



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Developments in modern hemophilia care

Hassan, S.

Citation

Hassan, S. (2023, January 24). *Developments in modern hemophilia care*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3513307>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3513307>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse samenvatting

Introductie

Hemofilie is een zeldzame genetische aandoening die wordt gekenmerkt door een gebrek aan stollingsfactor VIII (FVIII) in patiënten met hemofilie A of stollingsfactor IX (FIX) in patiënten met hemofilie B als gevolg van een defect in het *F8* gen (hemofilie A) of het *F9* gen (hemofilie B).¹

Het gebrek aan FVIII/FIX leidt op de korte termijn tot bloedingen, vaak in spieren en gewrichten. Op de lange termijn kunnen herhaaldelijke gewrichtsbloedingen tot ernstige gewrichtsschade leiden. Patiënten met hemofilie hebben ook een sterk verhoogd risico op hersenbloedingen, met name in de perinatale periode en de vroege jeugd. In patiënten met milde of matig-ernstige hemofilie komen bloedings-symptomen voornamelijk voor bij trauma of bij chirurgische ingrepen terwijl bloedingen bij patiënten met ernstige hemofilie ook spontaan ontstaan.¹

De geboorteprevalentie van hemofilie A en hemofilie B is respectievelijk 24.6 per 100,000 nieuwgeborenen en 3.8 per 100,000 nieuwgeborenen.² De ernst van de ziekte wordt bepaald door het FVIII/FIX-gehalte in het bloed. Patiënten met ernstige hemofilie hebben een FVIII/FIX-gehalte van $< 0,01$ internationale eenheden per milliliter (IE/mL), patiënten met matig-ernstige hemofilie hebben een FVIII/FIX-gehalte van 0,01-0,05 IE/mL en patiënten met milde hemofilie hebben een FVIII/FIX-gehalte van $> 0,05$ -0,40 IE/mL.¹

Toediening van FVIII/FIX, gezuiverd uit menselijk plasma of geproduceerd door middel van recombinant-technologie, is de standaard voor de behandeling van bloedingen. Bij patiënten met ernstige hemofilie wordt daarnaast periodiek FVIII/FIX toegediend teneinde bloedingen te voorkomen. (dit wordt ook wel profylactische behandeling of profylaxe genoemd) Ongeveer 1/3^{de} van patiënten met ernstige hemofilie A ontwikkelt antistoffen tegen FVIII (ook wel inhibitor- of remmervorming genoemd) die het toegediende FVIII neutraliseren. Deze ernstige complicatie van behandeling met FVIII maakt behandeling met FVIII moeilijk of onmogelijk.¹ Het risico op remmerontwikkeling in deze groep is het hoogst in de eerste 50 dagen van behandeling met FVIII (expositiedagen). Na de eerste 50-150 expositiedagen is het risico op remmervorming zeer laag. De cumulative incidentie van FIX remmervorming in patiënten met ernstige hemofilie B is veel lager (rond de 4-5%).¹ De standaardbehandeling voor de eradicatie van remmers bestaat uit het frequent injecteren van stollingsfactorconcentraat over een lange periode (dit wordt immuuntolerantie-inductie genoemd). Immuuntoleran-

tie-inductie is succesvol in ongeveer 65-70% van patiënten met hemofilie A en een remmer.¹

Dit proefschrift heeft twee overkoepelende doelen. In de laatste 50 jaar is de behandeling van patiënten met hemofilie enorm veranderd. Het eerste doel van dit proefschrift was om te beschrijven hoe de gezondheidsstatus van patiënten met hemofilie zich over de tijd heeft ontwikkeld. De resultaten van deze studies zijn beschreven in **hoofdstukken 2-3**. Hoewel de behandeling van hemofilie in veel opzichten is verbeterd, blijft de ontwikkeling van antistoffen tegen FVIII een groot probleem bij patiënten die worden behandeld met FVIII. Daarom was het tweede doel van dit proefschrift om patiënten met een hoog risico op remmervorming te identificeren (**hoofdstukken 4-6**) en om een overzicht te geven van anti-remmervorming strategieën die toegepast zouden kunnen worden in deze groep hoog-risico patiënten (**hoofdstuk 7**).

Resultaten

De gezondheidsstatus van de Nederlandse patiënt met hemofilie

In **hoofdstuk 2** hebben we onderzocht hoe veranderingen in de behandeling de klinische uitkomsten van patiënten met hemofilie hebben beïnvloed. Hiervoor werd in 2019 een landelijk vragenlijstenonderzoek uitgevoerd onder patiënten met hemofilie in Nederland. De resultaten van dit onderzoek werden vergeleken met die van soortgelijke onderzoeken die eerder waren uitgevoerd in 1972, 1978, 1986, 1992 en 2001.³⁻⁵ De resultaten laten zien dat een sterke toename in het gebruik van profylaxe gedurende de laatste 50 jaar heeft geleid tot een daling van het aantal bloedingen en de mate van gewrichtsschade onder patiënten met hemofilie. Ook laten onze resultaten zien dat hepatitis C virus (HCV) infectie inmiddels bijna compleet verdwenen is in deze populatie als gevolg van de introductie van effectieve behandelopties. In 2019 rapporteerde de meerderheid van patiënten geen bloedingen te hebben gehad in het afgelopen jaar. Veel patiënten ouder dan 50 jaar lijden nog steeds aan hemofilie-gerelateerde complicaties, met name complicaties als gevolg van de in het verleden opgelopen (en onomkeerbare) gewrichtsschade.

In **hoofdstuk 3** evalueerden we de totale en ziekte-specifieke mortaliteit onder patiënten met hemofilie. Hiervoor werden 1066 patiënten gevolgd van 2001 tot 2018. De resultaten werden vergeleken met de resultaten van soortgelijke studies in dezelfde populatie uit eerdere perioden.⁶⁻⁸ De mediane levensverwachting van patiënten met hemofilie nam sterk toe gedurende de periode 1972-2018 maar was nog steeds 6 jaar lager dan de mediane levensverwachting van de algemene Nederlandse manne-

lijke bevolking in 2018 (de mediane levensverwachting in 2018 voor de twee groepen was respectievelijk 77 jaar en 83 jaar). Mortaliteit door HIV- en HCV-gerelateerde complicaties onder patiënten met hemofilie (als gevolg van een infectie via besmette stollingsproducten) is langzaam afgenomen over de tijd maar is nog steeds hoger dan die van de algemene Nederlandse mannelijk bevolking. Vergeleken met de algemene Nederlandse mannelijke bevolking kwam sterfte als gevolg van een hersenbloeding veel vaker voor onder patiënten met hemofilie. Gedurende de gehele 46-jarige follow-up was de incidentie van sterfte als gevolg van een ischemische hartziekte (bijv. een myocardinfarct) consistent laag.

Het identificeren en behandelen van patiënten met een hoog risico op remmervorming

In **hoofdstuk 4** evalueerden wij, door een meta-analyse, de immunogeniciteit van recombinante FVIII-producten in patiënten met hemofilie A met meer dan 50 expositiedagen (dit zijn patiënten met een laag risico op remmervorming). In de meta-analyse werden alleen studies geïnccludeerd die keken naar *de novo* remmerontwikkeling in patiënten met FVIII-spiegels < 0.02 IU/mL. Er werd gebruik gemaakt van een random intercept Poisson regressiemodel om de data te modelleren. Met behulp van dit model werd een gewogen gemiddelde berekend van de totale incidentie van remmerontwikkeling, alsmede het relatieve risico op het ontwikkelen van een remmer bij gebruik van een specifiek recombinant FVIII product. De totale incidentie van remmerontwikkeling was 2.06 per 1000 persoonsjaren. Het relatieve risico op het ontwikkelen van een remmer was, vergeleken met het gebruik van het met recombinant technieken ontwikkelde FVIII-product Advate, bijna tien keer hoger in patiënten op Kogenate/Helixate en bijna 14 keer hoger in patiënten op Refacto. (beide ook geproduceerd met recombinant technieken, waarbij bij Refacto het B-domein uit het molecuul verwijderd is) De resultaten suggereren dat sommige producten een hogere immunogeniciteit hebben dan andere in patiënten met hemofilie A en FVIII-spiegels < 0.02 IU/mL met meer dan 50 expositiedagen op FVIII.

Het doel van **hoofdstuk 5** was om een klinisch predictiemodel te ontwikkelen om het risico op remmerontwikkeling te voorspellen. Het predictiemodel werd ontwikkeld op basis van data van een cohort van 251 patiënten met ernstige hemofilie A die niet eerder behandeld waren met FVIII en die geobserveerd werden tijdens de eerste 50 expositiedagen.⁹ Het uiteindelijke model bestond uit 4 predictoren; het type *F8* genmutatie, intensiteit van de eerste behandeling met FVIII, de aanwezigheid van niet-neutraliserende anti-FVIII antistoffen voor de start van de behandeling en het type FVIII product (recombinant FVIII of uit plasma bereid FVIII). Modeldiscriminatie werd gemeten met Harrel's C index en modelkalibratie werd visueel weergegeven

door middel van een zogeheten kalibratieplot. Modeldiscriminatie was laag (C-index: 0.66, 95%CI: 0.57–0.75) en modelkalibratie was matig. Bij gebruik van een afkap-punt voor een positieve test van 10% waren de positief- en negatief voorspellende waarden respectievelijk 0.22 en 0.95. Hieruit kan geconcludeerd worden dat het model over het algemeen slecht presteert maar desondanks wel gebruikt kan worden om een (relatief kleine) groep patiënten te identificeren met een laag risico op het ontwikkelen van een remmer.

In **hoofdstuk 6** evalueerden we het anti-FVIII IgG-epitopepertoire van 122 patiënten met ernstige hemofilie A (van wie 39 met een remmer en 83 zonder) met behulp van een nieuwe test gebaseerd op de faagdisplay methode.¹⁰ Kort samengevat screenen we een set van 10^9 willekeurig gegenereerde eiwitfragmenten (die tot expressie waren gebracht op het oppervlak van een M13 bacteriofaag) tegen alle IgG-antistoffen die aanwezig waren in het plasma van een patiënt. Bacteriofagen met ongebonden eiwitfragmenten werden verwijderd en het DNA van de overige bacteriofagen werd geanalyseerd met next-generation sequencing technologie om de aminozuursequentie te verkrijgen van de eiwitfragmenten die gebonden waren door een IgG antilichaam. Met deze methoden hebben we een set eiwitfragmenten (ieder 12 aminozuren lang) kunnen identificeren die een hoge affiniteit hebben voor FVIII IgG-antistoffen. Deze eiwitfragmenten werden geclusterd op basis van gelijkheid in de primaire aminozuursequentie. Voor iedere cluster werd een consensusmotief gegenereerd. Dit consensusmotief werd daarna uitgelijnd tegen de lineaire aminozuursequentie van FVIII. De mate waarin de aanwezigheid van een eiwitfragment voorspellend was voor remmerontwikkeling werd geëvalueerd met de C-index. Onze resultaten laten zien dat de FVIII-specifieke antilichaamrespons polyclonaal is (clusters waren uitgelijnd tegen verschillende delen van FVIII). De meest voorkomende clusters in patiënten met een remmer waren uitgelijnd tegen de A1 en A2 domeinen van FVIII. We identificeerden drie clusters (met de consensusmotieven “pxyNw”, “PSLxWK” en “SWPHxxxK”) die aanwezig waren in monsters afgenomen voor behandeling met FVIII en die voorspellend waren voor remmerontwikkeling. (de C-index was respectievelijk 0.76, 0.80 and 0.76) Informatie over de aanwezigheid van deze clusters kan gebruikt worden om testen te ontwikkelen die remmerontwikkeling kunnen voorspellen voor de start van behandeling met FVIII.

In **hoofdstuk 7** hebben we de literatuur systematisch doorzocht naar strategieën om antistofvorming tegen de toegediende medicatie te voorkomen in andere ziektebeelden. Dit teneinde nieuwe aanknopingspunten te vinden voor onderzoek op het gebied van preventie en behandeling van remmers in patiënten met hemofilie.

Verscheidene case-series rapporteerden een vermindering van antistoffen tegen alglucosidase alfa, een middel dat gebruikt wordt in de behandeling van patiënten met de ziekte van Pompe, bij gebruik van een combinatie van rituximab, methotrexaat en intraveneuze immunoglobulinen (IVIG). Bij patiënten met reumatoïde artritis bleek uit verscheidene grote gerandomiseerde studies dat het gebruik van methotrexaat de aanwezigheid van antistoffen tegen TNF-remmers verminderde bij gelijktijdig gebruik van deze middelen.

Discussie

De gezondheidsstatus van de Nederlandse patiënt met hemofilie

In hoofdstukken 2-3 hebben we de gezondheidsstatus van patiënten met hemofilie in kaart gebracht. Daarnaast hebben we onderzocht hoe de vele veranderingen in de behandeling van hemofilie en andere factoren over de tijd de gezondheidsstatus van deze patiënten hebben beïnvloed. Onze resultaten laten zien dat de behandeling van patiënten met hemofilie over de afgelopen 50 jaar sterk verbeterd is, maar dat er nog steeds een aantal verbeterpunten zijn.

Onze studie is waarschijnlijk de laatste grootschalige evaluatie van de Nederlandse bevolking met hemofilie waarbij het merendeel nog steeds behandeld werd met stollingsfactorconcentraat. Er zijn namelijk een aantal veelbelovende nieuwe middelen die niet gebaseerd zijn op FVIII of FIX.

De meest veelbelovende onder deze middelen is emicizumab¹¹, een synthetisch bispecifiek antilichaam dat de rol van FVIII nabootst (door te binden aan zowel factor IXa en factor X). Emicizumab is recentelijk goedgekeurd voor gebruik op de Europese markt en het wordt sinds kort al door een belangrijk deel van patiënten in Nederland met ernstige hemofilie A gebruikt. Het nadeel van dit middel is dat emicizumab niet gebruikt kan worden voor het behandelen van acute bloedingen. Voor patiënten met hemofilie B is er op dit moment nog geen vergelijkbaar middel op de markt. Fitusiran (een synthetisch geproduceerd zogeheten ‘klein interfererend RNA’ dat de aanmaak van antitrombine onderdrukt) en concizumab (een synthetisch antilichaam dat ‘tissue factor pathway inhibitor’ onderdrukt) zijn het meest ver in de ontwikkeling.¹¹ Beide middelen hebben het voordeel dat ze zowel in patiënten met hemofilie A als hemofilie B gebruikt kunnen worden. Recente studies hebben echter laten zien dat beide middelen kunnen leiden tot trombotische complicaties. Daardoor werden in eerste instantie een aantal fase-II studies gestopt.¹¹ Inmiddels zijn de studies weer hervat

met risk mitigation strategies. Gezien deze resultaten is het daarom onduidelijk op welke termijn deze middelen op de markt zullen komen.

Gentherapie, een andere potentiële behandeloptie voor hemofilie, is de eerste behandeling die omschreven kan worden als een definitieve genezing van hemofilie. Hierbij wordt een functionele versie van het FVIII/ FIX gen, via een virale vector, aan de patiënt toegediend, waarna het FVIII/ FIX eiwit door de patiënt zelf wordt geproduceerd.¹² Er zijn nog wel een aantal aandachtspunten die opgelost moeten worden voordat het middel gebruikt kan worden in alle patiënten met hemofilie. Veel patiënten ontwikkelen in de eerste fase van de behandeling tijdelijk levertoxiciteit (gemeten met verhoogde waarden van leverenzymen in het bloed). Daarnaast komt een patiënt op dit moment niet aanmerking voor een specifiek gentherapie-product als deze patiënt antistoffen heeft tegen de gebruikte virale vector. Ook kan behandeling met gentherapie minder effectief zijn in kinderen doordat er mogelijk een geleidelijke vermindering van expressie van het transgen kan zijn als gevolg van een groeiende lever. Dit is een probleem omdat opnieuw toedienen van hetzelfde gentherapie product op dit moment niet mogelijk is vanwege de antistofrespons tegen de virale vector.¹² Kinderen met hemofilie komen daarom op dit moment niet in aanmerking voor gentherapie. Een ander nadeel is dat de FVIII-opbrengst snel daalt in de jaren na toediening. Het is op dit moment onduidelijk of deze daling eventueel stabiliseert.¹³ Inmiddels is het eerste gentherapie product (valoctocogene roxaparvovec) goedgekeurd door het Europees Geneesmiddelenbureau voor gebruik in volwassenen met hemofilie A zonder remmers en zonder antistoffen tegen adeno-associated virus serotype 5 (de virale vector).¹⁴

Bij toekomstig onderzoek naar de toegevoegde waarde van deze nieuwe behandelopties kan de gezondheidsstatus van de Nederlandse patiënt met hemofilie zoals beschreven in hoofdstukken 2-3 als referentiepunt dienen.

Onze studie laat zien dat 44% van patiënten met ernstige hemofilie een of meer gewrichtsbloedingen per jaar ontwikkelt, ondanks profylactische behandeling. Het is onduidelijk of deze bloedingen voornamelijk spontaan ontstaan of traumatisch van aard zijn. Er zijn een aantal strategieën om het aantal spontane bloedingen te verminderen; door de beoogde FVIII/ FIX dalsspiegel (de laagste concentratie van het toegediende middel in het bloed bij een bepaald doseringsregime) te verhogen op basis van het bloedingsfenotype, door farmacokinetisch te doseren of door over te stappen naar emicizumab (in het geval van patiënten met hemofilie A). Ondanks deze oplossingen kunnen sommige patiënten nog steeds bloedingen ondervinden vanwege lage

therapietrouw, of doordat deze patiënten een of meerdere gewrichten hebben die sneller bloeden dan normaal vanwege eerder opgelopen schade aan het synovium (een zogeheten ‘target joint’). Het verminderen van fysieke activiteit om bloedingen te voorkomen is niet aangeraden, aangezien het niet geassocieerd is met een vermindering in het aantal gewrichtsbloedingen en vanwege het positieve effect van bewegen op de fysieke en mentale gezondheid.¹⁵ Al met al zijn gewrichtsbloedingen nog steeds een probleem in sommige patiënten en een meer gepersonaliseerde behandelaanpak zal nodig zijn om het aantal gewrichtsbloedingen in deze groep te reduceren.

Gewrichtsbloedingen leiden op de lange termijn tot ernstige gewrichtsschade en dit proces kan gedurende een periode van tientallen jaren plaatsvinden. Ons project (welke bestond uit verscheidene cross-sectionele studies) was niet opgezet om het effect van primaire profylaxe op lange termijn gewrichtsschade te evalueren. Hiervoor zijn longitudinale data nodig. Zoals eerder beschreven is de beoogde profylaxe dalspiegel van 0,01 IU/mL FVIII/FIX niet voldoende om alle gewrichtsbloedingen te voorkomen.¹⁶ Zelfs een klein aantal gewrichtsbloedingen kan op de lange termijn leiden tot gewrichtsschade. Daarnaast kunnen zelfs patiënten zonder klinisch zichtbare gewrichtsbloedingen later toch gewrichtsschade ontwikkelen door de aanwezigheid van subklinische gewrichtsbloedingen.¹⁷ Lange termijn cohortstudies zijn nodig om te beoordelen of kinderen met hemofilie met een laag aantal (subklinische) gewrichtsbloedingen ook het risico lopen op het ontwikkelen van gewrichtsschade op latere leeftijd. Mocht dit het geval zijn, dan zou een behandeloptie kunnen zijn om de beoogde FVIII/FIX profylaxe dalspiegel te verhogen. De huidige WFH richtlijn voor hemofilie management suggereert al om de streefdalspiegel voor profylaxe te verhogen van 0,01 IU/mL naar 0,03-0,05 IU/mL.¹⁶ In het verleden zou deze strategie onpraktisch zijn geweest vanwege het aantal wekelijkse infusies dat nodig was om een hogere dalspiegel te behalen. Echter, door de introductie van nieuwe FVIII/FIX producten met een verlengde halfwaardetijd is het nu wel mogelijk om deze hogere dalspiegels te behalen. Een alternatief is om over te stappen op emicizumab in patiënten met hemofilie A.

We rapporteerden ook dat een kwart van patiënten die in het verleden HCV-positief waren nu milde- of matige leverfibrose hebben. Ondanks het klaren van het virus hebben deze patiënten nog steeds een verhoogd risico op HCV-gerelateerde complicaties zoals een hepatocellulair carcinoom.¹⁸ Om deze reden is monitoren van de leverstatus van deze patiënten aangeraden.

Sterfte als gevolg van een intracranieële bloeding was de op één na meest voorkomende doodsoorzaak en patiënten met hemofilie hadden 13 keer zo veel kans om te sterven aan een hersenbloeding vergeleken met de algemene mannelijke bevolking. Alle patiënten die overleden als gevolg van een hersenbloeding in onze studie waren volwassenen (de jongste patiënt was 44 jaar oud) en de hersenbloedingen waren niet het gevolg van trauma. Andere studies hebben laten zien dat de kans op een hersenbloeding met name voorkomt in de perinatale periode en op oudere leeftijd.¹⁹ Net als in eerdere onderzoeken²⁰, laten onze resultaten zien dat hypertensie veel voorkomt onder oudere patiënten met hemofilie. Hypertensie is een sterke onafhankelijke risicofactor voor het ontwikkelen van een hersenbloeding. De onderliggende biologische reden voor het ontwikkelen van hypertensie in patiënten met hemofilie is op dit moment onbekend.²¹ Onze bevindingen suggereren dat regelmatige controle van patiënten met hemofilie voor hypertensie op vroege leeftijd (bijv. vanaf 40 jaar) zou kunnen bijdragen aan het verminderen van het risico op een hersenbloeding. Een andere manier om het risico op een hersenbloeding te verminderen is om FVIII/FIX dalspiegels te verhogen in patiënten op profylaxe. Aangezien er bewijs is dat profylaxe het aantal hersenbloedingen sterk verminderd in patiënten met ernstige hemofilie²² zou het verhogen van de FVIII/FIX profylaxe dalspiegels (van 0,01 IU/mL tot bijvoorbeeld 0,05 IU/mL) tot een verdere reductie van de incidentie van hersenbloedingen kunnen leiden. Dit kan een oplossing bieden voor volwassen patiënten maar niet voor zeer jonge kinderen vanwege de moeilijkheden met betrekking tot het verkrijgen van veneuze toegang. Een alternatief voor deze groep patiënten is om emicizumab te gebruiken, aangezien dit middel subcutaan toegediend wordt. Dit maakt het mogelijk om vrijwel meteen na geboorte te starten met profylaxe om hersenbloedingen te voorkomen.²³

Het identificeren en behandelen van patiënten met een hoog risico op remmervorming

Ondanks grote vooruitgang op het gebied van de behandeling van patiënten met hemofilie is er nog steeds geen optimale oplossing gevonden voor het probleem van remmervorming. In de afgelopen jaren zijn veel patiënten met hemofilie A en een persistente remmer overgestapt op profylaxe met emicizumab. Dit is een grote verbetering aangezien emicizumab veel makkelijker toe te dienen is en profylaxe met emicizumab effectiever is dan de alternatieven (profylaxe met FVIIa of aPCC). FVIII blijft echter nog steeds de beste behandeloptie voor acute bloedingen of chirurgische ingrepen. Daarom zal remmervorming nog steeds een belangrijk klinisch probleem zijn in de toekomst, ongeacht de behandelkeuze (FVIII or emicizumab).

Dit was de rationale om in hoofdstukken 4-7 te onderzoeken of patiënten met een hoog risico op remmervorming geïdentificeerd kunnen worden en om een overzicht te geven van anti-remmervormingstrategieën die toegepast kunnen worden in deze groep hoog-risico patiënten.

In hoofdstuk 4 hebben we onderzocht of er een relatie was tussen het type recombinant FVIII product en het risico op remmervorming in patiënten met hemofilie A en FVIII bloedspiegels $< 0,02$ IU/mL met meer dan 50 expositiedagen op FVIII (m.a.w. patiënten die al lang onder behandeling waren met FVIII). Onze resultaten laten zien dat de producten Kogenate/Helixate en Refacto geassocieerd waren met een verhoogde kans op remmervorming vergeleken met Advate.

Er zijn een aantal hypothesen die het verschil in immunogeniciteit tussen verschillende recombinant FVIII producten kunnen verklaren zoals verschillen in de primaire aminozuursequentie van het product, het type celcultuur en het type stabilisator dat gebruikt werd tijdens de productie.²⁴ Echter, doordat remmervorming relatief zeldzaam is in deze patiëntengroep en door het gebrek aan correctie voor potentiële confounders is het moeilijk om definitieve conclusies te trekken uit deze data. Toekomstig onderzoek op dit gebied zou daarom meer moeten focussen op het creëren van gestandaardiseerde rapportagesystemen. Hierdoor zou men een groter aantal patiënten kunnen includeren in toekomstige studies om zodoende een verschil in remmerincidentie tussen producten ook daadwerkelijk te kunnen detecteren. Daarnaast zou men dan beter kunnen corrigeren voor potentiële confounders (zoals verschillen tussen groepen in het aantal geïncludeerde patiënten met FVIII spiegels van tussen de 0.01-0.02 IU/mL en verschillen tussen groepen in het aantal patiënten met een bepaalde type *F8* genmutatie) en andere methodologische problemen (zoals verschillen in de remmer testfrequentie en het gebruik van verschillende afkapwaarden voor de detectie van remmers). Goede voorbeelden van gestandaardiseerde rapportagesystemen zijn het Nederlandse HemoNED register en het Europese EUHASS register.²⁵

In hoofdstuk 4 evalueerden wij het effect van een enkele factor (het type product) op remmervorming. In hoofdstuk 5 hebben we geprobeerd om verschillende factoren te combineren in een klinisch predictiemodel voor remmervorming. Het accuraat identificeren van patiënten met een hoog risico op remmervorming was niet mogelijk met dit predictiemodel. Het model was wel in staat om een klein aantal patiënten te identificeren met een laag risico op remmervorming. Er zijn verscheidene manieren om dit predictiemodel te verbeteren. Een manier is om informatie over genetische risi-

cofactoren (anders dan het type *F8* genmutatie) te incorporeren in het model. (bijv. genmutaties in het *CTLA-4* of *IL-10* gen) Als het accuraat voorspellen van remmervorming op basis van uitgangsggegevens beperkt blijft, dan zou een dynamisch predictiemodel welke informatie incorporeert over de tijd een uitkomst kunnen bieden. In dit type model zou bijvoorbeeld informatie over het aantal expositiedagen opgenomen kunnen worden, informatie over voorbijgaande gebeurtenissen zoals FVIII toediening tijdens trauma of chirurgie en veranderingen in de anti-FVIII IgG antistoftiter over de tijd. Een andere interessante aanpak is om predictiemodellen te bouwen op basis van machine learning algoritmen die mogelijke non-lineaire relaties tussen variabelen beter zouden kunnen modelleren (bijv. een random forest classificatie-algoritme). Het nadeel bij de ontwikkeling van dit soort modellen is dat gegevens van een groot aantal patiënten nodig is om een accuraat model te kunnen bouwen en dat deze modellen moeilijker te interpreteren zijn door gebruikers dan regressiemodellen.²⁶

Het huidige predictiemodel kan gebruikt kunnen worden om patiënten te identificeren die veilig met FVIII behandeld kunnen worden in landen waar emicizumab minder betaalbaar is dan FVIII (bijv. lage-inkomenslanden).

In hoofdstuk 6 hebben we het FVIII IgG repertoire van 122 patiënten met ernstige hemofilie A geëvalueerd met behulp van een nieuwe test gebaseerd op de faagdisplay methode. We identificeerden drie clusters die aanwezig waren in bloedmonsters afgenomen voor behandeling met FVIII en die voorspellend waren voor remmerontwikkeling.

Deze clusters van aminozuursequenties waren al detecteerbaar in monsters die afgenomen waren voor de start van behandeling met FVIII, hetgeen enigszins onverwacht was. Echter, verscheidene studies hebben laten zien dat niet-neutraliserende anti-FVIII antistoffen ook meetbaar zijn in sommige gezonde mensen.²⁷ Daarnaast is al eerder gerapporteerd dat ongeveer 10% van de patiënten met hemofilie A in het SIPPET cohort meetbare niet-neutraliserende anti-FVIII antistoffen hadden.²⁸ Het zou kunnen dat een zekere mate van autoreactiviteit normaal is in zowel patiënten met hemofilie alsook gezonde mensen. Dit is echter geen goede verklaring voor de geobserveerde resultaten in patiënten met een nonsense-mutatie of gendeletie aangezien deze patiënten in het geheel geen endogeen FVIII produceren en het immuunsysteem van deze patiënten dus nooit blootgesteld is geweest aan FVIII zelf-antigenen. Een andere hypothese is dat de aanwezigheid van anti-FVIII antistoffen voor behandeling met FVIII het gevolg is van een eerdere blootstelling aan een pathogeen (bijv. een virus of bacterie) met een of meerdere antigenen die sterk gelijken op delen van het

FVIII-molecuul. Deze kruisreactieve antistoffen kunnen ook aan FVIII binden. Dit fenomeen wordt in de literatuur aangeduid met de term “molecular mimicry”.²⁹

De voorspelde locaties van de drie geïdentificeerde clusters op het FVIII eiwit moeten nog gevalideerd worden in verdere studies. (bijv. met alanine scanning mutagenesis) Dit is omdat we het consensusmotief van deze clusters uitgelijnd hebben tegen de lineaire aminozuursequentie van FVIII. Echter, volgens de literatuur zijn de meeste B-cel epitopen niet lineair maar conformationeel.³⁰ Hierdoor is de toegepaste methode niet optimaal, aangezien er een reële kans is dat de voorspelde locaties van de clusters niet correct zijn.

Er zijn verscheidene B-cel epitooop predictie-algoritmen gepubliceerd die dit probleem trachtten op te lossen door het uitlijnen van een aminozuursequentie (of een consensusmotief) tegen de 3D oppervlakte van een molecuul om op deze manier ook conformationele epitopen te identificeren.³¹ Helaas is de betrouwbaarheid van deze algoritmen laag.³² Dit probleem bemoeilijkt de biologische interpretatie van de aanwezigheid van deze clusters. Echter, een duidelijk begrip van de biologische rol van deze clusters is niet nodig om remmervorming te voorspellen. Informatie over de aanwezigheid van deze clusters kan daarom wel gebruikt worden om testen te ontwikkelen die remmerontwikkeling kunnen voorspellen voor de start van behandeling met FVIII.

In hoofdstukken 4-6 lag de focus op het voorspellen van remmervorming in patiënten die behandeld worden met FVIII producten. Indien het mogelijk is op voorhand te voorspellen welke patiënt een remmer ontwikkelt tijdens behandeling met FVIII, dan zou men een preventieve behandeling kunnen inzetten om remmervorming te voorkomen in deze groep hoog-risico patiënten. Er zijn op dit moment echter geen specifieke behandelstrategieën om remmervorming te voorkomen. Daarom hebben we de literatuur systematisch doorzocht teneinde strategieën te identificeren om antistofvorming tegen biologische geneesmiddelen te voorkomen in andere aandoeningen dan hemofilie.

Verscheidene case-series meldden een vermindering van de incidentie van neutraliserende antistoffen tegen alglucosidase alfa, een middel dat gebruikt wordt in de behandeling van patiënten met de ziekte van Pompe, bij gebruik van een combinatie van rituximab, methotrexaat en intraveneuze immunoglobulinen. Rituximab is al eerder toegepast in patiënten met hemofilie en een remmer als onderdeel van een immuuntolerantie-inductie protocol, maar nooit als een preventieve behande-

ling.³³ Helaas weegt het risico op een serieuze infectie bij preventief behandelen met rituximab (ook in combinatie met andere middelen) niet op tegen de voordelen. Daarom kan deze behandelstrategie niet aangeraden worden in patiënten met hemofilie. Bij patiënten met reumatoïde artritis bleek uit grote gerandomiseerde studies dat het gebruik van methotrexaat de aanwezigheid van antistoffen tegen TNF-remmers verminderde. Aangezien methotrexaat relatief goedkoop is, zou dit een veelbelovende behandeloptie kunnen zijn om remmervorming te voorkomen in hoog-risico patiënten. Het is echter niet duidelijk of de reductie in antistofvorming tijdens behandeling met methotrexaat het gevolg is van immuuntolerantie of slechts tijdelijke immuunsuppressie. Daarnaast zijn studies die het risico op bijwerkingen bij gebruik van methotrexaat in zeer jonge pediatrische patiënten evalueren wel beschikbaar maar schaars. Dit alles bemoeilijkt de praktische implementatie van deze strategie in patiënten met hemofilie A.

Conclusie

Onze resultaten laten zien dat klinische uitkomsten in patiënten met hemofilie enorm zijn verbeterd in de afgelopen decennia. Het jaarlijkse aantal bloedingen en het percentage patiënten met gewrichtsbeperringen is sterk gedaald. Daarnaast is het hepatitis C virus bijna verdwenen onder patiënten met hemofilie in Nederland. Ondanks het klaren van het virus hebben veel patiënten nog steeds last van HCV-gerelateerde complicaties. Als gevolg van deze ontwikkelingen is de mediane levensverwachting van patiënten met hemofilie sterk gestegen en is deze nu bijna gelijk aan die van de Nederlandse mannelijke bevolking. Daarnaast hebben we in drie studies verschillende methoden geëvalueerd om remmervorming (een belangrijke complicatie van de behandeling met FVIII) beter te kunnen voorspellen. De resultaten van deze studies zijn veelbelovend en kunnen worden gebruikt als uitgangspunt voor verder onderzoek.

Referenties

1. Peyvandi F, Garagiola I, Young G. The past and future of haemophilia: diagnosis, treatments, and its complications. *Lancet*. 2016;388(10040):187–197.
2. Iorio A, Stonebraker JS, Chambost H, et al. Establishing the Prevalence and Prevalence at Birth of Hemophilia in Males: A Meta-analytic Approach Using National Registries. *Ann Intern Med*. 2019;171(8):540–546.
3. Smit C, Rosendaal FR, VAREKAMP I, et al. Physical condition, longevity, and social performance of Dutch haemophiliacs, 1972-85. *Bmj*. 1989;298(6668):235–238.
4. Triemstra AH, Smit C, HM VDP, Briët E, Rosendaal FR. Two decades of haemophilia treatment in the Netherlands, 1972-92. *Haemophilia*. 1995;1(3):165–171.
5. Plug I, van der Bom JG, Peters M, et al. Thirty years of hemophilia treatment in the Netherlands, 1972-2001. *Blood*. 2004;104(12):3494–3500.
6. Rosendaal FR, VAREKAMP I, Smit C, et al. Mortality and causes of death in Dutch haemophiliacs, 1973-86. *Br J Haematol*. 1989;71(1):71–76.
7. Triemstra M, Rosendaal FR, Smit C, van der Ploeg HM, Briët E. Mortality in patients with hemophilia: Changes in a Dutch population from 1986 to 1992 and 1973 to 1986. *Ann Intern Med*. 1995;123(11):823–827.
8. Plug I, van der Bom JG, Peters M, et al. Mortality and causes of death in patients with hemophilia, 1992-2001: a prospective cohort study. *J Thromb Haemost*. 2006;4(3):510–516.
9. Peyvandi F, Mannucci PM, Garagiola I, et al. A Randomized Trial of Factor VIII and Neutralizing Antibodies in Hemophilia A. *New England Journal of Medicine*. 2016;374(21):2054–2064.
10. Sadam H, Pihlak A, Jaago M, et al. Identification of two highly antigenic epitope markers predicting multiple sclerosis in optic neuritis patients. *EBioMedicine*. 2021;64:.
11. Regling K, Callaghan MU, Sidonio Jr R. Managing Severe Hemophilia A in Children: Pharmacotherapeutic Options. *Pediatric Health Med Ther*. 2022;Volume 13:27–35.
12. Batty P, Lillicrap D. Hemophilia gene therapy: Approaching the first licensed product. *Hemasphere*. 2021;
13. Leebeek FWG, Miesbach W. Gene therapy for hemophilia: a review on clinical benefit, limitations, and remaining issues. *Blood*. 2021 Sep 16;138(11):923-931. doi: 10.1182/blood.2019003777
14. First gene therapy to treat severe haemophilia A. European Medicines Agency. Accessed November 16th, 2022. <https://www.ema.europa.eu/en/news/first-gene-therapy-treat-severe-haemophilia>

15. Versloot O, Timmer MA, de Kleijn P, et al. Sports participation and sports injuries in Dutch boys with haemophilia. *Scand J Med Sci Sports*. 2020;30(7):1256–1264.
16. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia*. 2020;26(S6):1–158.
17. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, et al. Prophylaxis versus Episodic Treatment to Prevent Joint Disease in Boys with Severe Hemophilia. *New England Journal of Medicine*. 2007;357(6):535–544.
18. Ioannou GN, Beste LA, Green PK, et al. Increased Risk for Hepatocellular Carcinoma Persists Up to 10 Years After HCV Eradication in Patients With Baseline Cirrhosis or High FIB-4 Scores. *Gastroenterology*. 2019;157(5):1264-1278.e4.
19. Zwagemaker AF, Gouw SC, Jansen JS, et al. Incidence and mortality rates of intracranial hemorrhage in hemophilia: a systematic review and meta-analysis. *Blood*. 2021;138(26):2853–2873.
20. Rosendaal FR, Briët E, Stibbe J, et al. Haemophilia protects against ischaemic heart disease: a study of risk factors. *Br J Haematol*. 1990;75(4):525-30.
21. Samuelson Bannow B, Recht M, Négrier C, et al. Factor VIII: Long-established role in haemophilia A and emerging evidence beyond haemostasis. *Blood Rev*. 2019;35:43–50.
22. Witmer C, Presley R, Kulkarni R, et al. Associations between intracranial haemorrhage and prescribed prophylaxis in a large cohort of haemophilia patients in the United States. *Br J Haematol*. 2011 Jan;152(2):211-6. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08469.x. Epub 2010 Nov 29.
23. Young G. Can we do something about ICH in hemophilia? *Blood*. 2021;138(26):2750–2751.
24. Lai J, Hough C, Tarrant J, Lillicrap D. Biological considerations of plasma-derived and recombinant factor VIII immunogenicity. *Blood*. 2017;129(24):3147–3154.
25. Makris M, Calizzani G, Fischer K, et al. EUHASS: The European Haemophilia Safety Surveillance system. *Thromb Res*. 2011;127 Suppl 2(SUPPL. 2):
26. Oosterhoff JHF, Doornberg JN. Artificial intelligence in orthopaedics: false hope or not? A narrative review along the line of Gartner’s hype cycle. *EFORT Open Rev*. 2020;5(10):593–603.
27. Abdi A, Bordbar MR, Hassan S, et al. Prevalence and incidence of non-neutralizing antibodies in congenital hemophilia a—a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol*. 2020;11:.
28. Cannavò A, Valsecchi C, Garagiola I, et al. Nonneutralizing antibodies against factor VIII and risk of inhibitor development in severe hemophilia A. *Blood*. 2017;129(10):1245–1250.

29. Rojas M, Restrepo-Jiménez P, Monsalve DM, et al. Molecular mimicry and autoimmunity. *J Autoimmun.* 2018;95:100–123.
30. Barlow DJ, Edwards MS, Thornton JM. Continuous and discontinuous protein antigenic determinants. *Nature.* 1986;322(6081):747–748.
31. Haste Andersen P, Nielsen M, Lund O. Prediction of residues in discontinuous B-cell epitopes using protein 3D structures. *Protein Science.* 2006;15(11):2558–2567.
32. Sun P, Chen W, Huang Y, et al. Epitope prediction based on random peptide library screening: Benchmark dataset and prediction tools evaluation. *Molecules.* 2011;16(6):4971–4993.
33. Schep SJ, Schutgens REG, Fischer K, Boes ML. Review of immune tolerance induction in hemophilia A. *Blood Rev.* 2018;32(4):326–338.