



<https://doi.org/10.34883/PI.2022.8.3.002>  
УДК: 616.151.511-053.2:615.382



Дмитриев Е.В.✉, Любушкин А.В.

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии  
и иммунологии, Минск, Беларусь

## Возрастная фармакокинетика плазменного фактора VIII у детей

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Дмитриев Е.В. – автор идеи, расчет фармакокинетических параметров, статистическая обработка, интерпретация данных и подготовка текста статьи; Любушкин А.В. – выполнение молекулярно-генетических исследований и анализ полученных данных.

**Источники финансирования:** исследование не имело спонсорской поддержки.

Подана: 15.07.2022

Принята: 18.08.2022

Контакты: jenyadmitriev24gmail.com

### Резюме

**Цель исследования.** Изучение фармакокинетических особенностей фактора свертывания крови VIII в режиме вторичной профилактики с учетом характера генетических аномалий у детей различного возраста с тяжелой гемофилией А.

**Материалы и методы.** Проведен анализ генетических аномалий и фармакокинетических показателей 31 ребенка с тяжелой гемофилией А, получавшего вторичную профилактику плазменным концентратом фактора свертывания крови VIII одного производителя. Возраст пациентов: 3–7 лет – 12 мальчиков; 8–13 лет – 14; 14–17,5 года – 8.

**Результаты.** Величина показателя полураспада ( $T_{1/2}$ ) плазменного концентрата фактора свертывания крови VIII у детей 3–7 лет 11,0 (9,6–14,2) ч была меньше, чем у детей 8–13 лет – 13,4 (11,6–17,1) ч ( $p=0,004$ ) и 14–17 лет – 14,9 (12,5–17,3) ч ( $p=0,012$ ). Более короткий период полураспада в возрасте 3–7 лет был обусловлен ( $G=-0,561$ ;  $p=0,002$ ) более высоким клиренсом введенного фактора VIII по сравнению с таковым показателем у подростков и юношей. Период полураспада экзогенного FVIII не зависел от дозы (МЕ/кг) лекарственного средства ( $G=-0,130$ ;  $p=0,292$ ), показателя восстановления ( $G=-0,05$ ;  $p=0,628$ ) и  $AUC_{Normal}$  ( $G=0,025$ ;  $p=0,806$ ). Величина  $T_{1/2}$  10,4 (9,6–12,4) ч при нулевых мутациях была меньше, чем у пациентов с ненулевыми миссенс-мутациями, –  $T_{1/2}$  12,7 (9,2–15,2) ч ( $p=0,028$ ; U-test).

**Заключение.** Фармакокинетические исследования объясняют, почему для достижения одного и того же коагулологического эффекта профилактическая доза КФСК VIII у детей 3–7 лет должна быть выше, чем у пациентов старшего возраста. Дополнительное генетическое исследование позволяет выявить пациентов с нулевыми мутациями гена фактора VIII, нуждающихся в большей профилактической дозе.

**Ключевые слова:** дети, гемофилия, фактор свертывания крови VIII, фармакокинетика, генетические аномалии

Dmitriev E.✉, Liubushkin A.

Republican Scientific and Practical Center of Children's Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

## Age-Dependent Pharmacokinetics of Plasma Factor VIII in Children

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Dmitriev E. – the author of the idea, calculation of pharmacokinetic parameters, statistical processing, interpretation of data and preparation of the text of the article; Liubushkin A. – performing molecular genetic studies and analysis of the data obtained.

**Source of funding:** the study had no sponsorship.

Submitted: 15.07.2022

Accepted: 18.08.2022

Contacts: jenyadmitriev24gmail.com

---

### Abstract

**Purpose.** To study the pharmacokinetic features of blood coagulation factor VIII in the secondary prevention regimen, taking into account the nature of genetic abnormalities in children of different ages with severe hemophilia A.

**Materials and methods.** Genetic anomalies and pharmacokinetic parameters were analyzed in 31 children with severe hemophilia A who received secondary prophylaxis with plasma concentrate of blood coagulation factor VIII from one manufacturer. At the age of 3–7 years – 12 boys, from 8 to 13 years – 14 adolescents, 8 patients aged 14–17.5 years. After successful completion of the procedure "Induction of immunological tolerance" and transfer to secondary prevention of bleeding at the age of 9–13 years – 5 boys.

**Results.** The value of the half-life ( $T_{1/2}$ ) of the plasma concentrate of blood coagulation factor VIII in children aged 3–7 years 11.0 (9.6–14.2) hours was less than in children 8–13 years old – 13.4 (11.6–17.1) hours ( $p=0.004$ ) and 14–17 years old – 14.9 (12.5–17.3) hours ( $p=0.012$ ). The shorter half-life at the age of 3–7 years was due ( $G=-0.561$ ;  $p=0.002$ ) to a higher clearance of the introduced factor VIII compared to that in adolescents and young men. The half-life of exogenous FVIII did not depend on the dose (IU/kg) of the drug ( $G=-0.130$ ;  $p=0.292$ ), recovery rate ( $G=-0.05$ ;  $p=0.628$ ) and AUC normal ( $G=0.025$ ;  $p=0.806$ ). The  $T_{1/2}$  value of 10.4 (9.6–12.4) hours with null mutations was less than in patients with non-null mis-sense mutations  $T_{1/2}$  12.7 (9.2–15.2) hours ( $p=0.028$ ; U-test).

**Conclusion.** Pharmacokinetic studies explain why, in order to achieve the same coagulological effect, the prophylactic dose of CFSK VIII in children aged 3–7 years should be higher than in older patients. Additional genetic testing can identify patients with null mutations in the factor VIII gene who need a higher prophylactic dose.

**Keywords:** children, hemophilia, blood coagulation factor VIII, pharmacokinetics, genetic anomalies



## ■ ВВЕДЕНИЕ

Современная концепция оказания медицинской помощи пациентам с гемофилией предусматривает профилактическое введение лекарственных средств, содержащих концентрат фактора свертывания крови (КФС) VIII (IX) [1, 2]. Вариабельность коагулологического ответа на введение одинаковой для всех пациентов дозы КФС VIII (IX) диктует необходимость индивидуального выбора профилактической дозы лекарственного средства и расчета интервала времени между инъекциями [3, 4]. На фармакокинетические (ФК) параметры вводимого фактора VIII оказывают влияние происхождение лекарственного средства (плазменный или рекомбинантный), способ регистрации (одностадийный клоттинговый или двухстадийный с использованием хромогенных субстратов), режим введения и появление патологических ингибиторов свертывания. Фармакокинетические параметры различаются у разных людей [5]. Период полураспада FVIII у взрослых пациентов больше, чем у детей первых 6 лет [6]. Существенное влияние на гемостатический эффект также оказывает и объем распределения, связанный с массой тела пациента [7]. Дополнительный источник изменчивости фармакокинетических параметров вводимого фактора свертывания VIII связан с групповой принадлежностью и содержанием фактора Виллебранда в крови реципиента [8]. Регистрируя фармакокинетические параметры после введения фиксированной дозы КФС VIII пациентам с тяжелой гемофилией, авторы публикаций не только обнаружили ФК-различия между детьми и взрослыми, но и зарегистрировали различия внутри групп [9]. Одной из причин внутригрупповых ФК-различий, кроме перечисленных, могут быть наследственные изменения структуры гена фактора VIII у пациентов с тяжелой гемофилией А.

Данных о роли генетических аномалий у пациентов, влияющих на фармакокинетические особенности вводимого фактора свертывания крови VIII у детей, в публикациях не приведено.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение фармакокинетических особенностей вводимого фактора свертывания крови VIII в режиме вторичной профилактики с учетом характера генетических аномалий у детей различного возраста с тяжелой гемофилией А.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследован 31 мальчик, состоящий на диспансерном учете в государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (далее – Центр) по поводу тяжелой гемофилии А. Базовая активность фактора VIII менее 1%. Пациенты, включенные в исследование с 2015 по 2022 г., получали вторичную профилактику геморрагических осложнений путем систематического введения лекарственного средства одного и того же производителя, содержащего концентрат плазменного фактора свертывания крови VIII (pdFVIII), разрешенного Министерством здравоохранения Республики Беларусь для применения у детей различного возраста, включая новорожденных, в том числе для профилактики кровотечений (Инструкция по медицинскому применению лекарственного средства перерегистрирована Министерством здравоохранения Республики Беларусь

25.08.2020, рег. № 899). Режим вторичной профилактики геморрагических осложнений предусматривал введение концентрата фактора свертывания крови (КФСК) VIII до 50 МЕ/кг (в разовой дозе, равной содержанию целого числа флаконов с учетом фасовки) через интервал времени (48–72–96 ч), определенный ранее опытным путем. Вторичная профилактика кровотечений, расчет дозы и кратности введения на основе фармакокинетического исследования начаты после оформления информированного согласия родителей (а при необходимости и детей) в соответствии с клиническим протоколом, утвержденным этическим комитетом Центра 18.02.2013.

Возраст детей – от 3 до 17 лет, медиана – 9 лет. В зависимости от возраста выделено 4 группы. Первую группу в возрасте 3–7 лет составили 12 мальчиков. Во вторую группу вошло 14 подростков в возрасте от 8 до 13 лет, из них 8 по достижении возраста 14–17,5 года составили третью группу. В четвертую группу включены 5 мальчиков в возрасте 9–13 лет спустя 1–2 года после успешного завершения процедуры «индукция иммунологической толерантности» и перевода на вторичную профилактику кровотечений.

Коагулологические исследования выполнены автоматическим коагулометром ACL-9000 фирмы Instrumentation Laboratory (USA) с использованием оригинальных реагентов Instrumentation Laboratory. Коагулологическое исследование включало, кроме регистрации рутинных хронометрических показателей, определение активности фактора VIII одностадийным клоттинговым методом. Ингибитор к фактору VIII в единицах Bethesda (BU/ml) определяли методом M. Kasper (1968) с поправкой Nijmegen Modification [13]. Для исследований на каждом этапе требовалось до 1,5 мл стабилизированной 3,8%-м раствором цитрата натрия (1:9) венозной крови, взятой путем пункции периферической вены без наложения жгута.

Фармакокинетическое (ФК) исследование коагуляционного фактора VIII выполнено в соответствии с рекомендациями комитета по стандартизации Международного общества Thrombosis and Haemostasis (ISTH) [14, 15]. Через 48, 72 или 96 ч после предшествующего введения профилактической дозы определяли титр ингибиторов к фактору FVIII, остаточную (исходную) активность фактора VIII, после чего однократно вводили очередную профилактическую дозу лекарственного средства, содержащего плазменный концентрат фактора свертывания крови VIII. Через 15 мин регистрировали степень прироста, а на протяжении последующих 1, 2, 4, 6, 12, 24, 36, 48, 72-го (при необходимости 96-го) часа – динамику снижения коагуляционной активности. Время достижения активности фактора VIII, близкой к 1%, было конечной точкой оценки фармакокинетики.

Расчеты фармакокинетических параметров произведены для однокамерной модели с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010. Перечень фармакокинетических характеристик фактора VIII включал: расчет клиренса ( $Cl$ , мл·кг<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>), объема распределения ( $V_d$ , мл·кг<sup>-1</sup>), периода полураспада ( $T_{1/2} = \ln 2 / K_{el} = 0,693 \cdot K_{el}^{-1}$ , ч), показателя восстановления коагуляционной активности (recovery in vivo,  $C_{max}$ , %/МЕ·кг<sup>-1</sup>); с использованием трапецеидального правила рассчитана площадь под фармакокинетической кривой (area-under-the-time-versus-concentration curve, AUC), %·ч. Для нивелирования влияния дозы препарата (МЕ·кг<sup>-1</sup>) на величину AUC рассчитан нормализованный показатель ( $AUC_{Normal}$ , %·ч·МЕ<sup>-1</sup>·кг).

Информированное согласие на проведение генетического исследования, утвержденное этическим комитетом Центра (04.11.2019), получено у всех пациентов



и/или их законных представителей. Для генетического исследования использовали венозную кровь, стабилизированную калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты ( $K_2$ ЭДТА). После лизиса эритроцитов из лейкоцитарной суспензии выделяли стандартным методом фенолхлороформной экстракции геномную ДНК. Инверсию интрона 22 гена фактора VIII выявляли по протоколу выполнения инвертированной полимеразной цепной реакции (ПЦР), описанной Rossetti et al. (2005, 2008) [10, 11]. Выявление инверсии интрона 1 гена фактора VIII проводили по протоколу Bagnall et al. [12]. Генетический анализ всех экзонов и прилегающих к ним регионов сплайс-сайтов гена фактора VIII выполняли с применением кастомной панели (Qiagen, Германия), включающей гены FVIII, FIX, vWF, ADAMTS13, FXIIIa, FXIIIB, методом высокопроизводительного секвенирования на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina, США). Все клинически значимые изменения подтверждали с помощью капиллярного секвенирования по Сенгеру на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500 (Thermo Scientific, США).

Групповую принадлежность крови пациентов определяли реагентами BIORAD: DiaClonABO/D+reverse Grouping; DiaCellABODiluent-2.

Статистическая обработка выполнена с использованием программы «Статистика 6.0». Результаты представлены как медиана (10-й и 90-й) процентиля. Достоверность различия (для  $p < 0,05$ ) в сравниваемых выборках определена по двустороннему критерию Манна – Уитни (U-test), а для попарно связанных – вариант по критерию Вилкоксона (T-test). Взаимосвязь анализируемых показателей определена по непараметрическому критерию Gamma (G).

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Через 72–120 ч после введения пациентам первой группы очередной дозы pdFVIII, равной 50 (44,0–54,0) МЕ/кг, остаточная активность FVIII составляла 1,1 (0,5–2,0)%. Через 15 мин после введения FVIII в дозе 50 (44–54) МЕ/кг зарегистрировано повышение коагуляционной активности до 96,0 (66,0–122,0)%. Введение концентрата фактора свертывания крови (КФС) VIII из расчета 1 МЕ/кг сопровождалось восстановлением (recovery in vivo) коагуляционной активности на 1,91 (1,54–2,7)%. Величина показателя нормализованной площади под фармакокинетической кривой ( $AUC_{Normal}$ ) 31,1 (14,2–72,0)%·МЕ<sup>-1</sup>·кг·ч не была связана ( $G = -0,136$ ;  $p = 0,498$ ) с величиной дозы введенного КФС FVIII и зависела ( $G = -0,584$ ;  $p = 0,013$ ) от клиренса 3,48 (2,62–4,61) мл·ч<sup>-1</sup>·кг. Период полужизни введенного фактора VIII составил 11,0 (9,6–14,2) ч (см. таблицу).

Среди пациентов первой группы большие делеции (>200 п. н.) имел 1 пациент, бессмысленные мутации – 1, инверсии – 3, миссенс-мутации – 5, мутации сайта сплайсинга – 2. Среди 12 мальчиков первой группы нулевые мутации имели 7, ненулевые – 5 пациентов с миссенс-мутациями.

Остаточная активность фактора VIII 0,9 (0,4–1,9)%, возраст 5,7 (3,0–7,5) года, масса тела 20,0 (12,0–30,0) кг, величина нагрузочной дозы лекарственного средства pdFVIII 50,0 (23,0–60,0) МЕ/кг у пациентов первой группы с нулевыми мутациями не отличались от значений соответствующих показателей у пациентов с ненулевыми мутациями: остаточная активность 1,2 (0,7–2,3)% ( $p = 0,396$ ), возраст 6,0 (3,5–7,0) лет ( $p = 0,535$ ), масса тела 22 (18,5–25,0) кг ( $p = 0,986$ ) и доза pdFVIII 50 (44,0–54,0) МЕ/кг ( $p = 0,612$ ). Величина  $T_{1/2}$  10,4 (9,6–12,4) ч и  $AUC_{Normal}$  23,6 (12,3–96,0)%·МЕ<sup>-1</sup>·кг·ч при нулевых

**Возрастные фармакокинетические параметры пациентов с тяжелой гемофилией А, Ме (10–90)%**  
**Age pharmacokinetic parameters of patients with severe hemophilia A, Me (10–90)%**

| Фармакокинетический параметр                                                     | После ИИТ 11,0 (9,0–12,0) года. Четвертая группа, n=5                 | Выделены группы в зависимости от возраста пациентов |                                              |                                               |  |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------|--|
|                                                                                  |                                                                       | 5,0 (3,0–7,0) года. Первая группа, n=12             | 11,0 (8,0–13,0) года. Вторая группа, n=14    | 15,8 (14,0–17,5) года. Третья группа, n=8     |  |
| Масса тела, кг                                                                   | 34,0 (23,0–54,0)<br>P <sub>4-2</sub> =0,587                           | 21,5 (18,0–27,5)<br>P <sub>1-2</sub> =0,0001        | 40,0 (25,0–63,0)<br>P <sub>2-3</sub> =0,006  | 57,0 (47,0–75,0)<br>P <sub>3-1</sub> =0,00001 |  |
| Базовая активность фактора VIII, %                                               | 0,6 (0,3–0,9)<br>P <sub>4-2</sub> =0,445                              | 0,7 (0,4–1,0)<br>P <sub>1-2</sub> =0,94             | 0,7 (0,3–0,9)<br>P <sub>2-3</sub> =0,779     | 0,7 (0,4–0,9)<br>P <sub>3-1</sub> =0,959      |  |
| Последнее введение, за сколько часов                                             | 48,0 (48,0–72,0)<br>P <sub>4-2</sub> =0,002                           | 96,0 (72–120,0)<br>P <sub>1-2</sub> =0,87           | 72,0 (48,0–96,0)<br>P <sub>2-3</sub> =0,211  | 72,0 (72,0–96,0)<br>P <sub>3-1</sub> =0,261   |  |
| Остаточная активность фактора VIII, %                                            | 2,0 (0,76–3,6)<br>P <sub>4-2</sub> =0,150                             | 1,1 (0,5–2,0)<br>P <sub>1-2</sub> =0,812            | 1,1 (0,6–2,5)<br>P <sub>2-3</sub> =0,141     | 1,4 (0,9–3,8)<br>P <sub>3-1</sub> =0,237      |  |
| Содержание ингибиторов, BU/ml                                                    | 0,0 (0,0–0,45)                                                        | 0                                                   | 0                                            | 0                                             |  |
| Нагрузочная доза КФСК VIII, МЕ/кг                                                | 65,0 (49,0–88,0)<br>P <sub>4-2</sub> =0,003                           | 50,0 (44,0–54,0)<br>P <sub>1-2</sub> =0,15          | 47,0 (32,0–55,0)<br>P <sub>2-3</sub> =0,657  | 42,0 (24,0–53,0)<br>P <sub>3-1</sub> =0,210   |  |
| Показатель восстановления, %/МЕ·кг <sup>-1</sup>                                 | 1,32 (1,2–2,2)<br>P <sub>4-2</sub> =0,046                             | 1,91 (1,54–2,7)<br>P <sub>1-2</sub> =0,910          | 1,78 (1,46–2,5)<br>P <sub>2-3</sub> =0,804   | 1,64 (1,24–2,5)<br>P <sub>3-1</sub> =0,783    |  |
| Нормализованная площадь под фармакокинетической кривой, %·МЕ <sup>-1</sup> ·кг·ч | 21,4 (14,6–31,0)<br>P <sub>4-2</sub> =0,045                           | 31,1 (14,2–72,0)<br>P <sub>1-2</sub> =0,288         | 30,5 (19,4–50,0)<br>P <sub>2-3</sub> =0,158  | 25,7 (14,2–39,0)<br>P <sub>3-1</sub> =0,298   |  |
| Константа элиминации, KeI, ч <sup>-1</sup>                                       | 0,072 (0,06–0,07)<br>P <sub>4-2</sub> =0,0001                         | 0,063 (0,05–0,07)<br>P <sub>1-2</sub> =0,027        | 0,051 (0,04–0,06)<br>P <sub>2-3</sub> =0,563 | 0,048 (0,03–0,06)<br>P <sub>3-1</sub> =0,031  |  |
| Клиренс, мл·кг <sup>-1</sup> ·ч <sup>-1</sup>                                    | 4,36 (2,61–5,57)<br>P <sub>4-2</sub> =0,011                           | 3,48 (2,62–4,61)<br>P <sub>1-2</sub> =0,023         | 2,79 (1,83–3,73)<br>P <sub>2-3</sub> =0,832  | 2,51 (1,29–3,42)<br>P <sub>3-1</sub> =0,046   |  |
| Период полураспада, ч                                                            | 10,7 (9,4–11,8)<br>P <sub>4-2</sub> =0,0007<br>P <sub>4-1</sub> =0,51 | 11,0 (9,6–14,2)<br>P <sub>1-2</sub> =0,004          | 13,4 (11,6–17,1)<br>P <sub>2-3</sub> =0,378  | 14,9 (12,5–17,3)<br>P <sub>3-1</sub> =0,012   |  |
| Объем распределения, мл·кг <sup>-1</sup>                                         | 76,0 (46,0–83,0)<br>P <sub>4-2</sub> =0,079<br>P <sub>4-1</sub> =0,15 | 50,0 (44,5–64,0)<br>P <sub>1-2</sub> =0,77          | 53,4 (38,0–62,4)<br>P <sub>2-3</sub> =0,173  | 61,0 (30,0–78,0)<br>P <sub>3-1</sub> =0,297   |  |

Примечание: P – межгрупповое различие U-test.

мутациях были меньше таковых у пациентов с ненулевыми миссенс-мутациями: T<sub>1/2</sub> 12,7 (9,2–15,2) ч (p=0,028; U-test, двухсторонний) и AUC<sub>Normal</sub> 32,8 (25,8–72,0)%·МЕ<sup>-1</sup>·кг·ч (p=0,396; U-test, двухсторонний). Клиренс введенного фактора VIII при нулевых мутациях 3,91 (2,88–5,58) мл·ч<sup>-1</sup>·кг превышал величину данного показателя при ненулевых мутациях 2,84 (2,25–3,95) мл·ч<sup>-1</sup>·кг (p=0,013; U-test). Среди 7 пациентов с нулевыми мутациями группу крови О (I) имели 5 детей, группу крови В (III) – 1, группа крови А (II) выявлена у 1 ребенка. Среди 5 пациентов с ненулевыми мутациями О (I) группу крови имели 3 ребенка, группа крови В (III) выявлена у 2 мальчиков.



После введения пациентам второй группы очередной профилактической дозы 47,0 (32,0–55,0) МЕ/кг через 72,0 (40,0–96,0) ч остаточная активность фактора VIII 1,1 (0,6–2,5)% мало отличалась ( $p=0,812$ ) от аналогичного показателя 1,1 (0,5–2,0)% у детей первой группы. Введение КФС VIII из расчета 1 МЕ/кг сопровождалось повышением коагуляционной активности реципиента на 1,78 (1,46–2,5)% по сравнению ( $p=0,910$ ) с пациентами первой группы. Величина  $AUC_{Normal}$  30,5 (19,4–50,0)%·МЕ<sup>-1</sup>·кг·ч была такой же, как и у пациентов первой группы, – 31,1 (14,2–72,0)%·МЕ<sup>-1</sup>·кг·ч ( $p=0,298$ ), а клиренс  $pd\ FVIII$  2,79 (1,83–3,73) мл·кг<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup> ниже ( $p=0,023$ ), чем у пациентов первой группы, – 3,48 (2,62–4,61) мл·кг<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>. Величина  $T_{1/2}$  13,4 (11,6–17,1) ч у мальчиков в возрасте 8–13 лет превышала ( $p=0,011$ ) аналогичный показатель 11,0 (9,6–14,2) ч в возрасте 3–7 лет. Выявлена тесная отрицательная взаимосвязь ( $G = -0,664$ ;  $p=0,001$ ) между величиной  $T_{1/2}$  13,4 (11,6–17,1) ч и клиренсом  $pdFVIII$  2,79 (1,83–3,73) мл·кг<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>. Значения  $T_{1/2}$ , клиренса  $pdFVIII$  и  $AUC_{Normal}$  у пациентов второй группы соответствовали данным (среднее  $\pm$  стандартное отклонение), приведенным в инструкции по медицинскому применению лекарственного средства  $pdFVIII$ :  $AUC_{Normal}$  33,4 $\pm$ 8,5%·ч·МЕ<sup>-1</sup>·кг и  $T_{1/2}$  12,6 $\pm$ 3,03 ч,  $Cl$  3,2 $\pm$ 0,88 мл·ч<sup>-1</sup>·кг.

Среди пациентов второй группы бессмысленные мутации выявлены у 5 детей, инверсии – 6, миссенс-мутации – 2, мутации сайта сплайсинга – 1. Во второй группе из 14 детей нулевые мутации выявлены у 12. Среди 14 детей второй группы О (I) группу крови имели 9 детей, группа крови А (II) выявлена у 2, группу крови В (III) имели 3 мальчика. Выявлена тесная отрицательная взаимосвязь ( $G = -0,625$ ;  $p=0,041$ ) между величиной клиренса вводимого фактора свертывания крови VIII и групповой принадлежностью крови реципиента, что косвенно указывало на менее короткий ( $p=0,075$ )  $T_{1/2}$  12,6 (11,9–14,6) ч у детей с группой крови О (I), чем с другой группой крови при нулевых мутациях  $T_{1/2}$  13,2 (11,5–17,0) ч.

Значения большинства фармакокинетических показателей у 8 пациентов второй группы, достигших возраста 14–18 лет и автоматически составивших третью группу, мало отличались от аналогичных у детей второй группы. В третьей группе коагуляционный ответ 1,64 (1,24–2,5)%/МЕ·кг<sup>-1</sup> на введение  $pdFVIII$  в дозе 42,0 (24,0–53,0) МЕ/кг и величина  $AUC_{Normal}$  25,7 (14,2–39,0)%·МЕ<sup>-1</sup>·кг·ч незначительно отличались от значений соответствующих показателей у детей первой группы: 1,91 (1,54–2,7)%/МЕ·кг<sup>-1</sup> ( $p=0,738$ ); 50,0 (44,0–54,0) МЕ/кг ( $p=0,210$ ); 31,1 (14,2–72,0)%·МЕ<sup>-1</sup>·кг·ч ( $p=0,298$ ). В то же время период полураспада  $pdFVIII$  14,9 (12,5–17,3) ч у детей 14–17 лет превышал ( $p=0,012$ ) таковой у детей в возрасте 3–7 лет – 10,7 (9,4–11,8) ч. Более короткий период полураспада  $pdFVIII$  был связан с повышением ( $p=0,046$ ) клиренса до 3,48 (2,62–4,61) мл·кг<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup> у детей младшей возрастной группы по сравнению с клиренсом у детей 14–17 лет – 2,51 (1,29–3,42) мл·кг<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>.

Из 8 детей, составивших третью группу, бессмысленную мутацию имел 1 пациент, инверсии – 4, миссенс-мутации – 2, мутация сайта сплайсинга выявлена у 1 ребенка; нулевые мутации – 6, ненулевые мутации – 2. Среди 8 детей третьей группы О (I) группу крови имели 5 детей, группа крови А (II) выявлена у 2, группу крови В (III) имел 1 мальчик.

Пациенты четвертой группы через 18–24 месяца после завершения курса лечения по протоколу индукции иммунологической толерантности имели ряд отличий в фармакокинетике вводимого фактора VIII. Остаточная активность фактора VIII через 48 ч после предшествующего введения составила 2,0 (0,76–3,6)%. После введения

очередной профилактической дозы 65,0 (49,0–88,0) МЕ/кг коагуляционная активность выросла до 86,0 (65,0–140,0)%. На введение 1 МЕ/кг прирост коагуляционной активности составил 1,32 (1,2–2,2)%, что было меньше ( $p=0,046$ ) аналогичного показателя у детей второй группы – 1,78 (1,46–2,5)%/МЕ·кг<sup>-1</sup> (см. таблицу). При уровне ингибиторов 0 BU/ml величина  $AUC_{Normal}$  составила 21,4 (14,6–31,0)%·МЕ<sup>-1</sup>·кг·ч, что было меньше ( $p=0,045$ ) соответствующего показателя у детей такого же возраста во второй группе – 30,5 (19,4–50,0)%·МЕ<sup>-1</sup>·кг·ч. Повышенный клиренс 4,36 (2,61–5,57) мл·кг·ч<sup>-1</sup> способствовал более быстрой элиминации введенного фактора VIII с периодом полураспада 10,7 (9,4–11,8) ч ( $p=0,0007$ ). Более низкий показатель восстановления коагуляционной активности на введение КФСК в дозе 1 МЕ/кг, более низкая величина  $AUC_{Normal}$  и короткий период полураспада составили перечень признаков, отражающих ингибиторный тип ответа у пациентов с содержанием ингибиторов 0 BU/ml спустя 18–24 месяца после завершения ИИТ. Повышенный ( $p_{4-2}=0,011$ ) клиренс 4,36 (2,61–5,57) мл·кг·ч<sup>-1</sup> и более низкая ( $p_{4-2}=0,045$ ) величина  $AUC_{Normal}$  21,4 (14,6–31,0)%·МЕ<sup>-1</sup>·кг·ч и короткий ( $p_{4-2}=0,0007$ ) период полураспада 10,7 (9,4–11,8) ч по сравнению с детьми такого же возраста косвенно указывали на присутствие патологических ингибиторов свертывания в следовом количестве, не определяемом в единицах Bethesda (BU/ml) методом M. Kasper (1968) после проведенной процедуры ИИТ.

В четвертой группе нулевые мутации имели все 5 пациентов: бессмысленная мутация – 1, инверсии – 4. Группу крови O (I) имели 2 детей, A (II) – 2, B (III) – 1.

## ■ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследователями ранее было показано, что продолжительность циркуляции введенного в системный кровоток пациента концентрата фактора свертывания крови VIII или IX зависит от количества и фармакокинетических особенностей лекарственного средства [4, 5], полученного из донорской плазмы или с помощью рекомбинантных технологий [16]. Дети в возрасте от 1 до 6 лет демонстрировали более низкое восстановление *recovery in vivo* (1,84 против 2,42%/МЕ×кг<sup>-1</sup>), более высокий клиренс с поправкой на массу тела (4,34 против 3,26 мл×ч<sup>-1</sup>×кг) и более короткий период полувыведения (9,4 ч против 11,2 ч) по сравнению с группой подростков и взрослых в возрасте от 10 до 65 лет [6].

Позднее V. Jimenez-Yuste и соавт. [16], сравнивая 3 возрастные группы (0–5, 6–11 и старше 12 лет) выявили аналогичные тенденции для периода полувыведения, клиренса и показателя восстановления рекомбинантного фактора VIII третьего поколения, содержащего 21 аминокислоту В-домена (BDD rFVIII). Период полураспада, представленный в виде среднего (стандартного отклонения), в возрасте 1–5 лет составлял 7,7 (1,8) ч, в возрасте 6–11 лет – 8,0 (1,9) ч, а в возрасте старше 12 лет – 11,2 (4,2) ч.

Несколько исследовательских групп обнаружили, что период полураспада FVIII значительно короче у пациентов О-группы крови по сравнению с другими не О-группами крови [8]. По данным исследователей, содержание (vWF:Ag) фактора Виллебранда в плазме у пациентов с О-группой ниже, чем у пациентов с В-, А-, АВ-группами крови [16, 17]. Исследователи выявили положительную корреляцию между содержанием фактора Виллебранда в крови реципиента и периодом полужизни введенного фактора VIII. Фактор Виллебранда, стабилизируя молекулу фактора VIII,



предотвращает его биологическую деградацию [15]. По мнению авторов, содержание фактора Виллебранда увеличивается с возрастом, что объясняло тенденцию увеличения периода полураспада фактора VIII по мере взросления детей [19].

Согласно данным, приведенным Andrew M. и соавт. (1987) [20, 21], среднее, минимальное и максимальное значение содержания фактора Виллебранда у 95% здоровых детей обоих полов в возрасте 1–5 лет составляет 0,82 (0,6–1,2) МЕ/мл, в возрасте 6–10 лет – 0,95 (0,58–1,32) МЕ/мл, а в возрасте 11–16 лет – 1,0 (0,46–1,53) МЕ/мл, что мало отличается от значения данного показателя у взрослых – 0,99 (0,5–1,49) МЕ/мл. С учетом отсутствия выраженных различий в содержании фактора Виллебранда у детей в возрасте старше 1 года, можно предположить, что в возрасте 3–7 лет способность фактора Виллебранда взаимодействовать и удерживать в кровотоке фактор VIII ниже, чем у детей более старшего возраста, и может зависеть от генетических аномалий пациента с гемофилией, в том числе и от характера мутаций гена фактора VIII.

Проведенные нами исследования показали, что величина показателя полураспада ( $T_{1/2}$ ) плазменного концентрата фактора свертывания крови VIII у детей 3–7 лет 11,0 (9,6–14,2) ч была меньше, чем у детей 8–13 лет – 13,4 (11,6–17,1) ч ( $p=0,004$ ) и 14–17 лет – 14,9 (12,5–17,3) ч ( $p=0,012$ ). Более короткий период полураспада в возрасте 3–7 лет был обусловлен ( $G = -0,561$ ;  $p=0,002$ ) более высоким клиренсом введенного фактора VIII по сравнению с таковым показателем у подростков и юношей. Период полураспада pdFVIII не зависел от дозы (МЕ/кг) лекарственного средства ( $G = -0,130$ ;  $p=0,292$ ), показателя восстановления ( $G = -0,05$ ;  $p = 0,628$ ) и  $AUC_{Normal}$  ( $G=0,025$ ;  $p=0,806$ ). Величина  $T_{1/2}$  10,4 (9,6–12,4) ч при нулевых мутациях была меньше, чем у пациентов с ненулевыми миссенс-мутациями, –  $T_{1/2}$  12,7 (9,2–15,2) ч ( $p=0,028$ ; U-test). Для данной возрастной группы выявлена тесная взаимосвязь между величиной  $T_{1/2}$  и характером генетических нарушений (нулевые-ненулевые мутации) ( $G=0,611$ ;  $p=0,041$ ). Менее тесная связь выявлена между величиной  $T_{1/2}$  и групповой принадлежностью крови ( $G = -0,314$ ;  $p=0,301$ ). Данное обстоятельство указывает на более выраженное влияние генетических нарушений пациента на период полужизни вводимого pdFVIII, чем групповая принадлежность крови реципиента.

Фармакокинетические исследования объясняют, почему для достижения одного и того же коагулологического эффекта профилактическая доза КФСК VIII у детей 3–7 лет должна быть выше, чем у пациентов старшего возраста, а при одинаковой профилактической дозе интервал между введениями короче. Дополнительное генетическое исследование позволит выявить пациентов с нулевыми мутациями гена фактора VIII, нуждающихся в большей профилактической дозе.

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы подтвердили, что величина показателя полураспада ( $T_{1/2}$ ) плазменного концентрата фактора свертывания крови VIII у детей 3–7 лет 11,0 (9,6–14,2) ч меньше, чем у детей 8–13 лет – 13,4 (11,6–17,1) ч и 14–17 лет – 14,9 (12,5–17,3) ч. Среди детей в возрасте 3–7 лет величина  $T_{1/2}$  10,4 (9,6–12,4) ч при нулевых мутациях была меньше, чем у пациентов с ненулевыми миссенс-мутациями  $T_{1/2}$  12,7 (9,2–15,2) ч. Для данной возрастной группы выявлена тесная взаимосвязь между величиной  $T_{1/2}$  и характером генетических нарушений (нулевые-ненулевые мутации) ( $G=0,611$ ;  $p=0,041$ ).

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Björkman S. Prophylactic dosing of factor VIII and factor IX from a clinical pharmacokinetic perspective. *Haemophilia*. 2003;9(1):101–110.
2. Collins P, Blanchette V.S., Fischer K. Break-through bleeding in relation to predicted factor VIII levels in patients receiving prophylactic treatment for severe hemophilia A. *J ThrombHaemost*. 2009;7(413):20.
3. Collins P, Fischer K., Morfini M. Implications of coagulation factor VIII and IX pharmacokinetics in the prophylactic treatment of haemophilia. *Haemophilia*. 2011;17(2):10.
4. Björkman S., Berntorp E. Pharmacokinetics of Coagulation Factors. Clinical Relevance for Patients with Haemophilia. *ClinPharmacokinet*. 2001;40(11):815–832.
5. Collins P, Björkman S., Fischer K. Factor VIII requirement to maintain a target plasma level in the prophylactic treatment of severe haemophilia A: influences of variance in pharmacokinetics and treatment regimens. *J ThrombHaemost*. 2010;8(2):269–275.
6. Björkman S., Blanchette V.S., Fischer K. 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 ThrombHaemost*. 2010;8:730–736.
7. Björkman S., Folkesson A., Jonsson 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 ClinPharmacol*. 2009;65(989):98.
8. Vlot A.J., Mauser-Bunschoten E.P., Zarkova A.G. The half-life of infused factor VIII is shorter in hemophiliac patients with blood group O than in those with blood group A. *ThrombHaemost*. 2000;83(65):69.
9. Collins P, Björkman S., Fischer K. Factor VIII requirement to maintain a target plasma level in the prophylactic treatment of severe hemophilia A: influences of variance in pharmacokinetics and treatment regimens. *J ThrombHaemost*. 2010;8:269–275.
10. Rossetti L.C. Genotyping the Hemophilia Inversion Hotspot by Use of Inverse PCR. *Clinical Chemistry*. 2005;51(7):1154–1158.
11. Rossett L.C. Developing a new generation of tests for genotyping hemophilia-causative rearrangements involving int 22h and int1h hotspots in the factor VIII gene. *J ThrombHaemost*. 2008;6:830–836.
12. Bagnall R.D. Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A. *Blood*. 2002;99(1):168–174.
13. Hay C.R., S. Broun P.V., Collins P. The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom Hemophilia Centre Doctors Organization. *British Journ. Haematol*. 2006;133:591–605.
14. Morfini M., Lee M., Messori A. The design and analysis of half-life and recovery studies for factor VIII and factor IX. Factor VIII/Factor IX Scientific and Standardization Committee of the International Society for Thrombosis and Haemostasis. *J ThrombHaemost*. 1991;66(384):6.
15. Lee M., Morfini M., Schulman S. Factor VIII/Factor IX. Scientific and Standardization Committee of the International Society for Thrombosis and Haemostasis. Scientific and Standardization Committee Communication. The Design and Analysis of Pharmacokinetic Studies of Coagulation Factors. On behalf of the Subcommittee on Factor VIII and Factor IX of the scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2001:1–9. Available at: <http://www.med.unc.edu/isth/ssc/communications/factor8and9/fvlllpharmaco.pdf>.
16. Jimenez-Yuste V., Lejniec S., Klamroth R. The pharmacokinetics of a B-domain truncated recombinant factor VIII, turoctocogalfa (NovoEight(R)), in patients with hemophilia A. *J ThrombHaemost*. 2015;13:370–379.
17. Fijnvandraat K., Peters M., ten Cate J.W. Inter-individual variation in half-life of infused recombinant factor VIII is related to pre-infusion von Willebrand factor antigen levels. *Br J Haematol*. 1995;91:474–476.
18. Hazendonk H.C., Lock J., Mathot R.A. Perioperative treatment of hemophilia A patients: blood group O patients are at risk of bleeding complications. *J ThrombHaemost*. 2015;14:468–478.
19. Konkle B.A. Von Willebrand factor and aging. *J ThrombHaemost*. 2014;40:640–644.
20. Andrew M., Vegh P., Johnston M. Maturation of the hemostatic system during childhood. *Blood*. 1992;80(8):1998–2005.
21. Andrew M., Paes B., Milner R. Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood*. 1987;70(1):165–172.