ХМ с бычьими компонентами и модифицированного ОКМ [66]. Однако данная стратегия актуальна только при монотерапии эмицизумабом, в случае назначения пациенту концентратов факторов свертывания (при травме, оперативном вмешательстве) результаты лабораторных тестов будут искажаться [9, 67]. В таком случае более предпочтительным будет использование глобальных тестов гемостаза, ТГТ и ТЭГ, которые позволяют оценить общий гемостатический потенциал крови [63]. Использование ТГТ при монотерапии эмицизумабом не совсем информативно, так как уровень генерации тромбина у пациентов с гемофилией А соответствовал уровню эквивалентной активности FVIII 10–40%, и, хотя концентрация эмицизумаба имела линейную корреляцию с уровнем вырабатываемого тромбина, во многих исследованиях показано отсутствие разницы ТГТ в группах пациентов с кровоточивостью и без [10, 68, 69].

Применение эмицизумаба и препаратов шунтирующего действия

Первое применение эмицизумаба было одобрено у пациентов с ингибиторной формой гемофилии, контроль терапии которых и так был не совсем решенной проблемой вследствие сложности лабораторного мониторинга ШП. Стандартные клоттинговые тесты меняются под действием ШП, однако изменения часто не коррелируют с гемостатическим эффектом [70–72]. Наиболее подходящими для контроля оказались глобальные тесты, позволяя даже титровать дозу препарата во время операции, что минимизирует риски развития нежелательных явлений, с одной стороны, и экономит расход дорогостоящего препарата – с другой [73, 74]. Использование концентратов FVIII и ШП на фоне применения эмицизумаба у пациентов с ингибиторной формой гемофилии А необходимо при развитии кровотечений или в качестве дополнительной профилактики при оперативных вмешательствах [62]. При введении FVIII обладает большим сродством к FIX/FX, что обуславливает отсутствие дополнительного гемостатического эффекта [75]. Для пациентов с ингибиторной

формой гемофилии препаратом первой линии является активированный рекомбинантный фактор свертывания VII (rFVIIa), оценка эффективности основывается на клинической картине [62]. Было показано, что применение максимально возможных доз rFVIIa не приводит к увеличению генерации тромбина выше нормальных значений [76]. В случае сохранения признаков кровотечения рекомендуется использование препарата второй линии – активированного концентрата протромбинового комплекса (АКПК) в дозировке < 50 Ед/кг/раз и < 100 Ед/кг/сут, так как даже доза 25 Ед/кг вызывала повышение уровня тромбинового потенциала выше нормальных значений в несколько раз [62, 77]. Использование высоких доз АКПК (> 100 ед/кг/сут) может привести к развитию тромботических осложнений у пациентов [78]. Hartman и соавт. продемонстрировали, что значительное усиление свертывания на фоне введения АКПК связано с наличием в последнем FIX и FX, которые усиливают синергетический эффект эмицизумаба [79]. В зарубежной литературе достаточно работ, посвященных контролю сочетанной терапии с помощью ТГТ, которые и позволили определить максимально допустимую дозу АКПК у пациентов, получавших эмицизумаб, без риска развития тромботических осложнений [80, 81]. Параметры ТЭГ у пациентов стремились к нормальным значениям уже спустя неделю от первого введения [82]. Дополнительное введение rFVIIa не вносило существенных изменений в параметры ТЭГ, тогда как использование даже небольших доз АКПК приводило к резкому укорочению времени свертывания в тромбоэластометрии [83].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на стремительное развитие и распространение препаратов нефакторной терапии для лечения гемофилии, заместительная терапия концентратами факторов свертывания является актуальной и перспективной. Препараты пролонгированного действия являются предпочтительными, так как снижение количества инфузий в неделю значительно повышает приверженность пациентов к лечению, улучшает качество их жизни без повышения риска развития жизнеугрожающих кровотечений. Для осуществления лабораторного контроля препаратов пролонгированного действия хромогенные анализы являются более предпочтительными, но возможно использование одностадийного метода при условии использования калибровочной кривой для конкретного препарата. При этом наиболее универсальным в плане выбора метода определения активности FVIII является препарат эфмороктоког альфа. В сложных клинических ситуациях возможно использование ТГТ

и ТЭГ как дополнительных методик оценки эффективности терапии. Для лабораторного контроля эмицизумаба необходимо использовать модифицированный ОКМ со специальным калибратором или ХМ с человеческими реагентами. Определение собственной активности FVIII и титра ингибитора у пациентов, находящихся на терапии эмицизумабом, возможно с помощью ХМ с бычьими компонентами. Использование стандартного ОКМ определения активности FVIII в присутствии эмицизумаба недопустимо. Для контроля новой ребалансирующей и сочетанной факторной/терапии ШП и нефакторной терапии возможно использование глобальных тестов гемостаза – ТЭГ или ТГТ, однако четкие рекомендации по использованию данных тестов отсутствуют.

Необходимы дальнейшие исследования для оптимизации и стандартизации лабораторных анализов для правильного измерения и контроля современной терапии пациентов с гемофилией.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Poletaev A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5209-2099>

Seregina E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7534-3863>

Zharkov P.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

Литература

1. Румянцев А.Г., Масчан А.А., Вдовин В.В., Свиринов П.В. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению детей с гемофилией А, гемофилией В и болезнью Виллебранда. М.; 2015. [Rumyantsev A.G., Maschan A.A., Vdovin V.V., Svirin P.V. Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of children with hemophilia A, hemophilia B and von Willebrand disease. Moscow; 2015. (In Russ.)].
2. Terraube V., O'Donnell J.S., Jenkins P.V. Factor VIII and von Willebrand factor interaction: biological, clinical and therapeutic importance. *Haemophilia* 2010; 16 (1): 3–13.
3. Srivastava A., Santagostino E., Duggall A., Kitchen S., Sutherland M., Pipe S.W., et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia* 2020; 26 Suppl 6: 1–158.
4. Björkman S., Folkesson A., Jönsson S. Pharmacokinetics and dose requirements of factor VIII over the age range 3–74 years: A population analysis based on 50 patients with long-term prophylactic treatment for haemophilia A. *Eur J Clin Pharmacol* 2009; 65 (10): 989–98.
5. Björkman S., Blanchette V.S., Fischer K., Oh M., Spotts G., Schroth P., et al. Comparative pharmacokinetics of plasma- and albumin-free recombinant factor VIII in children and adults: the influence of blood sampling schedule on observed age-related differences and implications for dose tailoring. *J Thromb Haemost* 2010; 8 (4): 730–6.
6. Калинина М.П., Пшонкин А.В., Грачёв Н.С., Полетаев А.В., Федорова Д.В., Жарков П.А. Псевдоопухоль верхней челюсти у ребенка первого года жизни как первое проявление гемофилии В. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2021; 20 (1): 156–9. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-156-159 [Kalinina M.P., Pshonkin A.V., Grachev N.S., Poletaev A.V., Fedorova D.V., Zharkov P.A. Pseudotumor of the maxilla as first presentation of hemophilia B in a 1-year-old male. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2021; 20 (1): 156–9. (In Russ.)].
7. Collins P., Chalmers E., Choudhary P., Keeling D., Mathias M., O'Donnell J., et al. The use of enhanced half-life coagulation factor concentrates in routine clinical practice: guidance from UKHCDO. *Haemophilia* 2016; 22 (4): 487–98.
8. 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.
9. Adamkewicz J.I., Chen D.C., Paz-Priel I. Effects and Interferences of Emicizumab, a Humanised Bispecific Antibody Mimicking Activated Factor VIII Cofactor Function, on Coagulation Assays. *Thromb Haemost* 2019; 119 (7): 1084–93.
10. Barg A.A., Budnik I., Avishai E., Brutman-Barazani T., Bashari D., Misgav M., et al. Emicizumab prophylaxis: Prospective longitudinal real-world follow-up and monitoring. *Haemophilia* 2021; 27 (3): 383–91.
11. Machin N., Ragni M.V. An investigational RNAi therapeutic targeting antithrombin for the treatment of hemophilia A and B. *J Blood Med* 2018; 9: 135–40.
12. Toulon P., Eloit Y., Smahi M., Sigaud C., Jambou D., Fischer F., et al. *In vitro* sensitivity of different activated partial thromboplastin time reagents to mild clotting factor deficiencies. *Int J Lab Hematol* 2016; 38 (4): 389–96.
13. Moser K.A., Adcock Funk D.M. Chromogenic factor VIII activity assay. *Am J Hematol* 2014; 89 (7): 781–4.
14. Cid A.R., Calabuig M., Cortina V., Casaña P., Haya S., Moret A., et al. One-stage and chromogenic FVIII:C assay discrepancy in mild haemo-

- philia A and the relationship with the mutation and bleeding phenotype. *Haemophilia* 2008; 14 (5): 1049–54.
15. Bowyer A.E., Van Veen J.J., Goodeve A.C., Kitchen S., Makris M. Specific and global coagulation assays in the diagnosis of discrepant mild hemophilia A. *Haematologica* 2013; 98 (12): 1980–7.
 16. Trossaert M., Boisseau P., Quemener A., Sigaud M., Fouassier M., Ternisien C., et al. Prevalence, biological phenotype and genotype in moderate/mild hemophilia A with discrepancy between one-stage and chromogenic factor VIII activity. *J Thromb Haemost* 2011; 9 (3): 524–30.
 17. Potgieter J.J., Damgaard M., Hillarp A. One-stage vs. chromogenic assays in haemophilia A. *Eur J Haematol* 2015; 94 Suppl 77: 38–44.
 18. Emicizumab and the Clinical Coagulation Laboratory. American Society of Chemistry and Laboratory Science; 2020.
 19. Долгов В.В., Свирип П.В., Вавилова Т.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. Учебно-методическое пособие. М; 2019. [Dolgov V.V., Svirin P.V., Vavilova T.V. Laboratory diagnosis of hemostasis disorders. Educational guide. Moscow; 2019. (In Russ.)].
 20. CLSI. One-stage prothrombin time (PT) test and activated partial thromboplastin time (APTT) test: approved guideline (H47-A2). Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008
 21. Bolton-Maggs P.H.B., Favaloro E.J., Hillarp A., Jennings I., Kohler H.P. Difficulties and pitfalls in the laboratory diagnosis of bleeding disorders. *Haemophilia* 2012; 18 Suppl 4: 66–72.
 22. Castellone D.D., Adcock D.M. Factor VIII Activity and Inhibitor Assays in the Diagnosis and Treatment of Hemophilia A. *Semin Thromb Hemost* 2017; 43 (3): 320–30.
 23. Kitchen S. Assay of factor VIII and other clotting factors. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis*. 2nd ed. 2013.
 24. Tripodi A., Chantarangkul V., Novembrino C., Peyvandi F. Advances in the Treatment of Hemophilia: Implications for Laboratory Testing. *Clin Chem* 2019; 65 (2): 254–62.
 25. Kitchen S., Blakemore J., Friedman K.D., Hart D.P., Ko R.H., Perry D., et al. A computer-based model to assess costs associated with the use of factor VIII and factor IX one-stage and chromogenic activity assays. *J Thromb Haemost* 2016; 14 (4): 757–64.
 26. Mackie I., Cooper P., Lawrie A., Kitchen S., Gray E., Laffan M., et al. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol* 2013; 35 (1): 1–13.
 27. Nordic Hemophilia Guidelines. Nordic Hemophilia Council Guideline Working Group (Version 1). 2015.
 28. Kitchen S., McCraw A., Echenagucia M. Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders - A Laboratory Manual. World Federation of Hemophilia (WFH). 2nd ed. Montréal, Québec, Canada; 2010.
 29. Зозуля Н.И., Аль-Ради Л.С., Андреева Т.А., Галстян Г.М., Жарков П.А., Мамаев А.Н. и др. Российские клинические рекомендации по лечению гемофилии. М.; 2023. [Zozulya N.I., Al-Radi L.S., Andreeva T.A., Galstyan G.M., Zharkov P.A., Mamaev A.N., et al. Russian clinical guidelines for the treatment of hemophilia. Moscow; 2023. (In Russ.)].
 30. European Pharmacopoeia. 8th ed. (8.8). 2019.
 31. Peyvandi F., Oldenburg J., Friedman K.D. A critical appraisal of one-stage and chromogenic assays of factor VIII activity. *J Thromb Haemost* 2016; 14 (2): 248–61.
 32. Sarafanov A.G. Plasma Clearance of Coagulation Factor VIII and Extension of Its Half-Life for the Therapy of Hemophilia A: A Critical Review of the Current State of Research and Practice. *Int J Mol Sci* 2023; 24 (10): 8584.
 33. Bowyer A.E., Van Veen J.J., Goodeve A.C., Kitchen S., Makris M. Specific and global coagulation assays in the diagnosis of discrepant mild hemophilia A. *Haematologica* 2013; 98 (12): 1980–7.
 34. Duncan E., Rodgers S., McRae S. Diagnostic Testing for Mild Hemophilia A in Patients with Discrepant One-Stage, Two-Stage, and Chromogenic Factor VIII:C Assays. *Semin Thromb Hemost* 2013; 39 (3): 272–82.
 35. Mumford A.D., Laffan M., O'Donnell J., McVey J.H., Johnson D.J.D., Manning R.A., et al. A Tyr346→Cys substitution in the interdomain acidic region a1 of factor VIII in an individual with factor VIII:C assay discrepancy. *Br J Haematol* 2002; 118 (2): 589–94.
 36. Hemker H.C., Giesen P., Al Dieri R., Regnault V., De Smedt E., Wagenvoort R., et al. Calibrated Automated Thrombin Generation Measurement in Clotting Plasma. *Pathophysiol Haemos Thromb* 2003; 33 (1): 4–15.
 37. Young G., Sørensen B., Dargaud Y., Negrier C., Brummel-Ziedins K., Key N.S. Thrombin generation and whole blood viscoelastic assays in the management of hemophilia: current state of art and future perspectives. *Blood* 2013; 121 (11): 1944–50.
 38. Hemker H.C., Giesen P.L., Ramjee M., Wagenvoort R., Béguin S. The thrombogram: monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma. *Thromb Haemost* 2000; 83 (4): 589–91.
 39. Takeyama M., Nogami K., Shima M. A new parameter in the thrombin generation assay, mean velocity to peak thrombin, reflects factor VIII activity in patients with haemophilia A. *Haemophilia* 2016; 22 (5): e474–7.
 40. Dargaud Y., Béguin S., Lienhart A., Al Dieri R., Trzeciak C., Bordet J., et al. Evaluation of thrombin generating capacity in plasma from patients with haemophilia A and B. *Thromb Haemost* 2005; 93 (3): 475–80.

41. van Veen J.J., Gatt A., Bowyer A.E., Cooper P.C., Kitchen S., Makris M. Calibrated automated thrombin generation and modified thromboelastometry in haemophilia A. *Thromb Res* 2009; 123 (6): 895–901.
42. van Veen J.J., Gatt A., Bowyer A.E., Cooper P.C., Kitchen S., Makris M. The effect of tissue factor concentration on calibrated automated thrombography in the presence of inhibitor bypass agents. *Int J Lab Hematol* 2009; 31 (2): 189–98.
43. Bassus S., Wegert W., Krause M., Escuriola-Ettinghausen C., Siegemund A., Petros S., et al. Platelet-dependent coagulation assays for factor VIII efficacy measurement after substitution therapy in patients with haemophilia A. *Platelets* 2006; 17 (6): 378–84.
44. Hartert H. Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klin Wochenschr* 1948; 26 (37–38): 577–83.
45. Nogami K. The utility of thromboelastography in inherited and acquired bleeding disorders. *Br J Haematol* 2016; 174 (4): 503–14.
46. Chitlur M., Simpson M.L. Role of global assays in thrombosis and thrombophilia. *Pediatric Thrombotic Disorders*. 1st ed. Goldenberg N.A., Manco-Johnson M.J. (eds.). Cambridge University Press; 2014. Pp. 142–157.
47. Whiting D., DiNardo J.A. TEG and ROTEM: Technology and clinical applications. *Am J Hematol* 2014; 89 (2): 228–32.
48. Chitlur M., Young G. Global assays in hemophilia. *Seminars in Hematology* 2016, 53 (1): 40–5.
49. Balkaransingh P., Young G. Novel therapies and current clinical progress in hemophilia A. *Ther Adv Hematol* 2018; 9 (2): 49–61.
50. Wynn T., Gumuscu B. Potential role of a new PEGylated recombinant factor VIII for hemophilia A. *JBM* 2016; 7: 121–8.
51. Инструкция по медицинскому применению препарата Элокта (эфмороктоког альфа). [Электронный ресурс] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=30f1aa47-1c39-4055-b56f-9672e4925712 (дата обращения 16.02.2024). [Elocta (efmorococog alfa) prescribing information. [Electronic resource] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=30f1aa47-1c39-4055-b56f-9672e4925712 (access date 16.02.2024). (In Russ.)].
52. Инструкция по медицинскому применению препарата Аденовейт (руриоктоког альфа пэгол). [Электронный ресурс] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=ca346bd3-3952-4725-9395-d96d89d52908 (дата обращения 16.02.2024). [Adynovate (rurioctocog alfa pegol) prescribing information. [Electronic resource] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=ca346bd3-3952-4725-9395-d96d89d52908 (access date 16.02.2024). (In Russ.)].
53. Инструкция по медицинскому применению препарата Нувик (симоктоког альфа). [Электронный ресурс] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=7c6d9670-4c4a-449b-973d-fd3dd974a329 (дата обращения 16.02.2024). [Nuwiq (simococog alfa) prescribing information. [Electronic resource] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=7c6d9670-4c4a-449b-973d-fd3dd974a329 (access date 16.02.2024). (In Russ.)].
54. Инструкция по медицинскому применению препарата Афстила (лоноктоког альфа). [Электронный ресурс] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=7c6d9670-4c4a-449b-973d-fd3dd974a329 (дата обращения 16.02.2024). [Afstyla (lonococog alfa) prescribing information. [Electronic resource] URL: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=7c6d9670-4c4a-449b-973d-fd3dd974a329 (access date 16.02.2024). (In Russ.)].
55. Lancellotti S., Sacco M., Tardugno M., Mancuso M.E., De Cristofaro R. Measurement of extended half-life recombinant FVIII molecules: *In vitro* and *ex vivo* evidence of relevant assay discrepancies. *Res Pract Thromb Haemost* 2023; 7 (2): 100070.
56. Ketteler C., Hoffmann I., Davidson S., Tiede A., Richter N. Monitoring of different factor VIII replacement products using a factor VIII one-stage clotting assay on cobas t 511/711 analysers. *Haemophilia* 2021; 27 (6): e704–12.
57. Gray E., Kitchen S., Bowyer A., Chowdary P., Jenkins P.V., Murphy P., et al. Laboratory measurement of factor replacement therapies in the treatment of congenital haemophilia: A United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation guideline. *Haemophilia* 2020; 26 (1): 6–16.
58. Beltrán-Miranda C.P., Khan A., Jaloma-Cruz A.R., Laffan M.A. Thrombin generation and phenotypic correlation in haemophilia A. *Haemophilia* 2005; 11 (4): 326–34.
59. Lewis S.J., Stephens E., Florou G., Macartney N.J., Hathaway L.S., Knipping J., et al. Measurement of global haemostasis in severe haemophilia A following factor VIII infusion. *Br J Haematol* 2007; 138 (6): 775–82.
60. Chitlur M., Warriar I., Rajpurkar M., Hollon W., Llanto L., Wiseman C., et al. Thromboelastography in children with coagulation factor deficiencies. *Br J Haematol* 2008; 142 (2): 250–6.
61. Жаркова П.А. Есть ли место заместительной терапии гемофилии А у детей в настоящем и будущем? *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2022; 9 (3): 56–64. DOI: 10.21682/2311-1267-2022-9-3-56-64 [Zharkov P.A. Is there any place for replacement therapy of hemophilia A in children in present and future? *Russian Journal*

- of Pediatric Hematology and Oncology 2022; 9 (3): 56–64. [In Russ.]].
62. Андреева Т.А., Жарков П.А., Зозуля Н.И., Зоренко В.Ю., Константинова В.Н., Лебедев В.В. и др. Методические рекомендации по ведению больных гемофилией А, получающих эмицизумаб. Гематология и трансфузиология 2022; 67 (2): 267–80. DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-2-267-280 [Andreeva T.A., Zharkov P.A., Zozulya N.I., Zorenko V.Yu., Konstantinov, V.N., Lebedev V.V., et al. Management of patients with hemophilia A on emicizumab prophylactic treatment: Recommendation from Russian Experts. Russian journal of hematology and transfusiology 2022; 67 (2): 267–80. (In Russ.)].
 63. Bowyer A.E., Lowe A.E., Tiefenbacher S. Laboratory issues in gene therapy and emicizumab. Haemophilia 2021; 27 (S3): 142–7.
 64. Calhoun W., McInerney M., Calatzis A., Chen D., Adamkewicz J., Morris M. Evaluation of a dedicated calibrator and controls for emicizumab quantification. 4th Scientific Meeting of the Thrombosis and Hemostasis Societies of North America (THSNA). 2018.
 65. Jonsson F., Mercier F., Prins N.H., Schmitt C., Retout S. Exposure-response modeling of emicizumab for the prophylaxis of bleed counts in hemophilia A patients. 27th Meeting of the Population Approach Group in Europe (PAGE). 2018.
 66. McCormick A. Laboratory monitoring of emicizumab in treated patients – how does APTT compare? Res Pract Thromb Haemost 2021; 5 (Suppl 2).
 67. Jenkins P.V., Bowyer A., Burgess C., Gray E., Kitchen S., Murphy P., et al. Laboratory coagulation tests and emicizumab treatment A United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation guideline. Haemophilia 2020; 26 (1): 151–5.
 68. Schmitt C., Adamkewicz J.I., Xu J., Petry C., Catalani O., Young G., et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Emicizumab in Persons with Hemophilia A with Factor VIII Inhibitors: HAVEN 1 Study. Thromb Haemost 2021; 121 (3): 351–60.
 69. Kizilocak H., Marquez-Casas E., Malvar J., Carmona R., Young G. Determining the approximate factor VIII level of patients with severe haemophilia A on emicizumab using *in vivo* global haemostasis assays. Haemophilia 2021; 27 (5): 730–5.
 70. Schmidt M.L., Gamberman S., Smith H.E., Scott J.P., DiMichele D.M. Recombinant activated factor VII (rFVIIa) therapy for intracranial hemorrhage in hemophilia A patients with inhibitors. Am J Hematol 1994; 47 (1): 36–40.
 71. Viuff D., Andersen S., Sørensen B.B., Lethagen S. Optimizing thrombelastography (TEG) assay conditions to monitor rFVIIa (NovoSeven®) therapy in haemophilia a patients. Thromb Res 2010; 126 (2): 144–9.
 72. Young G., Blain R., Nakagawa P., Nugent D.J. Individualization of bypassing agent treatment for haemophilic patients with inhibitors utilizing thromboelastography. Haemophilia 2006; 12 (6): 598–604.
 73. Turecek P.L., Váradi K., Keil B., Negrier C., Berntorp E., Astermark J., et al. Factor VIII Inhibitor-Bypassing Agents Act by Inducing Thrombin Generation and Can Be Monitored by a Thrombin Generation Assay. Pathophysiol Haemos Thromb 2003; 33 (1): 16–22.
 74. Fisher C., Mo A., Warrillow S., Smith C., Jones D. Utility of thromboelastography in managing acquired Factor VIII inhibitor associated massive haemorrhage. Anaesth Intensive Care 2013; 41 (6): 799–803.
 75. Müller J., Pekrul I., Pötzsch B., Berning B., Oldenburg J., Spannagl M. Laboratory Monitoring in Emicizumab-Treated Persons with Hemophilia A. Thromb Haemost 2019; 119 (9): 1384–93.
 76. Kizilocak H., Marquez-Casas E., Phei Wee C., Malvar J., Carmona R., Young G. Comparison of bypassing agents in patients on emicizumab using global hemostasis assays. Haemophilia 2021; 27 (1): 164–72.
 77. Bravo M.I., Raventós A., Pérez A., Costa M., Willis T. Non-additive effect on thrombin generation when a plasma-derived factor VIII/von Willebrand factor (FVIII/VWF) is combined with emicizumab *in vitro*. J Thromb Haemost 2020; 18 (8): 1934–9.
 78. Oldenburg J., Mahlangu J.N., Kim B., Schmitt C., Callaghan M.U., Young G., et al. Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with Inhibitors. N Engl J Med 2017; 377 (9): 809–18.
 79. Hartmann R., Feenstra T., Valentino L., Dockal M., Scheiflinger F. *In vitro* studies show synergistic effects of a procoagulant bispecific antibody and bypassing agents. J Thromb Haemost 2018; 16 (8): 1580–91.
 80. Kizilocak H., Yukhtman C.L., Marquez-Casas E., Lee J., Donkin J., Young G. Management of perioperative hemostasis in a severe hemophilia A patient with inhibitors on emicizumab using global hemostasis assays. Ther Adv Hematol 2019; 10: 204062071986002.
 81. Lockhart M., Tardy-Poncet B., Montmartin A., Noyel P., Thouvenin S., Berger C. Surgery with emicizumab prophylaxis for two paediatric patients with severe haemophilia A with inhibitors. Pediatr Blood Cancer 2021; 68 (7): e29041.
 82. Szanto T., Vaide I., Jouppila A., Lemponen M., Lassila R. Thromboelastometry detects enhancement of coagulation in blood by emicizumab via intrinsic pathway. Haemophilia 2021; 27 (4): e571–4.
 83. Ramiz S., Hartmann J., Young G., Escobar M.A., Chitlur M. Clinical utility of viscoelastic testing (TEG and ROTEM analyzers) in the management of old and new therapies for hemophilia. Am J Hematol 2019; 94 (2): 249–56.