ГЕНЕТИКА, 2021, том 57, № 8, с. 859–870

ОБЗОРНЫЕ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 616.151.514-056.7,575.224.22,575.167

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ИНГИБИТОРНОЙ ФОРМЫ ГЕМОФИЛИИ А

© 2021 г. О. С. Пшеничникова[1], В. Л. Сурин[1, *]

[1]Национальный медицинский исследовательский центр гематологии, Москва, 125167 Россия

*e-mail: vadsurin@mail.ru

Поступила в редакцию 17.09.2020 г.
После доработки 14.01.2021 г.
Принята к публикации 04.02.2021 г.

Обзор посвящен описанию возможных механизмов возникновения ингибиторной формы гемофилии А. Наиболее полно описаны генетические факторы, но также уделено внимание и факторам иной природы, а также их сочетаниям, которые могут провоцировать синтез ингибирующих антител. Среди генетических детерминант особое внимание уделено характеру нарушений в гене фактора VIII, а также функциональным SNP в генах белков, регулирующих иммунную систему, которые изучались разными исследовательскими группами с применением как классических, так и самых современных молекулярно-генетических методов. Характер мутаций в гене *F8* остается наиболее объективным генетическим фактором риска возникновения ингибитора, причем особый интерес представляют работы по изучению сочетания вызывающих синтез антител миссенс-мутаций в гене *F8* с аллелями *HLA* II класса. Для других генетических маркеров требуются дальнейшие исследования с целью верификации их предполагаемой роли в развитии ингибиторной формы гемофилии А. Среди негенетических факторов развитие ингибитора в значительной степени зависит от типа препарата FVIII и интенсивности терапии. Однако, несмотря на многочисленные исследования, ингибиторная форма гемофилии остается наиболее сложным для терапии вариантом данного заболевания. В решении этой проблемы может помочь создание алгоритмов для предсказания риска развития ингибитора с помощью интеграционного анализа, учитывающего множественные факторы как генетической, так и другой природы и их взаимодействие.

Ключевые слова: гемофилия А, ингибиторная форма, генетические факторы риска, ген *F8*, гены регуляторов иммунной системы.

DOI: 10.31857/S0016675821080117

Гемофилия А представляет собой наследственное Х-сцепленное нарушение системы свертывания крови, связанное с дефицитом или дисфункцией фактора свертывания крови FVIII, обусловленными мутациями в гене *F8* [1].

Современные достижения в лечении этого заболевания посредством внутривенного введения различных препаратов экзогенного фактора FVIII значительно улучшили качество жизни больных за последние годы, однако данный вид терапии привел к появлению одного из самых серьезных осложнений гемофилии А – выработке аллоантител анти-FVIII, ингибирующих активность фактора FVIII у 10–15% ранее нелеченных больных [1, 2]. Ингибитор развивается преимущественно у пациентов с тяжелой формой заболевания, но может появляться также при средней и легкой формах, если эндогенный FVIII имеет эпитопы, отличные от таковых на терапевтическом факторе [3]. Впервые действие ингибитора, названного “антикоагулянтом”, было зафиксировано в 1940-х гг. у больного гемофилией через 3 часа после введения препарата фактора, в результате чего началось кровотечение и увеличилось время образования сгустка. Только в 1960–1970-х гг. было установлено, что “антикоагулянты” представляют собой антитела и вырабатываются у больных гемофилией в ответ на заместительную терапию [4].

Возникновение ингибиторов значительно осложняет контроль кровотечений и проведение хирургических процедур, а также увеличивает смертность больных и снижает качество их жизни. Ингибиторы FVIII преимущественно представлены поликлональными IgG, главным образом подклассов IgG4, IgG1 и в меньшей степени IgG2, к множественным эпитопам в пределах A2, A3 и C2 доменов FVIII [4–8]. Было показано, что у больных гемофилией А высокоаффинные антитела IgG4 к FVIII образуются задолго до проявления ингибиторного эффекта и, возможно, могут служить индикаторами риска его возникновения [7]. Спектр антител варьирует у разных больных и

может меняться в ходе развития иммунного ответа [9]. В настоящее время понимание патофизиологических механизмов, ведущих к возникновению ингибиторных антител, вышло на качественно-новый уровень. Стало очевидным, что это многофакторный процесс, в нем участвуют клетки разных типов, цитокины и другие иммунные регуляторные молекулы, степень участия и действие которых определяются как генетическими, так и негенетическими факторами. Тем не менее надежно прогнозировать иммунный ответ больного на введение препарата фактора и риск развития ингибитора все еще невозможно.

Цель данного обзора – попытка обобщить все имеющиеся данные о факторах, влияющих на возникновение ингибиторов у больных гемофилией А.

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ

Иммунная толерантность к собственным антигенам (эндогенный фактор FVIII) обусловлена удалением из тимуса Т-клеток, распознающих их (аутореактивные Т-клетки). Однако у больных гемофилией антигенов FVIII в тимусе нет, соответственно комплексы пептид–MHC II не образуются, FVIII-специфичные Т-клетки остаются и обеспечивают базу для дальнейшего иммунного ответа на введение экзогенного фактора [10].

В инициацию иммунного ответа на введение экзогенного фактора FVIII вовлечены несколько типов клеток: антигенпрезентирующие клетки (АПК), Т- и В-лимфоциты [10]. Синтез IgG-антител с высокой аффинностью требует активации CD4+ Т-лимфоцитов соответствующими сигналами от АПК [11]. У ранее нелеченных больных в качестве АПК выступают преимущественно дендритные клетки, в то время как у больных с устоявшимся иммунным ответом основными АПК являются В-лимфоциты [12].

При заместительной терапии вводимый фактор FVIII связывается с поверхностью АПК, попадает внутрь путем эндоцитоза и протеолитически расщепляется на линейные олигопептиды длиной 13–18 аминокислот с коровой последовательностью из 7–10 аминокислотных остатков, взаимодействующей с главным комплексом гистосовместимости класса II (major histocompatibility complex class II, MHC II) [10]. После переноса на поверхность АПК комплексы пептид–MHC II презентируются антигенраспознающим рецепторам (T-cell receptors, TCR) CD4+ Т-клеток, что приводит к их пролиферации, дифференциации на эффекторные Т-клетки и Т-клетки памяти и передаче информации антиген-специфичным В-клеткам. Дальнейшая активация Т-лимфоцитов за счет образования комплексов между белками CD80/CD86 и CD28 сопровождается выбросом цитокинов (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IFN-γ), связывание которых с соответствующими рецепторами (CK-R) приводит к активации генов иммунного ответа и костимулирующих белков на поверхности В-клеток (CD40, CD40L, CD154, CD28 и CD80/86), обеспечивая их пролиферацию, дифференциацию и продукцию антител к FVIII. Также формируются долгоживущие Т- и В-клетки памяти, которые остаются в костном мозге, лимфоузлах или селезенке. В-клетки памяти, прошедшие через лимфоузлы и соматический гипермутагенез, обладают более высокой аффинностью к антигену, чем наивные В-клетки [10]. Снижение активации Т-клеток осуществляется за счет конкурентного связывания цитотоксичного антигена Т-лимфоцитов (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CTLA4) с молекулами CD80/CD86 на АПК. CTLA4 экспрессируется только на активированных Т-клетках и на меньшем уровне, чем CD28, однако его аффинность к CD80/CD86 в 20 раз выше. Важная роль пути CD28/CD80/CD86/CTLA4 во взаимодействии между АПК и CD4+ Т-клетками была показана в ряде работ [13–15].

Для того чтобы активировать CD4+ Т-клетки и придать им способность стимулировать антиген-специфичные В-клетки к дифференцировке в секретирующие антитела плазматические клетки и/или В-клетки памяти, часто требуются дополнительные триггеры, или сигналы тревоги [12, 16]. Эти сигналы могут иметь разную природу и возникать при взаимодействии с патогенами, повреждении ткани, стрессе или системных воспалительных ответах. Они представляют собой интерлейкины (IL), белки теплового шока, аденозинтрифосфат, реактивные формы кислорода и факторы роста [17]. Независимый от Т-клеток иммунный ответ на FVIII может быть важен для образования не-нейтрализующих и/или низкоаффинных антител [12]. Было показано, что активация врожденного иммунитета у больных гемофилией посредством распознающего патогены рецептора TLR9 (Toll-like receptor 9) коррелирует с развитием ингибитора, что свидетельствует в пользу участия системы распознавания сигналов тревоги в развитии иммуногенности FVIII.

Были описаны различные рецепторы эндоцитоза, ответственные за удаление и деградацию FVIII, однако лишь рецепторы, специфичные к маннозе (в частности, CD206), расщепляют FVIII и презентируют расщепленные пептиды Т-клеткам таким образом, чтобы запустить иммунный ответ [18]. Однако блокада этих рецепторов маннаном не препятствует поглощению FVIII дендритными клетками, что, вероятно, связано с тем, что в этом процессе участвуют какие-то другие, еще не описанные эндоцитозные рецепторы [19]. Эти предположения согласуются с негативным влиянием на эндоцитоз моноклонального анти-

тела KM33, мишенью которого является эпитоп на домене C1 FVIII [20]. Роль фактора фон Виллебранда (von Willebrand factor, VWF) в качестве иммунопротективного шаперона для FVIII до сих пор неясна, возможно он действует по принципу антигенной конкуренции и/или уменьшает эндоцитоз фактора FVIII дозозависимым способом, предотвращая активацию иммунных эффекторов [19, 21].

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ

Нейтрализующие антитела к FVIII состоят, как упоминалось выше, преимущественно из поликлональных IgG-антител, главным образом подклассов IgG4, IgG1 и IgG2, к множественным эпитопам в пределах A2, A3 и C2 доменов FVIII [4–6, 8]. Считается, что главным механизмом, посредством которого антитела нейтрализуют фактор, является стерический эффект, т.е. пространственная блокировка молекулы, однако также был предложен вариант образования иммунных комплексов с последующим усиленным протеолизом FVIII [22].

Ингибиторы могут разными путями взаимодействовать с FVIII: блокировать сайт расщепления тромбином в области между доменами A1 и A2 за счет связывания ингибиторов с доменом A2; блокировать сайт связывания домена C2 с фосфолипидами; связываясь с доменами A3 и/или C2, нарушать взаимодействие FVIII с vWF или с активированным фактором IX; блокировать отделение FVIII от vWF в результате разрезания тромбином. Против домена C2 действуют два вида ингибиторов: классический и неклассический. Классические изоформы блокируют связи FVIII–vWF или FVIII–фосфолипиды, неклассические изоформы обладают большей специфичностью к комплексу FVIII–vWF, затрудняя его диссоциацию. Исследования на мышиных моделях показали, что при неклассических изоформах ингибитора требуется в 2 раза большая концентрация препарата фактора для предотвращения кровотечения [23].

ВЫЯВЛЕНИЕ ИНГИБИТОРА

Активность ингибитора определяется путем титрования плазмы пациента различными методами, среди которых наиболее распространены тест Бетезда и модифицированный тест Нимеген-Бетезда. Одна единица Бетезды (БЕ) блокирует 50% активности FVIII в нормальной плазме. Ингибитор классифицируется в зависимости от титра. Высокий титр ингибитора соответствует уровню 5 БЕ и выше, низкий титр ингибитора соответствует уровню ниже 5 БЕ, но выше уровня 0.6 БЕ. Титр ингибитора может изменяться с течением времени: некоторые ингибиторы с низким титром недолговечны и исчезают без лечения, другие остаются с низким титром или прогрессируют до высокого титра после предъявления фактора FVIII. Эта характеристика важна, так как больных с низким титром и низким уровнем ответа можно лечить стандартным замещением фактора, хотя и в более высоких концентрациях, чтобы подавить ингибитор. Больных с высоким титром или с высоким уровнем ответа ингибитора можно эффективно лечить только с помощью шунтирующих препаратов или новых видов незаместительной терапии [1].

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА

Вклад генетических факторов в развитие ингибитора отмечался во многих исследованиях. Было показано, что риск развития ингибитора у детей в семьях, где он ранее выявлялся, в 3–6 раз выше [24–27]. В исследовании MIBS (Malmö International Brother Study) было установлено, что статус по отношению к ингибитору у братьев совпадал в 78% случаев, что значительно выше ожидаемого по сравнению с больными, не являющимися родственниками [24].

Раса и этническая принадлежность

Различия в риске развития ингибитора между представителями разных рас и этнических групп неоднократно отмечались исследователями. В частности, оказалось, что у больных гемофилией африканского и латиноамериканского происхождения ингибитор выявляется значительно чаще, что подчеркивает важность влияния генетических факторов [27–30]. На французской когорте пациентов было показано, что у лиц не-европеоидной расы риск развития ингибитора в 3.5–6.7 раз выше [26]. Предполагается, что в случае больных африканского происхождения это объясняется повышенной частотой встречаемости определенного гаплотипа *F8*. Выделяют шесть различных гаплотипов *F8*, которые определяются комбинацией из четырех несинонимичных SNP (табл. 1). Два из них (H1 и H2) встречаются во всех расовых группах, три (H3, H4 и H5) – только в африканской популяции, а H6 – только в китайской популяции [28].

Поскольку препараты FVIII (как плазматические, так и рекомбинантные) имеют преимущественно гаплотипы H1 и H2, это может приводить к развитию иммунного ответа у больных с другими гаплотипами [31]. С другой стороны, в одном из исследований данная гипотеза не подтвердилась, частота развития ингибитора не коррелировала с гаплотипами *F8* у обследованных больных [30]. Другие генетические маркеры, такие как аллели *HLA* II и полиморфные профили генов-иммунорегуляторов, также могут варьировать по частоте в разных этнических группах [31].

Таблица 1. Гаплотипы *F8* и их распространение в мире

Полиморфизм	Гаплотип					
	H1	H2	H3	H4	H5	H6
p.Arg484His	Arg484	Arg484	Arg484	His484	Arg484	Arg484
p.Arg776Gly	Arg776	Arg776	Arg776	Arg776	Arg776	Gly776
p.Asp1241Glu	Asp1241	Glu1241	Glu1241	Glu1241	Asp1241	Glu1241
p.Met2238Val	Met2238	Met2238	Val2238	Val2238	Val2238	Met2238
Распространение	Весь мир	Весь мир	Африка	Африка	Африка	Китай

Типы мутаций в гене F8

Основным выявленным фактором риска возникновения ингибитора является тип нарушения в гене *F8*, который локализован на дистальном конце длинного плеча X-хромосомы (Xq28), имеет протяженность в 186 тпн (тыс. пар нуклеотидов) и состоит из 26 экзонов. Для гемофилии А описано более 3500 различных мутаций всех типов (Factor VIII Variant Database: www.factorviii-db.org; Human Gene Mutation Database: www.hgmd.cf.ac.uk), две из которых являются мажорными во всех популяциях. Это инверсия интрона 22 *inv22* [32] и инверсия интрона 1 *inv1* [33], встречающиеся у 45–50% и у 1–6% больных с тяжелой формой заболевания соответственно. Риск развития ингибитора у больных с тяжелой формой заболевания составляет 20–30%, в то время как у больных со средней и легкой степенью тяжести – 5–10% [34–36].

Вопрос о взаимосвязи между типом мутации в гене *F8* и риском возникновения ингибитора обсуждался очень активно. В 1995 г. впервые было показано, что встречаемость ингибитора у больных с тяжелой формой гемофилии А, обусловленной крупными делециями, нонсенс-мутациями и инверсией *inv22* (35.7, 38.4 и 34.4% соответственно), была в 7–10 раз выше, чем у больных с микроделециями/микроинсерциями (7.4%) и миссенс-мутациями (4.3%) [37]. Позже был проведен ряд исследований, посвященных этому вопросу, на различных выборках больных и с привлечением мутационных баз данных, в ходе которых корректировался состав групп высокого и низкого риска развития ингибитора. В частности, было показано, что нонсенс- и миссенс-мутации в легкой цепи FVIII значительно чаще приводят к развитию ингибитора, чем повреждения в тяжелой цепи, в связи с тем что в легкой цепи расположены эпитопы, участвующие в связывании с HLA MHC II [3, 34, 38].

В 2012 г. был проведен метаанализ данных для 5383 больных тяжелой формой гемофилии А, участвовавших в 30 исследованиях [39]. В этой работе было показано, что риск развития ингибитора максимален при носительстве мутаций, приводящих к полному прекращению синтеза фактора, таких как крупные делеции и нонсенс-мутации. Достаточно высокая частота ингибитора была отмечена также при других мутациях: микроделециях/микроинсерциях (frameshift-мутации), мутациях сплайсинга в консервативных позициях +1, +2, –1, –2 и некоторых миссенс-мутациях (Arg593Cys, Tyr2105Cys, Arg2150His, Arg2163His, Trp2229Cys и Pro2300Leu), хотя в целом генные дефекты, приводящие к ограничению синтеза или нарушению структуры белка, были ассоциированы с меньшим риском развития ингибитора. По результатам данного метаанализа инверсия *inv22* реже вызывает образование ингибиторных антител, чем крупные делеции и нонсенс-мутации, что согласуется с недавним обнаружением факта синтеза FVIII у больных с инверсией в виде двух несекретируемых полипептидных цепей, что может приводить к развитию толерантности к FVIII [40].

Обобщение данных, полученных разными исследовательскими группами, привело к следующему распределению типов мутаций в гене *F8* по отношению к риску развития ингибитора [1]:

1) высокий риск возникновения ингибитора: крупные делеции (несколько экзонов), нонсенс-мутации на легкой цепи;

2) умеренный риск: крупные делеции (один экзон), нонсенс-мутации на тяжелой цепи, инверсия *inv22*; инверсия *inv1*;

3) низкий риск: микроделеции/микроинсерции, миссенс-мутации, мутации сплайсинга.

Классификация миссенс-мутаций по их способности провоцировать ингибиторный эффект наиболее сложна, поскольку связана с идентификацией иммуногенных эпитопов FVIII. При подобных нарушениях в организме циркулирует мутантный FVIII, отличающийся от нормального всего на одну аминокислоту, но в каких-то случаях это приводит к образованию ингибитора, а в каких-то – нет.

Была выполнена работа по изучению влияния нарушений в гене *F8* у больных со средней и легкой формой гемофилии, в которой было выявлено 19 ассоциированных с развитием ингибитора

миссенс-мутаций, семь из которых в предыдущих работах не указывались. Большая часть этих нарушений относилась к легкой цепи FVIII (домены A3, C1, C2) и лишь небольшая их часть затрагивала домен A2 тяжелой цепи [35]. В другой работе также было показано, что миссенс-мутации в доменах C1 и C2 чаще приводят к образованию антител. Значительно выше риск развития ингибитора был в том случае, когда исходная аминокислота относилась к классу небольших гидрофобных аминокислот (Ala, Val, Phe, Pro, Met, Ile, Leu, Trp). У больных с миссенс-мутациями, приводящими к тяжелой форме гемофилии, ингибитор встречался в 4 раза чаще, чем при сходных нарушениях, вызывающих среднюю и легкую форму заболевания [36]. В связи с этим актуальной представляется оценка степени патогенности миссенс-мутаций. Недавно с использованием анализа *in silico* было проведено исследование известных миссенс-мутаций в гене *F8* и показано, что классификация, основанная на оценке уровня их патогенности, позволяет более точно предсказывать риск развития ингибитора [41].

Классификация различных типов мутаций по их способности вызывать образование ингибитора продолжает совершенствоваться, но при этом многие вопросы остаются неясными. В частности, тот факт, что при нонсенс-мутациях антитела к фактору VIII возникают чаще, чем при микроделециях или микроинсерциях, хотя по своим последствиям эти типы нарушений родственны и приводят к синтезу укороченного белка с той лишь разницей, что в случае мутаций со сдвигом рамки считывания он будет иметь на карбоксильном конце какое-то количество лишних аминокислот.

Кроме типа мутации в гене *F8* на образование ингибитора могут оказывать влияние и другие генетические факторы.

Влияние изменчивости генов иммунного ответа на риск развития ингибитора

Была выявлена связь между повышенным риском возникновения ингибиторов к FVIII и SNP в других генах, помимо *F8*. Определяемые ими аминокислотные замены могут увеличивать риск развития ингибитора в результате конформационных изменений и/или нарушения функции соответствующих белков. В частности, такая корреляция была выявлена для гена лейкоцитарного антигена человека *HLA* (human leukocyte antigen) MHC II, молекулы которого играют важную роль при презентировании пептидов FVIII CD4+ Т-хелперам, а также для генов про- и противовоспалительных цитокинов (например, *IL-2*, *IL-10*, *TNF*-α и *CTLA4*) [42–45].

В европейских популяциях большая часть ассоциаций с риском возникновения ингибитора была выявлена для следующих аллелей *HLA* MHC II: *HLA-DRB1**14, *HLA-DRB1**15, *HLA-DQB1**06:02 и *HLA-DQB1**06:03 [1, 46, 47]. И напротив, аллели *HLA-DRB1**16 и *HLA-DQB1**05:02 ассоциировались с меньшим риском развития ингибитора [47]. В работе 2009 г., проведенной на когорте из 260 больных с тяжелой формой гемофилии, была показана высокая частота встречаемости генотипа *HLA-DRB1**15/*HLA-DQB1**06:02, аллеля –308A гена *TNF*-α и аллеля –1082G гена *IL-10* при ингибиторной форме заболевания [46]. Наиболее обособленной из европейских популяций оказалась греческая, для которой повышенная частота встречаемости ингибитора отмечалась у носителей аллелей *DRB1**01, *DRB1**01:01 и *DQB1**05:01, аллели *HLA* (*DRB1**15 и *DQB1**06:02) были редкими в целом, а аллели *DRB1**11, *DRB1**11:01, *DQB1**03, *DQB1**03:01 и генотип *DRB1**11/*DQB1**03:01, предположительно, обладали протективной функцией [48].

Результаты работ, проведенных в различных частях мира, свидетельствуют в пользу того, что распределение аллелей *HLA* MHC II различается в разных регионах, поэтому экстраполировать выводы, полученные на одной из популяций, нужно очень аккуратно. Так, на корейской популяции пациентов с тяжелой формой гемофилии было показано, что *HLA-DRB1**15 и *HLA-DRB1**05:01 обладают протективной функцией в противоположность результатам европейских исследований [49]. В Южной Бразилии у больных с ингибиторной формой заболевания чаще встречались аллели *HLA-C**16 *HLA* I класса и *HLA-DRB1**14 HLA II класса [50]. В одном из последних исследований показана ассоциация аллеля *HLA-DRB1**13 с высоким риском развития ингибитора и тенденция к пониженной вероятности возникновения антител у носителей *HLA-DRB1**07 в Индии [51].

В одном из обзоров было высказано предположение, что расхождения в результатах исследований влияния типа мутации в гене *F8* на риск развития ингибитора, а также различия в образовании ингибитора у сиблингов могут объясняться числом предполагаемых эпитопов на введенной молекуле, доступных для Т-клеток, а также способностью формировать стабильные комплексы HLA-пептид [12]. С использованием методов *in silico* было показано, что толерантность Т-клеток к FVIII и риск развития ингибитора коррелируют с аффинностью связывания олигопептидов FVIII с аллелями *HLA* у больных с точечными мутациями [52, 53]. Однако вероятнее всего способность молекул MHC II презентировать не менее одного экзогенного пептида FVIII является необходимым, но не достаточным условием для того, чтобы стимулировать Т-хелперы и выработать нейтрализующие антитела [47].

Также были предприняты попытки оценить риск развития ингибитора для отдельных сочетаний миссенс-мутаций в гене *F8* и известных 14 аллелей HLA-DR, что было выполнено *in silico* на базе машинного обучения с использованием информации из баз данных о различных миссенс-мутациях и встречаемости ингибитора при каждой из них. Была проанализирована возможность создания комплекса MHC II–пептид для всех возможных 15-меров, которые могут образоваться из препарата мутантного фактора, и всех аллелей *HLA-DR* [54]. Для небольшого набора миссенс-мутаций *F8* (6%) была определена степень их иммуногенности, в соответствии с которой они были отнесены к группам низкого/незначительного или высокого риска для всех аллелей *HLA-DR*. Мутации, попавшие в группу высокого риска, уже были описаны ранее как ассоциированные с развитием ингибитора. Для остальных проанализированных в этой работе мутаций отнесение к той или иной группе было затруднено, так как результат зависел от того, с каким именно аллелем *HLA-DR* взаимодействует фактор и на какие пептиды он расщепится для дальнейшего взаимодействия с комплексом MHC [54]. Данное исследование, безусловно, имело ряд ограничений, однако оно положило начало новым подходам к изучению комплексного влияния генетических факторов на возникновение ингибитора и структурных особенностей их взаимодействия с препаратом FVIII [30, 55].

Цитокины также могут играть определенную роль в формировании ингибитора, так как они участвуют в иммунном ответе, опосредованном антителами. В частности, была выявлена взаимосвязь с очень высоким уровнем статистической значимости между возникновением ингибитора и одним из аллельных вариантов микросателлита $(CA)_n$ в гене *IL-10* [42, 45]. Ранее была показана взаимосвязь между наличием этого же аллеля и высоким уровнем продукции антител при некоторых аутоиммунных заболеваниях и множественной миеломе [56, 57]. Также в ряде исследований был показан повышенный риск развития ингибитора у носителей гаплотипов ACC и ATA в гене *IL-10* (SNP –1082G>A, –819C>T и –592C>A) [48, 58]. Еще в одном исследовании показали, что гаплотип CTT полиморфизмов rs6667202, rs4072226 и rs4072227 в гене *IL-10* ассоциирован с повышенным риском развития ингибитора, в то время как два редких гаплотипа (CGCGT и TACAT) полиморфизмов rs4072227, rs1701586, rs880790, rs885334 и rs12565617 были связаны с пониженным риском [45]. Молекула IL-10 является важным иммунным медиатором, и механизм ее действия включает в себя модификацию пролиферации Т-клеток и продукции цитокинов, усиление пролиферации регуляторных Т-клеток, пролиферацию и созревание В-клеток, а также влияние на АПК. Вариации внутри промоторной области гена *IL-10* приводят к повышению уровня экспрессии, поэтому его потенциальная роль в развитии ингибитора выглядит весьма убедительной [12]. Предполагается, что IL-10 участвует в иммунном ответе при вирусных инфекциях, таких как ВИЧ, и даже были данные о том, что ассоциация IL-10 с развитием ингибитора сильнее для ВИЧ-позитивных больных, однако достоверность этого наблюдения остается под вопросом [45]. В другом исследовании на индийской популяции был показан значительный протективный эффект полиморфизма *IL-4*–590C/T (rs2243250) [51]. Этот цитокин продуцируется CD4+-Th2-клетками, NK-клетками, базофилами и тучными клетками, он играет важную роль в дифференцировке наивных Т-клеток, в переключении класса иммуноглобулина на IgE и IgG4 (последний рассматривается как основной изотип иммуноглобулинов против FVIII), приводит к усилению экспрессии молекул MHC II [51]. Кроме того, была выявлена протективная роль гаплотипа TGCCTG полиморфизмов rs10027390, rs2069772, rs2069779, rs2069778, rs2069762, rs4833248 в гене *IL2* по отношению к развитию ингибитора [45].

В одной из работ описан повышенный риск возникновения ингибитора при генотипе *A/A* полиморфизма c.–308G/A в гене *TNF*-α, кодирующем важный цитокин с потенциальным провоспалительным и иммуномодулирующим эффектом, хотя авторы подчеркивали необходимость дальнейших исследований, поскольку цитокины редко проявляют свои свойства изолированно от других факторов [43]. Однако в других исследованиях ассоциация этого полиморфизма с риском развития ингибитора не подтвердилась [45, 48].

Недавно было выполнено исследование, посвященное влиянию SNP в гене *MBL2*, который кодирует лектин, связывающий маннозу (MBL, mannose binding lectin), на риск развития ингибитора при гемофилии А [59], поскольку лишь рецепторы, специфичные к маннозе, расщепляют FVIII и презентируют расщепленные пептиды Т-клеткам необходимым для запуска иммунного ответа образом [18]. Минорные несинонимичные нуклеотидные замены в кодонах 54 (аллель *B*), 57 (аллель *C*) и 52 (аллель *D*) приводят к аминокислотным заменам, которые препятствуют олигомеризации белка, мешая его нормальному взаимодействию с протеазами. В группе больных с ингибиторной формой гемофилии частота встречаемости аллеля B была выше, чему у больных без ингибитора, а носители двух любых сочетаний из аллелей *B*, *C*, *D* относились только к группе с ингибитором. Кроме того, комбинация фенотипов с низкой продукцией MBL/высокой продукцией TNF-α (определяемой по полиморфизму – c.–308G/A в гене *TNF*-α) встречалась значительно чаще в группе с ингибиторной формой гемофилии,

и наоборот, комбинация фенотипов с высокой продукцией MBL/низкой продукцией TNF-α статистически значимо чаще встречалась в группе без ингибитора [59].

Также было проведено исследование у больных с ингибиторной тяжелой формой гемофилии А SNP (–318*C/T*) гена *CTLA4*, для *T*-аллеля которого был показан эффект модуляции иммунного ответа при ряде аутоиммунных заболеваний [44]. В данной работе был показан значительный защитный эффект *T*-аллеля этого полиморфизма, который в другой работе, однако, не подтвердился [58].

Изучалась взаимосвязь между возникновением ингибитора к FVIII и микросателлитным полиморфизмом в промоторе гена *HMOX1*, кодирующего гемоксигеназу 1 – индуцируемый стрессом фермент с противовоспалительными свойствами, снижающий иммуногенность препарата фактора FVIII у экспериментальной линии мышей, дефицитных по FVIII. Генотипы с большим количеством (GT)-повторов чаще встречались у больных с ингибиторной формой гемофилии. Возможно, у больных с меньшим количеством повторов слабых воспалительных сигналов в месте повреждения достаточно для того, чтобы индуцировать гемоксигеназу 1 и, таким образом, замедлить созревание АПК и снизить вероятность развития иммунного ответа на препарат FVIII. Есть прямые указания на то, что большее количество (GT)-повторов в промоторе гена *HMOX1* ассоциировано с пониженной экспрессией фермента [60].

Кроме того, была выявлена ассоциация между возникновением ингибитора и полиморфизмом (c.392G>A) в гене *FCGR2A*, кодирующем один из группы рецепторов FcγR к IgG, экспрессирующихся в иммунных клетках [61]. Низкая аффинность рецепторов Fcγ модулирует про- и противовоспалительные ответы. Генотип *A/A* ассоциирован с трехкратным увеличением риска развития ингибитора в группе с тяжелой формой гемофилии А.

В одном из исследований было показано, что генотипы *T/T* и *G/T* SNP в гене *CD86* (rs2681401) ассоциированы с низким риском развития ингибитора [62].

Для того чтобы лучше понять генетическую основу возникновения ингибитора, большая панель SNP в генах, вовлеченных в иммунный ответ, была проанализирована в трех независимых когортах: MIBS, HIGS (Hemophilia Inhibitor Genetics Study) и HGDS (Hemophilia Growth and Development Study) [2]. 53 из 14626 SNP были предикторами возникновения ингибитора ($p > 0.05$ как минимум в двух когортах из трех), но только 13 из них имели высокую статистическую значимость при метаанализе ($p < 0.001$). Восемь из этих SNP, относящихся к генам *PDGFRB*, *PCGF2*, *HSP90B1*, *F13A1*, *IGSF2*, *ALOX5AP*, *MAP2K4* и *PTPRN2*, предположительно обеспечивали защитный эффект, в то время как остальные пять SNP в генах *CD44*, *CSF1R*, *DOCK2*, *MAPK9* и *IQGAP2* ассоциировались с потенциальным риском возникновения ингибитора. Многие из этих маркеров вовлечены в различные процессы, опосредованные В- и/или Т-клетками, другие гены кодируют молекулы, участвующие во внутриклеточных сигнальных путях. Наличие SNP с протективной функцией, снижающих степень выраженности иммунного ответа, может отчасти объяснять, почему у некоторых больных хирургические вмешательства и серьезные травмы стимулируют развитие ингибитора, а у других нет, вне зависимости от тяжести гемофилии. Для полиморфизмов в иммунорегуляторных генах (–1082A/G в *IL-10*, –308G/A в *TNF*-α и –318C/T в *CTLA4*), ранее ассоциировавшихся с риском возникновения ингибитора в независимых когортах, в данном исследовании подобный эффект выявлен не был. Это может быть связано с различиями в формировании исследуемых когорт, а также с низкой частотой встречаемости минорных аллелей, ассоциированных с риском развития ингибитора. Кроме того, влияние негенетических факторов в данном исследовании не принималось во внимание [2].

Недавно в Иране была выполнена еще одна работа, в которой проверяли взаимосвязь между риском развития ингибитора и полиморфизмами в 16 генах, связанных с иммунным ответом или провоспалительными функциями (*ALOX5AP*, *CSF1R*, *CD44*, *HSP90B1*, *F13A1*, *MAP2K4*, *PTPRN2*, *PDGFRB*, *CTLA4*, *TNF*-α, *PCGF2*, *IQGAP2*, *MAPK9*, *DOCK2*, *IL-10* и *IL-5*). Повышенный риск развития ингибитора выявили только при генотипе *T/T* гена *F13A1* (rs13206518), генотипах *C/C* и *C/T* гена *DOCK2* (rs1863993) и генотипе *T/T* гена *MAPK9* (rs4147385) [63].

С целью выявления новых генетических вариаций, обусловливающих риск развития ингибитора, в Италии было проведено полноэкзомное секвенирование для двух небольших групп больных гемофилией с ингибитором и без него ($n = 17$ и $n = 9$ соответственно) [64]. Эти группы различались по 28 полиморфизмам в 26 генах, относящихся к генам иммуноглобулинов и иммуноглобулиноподобным генам, локусам HLA, хемокиновым рецепторам и их лигандам, интерлейкинам и другим модуляторам иммунной системы, а также к генам, участвующим в механизмах репарации ДНК при V(D)J рекомбинации. Из них 17 полиморфизмов относились к группе риска (встретились только в группе больных с ингибитором), а 11, вероятно, обладали протективным действием (встретились только у больных без ингибитора). Однако в ходе дальнейшего исследования на расширенной выборке с использованием метода генотипирования TaqMan данные полноэкзомного

секвенирования не нашли убедительного подтверждения [64].

Взаимосвязь между описанными выше генетическими вариантами и возникновением ингибитора продолжает вызывать серьезные дискуссии из-за слабой воспроизводимости результатов, несопоставимого размера выборок, использования разных аналитических и методических подходов в отдельных исследованиях. В связи с этим на сегодняшний день только характер мутации в гене *F8* остается наиболее объективным генетическим фактором риска возникновения ингибитора, причем особый интерес представляют работы по изучению сочетания вызывающих синтез антител миссенс-мутаций в гене *F8* с аллелями *HLA* II. Следует, однако, отметить, что адекватная оценка накопленных данных невозможна без учета многочисленных негенетических факторов.

НЕГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА

Развитие ингибитора определяется не только генетическими факторами, так как известны случаи расхождения (10% случаев) по ингибиторному статусу у однояйцевых близнецов, чей генотип идентичен [24]. Другие факторы можно разбить на пять групп: 1) осложнения во время беременности/родов и грудное вскармливание; 2) возраст начала терапии, причина первого введения фактора, профилактическая терапия или терапия по требованию; 3) вакцинации, инфекции, экстраваскулярное введение, сопутствующие иммунологические нарушения; 4) тяжелые кровотечения, интенсивность терапии, операционные вмешательства, внутривенное капельное или болюсное введение дефицитного фактора; 5) тип препарата фактора [65]. Влияние всех этих факторов неоднократно исследовалось и обсуждалось, однако данные, полученные для большинства из них, весьма противоречивы [1]. Основная проблема с подобными исследованиями заключается в том, что они преимущественно являются ретроспективными, когорты анализируемых больных отличаются значительной гетерогенностью, и поэтому о достоверности их результатов судить сложно [4, 65].

Наиболее значимым негенетическим фактором риска развития ингибитора является тип препарата фактора FVIII (плазматический или рекомбинантный). Результаты SIPPET, первого рандомизированного клинического испытания по сравнению различных классов препаратов FVIII, и последнего исследования Французской национальной когорты свидетельствовали о повышенной иммуногенности рекомбинантных препаратов фактора FVIII для ранее нелеченных больных, причем в наибольшей степени это относилось к пациентам с мутациями в гене *F8*, ассоциированными с низким риском развития ингибитора [1, 66].

Один из экзогенных факторов, с объективностью которого согласны многие исследователи, – это интенсивность терапии, подразумевающая дозу препарата и частоту его введения. С увеличением дозы препарата и сокращением временных промежутков между введениями возрастает риск появления ингибитора [1, 4, 61, 67, 68].

Следует также отметить, что иммунная реакция при гемофилии может активироваться сигналами опасности от подвергшихся стрессу, поврежденных или умирающих клеток [69]. В связи с этим хирургические операции и тяжелые кровотечения могут инициировать сигнальную систему у больных гемофилией, приводя к иммунной реакции на введение FVIII [4, 65, 67].

СТРАТИФИКАЦИОННЫЕ АНАЛИЗЫ

Предпринимались попытки провести дискриминантный анализ с целью разработать методы классификации больных по группам риска развития ингибитора. С помощью регрессионного анализа было показано, что решающими являются три фактора: наличие семейной истории развития ингибитора, тип мутации в гене *F8* и интенсивность терапии в течение первых пяти дней после ее начала. К сожалению, в анализ не вошел ряд факторов, вариабельность которых в исследуемой когорте была недостаточно выражена [70, 71].

Недавно была выполнена еще одна подобная работа с использованием более сложного алгоритма Generalized Partially Linear Tree-based Regression (GPLTR) с линейной регрессией для факторов, которые не взаимодействуют друг с другом, и с древоподобной структурой для факторов, вероятность взаимодействия которых достаточно высока [62]. Ранее было показано, что использование таких моделей больше подходит для исследований по гемофилии, чем регрессионный анализ [71]. Как и в предыдущих исследованиях, тип мутации в гене *F8* и наличие семейной истории развития ингибитора в значительной мере влияли на риск развития ингибитора. Результаты по влиянию типа препарата были сходны с результатами исследования SIPPET. Также было показано, что варианты HLA-DRB1*15, CD86 (rs2681401, генотип *G/G*) и IL-10 (1082A>G, генотип *G/G*) ассоциированы с высоким риском образования антител. Эти три белка, вероятно, являются частями одного и того же иммунного каскада, причем CD86 участвует в активации АПК, HLA – в презентировании антигена Т-клеткам, а IL-10 – в регуляции иммунного ответа. Дополнительную информацию о риске развития ингибитора может предоставлять также HLA-DQB1*02. Ассоциации между риском развития ингибитора и SNP в генах *TNF*-α, *CTLA4* и *HMOX1* выявлено не было, но это может быть связано с малым размером выборки. По результатам гибридной модели наибольший риск развития

ингибитора был у группы больных с HLA-DRB1*15 и генотипами *G/A* и *A/A IL-10*. Наименьшая иммуногенность наблюдалась в группе больных, негативных по HLA-DRB1*15/HLA-DQB1*02 и с генотипами *T/T* или *G/T* CD86. Остальные группы занимали промежуточное положение [62]. Также была отмечена тенденция к меньшей иммуногенности у больных с группой крови 0, однако статистически это не было подтверждено, хотя ранее такая взаимосвязь уже отмечалась [72]. Кроме того, есть данные о потенциальной роли VWF в распознавании FVIII иммунной системой и в развитии ингибитора, а также о том, что уровень VWF различается у людей с разной группой крови [19]. В связи с этим вопрос об ассоциации между риском развития ингибитора и группой крови требует дальнейшего исследования [62].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие ингибитора у больных гемофилией остается серьезной проблемой, осложняющей терапию этого варианта заболевания. Известно, что это комплексная проблема, обусловленная сложным взаимодействием генетических факторов (наличия семейной истории возникновения ингибитора, типа мутации в гене *F8*, полиморфизмов в ряде генов, продукты которых участвуют в формировании иммунного ответа) и факторов другой природы (интенсивность лечения, тип препаратов FVIII и др.). Исследования роли генетических факторов в развитии ингибитора показали, что отсутствие циркулирующего FVIII из-за генетических нарушений в гене *F8* является фактором высокого риска. Также было показано, что вариации в генах белков-регуляторов иммунной системы определяют различия индивидуального ответа на первое введение фактора FVIII. Благодаря новым технологиям высокопроизводительного секвенирования (next generation sequencing, NGS), таким как полноэкзомное и таргетное секвенирование, эти гены были исследованы на новом уровне. Однако из-за редкости заболевания ограниченные размеры выборки не позволяют сделать однозначных выводов. Из негенетических факторов развитие ингибитора явно находится под сильным влиянием типа препарата FVIII, а также интенсивности терапии в течение первых нескольких дней введения фактора. Для оценки совместного или индивидуального влияния других потенциальных триггеров на развитие ингибитора, а также для оценки взаимодействия генетических и других факторов риска и его влияния на предрасположенность больного к развитию ингибитора необходимы дальнейшие исследования. Применение интеграционного анализа позволит создать предсказательные алгоритмы для определения риска развития ингибитора, что сделает возможным повышение качества обследования и ведения больных и позволит в дальнейшем перейти на индивидуализированное лечение.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Garagiola I., Palla R., Peyvandi F.* Risk factors for inhibitor development in severe hemophilia A // Thromb. Res. 2018. V. 168. P. 20–27. https://doi.org/10.1016/j.thromres.2018.05.027
2. *Astermark J., Donfield S.M., Gomperts E.D. et al.* The polygenic nature of inhibitors in hemophilia A: Results from the Hemophilia Inhibitor Genetics Study (HIGS) combined cohort // Blood. 2013. V. 121. № 8. P. 1446–1454. https://doi.org/10.1182/blood-2012-06-434803
3. *Goodeve A.C., Williams I., Bray G.L., Peake I.R.* Relationship between factor VIII mutation type and inhibitor development in a cohort of previously untreated patients treated with recombinant factor VIII (Recombinate^{TM}) // Thromb. Haemost. 2000. V. 83. № 6. P. 844–848. https://doi.org/10.1055/s-0037-1613931
4. *Peyvandi F., Garagiola I.* Product type and other environmental risk factors for inhibitor development in severe hemophilia A // Res. Pract. Thromb. Haemost. 2018. V. 2. № 2. P. 220–227. https://doi.org/10.1002/rth2.12094
5. *Whelan S.F.J., Hofbauer C.J., Horling F.M. et al.* Distinct characteristics of antibody responses against factor VIII in healthy individuals and in different cohorts of hemophilia A patients // Blood. 2013. V. 121. № 6. P. 1039–1048. https://doi.org/10.1182/blood-2012-07-444877
6. *Kahle J., Orlowski A., Stichel D. et al.* Epitope mapping via selection of anti-FVIII antibody-specific phage-presented peptide ligands that mimic the antibody binding sites // Thromb. Haemost. 2015. V. 113. № 2. P. 396–405. https://doi.org/10.1160/TH14-01-0101
7. *Hofbauer C.J., Whelan S.F.J., Hirschler M. et al.* Affinity of FVIII-specific antibodies reveals major differences between neutralizing and nonneutralizing antibodies in humans // Blood. 2015. V. 125. № 7. P. 1180–1188. https://doi.org/10.1182/blood-2014-09-598268
8. *Hofbauer C.J., Kepa S., Schemper M. et al.* FVIII-binding IgG modulates FVIII half-life in patients with severe and moderate hemophilia A without inhibitors // Blood. 2016. V. 128. № 2. P. 293–296. https://doi.org/10.1182/blood-2015-10-675512
9. *Lewis K.B., Hughes R.J., Epstein M.S. et al.* Phenotypes of allo- and autoimmune antibody responses to FVIII characterized by surface plasmon resonance // PLoS One. 2013. V. 8. № 5. P. e61120. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061120

10. *Astermark J.* Why do inhibitors develop? Principles of and factors influencing the risk for inhibitor development in haemophilia // Haemophilia. 2006. V. 12. S3. P. 52–60.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2006.01261.x

11. *White G.C., Kempton C.L., Grimsley A. et al.* Cellular immune responses in hemophilia: Why do inhibitors develop in some, but not all hemophiliacs? // J. Thromb. Haemost. 2005. V. 3. № 8. P. 1676–1681.
https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01375.x

12. *Astermark J.* FVIII inhibitors: pathogenesis and avoidance // Blood. 2015. V. 125. № 13. P. 2045–2051.
https://doi.org/10.1182/blood-2014-08-535328

13. *Judge T.A., Tang A., Turka L.A.* Immunosuppression through blockade of CD28:B7-mediated costimulatory signals // Immunol. Res. 1996. V. 15. P. 38–49.
https://doi.org/10.1007/BF02918283

14. *Qian J., Collins M., Sharpe A.H., Hoyer L.W.* Prevention and treatment of factor VIII inhibitors in murine hemophilia A // Blood. 2000. V. 95. № 4. P. 1324–1329.
https://doi.org/10.1182/blood.v95.4.1324.004k25_1324_1329

15. *Hausl C., Ahmad R.U., Schwarz H.P. et al.* Preventing restimulation of memory B cells in hemophilia A: A potential new strategy for the treatment of antibody-dependent immune disorders // Blood. 2004. V. 104. № 1. P. 115–122.
https://doi.org/10.1182/blood-2003-07-2456

16. *Lövgren K.M., Søndergaard H., Skov S., Wiinberg B.* Non-genetic risk factors in haemophilia A inhibitor management – the danger theory and the use of animal models // Haemophilia. 2016. V. 22. № 5. P. 657–666.
https://doi.org/10.1111/hae.13075

17. *Pradeu T., Cooper E.L.* The danger theory: 20 years later // Front. Immunol. 2012. V. 3. P. 287.
https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00287

18. *Dasgupta S., Navarrete A.M., Bayry J. et al.* A role for exposed mannosylations in presentation of human therapeutic self-proteins to CD4+ T lymphocytes // PNAS. 2007. V. 104. № 21. P. 8965–8970.
https://doi.org/10.1073/pnas.0702120104

19. *Dasgupta S., Repessé Y., Bayry J. et al.* VWF protects FVIII from endocytosis by dendritic cells and subsequent presentation to immune effectors // Blood. 2007. V. 109. № 2. P. 610–612.
https://doi.org/10.1182/blood-2006-05-022756

20. *Herczenik E., Van Haren S.D., Wroblewska A. et al.* Uptake of blood coagulation factor VIII by dendritic cells is mediated via its C1 domain // J. Allergy Clin. Immunol. 2012. V. 129. № 2. P. 501–509.e5.
https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.08.029

21. *Delignat S., Repessé Y., Navarrete A.M. et al.* Immunoprotective effect of von Willebrand factor towards therapeutic factor VIII in experimental haemophilia A // Haemophilia. 2012. V. 18. № 2. P. 248–254.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2011.02679.x

22. *Lacroix-Desmazes S., Bayry J., Misra N. et al.* The prevalence of proteolytic antibodies against factor VIII in hemophilia A // N. Engl. J. Med. 2002. V. 346. № 9. P. 662–667.
https://doi.org/10.1056/NEJMoa011979

23. *Tabriznia-Tabrizi S., Gholampour M., Mansouritorghabeh H.* A close insight to factor VIII inhibitor in the congenital hemophilia A // Expert Rev. Hematol. 2016. V. 9. № 9. P. 903–913.
https://doi.org/10.1080/17474086.2016.1208554

24. *Astermark J., Berntorp E., White G.C. et al.* The Malmö International Brother Study (MIBS): Further support for genetic predisposition to inhibitor development // Haemophilia. 2001. V. 7. P. 267–272.
https://doi.org/10.1046/j.1365-2516.2001.00510.x

25. *Santagostino E., Mancuso M.E., Rocino A. et al.* Environmental risk factors for inhibitor development in children with haemophilia A: a case-control study // Br. J. Haematol. 2005. V. 130. № 3. P. 422–427.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05605.x

26. *Goudemand J., Rothschild C., Laurian Y., Calvez T.* Influence of the type of factor VIII concentrates on the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A // Blood. 2006. V. 107. № 9. P. 46–51.
https://doi.org/10.1182/blood-2005-04-1371

27. *Ragni M.V., Ojeifo O., Feng J. et al.* Risk factors for inhibitor formation in hemophilia: a prevalent case-control study // Haemophilia. 2009. V. 15. № 5. P. 1074–1082.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2009.02058.x

28. *Viel K.R., Ameri A., Abshire T.C. et al.* Inhibitors of factor VIII in black patients with hemophilia // N. Engl. J. Med. 2009. V. 360. № 16. P. 1618–1627.
https://doi.org/10.1056/NEJMoa075760

29. *Carpenter S.L., Michael Soucie J., Sterner S., Presley R.* Increased prevalence of inhibitors in Hispanic patients with severe haemophilia A enrolled in the Universal Data Collection database // Haemophilia. 2012. V. 18. № 3. P. 260–265.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2011.02739.x

30. *Gunasekera D., Ettinger R.A., Fletcher S.N. et al.* Factor VIII gene variants and inhibitor risk in African American hemophilia A patients // Blood. 2015. V. 126. № 7. P. 895–904.
https://doi.org/10.1182/blood-2014-09-599365

31. *Bardi E., Astermark J.* Genetic risk factors for inhibitors in haemophilia A // Eur. J. Haematol. 2015. V. 94. S77. P. 7–10.
https://doi.org/10.1111/ejh.12495

32. *Lakich D., Kazazian H.H., Antonarakis S.E., Gitschier J.* Inversions disrupting the factor VIII gene are a common cause of severe haemophilia A // Nat. Genet. 1993. V. 5. № 3. P. 236–241.
https://doi.org/10.1038/ng1193-236

33. *Bagnall R.D., Waseem N., Green P.M., Giannelli F.* Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A // Blood. 2002. V. 99. № 1. P. 168–174.
https://doi.org/10.1182/blood.V99.1.168

34. *Oldenburg J., Pavlova A.* Genetic risk factors for inhibitors to factors VIII and IX // Haemophilia. 2006. V. 12. S6. P. 15–22.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2006.01361.x

35. *Eckhardt C.L., Van Velzen A.S., Peters M. et al.* Factor VIII gene (*F8*) mutation and risk of inhibitor development in nonsevere hemophilia A // Blood. 2013. V. 122.

№ 11. P. 1954–1962.
https://doi.org/10.1182/blood-2013-02-483263

36. *Schwaab R., Pavlova A., Albert T. et al.* Significance of *F8* missense mutations with respect to inhibitor formation // Thromb. Haemost. 2013. V. 109. № 3. P. 464–470.
https://doi.org/10.1160/TH12-07-0521

37. *Schwaab R., Brackmann H.H., Meyer C. et al.* Haemophilia A: Mutation type determines risk of inhibitor formation // Thromb. Haemost. 1995. V. 74. № 6. P. 1402–1406.
https://doi.org/10.1055/s-0038-1649954

38. *Oldenburg J., El-Maarri O., Schwaab R.* Inhibitor development in correlation to factor VIII genotypes // Haemophilia. 2002. V. 8. S2. P. 23–29.
https://doi.org/10.1046/j.1351-8216.2001.00134.x

39. *Gouw S.C., Van Den Berg H.M., Oldenburg J. et al. F8* gene mutation type and inhibitor development in patients with severe hemophilia A: systematic review and meta-analysis // Blood. 2012. V. 119. № 12. P. 2922–2934.
https://doi.org/10.1182/blood-2011-09-379453

40. *Sauna Z.E., Lozier J.N., Kasper C.K. et al.* The intron-22-inverted *F8* locus permits factor VIII synthesis: explanation for low inhibitor risk and a role for pharmacogenomics // Blood. 2015. V. 125. № 2. P. 223–228.
https://doi.org/10.1182/blood-2013-12-530113

41. *Spena S., Garagiola I., Cannavò A. et al.* Prediction of factor VIII inhibitor development in the SIPPET cohort by mutational analysis and factor VIII antigen measurement // J. Thromb. Haemost. 2018. V. 16. № 4. P. 778–790.
https://doi.org/10.1111/jth.13961

42. *Astermark J., Oldenburg J., Pavlova A. et al.* Polymorphisms in the *IL10* but not in the *IL1*beta and *IL4* genes are associated with inhibitor development in patients with hemophilia A // Blood. 2006. V. 107. № 8. P. 3167–3173.
https://doi.org/10.1182/blood-2005-09-3918

43. *Astermark J., Oldenburg J., Carlson J. et al.* Polymorphisms in the *TNFA* gene and the risk of inhibitor development in patients with hemophilia A // Blood. 2006. V. 108. № 12. P. 3739–3746.
https://doi.org/10.1182/blood-2006-05-024711

44. *Astermark J., Wang X., Oldenburg J. et al.* Polymorphisms in the *CTLA-4* gene and inhibitor development in patients with severe hemophilia A // J. Thromb. Haemost. 2007. V. 5. P. 263–265.
https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02290.x

45. *Lozier J., Rosenberg P.S., Goedert J.J., Menashe I.* A case-control study reveals immunoregulatory gene haplotypes that influence inhibitor risk in severe hemophilia A // Haemophilia. 2011. V. 17. № 4. P. 641–649.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2010.02473.x

46. *Pavlova A., Delev D., Lacroix-Desmazes S. et al.* Impact of polymorphisms of the major histocompatibility complex class II, interleukin-10, tumor necrosis factor-α and cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 genes on inhibitor development in severe hemophilia A // J. Thromb. Haemost. 2009. V. 7. № 12. P. 2006–2015.
https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03636.x

47. *Goodeve A.C., Pavlova A., Oldenburg J.* Genomics of bleeding disorders // Haemophilia. 2014. V. 20. S4. P. 50–53.
https://doi.org/10.1111/hae.12424

48. *Pergantou H., Varela I., Moraloglou O. et al.* Impact of HLA alleles and cytokine polymorphisms on inhibitors development in children with severe haemophilia A // Haemophilia. 2013. V. 19. № 5. P. 706–710.
https://doi.org/10.1111/hae.12168

49. *Kim H.Y., Cho J.H., Kim H.J. et al.* Ethnicity-specific impact of HLA I/II genotypes on the risk of inhibitor development: data from Korean patients with severe hemophilia A // Ann. Hematol. 2018. V. 97. № 9. P. 1695–1700.
https://doi.org/10.1007/s00277-018-3358-x

50. *De Barros M.F., Herrero J.C.M., Sell A.M. et al.* Influence of class I and II HLA alleles on inhibitor development in severe haemophilia A patients from the South of Brazil // Haemophilia. 2012. V. 18. № 3. P. 236–240.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2011.02604.x

51. *David S., Nair S.C., Singh G.S. et al.* Prevalence of FVIII inhibitors in severe haemophilia A patients: Effect of treatment and genetic factors in an Indian population // Haemophilia. 2019. V. 25. № 1. P. 67–74.
https://doi.org/10.1111/hae.13633

52. *Pandey G.S., Yanover C., Howard T.E., Sauna Z.E.* Polymorphisms in the *F8* gene and MHC-II variants as risk factors for the development of inhibitory anti-factor VIII antibodies during the treatment of hemophilia A: a computational assessment // PLoS Comput. Biol. 2013. V. 9. № 5. P. e1003066.
https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003066

53. *Pashov A.D., Calvez T., Gilardin L. et al. In silico* calculated affinity of FVIII-derived peptides for HLA class II alleles predicts inhibitor development in haemophilia A patients with missense mutations in the *F8* gene // Haemophilia. 2014. V. 20. № 2. P. 176–184.
https://doi.org/10.1111/hae.12276

54. *Shepherd A.J., Skelton S., Sansom C.E. et al.* A large-scale computational study of inhibitor risk in non-severe haemophilia A // Br. J. Haematol. 2015. V. 168. № 3. P. 413–420.
https://doi.org/10.1111/bjh.13131

55. *Kempton C.L., Payne A.B.* HLA-DRB1-factor VIII binding is a risk factor for inhibitor development in nonsevere hemophilia: a case-control study // Blood Adv. 2018. V. 2. № 14. P. 1750–1755.
https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2018019323

56. *Zheng C., Huang D., Liu L. et al.* Interleukin-10 gene promoter polymorphisms in multiple myeloma // Int. J. Cancer. 2001. V. 95. P. 184–188.
https://doi.org/10.1002/1097-0215(20010520)95:3<184::aid-ijc1031>3.0.co;2-v

57. *Huang D., Zhou Y., Xia S. et al.* Markers in the promoter region of interleukin-10 (*IL-10*) gene in myasthenia gravis: implications of diverse effects of *IL-10* in the pathogenesis of the disease // J. Neuroimmunol. 1999. V. 94. P. 82–87.
https://doi.org/10.1016/S0165-5728(98)00228-8

58. *Pinto P., Ghosh K., Shetty S.* Immune regulatory gene polymorphisms as predisposing risk factors for the development of factor VIII inhibitors in Indian severe haemophilia A patients // Haemophilia. 2012. V. 18.

№ 5. P. 794–797.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2012.02845.x

59. *Ulrich-Merzenich G., Hausen A., Zeitler H. et al.* The role of variant alleles of the mannose-binding lectin in the inhibitor development in severe hemophilia A // Thromb. Res. 2019. V. 179. P. 140–146.
https://doi.org/10.1016/j.thromres.2019.05.005

60. *Repessé Y., Peyron I., Dimitrov J.D. et al.* Development of inhibitory antibodies to therapeutic factor VIII in severe hemophilia A is associated with microsatellite polymorphisms in the *HMOX1* promoter // Haematologica. 2013. V. 98. № 10. P. 1650–1655.
https://doi.org/10.3324/haematol.2013.084665

61. *Eckhardt C.L., Astermark J., Nagelkerke S.Q. et al.* The Fc gamma receptor IIa R131H polymorphism is associated with inhibitor development in severe hemophilia A // J. Thromb. Haemost. 2014. V. 12. № 8. P. 1294–1301.
https://doi.org/10.1111/jth.12631

62. *Bachelet D., Albert T., Mbogning C. et al.* Risk stratification integrating genetic data for factor VIII inhibitor development in patients with severe hemophilia A // PLoS One. 2019. V. 14. № 6. P. e0218258.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218258

63. *Naderi N., Yousefi H., Mollazadeh S. et al.* Inflammatory and immune response genes: A genetic analysis of inhibitor development in Iranian hemophilia A patients // Pediatr. Hematol. Oncol. 2019. V. 36. № 1. P. 28–39.
https://doi.org/10.1080/08880018.2019.1585503

64. *Gorski M.M., Blighe K., Lotta L.A. et al.* Whole-exome sequencing to identify genetic risk variants underlying inhibitor development in severe hemophilia A patients // Blood. 2016. V. 127. № 23. P. 2924–2933.
https://doi.org/10.1182/blood-2015-12-685735

65. *Astermark J., Altisent C., Batorova A. et al.* Non-genetic risk factors and the development of inhibitors in haemophilia: a comprehensive review and consensus report // Haemophilia. 2010. V. 16. № 5. P. 747–766.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2010.02231.x

66. *ter Avest P.C., Fischer K., Mancuso M.E. et al.* Risk stratification for inhibitor development at first treatment for severe hemophilia A: a tool for clinical practice // J. Thromb. Haemost. 2008. V. 6. P. 2048–2054.
https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2008.03187.x

67. *Gouw S.C., van der Bom J.G., van den Berg H.M.* Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study // Blood. 2007. V. 109. № 11. P. 4648–4654.
https://doi.org/10.1182/blood-2006-11-056291

68. *Chalmers E.A., Brown S.A., Keeling D. et al.* Early factor VIII exposure and subsequent inhibitor development in children with severe haemophilia A // Haemophilia. 2007. V. 13. № 2. P. 149–155.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2006.01418.x

69. *Ragni M.V.* FVIII, CD4, and liaisons dangereuses // Blood. 2011. V. 117. № 23. P. 6060–6061.
https://doi.org/10.1182/blood-2011-04-348458

70. *Hashemi S.M., Fischer K., Moons K.G.M., van den Berg H.M.* Improved prediction of inhibitor development in previously untreated patients with severe haemophilia A // Haemophilia. 2015. V. 21. № 2. P. 227–233.
https://doi.org/10.1111/hae.12566

71. *Henrard S., Speybroeck N., Hermans C.* Classification and regression tree analysis vs. multivariable linear and logistic regression methods as statistical tools for studying haemophilia // Haemophilia. 2015. V. 21. № 6. P. 715–722.
https://doi.org/10.1111/hae.12778

72. *Franchini M., Coppola A., Mengoli C. et al.* Blood group O protects against inhibitor development in severe hemophilia A patients // Semin. Thromb. Hemost. 2017. V. 43. № 1. P. 69–74.
https://doi.org/10.1055/s-0036-1592166

Genetic Risk Factors for Inhibitor Development in Hemophilia A

O. S. Pshenichnikova[a] and V. L. Surin[a, *]

[a] *National Research Center for Hematology, Moscow, 125167 Russia*

**e-mail: vadsurin@mail.ru*

The review is devoted to the description of different possible mechanisms of inhibitor development in hemophilia A. We mainly describe genetic factors, and also nongenetic ones, which could provoke inhibitor antibodies synthesis, as well as their combinations. Among genetic determinants different research groups focused on a type of *F8* gene mutation and functional polymorphisms in immune regulator genes, which were studied using classical and modern molecular genetic methods. Type of *F8* gene mutation is one of the most objective genetic risk factor, and studies on combinations of missense mutations in *F8* gene provoking antibodies synthesis and HLA II alleles are quite interesting ones. Other genetic markers need to be verified as potential participants in inhibitor development in future studies. Among nongenetic factors inhibitor development is influenced by FVIII product type, as well as treatment intensity. However despite multiple studies, inhibitor form of hemophilia remains the most difficult variant of the disease for the treatment. Construction of predictive algorithms for identification of inhibitor development risk using integration analysis, taking into account multiple genetic, nongenetic factors and their interaction, could help to solve this problem.

Keywords: hemophilia A, inhibitory form, genetic risk factors, gene *F8*, immune regulator genes.