

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Ricardo Mesquita Camelo

**AVALIAÇÃO DE FATORES ASSOCIADOS À RESPOSTA AO TRATAMENTO DE
IMUNOTOLERÂNCIA EM PACIENTES COM HEMOFILIA A HEREDITÁRIA E
INIBIDOR**

Belo Horizonte
2022

Ricardo Mesquita Camelo

**AVALIAÇÃO DE FATORES ASSOCIADOS À RESPOSTA AO TRATAMENTO DE
IMUNOTOLERÂNCIA EM PACIENTES COM HEMOFILIA A HEREDITÁRIA E
INIBIDOR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.

Orientadora: Prof.(a) Dra. Suely Meireles Rezende

Belo Horizonte

2022

Camelo, Ricardo Mesquita.
C181a Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A hereditária e inibidor [recursos eletrônicos]. / Ricardo Mesquita Camelo. -- Belo Horizonte: 2023. 297 f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Suely Meireles Rezende.
Área de concentração: Clínica Médica.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Hemofilia A. 2. Anticorpos Neutralizantes. 3. Tolerância Imunológica. 4. Protocolos Clínicos. 5. Prognóstico. 6. Dissertação Acadêmica. I. Rezende, Suely Meireles. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WH 325



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO

FOLHA DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DE FATORES ASSOCIADOS À RESPOSTA AO TRATAMENTO DE IMUNOTOLERÂNCIA EM PACIENTES COM HEMOFILIA A HEREDITÁRIA E INIBIDOR

RICARDO MESQUITA CAMÊLO

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia vinte e quatro de junho de dois mil e vinte e dois, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores doutores:

Suely Meireles Rezende - Orientadora
UFMG

Daniel Dias Ribeiro
HC-UFMG

Mauro Martins Teixeira
UFMG

Eliane Bandinelli
UFRGS

Luciana Correa Oliveira de Oliveira
HCFMRP-USP

Belo Horizonte, 24 de junho de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Suely Meireles Rezende, Professora do Magistério Superior**, em 29/06/2022, às 10:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mauro Martins Teixeira, Professor do Magistério Superior**, em 29/06/2022, às 13:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eliane Bandinelli, Usuária Externa**, em 30/06/2022, às 16:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniel Dias Ribeiro, Médico**, em 01/08/2022, às 15:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Correa Oliveira de Oliveira, Usuária Externa**, em 03/10/2022, às 10:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1462629** e o código CRC **356EDC85**.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitora

Professora Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitor

Professor Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Professora Isabela Almeida Pordeus

Pró-Reitor de Pesquisa

Professor Fernando Marcos dos Reis

FACULDADE DE MEDICINA

Diretora

Professora Alamanda Kfoury Pereira

Vice-Diretora

Professora Cristina Gonçalves Alvim

Chefe do Departamento de Clínica Médica

Professor Márcio Weissheimer Lauria

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO

Coordenadora

Professora Teresa Cristina Abreu Ferrari

Subcoordenadora

Professora Luciana Costa Faria

Colegiado

Professora Claudia Alves Couto

Professora Gilda Aparecida Ferreira

Professora Karina Braga Gomes Borges

Professora Luciana Costa Faria

Professora Luciana Diniz Silva

Professora Melissa Orlandin Premaor

Fábia Carolina Pereira Resende – Representante Discente

RESUMO

A hemofilia A (HA) é uma doença hemorrágica rara decorrente da deficiência do fator VIII (FVIII) da coagulação, devido às mutações no gene que o codifica (*F8*). As hemorragias se manifestam como sangramentos espontâneos ou pós-traumáticos, principalmente hematomas intramusculares e sangramento articular (hemartrose), mas também em órgãos vitais. Dessa forma, a reposição com o concentrado de FVIII se faz necessária tanto para estancar os sangramentos (tratamento episódico) quanto para evitá-los (profilaxia). Atualmente, a complicação iatrogênica mais séria do tratamento da HA é o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes anti-FVIII, conhecidos como inibidores. Eles se desenvolvem em até 30% das pessoas com HA (PcHA) grave e até 5% das PcHA não-grave. Nesses casos, o uso dos agentes de *bypass* deve ser instituído, seja para o tratamento episódico ou profilático. A única terapia atualmente disponível para erradicação dos inibidores é a imunotolerância (IT). A IT está indicada para PcHA e inibidor que interfere na atividade hemostática do FVIII, por conseguinte, demandando o uso de agentes de *bypass*. A IT consiste em infusões frequentes de concentrado de FVIII, para induzir (re)tolerância e recuperação da função hemostática do FVIII, com taxas de sucesso de 60% a 80%. No Brasil, desde 2012, aproximadamente 450 PcHA e inibidor iniciaram tratamento de IT com o Protocolo Brasileiro. Este protocolo estabelece um regime inicial de doses baixas três vezes por semana de FVIII e, na ausência de redução do título de inibidor, incrementa-se o regime para doses altas e diárias. Aproveitamos a disponibilidade dessa grande população de PcHA e inibidor em IT e propusemos o Estudo BrazIT, que é um estudo multicêntrico nacional coordenado pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais que visa avaliar fatores preditores de resposta à IT. PcHA e inibidor que vão fazer, estão fazendo ou fizeram IT foram incluídas nos 15 Centros de Tratamento de Hemofilia envolvidos no estudo. Dados clínicos e laboratoriais foram obtidos dos períodos pré- e durante a IT através de análise do prontuário médico e entrevista. Amostras de sangue total foram colhidas e utilizadas para a extração de DNA com análise de exoma e realização de testes imunológicos. Este subprojeto do Estudo BrazIT tem como objetivo identificar fatores clínicos e imunológicos como potenciais preditores de resposta à IT. A metodologia detalhada do estudo foi publicada na revista *PLoS ONE*, em 2021. Até o momento, 207 PcHA e inibidor foram incluídos. Houve 9 (4,3%) abandonos e 2 (1,0%) óbitos durante a IT. Enquanto 33

(15,9%) ainda estão sendo tratados, 163 (78,8%) já concluíram o tratamento. Deste grupo, houve 50 (30,7%) falhas, resultando em uma taxa de sucesso de 69,3% (113 sucessos). Uma outra análise avaliou se o intervalo de tempo entre a detecção de inibidor e o início da IT se associou com o seu desfecho em 142 PcHA e inibidor de alta resposta (PcHA-iAR). A taxa de sucesso geral da IT foi de 65,5%, sem diferença entre o primeiro, segundo, terceiro e quarto quartis do intervalo (62,9%, 69,4%, 58,3% e 71,4%, respectivamente), mesmo após ajuste para potenciais fatores de confusão. Avaliou-se, ainda, se a troca do FVIII recombinante (rFVIII) para derivado de plasma (dpFVIII) durante a IT, naqueles PcHA-iAR que não estavam respondendo ao primeiro, impactariam no desfecho. Todas as PcHA-iAR que se submeteram à troca (n = 8; 100%) falharam. Finalmente, uma revisão sistemática com metanálise de 27 estudos em 1734 PcHA demonstrou que, dentre os 20 potenciais determinantes avaliados, pico histórico < 100 UB (unidades Bethesda)/mL (*odds ratio* [OR] 1,67, intervalo de confiança de 95% [IC95%] 1,35-2,07), título de inibidor pré-IT < 10 UB/mL (OR 1,78, IC95% 1,40-2,26) e pico de inibidor durante IT < 100 UB/mL (OR 2,66, IC95% 1,87-3,79) se associaram com sucesso. Assim, concluímos que IgG4 é um marcador de falha à IT, que cirurgias, troca de rFVIII para dpFVIII e o intervalo de tempo decorrido entre a detecção de um inibidor e o início da IT não se associaram com desfecho da IT. Porém, pico histórico < 100 UB/mL, título de inibidor pré-IT < 10 UB/mL e pico de inibidor durante IT < 100 UB/mL se associaram com o sucesso da IT.

Palavras-chave: hemofilia A; inibidor; imunotolerância; Protocolo Brasileiro de Indução de Imunotolerância; fatores prognósticos; desfecho.

ABSTRACT

Hemophilia A (HA) is a rare bleeding disorder resulting from the deficiency of clotting factor VIII (FVIII), due to mutations in the gene that encodes it (*F8*). Bleeding episodes manifest as spontaneous or post-traumatic, presenting mainly as intramuscular hematomas and joint bleeding (hemarthrosis), but can also affect vital organs. Thus, replacement with FVIII concentrate is necessary both to stop bleeding (episodic treatment) and to prevent it (prophylaxis). Currently, the most serious iatrogenic complication of HA treatment is the development of anti-FVIII neutralizing antibodies, known as inhibitors. They develop in up to 30% of people with severe HA (PwHA) and up to 5% of non-severe PwHA. In such cases, the use of bypassing agents should be instituted, either for episodic or prophylactic treatment. The only therapy currently available for eradication of inhibitors is immunotolerance induction (ITI). ITI is indicated for PwHA and inhibitor that interferes with the hemostatic activity of FVIII, therefore, requiring the use of bypassing agents. ITI consists of frequent infusions of FVIII concentrate to induce (re)tolerance and recovery of the FVIII hemostatic function, with success rates from 60% to 80%. In Brazil, since 2012, approximately 450 PwHA and inhibitor started ITI according to the Brazilian Protocol. This protocol establishes an initial regimen of low doses of FVIII three times per week and, in the absence of reduction in the inhibitor titer, the regimen is increased to high and daily doses. We took advantage of the availability of this large population of PwHA and inhibitor on ITI and proposed the BrazIT Study, which is a national multicenter study coordinated by the Faculty of Medicine of the Universidade Federal de Minas Gerais. The aim of the BrazIT Study was to assess predictors of response to ITI. PwHA and inhibitor who are about to start, have finished, or are under ITI were included in the 15 Hemophilia Treatment Centers participating in the study. Clinical and laboratory data were obtained from the pre- and during the ITI through analysis of medical records and interviews. Whole blood samples were collected and used for DNA extraction with exome analysis and immunological testing. This subproject of the BrazIT Study aims to identify clinical and immunological factors as potential predictors of response to IT. The detailed methodology of the study was published in the journal PLoS ONE in 2021. To date, 207 PwHA and inhibitor have been included. There were 9 (4.3%) withdrawals and 2 (1.0%) deaths during IT. While 33 (15.9%) are still under treatment, 163 (78.8%) completed treatment. Of this group, there were 50 (30.7%) failures, resulting in a

success rate of 69.3% (113 successes). Another analysis evaluated whether the time interval between inhibitor detection and onset of ITI was associated with its outcome in 142 PwHA and high-response inhibitor (PwHA-HRi). The overall ITI success rate was 65.5%, with no difference between the first, second, third and fourth quartiles of the range (62.9%, 69.4%, 58.3%, and 71.4%, respectively), even after adjusting for potential confounders. We also evaluated whether switching from recombinant FVIII (rFVIII) to plasma-derived (pdFVIII) during ITI, in those PwHA-HRi that were not responding to the first, would impact the outcome. All PwHA-HRi who underwent change of the FVIII type (n = 8; 100%) failed. Finally, a systematic review with meta-analysis of 27 studies in 1,734 PwHA showed that, among the 20 potential determinants evaluated, a historical peak < 100 BU (Bethesda units)/mL (odds ratio [OR] 1.67, 95% confidence interval [95%CI] 1.35-2.07), pre-ITI inhibitor titer < 10 BU/mL (OR 1.78, 95%CI 1.40-2.26), and peak inhibitor during ITI < 100 BU/ mL (OR 2.66, 95%CI 1.87-3.79) were associated with ITI success. Thus, we conclude that IgG4 is a marker of ITI failure, that surgeries, switching from rFVIII to pdFVIII, and the time interval between the detection of an inhibitor and the onset of ITI were not associated with ITI outcome. However, historical peak < 100 BU/mL, pre-ITI inhibitor titer < 10 BU/mL, and inhibitor peak during ITI < 100 BU/mL were associated with ITI success.

Keywords: hemophilia A; inhibitor; immune tolerance; Brazilian Protocol of Immune Tolerance Induction; prognostic factors; outcome.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Centros de Tratamento de Hemofilia participantes do Estudo BrazIT	52
Figura 2 – Codificação utilizada no processo de anonimização dos participantes do Projeto BrazIT	54
Figura 3 – Coletas de amostras de sangue de acordo com o momento de inclusão no Estudo BrazIT e situação de tratamento com imunotolerância. IT, imunotolerância .	62

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Dados clínicos e terapêuticos coletados através de formulários no Estudo BrazilT	60
Quadro 2 – Primeira busca da literatura em bases eletrônicas de dados*	69
Quadro 3 – Busca atualizada da literatura em bases eletrônicas de dados*	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Oligonucleotídeos utilizados na reação da inversão do íntron 22	64
Tabela 2 – Características dos fragmentos obtidos na reação de inversão do íntron 22	64
Tabela 3 – Oligonucleotídeos utilizados na reação da inversão do íntron 1	65
Tabela 4 – Características dos fragmentos obtidos na reação de inversão do íntron 1	65

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

.vcf	<i>variant call format</i>
AC	antes de Cristo
AHG	globulina anti-hemofílica
APC	célula(s) apresentadora(s) de antígeno(s)
BrazIT	Estudo Imunotolerância Brasil
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CCL2	ligante 2 da quimiocina no motivo C-C ou proteína 1 quimioatrativa de monócito
CCL5	ligante 5 da quimiocina no motivo C-C ou <i>regulated on activation, normal T cell expressed and secreted</i>
CCP	concentrado de complexo protrombínico
CCPa	concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado
CD4+	grupo de diferenciação tipo 4 presente
CDS	DNA codificador
CGSH	Coordenação Geral do Sangue e Hemoderivados
CN	controle negativo
CNV	variação(ões) do número de cópias
CTH	Centro de Tratamento de Hemofilia
CTLA-4	proteína 4 associada ao linfócito T citotóxico
CXCL10	ligante 10 da quimiocina no motivo C-X-C ou proteína induzida por interferon γ 10
CXCL8	ligante 8 da quimiocina no motivo C-X-C ou interleucina 8
CXCL9	ligante 9 da quimiocina no motivo C-X-C ou monocina induzida por interferon γ
DAE	Departamento de Assistência Especializada
DE	dia(s) de exposição
dL	decilitro ou 1×10^{-1} L
DNA	ácido desoxirribonucleico
dNTP	desoxirribonucleotídeo(s) fosfatado(s)
dpFVIII	fator VIII da coagulação derivado de plasma
dsDNA	DNA de fita dupla
EDTA	ácido etilenodiaminotetraacético

ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
F8	gene que codifica o fator VIII da coagulação
F9	gene que codifica o fator IX da coagulação
FACS	<i>fluorescence-activated cell sorting</i>
FII	fator II da coagulação: protrombina (zimogênio) ou trombina
FIX	fator IX da coagulação
FVIII	fator VIII da coagulação
FvW	fator de von Willebrand
FX	fator X da coagulação
FXI	fator XI da coagulação
FXII	fator XII a coagulação
h	hora
HA	hemofilia A
HB	hemofilia B
HCV	vírus da hepatite C
HEMOMINAS	Fundação Hemocentro de Minas Gerais
HIV	vírus da imunodeficiência humana
HLA	antígeno leucocitário humano
IC95%	intervalo de confiança de 95%
IFN- γ	interferon γ
IgG1	gamaimunoglobulina do tipo 1
IgG4	gamaimunoglobulina do tipo 4
IIQ	intervalo interquartil
I-ITI	<i>International ITI Study</i>
IL-10	interleucina 10
IL-17A	interleucina 17A
IL-2	interleucina 2
IL-4	interleucina 4
IL-6	interleucina 6
InDel	inserções e deleções
IT	imunotolerância
kg	quilograma ou 1×10^3 g
L	litro
ln	logaritmo natural

MHC	complexo de histocompatibilidade principal
min	minuto
mL	mililitro ou 1×10^{-3} L
mmol	milimol ou 1×10^{-3} mol
MS	Ministério da Saúde
ng	nanograma ou 1×10^{-9} g
°C	grau(s) centígrado(s)
OPD	o-felienediamina
p/v	peso por volume
pb	pares de base
PcHA	pessoa(s) com hemofilia A
PcHA-iAR	pessoa(s) com hemofilia A e inibidor de alta resposta
PCR	reação em cadeia de polimerase
pg	picograma ou 1×10^{-12} g
PPN	<i>pool</i> de plasma normal
rFVIIa	fator VII ativado recombinante
rFVIII	fator VIII da coagulação recombinante
rpm	rotações por minuto
s	segundo
SAS	Secretaria de Atenção à Saúde
SEDEX10	<i>sedimentary exhalative deposits</i>
SNV	variante(s) de base única
TALE	Termo de Assentimento Livre e Esclarecido
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFS	tampão fosfato-salina
TNF- α	fator de necrose tumoral α
TP	tempo de protrombina
TTPa	tempo de tromboplastina parcialmente ativada
U	unidade(s)
UB	unidade(s) Bethesda
UI	unidade(s) internacional(is)
UKHCDO	<i>UK Haemophilia Centre Doctors Organization</i>
v/v	volume por volume
vs.	<i>versus</i>

$\Delta t_{\text{ini-IT}}$	intervalo entre o diagnóstico do inibidor e o início da imunotolerância
μL	microlitro ou 1×10^{-6} L
μmol	micromol ou 1×10^{-6} mol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1 Uma breve história da hemofilia A	24
2.2 Transmissão e epidemiologia da hemofilia A	27
2.3 Etiopatogenia, diagnóstico laboratorial e classificação fenotípica da gravidade.....	28
2.4 Manifestações clínicas e artropatia hemofílica	29
2.5 Tratamento da hemofilia A.....	31
2.6 Inibidores na hemofilia A: conceito e etiopatogenia	34
2.7 Epidemiologia e fatores de risco para desenvolvimento de inibidores	35
2.8 Manifestações clínicas, diagnóstico e classificação dos inibidores em hemofilia A	37
2.9 Tratamento de pessoas com hemofilia A e inibidores	39
2.10 Emicizumabe como profilaxia em pessoas com hemofilia A sem ou com inibidor.....	40
2.11 Erradicação dos inibidores em pessoas com hemofilia A.....	41
2.12 Preditores de resposta da imunotolerância	46
2.13 Tratamento da hemofilia A no Brasil.....	47
3 JUSTIFICATIVA.....	50
4 OBJETIVOS.....	51
4.1 Objetivo geral	51
4.2 Objetivos específicos	51

5 METODOLOGIA	52
5.1 Desenho do estudo e locais de pesquisa	52
5.2 Considerações éticas	52
5.3 Participantes	53
5.4 Coleta, armazenamento, codificação e transporte de amostras	53
5.5 Protocolo Brasileiro de Indução de Imunotolerância	54
5.6 Testes laboratoriais para seguimento da imunotolerância, segundo o Protocolo Brasileiro de Indução de Imunotolerância	55
5.6.1 <i>Coleta e processamento do plasma para testes da coagulação</i>	56
5.6.2 <i>Determinação da atividade de FVIII</i>	56
5.6.3 <i>Determinação da farmacocinética do FVIII (recuperação e meia-vida)</i>	57
5.6.4 <i>Titulação do inibidor pela técnica de Bethesda modificada (Nijmegen-Bethesda)</i>	59
5.7 Variáveis clínicas e sociodemográficas	60
5.8 Preparo das amostras biológicas	61
5.9 Caracterização molecular da hemofilia A	62
5.9.1 <i>Inversão do íntron 22</i>	62
5.9.2 <i>Sequenciamento do gene do FVIII acoplado à avaliação do exoma</i>	65
5.10 Revisão sistemática sobre determinantes da imunotolerância e metanálise	66
5.10.1 <i>Crerios de elegibilidade do estudo</i>	66
5.10.2 <i>Participantes</i>	67
5.10.3 <i>Desfechos e determinantes</i>	67
5.10.4 <i>Fontes de informação e estratégia de busca</i>	68
5.10.5 <i>Seleção de estudos e coleta de dados</i>	70
5.10.6 <i>Avaliação de qualidade</i>	70
5.10.7 <i>Extração e gerenciamento de dados</i>	71
5.10.8 <i>Descrição dos dados</i>	71

5.10.9 Exploração, síntese e análise de dados.....	72
6 RESULTADOS.....	74
6.1 Artigo 1 (publicado).....	74
6.1.1 <i>Resumo</i>	74
6.2 Artigo 2 (publicado).....	86
6.2.1 <i>Resumo</i>	86
6.3 Artigo 3 (publicado).....	99
6.3.1 <i>Resumo</i>	99
6.4 Artigo 4 (publicado).....	109
6.4.1 <i>Resumo</i>	109
7 CONCLUSÕES	197
8 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	199
REFERÊNCIAS.....	200
APÊNDICES	229
Apêndice A – TALE 6-12 anos em tratamento.....	229
Apêndice B – TALE 6-12 anos sem tratamento (ainda não iniciou).....	231
Apêndice C – TALE 6-12 anos (já concluiu o tratamento).....	233
Apêndice D – TALE 13-17 anos em tratamento.....	235
Apêndice E – TALE 13-17 anos sem tratamento.....	238
Apêndice F – TALE 13-17 anos.....	241
Apêndice G – TCLE paciente adulto, em tratamento.....	244
Apêndice H – TCLE paciente adulto, sem tratamento.....	247
Apêndice I – TCLE paciente adulto	250

Apêndice J – TCLE adulto responsável pela criança, em tratamento.....	253
Apêndice K – TCLE adulto responsável pela criança, sem tratamento	256
Apêndice L – TCLE adulto responsável pela criança.....	259
Apêndice M – Momento da Inclusão no Estudo.....	262
Apêndice N – Momento da Conclusão da Imunotolerância	265
Apêndice O – Soluções utilizadas nos testes imunológicos	271
ANEXO	272
Anexo A – Parecer Consubstanciado de aprovação do Estudo BrazIT	272

1 INTRODUÇÃO

As hemofilias são doenças hemorrágicas hereditárias raras, decorrentes de mutações nos genes que codificam os fatores de coagulação VIII ou FVIII (*F8*, hemofilia A – HA) e IX ou FIX (*F9*, hemofilia B – HB) (BOLTON-MAGGS; PASI, 2003). Como os genes se localizam nas posições Xq28 e Xq27, respectivamente, a herança é recessiva e está ligada ao cromossomo X (BOLTON-MAGGS; PASI, 2003). Em consequência, a prevalência (por 100.000 homens) é de 17,1 casos para HA e 3,8 casos para HB (IORIO *et al.*, 2019), enquanto a prevalência no nascimento (por 100.000 homens) é 24,6 casos para HA e 5,0 casos para HB (IORIO *et al.*, 2019). Embora raro, as mulheres também podem ter hemofilia (HIRAYAMA *et al.*, 2019). O trabalho que é objeto deste projeto aborda apenas a HA.

O FVIII atua na coagulação como um cofator do complexo tenase, que é um dos pontos da amplificação da coagulação. Esse complexo é formado pelos FVIII e FIX ativados e o zimogênio do FX (RODRIGUES *et al.*, 2012). Através dele, o FVIII ativado estabiliza o FIX ativado sobre a superfície da plaqueta ativada, para ativar o zimogênio FX (RODRIGUES *et al.*, 2012). O FX ativado, por sua vez, ativa a protrombina (FII zimogênio) em trombina (FII), tendo o FV como cofator, ainda sobre a superfície da plaqueta ativada (RODRIGUES *et al.*, 2012). Esse segundo ponto de amplificação da coagulação é conhecido como complexo protrombinase. Por fim, a trombina ativa o fibrinogênio, formando o coágulo de fibrina (RODRIGUES *et al.*, 2012).

Dessa forma, a redução da expressão do FVIII resulta em hipocoagulabilidade. Clinicamente, essa deficiência se manifesta através de sangramentos que podem ser espontâneos ou pós-traumáticos (MINGOT-CASTELLANO, 2019). Por conseguinte, a classificação da HA é baseada no nível residual de FVIII, que geralmente se associa com a gravidade e frequência dos sangramentos (MINGOT-CASTELLANO, 2019; DEN UIJL *et al.*, 2011). A HA leve é definida quando a atividade do FVIII se encontra entre 5% e 40%, e se caracteriza por sangramento aumentado após trauma ou cirurgia, mas raramente espontâneos. Por outro lado, na HA grave (atividade do FVIII menor de 1% do normal), os sangramentos espontâneos são frequentes, podendo ser graves e fatais. Por fim, as pessoas com HA (PcHA) moderada apresentam atividade de fator de 1% a 5%, podendo manifestar sangramentos espontâneos dependentes

do nível de FVIII dentro dessa variação, ou seja, quanto menor a atividade de FVIII residual, maior o risco de sangramentos espontâneos.

As manifestações hemorrágicas espontâneas mais características das hemofilias são sangramentos em pele, mucosas, intramusculares e articulares (hemartroses) (MINGOT-CASTELLANO, 2019). As articulações mais frequentemente acometidas são joelhos, cotovelos, tornozelos, ombros, punhos e quadris (WANG *et al.*, 2020). Hemartroses de repetição podem levar à artropatia hemofílica, apesar de apenas uma hemartrose poder provocar essa complicação em alguns casos (GRINGERI; EWENSTEIN; REININGER, 2014). A artropatia hemofílica é uma condição debilitante crônica, caracterizada por dor e limitação funcional, levando à incapacidade física permanente (NACCA; HARRIS; TUTTLE, 2017). A reposição com FVIII é necessária tanto para estancar os sangramentos (terapia episódica ou sob demanda) quanto para evitá-los (profilaxia) (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). O objetivo principal da profilaxia, que consiste na infusão frequente de FVIII a despeito de haver episódios de sangramentos, é evitar o desenvolvimento ou a evolução da artropatia hemofílica (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). No entanto, devido à manutenção da atividade residual mais elevada, a profilaxia também parece proteger contra sangramentos em outros órgãos, como a hemorragia intracraniana (ZANON; PASCA, 2019).

Atualmente, a complicação mais séria causada pelo tratamento da HA é o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes anti-FVIII, chamados inibidores (SANTAGOSTINO *et al.*, 2019). Estes são gama-imunoglobulinas (IgG) que se desenvolvem em até 30% das PCHA grave e até 5% das PCHA não-grave (SANTAGOSTINO *et al.*, 2019; WIGHT; PAISLEY, 2003). O risco de se desenvolvê-los é maior até os primeiros 50 dias de exposição ao FVIII (OSOOLI; BERNTORP, 2015). Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento de inibidores em PCHA, destacam-se o tipo de mutação em *F8*, a presença de outros casos de inibidor na família e o uso de doses altas e frequentes de FVIII (OSOOLI; BERNTORP, 2015; PEYVANDI *et al.*, 2017).

Os inibidores podem ser de baixa (nunca ultrapassam 5 unidades Bethesda [UB]/mL) ou alta resposta (ocorrência de pelo menos uma titulação de 5 UB/mL ou maior) (BLANCHETTE *et al.*, 2014). Enquanto PCHA e inibidor de baixa resposta costumam

ter boa resposta ao tratamento com FVIII em doses mais altas, sangramentos em PCHA e inibidor de alta resposta devem ser tratados ou evitados com agentes de *bypass* (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Estes agentes (complexo protrombínico parcialmente ativado [CCPa] e fator VII ativado recombinante [rFVIIa]) atuam fazendo uma “ponte” no processo de coagulação, de forma independente dos FVIII e FIX (ABSHIRE; KENET, 2004; HEDNER; LEE, 2011; TURECEK *et al.*, 2004). Entretanto, além de ter efetividade menor do que a reposição com FVIII (CHAI-ADISAKSOPHA *et al.*, 2017; ZHOU; HAY, 2012), são medicamentos de alto custo (BAGHAIPOUR; STEEN CARLSSON, 2015; MESSORI, 2018).

Por isso, toda PCHA que tenha desenvolvido inibidor que impeça a atividade pró-coagulante do FVIII deve ser candidata ao tratamento de erradicação do inibidor (OLDENBURG, JOHANNES *et al.*, 2018). O único tratamento atualmente disponível para isso é a imunotolerância (IT) (CARCAO *et al.*, 2019). Essa terapia está indicada para PCHA que tem inibidor que interfere na atividade hemostática do FVIII e, em consequência, demande o uso de agentes de *bypass* (OLDENBURG *et al.*, 2018; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). A IT consiste em infusões frequentes de concentrado de FVIII, geralmente em doses maiores que as convencionais, para induzir (re)tolerância e retorno à capacidade hemostática do FVIII (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). As taxas de sucesso de IT são de quase 100% para inibidores de baixa resposta e entre 60% e 80% para inibidores de alta resposta (OLDENBURG *et al.*, 2018). Alguns fatores têm sido relacionados com o prognóstico da IT, dos quais os títulos de pico histórico (período antes da IT), o título imediatamente antes da IT e o título de pico durante a IT parecem ser os mais relevantes (BRACKMANN *et al.*, 2018; NAKAR; SHAPIRO, 2019; SCHEP *et al.*, 2018). No entanto, os diferentes registros publicados até o momento são inconsistentes quanto a esses e a outros possíveis fatores (BRACKMANN *et al.*, 2018; NAKAR; SHAPIRO, 2019; SCHEP *et al.*, 2018).

No Brasil, cerca de 450 PCHA e inibidores foram tratadas com o Protocolo Brasileiro de Indução de Imunotolerância desde 2012 (BRASIL, 2015a). Assim, aproveitamos a disponibilidade desta grande população de PCHA em IT e propusemos o Estudo BrazIT, que é um estudo multicêntrico nacional que visa avaliar preditores de resposta a IT com esse protocolo. Esta tese é um subprojeto do Estudo BrazIT, cujo objetivo é

identificar fatores clínicos e biomarcadores imunológicos potencialmente preditores de resposta à IT.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Uma breve história da hemofilia A

As primeiras referências a uma condição de sangramento altamente sugestiva de hemofilia datam do séc. II AC. O Talmude babilônico dizia que, se uma mulher perdera seus primeiros dois filhos após a circuncisão, ela estava isenta da obrigação de circuncidar o terceiro filho (ROSNER, 1969). Acredita-se que o primeiro relato moderno formal da hemofilia ocorreu em 1803, quando o médico americano Dr. John Conrad Otto descreveu em várias famílias um distúrbio hemorrágico hereditário em que apenas homens eram afetados, mas com transmissão através de mulheres não afetadas (OTTO, 1996). No entanto, a primeira análise de uma árvore genealógica da hemofilia foi publicada no início do séc. XIX (INGRAM, 1976), pouco antes de Nasse publicar as primeiras descrições da genética da hemofilia. Segundo a Lei de Nasse, a hemofilia é transmitida inteiramente por mulheres não afetadas a seus filhos. Nesse sentido, a hemofilia costumava ser chamada de “Doença Real”, porque vários membros da família real europeia foram afetados pela doença (GREEN, 2010). Finalmente, a primeira vez que a palavra "hemofilia" parece ter sido utilizada foi em 1828, pelo médico alemão Dr. J. L. Schönlein e seu aluno Friedrich Hopff, em Zurique, Suíça (HOPFF, 1828).

Como a hemofilia desde cedo esteve frequentemente associada a sangramento fatal, a medicina transfusional e a hemofilia sempre estiveram intimamente ligadas. O registro mais antigo de hemotransfusão em hemofilia é provavelmente de Lane, em 1840 (LANE, 1840). A transfusão de sangue naquela época geralmente era fatal em cerca de metade de todos os casos (WIEBECKE *et al.*, 2004). Com a descrição dos grupos sanguíneos e a realização de testes pré-transfusoriais de prova cruzada, as reações adversas relacionadas à transfusão foram consideravelmente reduzidas (LANDSTEINER, 1900, 1901; OTTENBERG; KALISKI, 1913; SCHULZ, 1910).

Em 1911, Addis investigou vários fatores do sangue e dos tecidos, em pacientes com hemofilia e em indivíduos saudáveis, chegando-se à conclusão de que a protrombina no sangue hemofílico era defeituosa (ADDIS, 1911). Ele também relatou a redução do tempo de coagulação do sangue hemofílico, após a infusão intravenosa de soro

humano fresco (ADDIS, 1916). Pouco tempo depois, Govaerts & Gattia mostraram que as plaquetas hemofílicas reagem normalmente, quando transferidas para o plasma normal (GOVAERTS; GATIA, 1931). Como uma extensão de alguns desses experimentos, van Creveld demonstrou que uma fração de “proteína dispersa” obtida do soro reduzia o tempo de coagulação do sangue hemofílico (BENDIEN; VAN CREVELD, 1935; VAN CREVELD, 1934). Em seguida, descreveu-se a “globulina anti-hemofílica” (AHG) (LEWIS *et al.*, 1946).

O debate de longa data sobre se o fator ausente ou deficiente na hemofilia era a protrombina ou um de seus derivados foi resolvido com o desenvolvimento do teste do tempo de protrombina em um estágio, demonstrando-se que o conteúdo de protrombina no plasma hemofílico era normal (QUICK; STANLEY-BROWN; BANCROFT, 1935). Isso foi posteriormente confirmado, em 1939, por Brinkhous *et al.* que, apesar de mostrarem que o conteúdo de protrombina era normal, mostraram que a taxa de conversão da protrombina estava atrasada (BRINKHOUS, 1939). Em 1947, Quick (1947) e Brinkhous (1947) demonstraram independentemente que o AHG e as plaquetas reagem juntos de alguma forma para gerar tromboplastina, e que uma deficiência de AHG levava a coagulação defeituosa devido a defeitos na geração de tromboplastina (BRINKHOUS, 1947; QUICK, 1947).

Enquanto a base fisiopatológica da hemofilia estava se tornando cada vez mais clara, surgiram dúvidas sobre se a hemofilia era uma entidade única. Pavlovsky, em 1947, observou que a transfusão de uma pessoa com hemofilia com sangue de outra pessoa com hemofilia normalizava completamente, apesar de forma temporária, o tempo de coagulação do receptor (PAVLOVSKY, 1947). Após uma série de observações adicionais, eventualmente Biggs *et al.* estabeleceram duas entidades diferentes para a hemofilia (BIGGS *et al.*, 1952): o termo "hemofilia A" (HA) foi proposto para a hemofilia mais comum ou clássica, associada à deficiência de fator VIII (FVIII), e o termo "hemofilia B" proposto para o tipo menos comum, associado à deficiência de fator IX (FIX) (HYNES *et al.*, 1969).

Durante a década de 1950, identificou-se que a fração I-0 de Cohn era enriquecida em FVIII e em fator de von Willebrand (FvW) (ACHENBACH *et al.*, 1959). Anos depois, mostrou-se que PCHA com níveis de FVIII acima de 1% raramente desenvolviam

artropatia grave (AHLBERG, 1965; RAMGREN, 1962). Foi então que, na Suécia, começaram a administrar regularmente de AHG endovenosa em PCHA. Trata-se do primeiro protocolo de profilaxia anti-sangramentos na hemofilia, conhecido como Protocolo de Malmö (NILSSON; BLOMBÄCK; RAMGREN, 1962). O primeiro relato de resultados da profilaxia em longo prazo foi publicado em 1992 (NILSSON *et al.*, 1992). Acompanharam-se 57 PCHA grave tratados com profilaxia por até 25 anos. Os resultados foram comparados com um grupo histórico de pacientes tratados sob demanda. Os autores demonstraram que a profilaxia, se iniciada precocemente e mantendo os níveis mínimos de FVIII essencialmente acima de 1%, poderia praticamente abolir o desenvolvimento de doenças articulares. Mesmo aqueles que iniciaram profilaxia em idade avançada e apresentaram artropatia tiveram um resultado melhor do que os indivíduos tratados em idade mais jovem exclusivamente sob demanda.

Com o advento do crioprecipitado (POOL; SHANNON, 1965), foi possível o desenvolvimento de concentrados de FVIII derivados de plasma (dpFVIII). A disponibilidade de produtos de fácil acesso permitiu a reposição imediata de FVIII, com redução dos episódios hemorrágicos graves e consequente aumento da expectativa de vida que, até então, era inferior a 30 anos (LARSSON, 1985). Entretanto, a partir de 1980, doenças infecciosas transmitidas por esses produtos, que ainda não eram tratados para inativação viral, passaram a acometer os pacientes (WALKER; JULIAN, 1998). O vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV) veio a se tornar a principal causa de morte entre os pacientes com hemofilia até o final dos anos 90 (HAY; NISSEN; PIPE, 2021) e a hepatite C (HCV) chegou a acometer mais da metade dos pacientes tratados com concentrados de fator derivado do plasma antes de 1992 (PLUG *et al.*, 2006). Com a evolução das técnicas de inativação viral para fatores de coagulação derivados do plasma, a detecção dos agentes infecciosos e a melhor seleção de doadores, as infecções decorrentes da contaminação dos produtos derivados do sangue foram gradativamente reduzidas (HAY; NISSEN; PIPE, 2021). Em paralelo, os tratamentos antivirais para ambas as doenças foram introduzidos e têm se mostrado cada vez mais efetivos em reduzir morbidade e mortalidade (ENANORIA *et al.*, 2004; KALAFATELI *et al.*, 2017, 2018; LIU *et al.*, 2014; LUO *et al.*, 2019).

O F8 foi clonado em 1984 (WOOD *et al.*, 1984), abrindo caminho para a produção de concentrados de FVIII recombinantes (rFVIII). Os rFVIII são fabricados em laboratório a partir de células cultivadas em meios de cultura totalmente isentos de proteína animal, o que reduz o risco de contaminação por doenças animais, o que inclui o homem (JOSEPHSON; ABSHIRE, 2004). Todos os concentrados de FVIII registrados até o momento são eficazes no controle dos sangramentos, independentemente da forma de produção. A disponibilidade da terapia de reposição eficaz com concentrados de FVIII melhorou substancialmente o cuidado das PcHA. No entanto, a formação de aloanticorpos neutralizantes contra o FVIII infundido (inibidores) se tornou uma das principais complicações do tratamento com concentrados de fator de coagulação. Esse assunto será melhor explorado a seguir, neste documento.

2.2 Transmissão e epidemiologia da hemofilia A

O F8 se localiza na posição Xq28 (BOLTON-MAGGS; PASI, 2003). Desse modo, trata-se de uma doença cuja herança é recessiva e está ligada ao cromossomo X (BOLTON-MAGGS; PASI, 2003; GRAHAM; BARROW; ROBERTS, 1965). No entanto, em torno de 30% dos casos podem ser originados de mutação espontânea ou hemofilia *de novo* (LJUNG; SJÖRIN, 1999). A herança recessiva ligada ao X é um modo de herança em que uma mutação em um gene no cromossomo X faz com que o fenótipo seja sempre expresso em homens (que são necessariamente hemozigotos para a mutação, porque têm apenas um cromossomo X) e em mulheres que são homozigotas para a mutação do gene. Mulheres com uma cópia do gene mutado são portadoras, embora as diferenças na inativação do cromossomo X (conhecida como inativação distorcida do X) possam levar a vários graus de expressão clínica nesses casos (D'OIRON; O'BRIEN; JAMES, 2020; MIGEON, 2020). Em consequência, a prevalência da HA é de 17,1/100.000 homens ou de 24,6/100.000 homens nascidos vivos (IORIO *et al.*, 2019). O último levantamento da Federação Mundial de Hemofilia (WORLD FEDERATION OF HEMOPHILIA, 2020) mostrou que, em 2020, havia 165.379 PcHA em 119 países, aumentando ao longo do tempo (STONEBRAKER *et al.*, 2020). Desse total, 3% eram mulheres.

2.3 Etiopatogenia, diagnóstico laboratorial e classificação fenotípica da gravidade

Até o momento de escrita deste documento, 3.757 mutações no *F8* associadas à HA haviam sido reportadas (ANDERSSON *et al.*, 2020; OLDENBURG; EL-MAARRI, 2006; YI *et al.*, 2020). Os repositórios mais utilizados são www.cdc.gov/ncbddd/hemophilia/champs.html, www.dbs.eahad.org e www.ukhcd.org/nhd/. Essas mutações resultam em uma proteína disfuncional ou, mais frequentemente, reduzem a expressão do FVIII (quantitativo). Em consequência, não existe ou há redução da proteína capaz de exercer a função de cofator no complexo tenase (MAZURKIEWICZ-PISAREK *et al.*, 2016; ORFEO *et al.*, 2016; OVANESOV *et al.*, 2003). Isso resulta em um estado de hipocoagulabilidade devido aos baixos níveis de FVIII no plasma.

Esses níveis do FVIII são comumente avaliados indiretamente através da sua atividade plasmática (BUTENAS *et al.*, 2009, 2010; POTGIETER; DAMGAARD; HILLARP, 2015). Quando existe uma PCHA na família, o diagnóstico costuma ser realizado antes mesmo de aparecerem sinais e sintomas típicos da doença. No entanto, em casos sem diagnóstico familiar prévio (LJUNG; SJÖRIN, 1999), a suspeita clínica acontece mediante a presença de sangramentos de origem inexplicável juntamente com o alargamento do tempo de tromboplastina parcialmente ativada, com tempo de protrombina e contagem de plaquetas normais (BERNTORP *et al.*, 2021). O teste específico de coagulação (dosagem da atividade plasmática de FVIII) é realizado em seguida, para que o diagnóstico seja estabelecido (POTGIETER; DAMGAARD; HILLARP, 2015). Dentre os diagnósticos diferenciais da HA, devem ser consideradas outras doenças hemorrágicas, tais como a doença de von Willebrand, outras coagulopatias que cursam com alargamento do tempo de tromboplastina parcialmente ativada (TTPa) e tempo de protrombina (TP) normal, como HB e as deficiências de FXI e FXII, e a possibilidade de autoanticorpo, o que caracteriza uma coagulopatia adquirida (BERNTORP *et al.*, 2021; SRIVASTAVA *et al.*, 2020).

Desde longa data, classifica-se a gravidade da HA de acordo com a atividade plasmática de FVIII. Em resumo, classifica-se a HA como grave, moderada e leve, quando as atividades plasmáticas residuais de FVIII são < 1% (ou UI/dL), de 1% a 5%

e entre 5% e 40%, respectivamente (BLANCHETTE *et al.*, 2014; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). No geral, PchA grave correspondem a quase metade dos diagnósticos (STONEBRAKER *et al.*, 2020). Para todas essas gravidades, existe um alto risco de sangramento após traumatismos de baixo impacto e no período peroperatório. Esse risco varia inversamente com a atividade residual de FVIII. No entanto, a principal característica que define a HA como uma coagulopatia é a possibilidade de sangramentos espontâneos, sendo mais comum em PchA grave e muito rara em PchA leve (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Ainda há evidências que sugerem que variações em outras proteínas de coagulação, incluindo o sistema fibrinolítico, e mediadores da resposta inflamatória, também possam afetar o risco de sangramento nessas pessoas (FRANCHINI; MANNUCCI, 2017; JAYANDHARAN; SRIVASTAVA, 2008; PAVLOVA; OLDENBURG, 2013; DEN UIJL *et al.*, 2011). Por esses e outros motivos ainda não completamente compreendidos, até 15% de PchA grave apresentam um baixo risco de sangramento, ao passo que até 15% de PchA não-grave possuem fenótipo hemorrágico (FRANCHINI; MANNUCCI, 2017; JAYANDHARAN; SRIVASTAVA, 2008; PAVLOVA; OLDENBURG, 2013; DEN UIJL *et al.*, 2011).

2.4 Manifestações clínicas e artropatia hemofílica

No geral, os sangramentos espontâneos em PchA podem ocorrer em qualquer parte do corpo (AMIN; SHARATHKUMAR; GRIEST, 2014; GIROLAMI *et al.*, 2012; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Sangramentos gastrointestinais são potencialmente fatais, enquanto sangramentos do trato urológico são raros (DHOLAKIA; HOWARTH, 1979; PICKLES; BISS; BITAR, 2018). No entanto, sangramentos no sistema nervoso central costumam ter maiores morbimortalidades. Sangramentos intracranianos são potencialmente fatais, espontâneos em 35%-58% dos casos e mais comuns em PchA graves (LOOMANS *et al.*, 2017; ZWAGEMAKER *et al.*, 2021). De acordo com uma metanálise recente, em pessoas de todas as idades, a incidência acumulada e a taxa de mortalidade por sangramento intracraniano foram de 2,3 (IC95% 1,2-4,8) e 0,8 (IC95% 0,5-1,2) por 1.000 pessoas-ano, respectivamente (ZWAGEMAKER *et al.*, 2021). O impacto é ainda maior em neonatos com HA, cuja incidência acumulada de sangramento intracraniano foi de 2,1 (IC95% 1,5-2,8) por 100 nascidos vivos (ZWAGEMAKER *et al.*, 2021). Sangramentos intracranianos perinatais são

particularmente importantes, devido ao risco de sequelas que são mantidas ao longo da vida (KULKARNI; LUSHER, 1999).

Sangramentos musculares merecem consideração em três situações: (a) sangramentos de grandes grupos, tais como íleo-psoas, podem resultar em morte por hipovolemia (BALKAN; KAVAKLI; KARAPINAR, 2005; DAUTY *et al.*, 2007; MIYAZAKI; HIGASHIHARA, 2005), (b) sangramentos em membros podem resultar em síndrome compartimental, e (c) formação de pseudotumores. Sangramentos intramusculares em membros podem resultar em síndrome do compartimento (NARANJA *et al.*, 1997; RODRIGUEZ-MERCHAN, 2021), que é uma condição em que o aumento da pressão em um espaço fascial confinado causa diminuição do fluxo sanguíneo capilar no tecido a jusante, levando a uma diminuição no gradiente arteriovenoso, a uma redução da oxigenação e, finalmente, a um déficit metabólico (MABEE; BOSTWICK, 1993; OESTERN, 1991). Uma causa potencialmente evitável de síndrome compartimental é a venopunção, que pode provocar grandes hemorragias com comprometimento vículo-nervoso (LASSANDRO *et al.*, 2021). Os pseudotumores são tumores formados por coágulo que se formou na região periosteal, geralmente resultantes de fraturas, hemorragia periosteal ou hemorragia de tecidos moles próximos ao osso (DOYLE; BACK; AUSTIN, 2020; KESHAVA; GIBIKOTE; DORIA, 2015). Além de dor e outros sinais e sintomas provocados pela lesão, o pseudotumor pode causar destruição do tecido ósseo normal (HE *et al.*, 2019; ZHAI *et al.*, 2015).

A grande maioria dos sangramentos espontâneos e pós-traumáticos em PcHA, porém, ocorre no espaço intrarticular (hemartrose) (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Apesar de ser mais comum em PcHA grave, a hemartrose pode ocorrer em qualquer PcHA (BEYAN; KAPTAN; IFRAN, 2007; JAYANDHARAN; SRIVASTAVA, 2008). Além disso, as articulações mais acometidas variam de acordo com as atividades do indivíduo, mas geralmente são cotovelos, punhos, joelhos e tornozelos (RODRIGUEZ-MERCHAN, 2016). Os sinais e sintomas mais descritos são edema, dor, eritema, calor e crepitação (TIMMER *et al.*, 2015), embora possa ser assintomático (GOODING *et al.*, 2021). Algumas razões para a predileção dos sangramentos em PcHA pelas articulações podem ser o desbalanço intrarticular entre o fator tissular e o inibidor da via do fator tissular (BRINKMANN *et al.*, 1994) e também da relação de trombina-trombomodulina-inibidor da fibrinólise ativável por trombina (DARGAUD *et al.*, 2012;

WYSEURE *et al.*, 2018). Hemartroses de repetição (leia-se a presença constante de radicais livres de oxigênio catalisados pelo ferro liberado na degradação das hemácias) provocam uma reação inflamatória intrarticular mediada por citocinas e quimiocinas, tanto na sinóvia (sinovite) como na superfície óssea (condrite e osteíte subcondral) (MELCHIORRE; MANETTI; MATUCCI-CERINIC, 2017; VAN VULPEN ; HOLSTEIN; MARTINOLI, 2018; VAN VULPEN *et al.*, 2015). Apesar de haver uma relação direta entre a frequência de sangramentos e o desenvolvimento da artropatia hemofílica, sabe-se hoje que esta pode se desenvolver após a ocorrência de apenas uma hemartrose (GRINGERI; EWENSTEIN; REININGER, 2014). A artropatia hemofílica é uma doença debilitante que ocorre já nos primeiros anos de vida de uma PchA grave que não faz tratamento adequado (SAULYTE TRAKYMIENE *et al.*, 2013). Ela tem um impacto negativo significativo na mobilidade e na qualidade de vida desses indivíduos (VARAKLIOTI *et al.*, 2018).

2.5 Tratamento da hemofilia A

PchA sem fenótipo hemorrágico geralmente recebem tratamento apenas após traumatismos ou durante procedimentos cirúrgicos, quando podem ter sangramento (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Especificamente, PchA que possuem atividade plasmática residual de FVIII podem ser tratados com desmopressina, como é o caso de algumas PchA moderada e todas as PchA leve (LETHAGEN, 2003; LOOMANS *et al.*, 2018; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Este está indicado no tratamento das hemorragias de intensidades leve a moderada, tais como epistaxe ou sangramento gengival, e no preparo de pequenos procedimentos, como extração dentária. Apesar do seu mecanismo de ação não estar bem estabelecido, suspeita-se que a desmopressina aumente (i) os níveis plasmáticos do FVIII através da liberação dos reservatórios do endotélio hepático, (ii) os níveis plasmáticos do fator de von Willebrand pela liberação dos reservatórios do endotélio e (iii) dos grânulos alfa plaquetários, e (iv) os níveis plasmáticos do ativador tissular do plasminogênio pela liberação dos reservatórios do endotélio (CASTAMAN, 2007). Por fim, a desmopressina também pode agir através do aumento da adesividade plaquetária (SVENSSON *et al.*, 2014). No entanto, nem todos os PchA respondem a esse medicamento e ele pode perder a efetividade com o uso prolongado, geralmente a partir de 3 dias (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Por isso, essas PchA devem se submeter

a uma avaliação de responsividade, antes de se indicar esse fármaco como terapia (MCCORMICK; SIRIPONG; COOPER, 2018).

As PcHA grave não possuem reserva de FVIII capazes de responder ao estímulo promovido pela desmopressina. Assim, tanto para essas pessoas e para as PcHA não-grave que não respondem à desmopressina, assim como para crianças menores de 2 anos (contraindicação de desmopressina) e para o preparo de cirurgias maiores e tratamento de sangramentos grave intensidade em todas as PcHA independente da gravidade, deve-se utilizar a reposição do FVIII com os concentrados de FVIII (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Estes podem ser produzidos de duas maneiras: (i) pelo fracionamento do plasma humano (dpFVIII) ou (ii) por meio de técnicas de engenharia recombinante (rFVIII). Os dpFVIII, embora sejam produzidos a partir de plasma coletado de doadores de sangue, são hoje considerados produtos bastante seguros, devido às testagens do plasma com testes de ácido nucléico para vírus potencialmente transmitidos pelo sangue e à inativação viral (FRANCHINI; MANNUCCI, 2016). Os concentrados de dpFVIII são classificados de acordo com o grau de pureza (ou atividade específica, ou seja, a atividade de FVIII em uma concentração total de proteína) (FEDERICI, 2003). O dpFVIII de pureza intermediária contém 6-10 UI/mg de proteína, e é fracionado por precipitação proteica em série; o dpFVIII de alta pureza contém 50-150 UI/mg de proteína, sendo fracionado por precipitação proteica associada à separação por cromatografia. O produto de ultra-alta pureza é derivado de plasma purificado por cromatografia por anticorpos ou fatores recombinantes com uma atividade de 3.000 UI/mg de proteína. Esta é a mesma concentração obtida nos rFVIII, que são altamente purificados. Eles são classificados de acordo com a presença de componentes de origem animal na sua manufatura. Enquanto os concentrados de rFVIII de primeira geração são estabilizados com albumina humana, os produtos de rFVIII de segunda geração contêm sacarose em vez de albumina na formulação final (FRANCHINI; LIPPI, 2010). Finalmente, os produtos rFVIII de terceira geração são fabricados sem proteínas plasmáticas humanas ou animais (FRANCHINI; LIPPI, 2010).

As modalidades de tratamento da hemofilia são definidas pela periodicidade com que é realizada a reposição dos fatores de coagulação, podendo ser sob demanda (episódico) ou profilático (BLANCHETTE *et al.*, 2014; SRIVASTAVA *et al.*, 2020).

Essas modalidades independem do tipo de produto utilizado, podendo ser FVIII ou agentes de *bypass* (descrição a seguir). O tratamento episódico consiste na reposição com o objetivo único de tratar o sangramento, impedindo a evolução da hemorragia. A profilaxia, por outro lado, tem caráter preventivo e consiste no uso regular de concentrados de fator, para manter os níveis suficientemente elevados (pelo menos acima de 1%), evitando os episódios hemorrágicos. Por esse motivo, apenas a profilaxia tem impacto positivo em evitar a lesão articular e melhorar a função mioosteoarticular e a qualidade de vida das pessoas com hemofilia (ALEDORT *et al.*, 2019).

A profilaxia está relacionada com a saúde articular em PCHA tanto virgens de tratamento como já tratadas (e provavelmente com artropatia hemofílica estabelecida) (IORIO *et al.*, 2011; OLASUPO *et al.*, 2021). Brevemente, denomina-se de profilaxia intermitente a reposição administrada para prevenir sangramento por períodos inferiores a 45 semanas em um ano (no período perioperatório de PCHA moderada ou leve, por exemplo), enquanto profilaxia (anteriormente chamada de longa duração) é a substituição realizada por períodos superiores a 45 semanas em um ano (BLANCHETTE *et al.*, 2014; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Esta última modalidade é subdividida em outros três tipos, de acordo com as condições da PCHA no momento do seu início (BLANCHETTE *et al.*, 2014; SRIVASTAVA *et al.*, 2020): (i) profilaxia primária, se iniciada na ausência de doença articular documentada, determinada por exame físico e/ou estudos de imagem, e antes do segundo sangramento articular clinicamente evidente e idade de 3 anos; (ii) profilaxia secundária, quando iniciada após dois ou mais sangramentos articulares, mas antes do início da doença articular documentada por exame físico e/ou estudos de imagem; e (iii) profilaxia terciária, se iniciada após o início da doença articular documentada por exame físico e radiografias simples das articulações afetadas (BLANCHETTE *et al.*, 2014; SRIVASTAVA *et al.*, 2020).

Apesar de cada modalidade de profilaxia ter objetivos ligeiramente diferentes entre si, todas têm em comum o objetivo de reduzir ou evitar as complicações dos sangramentos (hemartrose e artropatia hemofílica, por exemplo), evitando-se ainda a dor e a piora da qualidade de vida (GRINGERI *et al.*, 2012; OLADAPO *et al.*, 2015). Os benefícios são maiores se a profilaxia for iniciada antes do desenvolvimento de

danos articulares (MONDORF; KALNINS; KLAMROTH, 2013; NIJDAM *et al.*, 2016; WARREN *et al.*, 2020) e na redução de hemorragia intracraniana (WITMER *et al.*, 2011; ZWAGEMAKER *et al.*, 2021). A tendência de aumento na expectativa de vida e a melhoria da qualidade de vida observado nos últimos 20 anos na HA é devido, pelo menos em parte, ao advento de concentrados de fator de alta qualidade e ao progresso no tratamento de infecções virais transmitidas pelo sangue, notadamente HIV e HCV (ALAM *et al.*, 2021; JARDIM *et al.*, 2019; SANTO, 2021).

2.6 Inibidores na hemofilia A: conceito e etiopatogenia

Atualmente, a complicação mais importante do tratamento da HA é o desenvolvimento de aloanticorpos contra o FVIII, denominados inibidores (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Esses anticorpos são principalmente da subclasse 4 (IgG4) (BOYLAN *et al.*, 2021; VAN HELDEN *et al.*, 2008; IRIGOYEN *et al.*, 2017), que estão ausentes em PCHA sem inibidores e em indivíduos saudáveis (WHELAN *et al.*, 2013).

As quatro subclasses de IgG são nomeadas em ordem decrescente de concentração plasmática: IgG1 é a subclasse mais prevalente, até 60%-70% do total de IgG, seguida por IgG2 (20%-30%), IgG3 (5%-8%) e IgG4 que é a subclasse menos frequente (apenas 5%) (SCHUR, 1987). Cada IgG age se ligando aos receptores Fcγ (FcγR) nas células alvo e/ou ativando o sistema complemento (KAPUR; EINARSDOTTIR; VIDARSSON, 2014). Embora as subclasses de IgG compartilhem mais de 90% de homologia na sequência de aminoácidos, cada uma tem um perfil específico em relação à ligação ao antígeno, formação de imunocomplexos, ativação do complemento, ativação de células efectoras, meia-vida e transporte placentário (SIGAL, 2012). A IgG4 é geralmente considerada uma imunoglobulina não inflamatória, pois não exerce muitos dos efeitos pró-inflamatórios das outras subclasses de IgG, devido ao impedimento estérico de sua porção Fc e região de dobradiça (ENGELHART; GLYNN; SCHUR, 2017). Apesar disso, a IgG4 é geralmente produzida em resposta à exposição crônica a antígenos em ambiente não-infeccioso (NAPODANO *et al.*, 2021).

Alguns inibidores agem aumentando o clareamento de FVIII (GILLES *et al.*, 1993; JACQUEMIN *et al.*, 2000; KAZATCHKINE *et al.*, 1980), outros reduzindo ou abolindo

a atividade procoagulante do cofator. Para isto, eles podem degradar o FVIII (LACROIX-DESMAZES *et al.*, 1999, 2002) ou, mais comumente, ligar-se a sítios ativos da proteína (MOREAU *et al.*, 2000; SCANDELLA, 2000). Como resultado, a terapia de reposição tradicional com FVIII se torna ineficaz, sendo necessário o uso de agentes de *bypass* (veja a seguir, no item 2.9). Isso subsequentemente leva a um aumento significativo na morbidade, o que influencia negativamente a qualidade de vida dos pacientes (OLADAPO *et al.*, 2018; WALSH *et al.*, 2016).

A patogênese da formação do inibidor anti-FVIII é um processo complexo, envolvendo a interação de fatores genéticos e ambientais. A aloimunização contra o FVIII requer a apresentação de peptídeos do FVIII através do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) por células apresentadoras de antígeno (APCs), como células dendríticas e macrófagos, para as células T CD4⁺. Isso leva à ativação de células B em plasmócitos, resultando na produção de anticorpos anti-FVIII (DASGUPTA *et al.*, 2007; HERCZENIK *et al.*, 2012; WROBLEWSKA *et al.*, 2012). Conforme entendimento atual, devido ao nível reduzido de FVIII ou anormalidades em sua configuração na HA, as tolerâncias imunológicas central e periférica ao FVIII não se tornam estabelecidas como ocorre em indivíduos saudáveis. Consequentemente, isso poderia levar à produção de células T e B de memória específicas contra o FVIII e ao risco de ativação dessas células após a sua administração (BISWAS *et al.*, 2020; BRETTSCHEIDER *et al.*, 2018; KHAIR *et al.*, 2015; VAN HELDEN *et al.*, 2007). A resposta secundária é mediada por células B de memória específicas de FVIII, que atuam como APCs e ativam células T CD4⁺ específicas de FVIII. Por sua vez, essas células T ajudam as células B de memória a se diferenciarem em plasmócitos secretores de anticorpos (BISWAS *et al.*, 2020; BRETTSCHEIDER *et al.*, 2018; VAN HELDEN *et al.*, 2007). Essas células são capazes de expandir a resposta imune muito mais rapidamente e produzir anticorpos de maior afinidade contra o FVIII (HAUSL *et al.*, 2002, 2012).

2.7 Epidemiologia e fatores de risco para desenvolvimento de inibidores

Os inibidores ocorrem em aproximadamente 30% de todas as PCHA grave e até 5% das PCHA não-graves (ECKHARDT *et al.*, 2015; WIGHT; PAISLEY, 2003). De acordo

com a Federação Mundial de Hemofilia, em 2020, havia 5.879 PcHA e inibidor no mundo (relato de 98 países), além de 536 casos novos (relato de 79 países).

A visão atual é que o risco de desenvolvimento de inibidores é determinado pela interação entre fatores ambientais e genéticos. Dentre os fatores de risco genéticos, o tipo da mutação em *F8* desempenha um papel importante, e é o único fator de risco de desenvolvimento de inibidor em PcHA consagrado até o momento (ASTERMARK *et al.*, 2005; ECKHARDT *et al.*, 2013; MARGAGLIONE; INTRIERI, 2018). O risco de desenvolvimento de inibidor está associado com a presença de mutações que abolem a expressão do FVIII (*null mutations*) ou que resultam na expressão de uma proteína truncada, enquanto as mutações pontuais estão associadas a um risco menor (ASTERMARK *et al.*, 2005; ECKHARDT *et al.*, 2013; MARGAGLIONE; INTRIERI, 2018). Assim, os inibidores são mais incidentes na HA grave em comparação com a doença leve/moderada, ocorrendo principalmente nos primeiros 50 dias de exposição (DE) ao FVIII (GOUW *et al.*, 2013; GOUW; VAN DER BOM; MARIJKE VAN DEN BERG, 2007). Além disso, polimorfismos em genes reguladores de proteínas do sistema imune, tais como interleucina 10 (IL-10), fator de necrose tumoral α (TNF- α) e proteína 4 associada ao linfócito T citotóxico (CTLA-4), e em genes do antígeno leucocitário humano (HLA) de classe II também parecem estar associados ao aumento do risco de ou proteção contra o desenvolvimento de inibidor (ASTERMARK *et al.*, 2006; CHUANSUMRIT *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2013; PAVLOVA *et al.*, 2009; SOORI *et al.*, 2019). Esses fatores genéticos justificam o risco de desenvolvimento de inibidores entre PcHA membros de uma mesma família (ASTERMARK *et al.*, 2005; BACHELET *et al.*, 2019).

Quanto aos fatores ambientais, o fator de risco mais importante parece ser a infusão intensiva e frequente do FVIII especialmente em conjunção com processos inflamatórios, como cirurgias e infecções graves (AUERSWALD *et al.*, 2015; ECKHARDT, C. L. *et al.*, 2011; GOUW *et al.*, 2013; GOUW; VAN DER BOM; MARIJKE VAN DEN BERG, 2007). Ainda, o tipo de produto de FVIII parece ser importante. Alguns estudos reportaram que o rFVIII parece conferir um risco mais elevado para o desenvolvimento de inibidores do que dpFVIII ou produtos contendo FvW (HASSAN *et al.*, 2018; IORIO *et al.*, 2010; PEYVANDI *et al.*, 2016).

2.8 Manifestações clínicas, diagnóstico e classificação dos inibidores em hemofilia A

A principal manifestação clínica sugestiva de inibidor anti-FVIII em PCHA é a ocorrência de sangramentos que não respondem à reposição, no tratamento episódico ou na profilaxia (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Em geral, esses sangramentos ocorrem com maior frequência e também em sítios que não são usuais em PCHA (MAHLANGU *et al.*, 2018; OLADAPO *et al.*, 2018). Uma característica importante dos inibidores em PCHA leve é a transformação do fenótipo hemorrágico leve em grave: a PCHA que anteriormente não apresentava sangramentos espontâneos passa a apresentá-los (ECKHARDT *et al.*, 2015). Seja na PCHA grave ou na PCHA não-grave, o desenvolvimento de inibidor tem impacto direto na piora das atividades e da qualidade de vida do indivíduo (DUTREIL, 2014; MAHLANGU *et al.*, 2019; RECHT *et al.*, 2014). Além disso, a presença de inibidor tem associação com o aumento tanto da morbidade, como o desenvolvimento de artropatia hemofílica e sangramento intracraniano (ABDEL-MESSIH *et al.*, 2011; BLADEN *et al.*, 2013; MORFINI *et al.*, 2007; NUSS; SOUCIE; EVATT, 2001; ZANON *et al.*, 2012), quanto da mortalidade (ECKHARDT *et al.*, 2015; LIM *et al.*, 2020; VAN VELZEN *et al.*, 2016; WALSH; SOUCIE; MILLER, 2015).

A vigilância e o monitoramento constantes do título de inibidor pode identificar casos que ainda não apresentaram clínica. Por isso, a titulação do inibidor está particularmente indicada em algumas situações (SRIVASTAVA *et al.*, 2020):

- a) Pessoas que estão nos primeiros DE, em especial nos primeiros 50 DE;
- b) Pessoas que estão passando por situações relacionadas a grandes processos inflamatórios, como doenças agudas graves ou cirurgias;
- c) Pelo menos anualmente, nas demais pessoas.

Para diagnosticar e monitorar o inibidor, o teste inicialmente utilizado era o método Bethesda (KASPER *et al.*, 1975). Brevemente, nessa técnica, o plasma testado é misturado com um volume igual de um *pool* de plasma normal (PPN). Uma mistura de

controle é preparada incubando-se um volume igual de PPN com tampão. Após incubação, a atividade coagulante do FVIII de cada mistura é medida, usando o ensaio descrito anteriormente (POTGIETER; DAMGAARD; HILLARP, 2015). As atividades de FVIII da mistura e do controle são comparadas e a porcentagem de atividade residual é calculada. Uma unidade Bethesda (1 UB) é definida como a quantidade de inibidor que resulta em 50% da atividade de FVIII residual (KASPER *et al.*, 1975). O título da amostra é determinado a partir do gráfico do inibidor teórico, interpolando-se a porcentagem de atividade residual em relação às unidades Bethesda. A modificação Nijmegen do método Bethesda original (referido aqui como método Nijmegen-Bethesda) foi desenvolvida para abordar duas deficiências do ensaio e melhorar a especificidade (VERBRUGGEN *et al.*, 2009). Em primeiro lugar, o NPP usado nas misturas de teste e controle é tamponado. Em segundo lugar, uma fonte de plasma deficiente em FVIII é usada no lugar do tampão para diluir NPP na mistura de controle e para diluir as amostras das PCHA. Isso mantém uma concentração de proteína semelhante nas incubações de controle e teste. Juntas, essas modificações melhoram a estabilidade do FVIII nas misturas de incubação e evitam a deterioração artefactual da atividade do FVIII, que pode ser falsamente interpretada como sendo devida a um inibidor (GILES *et al.*, 1998; VERBRUGGEN *et al.*, 2009). A definição de 1 UB se manteve a mesma (KASPER *et al.*, 1975; VERBRUGGEN *et al.*, 2009).

A classificação dos inibidores se baseia em dois tipos de avaliação: transversal (título de anticorpos circulantes em um determinado momento) e dinâmica (resposta antigênica ao longo do tempo). Em ambos os casos, um inibidor é considerado positivo se a titulação for maior ou igual a 0,6 UB/mL (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Além disso, o valor de corte que divide inibidores baixos e altos é 5 UB/mL (correspondente a uma atividade de FVIII de 3,125 UI/dL) (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). O título do inibidor é baixo se estiver entre 0,6 e 5 UB/mL, enquanto valores de 5 UB/mL ou mais são considerados altos (BLANCHETTE *et al.*, 2014; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Com base nisso, títulos permanentemente baixos ao longo do tempo, mesmo após exposição ao antígeno (FVIII), caracterizam um inibidor de baixa resposta (BLANCHETTE *et al.*, 2014; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Essas pessoas geralmente respondem a FVIII em altas doses (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Caso ocorra ao menos um título de 5 UB/mL ou mais ao longo da vida, o inibidor é considerado de alta resposta (BLANCHETTE *et al.*, 2014; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Neste caso, a possibilidade de responder a FVIII,

mesmo em doses altas, é baixa. Essas PCHA geralmente necessitam ser tratadas com agentes de *bypass* (SRIVASTAVA *et al.*, 2020) (ver item 2.9).

2.9 Tratamento de pessoas com hemofilia A e inibidores

Os conceitos utilizados no tratamento de PCHA sem inibidor é o mesmo empregado em PCHA e inibidor, ou seja, tratamento episódico e profilaxias primária, secundária e terciária (BLANCHETTE *et al.*, 2014; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). O tratamento pode ser realizado tanto com FVIII em doses maiores do que as convencionais, enquanto os títulos de inibidor estiverem baixos, como com agentes de *bypass*, quando os títulos de inibidor estiverem altos (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Os agentes de *bypass* são capazes de promover a hemostasia independente da presença do FVIII, pois atuam em vias diferentes do processo de coagulação (HOFFMAN; DARGAUD, 2012; LEE *et al.*, 2006; NEGRIER; DARGAUD; BORDET, 2006; SHAPIRO; MITCHELL; NASR, 2018). Atualmente, estão disponíveis dois agentes de *bypass*: o CCPa e o rFVIIa (ALEDORT, 2008; CROMWELL; ALEDORT, 2012; GIANSILY-BLAIZOT; SCHVED, 2017; MEEKS; LEISSINGER, 2019; SHAPIRO; MITCHELL; NASR, 2018). Ambos têm efetividade semelhante no tratamento de episódios hemorrágicos na hemofilia, mas abaixo da efetividade alcançada pelo FVIII (ASTERMARK *et al.*, 2007; BERNTORP, 2009; MATINO *et al.*, 2015; ZHOU; HAY, 2012). Além disso, em torno de 15% dos sangramentos podem não responder tanto ao CCPa como ao rFVIIa infundidos nas posologias usuais (ASTERMARK *et al.*, 2007; BERNTORP *et al.*, 2011; BERNTORP, 2009; MATINO *et al.*, 2015; ZHOU; HAY, 2012). Devido a essa efetividade abaixo do ideal, PCHA e inibidor têm um risco aumentado de morbidade (artropatia hemofílica, por exemplo) e até mesmo maior mortalidade do que PCHA sem inibidor. Uma alternativa para se evitarem sangramentos em PCHA e inibidor é a profilaxia com agentes de *bypass* (HAYA, 2019). Ela pode ser realizada tanto com CCPa como rFVIIa, mas a efetividade se mantém abaixo do esperado para a profilaxia com FVIII (CHAI-ADISAKSOPHA *et al.*, 2017; MINGOT-CASTELLANO *et al.*, 2016).

2.10 Emicizumabe como profilaxia em pessoas com hemofilia A sem ou com inibidor

Um novo produto tem sido utilizado para a profilaxia de PcHA no mundo. Trata-se do emicizumabe (Hoffma-La Roche, Basileia, Suíça), um anticorpo monoclonal humanizado biespecífico que mimetiza a ação do FVIII, ligando-se ao FIX ativado e ao zimogênio de FX, facilitando a ativação deste último (KITAZAWA *et al.*, 2017; SAMPEI *et al.*, 2013, 2015). Estudos clínicos mostraram que ele é eficaz na prevenção de sangramentos, incluindo hemartroses, tanto em PcHA sem quanto com inibidor, em várias idades (MAHLANGU *et al.*, 2018; OLDENBURG *et al.*, 2017; PIPE *et al.*, 2019; YOUNG *et al.*, 2019). Ele é administrado de forma subcutânea com intervalos a cada semana até a cada mês. De acordo com a Federação Mundial de Hemofilia, em 2020, o emicizumabe era utilizado em 1.493 PcHA sem inibidor, em 34 países, e em 975 PcHA e inibidor, em 51 países. Relatos de vida real confirmaram a efetividade do emicizumabe na prevenção de sangramentos espontâneos (BARG *et al.*, 2020; EBBERT *et al.*, 2020; FLETCHER *et al.*, 2021; GARCIA; ZIA, 2021; MAHER *et al.*, 2021; MCCARY *et al.*, 2020a, b).

Os casos de anticorpo anti-emicizumabe são raros e mais raramente têm impacto na efetividade do produto (HARKINS DRUZGAL *et al.*, 2020; KANEDA *et al.*, 2021; VALSECCHI *et al.*, 2021). Aparentemente o produto apresenta segurança adequada para uso concomitante com FVIII ou rFVIIa (CARCAO *et al.*, 2021; LINARI; CASTAMAN, 2020; MAKRIS; IORIO; LENTING, 2019). No entanto, com o uso concomitante com CCPa em regimes habituais anteriormente empregados, houve um aumento de relatos de trombose, incluindo microangiopatia trombótica (OLDENBURG, JOHANNES *et al.*, 2017). Novas orientações para uso de CCPa em PcHA que recebem emicizumabe foram divulgadas (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Assim, desde que se sigam as recomendações para uso concomitante com CCPa em doses baixas, o produto também parece ser seguro (MAKRIS; IORIO; LENTING, 2019).

Recentemente, o emicizumabe foi recomendado para a profilaxia de PcHA e inibidor (SRIVASTAVA *et al.*, 2020), apesar da aprovação em bula para PcHA sem ou com inibidor (BLAIR, 2019). A eficácia e a efetividade para prevenir sangramentos gira em

torno de 90% a 100%, o que justifica o seu uso em detrimento da profilaxia com agentes de *bypass* (GARCIA; ZIA, 2021; JIMÉNEZ-YUSTE *et al.*, 2021; LILLICRAP *et al.*, 2020; SHAPIRO; MITCHELL; NASR, 2018). No entanto, a profilaxia com emicizumabe numa PCHA e inibidor não sub-roga a imunotolerância (IT), com o objetivo de erradicar o inibidor (CARCAO *et al.*, 2019; HART *et al.*, 2021; HOLSTEIN *et al.*, 2021; SRIVASTAVA *et al.*, 2020).

2.11 Erradicação dos inibidores em pessoas com hemofilia A

Apesar da possibilidade das profilaxias com agentes de *bypass* e, principalmente, com emicizumabe reduzirem a taxa de sangramento, a erradicação do inibidor continua sendo a recomendação para as PCHA e inibidor (CARCAO *et al.*, 2019; HART *et al.*, 2021; HOLSTEIN *et al.*, 2021; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Isso se deve principalmente ao fato de que nenhuma dessas terapias é hemostaticamente efetiva em todas as situações, como cirurgias complexas de grande porte ou trauma moderado-grave. Sendo assim, a IT é a terapia indicada para erradicar os inibidores (CARCAO *et al.*, 2019; HART *et al.*, 2021; HOLSTEIN *et al.*, 2021; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Ela consiste na administração repetida de FVIII para se restabelecer a tolerância. O conceito geral desta terapia é que a exposição recorrente do sistema imunológico ao FVIII em condições não inflamatórias leva a uma modulação negativa do anticorpo anti-FVIII, resultando na indução de tolerância imunológica (BENSON *et al.*, 2012; BRACKMANN *et al.*, 2018; OSOOLI; BERNTORP, 2015; SANTAGOSTINO *et al.*, 2019; SCHEP *et al.*, 2018; SRIVASTAVA *et al.*, 2020). Desde a primeira descrição da IT, muitos regimes foram utilizados, abrangendo protocolos com variações na dose do FVIII, tipo de produto e uso de agentes imunossupressores adicionais, por exemplo.

As informações clínicas sobre os eventos imunológicos durante a IT são limitadas (SCHEP *et al.*, 2018). Os principais atores da resposta imune ao FVIII e, portanto, também os principais alvos da IT, são as células de memória T CD4+ específicas do FVIII, as células de memória B específicas do FVIII e plasmócitos produtores de anticorpo anti-FVIII (PAUTARD *et al.*, 2011; SAKURAI *et al.*, 2011; SCHEP *et al.*, 2021). Considerando a regulação negativa dos receptores de antígeno durante a diferenciação terminal das células plasmáticas, é improvável que essas células sejam afetadas pela inibição específica do antígeno ou depleção durante a IT. Em vez disso,

hipotetiza-se que o sucesso da IT dependa da eliminação das células B de memória específicas do FVIII e das células de memória T CD4+ (SCHEP *et al.*, 2021). A erradicação dos plasmócitos produtores de anticorpos anti-FVIII pode eventualmente ocorrer, devido à falta de reposição pelas células B de memória (BISWAS *et al.*, 2020).

Enfim, atualmente se consideram três possíveis mecanismos para o sucesso da IT (REIPERT *et al.*, 2010; REIPERT *et al.*, 2007; SCHEP *et al.*, 2018, 2021):

- a) Inibição da diferenciação de células de memória B em plasmócitos por altas concentrações de FVIII;
- b) Anergia de células T efetoras devido à exaustão/superestimulação e indução de células T reguladoras devido à exposição crônica de FVIII em estado não inflamatório;
- c) Desenvolvimento de anticorpos anti-idiotípicos; isto é, anticorpos dirigidos a anticorpos anti-FVIII.

Corroborando com esses mecanismos, alguns resultados de análises realizadas em amostras de uma pequena população de PCHA submetidas à IT têm apontado fatores associados à resposta (van HELDEN *et al.*, 2008, 2010). Em relação à especificidade de domínio e perfil de IgG de anticorpos anti-FVIII, anticorpos direcionados contra a cadeia leve de FVIII foram associados ao sucesso (van HELDEN *et al.*, 2010), enquanto uma alta proporção de IgG4 específica de FVIII foi associada a falha no tratamento da IT (van HELDEN *et al.*, 2008). No entanto, outro estudo realizado com uma pequena população de PCHA e inibidor não mostrou relação entre IgG4 e resposta à IT (YOSHIMURA, T. *et al.*, 2022).

A primeira descrição de IT aconteceu nos EUA, quando uma PCHA e inibidor de 16 anos recebeu ciclofosfamida, prednisona e altas doses de FVIII. Ela respondeu clinicamente ao tratamento em poucos dias (STEIN; COLMAN, 1973). No entanto, reconhece-se que a IT foi usada pela primeira vez durante 1974-1975 no Centro de Hemofilia da Universidade de Bonn, Bonn, Alemanha (BRACKMANN *et al.*, 2018, 2020). Uma PCHA de 1,5 ano e inibidor > 500 UB/mL apresentava sangramentos recorrentes no braço direito, ombro e tórax. Ele foi tratado com uma combinação de FVIII 100 UI/kg duas vezes ao dia e concentrados de complexo protrombínico (CCP)

50 U/kg duas vezes ao dia. Após 3 semanas contínuas de tratamento, o sangramento parou e seu título de inibidor diminuiu para 40 UB/mL. O atualmente chamado Protocolo de Bonn consiste em administrar tanto FVIII 100 UI/kg quanto CCPa 50 U/kg duas vezes ao dia (BRACKMANN *et al.*, 2018). O tratamento continua até o título do inibidor diminuir e a atividade do FVIII começar a se recuperar, ponto em que CCPa pode ser descontinuado e a dose de FVIII aumentada para 150 UI/kg duas vezes diariamente, até que o inibidor desapareça. A taxa de sucesso inicialmente descrita para esse protocolo foi de 86,7%, sendo a interrupção do regime (não-infusão em 15 dias ou mais, contíguos ou não) foi identificada como um critério para falha (OLDENBURG; SCHWAAB; BRACKMANN, 1999).

Desde a introdução do Protocolo de Bonn (Alemanha), inúmeros protocolos foram propostos. Por exemplo, o Protocolo de Frankfurt e Bremen (Alemanha) basicamente propôs o uso de pdFVIII para IT (KREUZ *et al.*, 1995). Para PCHA e inibidor de alta resposta, o regime era de 25-100 UI/kg duas vezes por dia, diariamente, associado com CCPa 100-200 U/kg/dia, também diariamente. Para PCHA e inibidor de baixa resposta, o regime era de 20-100 UI/kg uma vez ao dia, a cada 2 ou 3 dias. As taxas de sucesso inicialmente descritas foram de 87% e 100%, respectivamente (KREUZ *et al.*, 1995). O Protocolo Dinamarquês é semelhante aos Protocolos de Bonn e Frankfurt/Bremen (SCHEIBEL *et al.*, 1987). O Protocolo da Clínica van Creveld (Utrecht, Países Baixos) utilizou um regime de baixas doses de FVIII (25-50 UI/kg, em dias alternados ou três vezes por semana), também como uma medida de redução de custos (MAUSER-BUNSCHOTEN *et al.*, 1995; TER AVEST *et al.*, 2010). Para atingir uma redução rápida no título inicial do inibidor, o Protocolo Malmö (Suécia) propunha a adição de imunossuppressores aos concentrados de FVIII (FREIBURGHAUS *et al.*, 1999). Sob este protocolo, PCHA com títulos iniciais de inibidor > 10 UB/mL eram internadas e submetidas à imunoabsorção com proteína A, antes do tratamento. Após a redução, as PCHA eram tratadas com uma combinação de FVIII, ciclofosfamida e imunoglobulina intravenosa em alta dose. Essa terapia não é mais utilizada com frequência atualmente, optando-se por utilizar um regime semelhante ao Protocolo de Bonn (BERNTORP; ASTERMARK; CARLBORG, 2000). O Protocolo Britânico inicialmente publicado considerava infusões diárias de FVIII de 200 UI/kg/dia, com uma taxa de sucesso descrita de 91% (SMITH *et al.*, 1999). Em 2013, a *UK Haemophilia Centre Doctors Organization* (UKHCDO) publicou um protocolo que

estratificava o regime de acordo com fatores prognósticos, como título de inibidor ao início da IT (valor de corte de 10 UB/mL) e pico histórico de inibidor (valores de corte de 5 e 200 UB/mL) (COLLINS *et al.*, 2013). Os regimes variavam de 50 UI/kg em dias alternados (qualquer PCHA com pico histórico menor que 5 UB/mL) a 200 UI/kg diariamente (qualquer PCHA com pico histórico acima de 200 UB/mL). O consenso mais recente da UKHCDO considera o uso do emicizumabe como profilaxia contra hemorragias durante a IT, em paralelo à redução das doses de FVIII (HART *et al.*, 2021). Finalmente, o Protocolo Napolitano orienta um regime de FVIII a 100 UI/kg diariamente, associando-se agentes de *bypass* profilático se a PCHA tiver fenótipo hemorrágico (ROCINO *et al.*, 2001). No entanto, vale a pena dizer que nem todos os serviços seguem um protocolo universal, a exemplo de boa parte da Itália, a Espanha, os Estados Unidos, o Canadá e o Japão (COPPOLA *et al.*, 2009; DIMICHELE *et al.*, 2002; HAYA *et al.*, 2001; NOGAMI *et al.*, 2018). Mais recentemente, alguns estudos têm sido feitos para avaliar o impacto da profilaxia com emicizumabe durante a IT, mas os resultados ainda são preliminares (BATSULI *et al.*, 2019; ESCURIOLA ETTINGSHAUSEN; SIDONIO, 2021).

Em vista de tantos protocolos que são empregados por diferentes países, por grupos ou por serviços individuais, torna-se praticamente impossível estabelecer o regime mais adequado para a erradicação dos inibidores. Além disso, independente do modelo utilizado, as taxas de sucesso de IT giram em torno de 100%, para PCHA e inibidores de baixa resposta, e entre 60% e 90%, para PCHA e inibidores de alta resposta (BRACKMANN *et al.*, 2018; OSOOLI; BERNTORP, 2015; SCHEP *et al.*, 2018). Nesse sentido, vale ressaltar que os critérios de desfecho (por exemplo, sucesso e falha da IT) nem sempre são semelhantes entre as publicações e, muitas vezes, nem mesmo dentro da mesma publicação.

Apenas um estudo clínico aleatorizado abordando a IT em PCHA e inibidor foi publicado até o momento: o *International ITI Study* (I-ITI) (DIMICHELE, 2006; DIMICHELE; HAY, 2006; HAY; DIMICHELE, 2012). Esse estudo aleatorizou 115 PCHA grave e inibidor, incluídos em 70 centros de 17 países, com critérios de bom prognóstico reconhecidos à época, a saber: (i) pico histórico entre 5 e 200 UB/mL, (ii) título de inibidor ao início da IT menor ou igual a 10 UB/mL, (iii) inibidor presente nos últimos 12 meses, posteriormente estendidos para 24 meses, e (iv) idade menor que

8 anos, ao iniciar a IT. O objetivo do estudo era identificar qual regime teria maior taxa de sucesso, quando aplicado a PcHA grave e inibidor com critérios de bom prognóstico. Os grupos foram aleatorizados para receber infusões frequentes de FVIII em baixas (50 UI/kg, três vezes por semana; n = 58) e altas doses (200 UI/kg, diariamente; n = 57). Os critérios de desfecho empregados nesse estudo são utilizados até os dias de hoje como principal padrão para se identificar sucesso e falha à IT. O sucesso é definido por um título de inibidor negativo ($< 0,6$ UB/mL, se aplicada a técnica de Bethesda, ou $< 0,3$ UB/mL, se aplicada a modificação de Nijmegen), recuperação normal de FVIII ($\geq 66\%$ do esperado) e meia-vida (≥ 6 h). Os critérios de sucesso parcial e falha consideravam ambos um período de tratamento de 33 meses. O sucesso parcial foi descrito como, após 33 meses de IT, título de inibidor negativo, mas recuperação ou meia-vida persistentemente anormais, embora respondendo clinicamente à reposição de FVIII sem um aumento anamnóstico no título do inibidor. A falha do inibidor em diminuir em 20% ao longo de qualquer período de 6 meses, após os primeiros 3 meses de IT; ou a falha em alcançar tolerância ou o sucesso parcial após 33 meses de IT; ou a retirada do estudo por qualquer motivo antes que a tolerância fosse alcançada eram consideradas como falha à IT (HAY; DIMICHELE, 2012). O estudo foi desenhado para incluir 150 PcHA e inibidor, mas foi interrompido precocemente, após a entrada de 115 (76,7%) participantes com 66 (57,4%) tendo finalizado a IT, devido à alta taxa de sangramento no grupo que recebeu a menor dose (HAY; DIMICHELE, 2012). Apesar disso, no geral, 69,7% alcançaram o sucesso total, sem diferença entre os braços de regime, enquanto a falha foi de 25,8% (HAY; DIMICHELE, 2012).

Desde então, os critérios farmacocinéticos têm sido utilizados cada vez mais frequentemente para definir o sucesso da IT (SRIVASTAVA *et al.*, 2020). O sucesso total é geralmente definido como um título negativo do inibidor ($< 0,6$ UB/mL), com farmacocinético normal do FVIII, ou seja, recuperação normal de FVIII ($\geq 66\%$ do valor previsto), uma meia-vida normal do FVIII (≥ 6 h ou ≥ 7 h, após um período de *washout* de 72 h). Além disso, a resposta anamnóstica do inibidor após exposição ao FVIII deve ser ausente. Os critérios para definir o sucesso parcial geralmente são um título de inibidor abaixo de 5 UB/mL, e/ou farmacocinética alterada do FVIII, ou seja, recuperação do FVIII abaixo de 66% do valor previsto ou uma meia-vida de FVIII menor que 6 h ou 7 h, após um período de *washout* de 72 h. Embora, possa haver

resposta anamnésica mediante a infusão de FVIII, o título de inibidor não ultrapassa 5 UB/mL e existe resposta hemostática adequada. A falha da IT é geralmente definida como a ausência de sucesso após 33 meses de terapia, ou uma queda na diminuição no título do inibidor $\leq 20\%$ em relação a qualquer período de 6 meses após os 3 meses iniciais (SRIVASTAVA *et al.*, 2020).

Enquanto PcHA que tiveram sucesso à IT retornam a usar FVIII com a efetividade da terapia com esse produto, as consequências da falha de tolerância são significativas e incluem piora da qualidade de vida, maior morbidade com episódios de sangramento frequentes e dano articular permanente que requer cirurgia ortopédica, e o uso dos dispendiosos agentes de *bypass* e emicizumabe (ABDI *et al.*, 2018; OLDENBURG *et al.*, 2018). A presença de um inibidor é também associada ao aumento da mortalidade, principalmente relacionada a sangramento e suas complicações (ABDI *et al.*, 2018; OLDENBURG *et al.*, 2018).

2.12 Preditores de resposta da imunotolerância

Uma variedade de preditores potenciais de resposta à IT relacionados ao paciente e ao tratamento foi identificada. No geral, as seguintes categorias têm sido sugeridas: resposta do inibidor (resposta alta ou baixa), fatores de tratamento (atraso, dose, duração e interrupção) e resultados inesperados, como eventos adversos e problemas de dispositivo de acesso venoso central. O tipo de resposta do inibidor foi usado como parte dos critérios de inclusão em alguns estudos de IT, sendo menos comumente analisado em publicações de registro como um preditor de resultado. As opiniões sobre o título de inibidor como um preditor de resposta diferem principalmente entre pico histórico, título logo antes do início da IT e pico durante o tratamento, sendo o título imediatamente antes da IT a variável examinada com mais frequência.

Parâmetros da IT, como duração e interrupção, apesar de descritos como preditores, também podem ser considerados como resultados da IT, uma vez que refletem a realidade de um regime ser afetado pela adesão do paciente ou pela disponibilidade dos produtos de tratamento. A importância da dose, no entanto, continua inconsistente em uma variedade de registros, indiferente da publicação do I-ITI (DIMICHELE; HAY, 2006). O atraso para iniciar a IT tão logo o inibidor foi diagnosticado foi avaliado como

um preditor de resultado, mas tanto a existência de viés de seleção como a inconsistência estatística têm posto esses resultados em questionamento (MARIANI *et al.*, 2001; NAKAR *et al.*, 2015).

Uma revisão sistemática discutiu os fatores preditores de resposta à IT determinados por seis registros envolvendo 1.139 (variando de 42 a 518) PcHA (OSOOLI; BERNTORP, 2015). A resposta do inibidor e o período entre o diagnóstico de inibidor e o início da IT não tiveram relação com a resposta à IT nos estudos que os avaliaram. Apenas 1 estudo em 6 demonstrou que a idade precoce ao iniciar a IT tinha relação com o seu sucesso. A dose mais alta de FVIII teve relação com o sucesso da IT em 2 dos 6 estudos que avaliaram o regime como fator prognóstico, enquanto 2 de 5 estudos mostraram relação entre valores elevados do pico histórico do inibidor (título mais alto antes de iniciar a IT) com a falha à IT. Altos títulos de inibidor logo antes do início da IT e altos picos de inibidor durante a IT tiveram relação com falha em 4 dos 6 estudos e 3 de 5 estudos, respectivamente. Apenas um estudo recente avaliou a relação da mutação em *F8* com o prognóstico da IT, mostrando que mutações de troca de sentido e pequenas inserções/deleções se associavam com a erradicação completa do inibidor (DI MINNO *et al.*, 2021).

2.13 Tratamento da hemofilia A no Brasil

No Brasil, o tratamento de PcHA é realizado em centros especializados distribuídos em todo o território nacional (FERREIRA *et al.*, 2014). No geral, cada estado e o Distrito Federal possuem uma rede (hemorrede) com um centro coordenador ou focal (hemocentro coordenador) situado na capital e centros de menor porte (hemocentro regional ou hemonúcleo), em municípios estratégicos do interior. O estado de São Paulo é uma exceção, pois ele é dividido em vários hemocentros. PcHA são atendidas nesses centros, indiferente das condições socioeconômicas, uma vez que tanto a compra com a distribuição de fatores e emicizumabe são controladas pelo Ministério da Saúde/Sistema Único de Saúde (FERREIRA *et al.*, 2014; REZENDE *et al.*, 2019). Em consequência, existe a necessidade de centralizar a dispensação, para melhor avaliar o consumo e o resultado das terapias instituídas. Portanto, não apenas foram criadas políticas públicas de cuidados às PcHA, como também foi criado um sistema de notificação de dados, consumos e eventos, no qual toda PcHA deve estar

cadastrada e vinculada a um centro de tratamento (FERREIRA *et al.*, 2014; REZENDE *et al.*, 2017, 2019).

O documento da Federação Mundial de Hemofilia anteriormente citado sobre o perfil de coagulopatias no mundo é alimentado pelo Ministério da Saúde, através do Programa Nacional de Coagulopatias Hereditárias (REZENDE *et al.*, 2017, 2019). Em 2020, o Brasil ocupava o terceiro lugar (10.984 PcHA), após Índia (18.928 PcHA) e Estados Unidos da América (EUA, 11.790 PcHA). Nesse ano, reportaram-se 376 PcHA e inibidor no Brasil, resultando em uma prevalência geral de 3,4%. Foram descritos 80 casos novos de PcHA e inibidor. Vale ressaltar que a China não reportou os casos nesse ano.

Atualmente, as políticas públicas para tratamento de PcHA têm sido divulgadas como portarias, manuais e protocolos. Elas envolvem não somente os suportes laboratorial e fisioterapêutico (BRASIL, 2011, 2012), por exemplo, mas também os tratamentos medicamentosos (BRASIL, 2015b). Os serviços brasileiros realizam terapia domiciliar, tratamento episódico, profilaxias primária e secundária, além de cirurgias (BRASIL, 2015b). Para os tratamentos, estão disponíveis desmopressina, dpFVIII, rFVIII, CCPa, rFVIIa e emicizumabe (BRASIL, 2015b), todos adquiridos pelo Ministério da Saúde e distribuídos às PcHA através dos centros.

O Protocolo Brasileiro de Indução de Imunotolerância foi instituído no Brasil em 2011, através do Ofício Circular nº 076/2011/CGSH/DAE/SAS/MS. Várias versões se seguiram até a versão instituída recentemente pela Portaria nº 1.114, de 16 de novembro de 2021 (BRASIL, 2021). Cerca de 450 PcHA e inibidores foram tratadas com ele desde 2012. A primeira versão (Ofício Circular nº 076/2011/CGSH/DAE/SAS/MS) orientava o tratamento apenas de PcHA consideradas à época como possuindo fatores de bom prognóstico, ou seja, idade inferior a 10 anos (PcHA entre 10 e 20 anos poderiam ser considerados individualmente), presença de inibidor de alta resposta (título maior que 5 UB/mL em qualquer momento da vida), existência do inibidor maior que 6 meses e preferencialmente menor que 5 anos e pico histórico (antes de iniciar a IT) preferencialmente inferior a 200 UB/mL. Além disso, recomendava-se que o protocolo fosse iniciado quando o paciente apresentasse título < 10 UB/mL. Uma nova versão

instituída pela Portaria nº 478, de 16 de junho de 2014 (BRASIL, 2014), ampliou a IT com base em três importantes modificações: poderiam ser tratadas PcHA e inibidor de baixa ou alta respostas, a terapia poderia ser indicada para qualquer idade, e ainda com qualquer titulação de inibidor. No entanto, mantiveram-se o período mínimo de 6 meses de existência de inibidor para iniciar a IT e a recomendação de que a IT fosse iniciada com título < 10 UB/mL, aguardando-se um prazo máximo de 3 meses para a sua redução. A versão recém-publicada do protocolo voltou a restringir a IT para PcHA e inibidor de alta resposta (Portaria nº 1.114, de 16 de novembro de 2021). A recomendação de se iniciar a terapia com um título < 10 UB/mL foi mantida, mas não há mais recomendação de se aguardarem até 3 meses para que isso ocorra. Assim, com o objetivo de expandir os conhecimentos de potenciais fatores preditores de resposta à IT, demos início ao projeto Imunotolerância Brasil, que se presta a avaliar uma parte dos PcHA submetidos ao tratamento de IT de acordo com o Protocolo Brasileiro de Indução de Imunotolerância (BRASIL, 2015a).

3 JUSTIFICATIVA

O desenvolvimento de inibidores contra o FVIII é a principal complicação em PcHA. Até agora, a única terapia efetiva para eliminar os inibidores é a indução de imunotolerância (IT), que resulta em resposta em 60%-80% dos casos. No entanto, trata-se de uma terapia invasiva e onerosa e que, muitas vezes, necessita de vários anos para atingir o sucesso. Por isso, a busca pela identificação de fatores preditores de sucesso ou falha à IT é essencial e poderia, assim, alocar diretamente as pessoas com mau prognóstico em outros tratamentos, sem submetê-los à IT.

Nesse sentido, o Projeto BrazIT poderá trazer importantes contribuições para o entendimento dos fatores associados à resposta à IT. Isto decorre do grande número de pacientes incluídos no estudo (estimativa inicial de 200 PcHA), submetidos à IT com protocolo único, seguindo os mesmos critérios de resposta e utilizando somente dois tipos de concentrado de FVIII. De acordo com nosso conhecimento, o número de participantes incluídos é o maior já estudado em PcHA e inibidor tratadas com IT com o mesmo protocolo. Além dos dados sociodemográficos, clínicos, laboratoriais e terapêuticos, ainda avaliaremos características moleculares (variantes no *F8* e em outros genes) e o perfil imunológico dos pacientes submetidos à IT. Assim, esperamos identificar fatores preditores e/ou biomarcadores relacionados à resposta à IT. De acordo com nosso conhecimento, o número de participantes até agora incluídos no BrazIT é o maior já estudado em pessoas com HA e inibidor tratadas com IT com o mesmo protocolo e avaliadas de acordo com os mesmos critérios de sucesso.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar os fatores associados à resposta ao tratamento de IT em pacientes com hemofilia A hereditária e inibidor.

4.2 Objetivos específicos

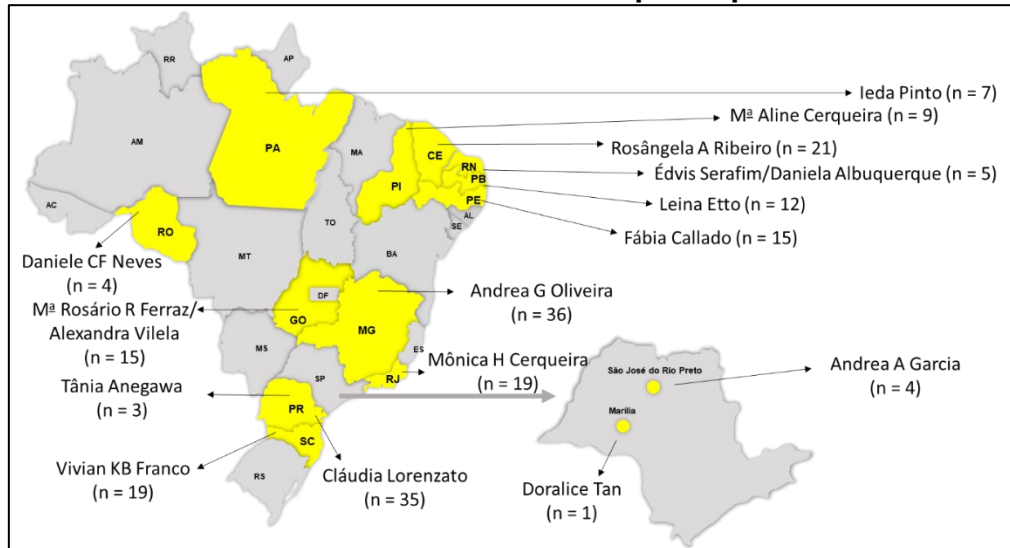
- a) Avaliar a relação entre os níveis de IgG4 em diferentes tempos da IT com o seu desfecho;
- b) Avaliar a influência do intervalo entre o diagnóstico do inibidor e o início da IT no seu desfecho;
- c) Avaliar a influência da troca de rFVIII para dpFVIII durante a IT, nos casos de PCHA não-responsivos à IT com rFVIII, no desfecho da IT;
- d) Avaliar a influência da realização de cirurgias durante a IT com o seu desfecho;
- e) Realizar revisão sistemática seguida de metanálise para avaliar possíveis determinantes de desfecho da IT.

5 METODOLOGIA

5.1 Desenho do estudo e locais de pesquisa

A metodologia do estudo foi descrita recentemente (CAMELO *et al.*, 2021). O Projeto BrazIT é um estudo de coorte e permanece em andamento, na data desta defesa. As informações contidas neste documento se referem aos seguimentos realizados até 05/05/2022, para aquelas PCHA que ainda permaneciam no estudo, em IT. O centro coordenador do estudo é a Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG, Brasil. Os 15 centros de tratamento de hemofilia (CTH) colaboradores estão distribuídos nas cinco regiões geográficas brasileiras (Figura 1), onde as pessoas são cadastradas para tratamento da hemofilia e foram incluídas no estudo. As PCHAs são convidadas a participar do estudo pelo médico assistente (membro da equipe interdisciplinar do CTH e pesquisador local do Projeto BrazIT), durante consulta regular no CTH.

Figura 1 – Centros de Tratamento de Hemofilia participantes do Estudo BrazIT



Os centros coloridos em amarelo representam os centros participantes do estudo com seus respectivos pesquisadores-colaboradores e o número de pessoas com hemofilia A incluídas de cada centro no estudo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2 Considerações éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE 52812415.8.0000.5149, 15/abr/2016; Anexo A) e, em seguida,

em cada CTH participante (Figura 1). PcHA adultos (≥ 18 anos) assinam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O TCLE de PcHA menores de 18 anos é assinado pelo adulto responsável por ele(a). O Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) é assinado pelo(a) PcHA, conforme a idade: até 6 anos de idade, não há necessidade de assinatura (neste caso, obtemos apenas o TCLE do adulto responsável); PcHA entre 6 e 12 anos e aqueles entre 13 e 17 anos devem assinar o TALE cada qual para a respectiva faixa etária. Além de termos diferentes conforme entre as faixas etárias, eles também foram divididos de acordo com a situação em que a PcHA se encontra, em relação à IT. Neste caso, os termos foram divididos entre assinaturas que ocorreram antes do início da IT, durante a IT ou após a conclusão da IT. No total, existem 12 termos de consentimento/assentimento livre e esclarecido (Apêndice A ao L).

5.3 Participantes

Critérios de inclusão: os critérios de inclusão no estudo são PcHA que estão em qualquer estágio da IT, ou seja, antes do início, durante o tratamento ou após o final da IT. Os pacientes são incluídos independentemente da idade, do sexo, da gravidade da hemofilia ou do título do inibidor. Mediante a assinatura dos termos, o pesquisador do CTH envolvido se responsabiliza pela revisão do prontuário médico, avaliando-se os dados dos períodos pré-IT e durante a IT.

Critérios de exclusão: não houve critério de exclusão. Toda PcHA que teve inibidor e foi tratada com IT teve a possibilidade de participar do estudo.

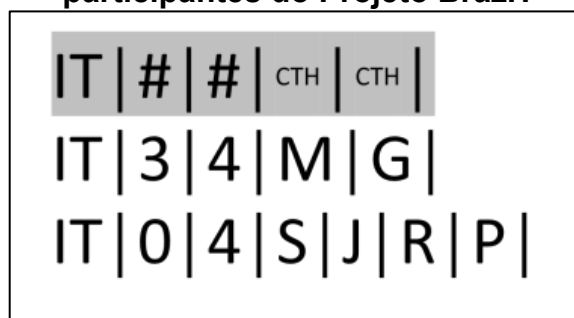
5.4 Coleta, armazenamento, codificação e transporte de amostras

Em paralelo à assinatura dos termos para participação no estudo, o pesquisador de cada CTH se encarrega de providenciar as coletas de amostras de material biológico. Essas amostras ficam armazenadas a -80°C , até o transporte devidamente acondicionado e protegido à Fundação HEMOMINAS, Belo Horizonte/MG, Brasil. O transporte é organizado em comum acordo entre o CTH e a equipe de pesquisa, seja através de *courier* previamente contratado e transportado em caixa de isopor de tamanho apropriado com gelo seco (sangue total e plasma citratado), seja por correio,

através do serviço SEDEX10 em temperatura ambiente (sangue total). As amostras são recebidas e codificadas pelos pesquisadores do serviço coordenador, posteriormente mantidas a -80°C. Enquanto as amostras de plasma citratado permanecem na Fundação HEMOMINAS para a realização dos testes imunológicos, as amostras de sangue total são encaminhadas ao Laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, para extração de DNA e realização dos testes moleculares.

A codificação das amostras segue um critério estabelecido pela equipe coordenadora do estudo (Figura 2). Todas são identificadas pelas iniciais “IT” (imunotolerância), para atribuição ao Projeto BrazIT. A seguir, são enumeradas pela ordem de inclusão no determinado CTH (01, 02, 03...). Finalmente, inclui-se a sigla do estado ou do município do CTH. Sendo assim, o participante IT34MG é o 34º a ser cadastrado no Hemocentro de Minas Gerais (HEMOMINAS), enquanto o participante IT04SJR é o 4º a ser cadastrado do Hemocentro de São José do Rio Preto, por exemplo. A codificação fica salva em um arquivo de Excel, cujo acesso necessita de *login* e senha, assim como o computador que o armazena.

Figura 2 – Codificação utilizada no processo de anonimização dos participantes do Projeto BrazIT



Legenda: IT, Projeto BrazIT; CTH, estado ou município onde fica o Centro de Tratamento de Hemofilia

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5 Protocolo Brasileiro de Indução de Imunotolerância

Neste estudo, o regime da IT segue o Protocolo de IT adotado pelo Programa Nacional de Coagulopatias Hereditárias do Ministério da Saúde (BRASIL, 2015a). A inclusão no tratamento de IT é uma decisão tomada entre o médico (parte da equipe

interdisciplinar do CTH), que avalia se o paciente preenche os critérios de inclusão e o paciente e/ou seu tutor. Resumidamente, a IT é realizada, idealmente, usando-se o mesmo tipo de concentrado de FVIII contra o qual o paciente desenvolveu o inibidor (por exemplo, FVIII derivado de plasma ou recombinante). O esquema de IT de baixas doses (50 UI/kg de peso, três vezes por semana) é prescrito para todos as PcHA como o regime inicial. Após os primeiros 6 meses, se o título do inibidor não reduz mais do que 20% após o valor do pico, o esquema deve mudar para 100 UI/kg diariamente (regime de altas doses). Se o paciente estiver em tratamento de IT com o FVIII recombinante e na ausência de resposta à IT com altas doses, o FVIII derivado do plasma em altas doses pode ser usado como alternativa. Além do regime de IT, a profilaxia com agente de *bypass* é recomendada, se o paciente tiver um fenótipo hemorrágico, isto é, se apresenta hemorragias graves e/ou frequentes antes do início da IT, até que o título do inibidor diminua abaixo de 5 UB/mL, quando ela deve ser suspensa (LÓPEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2016).

Os critérios desfecho da IT são baseados nas definições estabelecidas por Hay e DiMichele (2012) e são classificados como sucesso (ou seja, a PcHA responde ao FVIII exógeno em doses regulares ou mais altas) e falha (ou seja, a PcHA não responde ao exógeno FVIII). O sucesso total é alcançado quando (a) o título do inibidor é negativo pelo menos duas vezes consecutivas, (b) a farmacocinética do FVIII é normal (meia-vida é ≥ 6 h e recuperação é $\geq 66\%$), e (c) doses usuais de FVIII são usadas para tratar ou prevenir sangramento. O sucesso parcial é definido como (a) o título do inibidor é 0,6-2,0 UB/mL e/ou (b) a farmacocinética do FVIII não é normal e/ou (c) o paciente precisa de doses de FVIII maiores do que o normal, para tratar ou prevenir sangramento (HAY; DIMICHELE, 2012). Se os parâmetros de sucesso não forem alcançados após 33 meses de IT, o desfecho é considerado como falha (HAY; DIMICHELE, 2012).

5.6 Testes laboratoriais para seguimento da imunotolerância, segundo o Protocolo Brasileiro de Indução de Imunotolerância

Tanto os ensaios de atividade do FVIII quanto os testes de titulação de inibidores são realizados em cada CTH (CAMELO *et al.*, 2021). Todos os laboratórios dos CTH possuem controle externo de avaliação de qualidade em hemostasia. A atividade do

FVIII foi avaliada por ensaio coagulométrico (BRASIL, 2015a). O título do inibidor é medido de acordo com o teste de Bethesda modificado por Nijmegen (BRASIL, 2015a). As técnicas laboratoriais que se seguem estão descritas nos manuais do Ministério da Saúde sobre laboratório em coagulopatias raras (BRASIL, 2012). Os laboratórios envolvidos no tratamento de PcHA no Brasil e participantes do Estudo BrazIT participam de controles de qualidade internos e externos regularmente (MONTALVÃO; LOWE; KITCHEN, 2022).

5.6.1 Coleta e processamento do plasma para testes da coagulação

Após jejum de até 4 h, em abstinência de 24 h de atividade física e de tabagismo (quando aplicável), o sangue é colhido entre 7:00 e 9:00 h da manhã, com um garroteamento de menos de 1 min, em tubos de polipropileno contendo citrato de sódio di-hidratado 3,2% ou 0,109 mol/L, na proporção de 1:9 (anticoagulante:sangue). Logo após a coleta, o sangue é delicadamente misturado com o anticoagulante, por inversão do tubo de 8 a 10 vezes, evitando-se a formação de espuma e de microcoágulos. Para evitar a contaminação indesejada entre os diferentes anticoagulantes, o tubo contendo citrato de sódio deve ser o primeiro a ser utilizado (antes do EDTA, a seguir). As amostras com hemólise são descartadas.

5.6.2 Determinação da atividade de FVIII

A determinação da atividade de FVIII é realizada tendo como base o teste de TTPa. O teste de TTPa consiste na recalcificação do plasma na presença de grande quantidade de fosfolípido e de um ativador do sistema de contato. O método de um estágio, conhecido como coagulométrico, é ainda o método mais amplamente utilizado no Brasil, para a determinação dos níveis da atividade de FVIII. Ele se baseia na capacidade de uma amostra do paciente diluída encurtar o tempo de coagulação em um meio no qual se adicionam plasma deficiente em FVIII (em 3 diluições diferentes), reagente para TTPa (fosfolípido e ativador de contato) e cálcio. O tempo de coagulação reflete o resultado em uma linha linear entre o tempo de coagulação (escala linear) e diluição do plasma padrão (escala logarítmica).

Para garantir a qualidade dos resultados e não permitir que eles sejam subestimados, alterando-se assim toda a análise, é recomendável que o teste de FVIII seja determinado através de uma curva de calibração produzida com amostra padrão comercial conhecida como calibrador, em que o valor do FVIII é conhecido e preciso. Essa curva de calibração deverá ser validada para utilização apenas quando houver resultados de controle comercial normal e patológico dentro dos valores esperados, ou seja, coeficiente de variação < 10% em relação à média esperada.

5.6.3 Determinação da farmacocinética do FVIII (recuperação e meia-vida)

O teste de recuperação *in vivo* expressa a relação ou a porcentagem da atividade plasmática máxima do FVIII, após a infusão de concentrado de FVIII. A estimativa da atividade do FVIII se baseia na premissa de que 1 UI de FVIII/kg do peso corpóreo provém 0,02 UI/mL de FVIII na circulação. Portanto, o princípio do teste envolve a comparação do valor obtido do FVIII administrado com o valor estimado da recuperação desse fator no plasma da PcHA. O resultado é descrito com base na atividade do FVIII, considerando-se o volume plasmático (0,45 dL/kg de peso).

A meia-vida se refere ao tempo dispendido para que uma substância reduza sua concentração (no caso do FVIII, infere-se a atividade) em 50%. Por convenção, a determinação da meia-vida de FVIII deve envolver múltiplas coletas ao longo da vida média (duração) plasmática do FVIII. A Sociedade Internacional de Trombose e Hemostasia orienta a coleta de uma amostra pré-infusão, seguida de várias amostras após a infusão, conforme a idade da PcHA (INTERNATIONAL SOCIETY ON THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS, 2001). Em crianças (geralmente menores de 6 anos de idade), orienta-se coletar amostras 1, 9, 24 e 48 h após a infusão de FVIII. Em PcHA adolescentes ou adultos, a orientação é coletar em 15 e 30 min, 1, 3, 6, 9, 24, 28, 32 e 48 h após a infusão. No Brasil, em especial para a situação de IT, é necessária a determinação da atividade do FVIII em três etapas e em sete tempos distintos: antes da administração de FVIII e 15 e 30 min, 1, 3, 6 e 24 h após a infusão de FVIII (BRASIL, 2015a).

Algumas questões, como as que se seguem, devem ser consideradas, antes de programar a coleta das amostras com a PcHA:

- a) O paciente deverá ter pelo menos dois resultados de titulação de inibidor de FVIII negativos consecutivos ($< 0,6$ UB/mL), com pelo menos 30 dias de intervalo entre cada um deles;
- b) O paciente não deverá ter recebido FVIII ou qualquer outro produto que contenha FVIII por pelo menos 72 h antes da realização dos testes;
- c) A dose de infusão recomendada é de 50 UI/kg de FVIII.
- d) Para o cálculo da recuperação, são necessários os seguintes dados:
 - A dose total de FVIII administrada, em UI;
 - O peso do paciente no dia da realização do teste, em kg;
 - As atividades de FVIII antes da infusão e aos 15, 30 e 60 min após a infusão, em %.

Para o cálculo, deve-se considerar o maior valor de FVIII entre esses tempos. O cálculo é realizado pela fórmula:

$$\text{Recuperação de FVIII (\%)} = \frac{\text{FVIII (\%)} \times 0,45 \text{ (dL/kg)} \times \text{peso (kg)} \times 100}{\text{dose total FVIII (UI)}}$$

Onde a constante 0,45 dL/kg corresponde ao percentual estimado de volume plasmático.

A meia-vida pode ser calculada a partir de um gráfico monologarítmico de concentração plasmática de FVIII (em %) vs. tempo (em h). A correlação não é linear, uma vez que a distribuição e a eliminação corpórea de FVIII obedecem a um sistema de 2 compartimentos. Por isso, o cálculo deve se basear na taxa de fármaco removido a partir da inclinação da linha formada sobre o gráfico após 3 h da infusão (convencionalmente o momento ideal para avaliação da eliminação). No modelo brasileiro, podem-se usar os tempos de 3, 6 e 24 h, por exemplo. A fórmula para obtenção da vida-média de uma proteína é:

$$\text{Meia-vida (em h)} = 0,693 (\text{tempo}_{\text{final}} - \text{tempo}_{\text{inicial}}) / (\ln \text{FVIII}_{\text{inicial}} - \ln \text{FVIII}_{\text{final}})$$

Onde 0,693 é logaritmo natural de 2.

5.6.4 Titulação do inibidor pela técnica de Bethesda modificada (Nijmegen-Bethesda)

A versão original ou o método clássico de Bethesda envolve inicialmente a mistura de uma amostra de plasma do paciente com o mesmo volume de um PPN (KASPER *et al.*, 1975). Como a maior parte dos anticorpos é tempo- e temperatura-dependentes, a mistura deve ser incubada por 2 h a 37°C antes de se realizar a dosagem da atividade de FVIII. Simultaneamente, um plasma com a atividade de FVIII conhecida é misturado com o tampão diluente, para uma análise em paralelo. A variação de Nijmegen do método de Bethesda envolve duas modificações: em uma delas, o PPN é tamponado e estabilizado com tampão imidazol; na outra, o plasma controle é misturado com o plasma deficiente em FVIII, ao invés de tampão imidazol (VERBRUGGEN *et al.*, 1995). Estas modificações, além de diminuir a possibilidade de resultado falso positivo, reduzem o coeficiente de variação do teste comparado com o teste clássico de Bethesda, melhorando, assim, a sua confiabilidade.

Para o preparo do PPN tamponado da mistura 1, mistura-se uma parte do PPN com uma parte do tampão imidazol no padrão v/v. Em seguida, uma parte desse PPN tamponado é misturada com uma parte do plasma deficiente em FVIII, também no padrão v/v. Ao final, tem-se a mistura 1. A mistura 2 é preparada com uma parte do plasma do paciente e uma parte do mesmo PPN tamponado descrito acima, no padrão v/v. A partir daí, fazem-se pelo menos 3 diluições (1:2, 1:4 e 1:8) do plasma do paciente, podendo-se realizar mais diluições, caso haja suspeita de inibidor de título mais alto. Ambas as misturas 1 e 2, incluindo-se as diluições, são incubadas por 2 h a 37°C.

A análise da atividade de FVIII é realizada para cada mistura, de acordo com a descrição acima. A atividade encontrada em cada diluição (mistura 2) é dividida pela atividade controle (mistura 1), multiplicando-se o resultado por 100. Desenha-se o gráfico monologarítmico da atividade residual das diluições de FVIII vs. a diluição.

Por definição, 1 unidade Bethesda (UB ou UB/mL) corresponde à quantidade de inibidor capaz de neutralizar 50% da atividade de FVIII plasmático, após incubação por 2 h a 37°C. Isso possibilita obter um gráfico monologarítmico padrão de atividade de FVIII residual vs. título de inibidor, com as atividades residuais de 100%, 66%, 50% e 25% correspondendo a 0, 0,6, 1,0 e 2,0 UB/mL, respectivamente. Deve-se identificar as diluições do paciente que correspondem a 25% e 75% da atividade residual de FVIII. O título final é obtido multiplicando-se o valor encontrado pelo fator de diluição correspondente. No entanto, como a cinética de reação dos anticorpos pode ser variável, títulos muito diferentes de inibidores podem ser obtidos em uma mesma amostra em diluições diferentes. Nesses casos, o resultado deve ser baseado na menor titulação.

Valores menores que 0,6 UB/mL de plasma são considerados negativos. O inibidor é considerado positivo quando o título é $\geq 0,6$ UB/mL, confirmado por outra avaliação em um intervalo de pelo menos 2-4 semanas.

5.7 Variáveis clínicas e sociodemográficas

Para coleta das variáveis do estudo (Quadro 1), elaboraram-se formulários padronizados, conforme o momento de inclusão do paciente (Apêndices M e N).

Quadro 1 – Dados clínicos e terapêuticos coletados através de formulários no Estudo BrazIT

Antes do início da imunotolerância
CTH, data de nascimento, sexo, cor da pele, diagnóstico de hemofilia (data e atividade de FVIII ao diagnóstico e o menor avaliado), primeira infusão de FVIII (data e motivo), diagnóstico de inibidor (data e título), história familiar de hemofilia e inibidor, e pico histórico de inibidor
Ao final da imunotolerância
Datas de início e suspensão da IT, títulos de inibidor antes e durante o tratamento (com datas), tipo de acesso venoso, regime de IT inicial e as alterações seguintes (regime e tipo de produto), necessidade de infusão de agentes de <i>bypass</i> (tipo e modalidade de tratamento) procedimentos cirúrgicos, razão para suspensão da IT e farmacocinética do FVIII (recuperação e meia-vida), no caso de sucesso

Legenda: CTH, Centro de Tratamento de Hemofilia; FVIII, fator VIII; IT, imunotolerância

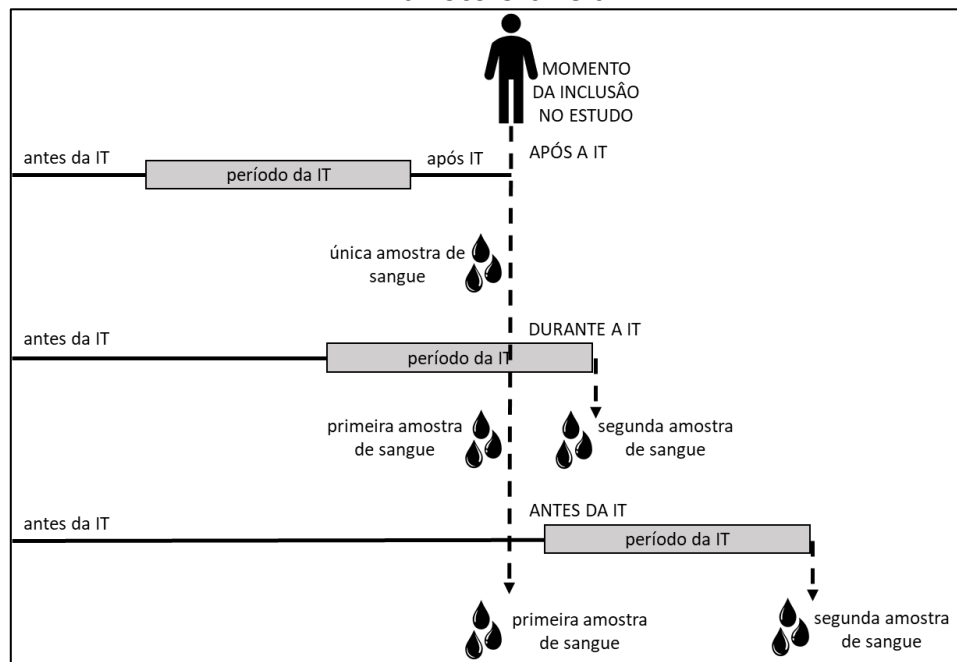
Fonte: Elaborado pelo autor.

As informações são coletadas de prontuários médicos e durante as consultas, em diferentes momentos: antes da IT e ao término da IT. Informações gerais do participante e características da HA e do desenvolvimento de inibidor antes da IT, tais como, centro onde se encontra cadastrado, data de nascimento, sexo, cor da pele, diagnóstico de hemofilia, primeira infusão de FVIII, diagnóstico de inibidor, história familiar de hemofilia e inibidor, e pico histórico de inibidor são obtidos através do Formulário de Inclusão no Estudo (Apêndice M). O Formulário de Conclusão da Imunotolerância (Apêndice N) inclui dados da terapia e da conclusão da IT. Em relação à IT, os dados coletados são datas de início e suspensão da IT, títulos de inibidores imediatamente antes e ao longo do tratamento (com datas), tipo de acesso venoso para infusão dos fatores, regime de IT inicial e mudanças ao longo da terapia, necessidade de infusão de agente de *bypass*, episódios de sangramento e procedimentos cirúrgicos. Em relação à conclusão da IT, coletam-se dados sobre motivo da suspensão da IT, título do inibidor e farmacocinética do FVIII (recuperação e meia-vida), em caso de sucesso.

5.8 Preparo das amostras biológicas

As amostras de sangue venoso são coletadas em tubos com EDTA e citrato de todas as PCHA na inclusão no estudo, que pode ser antes do início, durante ou após o final da IT (Figura 3). As amostras são centrifugadas por 10 min a 1.500 rpm e armazenadas a -80°C até a análise. Células sanguíneas de tubos de EDTA são usadas para testes genéticos e o plasma citratado é usado para avaliação de biomarcadores imunológicos.

Figura 3 – Coletas de amostras de sangue de acordo com o momento de inclusão no Estudo BrazIT e situação de tratamento com imunotolerância. IT, imunotolerância



5.9 Caracterização molecular da hemofilia A

Inicialmente, as extrações de DNA são realizadas pela Dra. Luciana Werneck Zuccherato, no Laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Ela também é responsável pela avaliação das inversões do íntron 1 e do íntron 22, realizada em todos os participantes do estudo. Quando o participante não apresenta estas inversões, sua amostra de DNA é, então, encaminhada para o sequenciamento. A análise de variantes no *F8* resultantes desse sequenciamento também é feita pela Dra. Luciana Werneck Zuccherato.

5.9.1 Inversão do íntron 22

Aproximadamente 45% das PCHA grave possuem um rearranjo molecular que leva à inversão do íntron 22 do gene *F8* (GOUW *et al.*, 2012; ROSSETTI *et al.*, 2008). Uma região homóloga de 9,5 kb do íntron 22 (Int22h1) se encontra duplicada próximo à região telomérica (Int22h2 e Int22h3). A recombinação entre a região Int22h1 e as regiões extragênicas homólogas Int22h2 ou Int22h3 resultam, respectivamente, na inversão íntron 22 do tipo 1 ou tipo 2.

Para a detecção da inversão do íntron 22, optou-se por empregar a técnica de PCR inversa (ROSSETTI *et al.*, 2008). Um total de 1 µg de DNA é digerido com 10 U de enzima *BclI* (Invitrogen, São Francisco, EUA) a 55°C, por 2 h, em um volume final de 25 µL. O produto da digestão é purificado com 12,5 µL de *Protein Precipitation Solution* (Qiagen, Hilden, Alemanha) e 50 µL de etanol absoluto. Após incubação de 15 min à temperatura ambiente, as amostras são centrifugadas a 13.000 rpm por 5 min. O sobrenadante é cuidadosamente retirado e 75 µL de etanol 70% (v/v) são adicionados ao *pellet*. Após centrifugação de 13.000 rpm por 1 min, o sobrenadante é descartado e, após completa evaporação do líquido restante, o produto é diluído em 20 µL de água. Os produtos purificados são ligados, gerando círculos de DNA, após serem incubados com 1,5 U da enzima T4 DNA ligase (Invitrogen, São Diego, EUA) a 15°C, *overnight*, em um volume final de 25 µL. O produto da ligação é purificado conforme protocolo da *Protein Precipitation Solution* (Qiagen, Hilden, Alemanha) detalhado acima, e ressuspenso em 25 µL de água. Em seguida, duas reações de amplificação por PCR são realizadas, seguindo-se o mesmo protocolo, com alteração na combinação de oligonucleotídeos e temperaturas de anelamento: uma para o teste diagnóstico (ID, 56°C, conjunto de iniciadores ID+IU+2U+3U) e a outra para o teste complementar (ED, 54°C, conjunto de iniciadores ED+IU+2U+3U). Para todas as reações de PCR realizadas, a reação é constituída de 6 µL do produto de ligação, 0,4 µmol/L para os oligonucleotídeos ID, ED, 1U, 2U e 0,6 µmol/L de iniciador 3U (Tabela 1), 0,3 mmol/L de dNTPs, 1X de tampão de reação e 3U de GoTaq DNA-polimerase (Promega, Michigan, EUA), resultando-se em um volume final de 25 µL. As duas reações são amplificadas em termociclador, sendo a desnaturação inicial a 94°C por 2 min, seguido por 35 ciclos de 94°C por 30 s, 56°C ou 54°C (reações ID e ED, respectivamente) por 1 min, e 72°C por 90 s. A extensão final ocorre por 5 min a 72°C. O produto resultante da amplificação é visualizado através de eletroforese em gel de agarose 2% (p/v), corado com SybrSafe (Invitrogen). O perfil de fragmentos esperado está descrito na Tabela 2.

Tabela 1 – Oligonucleotídeos utilizados na reação da inversão do íntron 22

Identificação	Sequência (5'-3')
<i>ID</i>	ACATACGGTTTAGTCACAAG
<i>IU</i>	CCTTTCAACTCCATCTCCAT
<i>ED</i>	ICCAGTCACTTAGGCTCAG
<i>2U</i>	ACGTGTCTTTTGGAGAAGTC
<i>3U</i>	CTCACATTGTGTTCTTGTAGTC

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 2 – Características dos fragmentos obtidos na reação de inversão do íntron 22

	Teste diagnóstico ID+IU+2U+3U	Teste complementar ED+IU+2U+3U
Negativo	487 pb	405 pb + 457 pb
Positivo íntron 22 tipo 1	333 pb	457 pb + 559 pb
Positivo íntron 22 tipo 2	385 pb	405 pb + 559 pb

Legenda: pb, pares de bases.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A inversão no íntron 1 de *F8* pode estar presente em até 5% dos PchA grave (BAGNALL *et al.*, 2002). Esta inversão decorre do rearranjo de uma região de 1.041 pb no íntron 1 (Int1h1) com uma região homóloga a 140 kb próximo ao telômero. Esta região, que se encontra em direção oposta (Int1h2), difere de Int1h1 em apenas um nucleotídeo. Para detectar a inversão do íntron 1, usamos a técnica de Bagnall et al. com pequenas modificações, onde duas combinações de iniciadores são utilizadas: Int1h-1 (9F+Int1h+2F+9cR) e Int1h-2 (9F+Int1h-2F+Int1h-2R) (BAGNALL *et al.*, 2002; PIO *et al.*, 2011). Para todas as reações de PCR realizadas, a mistura foi constituída por 0,4 µmol de cada oligonucleotídeo (Tabela 3), 0,4 mmol/L de dNTPs, 1X de tampão de reação, 4 mmol/L de magnésio, 1,25 U de enzima Taq DNA-polimerase (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) e 200 ng de DNA genômico. A amplificação ocorre com o perfil térmico de desnaturação inicial a 94°C por 2 min, seguido por 30 ciclos de 94°C por 30 s, 65°C por 30 s e 72°C por 2 min. A extensão final ocorre por 8 min a 72°C. O produto resultante da amplificação é visualizado através de eletroforese em gel de agarose 2% (p/v), corado com SybrSafe (Invitrogen). A presença da inversão

do íntron 1 gera um fragmento de 1.323 pb na presença dos oligonucleotídeos Int1h1 e de 1.726 pb na presença oligonucleotídeos Int1h2 (Tabela 4).

Tabela 3 – Oligonucleotídeos utilizados na reação da inversão do íntron 1

Identificação	Sequência (5'-3')
<i>9cR</i>	CTAGCTTGAGCTCCCTGTGG
<i>9F</i>	GTTGTTGGGAATGGTTACGG
<i>Int1h-2F</i>	GGCAGGGATCTTGTGGTAAA
<i>Int1h-2R</i>	TGGGTGATATAAGCTGCTGAGCTA

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 4 – Características dos fragmentos obtidos na reação de inversão do íntron 1

	<i>Int1h-1</i>	<i>Int1-h2</i>
Oligonucleotideo	<i>9F/ Int1h-2F/9cR</i>	<i>9F/Int1h-2F/Int1h-2R</i>
Ausência da inversão íntron 1	1.908 pb	1.191 pb
Presença da inversão do íntron 1	1.323 pb	1.726 pb
Portadora	1.908 pb/1.323 pb	1.191 bp/1.726 pb

Legenda: pb, pares de bases.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.9.2 Sequenciamento do gene do *FVIII* acoplado à avaliação do exoma

Para os PCHA que não apresentam as inversões dos íntrons 1 e 22, realiza-se o sequenciamento de *F8*. Esse sequenciamento está incluído na análise do exoma (CHEN *et al.*, 2021; POGGI *et al.*, 2011) e foi realizado no Laboratório DASA (São Paulo, Brasil).

Em resumo, 50 µL de DNA genômico com concentração média de 13 ng/µL, aferida pelo ensaio 1X dsDNA *High Sensitivity kit* (Invitrogen, Carlsbad, EUA) no fluorímetro Qubit (Invitrogen, Carlsbad, EUA), foram utilizados para a preparação das bibliotecas e consequente sequenciamento. A biblioteca de DNA foi preparada pelo método de enriquecimento, seguido de captura das regiões alvos com os *kits xGen Exome Research Panel v2*, *xGen CNV Backbone Panel* e *xGen Human mtDNA Research Panel* (IDT, São Diego, EUA). O sequenciamento foi realizado na plataforma Illumina NovaSeq 6000 (Illumina, São Diego, EUA). A região alvo inclui o DNA codificante

(CDS) e os sítios de *splicing*, além de abranger o genoma mitocondrial completo. A análise de bioinformática foi realizada através da plataforma StrandOmics (<https://clinical.strandomics.com/>), com base na versão GRCh37/hg19 do genoma humano. A metodologia desenvolvida e validada pelo laboratório detecta variantes de base única (SNVs), pequenas inserções e deleções (InDels) e variações do número de cópias (CNVs).

A partir dos arquivos no formato *.vcf* (*variant call format*) de cada participante fornecidos pelo laboratório, selecionamos as variantes anotadas na região do cromossomo Xq28 que abrange o gene *F8* (chrX:154.064.064–154.250.998, versão hg19). Baseado nas informações disponíveis nos bancos de dados públicos NCBI-ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) e Varsome (<https://varsome.com/>), cada variante foi classificada conforme os critérios de patogenicidade encontrados: benigna, potencialmente benigna, variante de significado incerto, potencialmente patogênica e patogênica. Apenas as variantes classificadas como potencialmente patogênica e patogênica foram selecionadas para a análise.

5.10 Revisão sistemática sobre determinantes da imunotolerância e metanálise

Esta revisão sistemática é relatada de acordo com a declaração *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis* (PRISMA) (MOHER *et al.*, 2015). Os critérios de inclusão e qualidade metodológica foram especificados e publicados previamente em protocolo no Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas (*International Prospective Register of Systematic Reviews* ou PROSPERO) sob o número de registro CRD42020219062. Os métodos de análise dos dados foram elaborados neste protocolo, mas foram ajustados a um modelo adequado para os dados extraídos.

5.10.1 Critérios de elegibilidade do estudo

Ensaio controlado aleatorizados, estudos de coorte e caso-controle relatando determinantes para o resultado de IT em PCHA, publicados como um artigo completo revisado por pares, foram elegíveis para inclusão, sem restrição na data de publicação. Apenas estudos escritos em inglês foram incluídos.

5.10.2 Participantes

Estudos incluindo PcHA de qualquer idade e com qualquer gravidade, sejam leve (FVIII 0,05-0,40 UI/mL), moderada (FVIII 0,01-0,05 UI/mL) e grave (FVIII < 0,01 UI/mL), que foram submetidas à IT, foram elegíveis para inclusão. Qualquer tipo de tratamento destinado a erradicar inibidores foi considerado como IT, independentemente do tipo de produto FVIII, da dose ou da frequência de infusão. O primeiro estudo de IT para PcHA e inibidor foi definido como IT primário. Qualquer realização de IT após a primeira IT foi definida como IT de resgate.

5.10.3 Desfechos e determinantes

O desfecho primário foi o sucesso completo (às vezes também chamada de total) da IT, definido de acordo com as definições dos pesquisadores do estudo original. A resposta à IT incluiu resposta parcial e falha, ambas definidas de acordo com as definições usadas nos estudos originais.

Qualquer determinante relacionado à PcHA, ao tratamento ou ao inibidor relatado nos estudos incluídos foi avaliado. A etnia dos participantes foi definida como branca ou não branca, ou afro-americana ou não afro-americana (FLANAGIN *et al.*, 2021). As variantes de *F8* foram categorizadas em alto risco e baixo risco para nossa análise (COPPOLA *et al.*, 2009). As mutações de alto risco incluem inversão do intron 22, inversão do íntron 1, deleções grandes e mutações sem sentido (COPPOLA *et al.*, 2009). Mutações de baixo risco incluem pequenas deleções ou inserções, mutações *missense* ou mutações de sítio de junção (COPPOLA *et al.*, 2009). A dose de FVIII para IT foi categorizada em baixa (≤ 50 UI/kg/dia), intermediária- (50-200 UI/kg/dia) e alta dose (≥ 200 UI/kg/dia) (HAY; DIMICHELE; INTERNATIONAL IMMUNE TOLERANCE STUDY, 2012). A terapia adjuvante incluiu imunoglobulina intravenosa, esteroides, ciclofosfamida ou rituximabe (KURTH *et al.*, 2011). A resposta do inibidor foi categorizada em alta ou baixa, se os títulos de pico ao longo da vida foram ≥ 5 UB/mL ou < 5 UB/mL, respectivamente (NOGAMI *et al.*, 2018). O título de pico histórico foi definido como o título de inibidor medido mais alto antes do início da IT. O título pré-ITI foi definido como o título de inibidor mais recente medido antes do

início da IT. O título de pico durante a IT foi definido como o título de inibidor mais alto medido durante a IT.

5.10.4 Fontes de informação e estratégia de busca

Os estudos foram identificados pesquisando MEDLINE (<1946-presente) e Embase (<1947-presente). Utilizamos os termos de busca “*hemophilia*” e “*immune tolerance*”. A pesquisa completa para cada banco de dados está listada nos Quadros 2 e 3. A busca foi planejada e supervisionada por um especialista em informação (R. Spijker, *Amsterdam University Medical Center*, Amsterdã, Países Baixos). A primeira pesquisa foi realizada em 15 de fevereiro de 2021 (Quadro 2). Uma pesquisa atualizada foi realizada em 29 de dezembro de 2021, utilizando-se a mesma estratégia (Quadro 3).

Quadro 2 – Primeira busca da literatura em bases eletrônicas de dados*

Ovid MEDLINE(R) ALL <1946 to February 15, 2021>			
Histórico de busca listado de acordo com a ordem da busca			
#	Buscas	Resultados	Tipo
1	exp Factor VIII/ or exp Hemophilia A/	29443	Advanced
2	(H?emophilia or ((factor-VIII or factor-8) adj (deficienc* or disorder*)) or Subhemophilia).ti,ab,kf.	21195	Advanced
3	1 or 2	35123	Advanced
4	exp Immune Tolerance/	44238	Advanced
5	((immune adj3 tolerance) or immunotolerance or ITI).ti,ab,kf.	11960	Advanced
6	(bonn or creveld or malmo).ti,ab.	3980	Advanced
7	exp Cyclophosphamide/	54198	Advanced
8	(Cyclophosphamide or apcc or activated-prothrombin).ti,ab.	50131	Advanced
9	haven.ti,ab.	2723	Advanced
10	4 or 5 or 6 or 7 or 8 or 9	133385	Advanced
11	3 and 10	1701	Advanced
12	case reports.pt.	2157623	Advanced
13	11 not 12	1311	
Embase Classic+Embase <1947 to 2021 February 15>			
Histórico de busca listado de acordo com a ordem da busca			
#	Buscas	Resultados	Tipo
1	exp blood clotting factor 8/ or exp hemophilia/	61111	Advanced
2	(H?emophilia or ((factor-VIII or factor-8) adj (deficienc* or disorder*)) or Subhemophilia).ti,ab,kw.	36894	Advanced
3	1 or 2	63440	Advanced
4	exp immunological tolerance/	50882	Advanced
5	((immune adj3 tolerance) or immunotolerance or ITI).ti,ab,kw.	18904	Advanced
6	(bonn or creveld or malmo).ti,ab.	5721	Advanced
7	exp cyclophosphamide/	228234	Advanced
8	(Cyclophosphamide or apcc or activated-prothrombin).ti,ab.	81154	Advanced
9	haven.ti,ab.	4063	Advanced
10	4 or 5 or 6 or 7 or 8 or 9	303148	Advanced
11	3 and 10	4401	Advanced
12	exp case report/	2694927	Advanced
13	11 not 12	3417	Advanced
14	limit 13 to embase	1840	Advanced
15	limit 13 to conference abstracts	1432	

* Busca realizada em 15 de fevereiro de 2021.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Quadro 3 – Busca atualizada da literatura em bases eletrônicas de dados*

Ovid MEDLINE(R) ALL <December 29, 2020 to December 29, 2021>			
Histórico de busca listado de acordo com a ordem da busca			
#	Buscas	Resultados	Tipo
1	"hemophilia" OR "haemophilia" OR ((factor VIII OR factor-8) adj (deficienc* or disorder*))	31796	Advanced
2	"immune tolerance" OR ((immune adj3 tolerance) or immunotolerance or ITI or ITT)	52545	Advanced
3	1 and 2	1041	Advanced
4	Filter: in the last year	58	Advanced

* Busca realizada em 29 de dezembro de 2021.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.10.5 Seleção de estudos e coleta de dados

Título e resumos foram examinados por dois revisores independentes (Ilja Oomen – IO – e Ricardo Mesquita Camelo – RMC) para identificar estudos potencialmente relevantes. Os textos completos dos artigos selecionados foram revisados para avaliar sua elegibilidade para inclusão, pelos mesmos dois revisores independentes. Em caso de dúvida ou desacordo entre os dois revisores independentes, isso foi discutido com um especialista metodológico (Samantha C Gouw).

Artigos duplicados sobre estudos foram identificados e excluídos, verificando-se os nomes dos autores, afiliações e áreas de abrangência. Se os estudos incluíssem coortes de pacientes sobrepostas avaliadas durante o mesmo período, incluímos o estudo mais recente, o estudo com o maior número de participantes ou o estudo com a maior qualidade metodológica.

5.10.6 Avaliação de qualidade

A avaliação crítica dos estudos foi avaliada por dois revisores de forma independente (IO e RMC). As listas de verificação do *Joanna Briggs Institute* para estudos de coorte e transversais foram combinadas e adaptadas para avaliar a qualidade metodológica de cada estudo incluído (<https://jbi.global/critical-appraisal-tools>). Os estudos foram classificados como de alta qualidade se $\geq 11/13$ critérios e qualidade intermediária se $\geq 8/13$ critérios fossem atendidos. Uma pontuação ≤ 7 foi considerada de baixa qualidade.

5.10.7 Extração e gerenciamento de dados

A extração de dados foi realizada por dois pesquisadores (IO e RMC), usando-se um formulário eletrônico estruturado de coleta de dados. Em caso de dados ausentes, contactamos todos os autores correspondentes do estudo por e-mail. Dos 7 autores contactados, 2 responderam à nossa solicitação. Os dados solicitados incluíram etnia, genótipos *F8*, idade ao desenvolvimento do inibidor ou ao início da IT, intervalo entre o desenvolvimento do inibidor e o início da IT, tipo de concentrado de FVIII, regime da IT e títulos de inibidor (título de pico histórico, título pré-IT e título de pico durante IT).

Os seguintes dados foram extraídos de cada estudo incluído: características do estudo (primeiro autor, ano de publicação, número de pessoas incluídas, país, desenho do estudo, critérios de inclusão, definições dos desfechos), características da PcHA (idade, gravidade da hemofilia, etnia, genótipo *F8*) e características do tratamento (regime de IT, incluindo dose, frequência e produto, idade no desenvolvimento do inibidor, intervalo entre a detecção do inibidor e o início da IT, idade ao início de IT, definições de desfechos da IT), características do inibidor (número de dias de exposição antes do desenvolvimento do inibidor, título de pico histórico, título pré-IT, título de pico durante IT), incidência cumulativa de sucesso (total ou parcial) ou falha à IT.

5.10.8 Descrição dos dados

As características do tratamento foram descritas usando mediana e intervalo interquartil (IQR) ou intervalo, para variáveis contínuas, e números e proporções, para variáveis categóricas. As razões de chance (*odds ratio* ou OR) foram extraídas dos estudos ou calculadas a partir dos dados reportados, pois buscamos utilizar a maioria dos dados disponíveis. Os resultados foram apresentados para IT primária e IT de resgate separadamente. OR com intervalo de confiança de 95% (IC95%) foram calculados para cada determinante para o sucesso do IT. O risco relativo (RR) com IC95% também foi calculado para relatar as estimativas mais precisas, uma vez que OR pode superestimar substancialmente o RR (KNOL *et al.*, 2012). IC95% exatos foram calculados usando uma ferramenta online para análise de dados epidemiológicos (<http://epitools.ausvet.com.au>). Nenhum dado perdido foi imputado.

Os OR com IC95% para cada determinante foram plotados em parcelas florestais e em uma parcela resumo.

5.10.9 Exploração, síntese e análise de dados

Para explorar a variabilidade dentro do estudo e entre estudos (heterogeneidade), avaliamos visualmente a extensão da sobreposição em IC95% do OR em *forest plots*. Além disso, estimamos τ^2 , que é uma estimativa da variância entre os estudos (BORENSTEIN *et al.*, 2009). Como a heterogeneidade clínica e metodológica era limitada, calculamos o OR agrupado para cada determinante. Os métodos convencionais para metanálise podem ser tendenciosos quando os determinantes são raros na população do estudo e quando são usadas correções de continuidade (SWEETING; SUTTON; LAMBERT, 2006). Sendo assim, aplicamos o modelo hipergeométrico-normal para a metanálise de preditores para o resultado da IT (STIJNEN; HAMZA; OZDEMIR, 2010). A metanálise foi realizada em R (versão 4.0.3, Free Software Foundation, Inc., Boston, EAU), usando o pacote de metáforas para efeitos aleatórios (STIJNEN; HAMZA; OZDEMIR, 2010). Os OR agrupados com IC95% de cada determinante para o resultado da IT foram plotados em um gráfico de resumo.

Tendências de dados de pequenos estudos. Avaliamos se pequenas tendências de dados de estudo estavam presentes, avaliando-se visualmente a assimetria dos *forest plots*, após organizar os estudos pelo tamanho da amostra (WECKMANN; CHENOT; REBER, 2015).

Análise de sensibilidade. Realizamos as seguintes análises de sensibilidade:

- a) a primeira subanálise incluiu apenas estudos entre PcHA grave;
- b) a segunda subanálise incluiu apenas estudos com mais de 20 participantes;
- c) a terceira subanálise incluiu apenas estudos em que o sucesso completo da IT foi definido de acordo para a definição utilizada no estudo *International ITI* (HAY; DIMICHELE; INTERNATIONAL IMMUNE TOLERANCE STUDY, 2012);

- d) a quarta subanálise incluiu apenas estudos de qualidade intermediária ou alta; e
- e) a quinta subanálise fundiu sucessos parciais no grupo de sucesso completo e comparou com falhas.

6 RESULTADOS

6.1 Artigo 1 (publicado)

Camelo RM, Chaves DG, Zuccherato LW, Rezende SM; BrazIT Study Team. Predictors of the outcome of immune tolerance induction in patients with haemophilia A and inhibitors: The Brazilian Immune Tolerance (BrazIT) Study protocol. PLoS One. 2021 Aug 26;16(8):e0256265. doi: 10.1371/journal.pone.0256265. PMID: 34437573; PMCID: PMC8389515.

6.1.1 Resumo

O desenvolvimento de inibidores é a principal complicação do tratamento da hemofilia A (HA). A indução de imunotolerância (IT) é o tratamento de escolha para a erradicação do inibidor. Descrevemos a metodologia do Estudo Brasileiro de Indução de Imunotolerância (BrazIT), que visa identificar biomarcadores clínicos, genéticos e imunológicos associados à resposta à IT e à recorrência do inibidor. Este estudo de coorte inclui pessoas com HA (PcHA) e inibidores (a) que requerem agentes de *bypass* para tratar e/ou prevenir sangramento e (b) que estão em qualquer estágio da IT. Os pacientes são incluídos em cada centro de tratamento de hemofilia (CTH). As avaliações do fator VIII (FVIII) e do inibidor são realizadas nos laboratórios locais de cada CTH. O regime da IT seguiu o protocolo nacional do Ministério da Saúde do Brasil. Todos as PcHA começam com IT de baixa dosagem (50 UI/kg, três vezes por semana). O regime de alta dose (100 UI/kg por dia) é usado se não houver resposta à IT de baixa dose. Os resultados são classificados como sucesso total ou parcial e falha. Formulários padronizados sobre dados clínicos, laboratoriais e de tratamento são coletados de prontuários médicos e entrevistas. Amostras de sangue são coletadas no momento da inclusão no estudo e no final da IT, para a avaliação de biomarcadores genéticos e imunológicos. O estudo está em andamento e, atualmente, 202/250 (80,8%) PcHA de 15 CTHs foram incluídos. O Estudo BrazIT é a maior coorte de PcHA e inibidor sob tratamento com o mesmo regime de IT relatado até o momento. Espera-se que este estudo contribua com novos preditores de resposta à IT.

STUDY PROTOCOL

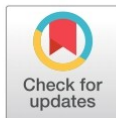
Predictors of the outcome of immune tolerance induction in patients with haemophilia A and inhibitors: The Brazilian Immune Tolerance (BrazIT) Study protocol

Ricardo Mesquita Camelo¹, Daniel Gonçalves Chaves², Luciana Werneck Zuccherato^{1,3}, Suely Meireles Rezende^{1*}, for the BrazIT Study Team[†]

1 Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, **2** Fundação HEMOMINAS, Belo Horizonte, Brazil, **3** Center of Education and Research, Instituto Mario Penna, Belo Horizonte, Brazil

[†] Membership of the BrazIT Study Team is listed in the Acknowledgments.

* srezende@medicina.ufmg.br, suely.rezende@uol.com.br



OPEN ACCESS

Citation: Camelo RM, Chaves DG, Zuccherato LW, Rezende SM, for the BrazIT Study Team (2021) Predictors of the outcome of immune tolerance induction in patients with haemophilia A and inhibitors: The Brazilian Immune Tolerance (BrazIT) Study protocol. PLoS ONE 16(8): e0256265. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256265>

Editor: Dominique Heymann, Universite de Nantes, FRANCE

Received: April 26, 2021

Accepted: August 3, 2021

Published: August 26, 2021

Peer Review History: PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256265>

Copyright: © 2021 Camelo et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This study is entirely funded by the Brazilian Government grants from Fundo Nacional de Saúde (Grant number 17217.9850001-15-006)

Abstract

The development of inhibitors is the main complication of haemophilia A (HA) treatment. Immune tolerance induction (ITI) is the treatment of choice for inhibitor eradication. We describe the methodology of the Brazilian Immune Tolerance Induction (BrazIT) Study, aimed to identify clinical, genetic, and immune biomarkers associated with response to ITI and inhibitor recurrence. This cohort study includes people with HA (PwHA) and inhibitors (a) who require bypassing agents to treat and/or prevent bleeding, and (b) who are at any stage of ITI treatment. Patients are included in each haemophilia treatment centre (HTC). Factor VIII (FVIII) and inhibitor assessments are performed at local laboratories of each HTC. The ITI regimen followed the national protocol of the Brazilian Ministry of Health. All PwHA starts with low-dose ITI (50 IU/kg three times weekly); high-dose regimen (100 IU/kg daily) is used if there is lack of response to the low-dose ITI. Outcomes are classified as total or partial success, and failure. Standardized case report forms with clinical, laboratory, and treatment data are collected from medical files and interviews. Blood samples are collected for genetic and immune biomarkers at the time of inclusion in the study and at the end of ITI. The study is ongoing and, currently, 202/250 (80.8%) PwHA from 15 HTCs have been included. BrazIT Study is the largest cohort of PwHA and inhibitor under treatment with the same ITI regimen reported to date. This study is likely to contribute with novel predictors of ITI response.

Introduction

Haemophilia A is a rare inherited disorder caused by diminished/absent coagulation factor VIII (FVIII) activity, which result in spontaneous haemorrhages [1]. Intravenous FVIII infusions are usually indicated to treat or prevent bleeding episodes [1]. Unfortunately,

and CNPq (Grant number 420008/2018-7). RMC received a scholarship (PDSE-88881.362041/2019-1) from CAPES, an agency of the Brazilian Ministry of Education, to carry out part of his Philosophiæ Doctorate as a visiting student at Leids Universitair Medisch Centrum, in the Netherlands.

Competing interests: RMC has received speaker/consultant fees and scientific event grants from Hoffman-La Roche and Takeda. DGC and LWZ have no conflicts of interest to declare. SMR works as an advisor to the Brazilian Program of Inherited Bleeding Disorders (Brazilian Ministry of Health) and received consultancy fees from the Brazilian Ministry of Health. This does not alter our adherence to all PLOS ONE policies on sharing data and materials. After the publication of the final analysis, the data can be shared upon request and guarantee of the confidentiality of each participant. Furthermore, this must adhere to the rules of the Brazilian ethical resolutions for the development of research with human beings.

Abbreviations: EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; FVIII, factor VIII; HTC, Haemophilia Treatment Centre; IgG, immunoglobulin G; ITI, immune tolerance induction; MoH, Ministry of Health; PwHA, person/people with haemophilia A.

neutralizing antibodies against FVIII–inhibitors–can develop in up to 40% of people with haemophilia A (PwHA) [2]. Although inhibitors mainly interferes with FVIII interactions by targeting some of its epitopes, they can also inactivate FVIII by proteolysis [3]. Besides increasing the treatment costs, inhibitors are associated with frequent and difficult-to-treat bleeding, muscle and joint complications, higher mortality, and reduced quality of life [4–8].

Currently, the only treatment capable of eradicating inhibitors is the immune tolerance induction (ITI), which consists of frequent infusions of FVIII to induce anergy [9]. This treatment is long-lasting, expensive, and can be troublesome, due to the need of high adherence, good venous access, adequate medical support, and continuous monitoring [9–11]. Moreover, the success rates among the different protocols worldwide range from as low as 60% to around 90% [12–16].

Little is known about predictors of response to ITI. Consistently recognised predictive factors are mainly patient-related (e.g., inhibitor historic peak titre, inhibitor titre at ITI start, and peak during ITI), but there are controversies [17–21]. For instance, historical inhibitor peak titre has been evaluated in six registries [17, 18, 20–23], but only two reported it as predictive of ITI response [20, 21]. Additionally, other factors whose role needs to be confirmed (e.g., *F8* genotypes, immune biomarkers, age at ITI start, and time elapsed from inhibitor diagnosis and ITI start) were not extensively evaluated [9, 10].

Furthermore, few reports have explored clinical and laboratory variables associated with tolerance maintenance after ITI. Although some physicians have advocated resuming regular and continuous prophylaxis with FVIII to avoid inhibitor recurrence, a retrospective cohort do not support this [24]. Moreover, this study demonstrated that the risk of inhibitor recurrence after successful ITI was associated with a low recovery of FVIII and the use of immunomodulatory therapy [24]. The overall recurrence rate of inhibitors was higher in this study [24] than in the aforementioned registries [19, 21, 25].

Different results may be due to the heterogeneity of the registries, including number of enrolled patients, follow-up periods, diversity of ITI and post-ITI regimens, use of immunosuppressors/immunomodulators, and definitions of outcomes [9–11]. The Brazilian ITI program was implemented as a National Government public policy in 2011 [26]. Moreover, in Brazil, factor concentrates for haemophilia care are purchased centrally by the Ministry of Health (MoH) and distributed to HTCs across the country [27, 28]. Currently, about 450 PwHA have been included in this program. This large population of PwHA on ITI provided us an outstanding opportunity to initiate a cohort study: the Brazilian Immune Tolerance (BrazIT) Study. Therefore, the present study aims to evaluate predictors of ITI response in these patients. In addition, tolerant PwHA are followed for at least one year after finishing ITI to evaluate inhibitor recurrence.

Methodology

Setting

The study is conducted at the Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil. Patients are enrolled in 15 Haemophilia Treatment Centres (HTC) distributed over the five Brazilian geographical regions. Candidate PwHAs are invited to participate by the attending physician (member of the interdisciplinary team of the HTC), and the decision takes into consideration the interests of the patient and/or his/her tutor. A written informed consent is signed upon acceptance to participate in the study.

Patients

Inclusion criteria are PwHA and inhibitors (a) who require the use of bypassing agents for treatment or prevention of bleeding and (b) who are at any stage of ITI treatment, which can

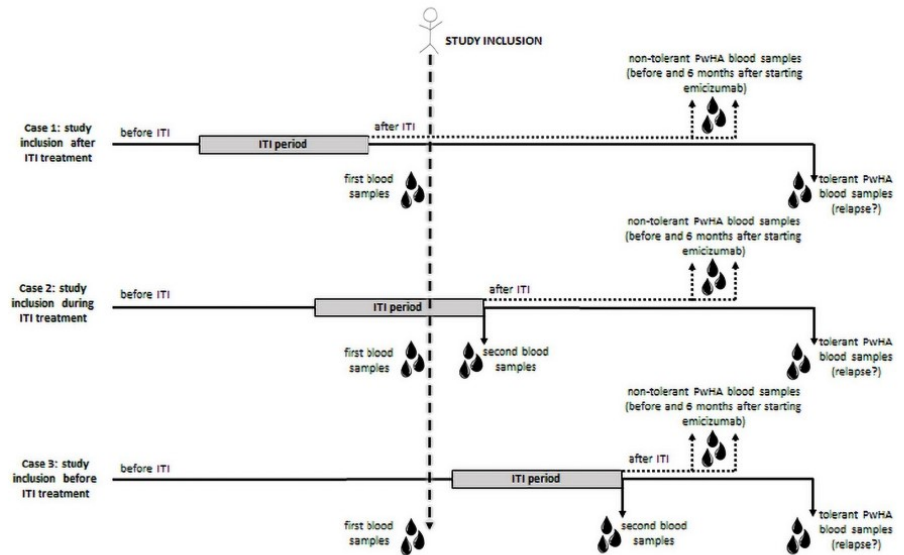


Fig 1. Illustrative chart of patients' inclusion and collection of samples in the BrazilIT Study. The inclusion of patients occurs before, during or after ITI. Blood samples are collected before and after ITI if patients are included before ITI initiation; during and after ITI if patients are included during ITI; and after ITI if patients are included after ITI. Another blood sample is collected during the follow up, until the end of the study. ITI, immune tolerance induction.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256265.g001>

be before starting (Case 1), during (Case 2) or after the end of ITI (Case 3; Fig 1). Patients are included regardless of age, sex, haemophilia severity, or inhibitor titre. Inhibitor is considered positive when titre is ≥ 0.6 BU/mL, confirmed by another assessment between at least 2–4 weeks apart. Patients are included in each HTC; FVIII and inhibitor assessments are performed at the local haemostasis laboratories of each HTC.

Study design and ethical approval

BrazilIT Study is a non-interventional cohort study. The study was approved by the ethical committee of Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE 52812415.8.0000.5149, 15/Apr/2016), which coordinated the study in the whole country. All included patients or their guardians sign a consent form.

The Brazilian Immune Tolerance Induction Protocol

Nationally, the ITI regimen follows the Brazilian Program of Inherited Bleeding Disorders of the MoH [26]. The ITI treatment is a decision made between the physician (part of the interdisciplinary team of the HTC) and the patient and/or his/her tutor. Briefly, ITI is performed by using the same type of FVIII concentrate against which inhibitor was developed (e.g., either plasma-derived or recombinant). Low-dose ITI (50 IU/kg three times weekly) is used for all PwHA as the initial ITI regimen. After the first 6 months of ITI, if inhibitor titre does not reduce more than 20% after inhibitor peak, the regimen can be enhanced to 100 IU/kg every day (high-dose regimen). Upon lack of response with high-dose ITI with recombinant FVIII, plasma-derived FVIII can be used as an alternative. Prophylaxis with bypassing agent is

recommended if the patient has a bleeding phenotype; however, when inhibitor titre decreases below 5 BU/mL, it should be suspended [29].

The criteria of ITI outcomes are based on the definitions stated by Hay and DiMichele [30] and are classified as success (i.e., the PwHA responds to exogenous FVIII at regular or higher doses) and failure (i.e., the PwHA does not respond to exogenous FVIII, besides the ITI). Total success is achieved when (a) inhibitor titre is negative at least twice, (b) FVIII pharmacokinetics is normal (half-life is ≥ 6 h and recovery is $\geq 66\%$), and (c) usual doses of FVIII are used to treat or prevent bleeding. Partial success is defined as (a) inhibitor titre is 0.6–2.0 BU/mL, and/or (b) FVIII pharmacokinetics is not normal, and/or (c) the patient needs higher-than-usual FVIII doses to treat or prevent bleeding. If the success parameters are not reached after 33 months of ITI, the treatment is considered as failure.

Both FVIII activity assays and inhibitor titre tests are performed in each HTC, after training by the Brazilian Laboratory Committee of Bleeding Disorders. FVIII activity could be evaluated by one-stage or chromogenic assays [31]. Inhibitor titre is measured according to the Nijmegen-modified Bethesda assay [32]. All laboratories have external quality assessment control in place.

Follow-up

All PwHA who finished ITI with success (total and partial) or failure are followed for at least one year. FVIII and/or inhibitor assessments are performed every 6 months.

Inhibitor recurrence among tolerant patients

Inhibitor recurrence is defined as any inhibitor titre ≥ 0.6 BU/mL on two or more occasions [24].

Emicizumab prophylaxis

Currently, PwHA and inhibitors who failed ITI are treated with bypassing agents [29]. The Brazilian MoH has approved the use of emicizumab for prophylaxis of PwHA and inhibitors at any age who failed ITI. The product is meant to be available by the end of 2021. Loading doses of 3.0 mg/kg weekly, for four weeks, will be administered subcutaneously, followed by maintenance doses of 1.5 mg/kg weekly or 3.0 mg/kg every two weeks [1, 33].

Patient data

Standardized case report forms with clinical, laboratory, and treatment data are collected from medical files and interviews about different time-points: before, during, and at the end of ITI, and during follow-up until study closure, inhibitor relapse, or emicizumab prophylaxis beginning. The patient data which are collected in the BrazIT Study were depicted on the [Table 1](#).

Blood analyses

Venous blood samples are collected from all PwHA at the inclusion in the study, which can be before starting (Case 1), during (Case 2) or after the end of ITI (Case 3), and at the end of ITI from PwHA included before or during ITI ([Fig 1](#)). For tolerant PwHA whose inhibitor relapses, an additional blood sample is collected at the time of recurrence ([Fig 1](#)). For the ones with indication of emicizumab prophylaxis, blood samples are collected before and at 6 months after starting emicizumab ([Fig 1](#)).

Table 1. Clinical and treatment data collected in the BrazIT Study, using a validated case report form.

Before ITI
HTC, birth date, sex, skin colour, haemophilia diagnosis (date, first and lowest FVIII activity levels), first FVIII infusion (date and reason), inhibitor diagnosis (date and titre), family history of haemophilia and inhibitor, and inhibitor historic peak
During ITI
Dates of ITI start and withdrawal, inhibitor titres immediately before and along the treatment (with dates), venous access type, initial ITI regimen and changes, need of bypassing agent infusion (type and treatment modality), bleeding episodes, and surgical procedures
ITI end
Reason for ITI withdrawal (when this occurred), FVIII activity levels (with dates), inhibitor titres (with dates), duration of ITI, and inhibitor titre and FVIII pharmacokinetics (recovery and half-life), if success
Follow-up after ITI
Dates of start and end of follow-up, treatment modalities and regimens, clotting factor types, inhibitor titres (with dates), bleeding episodes, and surgical procedures
<ul style="list-style-type: none"> • For those who had successful ITI and then relapsed: inhibitor assessment (date and titres) • For those who failed ITI and started emicizumab prophylaxis: emicizumab regimen

FVIII, factor VIII; HTC, haemophilia treatment centre; ITI, immune tolerance induction.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256265.t001>

Venous blood samples are collected in EDTA and citrated tubes, centrifuged for 10 min at 1,500 rpm, and stored at -80°C until analysis. Blood cells from EDTA tubes are used for genetic tests and plasma samples from citrated tubes are used for assessment of immune biomarkers.

Genetic testing is performed only once. Intron 1 and intron 22 inversions in *F8* are performed according to established protocols [34]. The assessment of variants in genes associated with the disease itself or with the immune response is performed by enrichment panels for targeted whole exome sequencing (xGen Exome Research Panel v2, xGen CNV Backbone Panel and xGen Human mtDNA Research Panel kits, IDT, Newark, USA) spanning 34 Mb and 19,433 genes. Sequencing is carried out on the NovaSeq 6000 (Illumina, San Diego, USA) StrandOmics platform, based on the GRCh37/hg19 version of the human genome, is used for bioinformatics analysis.

Immune biomarkers are evaluated at each time point of blood sampling. Specific anti-FVIII IgG1 and IgG4 are detected using in-house ELISA [35]. Plasma concentrations of chemokines (CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES) and cytokines (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN-gamma, and TNF) are measured according to the recommendations of the commercial kits (CBA-Cytometric Bead Array; BD Biosciences, San Jose, USA) [35].

Safety assessments

The study has no therapeutic intervention. The risks involve (a) breach of confidentiality and (b) puncture-site haematomas. To avoid the first, included PwHA are registered on an Excel data sheet as numbers, without their respective names or HTC registries. The Excel file is encrypted, and access is protected by login and password. To avoid haematomas, only health-care professionals with experience in venous puncture to collect blood samples perform blood sampling. Blood is collected from the same access a clotting factor is infused for treatment. Blood sampling is performed before the clotting factor infusion. After venous puncture, soft-to-moderate compression is applied on the puncture site for 5 to 10 min, until no haemorrhage is observed.

There will be no direct benefit for the participants of this study. The results of this study will potentially benefit PwHA and inhibitor in the future, in case it is successful in determining factors and/or biomarkers (predictors) of ITI success and/or failure. This can be of major impact in ITI treatment as long as it could avoid initiation of ITI in PwHA who might fail and support the indication of ITI in the ones who might respond. For the healthcare system, it will likely avoid the waste of time and resources, which could be better applied somewhere else.

Although the BrazIT Study is a non-interventional study, safety concerns related to medicines, blood products, and treatments are reported according to the haemophilia directives and the Brazilian regulation [36–40].

Discussion

About 450 PwHA and inhibitors have been treated with the Brazilian ITI Protocol since 2012. We therefore took advantage of this large, admixed population of PwHA on ITI and initiated the BrazIT Study which aims to evaluate predictors of response to ITI. We plan to include 250 PwHA, which is, to our knowledge, the largest cohort of PwHA and inhibitor under ITI reported to date. During the preparation of this manuscript, a total of 202/250 (80.8%) PwHA had already been included in this study. We plan to close the study inclusion in December 2021, and the PwHA will be followed up until 1 year after the end of ITI.

The methodology of the study is unique because it is designed to collect socio-demographic, clinical, and laboratory data in three time-points during PwHA treatment—before the initiation, during, and at the end of ITI—, and during follow-up after ITI has been finished. Blood samples are also collected at these time-points. Blood cells are used for exome sequencing, including *F8* genotyping. Plasma samples are collected to assess immune biomarkers [9, 41]. We are particularly interested on evaluating whether there is any association between specific immune biomarkers at both genotype and phenotype levels and the outcome of ITI. During follow-up of tolerized PwHA, we are also going to evaluate inhibitor recurrence incidence and risk factors. To our knowledge, this approach has not so far been explored.

The first report of ITI was performed in a 16-year-old patient who received cyclophosphamide, prednisone, and large doses of FVIII and responded clinically to the treatment in a few days [42]. More than 20 years later, the Bonn Protocol was published, which consisted of an intensive FVIII treatment (100–150 IU/kg twice daily), in addition to partially activated prothrombin complex concentrate (50 U/kg twice daily), in case of a bleeding phenotype [13, 14]. Seventy-two PwHA and inhibitors were treated resulting in a success rate of 86.7%, defined by negative inhibitor and normal FVIII half-life [13, 14]. Since then, other ITI protocols have been used worldwide, with different regimens and success rates [9, 10]. Finally, the only clinical trial published to date has found no difference in the response rate between two regimens of ITI: a high-dose FVIII (200 IU/kg/day) and a low-dose FVIII (50 IU/kg 3 times/week) regimen [30]. However, PwHA and inhibitors who received high-dose regimen responded faster and experienced less bleeding events [30]. Therefore, the World Federation of Haemophilia recognizes that the optimal regimen for ITI remains to be defined, and no specific regimen is recommended [1].

The risk of recurrence after successful inhibitor eradication affects the cost-effectiveness of ITI. However, maintaining tolerance appears to be a stable condition, with relapse of the inhibitor not being observed frequently. Relapse rates have varied from 3.8% to 12.5% in some small retrospective series with follow-up periods from 5.0 to 8.5 years [15, 19, 20, 43–45]. One large registry reported relapse of 6/128 (4.7%) tolerant PwHA from 1 to 15 years with a cumulative risk of 15% over 15 years [21]. A multicentre retrospective cohort consisting of 64 tolerant PwHA showed that a recurrent inhibitor titre ≥ 0.6 BU/mL occurred at least once in 19

(29.7%) and more than once in 12 (18.8%), resulting in a probability of any recurrent inhibitor at 1 and 5 years of 12.8% and 32.5%, respectively [24]. Inhibitor recurrence was associated with having received immunomodulation during ITI and FVIII recovery of < 85% at the end of ITI, but not with adherence to with prophylactic FVIII infusion after ITI [24].

For PwHA and inhibitors who do not respond to ITI, increased treatment costs, frequent and difficult-to-treat bleeding, muscle and joint complications, higher mortality, and reduced quality of life are still a dilemma [4–8]. Until recently, the only alternative to avoid bleeding in such cases was prophylaxis with bypassing agents, which usually has an effectiveness up to 72% [29]. Recently, a bispecific monoclonal recombinant antibody that mimics the FVIII activity, without the interference of anti-FVIII inhibitors—emicizumab—was introduced in the haemophilia therapeutics pipeline [46]. Emicizumab is used as a prophylactic regimen and effectively replaces the bypassing agents, requiring a more feasible regimen and administration route [47–49]. In Brazil, it was approved for prophylaxis of PwHA and inhibitors who failed ITI. One of the aims of the BrazIT Study is to evaluate the immune biomarkers profile before and after emicizumab therapy.

The BrazIT Study has several strengths. Firstly, this study comprises the largest cohort of PwHA and inhibitors treated with ITI to date. Only one previous registry included more PwHA and inhibitor and this was the International Immune Tolerance Registry which included 314 patients from 50 HTCs of 12 countries [21]. However, the ITI protocols included in this registry were highly heterogeneous, with FVIII regimen ranging from less than 50 IU/kg/day up to more than 200 IU/kg/day, and 5.1% received steroids [21]. In the BrazIT Study, a unique, national ITI protocol is used, with specific brands of FVIII concentrates. Secondly, although several ITI registries have been published to date, some have small sample size and ITI regimen was heterogeneous in the largest ones [9–11]. Therefore, well designed studies with large population of PwHA and inhibitors focusing on the investigation of factors related with response to ITI (prognostic studies) are still missing. This type of study is strategic for the field, once the identification of predictors of non-response could avoid the burden and costs of ITI in non-responsive patients. Based on prediction of ITI failure, some physicians may argue against initiating ITI, favouring prophylaxis with emicizumab [50]. However, despite the advent of emicizumab as an effective agent to prevent bleeding in PwHA and inhibitors, ITI is still recommended as the first line treatment to eradicate inhibitors [1, 33]. Thirdly, the BrazIT Study is aimed to identify new predictive factors related to ITI response, which includes not only clinical characteristics but also immune and genetic (other than *F8*) biomarkers. The involvement of immune modulators in the biogenesis of inhibitors has been described [51, 52], but, to our concern, this is the first study targeting these biomarkers as potential predictors of ITI outcome. Fourthly, since inhibitor status is evaluated regularly among Brazilian PwHA, this study may determine both recurrence incidence and risk factors for relapse in PwHA who responded to ITI. Considering the lowest ITI success rate reported to date (~60%) [43, 53–55], we expect to evaluate recurrence among at least 150 PwHA. Finally, immune biomarkers profiles before and after emicizumab therapy in PwHA who failed ITI can be assessed for the first time in the literature.

Conclusion

In conclusion, we presented the methodology of the BrazIT Study, which is, to date, the largest cohort of PwHA and inhibitor under ITI using the same protocol. This study is likely to contribute to new data on predictive factors related to ITI response, which could impact on the discovery of potential targets for therapeutics and to individualized treatment.

Acknowledgments

The authors thank the patients, guardians, and all staff from the Haemophilia Treatment Centres for supporting this study.

The BrazilIT Study Group is composed by Dr. Maise Moreira Dias and Dr. Laura Peixoto Magalhaes from FM-UFGM, Dr. Ieda Pinto from HEMOPA, Dr. Daniele Campos Fontes Neves from FHEMERON, Dr. Maria Aline Cerqueira from HEMOPI, Dr. Rosangela Albuquerque Ribeiro from HEMOCE, Dr. Edvis Serafim from HEMONORTE, Dr. Leina Etto from HEMOIBA, Dr. Fabia Michelle Rodrigues de Araujo Callado from HEMOPE, Dr. Andrea Gonçalves de Oliveira from HEMOMINAS, Dr. Monica Hermida Cerqueira from HEMORIO, Dr. Doralice Tan from FAMEMA, Dr. Andrea Aparecida Garcia from Hemocentro de São José do Rio Preto, Dr. Maria do Rosario Ferraz Roberti from HEMOGO, Dr. Claudia Santos Lorenzato from HEMEPAR, Dr. Tania Anegawa from UEL-HEMEPAR, and Dr. Vivian Karla Brognoli Franco from HEMOSC.

Author Contributions

Conceptualization: Suely Meireles Rezende.

Data curation: Ricardo Mesquita Camelo, Daniel Gonçalves Chaves, Luciana Werneck Zuccherato.

Formal analysis: Ricardo Mesquita Camelo, Daniel Gonçalves Chaves, Luciana Werneck Zuccherato.

Funding acquisition: Suely Meireles Rezende.

Writing – original draft: Ricardo Mesquita Camelo, Suely Meireles Rezende.

Writing – review & editing: Ricardo Mesquita Camelo, Daniel Gonçalves Chaves, Luciana Werneck Zuccherato, Suely Meireles Rezende.

References

1. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia*. 2020; 26: 1–158. <https://doi.org/10.1111/hae.14046> PMID: 32744769
2. Keipert C, Drechsel-Bäuerle U, Oberle D, Müller-Olling M, Hilger A. Epidemiological challenges in rare bleeding disorders: Fviii inhibitor incidence in haemophilia a patients—a known issue of unknown origin. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18: 225–243. <https://doi.org/10.3390/ijerph18010225> PMID: 33396748
3. Ananyeva NM, Lee TK, Jain N, Shima M, Saenko EL. Inhibitors in hemophilia A: Advances in elucidation of inhibitory mechanisms and in inhibitor management with bypassing agents. *Semin Thromb Hemost*. 2009; 35: 735–751. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1245106> PMID: 20169510
4. Recht M, Neufeld EJ, Sharma VR, Solem CT, Pickard AS, Gut RZ, et al. Impact of acute bleeding on daily activities of patients with congenital hemophilia with inhibitors and their caregivers and families: Observations from the dosing observational study in hemophilia (DOSE). *Value Heal*. 2014; 17: 744–748. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2014.07.003> PMID: 25236999
5. Walsh CE, Jiménez-Yuste V, Auerswald G, Grancha S, Walsh CE. The burden of inhibitors in haemophilia patients mortality. *Thromb Haemost*. 2016; 116: S10–S17. <http://dx.doi.org/10.1160/TH16-01-0049> PMID: 27528280
6. Rocino A, Franchini M, Coppola A. Treatment and Prevention of Bleeds in Haemophilia Patients with Inhibitors to Factor VIII/X. *J Clin Med*. 2017; 6: 46. <https://doi.org/10.3390/jcm6040046> PMID: 28420167
7. D'Angiolella LS, Cortesi PA, Rocino A, Coppola A, Hassan HJ, Giampaolo A, et al. The socioeconomic burden of patients affected by hemophilia with inhibitors. *Eur J Haematol*. 2018; 101: 435–456. <https://doi.org/10.1111/ejh.13108> PMID: 29889317

8. Messori A. Inhibitors in Hemophilia A: A Pharmacoeconomic Perspective. *Semin Thromb Hemost.* 2018; 44: 561–567. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1612627> PMID: 29220854
9. Schep SJ, Schutgens REG, Fischer K, Boes ML. Review of immune tolerance induction in hemophilia A. *Blood Rev.* 2018; 32: 326–338. <https://doi.org/10.1016/j.bre.2018.02.003> PMID: 29482894
10. Osooli M, Berntorp E. Inhibitors in haemophilia: What have we learned from registries? A systematic review. *J Intern Med.* 2015; 277: 1–15. <https://doi.org/10.1111/joim.12301> PMID: 25169114
11. Nakar C, Shapiro A. Hemophilia A with inhibitor: Immune tolerance induction (ITI) in the mirror of time. *Transfus Apher Sci.* 2019; 58: 578–589. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2019.08.008> PMID: 31447396
12. Nilsson IM, Berntorp E, Zettervall O. Induction of immune tolerance in patients with hemophilia and antibodies to factor VIII by combined treatment with intravenous IgG, cyclophosphamide, and factor VIII. *N Engl J Med.* 1988; 318: 947–950. <https://doi.org/10.1056/NEJM198804143181503> PMID: 3127711
13. Brackmann H, Oldenburg J, Schwaab R. Immune tolerance for the treatment of factor VIII inhibitors—twenty years “Bonn protocol”. *Vox Sang.* 1996; 70: 30–35. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1996.tb01346.x> PMID: 8869466
14. Oldenburg J, Schwaab R, Brackmann HH. Induction of immune tolerance in haemophilia A inhibitor patients by the “Bonn Protocol”: Predictive parameter for therapy duration and outcome. *Vox Sang.* 1999; 77: 49–54. <https://doi.org/10.1159/000056717> PMID: 10529689
15. Mauser-Bunschoten EP, Nieuwenhuis HK, Roosendaal G, Van den Berg HM. Low-dose immune tolerance induction in hemophilia A patients with inhibitors. *Blood.* 1995; 86: 983–988. PMID: 7620189
16. Ter Avest PC, Fischer K, Gouw SC, van Dijk K. Successful low dose immune tolerance induction in severe haemophilia A with inhibitors below 40 Bethesda Units. *Haemophilia.* 2010; 16: 71–79. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2010.02225.x> PMID: 20536988
17. DiMichele D. The North American Immune Tolerance Registry: Contributions to the thirty-year experience with immune tolerance therapy. *Haemophilia.* 2009; 15: 320–328. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2008.01880.x> PMID: 18976249
18. Lenk H. The German National Immune Tolerance Registry, 1997 update. *Vox Sang.* 1999; 77: 28–30. <https://doi.org/10.1159/000056711> PMID: 10529683
19. Coppola A, Margaglione M, Santagostino E, Rocino A, Grandone E, Mannucci PM, et al. Factor VIII gene (F8) mutations as predictors of outcome in immune tolerance induction of hemophilia A patients with high-responding inhibitors. *J Thromb Haemost.* 2009; 7: 1809–1815. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03615.x> PMID: 19740093
20. Haya S, López MF, Aznar JA, Batlle J. Immune tolerance treatment in haemophilia patients with inhibitors: The Spanish registry. *Haemophilia.* 2001; 7: 154–159. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2516.2001.00469.x> PMID: 11260274
21. Mariani G, Kroner B, Miller RT, Ewing NP, Butler R, Morfini M, et al. Immune tolerance in hemophilia with factor VIII inhibitors: Predictors of success. *Haematologica.* 2001; 86: 1186–1193. PMID: 11694405
22. Oldenburg J, Jiménez-Yuste V, Peiró-Jordán R, Aledort LM, Santagostino E. Primary and rescue immune tolerance induction in children and adults: A multicentre international study with a VWF-containing plasma-derived FVIII concentrate. *Haemophilia.* 2014; 20: 83–91. <https://doi.org/10.1111/hae.12263> PMID: 24354480
23. Callaghan MU, Rajpurkar M, Chittr M, Warriar I, Lusher J. Immune tolerance induction in 31 children with haemophilia A: Is ITI less successful in African Americans? *Haemophilia.* 2011; 17: 483–489. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2010.02429.x> PMID: 21118335
24. Antun A, Monahan PE, Manco-Johnson MJ, Callaghan MU, Kanin M, Knoll C, et al. Inhibitor recurrence after immune tolerance induction: A multicenter retrospective cohort study. *J Thromb Haemost.* 2015; 13: 1980–1988. <https://doi.org/10.1111/jth.13143> PMID: 26382916
25. DiMichele DM, Kroner BL, Adair S, Addiego J, Anderson V, Barbosa J, et al. The North American Immune Tolerance Registry: Practices, outcomes, outcome predictors. *Thromb Haemost.* 2002; 87: 52–57. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1612943> PMID: 11848456
26. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção a Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Imunotolerância: protocolo de uso de indução de imunotolerância para pacientes com hemofilia A e inibidor. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 71 p.: il. 2015. <http://library1.nida.ac.tl/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
27. Rezende SM, Pinheiro K, Caram C, Genovez G, Barca D. Registry of inherited coagulopathies in Brazil: First report. *Haemophilia.* 2009; 15: 142–149. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2008.01907.x> PMID: 18976255
28. Rezende SM, Jardim LL, Magalhães VL, Melo HT, Araujo JPB, Genovez G. Building the National Program of Inherited Bleeding Disorders in Brazil. *Blood Adv.* 2019; 3: 48–50. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019GS121559> PMID: 31809542

29. López-Fernández MF, Altisent Roca C, Álvarez-Román MT, Canaro Hirnyk MI, Mingot-Castellano ME, Jiménez-Yuste V, et al. Spanish consensus guidelines on prophylaxis with bypassing agents in patients with haemophilia and inhibitors. *Thromb Haemost*. 2016; 115: 872–895. <https://doi.org/10.1160/TH15-07-0568> PMID: 26842562
30. Hay CRM, DiMichele DM. The principal results of the International Immune Tolerance Study: A randomized dose comparison. *Blood*. 2012; 119: 1335–1344. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-369132> PMID: 22101900
31. Adcock DM, Strandberg K, Shima M, Marlar RA. Advantages, disadvantages and optimization of one-stage and chromogenic factor activity assays in haemophilia A and B. *Int J Lab Hematol*. 2018; 40: 621–629. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12877> PMID: 29979821
32. Adcock DM, Favalaro EJ. Pearls and pitfalls in factor inhibitor assays. *Int J Lab Hematol*. 2015; 37: 52–60. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12352> PMID: 25976961
33. Carcao M, Escuriola-Ettingshausen C, Santagostino E, Oldenburg J, Liesner R, Nolan B, et al. The changing face of immune tolerance induction in haemophilia A with the advent of emicizumab. *Haemophilia*. 2019; 25: 676–684. <https://doi.org/10.1111/hae.13762> PMID: 31033112
34. Rossetti LC, Radic CP, Larripa IB, De Brasi CD. Developing a new generation of tests for genotyping hemophilia-causative rearrangements involving int2h and int1h hotspots in the factor VIII gene. *J Thromb Haemost*. 2008; 6: 830–836. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2008.02926.x> PMID: 18284600
35. Jardim LL, Chaves DG, Silveira-Cassette ACO, Simões e Silva AC, Santana MP, Cerqueira MH, et al. Immune status of patients with haemophilia A before exposure to factor VIII: first results from the HEM-FIL study. *Br J Haematol*. 2017; 178: 971–978. <https://doi.org/10.1111/bjh.14799> PMID: 28836262
36. Moscou K, Kohler JC, MaGahan A. Governance and pharmacovigilance in Brazil: A scoping review. *J Pharm Policy Pract*. 2016; 9: 1–15.
37. Mota DM, Vigo Á, de S Kuchenbecker R. Evolution and key elements of the Brazilian pharmacovigilance system: A scoping review beginning with the creation of the Brazilian health regulatory agency. *Cad Saude Publica*. 2018; 34: 1–19. <https://doi.org/10.1590/0102-311x00000218>
38. Mota DM, Vigo Á, de S Kuchenbecker R. Evaluation of the performance of the Brazilian notification system for health surveillance: a tool in Brazil's pharmacovigilance system. *Cienc e Saude Coletiva*. 2020; 25: 1955–1966.
39. Weinstein M, Makris M, Ludlam CA. Biovigilance and pharmacovigilance for haemophilia. *Haemophilia*. 2010; 16: 17–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2010.02288.x> PMID: 20590851
40. Ingerslev J. Pharmacovigilance studies in haemophilia. *Haemophilia*. 2007; 13: 121–123. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2006.01419.x> PMID: 17286763
41. Varthaman A, Lacroix-Desmazes S. Pathogenic immune response to therapeutic factor VIII: exacerbated response or failed induction of tolerance? *Haematologica*. 2019; 104: 236–244. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.206383> PMID: 30514798
42. Stein RS, Colman RW. Hemophilia with Factor VIII Inhibitor—Elimination of Anamnestic Response. *Ann Intern Med*. 1973; 79: 84–87. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-79-1-84> PMID: 4124485
43. Kucharski W, Scharf R, Nowak T. Immune tolerance induction in haemophiliacs with inhibitor to FVIII: High- or low-dose programme. *Haemophilia*. 1996; 2: 224–228. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.1996.tb00141.x> PMID: 27214361
44. Battle J, López MF, Brackmann HH, Gaillard S, Goudemand J, Humbert J, et al. Induction of immune tolerance with recombinant factor VIII in haemophilia A patients with inhibitors. *Haemophilia*. 1999; 5: 431–435. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2516.1999.00354.x> PMID: 10583531
45. Unuvar A, Warriar I, Lusher JM. Immune tolerance induction in the treatment of paediatric haemophilia A patients with factor VIII inhibitors. *Haemophilia*. 2000; 6: 150–157. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2516.2000.00379.x> PMID: 10792472
46. Lenting PJ, Denis CV., Christophe OD. Emicizumab, a bispecific antibody recognizing coagulation factors IX and X: How does it actually compare to factor VIII? *Blood*. 2017; 130: 2463–2468. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-08-801662> PMID: 29042366
47. McCary I, Guelcher C, Kuhn J, Butler R, Massey G, Guerrero MF, et al. Real-world use of emicizumab in patients with haemophilia A: Bleeding outcomes and surgical procedures. *Haemophilia*. 2020; 26: 631–636. <https://doi.org/10.1111/hae.14005> PMID: 32311809
48. Ebbert PT, Xavier F, Seaman CD, Ragni MV. Emicizumab prophylaxis in patients with haemophilia A with and without inhibitors. *Haemophilia*. 2020; 26: 41–46. <https://doi.org/10.1111/hae.13877> PMID: 31746522
49. Barg AA, Livnat T, Budnik I, Avishai E, Brutman-Barazani T, Tamarin I, et al. Emicizumab treatment and monitoring in a paediatric cohort: real-world data. *Br J Haematol*. 2020; 191: 282–290. <https://doi.org/10.1111/bjh.16964> PMID: 32656767

50. Carcao M, Mancuso ME, Young G, Jiménez-Yuste V. Key questions in the new hemophilia era: update on concomitant use of FVIII and emicizumab in hemophilia A patients with inhibitors. *Expert Rev Hematol*. 2021; 00: 1–6. <https://doi.org/10.1080/17474086.2021.1875817> PMID: 33499681
51. De Oliveira LMM, Jardim LL, Santana MAP, Cerqueira MH, Lorenzato CS, Franco VKB, et al. Effect of the First Factor VIII Infusions on Immunological Biomarkers in Previously Untreated Patients with Hemophilia A from the HEMFIL Study. *Thromb Haemost*. 2021. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1722353> PMID: 33423244
52. Peyvandi F, Miri S, Bucciarelli P, Valsecchi C, Schiavone L, Boscarino M, et al. IgG subclasses as biomarkers for persistence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe haemophilia A. *Br J Haematol*. 2021; 192: 621–625. <https://doi.org/10.1111/bjh.17249> PMID: 33316077
53. Berntorp E, Astermark J, Carlborg E. Immune tolerance induction and the treatment of hemophilia. Malmö protocol update. *Haematologica*. 2000; 85: 48–51. PMID: 11187871
54. Zanon E, Pasca S, Pollio B, Santagostino E, Santoro C, Rocino A, et al. Immune tolerance induction with moroctocog - alpha (Refacto/Refacto AF) in a population of Italian haemophilia A patients with high - titre inhibitors: Data from REF.IT Registry. *Haemophilia*. 2019; 25: 1003–1010. <https://doi.org/10.1111/hae.13859> PMID: 31603594
55. Kurth M, Puetz J, Kouides P, Sanders J, Sexauer C, Bernstein J, et al. The use of a single von Willebrand factor-containing, plasma-derived FVIII product in hemophilia A immune tolerance induction: The US experience. *J Thromb Haemost*. 2011; 9: 2229–2234. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04493.x> PMID: 21883884

6.2 Artigo 2 (publicado)

Camelo RM, Dias MM, Caram-Deelder C, Gouw S, de Magalhães LP, Zuccherato LW, Jardim LL, de Oliveira AG, de Albuquerque Ribeiro R, Franco VKB, do Rosário Ferraz Roberti M, de Araújo Callado FMR, Etto LY, de Cerqueira MAF, Cerqueira MH, Lorenzato CS, de Souza IS, Serafim ÉSS, Garcia AA, Aneqawa TH, Neves DCF, Tan DM, van der Bom J, Rezende SM; Brazilian Immune Tolerance (BrazIT) Study group. Time between inhibitor detection and start of immune tolerance induction: Association with outcome in the BrazIT study. *J Thromb Haemost.* 2022 Nov;20(11):2526-2537. doi: 10.1111/jth.15878. Epub 2022 Sep 26. PMID: 36102352.

6.2.1 Resumo

Introdução: A indução de imunotolerância (IT) é o tratamento de escolha para a erradicação de aloanticorpos neutralizantes (inibidores) anti-fator VIII (FVIII) em pessoas com hemofilia A hereditária e inibidor de alta resposta (PcHA-iAR). A associação entre o resultado da IT e o tempo decorrido entre a detecção do inibidor e o início da IT (Δt_{ini-IT}) é discutível. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar essa associação numa grande coorte de PwHA-HRi grave. **Métodos:** PcHA-iAR grave (nível de atividade do FVIII < 1%) em IT (n = 142) foram incluídos em 15 centros de tratamento de hemofilia. PcHA-iAR foram tratadas de acordo com o protocolo brasileiro do IT. Os resultados da IT foram definidos como sucesso (ou seja, responsividade recuperada ao FVIII exógeno) e falha (ou seja, não responsividade ao FVIII exógeno e necessidade de agentes de *bypass* para controlar o sangramento). **Resultados:** As medianas de idades à detecção do inibidor e ao início da IT foram de 3,2 anos [intervalo interquartil (IIR), 1,6-8,1] e 6,9 anos [IIR, 2,6-20,1], respectivamente. PcHA-iAR foram estratificadas de acordo com os quartis do Δt_{ini-IT} : primeiro (0,0-0,6 ano), segundo (0,6-1,7 ano), terceiro (1,7-9,2 anos) e quarto (9,2-24,5 anos) quartis. A taxa de sucesso geral foi de 65,5% (93/142), sem diferença entre o primeiro, segundo, terceiro e quarto quartis (62,9%, 69,4%, 58,3% e 71,4%, respectivamente), mesmo após o ajuste para potenciais fatores de confusão. **Conclusão:** Em conclusão, não encontramos associação entre o desfecho Δt_{ini-IT} e IT em PcHA-iAR, quando os inibidores estavam presentes por mais de seis meses.



Received: 13 May 2022 | Accepted: 12 September 2022

DOI: 10.1111/jth.15878



ORIGINAL ARTICLE

Time between inhibitor detection and start of immune tolerance induction: Association with outcome in the BrazIT study

Ricardo Mesquita Camelo^{1,2} | Maíse Moreira Dias¹ | Camila Caram-Deelder^{2,3} |
 Samantha Gouw⁴ | Laura Peixoto de Magalhães¹ | Luciana Werneck Zuccherato¹ |
 Letícia Lemos Jardim^{1,2} | Andrea Gonçalves de Oliveira⁵ |
 Rosângela de Albuquerque Ribeiro^{6,7} | Vivian Karla Brognoli Franco⁸ |
 Maria do Rosário Ferraz Roberti^{9,10} | Fábía Michelle Rodrigues de Araújo Callado¹¹ |
 Leina Yukari Etto^{12,13} | Maria Aline Ferreira de Cerqueira¹⁴ |
 Mônica Hermida Cerqueira¹⁵ | Cláudia Santos Lorenzato¹⁶ |
 Ieda Solange de Souza Pinto^{17,18} | Édvis Santos Soares Serafim^{19,20} |
 Andrea Aparecida Garcia^{21,22} | Tânia Hissa Anegawa^{23,24} |
 Daniele Campos Fontes Neves^{25,26} | Doralice Marvulle Tan²⁷ |
 Johanna van der Bom² | Suely Meireles Rezende¹ | on behalf of the Brazilian Immune
 Tolerance (BrazIT) Study group

¹Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil²Department of Clinical Epidemiology, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands³Center of Clinical Transfusion Research, Sanquin Research, Leiden, The Netherlands⁴Amsterdam UMC, University of Amsterdam, Department of Pediatric Hematology, Amsterdam, the Netherlands⁵Fundação HEMOMINAS, Belo Horizonte, Brazil⁶Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, Brazil⁷Hospital Universitário Walter Cantídeo, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brazil⁸Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC), Florianópolis, Brazil⁹Hemocentro de Goiás (HEMOGO), Goiânia, Brazil¹⁰Faculty of Medicine, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brazil¹¹Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, Brazil¹²Hemocentro da Paraíba (HEMOÍBA), João Pessoa, Brazil¹³Department of Internal Medicine, Center of Medical Sciences, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil¹⁴Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí (HEMOPI), Teresina, Brazil¹⁵Instituto de Hematologia do Estado do Rio de Janeiro (HEMORIO), Rio de Janeiro, Brazil¹⁶Coagulopathy Clinic, Hemocentro do Paraná (HEMPAR), Curitiba, Brazil¹⁷Department of Clinical Haematology, Centro de Hematologia e Hemoterapia do Pará (HEMOPA), Belém, Brazil¹⁸Universitary Hospital João de Barros Barreto, Universidade Federal do Pará, Belém, Brazil¹⁹Hemocentro Dalton Cunha (HEMONORTE), Natal, Brazil²⁰Liga Mossoroense de Combate ao Câncer, Mossoró, Brazil²¹Centro de Sangue de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, Brazil

Manuscript handled by: Riitta Lassila Final decision: 12-Sep-2022

© 2022 International Society on Thrombosis and Haemostasis.

²²Fundação Faculdade Regional de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, Brazil

²³Centro de Hematologia Regional de Londrina (HEMEPAR Londrina), Londrina, Brazil

²⁴Faculty of Medicine, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brazil

²⁵Fundação Hemocentro de Rondônia (FHMERON), Porto Velho, Brazil

²⁶Department of Medicine, Universidade de Rondônia, Porto Velho, Brazil

²⁷Department of Paediatric Onco-haematology, Faculdade de Medicina de Marília, Marília, Brazil

Correspondence

Suely Meireles Rezende, MD, PhD,
Department of Internal Medicine, Faculty
of Medicine, Universidade Federal de
Minas Gerais, Avenida Alfredo Balena,
190 2 floor, room 255, Belo Horizonte,
30130-100, Phone: +55 31 34099933,
Email: srezen@ufmg.br.

Funding information

Brazilian National Health Fund, Grant/
Award Number: 172179850001-15-006;
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico, Grant/Award
Number: 420008/2018-7; Ministry of
Education; National Health Fund

Abstract

Background: Immune tolerance induction (ITI) is the treatment of choice for eradication of anti-factor VIII (FVIII) neutralizing alloantibodies (inhibitors) in people with inherited hemophilia A and high-responding inhibitor (PwHA-HRi). The association between ITI outcome and time elapsed between inhibitor detection and start of ITI ($\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$) is debatable.

Objective: The aim of this study was to evaluate this association among a large cohort of severe PwHA-HRi.

Methods: Severe (factor VIII activity level <1%) PwHA-HRi on ITI (n = 142) were enrolled in 15 hemophilia treatment centers. PwHA-HRi were treated according to the Brazilian ITI Protocol. ITI outcomes were defined as success (i.e., recovered responsiveness to exogenous FVIII) and failure (i.e., no responsiveness to exogenous FVIII and requirement of bypassing agents to control bleeding).

Results: Median ages at inhibitor detection and at ITI start were 3.2 years (interquartile range [IQR], 1.6–8.1) and 6.9 years [IQR, 2.6–20.1], respectively. PwHA-HRi were stratified according to $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ quartiles: first (0.0–0.6 year), second (>0.6–1.7 year), third (>1.7–9.2 years), and fourth quartile (>9.2–24.5 years). The overall success rate was 65.5% (93/142), with no difference among first, second, third, and fourth quartiles (62.9%, 69.4%, 58.3%, and 71.4%, respectively) even after adjusting the analyses for potential confounders.

Conclusion: In conclusion, delayed ITI start is not associated with failure of ITI in PwHA-HRi. Therefore, ITI should be offered for these patients, regardless of the time elapsed between the detection of inhibitor and the ITI start.

KEY WORDS

hemophilia A, immune tolerance induction, inhibitor, outcome, risk factor

1 | INTRODUCTION

Hemophilia A (HA) is a rare bleeding disorder caused by reduced or absent clotting factor VIII (FVIII) activity due to mutation in its coding gene (*F8*). [1] FVIII replacement is required lifelong to treat bleeding, especially in severe cases (FVIII activity below 0.01 international units [IU]/mL). [1] Besides that, up to 44% of people with HA (PwHA) may develop neutralizing antibodies against exogenous FVIII (inhibitors). [2] The presence of inhibitors predispose PwHA to severe bleeding, [3] and increased morbidity and mortality. [4,5] The treatment of choice for persistent, high-responding inhibitors is immune tolerance induction (ITI), which consists of frequent and long-term infusions of FVIII. [1] Success rates among different ITI regimens range from 60%–90%. [6]

Essentials

- It is not clear whether immune tolerance induction (ITI) has a higher success rate if started soon after inhibitor detection.
- We have evaluated the role of time between inhibitor detection and ITI start on ITI outcome.
- After adjustments, different strata between time and ITI start did not influence ITI outcome.
- Delayed ITI start is not associated with ITI failure and should be offered regardless of the duration of inhibitor.

Since the first ITI protocol proposed in the 1970s, [7] different ITI regimens and factors related to outcome of ITI were identified from many registries. [8–14] Factors reported to be associated with successful ITI are a young age at ITI start, [8] adherence to infusion frequency, [9,10] lower historical peak titer, [8,11–13] lower inhibitor titer immediately before ITI, [8,11,12,14] lower peak titer during ITI, [13,14] and the type of *F8* mutations. [12] It is not clear whether time between inhibitor diagnosis and ITI start influences the outcome of ITI. A recent North American study with 58 PwHA suggested that ITI started within 1 month of inhibitor diagnosis was associated with a high probability of successful ITI outcome, regardless of other prognostic factors. [15] However, the association between ITI outcome and the duration between inhibitor development and start of ITI may have been confounded by other determinants not adjusted for in the study.

In Brazil, ITI was first offered as a public policy for PwHA in 2011. [16] Since then, about 500 PwHA and inhibitors have initiated ITI, regardless of the presence of good or bad risk factors. By taking advantage of this large number of PwHA on ITI, we investigated a subset of this population composed by PwHA and high-responding inhibitors (PwHA-HRi). Our question was directed to whether the time elapsed between the detection of inhibitor and the start of ITI ($\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$) influenced ITI outcome.

2 | METHODS

2.1 | Study design

The Brazilian Immune Tolerance (BrazIT) is a cohort study aimed at evaluating factors related to the outcome of ITI. The study methodology is reported in detail elsewhere. [17]

2.2 | Setting

A total of 15 hemophilia treatment centers (HTCs) located at 13 Brazilian states from all 5 Brazilian regions participated in the BrazIT Study. The Brazilian protocol for ITI has been proposed by the Ministry of Health (MoH). The inclusion of PwHA-HRi on ITI is under the responsibility of the physicians at each HTC. At follow-up visits, clinical and laboratory evaluations are performed. Local researchers invited PwHA-HRi to participate in the study during their consultation, when blood samples and clinical data were collected using a standardized case report form.

Patients were enrolled from June 1, 2016 to January 18, 2022. Inclusion criteria for the current analyses consisted of severe PwHA-HRi who have finished ITI. There were no exclusion criteria. PwHA-HRi were included at any time of ITI; that is, before start, during, or after the end of ITI. Only the first ITI treatment was considered for the analysis. All included PwHA/their guardians signed the consent form. The study was approved by the ethical

committees of the HTC and Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE 52812415.8.0000.5149, Apr/15th/2016), which coordinated the study. All included patients or their guardians signed a consent form. Individual participant data will not be shared. For original data, please contact the corresponding author.

2.3 | Measurements and definitions

General patient data consisted of date of birth, sex, and skin color. HA was defined as FVIII activity below 0.40 IU/mL. [1] The lowest plasma FVIII activity before inhibitor development was considered to classify hemophilia severity. HA was classified as severe, moderate, and mild, if FVIII activity was below 0.01 IU/mL, between 0.01 and 0.05 IU/mL, and above 0.05 IU/mL, respectively. [1,18]

Inhibitor positivity was defined if two measurements yielded titer of 0.6 BU (Bethesda unit)/mL or above by a Nijmegen-modified Bethesda assay at least 2 weeks apart. [1,18] Date of inhibitor diagnosis corresponded to the second positive inhibitor test. Any lifelong inhibitor titer 5.0 BU/mL or above classified the inhibitor as a HR. [1,18] We collected data on the highest inhibitor titer before ITI (historic peak), inhibitor titer immediately before ITI start, and the highest inhibitor titer during ITI, start, and end dates of ITI.

For ITI treatment, FVIII concentrates were either plasma-derived FVIII (pdFVIII; Hemofil [Takeda] or Octavi® SDOptimum [Octapharma]) or recombinant FVIII (rFVIII; Advate [Takeda]). A central venous access device was inserted when the patient required this access for infusion of clotting factor. Bypassing agents were used either as episodic or prophylactic treatments. [19] The occurrence of bleeding episodes and the need for replacement with clotting factors were reported at each medical visit. Annualized bleeding rate (ABR) was calculated as the quotient between total treated bleeding episodes during ITI and the duration of the treatment. [20]

We classified the *F8* mutations according to the high- or low-risk of inhibitor development. [21] Briefly, all null mutations were considered as high-risk mutations (i.e., those mutations that abrogate the FVIII activity, such as inversion of intron 1 [Inv1] or 22 [Inv22], nonsense, frameshift mutations, large deletions, and insertions); the remaining were considered low-risk mutations. [21] All patients with Inv1 or Inv22 in *F8* were classified as severe, [22] regardless of FVIII activity.

Using the reported dates, we calculated the age at diagnosis of HA, at inhibitor diagnosis, and at ITI start. We also calculated the intervals between HA diagnosis and inhibitor detection, between the inhibitor detection and the ITI start ($\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$), and between ITI start and end. We considered completed ITI if treatment resulted in success or failure. ITI duration lasted up to 37 months.

To analyze $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$, we stratified the variable considering three different cut-offs: (a) quartile ranges, (b) literature-based, [8,15] and (c) intuitive cut-offs. We performed such analysis with

different cut-offs because there is no consensus about the best time ITI should be started to reach a successful outcome. For the first case, the quartiles were obtained by dividing the number of patients into four in ascending order of $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$. This resulted in four groups with similar number of PwHA-HRi in each group. For the literature-based cut-offs, we used two different periods reported in the literature. [8,15] Nakar et al. divided the $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ into three groups: less than 1 month, between 1 and 6 months, and more than 6 months. [15] Mariani et al. suggested by univariate analysis that a delay of 5 years or more resulted in a worse ITI outcome. [8] We then chose 6 months and 5 years as the literature-based cut-off values. Finally, we arbitrarily chose intuitive cut-off values, using round time points of 1, 5, and 10 years. For all time stratification divisions, we considered calendar years, that is, 365 days in non-leap years and 366 days in leap years. Any 1 day above a period was considered the next period; that is, 0.6 year and 1 day was added to the following period.

2.4 | Immune tolerance induction

The ITI protocol for PwHA was first published by the Brazilian MoH in 2010 and was updated in 2014/2015. [16] Inclusion criteria were severe PwHA-HRi who demanded use of bypassing agents (activated recombinant factor VII [rFVIIa] or partially activated prothrombin complex concentrates) for their treatment. According to the MoH recommendations, ITI should ideally start when inhibitor titer is below 10 BU/mL. Otherwise, PwHA-HRi were exclusively treated with rFVIIa for a maximum of 3 months as an attempt to decrease the inhibitor titer. After 3 months, ITI was started regardless of the inhibitor titer.

ITI was performed with the FVIII product against which the patient developed the inhibitor, either pdFVIII or rFVIII. All patients were recommended to start ITI at low-dose FVIII (50 IU/kg intravenously three times weekly). In the absence of a decline in inhibitor titer of at least 20% (after reaching the maximum peak since the beginning of ITI) in each period of 6 months, the regimen was increased to high-dose FVIII (100 IU/kg intravenously daily), or changed to pd-FVIII, if initial product used was rFVIII.

2.5 | Follow-up

Patients were followed every two months. Bleeding episodes were treated with bypassing agents (if unresponsive to FVIII) or FVIII concentrate (generally if inhibitor titer was 3.0 BU/mL or lower), at the physician's discretion. Prophylaxis with bypassing agents was recommended for patients with a bleeding phenotype. ITI was halted if (a) physician judged patient as non-adherent to treatment, (b) patient/parents decided to withdraw, (c) patient died, or (d) any outcome was reached (success or failure). For the current analysis, we included only PwHA-HRi who finished ITI.

2.6 | Missing data

Missing data were excluded from the analysis. For clarity, the number of missing data for each variable analyzed is shown in Table 1.

2.7 | Study outcomes

The ITI outcome was defined according to Hay and DiMichele and Valentino et al. [23,24] In brief, successful tolerance was defined as a persistently negative inhibitor titer (<0.6 BU/mL), FVIII recovery $\geq 66\%$ of expected, and FVIII half-life ≥ 6 hours. Partial response was defined as a negative inhibitor titer but persistently abnormal FVIII recovery or half-life without an anamnestic response after 33 months of ITI. In this case, there is clinical response to FVIII replacement. Failure was defined as an inhibitor titer of 5.0 BU/mL or higher after 33 months of ITI treatment, without clinical response to FVIII replacement.

2.8 | Gene mutation analysis

Whole blood was collected from peripheral veins in EDTA-containing tubes. The detection of the Inv1 and Inv22 were performed according to established techniques. [25,26] Exome sequencing was performed by using the xGen Exome Research Panel v2 (Illumina) according to the manufacturer's instructions.

2.9 | Statistical analyses

Quantitative variables were expressed as medians and interquartile range (IQR). Categorical variables were presented as number and relative frequencies in percentages. Univariable logistic regression analyses (odds ratio [OR] and 95% confidence interval [95% CI]) were performed to compare results between ITI success and failure groups. Multivariable logistic regression analyses (OR and 95% CI) were performed to adjust the association between $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and ITI outcome (success) for potential confounding factors, according to predefined direct acyclic graphs.

The intervals of $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ were then divided into quartiles. Differences among medians were analyzed by the Kruskal-Wallis *H* test (among three or more groups) and differences among relative frequencies were analyzed by the Pearson χ^2 test. Two other classifications of $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ were used: literature-based and intuitive cut-offs. Relative risk (RR) with 95% CI were calculated for $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ at each of the three different cut-offs. Kaplan-Meier curves and Mantel-Cox log-rank tests were used to evaluate the success rate over time for each of the three different cut-offs.

Cox regression analyses (hazard ratio [HR] and 95% CI) were performed to evaluate the effect of each predefined variable on the success rate over time. In these analyses, time was defined as time in treatment, that is, from start of ITI to success. All the analyses

TABLE 1 Characteristics of people with severe hemophilia A and high-responding inhibitor who completed immune tolerance induction according to the outcome

Characteristic	Total (n = 142)	Missing	Success (n = 93)	Failure (n = 49)	p
Patient characteristics					
White, n (%)	74 (52.1%)	0	47 (50.5%)	27 (55.1%)	0.605
Patient age at hemophilia A diagnosis, in years, median [IQR]	0.9 [0.5–1.4]	7	0.9 [0.4–1.5]	0.9 [0.6–1.3]	0.852
Inversions of introns 1 or 22, n (%)	65 (54.2%)	22	51 (66.2%)	14 (32.6%)	<0.001
High risk F8 mutation, n (%)	107 (92.2%)	26	68 (89.5%)	39 (97.5%)	0.158
Inhibitor characteristics					
Patient age at inhibitor diagnosis, in years, median [IQR]	3.2 [1.6–8.1]	0	2.8 [1.7–7.5]	3.7 [1.5–9.3]	0.422
Interval between diagnosis of hemophilia A and inhibitor development, in years, median [IQR]	1.6 [0.6–6.3]	7	1.4 [0.7–5.6]	2.7 [0.5–6.3]	0.388
Historic inhibitor peak, in BU/mL, median [IQR]	45.0 [20.0–129.0]	1	38.4 [15.6–66.1]	92.9 [37.5–470.0]	<0.001
Inhibitor titer immediately before ITI, in BU/mL, median [IQR]	6.0 [2.9–12.9]	1	4.2 [2.1–8.3]	13.6 [6.0–53.2]	0.001
Patient age at ITI start, in years, median [IQR]	6.9 [2.6–20.1]	0	6.7 [2.6–20.4]	7.3 [2.2–20.0]	0.858
Interval between inhibitor diagnosis and ITI start, in years, median [IQR]	1.7 [0.7–9.3]	0	1.7 [0.7–11.3]	1.7 [0.6–6.5]	0.298
ITI characteristics					
Central venous access for ITI, n (%)	10 (7.1%)	1	5 (5.4%)	5 (10.2%)	0.301
pdFVIII as first ITI treatment, n (%)	84 (60.0%)	2	51 (56.0%)	33 (67.3%)	0.194
Need for intensification of treatment, n (%)	60 (42.9%)	2	20 (22.0%)	40 (81.6%)	<0.001
Need for prophylaxis with bypassing agent during ITI, n (%)	92 (66.7%)	4	53 (58.2%)	39 (83.0%)	0.005
Surgery during ITI, n (%)	27 (19.4%)	3	18 (20.0%)	9 (18.4%)	0.816
Annualized bleeding rate during ITI, in bleeding/year, median [IQR]	3.3 [1.9–6.8]	10	2.8 [1.7–4.7]	5.9 [2.6–10.7]	0.009
Inhibitor peak during ITI, in BU/mL, median [IQR]	29.6 [6.2–160.0]	4	10.0 [3.8–42.0]	179.0 [58.4–640.0]	0.023
ITI duration, in years, median [IQR]	2.6 [1.8–3.1]	2	2.2 [1.5–2.8]	2.9 [2.6–3.5]	<0.001

p-values were calculated by univariable logistic regression analysis. Abbreviations: BU, Bethesda unit; ITI, immune tolerance induction; IQR, interquartile range; pdFVIII, plasma-derived factor VIII.

were performed using SPSS® Statistical software, version 26 (IBM) and Stata (StataCorp. 2021, Stata Statistical Software Release 17).

3 | RESULTS

3.1 | Population

We enrolled 142/162 (88%) PwHA-HRi who had completed ITI (Table 1, Figure S1 in supporting information). Median ages at HA diagnosis and inhibitor detection were 0.9 year (IQR, 0.5–1.4) and 3.2 years (IQR, 1.6–8.1), respectively (Table 1). The median $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ among PwHA-HRi was 1.7 years (IQR, 0.7–9.3), ranging from 0.0 to 24.5 years (Table 1 and Figure 1). A total of three PwHA-HRi had $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ of 1 month or less.

3.2 | Outcome of immune tolerance induction

The success rate among PwHA-HRi was 65.5% (Table 1). By univariable analyses, PwHA-HRi who failed ITI had a higher historic inhibitor

peak than the ones who experienced successful ITI (median, 38.4 vs. 92.9 BU/mL; $p < 0.001$; Table 1). Furthermore, PwHA-HRi who failed ITI had a higher inhibitor titer immediately before ITI (median, 4.2 vs. 13.6 BU/mL; $p = 0.001$) and a higher inhibitor peak during ITI (median, 10.0 vs. 179.0 BU/mL; $p = 0.023$), compared to PwHA-HRi who had successful ITI, respectively (Table 1). Finally, PwHA-HRi who eventually failed ITI were more likely to need intensification of the ITI regimen, to demand prophylaxis with bypassing agents during ITI, have a higher ABR, and a longer duration of ITI compared to individuals who had success (Table 1).

3.3 | Evaluation of $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ on outcome of immune tolerance treatment

Median $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ was 1.7 years (IQR, 0.7–9.3), and was similar between PwHA-HRi who failed and had success on ITI (OR 1.029 [95% CI, 0.975–1.086]; Table 1). PwHA-HRi were stratified according to $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ quartiles (range): first (0.0–0.6 year), second (>0.6–1.7 year), third (>1.7–9.2 years), and fourth quartile (>9.2–24.5 years; Table 2). There were differences among quartiles (medians for first, second,

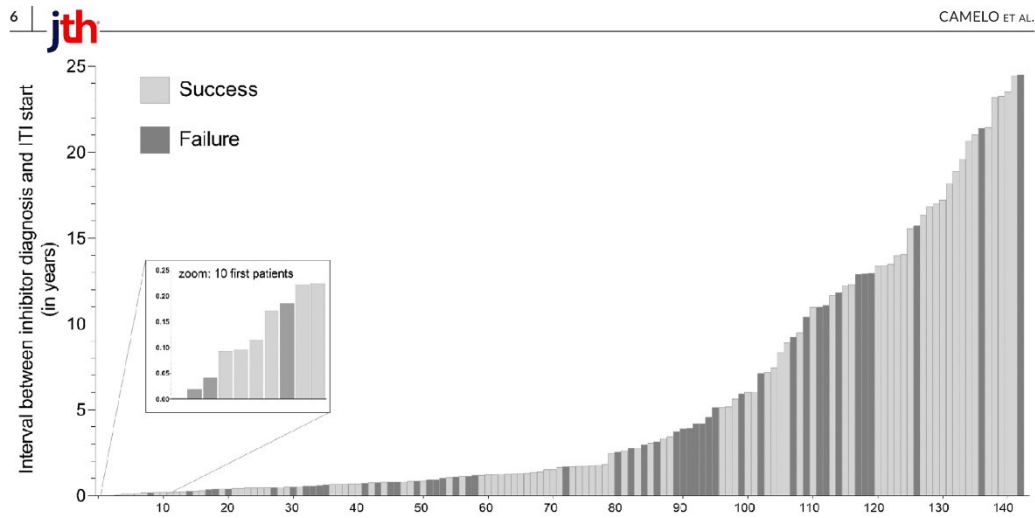


FIGURE 1 Outcome of immune tolerance induction (ITI) according to the interval between inhibitor diagnosis and ITI start. In X axis, each bar represents one of the 142 patients ordered by increasing time interval (in years) between inhibitor diagnosis and start of immune tolerance induction. The height of the bar represents the time interval between inhibitor diagnosis and ITI start. ITI outcomes are represented as black for successful ITI and gray for failure. The first 10 patients were depicted in the zoom window, to show the results more clearly

third, and fourth quartiles, respectively) for patient age at inhibitor diagnosis (1.7, 1.9, 4.5, and 7.8 years), patient age at ITI start (2.0, 3.0, 8.9, and 24.4 years), the historic inhibitor peak (40.0, 41.3, 36.7, and 91.3 BU/mL), and the inhibitor titer immediately before ITI among $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ (12.0, 4.6, 4.5, and 5.2 BU/mL). The overall success rate ranged from 58.3% to 71.4% (Table 2).

Multivariable analyses were performed to quantify the association between continuous $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and ITI success independent of other predictors of success (Table 3). After adjustment for all predefined confounders, that is, pdFVIII as first treatment, age at ITI start, historic peak, and inhibitor titer immediately before ITI start, the OR was 1.14 (95% CI, 1.02–1.28).

When $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ was stratified into literature intervals, the success rates ranged from 59.1% to 71.4%. This, again, was without a trend across the categories (Table 4). Finally, the intuitive cut-offs chosen by the authors of this study associated with ITI success rates between 61.5% and 71.4%, resulting again in no difference in the ITI success rate (Table 4).

Kaplan–Meier curves followed by log-rank test did not show a clear difference of $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ on the ITI outcome (Figure 2). Cox regression analyses using the same predefined confounders resulted in HR (95% CI) similar to the previous logistic-regression analyses (Tables 1 and 5).

4 | DISCUSSION

The BrazilT study aimed to evaluate the determinants of ITI outcome in PwHA. One of the most debated predictors of ITI outcome is

$\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$. Therefore, in this current analysis, we investigated the effect of $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ on ITI outcome by studying a large cohort of PwHA-HRI who were treated with a single ITI protocol, and the same outcome criteria. We did not find an association between $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and ITI outcome, even after adjustment for potential confounders. ITI, using a low-dose regimen, had an overall success rate of 65.5% in PwHA-HRI.

Several studies investigated the association between $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and ITI outcome and reported conflicting results. [8,9,11–15,27–32] Only two studies found an association between $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and ITI outcome. [8,13] The largest ITI registry-based studies published to date reported conflicting results about the association between $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and the outcome of ITI. [8,13] The multicenter International Immune Tolerance Study included 227 PwHA and inhibitors who were treated between 1974 and 1998 with a success rate of 70.9%. [8] Although treatment regimens were determined by the treating physicians, the outcomes were evaluated according to the same criteria for all the participants. [8] A negative association between $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and the outcome of ITI was found in the univariable analysis. However, this was not confirmed after multivariable analysis. [8] A retrospective multicentric Japanese cohort study including 155 PwHA reported an overall success rate of ITI of 71.2% (94/132), and 64.2% (58/93) for PwHA-HRI, who were treated with several ITI regimens between 2000 and 2015. [13] The outcome criteria were uniform for all the enrolled patients. [13] This was the only study which reported that $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ was shorter among individuals who had successful ITI compared to those who failed. [13]

Our results corroborate the results of other studies. [9,11,12,14,27–32] A registry including 164 PwHA and inhibitor (128

TABLE 2 Patient, inhibitor, and treatment characteristics of people with severe hemophilia A and high-responding inhibitor, according to the quartiles between inhibitor diagnosis and start of immune tolerance induction

Characteristic	Interval quartiles between inhibitor diagnosis and start of immune tolerance induction				p
	1st quartile, 0.0 to 0.6 year (n = 35, 24.6%)	2nd quartile, >0.6 to 1.7 year (n = 36, 25.4%)	3rd quartile, >1.7 to 9.2 years (n = 36, 25.4%)	4th quartile, >9.2 to 24.5 years (n = 35, 24.6%)	
Success rate, n (%)	22 (62.9%)	25 (69.4%)	21 (58.3%)	25 (71.4%)	0.633 ^a
Patient characteristics					
White, n (%)	22 (62.9%)	16 (44.4%)	18 (50.0%)	18 (51.4%)	0.468 ^a
Patient age at hemophilia A diagnosis, in years, median [IQR]	0.9 [0.6–1.4]	0.8 [0.5–1.2]	0.9 [0.5–1.9]	1.0 [0.6–2.4]	0.592 ^b
Inversions of introns 1 or 22, n (%)	16 (53.3%)	18 (64.3%)	16 (50.0%)	15 (50.0%)	0.660 ^a
High risk F8 mutation, n (%)	28 (93.3%)	23 (82.1%)	29 (100.0%)	27 (93.1%)	0.089 ^a
Inhibitor characteristics					
Patient age at inhibitor diagnosis, in years, median [IQR]	1.7 [1.2–3.7]	1.9 [1.3–4.9]	4.5 [2.0–11.1]	7.8 [4.1–21.3]	0.000 ^b
Interval between diagnosis of hemophilia A and inhibitor development, in years, median [IQR]	0.8 [0.4–1.1]	1.0 [0.5–3.7]	2.9 [0.9–6.5]	5.8 [2.0–16.8]	0.000 ^b
Historic inhibitor peak, in BU/mL, median [IQR]	40.0 [12.0–115.0]	41.3 [20.8–75.6]	36.7 [15.1–64.0]	91.3 [47.2–298.3]	0.006 ^b
Inhibitor titer immediately before ITI, in BU/mL, median [IQR]	12.0 [6.0–44.8]	4.6 [2.0–7.9]	4.5 [2.8–14.4]	5.2 [2.6–10.6]	0.001 ^b
Patient age at ITI start, in years, median [IQR]	2.0 [1.6–4.2]	3.0 [2.3–5.8]	8.9 [6.8–18.2]	24.4 [17.7–39.5]	0.000 ^b
ITI characteristics					
Central venous access for ITI, n (%)	4 (11.4%)	3 (8.3%)	2 (5.7%)	1 (2.9%)	0.545 ^a
pdFVIII as first ITI treatment, n (%)	13 (37.1%)	13 (36.1%)	29 (82.9%)	29 (85.3%)	0.000 ^a
Need for intensification of treatment, n (%)	19 (54.3%)	13 (36.1%)	16 (45.7%)	12 (35.3%)	0.328 ^a
Need for prophylaxis with bypassing agent during ITI, n (%)	26 (74.3%)	19 (55.9%)	22 (62.9%)	25 (73.5%)	0.303 ^a
Surgery during ITI, n (%)	7 (20.6%)	4 (11.1%)	9 (25.7%)	7 (20.6%)	0.469 ^a
Annualized bleeding rate during ITI, median [IQR]	3.6 [1.8–6.1]	3.8 [2.3–8.0]	2.6 [1.8–5.8]	3.4 [1.1–8.0]	0.606 ^b
Inhibitor peak during ITI, in BU/mL, median [IQR]	59.0 [5.7–160.0]	22.0 [5.7–188.8]	27.2 [6.8–115.2]	16.4 [5.4–182.4]	0.625 ^b
ITI duration, in years, median [IQR]	2.2 [1.7–3.2]	2.7 [1.8–3.0]	2.6 [2.1–3.2]	2.6 [1.8–3.1]	0.689 ^b

p-values: ^aPearson χ^2 test; ^bKruskal-Wallis H test. Abbreviations: BU, Bethesda unit; ITI, immune tolerance induction; IQR, interquartile range; pdFVIII, plasma-derived factor VIII.

TABLE 3 Crude and adjusted odds ratios (and 95% confidence intervals) from logistic regression analyses identifying associations between interval between inhibitor diagnosis and immune tolerance start and treatment success

	Crude OR (95% CI)	Model 1 Adjusted OR (95% CI)	Model 2 Adjusted OR (95% CI)	Model 3 Adjusted OR (95% CI)	Model 4 Adjusted OR (95% CI)
Interval between inhibitor diagnosis and ITI start	1.03 (0.98–1.09)	1.10 (1.02–1.18)	1.13 (1.03–1.25)	1.14 (1.02–1.27)	1.14 (1.02–1.28)

Model 1: Adjusted to pdFVIII as first ITI treatment and historic inhibitor peak.

Model 2: Adjusted to patient age at ITI start and historic inhibitor peak.

Model 3: Adjusted to patient age at ITI start, historic inhibitor peak, and inhibitor titer immediately before ITI.

Model 4: Adjusted to pdFVIII as first ITI treatment, patient age at ITI start, historic inhibitor peak, and inhibitor titer immediately before ITI.

Abbreviations: BU, Bethesda unit; CI, confidence interval; ITI, immune tolerance induction; OR, odds ratio; pdFVIII, plasma-derived factor VIII.

TABLE 4 Success rates of immune tolerance induction according to different cut-offs of intervals between inhibitor diagnosis and start of immune tolerance induction.

Subgroups	Success/n (%)	RR (95% CI)
Quartile cut-offs		
1st quartile, 0.0 to 0.6 year	22/35 (62.9%)	1 (reference)
2nd quartile, >0.6 to 1.7 year	25/36 (69.4%)	1.10 (0.79 to 1.54)
3rd quartile, >1.7 to 9.2 years	21/36 (58.3%)	0.93 (0.64 to 1.35)
4th quartile, >9.2 to 24.5 years	25/35 (71.4%)	1.14 (0.82 to 1.58)
Literature cut-offs*		
0 to 6 months	20/28 (71.4%)	1 (reference)
6 months to 5 years	39/66 (59.1%)	0.83 (0.61 to 1.13)
> 5 years	34/48 (70.8%)	0.99 (0.74 to 1.33)
Intuitive cut-offs		
0 to 1 year	32/52 (61.5%)	1 (reference)
1 to 5 years	27/42 (64.3%)	1.04 (0.77 to 1.43)
5 to 10 years	10/14 (71.4%)	1.16 (0.78 to 1.72)
> 10 years	24/34 (70.6%)	1.15 (0.85 to 1.56)

Abbreviations: BU, Bethesda unit; CI, confidence interval; HR, hazard ratio; IQR, interquartile range; ITI, immune tolerance induction; pdFVIII, plasma-derived factor VIII; RR, relative risk.

aAccording to Nakar et al.¹⁵ and Mariani et al.⁸

PwHA-HRi) treated at several HTC centers from the United States and Canada between 1993 and 1999 reported no association between $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and the outcome of ITI, even when the analyses were performed using a cut-off of 5 years for $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$. The results were similar for all PwHA and inhibitors and for PwHA-HRi. [14] The overall success rate of ITI was 70%, and 63% in PwHA-HRi. The treatment regimens and outcome criteria were determined by the treating physicians, and relapse, death, loss of medical insurance, and even enrolment in a bypassing agent study were considered failure. [14] Kreuz et al. reported 21 children treated with the same protocol and evaluated the outcome according to a single definition, [9] and Lenk reported 126 children/adults PwHA and inhibitors who were treated with different protocols. [27] The latter used a similar outcome definition as used in our study, except that they considered death and non-compliance to treatment as failure. [27] Neither of these two studies found an association between $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and the ITI outcome. [9,27] Subsequent reports derived from registries from other countries did not find such an association either. [11,12,28–32] However, the sample size of these studies was small (from 12 to 87 PwHA and inhibitor), several different regimens were applied for a single population, and/or the criteria to define the ITI outcome were not uniform. [11,12,28–32]

In another registry, PwHA and inhibitors treated between 1982 and 2012 at two North American HTCs were retrospectively enrolled, totaling 58 PwHA and inhibitors, of whom 39 were PwHA-HRi. [15] Different ITI regimens were prescribed at the discretion of the treating physicians, but the same outcome criteria were applied

for all the individuals, despite not conforming to international definitions of ITI outcome. [15,23] Besides that, withdrawal at physician, patient, or family discretion was considered failure, too. [15] The overall success rate of ITI was 88% (51/58), and the success rate among PwHA-HRi was 82% (32/39), [15] both higher than we found in the BrazIT Study (i.e., 69.7% and 67.7%, respectively). While evaluating PwHA-HRi stratified for different $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ (less than 1 month, $n = 23$; between 1 and 6 months, $n = 5$; and 6 months or more, $n = 11$), the authors reported that patients who started ITI within the first month had higher odds of achieving ITI success than those who delayed more than 6 months (success rates of 96% [22/23] versus 64% [7/11], respectively). [15] Nevertheless, after controlling for the highest inhibitor titer throughout patient history, titer at diagnosis of inhibitor, and titer immediately before ITI start, the aforementioned benefit odds were less convincing. [15] Based on this report, many physicians rely on these results to start ITI as soon as inhibitor is detected, regardless of inhibitor titer. However, we did not find any association between $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and the outcome of ITI in our current analyses using three different $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ cut-offs. Therefore, in line with other studies, [8,14,27] we demonstrated that starting ITI as soon as possible does not seem to enhance the odds of having a successful outcome. Indeed, our study shows that delays as long as 20 years were not associated with ITI failure. However, we could not analyze the effect of $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ on ITI response in PwHA-HRi who started ITI within 1 month due to the limited number of participants ($n = 3$) included in this subgroup of the BrazIT Study.

Maybe the question behind the influence of $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ on ITI outcome is not how long the immune system takes to establish the response against FVIII, but if this response has been already reached, that is, the existence of a (very?) HRi. [33] Several studies have demonstrated an association between ITI failure and high peak inhibitor titers before ITI, [8,11] immediately before the start of ITI, [8,11,12,34] or during ITI. [10,12,34] Our results confirm this hypothesis: high inhibitor titers were associated with ITI failure, while $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ was not. Looking back to Nakar et al., an ascending inhibitor titer could be perceived as the $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ increases. [15] But, note that the groups presenting $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ less than 1 month and 10 BU/mL or lower at ITI start, $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ less than 1 month and 10 BU/mL or more at ITI start, $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ 1 to 6 months, and 6 months or more had mean (range) peak inhibitor titers of 59 BU/mL (6–200), 85 BU/mL (10–275), 146 BU/mL (21–425), and 1665 BU/mL (6–5600), respectively. [15] And, indeed, after controlling for titer at ITI start, titer at diagnosis of inhibitor, and peak titer, the difference was less pronounced and no longer statistically significant for PwHA-HRi who started ITI within 1 month of inhibitor diagnosis compared to those who started later than 1 month. [15]

Our study has several strengths. First, we included a large population of PwHA who were treated with the same ITI protocol and evaluated according to the same outcome criteria. Indeed, we included 206/296 patients (70%) from 15 HTC who initiated ITI. Therefore, we could include most of the patients who initiated ITI in the participating centers. Second, there was no selection bias in the inclusion criteria, that is, based on good or bad risk characteristics for ITI success. Third, patients were treated with two different brands

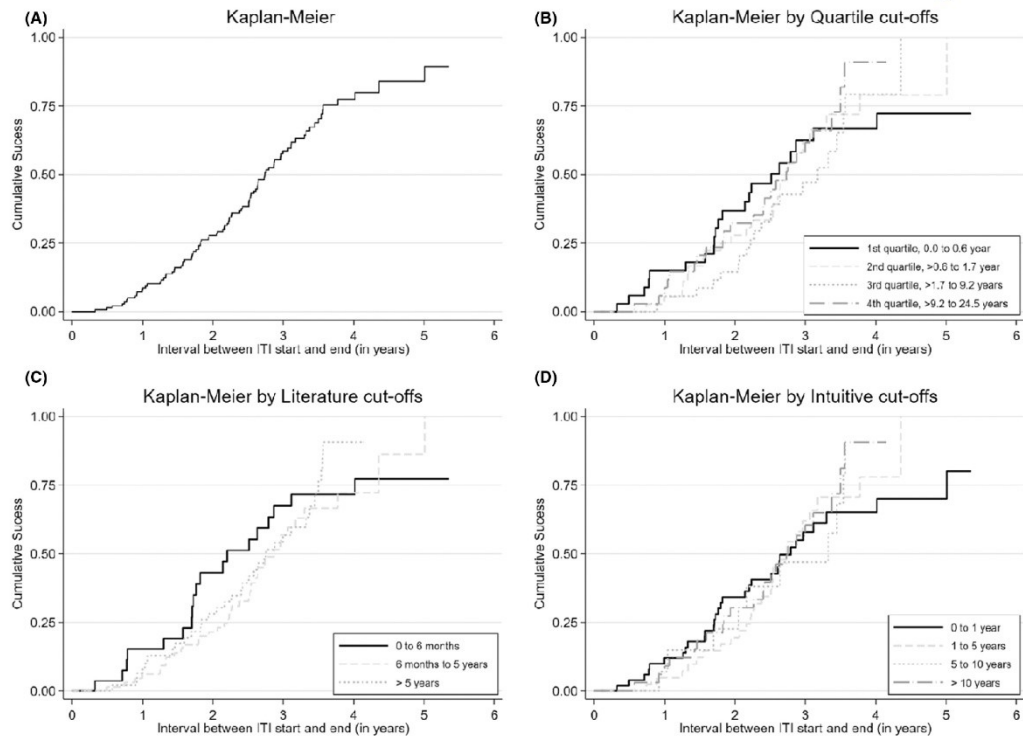


FIGURE 2 Kaplan-Meier curves showing the time (in years) to reach success since the start of immune tolerance induction (ITI). Raw data are shown in graph (A). Graphs (B), (C), and (D) represent the time to reach success according to the three methods used to evaluate the delay between inhibitor diagnosis and start of ITI: quartiles, literature, and intuitive cut-offs, respectively. Differences among the curves were analyzed by the Mantel-Cox log-rank test

of FVIII concentrates. Fourth, we enrolled patients from 15 HTC, representing all Brazilian geographic regions. Fifth, due to the large sample size of the population studied, a better precision from our study would be expected. Finally, to the best of our knowledge, this is one of the largest populations of PwHA-HRi on ITI ever studied.

Some limitations are worth mentioning. First, although the population size was large, in some cases, some data were missing. Second, except for F8 genotyping, which was centrally performed, assessments of FVIII activity levels and anti-FVIII inhibitors were performed in the local HTCs. However, all the HTC laboratories followed the same testing protocol [35] and had external quality control in place. Third, we could not analyze the effect of $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ within 1 month after inhibitor diagnosis and ITI outcome, because the number of patients in this category was small in the BrazIT Study. However, we had a reasonable number of patients in the strata related to the first 6 and 12 months of $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$, which resulted in no difference in the success rate of ITI compared to the strata with a longer $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$. Finally, we should mention that before the introduction of ITI as a national public policy in Brazil in 2012, some PwHA-HRi may have died from hemophilia-related conditions or other causes. [36] In addition, although ITI was offered

to all PwHA-HRi since then, PwHA who lived longer with HRi were more prone to refuse ITI. Therefore, we cannot rule out the possibility of a selection bias in our study, mainly when considering the group with the longest $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ (e.g., the fourth quartile group).

While we did not confirm an association of successful ITI with a shorter $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$, physicians should be aware that the longer a HRi is circulating, the longer the risk of suffering breakthrough bleedings, and consequently, increased mortality and morbidity risk associated with inhibitor, such as arthropathy, central nervous system hemorrhage, or even death. [5,37–39] Therefore, the sooner the better for starting ITI in PwHA-HRi still remains the best treatment strategy.

5 | CONCLUSION

Our results demonstrate no association between $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$ and ITI outcome in PwHA-HRi who were treated based on a low-dose ITI protocol. Therefore, ITI should be offered for these patients, regardless of the $\Delta t_{\text{inhi-ITI}}$. The success rate of ITI among PwHA-HRi in our study was 65.5%.

TABLE 5 Hazard ratios for the occurrence of success of immune tolerance induction according to known determinants. Time reflects the Interval between ITI start and end (success)

	HR (95% CI)
Quartile cut-offs	
1st quartile, 0.0 to 0.6 year	1 (reference)
2nd quartile, >0.6 to 1.7 year	0.71 (0.38–1.32)
3rd quartile, >1.7 to 9.2 years	0.67 (0.32–1.41)
4th quartile, >9.2 to 24.5 years	1.26 (0.50–3.16)
Literature cut-offs*	
0 to 6 months	1 (reference)
6 months to 5 years	0.62 (0.34–1.15)
> 5 years	0.95 (0.42–2.16)
Intuitive cut-offs	
0 to 1 year	
1 to 5 years	1 (reference)
5 to 10 years	0.95 (0.55–1.65)
> 10 years	1.16 (0.50–2.68)
	1.70 (0.74–3.89)

All models were corrected by: pdFVIII as first ITI treatment (Yes/No); Patient age at ITI start, in years;

Historic inhibitor peak, in BU/mL; Inhibitor titer immediately before ITI, in BU/mL.

Abbreviations: BU, Bethesda unit; CI, confidence interval; HR, hazard ratio; ITI, immune tolerance induction; pdFVIII, plasma-derived factor VIII.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

RMC contributed to methodology, investigation, data curation, formal analysis, project administration, visualization, and wrote the paper. MMD contributed to data curation and validation. CCD contributed to formal analysis and visualization. SG contributed to formal analysis and visualization. LPM contributed to data curation and validation. LWZ contributed to the investigation. LLJ contributed to data curation, investigation, methodology, resources, and validation. AGO contributed to data curation. RAR contributed to data curation. VKBF contributed to data curation. MRFR contributed to data curation. FMRAC contributed to data curation. LYE contributed to data curation. MAFC contributed to data curation. MHC contributed to data curation. CSL contributed to data curation. ISSP contributed to data curation. ESSS contributed to data curation. AAG contributed to data curation. THA contributed to data curation. DCFN contributed to data curation. DMT contributed to data curation. JvdB contributed to conceptualization, formal analysis, and visualization. SMR contributed to conceptualization, funding acquisition, resources, supervision, and wrote the paper. All authors revised and approved the final version of the manuscript.

ACKNOWLEDGMENTS

The BrazIT Study group would like to thank the multiprofessional team from the participating HTCs for providing support to identify and refer patients to the study. The BrazIT Study is

fully funded by governmental grants from the National Health Fund (grant number 17217.9850001-15-006) and CNPq (grant number 420008/2018-7). RMC received a scholarship (PDSE-88881.362041/2019-1) from the CAPES Foundation, an agency under the Ministry of Education of Brazil, to conduct part of his doctoral research as a visiting student at Leiden Universitair Medisch Centrum in the Netherlands. MMD received a scholarship (PIBIC-155139/2019-3) from CNPq. LPM received a scholarship (PROBIC-14020) from FAPEMIG. LWZ received a scholarship (PNPD Program) from CAPES Foundation.

FUNDING INFORMATION

The BrazIT Study is fully funded by governmental grants from the National Health Fund (grant number 17217.9850001-15-006) and CNPq (grant number 420008/2018-7). RMC received a scholarship (PDSE-88881.362041/2019-1) from the CAPES Foundation, an agency under the Ministry of Education of Brazil, to conduct part of his doctoral research as a visiting student at Leiden Universitair Medisch Centrum in the Netherlands. MMD received a scholarship (PIBIC-155139/2019-3) from CNPq. LPM received a scholarship (PROBIC-14020) from FAPEMIG. LWZ received a scholarship (PNPD Program) from CAPES Foundation.

CONFLICT OF INTEREST

RMC received speaker fees from Bayer, NovoNordisk, Hoffman-La Roche, and Takeda; consultancy fees from Hoffman-La Roche and Takeda, and scientific event grants from Bayer, NovoNordisk, Hoffman-La Roche, and Takeda. SG received an unrestricted research grant from Sobi. AGO received speaker fees from Hoffman-La Roche, Takeda and NovoNordisk, and scientific event grants from NovoNordisk. VKBF received scientific event grants from Takeda. MRFR received speaker fees from NovoNordisk, scientific event grants from Hoffman-La Roche, Takeda and NovoNordisk, and consultancy fees from the Brazilian Ministry of Health. FMRAC received scientific event grants from Hoffman-La Roche and NovoNordisk. LYE received scientific event grants from Hoffman-La Roche. MAFC received scientific event grants from NovoNordisk. ISSP received speaker fees from Hoffman-La Roche and Takeda, scientific event grants from Hoffman-La Roche, Takeda and NovoNordisk, consultancy fees from the Hoffman-La Roche, NovoNordisk, Bayer and Biomar, and grants for scientific publication from Takeda. ESSS received scientific event grants from NovoNordisk. AAG received speaker fees from Takeda and NovoNordisk, scientific event grants from Takeda and NovoNordisk, and consultancy fees from NovoNordisk. THA received scientific event grants from Hoffman-La Roche and Takeda. DCFN received scientific event grants from Takeda. JvdB received reimbursement for educational activities from Bayer and unrestricted grants from NovoNordisk. MMD, CCD, LPM, LWZ, LLJ, RAR, MHC, CSL, DMT, and SMR declare they have no competing interests which might be perceived as posing a conflict of bias.

ORCID

Ricardo Mesquita Camelo  <https://orcid.org/0000-0001-9025-0289>
 Maise Moreira Dias  <https://orcid.org/0000-0002-0457-7099>
 Camila Caram-Deelder  <https://orcid.org/0000-0003-3161-5684>
 Samantha Gouw  <https://orcid.org/0000-0002-1957-4122>
 Laura Peixoto de Magalhães  <https://orcid.org/0000-0002-7519-3914>
 Luciana Werneck Zuccherato  <https://orcid.org/0000-0002-0860-6571>
 Letícia Lemos Jardim  <https://orcid.org/0000-0003-3358-0075>
 Andrea Gonçalves de Oliveira  <https://orcid.org/0000-0001-7727-5000>
 Rosângela de Albuquerque Ribeiro  <https://orcid.org/0000-0002-3637-9791>
 Vivian Karla Brognoli Franco  <https://orcid.org/0000-0002-0297-1455>
 Maria do Rosário Ferraz Roberti  <https://orcid.org/0000-0001-9453-2128>
 Fábria Michelle Rodrigues de Araújo Callado  <https://orcid.org/0000-0001-6328-0140>
 Leina Yukari Etto  <https://orcid.org/0000-0002-3964-356X>
 Maria Aline Ferreira de Cerqueira  <https://orcid.org/0000-0001-6593-5091>
 Mônica Hermida Cerqueira  <https://orcid.org/0000-0001-6681-8911>
 Cláudia Santos Lorenzato  <https://orcid.org/0000-0001-6662-4623>
 Ieda Solange de Souza  <https://orcid.org/0000-0002-6203-4615>
 Édvis Santos Soares Serafim  <https://orcid.org/0000-0003-0345-6372>
 Andrea Aparecida Garcia  <https://orcid.org/0000-0002-8616-4668>
 Tânia Hissa Anegawa  <https://orcid.org/0000-0001-8312-3118>
 Daniele Campos Fontes Neves  <https://orcid.org/0000-0003-2924-807X>
 Doralice Marville Tan  <https://orcid.org/0000-0002-2719-631X>
 Johanna van der Bom  <https://orcid.org/0000-0001-9095-2475>
 Suely Meireles Rezende  <https://orcid.org/0000-0002-3083-7093>

REFERENCES

1. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH guidelines for the management of hemophilia. 3rd edition. *Haemophilia*. 2020;26(Suppl. 6):1-158.
2. Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia a: a systematic review. *Haemophilia*. 2003;9:418-435.
3. Mahlangu J, Oldenburg J, Callaghan MU, et al. Bleeding events and safety outcomes in persons with haemophilia a with inhibitors: a prospective, multi-Centre, non-interventional study. *Haemophilia*. 2018;24:921-929.
4. Eckhardt CL, Loomans JJ, van Velzen AS, et al. Inhibitor development and mortality in non-severe hemophilia a. *J Thromb Haemost*. 2015;13:1217-1225.
5. Walsh C, Soucie J, Miller C. Impact of inhibitors on hemophilia a mortality in the United States. *Am J Hematol*. 2015;90:400-405.
6. Brackmann HH, White GC, Berntorp E, Andersen T, Escuriola-Ettingshausen C. Immune tolerance induction: what have we learned over time? *Haemophilia*. 2018;24:3-14.
7. Brackmann H, Oldenburg J, Schwaab R. Immune tolerance for the treatment of factor VIII inhibitors - twenty years "Bonn protocol". *Vox Sang*. 1996;70:30-35.
8. Mariani G, Kroner B, Miller RT, et al. Immune tolerance in hemophilia with factor VIII inhibitors: predictors of success. *Haematologica*. 2001;86:1186-1193.
9. Kreuz W, Ehrenforth S, Funk M, et al. Immune tolerance therapy in paediatric haemophiliacs with factor VIII inhibitors: 14-years follow-up. *Haemophilia*. 1995;1:24-32.
10. Lenk H. The German National Immune Tolerance Registry, 1997 update. *Vox Sang*. 1999;77:28-30.
11. Haya S, López MF, Aznar JA, Batlle J. Immune tolerance treatment in haemophilia patients with inhibitors: the Spanish registry. *Haemophilia*. 2001;7:154-159.
12. Coppola A, Margaglione M, Santagostino E, et al. Factor VIII gene (F8) mutations as predictors of outcome in immune tolerance induction of hemophilia a patients with high-responding inhibitors. *J Thromb Haemost*. 2009;7:1809-1815.
13. Nogami K, Taki M, Matsushita T, et al. The Japanese immune tolerance induction (J-ITI) study in haemophilia patients with inhibitor: outcomes and successful predictors of ITI treatment. *Haemophilia*. 2018;24:e328-e337.
14. DiMichele DM, Kroner BL, Adair S, et al. The north American immune tolerance registry: practices, outcomes, outcome predictors. *Thromb Haemost*. 2002;87:52-57.
15. Nakar C, Manco-Johnson MJ, Lail A, et al. Prompt immune tolerance induction at inhibitor diagnosis regardless of titre may increase overall success in haemophilia a complicated by inhibitors: experience of two US centres. *Haemophilia*. 2015;21:365-373.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção a Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Imunotolerância: protocolo de uso de indução de imunotolerância para pacientes com hemofilia A e inibidor. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 71 p.: il. 2015; .
17. Camelo RM, Chaves DG, Zuccherato LW, Rezende SM. Predictors of the outcome of immune tolerance induction in patients with haemophilia a and inhibitors: the Brazilian immune tolerance (BrazilT) study protocol. Heymann D, editor. *PLOS One*. 2021;16:e0256265.
18. Blanchette VS, Key NS, Ljung LR, Manco-Johnson MJ, van den Berg HM, Srivastava A. Definitions in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2014;12:1935-1939.
19. López-Fernández MF, Altisent Roca C, Álvarez-Román MT, et al. Spanish consensus guidelines on prophylaxis with bypassing agents in patients with haemophilia and inhibitors. *Thromb Haemost*. 2016;115:872-895.
20. Chai-Adisaksotha C, Hillis C, Thabane L, Iorio A. A systematic review of definitions and reporting of bleeding outcome measures in haemophilia. *Haemophilia*. 2015;21:731-735.
21. Rosendaal FR, Palla R, Garagiola I, Mannucci PM, Peyvandi F. Genetic risk stratification to reduce inhibitor development in the early treatment of hemophilia a: a SIPPET analysis. *Blood*. 2017;130:1757-1759.
22. Margaglione M, Castaman G, Morfini M, et al. The Italian AICE-genetics hemophilia a database: results and correlation with clinical phenotype. *Haematologica*. 2008;93:722-728.
23. Hay CRM, DiMichele DM. The principal results of the international immune tolerance study: a randomized dose comparison. *Blood*. 2012;119:1335-1344.
24. Valentino LA, Kempton CL, Kruse-Jarres R, Mathew P, Meeks SL, Reiss UM. US guidelines for immune tolerance induction in patients with haemophilia a and inhibitors. *Haemophilia*. 2015;21:559-567.
25. Rossetti LC, Radic CP, Larripa IB, De Brasi CD. Genotyping the hemophilia inversion hotspot by use of inverse PCR. *Clin Chem*. 2005;51:1154-1158.
26. Pio SF, Mühle C, De Oliveira GC, Rezende SM. Detection of int1h-related inversion of the factor VIII gene. *Haemophilia*. 2011;17:313-314.
27. Lenk H. The German registry of immune tolerance treatment in hemophilia - 1999 update. *Haematologica*. 2000;85:45-47.

28. Mauser-Bunschoten EP, Nieuwenhuis HK, Roosendaal G, Van den Berg HM. Low-dose immune tolerance induction in hemophilia a patients with inhibitors. *Blood*. 1995;86:983-988.
29. Unuvar A, Warriar I, Lusher JM. Immune tolerance induction in the treatment of paediatric haemophilia a patients with factor VIII inhibitors. *Haemophilia*. 2000;6:150-157.
30. Barnes C, Rivard GE, Poon MC, et al. Canadian multi-institutional survey of immune tolerance therapy (ITT) - experience with the use of recombinant factor VIII for ITT. *Haemophilia*. 2006;12:1-6.
31. Unuvar A, Kavakli K, Baytan B, et al. Low-dose immune tolerance induction for paediatric haemophilia patients with factor VIII inhibitors. *Haemophilia*. 2008;14:315-322.
32. Callaghan MU, Rajpurkar M, Chitlur M, Warriar I, Lusher J. Immune tolerance induction in 31 children with haemophilia a: is ITI less successful in African Americans? *Haemophilia*. 2011;17:483-489.
33. Osooli M, Berntorp E. Inhibitors in haemophilia: what have we learned from registries? A systematic review. *J Intern Med*. 2015;277:1-15.
34. DiMichele D. The north American immune tolerance registry: contributions to the thirty-year experience with immune tolerance therapy. *Haemophilia*. 2009;15:320-328.
35. Saraiva AS, Sternick GMP, Santos ME, Montalvão SAL, Machado T de FGS, Rocha TRF da; 2012.
36. Jardim LL, van der Bom JG, Caram-Deelder C, Gouw SC, Leal Cherchiglia M, Rezende SM. Mortality of patients with haemophilia in Brazil: first report. *Haemophilia*. 2019;25:e146-e152.
37. Hermans C, Auerswald G, Benson G, et al. Outcome measures for adult and pediatric hemophilia patients with inhibitors. *Eur J Haematol*. 2017;99:103-111.
38. Chalmers EA, Alamelu J, Collins PW, et al. Intracranial haemorrhage in children with inherited bleeding disorders in the UK 2003-2015: a national cohort study. *Haemophilia*. 2018;24:641-647.
39. Husseinzadeh H, Chiasakul T, Gimotty PA, et al. Prevalence of and risk factors for cerebral microbleeds among adult patients with haemophilia a or B. *Haemophilia*. 2018;24:271-277.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Camelo RM, Dias MM, Caram-Deelder C, et al. Time between inhibitor detection and start of immune tolerance induction: Association with outcome in the BrazIT study. *J Thromb Haemost*. 2022;00:1-12. doi: [10.1111/jth.15878](https://doi.org/10.1111/jth.15878)

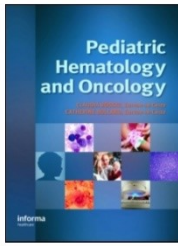
6.3 Artigo 3 (publicado)

Dias MM, Mesquita Camelo R, de Magalhães LP, Lemos Jardim L, Gonçalves de Oliveira A, Ribeiro RA, Karla Brognoli Franco V, Callado FMRA, Lorenzato CS, Rezende SM; Brazilian Immune Tolerance (BrazIT) Study group. Changing recombinant factor VIII to plasma-derived factor VIII during immune tolerance induction. *Pediatr Hematol Oncol.* 2023 Feb 24:1-7. doi: 10.1080/08880018.2023.2182853. Epub ahead of print. PMID: 36825651.

6.3.1 *Resumo*

A principal complicação da reposição do fator VIII (FVIII) em pessoas com hemofilia A grave (PcHA) é o desenvolvimento de aloanticorpos neutralizantes (inibidores) contra o FVIII. A indução da imunotolerância (IT) é o único tratamento para erradicar os inibidores. Avaliamos o resultado da IT após alterar o produto de FVIII recombinante (rFVIII) para FVIII derivado de plasma (dpFVIII) em PcHA com inibidor de alta resposta (PcHA-iAR) que não estavam respondendo ao rFVIII como terapia de primeira linha. PcHA-iAR em IT foram incluídos em 12 centros de tratamento de hemofilia. Foram excluídos aqueles que ainda estavam em tratamento, desistiram do tratamento, morreram, receberam apenas rFVIII ou mudaram de dpFVIII para rFVIII, bem como aqueles com dados faltantes sobre o tipo de FVIII ou desfecho de IT (n = 78). O tipo de concentrado de FVIII recomendado para iniciar a IT foi o mesmo contra o qual o inibidor foi desenvolvido. Em geral, a PcHA-iAR iniciou IT em regime de baixa dose de FVIII (50 UI/kg 3x/semana). Na falta de resposta (sem declínio do inibidor de pelo menos 20% dos níveis de pico 6 meses após o início da IT), o regime de alta dose de FVIII (100 UI/kg/dia) e/ou mudança para dpFVIII para aqueles que iniciaram IT com rFVIII foi indicado. O resultado foi baseado no título do inibidor e na farmacocinética do FVIII. Incluímos 94 PcHA-iAR, dos quais 86 (91%) receberam apenas dpFVIII ao longo da IT, enquanto 8 (9%) mudaram de rFVIII para dpFVIII, devido à falta de resposta ao primeiro. As medianas de idades na detecção do inibidor e no início da IT foram de 4,6 anos (intervalo interquartil [IIQ], 1,90-14,5) e 13,2 anos (IIQ, 4,9-25,6), respectivamente. Enquanto as PcHA-iAR que receberam apenas dpFVIII tiveram 67% de sucesso, 100% das PcHA-iAR que mudaram de rFVIII para dpFVIII falharam. O pico do inibidor pré-IT, o título do inibidor imediatamente antes do início do IT e o pico

durante o IT foram maiores entre os PcHA-iAR que mudaram de rFVIII para dpFVIII em comparação com aqueles que receberam exclusivamente dpFVIII durante a IT. Neste estudo, todas as PcHA-iAR que estavam recebendo rFVIII como produto de primeira linha e mudaram para dpFVIII devido à falta de resposta falharam no IT.



Changing recombinant factor VIII to plasma-derived factor VIII during immune tolerance induction

Maíse Moreira Dias, Ricardo Mesquita Camelo, Laura Peixoto de Magalhães, Letícia Lemos Jardim, Andrea Gonçalves de Oliveira, Rosângela de Albuquerque Ribeiro, Vivian Karla Brognoli Franco, Fábila Michelle Rodrigues de Araújo Callado, Cláudia Santos Lorenzato, Suely Meireles Rezende & on behalf of the Brazilian Immune Tolerance (BrazilIT) Study group

To cite this article: Maíse Moreira Dias, Ricardo Mesquita Camelo, Laura Peixoto de Magalhães, Letícia Lemos Jardim, Andrea Gonçalves de Oliveira, Rosângela de Albuquerque Ribeiro, Vivian Karla Brognoli Franco, Fábila Michelle Rodrigues de Araújo Callado, Cláudia Santos Lorenzato, Suely Meireles Rezende & on behalf of the Brazilian Immune Tolerance (BrazilIT) Study group (2023): Changing recombinant factor VIII to plasma-derived factor VIII during immune tolerance induction, *Pediatric Hematology and Oncology*, DOI: 10.1080/08880018.2023.2182853

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/08880018.2023.2182853>



Published online: 24 Feb 2023.



Submit your article to this journal [↗](#)













View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Changing recombinant factor VIII to plasma-derived factor VIII during immune tolerance induction

Maíse Moreira Dias^a , Ricardo Mesquita Camelo^{a,b} , Laura Peixoto de Magalhães^a , Letícia Lemos Jardim^{a,b} , Andrea Gonçalves de Oliveira^c , Rosângela de Albuquerque Ribeiro^{d,e} , Vivian Karla Brognoli Franco^f , Fábila Michelle Rodrigues de Araújo Callado^g , Cláudia Santos Lorenzato^h , Suely Meireles Rezende^a  and on behalf of the Brazilian Immune Tolerance (BrazilT) Study group

^aFaculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil; ^bDepartment of Clinical Epidemiology, Leiden University Medical Centre, Leiden, the Netherlands; ^cFundação HEMOMINAS, Belo Horizonte, Brazil; ^dCentro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, Brazil; ^eHospital Universitário Walter Cantídeo, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brazil; ^fCentro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC), Florianópolis, Brazil; ^gFundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, Brazil; ^hHemocentro do Paraná (HEMEPAR), Curitiba, Brazil

Hemophilia A (HA) is a hereditary X-linked bleeding disorder, characterized by the deficiency of the clotting factor VIII (FVIII) due to mutations in its coding gene (*F8*).¹ Breakthrough bleedings, mainly in the joints and muscles, are the main clinical presentation of people with HA (PwHA), and their occurrence is inversely related to the residual plasma activity of FVIII.¹ Therefore, bleeding is frequent in severe PwHA, which is defined by residual FVIII activity of less than 1%.¹ Thus, FVIII replacement is required both for the treatment of bleeding episodes and their prevention (i.e., prophylaxis).¹ FVIII products may be plasma-derived (pdFVIII) or recombinant (rFVIII), which show similar effectiveness and safety as clotting agents.¹

The main complication of the FVIII replacement therapy for HA is the development of neutralizing alloantibodies (inhibitors) against FVIII.² The incidence of inhibitors is about 30% for severe PwHA.² Inhibitors render bleeding difficult to control, ultimately increasing morbidity and mortality among PwHA.² When inhibitor titer is persistently < 5 Bethesda units (BU)/mL, it is defined as low-responding inhibitor, whereas inhibitor titer \geq 5BU/mL at least once in a lifetime is referred as high-responding.¹ Since exogenous FVIII is ineffective to control or prevent bleeding among PwHA with high-responding inhibitors (PwHA-HRi), these individuals require bypassing agents (partially activated prothrombin complex concentrate [aPCC] and recombinant activated factor VII [rFVIIa]) for their treatment.¹ Unfortunately, in such cases, the effectiveness of bypassing agents is lower than the effectiveness of FVIII among PwHA without inhibitors.³ Thus, the worldwide recommendation is to eradicate the inhibitor whenever possible.³

Immune tolerance induction (ITI) is the only treatment available for eradicating inhibitors in PwHA-HRi.^{2,4} It consists of frequent FVIII infusions to stimulate

CONTACT Suely Meireles Rezende  srezende@ufmg.br; suely.rezende@uol.com.br , Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Alfredo Balena, 190 2nd floor, room 255, Belo Horizonte - MG - ZIP. 30130-100, Brazil

© 2023 Taylor & Francis Group, LLC

re-tolerance.⁴ Experts suggest starting ITI with the FVIII product against which the PwHA-HRi developed inhibitor.¹ It has been suggested that pdFVIII, especially those rich in von Willebrand factor (vWF), may enhance the chance of ITI success.³ For this theoretical reason, some protocols advise changing rFVIII to pdFVIII upon unresponsiveness to the first.^{3,4} Hereby, we describe a case series of PwHA-HRi under a first ITI course with rFVIII who changed to pdFVIII upon lack of response to the former.

The Brazilian Immune Tolerance (BrazIT) Study is a cohort study aimed to evaluate factors related to the outcome of ITI.⁵ Briefly, PwHA-HRi were enrolled at 15 Brazilian hemophilia treatment centers. Immune tolerance induction followed the recommendations of the ITI protocol of the Brazilian Ministry of Health.⁶ As recommended by the protocol, the type of FVIII concentrate used for first course of ITI (e.g., pdFVIII or rFVIII) was the one against which the patient developed inhibitor. All patients (regardless of inhibitor response) started ITI with FVIII 50 IU/kg, 3 times weekly. This considered the results of the International ITI Study,⁷ which demonstrated that there was no difference in the efficacy of ITI when the low-dose regimen was compared with the high-dose regimen. Therefore, Brazilian hemophilia experts considered that the low-dose regimen was appropriate due to its lower cost, better patients' adherence to the treatment, and less need and complications related with venous access in comparison with the high-dose regimen. Upon lack of response to this regimen defined as no decline of inhibitor titer of at least 20% every 6 months since ITI start, FVIII was escalated to 100 IU/kg/day. For those PwHA-HRi who started ITI with rFVIII and did not have a response along the ITI course, another option was to change rFVIII to pdFVIII, which in this report we called rescue ITI. This population was selected for the current analysis. Adherence to ITI was verified by the assisting physicians in each hemophilia treatment centers, according to the Brazilian ITI protocol. Currently, guidance from the Brazilian Ministry of Health recommends that PwHA-HRi who failed ITI according to the protocol criteria should receive prophylaxis with Emicizumab.

ITI outcome was based on international guidelines.^{5,7,8} Briefly, success was defined as hemostatic response to FVIII infusions, without anamnestic peak (inhibitor titer \geq 5.0 BU/mL). Failure was defined as the occurrence of inhibitor titer \geq 5.0 BU/mL after 33 months of treatment.^{5,7,8} Annualized bleeding rate was calculated as the total number of treated bleeding episodes divided by the number of months of follow-up, multiplied by 12 (1 year).¹ Poor-risk ITI outcome was defined as the existence of at least one of the following risk factors: age at ITI start \geq 8 years, pre-ITI inhibitor peak \geq 200 BU/mL, and inhibitor titer immediately before ITI \geq 10 BU/mL.⁴ Data were collected by assessment of the patient's medical files using a standardized case report form. The study was approved by central and local Committees on Ethics on Research. Patients or their legal guardians signed the consent form to participate in the study.

From 1st/June/2016 to 26th/February/2022, 206 PwHA-HRi who were undergoing or had undergone ITI were enrolled in the BrazIT Study. Of 144 severe PwHA-HRi who completed ITI, 83 (57%) received only pdFVIII throughout the treatment, 53 (37%) received only rFVIII, and 8 (6%) started with rFVIII and changed to pdFVIII, upon treatment unresponsiveness to the former (Figure 1). Currently, the failure rates among severe PwHA-HRi who were treated exclusively with pdFVIII or rFVIII were 36% (30/83) and 19% (10/53), respectively.

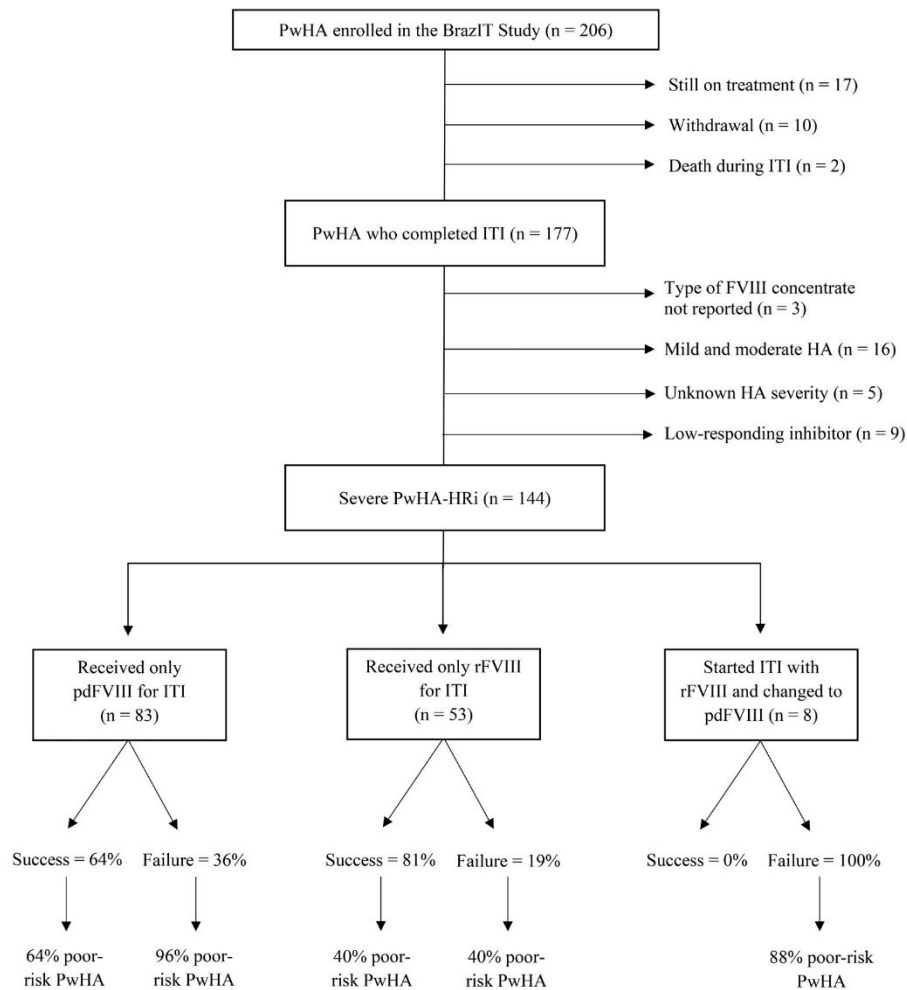


Figure 1. Study flowchart. BrazIT, The Brazilian Immune Tolerance Study; FVIII, factor VIII; HA, hemophilia A; ITI, immune tolerance induction; pdFVIII, plasma-derived FVIII; PwHA, people with hemophilia A; PwHA-HRi, people with hemophilia A and high-responding inhibitors; rFVIII, recombinant FVIII.

All severe PwHA-HRi who changed from rFVIII to pdFVIII failed ITI. Of those in whom rescue ITI was performed, age at HA diagnosis and at inhibitor detection ranged from 0.1 to 1.3 year and from 0.5 to 4.8 years, respectively (Table 1). Seven out of 8 (90%) PwHA-HRi carried null mutations (introns 1 and 22 inversions, frameshift, nonsense, and large deletions) and were classified as high-risk for inhibitor development.⁹ Pre-ITI inhibitor peak titer ranged from 14.0 BU/mL to 960.0 BU/mL. Inhibitor titer immediately before ITI start ranged from 2.6 BU/mL to 137.0 BU/mL, while the inhibitor peak during ITI ranged from 17.2 BU/mL to 4,100.0 BU/mL. The switch was performed in several manners: rFVIII was switched to pdFVIII without regimen modification (n = 3), rFVIII regimen was increased before switching (n = 3), and rFVIII was

Table 1. Characteristics of each person with hemophilia A and inhibitor who started immune tolerance induction with rFVIII and changed to pdFVIII upon unresponsiveness to the former.

Characteristics	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8
Patient characteristics								
Male	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes
Ethnicity	white	white	mixed	mixed	white	white	mixed	white
Age at HA diagnosis in years	0.7	0.9	0.6	0.9	1.0	1.3	0.3	0.1
Family history of HA	no	no	yes	no	yes	no	no	yes
F8 genotype	frameshift	inv-22-1+	unknown	large deletion	frameshift	large deletion	inv-22-1+	large deletion
Inhibitor characteristics								
Time elapsed between HA and inhibitor detection in years	0.5	0.3	1.1	2.8	0.2	3.5	0.2	3.5
Age at inhibitor diagnosis in years	1.2	1.2	1.6	3.7	1.3	4.8	0.5	3.6
Family history of inhibitor	no	no	yes	no	yes	no	no	unknown
Pre-ITI inhibitor peak in BU/mL	140.8	460.8	516.0	99.8	14.0	640.0	960.0	57.0
Inhibitor titer immediately before ITI start in BU/mL	11.2	7.6	112.0	14.4	14.0	34.0	137.0	2.6
Age at ITI start in years	2.3	2.1	2.8	4.4	1.6	17.7	1.6	7.3
Time elapsed between inhibitor detection and ITI start in years	1.0	0.9	1.1	0.7	0.4	13.0	1.1	3.7
ITI characteristics								
Risk classification for ITI success	poor risk	poor risk	poor risk	poor risk	poor risk	poor risk	poor risk	good risk
Number of risk factors for poor ITI outcome	1	1	2	1	1	3	2	0
Inhibitor peak during ITI in BU/mL	211.2	870.4	691.2	819.0	58.0	4,100.0	179.0	17.2
Surgical procedures during ITI	yes	no	no	no	no	no	no	yes
Prophylaxis with bypassing agents	yes	yes	no	unknown	yes	yes	yes	no
Annualized bleeding rate during ITI	10.7	4.5	8.1	7.2	17.6	5.2	11.0	6.4
Type of FVIII and weekly regimen (dose in IU/kg and frequency in days/week)*								
First regimen	Advate 100 7x	Advate 50 3x	Advate 50 3x	Advate 50 3x	Advate 50 3x	Advate 50 3x	Advate 100 7x	Advate 50 3x
First regimen change	Octavi 100 7x	Beriate 100 7x	Advate 100 5x	Advate 100 5x	Octavi 50 3x	Octavi 100 7x	Octavi 100 7x	Advate 100 7x
Second regimen change	no	Octavi 100 7x	Advate 100 7x	Octavi 100 5x	no	no	no	Advate 200 7x
Third regimen change	no	Immunate 100 7x	Octavi 100 7x	no	no	no	no	Octavi 200 7x
Immunosuppressors or immunomodulators	no	no	no	no	no	rituximab	no	no
Inhibitor titer before changing from rFVIII to pdFVIII in BU/mL	unknown	unknown	106.2	307.0	unknown	unknown	unknown	unknown
Duration of FVIII use in years								
rFVIII (first ITI regimen)	1.0	1.0	2.4	2.3	0.9	1.4	1.2	2.2
pdFVIII (subsequent ITI regimens)#	2.9	2.5	0.3	0.4	0.8	1.6	1.1	1.5
Total duration of ITI, in years	3.9	3.5	2.7	2.7	1.7	3.0	2.3	3.7
ITI outcome	failure	failure	failure	failure	failure	failure	failure	failure

*Advate® (Takeda, Tokyo, Japan); Beriate® (CSL Behring, Pennsylvania, USA); Immunate® (Takeda, Tokyo, Japan); Octavi® (Octapharma, Lachen, Switzerland).

BU, Bethesda unit; FVIII, factor VIII; HA, hemophilia A; inv22-1+, intron 22 inversion type 1; IQR, interquartile range; ITI, immune tolerance induction; pdFVIII, plasma-derived factor VIII; rFVIII, recombinant factor VIII; IU, international units.

This duration refers to first and/or second and/or third regimen change.

switched to pdFVIII with a concomitant increment of regimen (n=2). The duration of the first ITI course with rFVIII ranged from 0.9 to 2.4 years, while the duration of subsequent ITI course(s) with pdFVIII ranged from 0.3 to 2.9 years. Except for one patient (#8; Table 1), all remaining patients had one or more risk factors for poor ITI outcome.

In this case series, we reported 8 severe PwHA-HRi who started ITI with rFVIII and switched to pdFVIII upon lack of response to the former. Such an approach was based on published observations stating that when ITI with rFVIII is unsuccessful, changing rFVIII to pdFVIII may redound to success.^{3,4,10,11} The presence of vWF in pdFVIII, which could contribute to the tolerization process has been suggested as a biological mechanism.¹⁰ On the other hand, no study has ever shown that one FVIII product type is superior to another for achieving tolerance during ITI.¹¹

A previous publication reported 4 Japanese PwHA-HRi who switched from rFVIII to pdFVIII during ITI, upon unresponsiveness to the former.¹² According to reported risk factors for ITI outcome⁴ 2 PwHA-HRi had only one risk factor each for ITI failure; the other 2 PwHA-HRi had features for favorable ITI outcome.¹² In this report, the success rate of ITI was 100% (4/4),¹² while in our report the success rate was 0% (0/8). Although several studies have attempted to clarify the best predictors of successful ITI, there is still a large discrepancy.⁴ Currently, historical peak inhibitor titer ≥ 200 BU/mL and pre-ITI titer ≥ 10 BU/mL are the main determinants of ITI failure.⁴ Our data suggest that the presence of such risk factors may be more important to determine ITI outcome than the FVIII product itself.

This study has limitations. Firstly, the number of severe PwHA-HRi who performed rescue ITI was small. Secondly, both the ITI regimen (dose and frequency) and the switch were not uniform. Thirdly, it is very likely that the presence of risk factors for poor ITI outcome and the presence of high-risk mutations among PwHA-HRi here reported may have influenced our results, by selecting poor-risk PwHA-HRi, who were the ones who changed products. However, in PwHA-HRi who failed ITI, 96% and 40% of “poor-risk” individuals were treated with pdFVIII and rFVIII, respectively. A randomized controlled trial would be the best study design to yield a definitive conclusion about this.

To conclude, we found that changing ITI product from rFVIII to pdFVIII in PwHA-HRi with poor-risk factors for ITI did not result in a better ITI outcome.

Acknowledgements

The BrazIT Study group would like to thank the multiprofessional team from the participating HTC for providing support to identify and refer patients to the study.

Authors' contributions (CREDIT taxonomy)

RMC contributed to methodology, investigation, data curation, formal analysis, project administration, visualization, and wrote the paper. MMD contributed to data curation, validation, and wrote the paper. LPM contributed to data curation and validation. LLJ contributed to data curation, investigation, methodology, resources, and validation. AGO contributed to data curation. RAR contributed to data curation. VKBF contributed to data curation. FMRAC contributed to data curation. CSL contributed to data curation. SMR contributed to conceptualization,

funding acquisition, resources, supervision, and wrote the paper. All authors revised and approved the final version of the manuscript.

Conflicts of interest

RMC received speaker fees from Bayer, NovoNordisk, Hoffman-La Roche, and Takeda; consultancy fees from Hoffman-La Roche and Takeda, and scientific event grants from Bayer, NovoNordisk, Hoffman-La Roche, and Takeda. AGO received speaker fees from Hoffman-La Roche, Takeda and NovoNordisk, and scientific event grants from NovoNordisk. VKBF received scientific event grants from Takeda. FMRAC received scientific event grants from Hoffman-La Roche and NovoNordisk. MMD, LPM, LLJ, RAR, CSL and SMR declare they have no competing interests which might be perceived as posing a conflict of bias.

BrazIT Study is fully funded by Governmental grants from the National Health Fund (grant number 17217.9850001-15-006) and CNPq (grant number 420008/2018-7). RMC received scholarship (PDSE-88881.362041/2019-1) from the CAPES Foundation, an agency under the Ministry of Education of Brazil, to conduct part of his doctoral research as a visiting student at Leiden Universitair Medisch Centrum in the Netherlands. MMD received scholarship (PIBIC-155139/2019-3) from CNPq. LPM received scholarship (PROBIC-14020) from FAPEMIG.

ORCID

Maíse Moreira Dias  <http://orcid.org/0000-0002-0457-7099>
 Ricardo Mesquita Camelo  <http://orcid.org/0000-0001-9025-0289>
 Laura Peixoto de Magalhães  <http://orcid.org/0000-0002-7519-3914>
 Letícia Lemos Jardim  <http://orcid.org/0000-0003-3358-0075>
 Andrea Gonçalves de Oliveira  <http://orcid.org/0000-0001-7727-5000>
 Rosângela de Albuquerque Ribeiro  <http://orcid.org/0000-0002-3637-9791>
 Vivian Karla Brognoli Franco  <http://orcid.org/0000-0002-0297-1455>
 Fábria Michelle Rodrigues de Araújo Callado  <http://orcid.org/0000-0001-6328-0140>
 Cláudia Santos Lorenzato  <http://orcid.org/0000-0001-6662-4623>
 Suely Meireles Rezende  <http://orcid.org/0000-0002-3083-7093>

References

1. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia*. 2020;v.26 Suppl 6:1–158.
2. Batsuli G, Meeks SL, Herzog RW, Lacroix-Desmazes S. Innovating immune tolerance induction for haemophilia. *Haemophilia*. 2016;22:31–35. doi:10.1111/hae.12989.
3. Oldenburg J, Young G, Santagostino E, Ettingshausen E. C. The importance of inhibitor eradication in clinically complicated hemophilia A patients. *Expert Rev Hematol*. 2018;11:857–862. doi:10.1080/17474086.2018.1521718.
4. Kempton CL, Meeks SL. Toward optimal therapy for inhibitors in hemophilia. *Blood*. 2014;124(23):3365–3372. doi:10.1182/blood-2014-05.
5. Camelo RM, Chaves DG, Zuccherato LW, Rezende SM. Predictors of the outcome of immune tolerance induction in patients with haemophilia A and inhibitors: The Brazilian Immune Tolerance (BrazIT) Study protocol. *PLoS One*. 2021;16(8):e0256265. doi:10.1371/journal.pone.0256265.
6. Brasil. Ministério Da Saúde. Secretaria De Atenção a Saúde. Departamento De Atenção Especializada e Temática. *Imunotolerância: protocolo De Uso De Indução De Imunotolerância Para Pacientes Com Hemofilia A e Inibidor*. Brasília: Ministério da Saúde, 2015; p. 71. <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
7. Hay CRM, Dimichele DM. The principal results of the International Immune Tolerance Study: a randomized dose comparison. *Blood*. 2012;119:1335–1344. doi:10.1182/blood-2011-08-369132.

8. Valentino LA, Kempton CL, Kruse-Jarres R, Mathew P, Meeks SL, Reiss UM. US Guidelines for immune tolerance induction in patients with haemophilia A and inhibitors. *Haemophilia*. 2015;21:559–567. doi:10.1111/hae.12730.
9. Rosendaal FR, Palla R, Garagiola I, Mannucci PM, Peyvandi F. Genetic risk stratification to reduce inhibitor development in the early treatment of hemophilia A: A SIPPET analysis. *Blood*. 2017;130:1757–1759. doi:10.1182/blood-2017-06.
10. Kreuz W. The role of VWF for the success of immune tolerance induction. *Thromb Res*. 2008;122(SUPPL. 2):S7–S12. doi:10.1016/S0049-3848(08)70003-3.
11. van Velzen AS, Peters M, van der Bom JG, Fijnvandraat K. Effect of von Willebrand factor on inhibitor eradication in patients with severe haemophilia A: a systematic review. *Br J Haematol*. 2014;166:485–495. doi:10.1111/bjh.12942.
12. Nagao A, Oka T, Han H, Sa A. Switching to low dose of plasma-derived factor VIII/vWF concentrates with Confact®-F as salvage immune tolerance induction in haemophilia A patients with inhibitors: five case reports from Japan. *Haemophilia*. 2015;21(5):e425–e427. doi:10.1111/hae.12728.

6.4 Artigo 4 (publicado)

Oomen I, Camelo RM, Rezende SM, Voorberg J, Mancuso ME, Oldenburg J, Carcao M, Matino D, Lillicrap D, Fischer K, Fijnvandraat K, Gouw SC; International Genetic and clinical determinants of the Outcome of Immune Tolerance Induction (GO-ITI) study group. Determinants of successful immune tolerance induction in hemophilia A: systematic review and meta-analysis. *Res Pract Thromb Haemost.* 2022 Dec 20;7(1):100020. doi: 10.1016/j.rpth.2022.100020. PMID: 36891524; PMCID: PMC9986104.

6.4.1 Resumo

A indução de imunotolerância (IT) é a única terapia conhecida para erradicar anticorpos (inibidores) anti-fator VIII (FVIII) em pessoas com hemofilia A. No entanto, este tratamento oneroso falha em 10%-40% dos pacientes. Para estimar a probabilidade de sucesso da IT para a tomada de decisão clínica, é importante identificar preditores de seu sucesso. Portanto, realizamos uma revisão sistemática e metanálise para resumir as evidências atuais sobre a associação entre determinantes e desfecho de IT em pessoas com hemofilia A. Uma busca na literatura foi realizada para incluir ensaios controlados aleatorizados, estudos de coorte ou de caso-controle relatando sobre preditores de desfecho da IT em pessoas com hemofilia A. O principal desfecho foi o sucesso da IT, de acordo com as definições usadas no estudo original. A qualidade metodológica foi avaliada usando uma lista de verificação adaptada do *Joanna Briggs Institute*, classificada como alta se $\geq 11/13$ critérios fossem atendidos. Os *odds ratios* (OR) agrupados para o sucesso da IT foram calculados para cada determinante. Foram incluídos 27 estudos, envolvendo 1.734 participantes. A qualidade metodológica de seis (22,2%) estudos (418 participantes) foi classificada como alta. O sucesso da IT foi definido como título de inibidor negativo ($< 0,6$ UB/mL), recuperação do FVIII $\geq 66\%$ do esperado e meia-vida do FVIII ≥ 6 h em 16 (59,3%) estudos. Vinte determinantes diferentes foram avaliados. Título de pico histórico < 100 UB/mL (OR 1,67, IC95% 1,35-2,07), título pré-IT < 10 UB/mL (OR 1,78, IC95% 1,40-2,26) e título de pico durante IT < 100 BU/mL (OR 2,66, IC95% 1,87-3,79) foram associados ao sucesso da IT. Em conclusão, nossos resultados sugerem que os determinantes relacionados ao título do inibidor estão associados ao sucesso da IT.

Received: 11 October 2022 | Revised: 31 October 2022 | Accepted: 9 November 2022

<https://doi.org/10.1016/j.rpth.2022.100020>

ORIGINAL ARTICLE

Determinants of successful immune tolerance induction in hemophilia A: systematic review and meta-analysis

Ilja Oomen MD^{1,2} | Ricardo M. Camelo MD^{3,4} | Suely Meireles Rezende MD, PhD³ |
 Jan Voorberg PhD² | Maria Elisa Mancuso MD, PhD⁵ |
 Johannes Oldenburg MD, PhD⁶ | Manuel Carcao MD, PhD⁷ | Davide Martino MD, PhD⁸ |
 David Lillcrap MD, PhD⁹ | Kathelijn Fischer MD, PhD¹⁰ |
 Karin Fijnvandraat MD, PhD^{1,2} | Samantha C. Gouw MD, PhD,^{1,4} | on behalf of the
 International Genetic and clinical determinants of the Outcome of Immune Tolerance Induction
 (GO-ITI) study group

¹Amsterdam University Medical Center location University of Amsterdam, Department of Pediatric Hematology, Meibergdreef 9, Amsterdam, The Netherlands

²Department of Molecular Hematology, Sanquin Research and Landsteiner Laboratory, Amsterdam, The Netherlands

³Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

⁴Department of Clinical Epidemiology, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands

⁵Center for Thrombosis and Hemorrhagic Diseases, Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Humanitas Research Hospital, Rozzano, Milan, Italy

⁶Department of Internal Medicine, University Clinic Bonn, University of Bonn, Bonn, Germany

⁷Division of Hematology/Oncology, Department of Pediatrics, Hospital for Sick Children, University of Toronto, Toronto, Canada

⁸Department of Medicine, McMaster University, University of Hamilton, Hamilton, Canada

⁹Department of Pathology and Molecular Medicine, Queen's University, Kingston, Canada

¹⁰Department of Hematology, Van Creveldkliniek, University Medical Center Utrecht, Utrecht, The Netherlands

Abstract

Background: Immune tolerance induction (ITI) aims to eradicate anti-factor VIII (FVIII) antibodies (inhibitors) in persons with hemophilia A. However, this burdensome treatment fails in 10% to 40%. To estimate the chance of ITI success in clinical decision making, it is important to identify the predictors of ITI success.

Objectives: We performed a systematic review and meta-analysis to summarize the current evidence on determinants of ITI outcome in persons with hemophilia A.

Methods: A literature search was conducted to identify randomized controlled trials, cohort, or case-control studies reporting on the predictors for ITI outcome in persons with hemophilia A. The main outcome was ITI success. Methodological quality was assessed using an adapted Joanna Briggs Institute checklist, rating as high if ≥ 11 of 13 criteria were met. Pooled odds ratios (ORs) for ITI success were calculated for each determinant. ITI success was defined as negative inhibitor titer (< 0.6 BU/mL), FVIII recovery $\geq 66\%$ of expected, and FVIII half-life ≥ 6 hours in 16 (59.3%) studies.

Results: We included 27 studies, involving 1,734 participants. Methodological quality of 6 (22.2%) studies (418 participants) was rated as high. Twenty different determinants were assessed. Historical peak titer ≤ 100 BU/mL (compared with > 100 BU/mL, OR, 1.7; 95% CI, 1.4-2.1), pre-ITI titer ≤ 10 BU/mL (compared with > 10 BU/mL, OR, 1.8; 95% CI, 1.4-2.3), and peak titer during ITI ≤ 100 BU/mL (compared with > 100 BU/mL, OR, 2.7; 95% CI, 1.9-3.8) were associated with a higher chance of ITI success.

Conclusion: Our results suggest that determinants related to the inhibitor titer are associated with ITI success.

© 2022 The Author(s). Published by Elsevier Inc. on behalf of International Society on Thrombosis and Haemostasis. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Res Pract Thromb Haemost. 2023;7:e100020
<https://doi.org/10.1016/j.rpth.2022.100020>

www.rpth.isth.org | 1 of 20

Correspondence

Samantha C. Gouw, Emma Children's Hospital, Meibergdreef 9, 1105 AZ, Amsterdam (Postbox 22660, 1100 DD, Amsterdam), The Netherlands
Email: s.c.gouw@amsterdamumc.nl

Funding information

I.O. was supported by an unrestricted research grant from Swedish Orphan Biovitrum (SOBI), the Heimburger Award and the Martin Villar research grant. S.C.G. received an unrestricted research grant from SOBI.

Handling Editor: J Mahlangu

KEYWORDS

hemophilia A, factor VIII, antibodies, immune tolerance, systematic review

Essentials

- Knowledge on determinants of immune tolerance induction (ITI) outcome may guide clinical decision making.
- In this systematic review we calculated pooled odds ratios for ITI success for each determinant.
- Historical peak titer, pre-ITI titer, and peak titer during ITI were associated with ITI outcome.
- Patient- and treatment-related determinants were not clearly associated with ITI outcome.

1 | INTRODUCTION

Hemophilia A is a congenital deficiency of factor VIII (FVIII), causing muscle and joint bleeds that can lead to severe disability [1]. It occurs due to mutations in the FVIII coding gene (*F8*), located at position Xq28 [2]. Bleeds in persons with hemophilia A are effectively treated with intravenous administration of plasma-derived (pdFVIII) or recombinant FVIII (rFVIII) [3]. However, a major complication of treatment is the development of neutralizing alloantibodies (inhibitors) against FVIII [4]. When this occurs, replacement therapy is less effective, resulting in a more challenging management of bleeding episodes with possible consequent worsening of musculoskeletal damage, health-related quality of life, and life expectancy [4]. Inhibitors occur in 5% to 10% of persons with non-severe hemophilia A, and in 25% to 35% of previously untreated persons with severe hemophilia A [5,6].

Bypassing agents, such as recombinant activated factor VII (rFVIIa) and activated prothrombin complex concentrate (aPCC) have been used to control bleeding in persons with hemophilia A and inhibitors [7–9]. However, the hemostatic effectiveness of bypassing agents is lower than that of replacement therapy, and their use as prophylactic agents has only led to partial success [10]. Recently, a humanized bispecific monoclonal antibody, emicizumab, which bridges activated factor IX and factor X, therewith mimicking FVIII activity, entered therapeutic armamentarium to prevent bleeds in people with hemophilia A, with and without inhibitors [11,12]. Emicizumab has been shown to be highly effective as a prophylactic agent administered subcutaneously according to standard dosing schedules across all ages and body weights [13,14]. However, it does not eliminate the need for treatment with FVIII during bleeding or surgery. In such settings, bypassing agents are still required with the additional caveat of increased thrombotic risk if aPCC is administered in setting of emicizumab [11,15,16]. Therefore, eradication

of inhibitors to restore the hemostatic effectiveness of FVIII represents a desirable treatment goal [17–19].

The recommended treatment strategy to eradicate inhibitors is immune tolerance induction (ITI), which consists of frequent administration of FVIII concentrate [20]. ITI regimens vary between low-dose consisting of 25–50 international units (IU)/kilogram (kg) three times a week to high-dose of ≥ 200 IU/kg/d [21]. Successful ITI eradicates the inhibitor and restores the hemostatic activity of FVIII in approximately 70% of cases with the advantage that bleedings are responsive to FVIII concentrates again [21,22]. However, ITI is an expensive treatment with estimated costs up to US\$ 11,388.00/kg/year for low-dose ITI regimen [23]. Moreover, ITI is a burdensome treatment for patients and caregivers [17]. In this light, it is of utmost importance to determine the predictors for ITI outcome to help clinicians identifying those at high risk of ITI failure upfront and thus enabling shared decision making on withholding ITI and choose alternative treatments, such as emicizumab, in such patients.

Previous studies have reported several patient-, treatment-, and inhibitor-related determinants of ITI outcome. Large *F8* gene deletions have been related to a poorer ITI outcome [24]. Furthermore, low pre-ITI (<10 Bethesda units [BU]/milliliter [mL]), low historical peak titer (<200 BU/mL), young age at start of ITI, and a short time interval between inhibitor detection as well as start of ITI have been associated with a favorable ITI outcome [25,26]. However, these studies reported inconsistent results, and were predominantly conducted in small populations.

Therefore, we performed a systematic review to summarize the currently available evidence on the association between patient-, treatment-, and inhibitor-related determinants and ITI success in persons with hemophilia A and inhibitors. Additionally, we performed a meta-analysis to pool the data to obtain more precise estimates of these associations with ITI success.

2 | METHODS

This systematic review is reported in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA) statement [27]. Inclusion and methodological quality criteria were specified and published in a protocol in advance in the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO)(registration number CRD42020219062). Methods on data analysis were drafted in this protocol but were adjusted to an appropriate model for the extracted data.

2.1 | Study eligibility criteria

2.1.1 | Studies

Randomized controlled trials, cohort, and case-control studies reporting on the determinants for ITI outcome in persons with hemophilia A, published as a peer-reviewed full paper, were eligible for inclusion without any restriction on publication date. Only studies written in English were included.

2.1.2 | Participants

Studies including adult and pediatric persons with mild (FVIII 0.05-0.40 IU/mL), moderate (FVIII 0.01-0.05 IU/mL), and severe (FVIII <0.01 IU/mL) congenital hemophilia A with inhibitors who underwent ITI were eligible for inclusion. Any type of treatment intended to eradicate inhibitors was considered as ITI, regardless of ITI product, FVIII dose, or infusion frequency. The first ITI trial for persons with hemophilia A and inhibitor was defined as primary ITI. Any ITI trial after the first one was defined as rescue ITI.

2.1.3 | Endpoints

The primary outcome was complete ITI success, defined according to the definitions of the investigators of the original studies. Non-complete ITI response included partial response and ITI failure, both defined according to the definitions used in the original studies.

2.1.4 | Determinants

Any patient-, treatment-, or inhibitor-related determinant reported in included studies was evaluated. Ethnicity of participants was categorized as White or Non-White, or as African-American, or Non-African-American [28]. *F8* variants were categorized into high-risk and low-risk for our analysis [29]. High-risk mutations include intron 22 inversions, intron 1 inversions, large deletions, and nonsense mutations [29]. Low-risk mutations include small deletions or insertions, missense mutations, or splice site mutations [29]. ITI dosing was

categorized into low- (≤ 50 IU/kg/d), intermediate- (50-200 IU/kg/d), and high-dose ITI (≥ 200 IU/kg/d) [21]. Adjuvant therapy included intravenous immunoglobulin, steroids, cyclophosphamide, or rituximab [30]. Inhibitor response was categorized into high-, or low-responding inhibitors, if the lifelong peak titers were ≥ 5 BU/mL or < 5 BU/mL, respectively [31]. Historical peak titer was defined as the highest measured inhibitor titer before ITI. Pre-ITI titer was defined as the most recent inhibitor titer measured before ITI start. Peak titer during ITI was defined as the highest measured inhibitor titer during ITI treatment.

2.1.5 | Information sources

Studies were identified by searching MEDLINE (<1946-present) and Embase (<1947-present).

2.2 | Search

We used the following search terms: "hemophilia" and "immune tolerance." The full search for each database is listed in [Supplementary Tables S1 and S2](#). The search was designed and supervised by an information expert (R. Spijker, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands). The first search was conducted on February 15, 2021. An updated search was run on December 29, 2021.

2.3 | Study selection

Title and abstracts were examined by 2 independent reviewers (IO and RMC) to identify potentially relevant studies. Full texts of selected articles were reviewed to assess their eligibility for inclusion, by the same 2 independent reviewers. Any doubt or disagreement between the 2 independent reviewers was discussed with a methodological expert (SCG).

2.4 | Data collection process

Duplicate articles were identified and excluded by checking the authors' names, affiliations, and catchment areas. If studies included overlapping patient cohorts evaluated during the same period, we included the most recent study, the study with the largest number of participants, or the study with the highest methodological quality.

2.5 | Data extraction and management

Data extraction was performed by two investigators (IO and RMC) using a structured electronic data collection form. We contacted all corresponding authors of the studies with missing data by email among which 2 out of 7 responded to our request. The requested data

included ethnicity, *F8* genotypes, age at inhibitor development or ITI start, interval between inhibitor development and ITI start, ITI product and regimen, and inhibitor titers (historical peak titer, pre-ITI titer, and peak titer during ITI).

2.6 | Data items

The following data were extracted from each included study: study characteristics (name of the first author, year of publication, number of persons included, country, study design, inclusion criteria, and outcome definitions); patient characteristics (age, hemophilia severity, ethnicity, and *F8* genotype); treatment characteristics (ITI regimen, including dose, frequency, and product, age at inhibitor development, interval between inhibitor detection and ITI start, age at ITI start, and ITI outcome definitions); inhibitor characteristics (number of exposure days before inhibitor development, historical peak titer, pre-ITI titer, and peak titer during ITI); and the cumulative incidence of ITI success as well as partial response or failure.

2.7 | Summary measures

Treatment characteristics were described using median and IQR or range for continuous variables and numbers and proportions for categorical variables. Numbers and proportions were summarized for complete ITI success. Odds ratios (ORs) were extracted from the reports or calculated from the reported data, as we aimed to use most of the available data. Odds ratios (ORs) with 95% CI were calculated for each determinant of ITI success. Relative risk (RR) with 95% CI, was also calculated to report the most precise estimates because OR, can substantially overestimate RR [32]. Exact 95% CI, were calculated using an online tool for the analysis of epidemiologic data (<http://epitools.ausvet.com.au>). No missing data were imputed. The OR, with 95% CI, for each determinant were plotted in forest plots. Results were presented for primary and rescue ITI separately.

2.8 | Data exploration

To explore the within-study and between-study variability (heterogeneity), we visually assessed the extent of overlap in 95% CI, of the OR, in forest plots. In addition, we estimated τ^2 which is an estimate of between-study variance [33].

2.9 | Data synthesis

As clinical and methodological heterogeneity was limited, we calculated the pooled OR, for each determinant. Conventional methods for meta-analysis can be biased when determinants are rare in the study

population and when continuity corrections are used [34]. Therefore, we applied the hypergeometric-normal model for the meta-analysis of predictors for ITI outcome [35]. The meta-analysis was performed in R (version 4.0.3), using the metaphor package for random effects [35].

The pooled OR, with 95% CI, of each determinant for ITI outcome were plotted in a summary plot.

2.10 | Data evaluation

2.10.1 | Small study data trends

We evaluated whether small study data trends were present by visually assessing the asymmetry of forest plots after arranging the studies by study sample size [36].

2.10.2 | Sensitivity analysis

We performed the following sensitivity analyses: the first sub analysis only included studies among persons with severe hemophilia A; the second only included studies with more than 20 participants, the third only included studies in which complete ITI success was defined in accordance to the definition used in the International ITI study [21], the fourth only included intermediate- or high-quality studies, and in the fifth sub analysis ITI success was alternatively defined as both partial and complete success, and compared with failures.

2.11 | Quality assessment

The critical appraisal of studies was assessed by 2 reviewers independently (IO and RMC). The Joanna Briggs Institute (JBI) checklists for cohort and cross-sectional studies were combined and adapted to assess the methodological quality of each included study (Supplementary Tables S3 and S4) [37–58] (<https://jbi.global/critical-appraisal-tools>). Studies were classified as high quality if ≥ 11 of 13 criteria and intermediate quality if $\geq 8/13$ criteria were met. A score of ≤ 7 was considered as low quality.

3 | RESULTS

3.1 | Study selection

The process of study selection is depicted in Figure 1. Our literature search yielded 1,021 unique references. After screening titles and abstracts, 89 reports were potentially eligible for inclusion. After reading full texts and applying the inclusion criteria, 27 studies were included. Reasons for exclusion of studies after full text screening included duplicate publications of results ($n = 11$), not meeting the inclusion

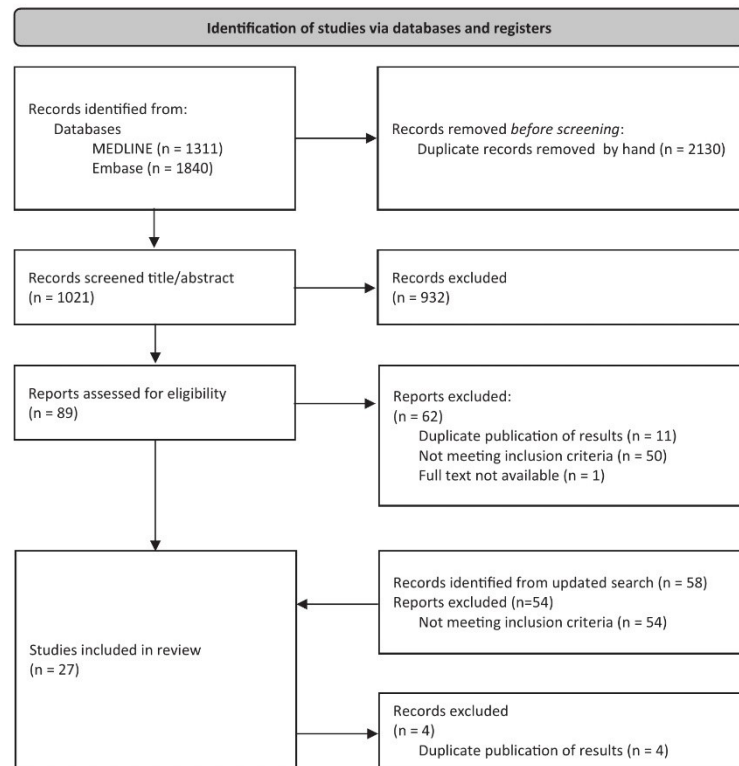


FIGURE 1 Flow chart of study selection. The first literature search was conducted on February 15, 2021. After study selection, 27 studies were eligible for inclusion. The search was updated on December 29, 2021. Four studies were eligible for inclusion; however, these cohorts overlapped with previously included studies. Therefore, we had to exclude 4 studies. In total, 27 studies were included in this systematic review and meta-analysis.

criteria (n = 50), or full text not available (n = 1). Our updated search yielded another 58 reports, of which 4 were eligible for inclusion. We excluded 4 originally included studies because these cohorts overlapped with the studies included after the search update. Finally, 27 studies were selected. [Supplementary Table S5](#) summarizes the list of studies that appeared to meet the inclusion criteria but were excluded after further inspection.

3.2 | Included studies

The characteristics of the included studies are summarized in [Table 1](#) [37–58]. Eleven studies were conducted in Europe; 5 in the USA; 4 in Asia; 2 in Africa; 1 in Canada; 1 in USA and Canada; 1 in Europe and Canada; 1 in Europe, USA, Canada, and Australia; and the origin was unknown in one study. One study was a randomized controlled trial, and the other 26 (96%) were cohort studies.

3.2.1 | Participants

The number of subjects per study varied from 10 to 314. The studies included a total of 1,734 persons with hemophilia A, of whom 1,496 (86.3%) had severe hemophilia A and 68 (3.9%) had non-severe hemophilia A, and 170 (9.8%) participants had an unknown severity. Most studies (63.0%) involved both adults and children with hemophilia A, and another nine (33.3%) studies included only children less than 18 years (one study defined children aged less than 20 years [58]). The age of study participants was unknown in 1 (3.7%) study [24]. Studies described mainly primary ITI courses administered to 1,679 (96.8%) participants, whereas rescue ITI represented only 4.4% of cases (77 participants). For 22 (1.2%) participants, data for both primary and rescue ITI were available [31]. Almost a quarter of the participants self-identified as White (n = 410; 23.6%), 49 (2.8%) as African-American, 228 (13.1%) as Asian, and 118 (6.8%) as being of

TABLE 1 Study characteristics

Source	Year	N	Country	Study cohort	Inclusion criteria	Severe %	Ethnicity %	F8 genotype %	ITI outcome definitions			Quality
									Complete success	Partial success	Failure	
Barnes [37]	2006	32	Canada	MC	†	94	66 white, 9 African American, 16 Asian, 9 others	na	(A) ‡ (n = 12) (B) (i) Negative inhibitor; (ii) normal recovery (n = 4); (C) Negative inhibitor (n = 6); (D) No criteria (n = 1)	na	na	+/-
Batorova [38]	2016	19	Slovakia	MC	Children (≤18 y)	100	na	32 Int22Inv, 5 Int1Inv, 21 small deletion, 26 missense mutation, 16 nonsense mutation	‡	(i) Negative inhibitor; (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life; (iii) Clinical response to FVIII therapy without an anamnestic increase	(A) Inability to eradicate inhibitor; (B) Inability to install an effective prophylaxis within 36 mo of ITI	+/-
Callaghan [39]	2011	31	US	SC	Children (≤18 y)	100	26 white, 61 African American, 13 others	na	‡	na	(A) Inability to achieve CS in 22 mo; (B) ≤20% decrease inhibitor titer over a 6-mo period after 3 mo ITI	+
DiMichele [25]	2002	164	US, Canada	MC	†	93	63 white, 13 Asian, 24 others	na	‡	na	(A) ineffectiveness ITI; (B) self desire to terminate ITI; (C) CVAD complications; (D) adverse reaction to therapy; (E) loss of medical insurance; (F) patient relocation;	+/-

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

Source	Year	N	Country	Study	Inclusion cohort criteria	Severe %	Ethnicity %	F8 genotype %	ITI outcome definitions			Quality
									Complete success	Partial success	Failure	
Di Minno [40]	2021	137	Italy	MC	HR inhibitors	100	na	53 Int1/22Inv, 7 small deletion, 8 small insertion, 9 large deletion, 3 missense, 8 nonsense, 3 splice site		(A) Inhibitor <5 BU/mL; (B) Inability to normalize FVIII recovery or half-life	(A) Inability to achieve CS in 33 mo; (B) ≤20% decrease inhibitor titer over a 6-mo period after 3 mo ITI	+/-
Dou[41]	2021	110	China	MC	†	na	na	na	Negative inhibitor (<0.6 BU/mL)	na	na	-
El Alfy[42]	2000	10	Egypt	SC	Children (<18 y)	100	na	na	(i) Inhibitor <2 BU/mL; (ii) FVIII recovery ≥60%; (iii) absence of anamnestic response on subsequent FVIII exposure	na	No decrease inhibitor titer over a 6-mo period	+/-
Elafly[43]	2021	20	Egypt	MC	Children (2-18 y); HR inhibitors	100	other	na	(i) Negative inhibitor (<0.6 BU/mL); (ii) FVIII recovery >66%	(i) Inhibitor <5 BU/mL; (ii) FVIII recovery <66%	Inability to achieve CS/PS in 24 mo	+/-
Escobar[44]	2020	13	US	MC	†	92	15 white, 46 African American, 8 Asian, 31 others	31 Int22Inv, 15 small deletion		(i) Inhibitor <5 BU/mL; (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life; (iii) Clinical response to FVIII therapy without an anamnestic increase	Inability to achieve CS/PS	+/-

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

Source	Year	N	Country	Study	Inclusion cohort criteria	Severe %	Ethnicity %	F8 genotype %	ITI outcome definitions			Quality
									Complete success	Partial success	Failure	
Greninger [45]	2008	11	US	SC	HR inhibitors; treatment (≥1) with Alphanate	100	46 white, 9 African American, 9 Asian, 36 others	36 Int22Inv, 9 small deletion, 9 missense, 18 nonsense, 9 splice site	‡	(i) Negative inhibitor (<0.6 BU/mL); (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life	Inability to achieve CS/PS	+/-
Hay[21]	2012	115	na	MC	Children (<8 y); Peak inhibitor titer ≥5 - ≤200. Pre-ITI titer ≤10 BU/mL	100	51 white, 8 African American, 20 Asian, 20 others	na	‡	(i) Negative inhibitor (<0.6 BU/mL); (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life; (iii) Clinical response to FVIII therapy without an anamnestic increase	(A) Inability to achieve CS in 33 mo; (B) ≤20% decrease inhibitor titer over a 6-mo period after 3 mo ITI; (C) Withdrawal from study	+
Hay[46]	2001	42	Spain	MC	†	83	na	na	(i) Negative inhibitor; (ii) FVIII half-life ≥8 hours	(i) Immune response shifted from a high- to low responder (<10 BU/mL)	No decrease inhibitor titer	+/-
Kreuz[47]	2016	48	Croatia, Germany, Poland, Portugal, Russia, Slovakia, Slovenia, Spain	MC	†	83	96 white	na	‡	(i) Negative inhibitor (<0.6 BU/mL); (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life	(A) Inability to achieve CS/PS in 36 mo; (B) Withdrawal from study	+
Kurth[30]	2011	33	US	MC	HR inhibitors; Treatment with pdFVIII/VWF	100	54 white, 24 African American, 6 Asian, 15 others	na	‡	(i) Inhibitor titer <5 BU/mL; (ii) Clinical response to FVIII therapy without an anamnestic increase	(A) Inability to achieve CS in 33 mo; (B) ≤20% decrease inhibitor titer over a 6-mo period after 3 mo ITI	+/-
Lapalud[48]	2015	15	France	MC	Children (≤6 y); HR inhibitors; Follow-up ≥33 mo	100	na	na	‡	na	Inability to achieve CS/PS	+/-

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

Source	Year	N	Country	Study	Inclusion cohort criteria	Severe %	Ethnicity %	F8 genotype %	ITI outcome definitions			Quality
									Complete success	Partial success	Failure	
Lenk[49]	2000	140	Germany	MC	†	87	na	na	(i) Therapy completed; (ii) Normal FVIII recovery; (iii) Normal FVIII half-life	(i) Inhibitor ≤ 2 BU/mL; and/or (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life	Inability to achieve CS/PS (lack of compliance, additional diseases or death included)	-
Lin [50]	2011	29	Taiwan	SC	†	93	na	na	(i) Negative inhibitor (<0.6 BU/mL); (ii) Absence of anamnestic response on subsequent FVIII exposure	>50% reduction of inhibitor titer; (ii) Clinical response to FVIII therapy; (iii) No need for bypass therapy	No decrease inhibitor titer	+
Mariani[51]	2001	314	Australia, Canada, Europe, Japan, US	MC	†	100	na	na	‡	Immune response shifted from a high- to low responder	No decrease inhibitor titer	+/-
Nakar[52]	2015	58	US	MC	†	95	85 white, 2 African American, 2 Asian, 10 others	48 Int22Inv, 2 Int1Inv, 10 small deletion, 2 small insertion, 16 missense, 3 nonsense, 3 frame shift	(i) Negative inhibitor; (ii) Ability to use FVIII concentrate for treatment of bleeding	(i) Inhibitor titer 1-5 BU/mL; (ii) Ability to use FVIII concentrate for treatment of bleeding	(A) Inability to achieve CS/PS in 36 mo; (B) Withdrawal from study	+
Nogami[31]	2018	155	Japan	MC	†	90	Asian	na	Negative inhibitor	na	No decrease inhibitor titer under threshold	+/-
Oldenburg [53]	2014	60	Germany, Italy, Spain	MC	Treatment with high-purity pdFVIII/VWF.	na	88 white, 12 others	na	‡	(i) Negative inhibitor (<5 BU/mL); (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life; (iii) Clinical response to FVIII therapy without an anamnestic increase	Inability to achieve CS/PS	+/-

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

Source	Year	N	Country	Study cohort	Inclusion criteria	Severe %	Ethnicity %	F8 genotype %	ITI outcome definitions			Quality
									Complete success	Partial success	Failure	
Rivard[54]	2013	32	Canada, France, Greece, Italy, Spain	MC	Children (<8 y); Treatment with rFVIII-FS; HR inhibitors; Treatment ≥9 mo	100	78 white, 6 African American, 6 Asian, 9 others	na	(A) (i) Negative inhibitor; (ii) Normal FVIII recovery (n = 9); (B) Negative inhibitor (n = 8); (C) ‡ (n = 5)	na	na	+/-
Rocino[55]	2016	71	France, Germany, Italy, Netherlands, Portugal, Spain, Sweden	MC	Follow-up ≥12 mo	100	na	61 Int22Inv, 3 Int1Inv, 9 small deletion, 5 large deletion, 6 nonsense, 6 splice site	‡	(i) Negative inhibitor (<0.6 BU/mL); (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life; (iii) Clinical response to FVIII therapy without an anamnestic increase	Inability to achieve CS/PS within 9 mo follow-up	+/-
Ryu[56]	2015	17	Korea	SC	Historical titer >5 BU/mL; Pre-ITI titer <10 BU/mL	100	Asian	35 Int1Inv, 12 small deletion, 29 nonsense, 24 frame shift	‡	(i) Immune response shifted from a high- to low responder; (ii) Ability to use FVIII concentrate for treatment of bleeding	No decrease inhibitor titer for 10 wk	+/-
Salviato[24]	2007	16	Italy	MC	†	100	na	31 Int22Inv, 19 small deletion, 13 large deletion, 31 nonsense, 6 splice site	na	na	na	-
Ter Avest [57]	2010	21	Netherlands	SC	Children (<6 y) Low dose ITI treatment	100	White	52 Int22Inv, 14 small deletion, 29 large deletion	‡	(i) Negative inhibitor (<0.6 BU/mL); (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life; (iii) Clinical response to FVIII therapy without an anamnestic increase	(A) No decrease inhibitor titer for ≥ 26 wk ITI treatment; (B) Switch to a high dose regimen	+/-

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

Source	Year	N	Country	Study inclusion cohort criteria	Severe %	Ethnicity %	F8 genotype %	ITI outcome definitions			Quality
								Complete success	Partial success	Failure	
Unuvar[58]	2008	21	Turkey	MC Children (≤20 y); HR inhibitors	95	na	na	+	(i) Inhibitor titer <5 BU/mL; (ii) Clinical response to FVIII therapy without an anamnestic increase	(A) Inability to achieve CS/PS within 6-36 mo follow-up; (B) No decrease inhibitor titer <5 BU/mL	+/-

Abbreviations: na = not available, N = number of participants, ITI = immune tolerance induction, SC = single center, MC = multicenter, HR inhibitors = High-responding inhibitor ≥5 BU/mL, Int22Inv = intron 22 inversion, Int1Inv = intron 1 inversion, Int1/22Inv = Intron 1 or Intron 22 inversion, y = year, CS = complete success, PS = partial success, BU = Bethesda Unit, rFVIII-FS = recombinant FVIII formulated with sucrose, pdFVIII/VWF = plasma-derived FVIII containing von Willebrand Factor.

Study quality scored according to the JBI checklist as follows: + high-quality, +/- intermediate-quality, - low quality.

[†]Inclusion criteria (i) hemophilia A; (ii) inhibitor; (iii) ITI treatment.

[‡]ITI success defined according to the International ITI study: (i) Negative inhibitor (<0.6 BU/mL); (ii) FVIII recovery >66%; (iii) FVIII half-life >6 hours; (iv) Absence of anamnestic response on subsequent FVIII exposure[21]

other ethnicities. The ethnicity was unknown in 929 (53.6%) persons. Nine studies (33.3%) reported the persons' F8 genotypes.

3.2.2 | Primary ITI treatment characteristics

In 24 (88.9%) studies, information on FVIII product for ITI was given, with similar distribution among participants (pdFVIII for 41.1%; rFVIII for 43.8%, Table 2). A quarter of persons (435 of 1,679, 25.9%) received low-dose ITI, 455 (27.1%) persons intermediate-dose ITI, and 245 (14.6%) participants high-dose ITI. A combination of these regimens was given in 19.5% (328 of 1,679) of cases. The dose and infusion frequency were unknown in 12.9% of primary ITI treatments.

3.2.3 | Rescue ITI treatment characteristics

In total, 5 studies reported on rescue ITI, involving 77 persons with hemophilia A (Table 3). Fifty-eight (75.3%) participants received pdFVIII, and 19 (24.7%) received rFVIII. The ITI regimens were different among all studies.

3.2.4 | Complete ITI success definitions

The definition for complete ITI success varied among studies. Sixteen (59.3%) studies used the following definition for complete ITI success : (i) negative inhibitor titer (<0.6 BU/mL); (ii) FVIII recovery >66%, and (iii) FVIII half-life ≥6 hours. Other definitions used for ITI outcome are presented in Table 1.

3.3 | Methodological quality of studies

The methodological quality was high in 6/27 (22.2%) studies, as these met at least 11 criteria from the adapted JBI checklist (Supplementary Table S4) [37–58]. None of the 27 studies met all the criteria. Most frequently, this was because no strategies were described to adjust for potential confounding factors.

3.4 | Results of individual studies

The reported and calculated RRs and ORs for associations between patient-, treatment-, and inhibitor-related determinants and ITI success for primary ITI outcome are presented in Supplementary Tables S6–S8. The rescue ITI findings are presented in Supplementary Tables S9–S11. The cumulative incidence of complete ITI success in persons with hemophilia A receiving primary ITI varied from 26.3% to 88% and for rescue ITI from 28.6% to 71.2%. In total, 20 determinants of ITI outcome were reported in the included studies or were re-categorized from raw data reported in the studies.

TABLE 2 Treatment characteristics for primary ITI

Source	No. of participants	ITI regimen (%)	ITI Product (%)		Age at inhibitor detection (mo)	Interval ID - ITI start (mo)	Age at ITI start (mo)	No. of exposure d before inhibitor administration	Pre-ITI titer	Historical peak titer	Peak titer on ITI	Outcome (%)			
			pd	r								CS	PS	F	
Barnes [37]	32	50 IU/kg 3-4x/wk (28); 100 IU/kg/d (72)	6	88	6	25.2 (14.4-55.2)	3.5 (0.3-19.2)	na	na	3.3 (15-7.8)	8.5 (4.3-67.8)	13.5 (0-126.5)	79.3	na	20.7
Batorova [38]	19	50 IU/kg 2x/d (for 2-3w); 50 IU/kg 3-4x/wk (42); 100 IU/kg 2x/d (58)	68	32	0	22.8 (16.8-156)	na	60 (18-180)	25 (15-32)	1.2 (0.6-3.4)	7.8 (2.8-20)	3.6 (1.9-4.6)	78.9	10.5	5.3
Callaghan [39]	31	50 IU/kg 3-4x/wk (74); 50-250 IU/kg/d (26)	26	68	6	13 (2-141 ¹)	13.3 (7.3-36.5)	56.5 (16.4-139.7)	7.5 (4.5-13.8)	4.4 (1.3-22)	34 (7.1-153)	22 (2-139)	71.0	na	29.0
DiMichele [25]	164	Alternate day dosing (21); ≥100 IU/kg/d (47); ≥200 IU/kg/d (7) Unspecified (25)	25	75	0	na	55.8 ⁰ (0-256 ¹)	111.6 ⁶ (1.2-768 ⁷)	na	CS/19.5 (0-230) F/61.3 (0-523)	CS/130 (5-4833) F/571 (6-9999.5)	CS/154 (0-1770) F/619 (34-3500)	70.1	na	29.9
Di Minno [40]	137	50 IU/kg 3x/wk (24); 100 IU/kg/d (42); 200 IU/kg/d (34)	27	73	0	30 (1-576)	19 (<1-332)	57.6 (6-702)	15 (3->150)	4.5 (0-200)	64 (6-920)	na	51.1	15.3	33.6
Dou [41]	110	100 IU/kg/d (7); 50 IU/kg/d (21); 50 IU/kg/ 1x/2d (72)	82	16	3	na	na	72 (36-114)	na	na	na	na	64.9	na	35.1
El Alfy [42]	10	25 IU/kg 3-4x/wk (40); 50 IU/kg 3-4x/wk (60)	na	na	na	na	na	66 (27-126)	32 (18.8-95)	43 (19.5-61.8)	44.5 (25.5-62.5)	na	80	na	20
Elalfy [43]	20	50 IU/kg 3x/wk	100	0	0	na	8.5 (0.5-33)	60 (36-144)	na	36.5 (12-169)	62 (2-412)	41 (8-320)	60	20	20
Escobar [44]	6	100 IU/kg/d	100	0	0	84 (63-384)	NA	402 (318-495)	na	1.0 (0.6-13.5)	33.4 (1.2-118.6)	na	83.3	na	16.7
Greninger [45]	7	≤700 IU/kg/wk (57); 1400 IU/kg/wk (43);	100	0	0	30 (12-97.5)	16 (0-207.5)	97.5 (28-264)	na	5 (1.4-27)	89 (5-200)	10 (5-46)	71.4	28.6	0
Hay [21]	115	50 IU/kg 3x/wk (50)††† 200 IU/kg/d (50)†††	11	89	0	na	na	15.6 (10.7-23.2)††† 14.4 (11.4-25.3)†††	na	5.9 (3.3-7.3)††† 5.1 (3-7.4)†††	21.7 (13.4-52.5)††† 22.4 (12.5-50)†††	40.1 (7.6-150)††† 33 (1.5-205)†††	69.7	4.5	25.8

(Continues)

TABLE 2 (Continued)

Source	No. of participants	ITI regimen (%)	ITI Product (%)			Age at inhibitor detection (mo)	Interval ID - ITI start (mo)	Age at ITI start (mo)	No. of exposure d before inhibitor administration	Pre-ITI titer	Historical peak titer	Peak titer on ITI	Outcome (%)		
			pd	r	pd+r								CS	PS	F
Haya [46]	42	140 IU/kg/d	87	13	0	na	25 (12-78)	84 (48.0-177)	29 (3-250 ^b)	11 (5.5-30)	76 (29.8-340)	na	68.4	5.3	26.3
Kreuz [47]	48	50-100 IU/kg/d (13) 100 IU/kg 2x/d (88)	100	0	0	37.2 (8.4-298.8 ^b)	na	69.6 (9.6-337.2 ^b)	na	12.5 (0.6-9736)	na	na	70.8	8.3	20.8
Kurth [30]	8	50 IU/kg/d (13) 100-200 IU/kg/d (88)	100	0	0	32 (17-41)	na	41 (28.8-78.8)	na	24.5 (1.8-73.5)	250.5 (49.5-735.3)	na	37.5	37.5	25
Lapalud [48]	15	≤450 IU/kg/wk (47) 700-1400 IU/kg/wk (53)	27	73	0	na	7.1 (0.8-10.9)	22.3 (14.6-46.2)	na	10 (2.3-15)	30 (12.5-181.3)	241 (70-1334)	46.7	na	53.3
Lenk [49]	140	na	na	na	na	132 ^e	na	154.8 ^e	na	na	na	na	78.6	8.7	12.7
Lin [50]	29	30-100 IU/kg/d to 3-4x/wk	0	100	0	na	HR 36 (12.5-49)	204 (7.2-540) 306 (19.2-540)	na	0.85 (0.6-1.6) ^f 5 (2.8-367.5)	40 (16-49)	1.0 (0.7-3.3) ^g 15 (5.8-442)	84.6	11.5	3.8
Mariani [51]	314	<50 IU/kg/d (25) 50-99 IU/kg/d (23) 100-199 IU/kg/d (20) ≥200 IU/kg/d (32)	88	12	0	48 (<12-768 ^b)	17 (<1-379 ^b)	na	na	7 (0-720 ^b)	54 (1-25,000 ^b)	na	44.6	7.3	21.0 ^e
Nakar [52]	58	≥100 IU/kg/d	26	74	0	18 (1.3-603.6 ^d)	na	na	na	na	na	na	88	na	12
Nogami [31]	155	≤75 IU/kg 3x/wk (52); ≥90 IU/kg/d (12); Other (30) Unclassified (5)	13	87	0	14.4 (10.8-25.2)	7.2 (2.4-26.4)	na	NA	3.9 (1.7-7.9)	14 (3.7-46)	na	60.6	na	24.5 ^f
Oldenburg [53]	32 ^c 9 ^d	<100 IU/kg/d (22) ^a ≥100 IU/kg/d (78) ^a	100	0	0	na	na	20.4 (0.7-206.4 ^b) ^c 422.4 (277.2-638.4 ^b) ^d	na	5.7 (0.7-831 ^b) ^e 7.4 (1.0-109 ^b) ^d	20 (1.7-6842 ^b) ^e 73 (11.2-737 ^b) ^d	na	63.4	24.4	12.2
Rivard [54]	32	<85 IU/kg/d (34) ≥85 IU/kg/d (66)	0	100	0	12 (0-48 ^b)	8.7 (0.2-38.9 ^b)	24 (0-60 ^b)	13.5	na	na	na	68.8	na	31.2
Rocino [55]	71	50-≥200 IU/kg/d to 3-4x/wk	17	83	0	20.4 (2.6-492 ^b)	na	45.6 (5.3-492.2 ^b)	15 (2-43 ^b)	4 (0-165 ^b)	18.5 (0.8-704 ^b)	43 (0.5-16,384 ^b)	71.8	12.7	15.5
Ryu [56]	17	<25 IU/kg 3x/wk (6); <50 IU/kg/d (6); 75-100 IU/kg 3x/wk	65	24	12	24 (12-36)	57.6 (29.4-109.8)	69.6 (44.4-148.8)	16 (12-47)	3.7 (2.1-5.9)	30.8 (12.6-56.8)	14.4 (3.3-39.6)	82.4	5.9	11.8

(Continues)

TABLE 2 (Continued)

Source	No. of participants	ITI regimen (%)	ITI Product (%)			Age at inhibitor detection (mo)	Interval ID - ITI start (mo)	Age at ITI start, (mo)	No. of exposure d before inhibitor administration	Pre-ITI titer	Historical peak titer	Peak titer on ITI	Outcome (%)		
			pd	r	pd+r								CS	PS	F
		(65): 90-110 IU/kg/d (24)	na	na	na	na	na	na	4.4 (1.5-8)	300 (72-976)	na	68.8	na	31.3	
Salviato [24]	16	na	na	na	na	na	na	na	4.4 (1.5-8)	300 (72-976)	na	68.8	na	31.3	
Ter Avest [57]	21	25-50 IU/kg 2-4x/wk (86); From LD to HD (14)	48	52	0	19 (13.5-28)	na	na	17 (10.5-35)	4.5 (2.5-14.8)	na	4.6 (1.7-16.4)	85.7	na	14.3
Unuvar [58]	21	20-50 IU/kg 2x/wk (57); 50 IU/kg 3x/wk (5); 50 IU/kg 3x/wk; HD VWF/FVIII (5); 25 IU/kg 3x/wk (10); 30 IU/kg 3x/wk (19); Dutch protocol (5)	100	0	0	na	2.5 (0.3-60 ^b)	108 (42-138)	25 (14-64.5)	19.2 (3.6-515 ^c)	80 (6-517 ^d)	27 (2.5-517 ^e)	26.3	36.8	36.8

Numbers are reported as median (IQR), unless states otherwise.

CS, complete success; F, failure; H, high dose; HR, high-responding inhibitor ≥ 5 BU/mL; IU, international unit; ITI, immune tolerance induction; kg, kilogram; L, low dose; LR, low-responding inhibitor < 5 BU/mL; na, not available; PS, partial success; pd, plasma-derived FVIII; r, recombinant FVIII; pd+r, plasma-derived and recombinant FVIII.

^aBoth primary and rescue ITI.

^bRange.

^cChildren.

^dAdults.

^eReported numbers of the largest group.

^fOne person died while on ITI, therefore the ITI outcome is not available in 5.3%.

^gData was insufficient to evaluate ITI outcome in 37 persons (11.8%) and ITI was ongoing in 48 persons (15.3%).

^hITI was ongoing in 23 patients (14.8%).

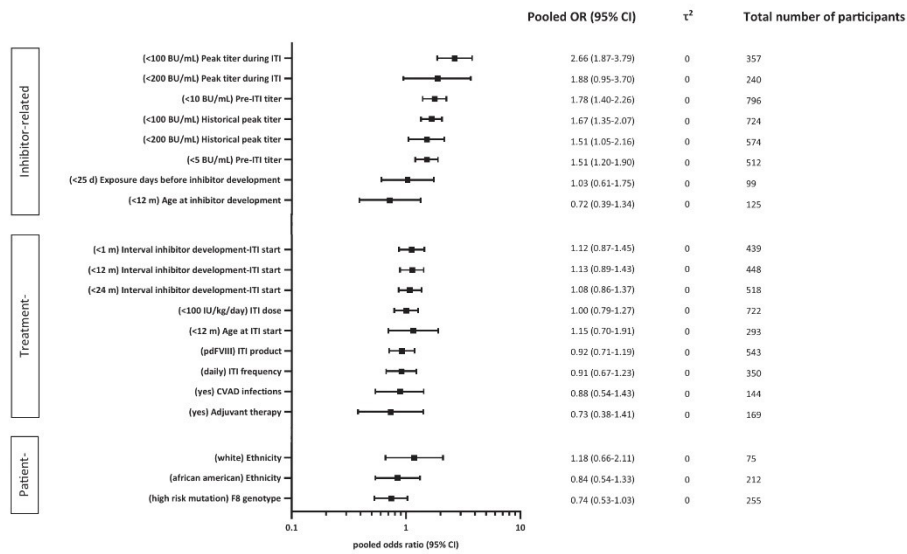


FIGURE 2 Pooled odds ratio (ORs) of determinants for complete success in primary ITI (immune tolerance induction). All presented pooled ORs show the chance for complete ITI success. Every determinant is categorized in 2 groups and the reference group is reported. For example, the pooled OR, for peak titer during ITI <100 BU/mL shows a 2.66 increased chance for complete ITI success compared to ≥ 100 BU/mL. On the other hand, the pooled OR, for age at inhibitor development ≤ 12 months shows a 0.72 decreased chance for complete ITI success, thus favoring persons older than 12 months.

3.5 | Data synthesis

The pooled ORs of each determinant of complete ITI success of primary ITI are presented in Figure 2.

3.5.1 | Patient-related determinants of primary ITI

There was no clear association between ethnicity and ITI outcome. Persons with hemophilia A with high-risk mutations had a 26% lower probability to achieve complete ITI success (pooled OR, 0.7; 95% CI, 0.5-1.0), compared with those with low-risk mutations.

3.5.2 | Treatment-related determinants of primary ITI

Eight treatment-related determinants were interrogated for their impact on complete ITI success. Different ITI regimens, including product type, FVIII dose and infusion frequency were not clearly associated with ITI outcome. Neither were the time interval between inhibitor development and ITI start, Central Venous Access Device (CVAD)-infections during ITI, nor adjuvant therapy associated with ITI outcome.

3.5.3 | Inhibitor-related determinants of primary ITI

Persons with hemophilia A with historical peak titers ≤ 100 BU/mL, pre-ITI titer ≤ 10 BU/mL, and peak titer during ITI ≤ 100 BU/mL were 1.7 to 2.7 times more likely to achieve complete ITI success than the persons with hemophilia A with respective high inhibitor titers (pooled OR, 1.7; 95% CI, 1.4-2.1; 1.8; 95% CI, 1.4-2.3; and 2.7; 95% CI, 1.9-3.8, respectively). The cumulative number of exposure days to FVIII products and the age of inhibitor development were not associated with ITI outcome.

The data for patient-, treatment-, and inhibitor-related determinants of rescue ITI were not pooled because of the limited studies reported on rescue ITI and the low number of participants included in this sub-cohort.

3.6 | Data evaluation

3.6.1 | Small study data trends for primary ITI

Forest plots sorted by study sample size did not reveal any small study data trends (Supplementary Fig. S1A-S20A).

TABLE 3 Treatment characteristics for rescue ITI

Source	No. of participants	ITI regimen (%)	ITI Product (%)		Age at inhibitor detection (m)	Interval ID - ITI start (m)	Age at ITI start, (m)	No. of exposure d before inhibitor administration	Pre-ITI titer	Historical peak titer	Peak titer on ITI	Outcome (%)		
			pd	r								CS	PS	F
Escobar [44]	7	100 IU/kg/d	100	0	24 (12-36)	na	126 (60-384)	na	17 (2.4-109)	104.1 (75.5-265.1)	na	28.6	42.9	28.6
Greninger [45]	4	1400 IU/kg/wk	100	0	14 (3.4-17.4)	3.4 (0.1-52.3)	18 (5.1-67.5)	na	7.4 (4.4-197.8)	47 (11.6-210.8)	1216 (346-2868.6)	0	na	100
Kurth [30]	25	50 IU/kg/d (8) 100-200 IU/kg/d (92)	100	0	10.5 (7.3-20.5)	na	54 (35.5-98)	na	22 (2-76)	277.5 (122.5-769.5)	na	32	20	48
Nogami [31]	22	≤75 IU/kg 3x/wk (52) ^a ; ≥90 IU/kg/d (12) ^a ; Other (30) ^a	13	87	14.4 (10.8-25.2) ^a	7.2 (2.4-26.4) ^a	na	na	3.9 (1.7-7.9) ^a	14 (3.7-46) ^a	na	71.2	na	28.8
Oldenburg [53]	17 ^c 2 ^d	<100 IU/kg/d (22) ^a ; ≥100 IU/kg/d (78) ^a	100	0	na	na	92.3 (30-184.8) ^b 345.6 (298.8-391.2) ^b ^d	na	20.3 (1.6-200) ^b 10 (5-15) ^b ^d	92 (2.1-4505) ^b 200 (100-300) ^b ^d	na	36.8	36.8	26.3

Numbers are reported as median (interquartile range), unless stated otherwise.

CS, complete success; F, failure; IU, international unit; ITI, immune tolerance induction; kg, kilogram; na, not available; PS, partial success; pd, plasma-derived FVIII; r, recombinant FVIII; pd+r, plasma-derived and recombinant FVIII.

^aBoth primary and rescue ITI.

^bRange.

^cChildren.

^dAdults.

3.6.2 | Sensitivity analysis for primary ITI

All sensitivity analyses resulted in similar pooled OR, (Supplementary Fig. S1–S20).

4 | DISCUSSION

In this systematic review and meta-analysis, we summarized and pooled the data for 1,734 persons with hemophilia A from 27 included studies. The aim was to identify patient-, treatment-, and inhibitor-related determinants of ITI outcome and estimate the effects of these determinants on ITI outcome with more precision than is possible with single studies. We found that historical peak titer below 100 BU/mL, pre-ITI titer below 10 BU/mL, and peak inhibitor titers during ITI below 100 BU/mL were significantly associated with primary ITI success, suggesting that the robustness of anti-FVIII immune response plays a role in ITI outcome, and a strong immune response may be more challenging to be switched-off. Other patient-, treatment-, and inhibitor-related determinants were not clearly related to ITI outcome in primary ITI. For rescue ITI, study findings were summarized; however, we were unable to draw any conclusions regarding the associations between patient-, treatment-, and inhibitor-related determinants and ITI outcome. This was due to the low number of persons with hemophilia A who received rescue ITI included in these studies and the low number of studies reporting on rescue ITI.

Because various studies reported favorable results on ITI outcome in persons with hemophilia A with pre-ITI titers below 10 BU/mL, clinicians attempted to postpone ITI until the inhibitor titer had dropped [21,46,59]. However, the initial level of inhibitor titer is now considered a marker of the immune response strength toward administered FVIII; waiting for the inhibitor to drop below 10 BU/mL is not expected to result in an improved efficacy of inhibitor eradication during ITI. Therefore, it is nowadays recommended to start ITI as soon as possible after a high-titer inhibitor is detected, mainly because of the concern about the potential inhibitor-related morbidity caused by bleeds during the waiting period for inhibitor titer to drop [17,52]. Therefore, we emphasize that pre-ITI titer below 10 BU/mL as a predictor for ITI success should not be interpreted as an indication to wait until titer falls to ≤ 10 BU/mL before starting ITI.

Presently, the exact mechanisms of achieving tolerance by repeated administration of FVIII is still not completely elucidated [60]. Key players in the immune response to FVIII are FVIII-specific CD4+ T-cells, FVIII-specific B-memory cells, and anti-FVIII antibody producing plasma cells [60]. These cells are the main targets of ITI. Different mechanisms have been described that all contribute to the inhibition or deletion of these FVIII-specific B- and T-cells and thus in inducing immune tolerance: inhibition of B-memory cell differentiation into anti-FVIII antibody secreting plasma cells by high FVIII concentrations, and anergy of effector T-cells induced by exhaustion or overstimulation and emergence of regulatory T cells due to chronic exposure to FVIII in a non-inflammatory state [61,62]

Since the advent of emicizumab, a debate has started on the utility of ITI. Current consensus statements and guidelines still recommend ITI as the mainstay of treatment for persons with hemophilia A with inhibitors. Arguments in favor of ITI are the increased therapeutic options and lower costs when tolerance for FVIII is re-established, as emicizumab is only effective as prophylaxis and not for treatment of bleeding. Patients who are not tolerant and require bypassing agents for the treatment of bleeds can only use doses < 100 IU/kg/d for not more than 1 day of aPCC when treatment with rFVIIa fails, as high doses of aPCC in combination with emicizumab may confer a thrombotic risk [11]. In vivo study by Kizilocak et al. [63] reported that a single dose of aPCC was safe for most persons on emicizumab who demonstrated in 66% normal thrombin generation at approved doses of aPCC. Moreover, patients with inhibitors are currently not eligible for gene therapy that offers the chance of a long-term reversal of bleeding phenotype into a mild one without the need for prophylaxis [64]. However, because ITI remains a burdensome and costly treatment, it is of utmost importance to be able to identify which persons are likely to respond to ITI and which persons are not. Knowledge on determinants of ITI outcome can be used as the basis for a prediction algorithm that may estimate the chance of successful ITI to guide clinical decision making.

A strength of this systematic review is large number of participants, yielding the most precise estimates of associations between patient-, treatment-, and inhibitor-related determinants and complete ITI success. We furthermore used an advanced statistical model for our meta-analysis. The number of participants per determinant category was often small, resulting in either 0 or 100% of persons with ITI success in certain subcategories. Because of these “null cells” in the data, results using standard methods for meta-analysis can be severely biased. Therefore, we used a meta-analysis model especially suitable for sparse and unbalanced data: the hypergeometric-normal model [35]. This model has several advantages: it avoids the use of continuity correction and it takes into account the uncertainty in the estimates of standard errors and therewith avoids bias caused by the correlation between estimate and standard error. Another strength is that we have performed several sensitivity analyses, showing that the effect estimates obtained with the meta-analysis are robust.

Our study had several limitations. Firstly, the heterogeneity in ITI protocols, as well as varying ITI outcome definitions across studies made it difficult to compare results. Noteworthy not only the wide variety in definitions for ITI failure, which included failure to achieve tolerance, but also, for example, withdrawal from study, patient relocation, or death made comparison between studies more difficult. We regarded partial ITI success as not complete ITI success, and grouped this into the failure group, as participants with partial success may have not yet reached complete ITI success due to insufficient follow up time. This might have underestimated the ORs. To address this, we performed one sensitivity analysis that grouped complete and partial successes, compared with failures, and another analysis among patients with complete ITI success, as defined in the International ITI study [21], versus failures. This did not result in different pooled OR. Secondly, the data that were reported not precisely according to our

used categorization of determinant, were excluded from the current meta-analysis. This could have resulted in underreporting of data. Thirdly, titer at start of ITI is controversial as patients with a titer of ≤ 10 BU/mL include two types of patients; those who never had a titer > 10 BU/mL, and those patients who had peak titers > 10 BU/mL but clinicians waited to start ITI after their titer dropped to ≤ 10 BU/mL. Unfortunately, not all papers reported data on both parameters, not allowing us to analyze the effect on ITI outcome in persons with both historical peak titer ≤ 10 BU/mL as well as pre-ITI titer ≤ 10 BU/mL. Fourthly, duplicate inclusion of participants may have occurred, particularly from four large registries [25,46,49,51]. This may have led to slight overestimation of the effect of determinants on ITI outcome, but we expect that duplicate inclusion of participants is limited. Fifthly, we did not include potential immunological factors as predictors of ITI outcome in our study. Evidence on immunological variables affecting ITI outcome is limited. However, it has been suggested that emergence of IgG4 FVIII-specific antibodies during ITI was associated with a poor ITI outcome [65]. Lastly, antibodies directed against the A2-domain were reported to be associated with ITI failure, whereas antibodies directed against the light chain of FVIII were associated with favorable ITI outcome [45,48,66]. Further studies should elaborate on these antibody features to see whether these immunological markers are suitable candidates to predict ITI outcome during the course of ITI.

This study provides a comprehensive overview of patient-, treatment-, and inhibitor-related determinants of ITI outcome. We summarized and pooled the available evidence on associations between potential determinants and ITI outcome. Our findings suggest that determinants especially related to inhibitor titer (pre-ITI and peak titers) are associated with ITI outcome. Future research should elucidate on immunological mechanisms in order to identify biomarkers that could predict ITI outcome, and should further investigate the role for genetic determinants for ITI outcome in a multicenter cohort study with sufficient participants.

ACKNOWLEDGMENTS

René Spijker, information expert Amsterdam University Medical Center, provided assistance in designing and conducting the literature search. Barbara L. Kroner, MPH, PhD, RTI International, Research Triangle Park, NC, USA, Liliana R. Preiss, MSA, RTI International, Research Triangle Park, NC, USA, and Donna Di Michele, MD, Courtesy Clinical Professor of Pediatrics, Weill Cornell Medical College, New York, USA, retrieved and reformatted the data from the North American Immune Tolerance Registry. Michael U. Callaghan, MD, Associate Professor of Pediatrics, Children's Hospital of Michigan, MI, USA, retrieved and reformatted missing data.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

I.O., R.M.C., and S.G.: designed study; I.O. and R.M.C.: assessed methodological quality; I.O. and R.M.C.: collected data; I.O. analyzed data; S.C.G. supervised data analysis; I.O., R.M.C., S.C.G. wrote manuscript; all authors critically reviewed manuscript; all authors approved the final version of the manuscript.

DECLARATION OF COMPETING INTEREST STATEMENT

R.M.C. received honoraria for participating as a speaker at scientific and educational meetings from Takeda, Hoffman-La Roche, Bayer, and Novo Nordisk, and support for scientific meetings from Takeda, Hoffman-La Roche, and Bayer. I.O. was supported by an unrestricted research grant from Swedish Orphan Biovitrum (SOBI) awarded in 2019, the Heimburger Award 2019 and the Martin Villar Clinical Research Award 2021. S.C.G. received an unrestricted research grant from SOBI. No conflict of interest for other authors.

TWITTER

Jan Voorberg  @VoorbergJ

Maria Elisa Mancuso  @MancusoElisa

David Lillicrap  @DavidLillicrap

REFERENCES

- [1] Gringeri A, Ewenstein B, Reininger A. The burden of bleeding in haemophilia: is one bleed too many? *Haemophilia*. 2014;20:459–63.
- [2] Jamil MA, Sharma A, Nuesgen N, Pezeshkpoor B, Heimbach A, Pavlova A, et al. F8 Inversions at Xq28 causing hemophilia a are associated with specific methylation changes: implication for molecular epigenetic diagnosis. *Front Genet*. 2019;10:508.
- [3] Trincherio A, Scholzberg M, Matino D. The evolution of hemophilia care: clinical and laboratory advances, opportunities, and challenges. *Hamostaseologie*. 2020;40:311–21.
- [4] Ananyeva NM, Lacroix-Desmazes S, Hauser CAE, Shima M, Ovanesov MV, Khrenov AV, et al. Inhibitors in hemophilia A: mechanisms of inhibition, management and perspectives. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2004;15:109–24.
- [5] Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemophilia*. 2003;9:418–35.
- [6] Eckhardt CL, Loomans JI, van Velzen AS, Peters M, Mauser-Bunschoten E, Schwaab R, et al. Inhibitor development and mortality in non-severe hemophilia A. *J Thromb Haemost*. 2015;13:1217–25.
- [7] Meeks SL, Batsuli G. Hemophilia and inhibitors: current treatment options and potential new therapeutic approaches. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016;2016:657–62.
- [8] López-Fernández MF, Roca CA, Álvarez-Román MT, Hirnyk MIC, Mingot-Castellano ME, et al. Spanish Consensus Guidelines on prophylaxis with bypassing agents in patients with haemophilia and inhibitors. *Thromb Haemost*. 2016;115:872–95.
- [9] Barg AA, Livnat T, Kenet G. Inhibitors in hemophilia: treatment challenges and novel options. *Semin Thromb Hemost*. 2017;44:544–50.
- [10] Shapiro AD, Hedner U. Advances in bypassing agent therapy for hemophilia patients with inhibitors to close care gaps and improve outcomes. *Ther Adv Drug Saf*. 2011;2:213–25.
- [11] Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, Schmitt C, Callaghan MU, Young G, et al. Efficacy of emicizumab prophylaxis in hemophilia A with inhibitors. *N Engl J Med*. 2017;377:809–18.
- [12] Young G, Sidonio RF, Liesner R, Oldenburg J, Chang T, Uguen M, et al. HAVEN 2 updated analysis: multicenter, open-label, phase 3 study to evaluate efficacy, safety and pharmacokinetics of subcutaneous administration of emicizumab prophylaxis in pediatric patients with hemophilia A with inhibitors. *Blood*. 2017;130(Suppl 1):85.
- [13] Mahlangu JN, Oldenburg J, Paz-Priel I, Negrier C, Niggli M, Mancuso ME, et al. Efficacy of emicizumab prophylaxis in patients who have hemophilia A without inhibitors. *N Engl J Med*. 2018;379:811–22.
- [14] Young G, Liesner R, Chang T, Sidonio RF, Oldenburg J, Jiménez-Yuste V, et al. A multicenter, open-label phase 3 study of

- emicizumab prophylaxis in children with hemophilia A with inhibitors. *Blood*. 2019;134:2127–38.
- [15] Castaman G, Santoro C, Coppola A, Mancuso ME, Santoro RC, Bernardini S, et al. Emergency management in patients with haemophilia A and inhibitors on prophylaxis with emicizumab: AICE practical guidance in collaboration with SIBioC, SIMEU, SIMEUP, SIPMeL and SISET. *Blood Transfus*. 2020;18:143–51.
- [16] Jiménez-Yuste V, Rodriguez-Merchan EC, Matsushita T, Holme PA. Concomitant use of bypassing agents with emicizumab for people with haemophilia A and inhibitors undergoing surgery. *Haemophilia*. 2021;27:519–30.
- [17] Carcao M, Escuriola Ettinghausen C, Santagostino E, Oldenburg J, Liesner R, Nolan B, et al. The changing face of immune tolerance induction in haemophilia A with the advent of emicizumab. *Haemophilia*. 2019;25:676–84.
- [18] Hart DP, Alamelu J, Bhatnagar N, Biss T, Collins PW, Hall G, et al. Immune tolerance induction in severe haemophilia A: A UKHCDO inhibitor and paediatric working party consensus update. *Haemophilia*. 2021;27:932–7.
- [19] Holstein K, Le Quellec S, Klamroth R, Batorova A, Holme PA, Jiménez-Yuste V, et al. Immune tolerance induction in the era of emicizumab – still the first choice for patients with haemophilia A and inhibitors? *Haemophilia*. 2022;28:215–22.
- [20] Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW, et al. *WFH guidelines for the management of hemophilia, 3rd edition. Haemophilia* 2020;26(Suppl 6):1–158.
- [21] Hay CR, DiMichele DM, International Immune Tolerance S. The principal results of the International Immune Tolerance Study: a randomized dose comparison. *Blood*. 2012;119:1335–44.
- [22] Santagostino E, Young G, Escuriola Ettinghausen C, Jiménez-Yuste V, Carcao M. Inhibitors: a need for eradication? *Acta Haematol*. 2019;141:151–5.
- [23] Kenet G, Oladapo A, Epstein J, Thompson C, Novack A, Nugent DJ. Estimating the cost savings and cost effectiveness of low dose immune tolerance induction (ITI) therapy with bypassing agent prophylaxis compared with high dose ITI and low dose ITI. *Blood*. 2017;130:4632.
- [24] Salvato R, Belvini D, Radossi P, Sartori R, Pierobon F, Zanotto D, et al. F8 gene mutation profile and ITT response in a cohort of Italian haemophilia A patients with inhibitors. *Haemophilia*. 2007;13:361–72.
- [25] DiMichele DM, Kroner BL, Group NAITS. The North American Immune Tolerance Registry: practices, outcomes, outcome predictors. *Thromb Haemost*. 2002;87:52–7.
- [26] Mariani G, Ghirardini A, Bellocco R. Immune tolerance in hemophilia-principal results from the International Registry. Report of the factor VIII and IX Subcommittee. *Thromb Haemost*. 1994;72:155–8.
- [27] Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group P. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: the PRISMA statement. *BMJ*. 2009;6:e1000097.
- [28] Flanagan A, Frey T, Christiansen SL, Bachner H. The reporting of race and ethnicity in medical and science journals. *JAMA*. 2021;325:1049–52.
- [29] Coppola A, Margaglione M, Santagostino E, Rocino A, Grandone E, Mannucci PM, et al. Factor VIII gene (F8) mutations as predictors of outcome in immune tolerance induction of hemophilia A patients with high-responding inhibitors. *J Thromb Haemost*. 2009;7:1809–15.
- [30] Kurth M, Puetz J, Kouides P, Sanders J, Sexauer C, Bernstein J, et al. The use of a single von Willebrand factor-containing, plasma-derived FVIII product in hemophilia A immune tolerance induction: the US experience. *J Thromb Haemost*. 2011;9:2229–34.
- [31] Nogami K, Taki M, Matsushita T, Ohga S, Oka T, Horikoshi Y, et al. The Japanese Immune Tolerance Induction (J-ITI) study in haemophilia patients with inhibitor: outcomes and successful predictors of ITI treatment. *Haemophilia*. 2018;24:e328–37.
- [32] Knol MJ, Le Cessie S, Algra A, Vandenbroucke JP, Groenwold RHH. Overestimation of risk ratios by odds ratios in trials and cohort studies: alternatives to logistic regression. *CMAJ*. 2012;184:895–9.
- [33] Borenstein M, Hedges LV, Higgins JPT, Rothstein HR. *Introduction to Meta-Analysis*. Wiley; 2009.
- [34] Sweeting MJ, Sutton AJ, Lambert PC. What to add to nothing? Use and avoidance of continuity corrections in meta-analysis of sparse data. *Stat Med*. 2004;23:1351–75.
- [35] Stijnen T, Hamza TH, Özdemir P. Random effects meta-analysis of event outcome in the framework of the generalized linear mixed model with applications in sparse data. *Stat Med*. 2010;29:3046–67.
- [36] Weckmann G, Chenot JF, Reber KC. A practical approach to reading and interpreting meta-analyses. *Z Allgemeinmed*. 2015;91:469–73.
- [37] Barnes C, Rivard GE, Poon M-C, Teitel J, Pai M, Kern M, et al. Canadian multi-institutional survey of immune tolerance therapy (ITT) - experience with the use of recombinant factor VIII for ITT. *Haemophilia*. 2006;12:1–6.
- [38] Batorova A, Jankovicova D, Morongova A, Bubanska E, Prigancova T, Horakova J, et al. Inhibitors in severe hemophilia A: 25-year experience in Slovakia. *Semin Thromb Hemost*. 2016;42:550–62.
- [39] Callaghan MU, Rajpurkar M, Chitlur M, Warrier I, Lusher J. Immune tolerance induction in 31 children with haemophilia A: is ITI less successful in African Americans? *Haemophilia*. 2011;17:483–9.
- [40] Di Minno G, Coppola A, Margaglione M, Rocino A, Mancuso ME, Tagliaferri A, et al. Predictors of inhibitor eradication by primary immune tolerance induction in severe haemophilia A with high responding inhibitors. *Haemophilia*. 2022;28:55–64.
- [41] Dou X, Liu W, Poon M-C, Zhang X, Wu J, Zeng X, et al. Patients with haemophilia A with inhibitors in China: a national real-world analysis and follow-up. *Br J Haematol*. 2021;192:900–8.
- [42] El Alfy MS, Tantawy AAG, Ahmed MH, Abdin IA. Frequency of inhibitor development in severe haemophilia A children treated with cryoprecipitate and low-dose immune tolerance induction. *Haemophilia*. 2000;6:635–8.
- [43] Elalfy M, Elghamry I, Hassab H, Elalfy O, Andrawes N, El-Ekiaby M. Low-dose immune tolerance induction therapy in children of Arab descent with severe haemophilia A, high inhibitor titres and poor prognostic factors for immune tolerance induction treatment success. *Haemophilia*. 2022;28:65–72.
- [44] Escobar M, Shaffer L, Holguin M, McCavit T, Amega NS, Rajan SK. Immune tolerance induction with antihemophilia factor (human) in poor prognosis patients with hemophilia A. *Haematologica*. 2020;27:e393–7.
- [45] Greninger DA, Saint-Remy JM, Jacquemin M, Benhida A, DiMichele DM. The use of factor VIII/von Willebrand factor concentrate for immune tolerance induction in haemophilia A patients with high-titre inhibitors: association of clinical outcome with inhibitor epitope profile. *Haemophilia*. 2008;14:295–302.
- [46] Haya S, López MF, Aznar JA, Batlle J, Group TSIT. Immune tolerance treatment in haemophilia patients with inhibitors: the Spanish Registry. *Haemophilia*. 2001;7:154–9.
- [47] Kreuz W, Escuriola Ettinghausen C, Vdovin V, Zozulya N, Plyushch O, Svirin P, et al. First prospective report on immune tolerance in poor risk haemophilia A inhibitor patients with a single factor VIII/von Willebrand factor concentrate in an observational immune tolerance induction study. *Haemophilia*. 2016;22:87–95.
- [48] Lapalud P, Rothschild C, Mathieu-Dupas E, Balicchi J, Gruel Y, Laune D, et al. Anti-A2 and anti-A1 domain antibodies are potential predictors of immune tolerance induction outcome in children with hemophilia A. *J Thromb Haemost*. 2015;13:540–7.
- [49] Lenk H, Group tIS. The German Registry of immune tolerance treatment in Hemophilia – 1999 update. *Haematologica*. 2000;85:45–7.
- [50] Lin PC, Liao YM, Tsai SP, Chang TT. Immune tolerance induction therapy for patients with hemophilia A and FVIII inhibitors particularly using low-dose regimens. *Pediatr Blood Cancer*. 2011;57:1029–33.

- [51] Mariani G, Kroner B, (ITSG) ITSG. Immune tolerance in hemophilia with factor VIII inhibitors: predictors of success. *Haematologica*. 2001;86:1186–93.
- [52] Nakar C, Manco-Johnson MJ, Lail A, Donfield S, Maahs J, Chong Y, et al. Prompt immune tolerance induction at inhibitor diagnosis regardless of titre may increase overall success in haemophilia A complicated by inhibitors: experience of two US centres. *Haemophilia*. 2015;21:365–73.
- [53] Oldenburg J, Jiménez-Yuste V, Peiró-Jordán R, Aledort LM, Santagostino E. Primary and rescue immune tolerance induction in children and adults: a multi-centre international study with a VWF-containing plasma-derived FVIII concentrate. *Haemophilia*. 2014;20:83–91.
- [54] Rivard GE, Rothschild C, Toll T, Achilles K. Immune tolerance induction in haemophilia A patients with inhibitors by treatment with recombinant factor VIII: a retrospective non-interventional study. *Haemophilia*. 2013;19:449–55.
- [55] Rocino A, Cortesi PA, Scalone L, Mantovani LG, Crea R, Gringeri A, (EHTSB) EHTSB. Immune tolerance induction in patients with haemophilia A and inhibitors: effectiveness and cost analysis in an European Cohort (The ITER Study). *Haemophilia*. 2016;22:96–102.
- [56] Ryu JE, Park YS, Yoo KY, Lee KD, Choi YM. Immune tolerance induction in patients with severe hemophilia A with inhibitors. *Blood Res*. 2015;50:248–53.
- [57] Ter Avest PC, Fischer K, Gouw SC, Van Dijk K, Mauser-Bunschoten EP. Successful low dose immune tolerance induction in severe haemophilia A with inhibitors below 40 Bethesda Units. *Haemophilia*. 2010;16:71–9.
- [58] Unuvar A, Kavakli K, Baytan B, Kazanci E, Sayli T, Oren H, et al. Low-dose immune tolerance induction for paediatric haemophilia patients with factor VIII inhibitors. *Haemophilia*. 2008;14:315–22.
- [59] DiMichele DM, Hoots WK, Pipe SW, Rivard GE, Santagostino E. International workshop on immune tolerance induction: consensus recommendations. *Haemophilia*. 2007;13:1–22.
- [60] Schep SJ, Schutgens REG, Fischer K, Boes ML. Review of immune tolerance induction in hemophilia A. *Blood Reviews*. 2018;32:326–38.
- [61] Reijpert B, Van Helden PMW, Schwarz HP, Hausl C. Mechanisms of action of immune tolerance induction against factor VIII in patients with congenital haemophilia A and factor VIII inhibitors. *Br J Haematol*. 2006;136:12–25.
- [62] Waters B, Lillicrap D. The molecular mechanisms of immunomodulation and tolerance induction to factor VIII. *J Thromb Haemost*. 2009;7:1446–56.
- [63] Kizilocak H, Marquez-Casas E, Malvar J, Young G. Safety of FEIBA and Emicizumab (SAFE): Dose Escalation Study Evaluating the Safety of in vivo Administration of Activated Prothrombin Complex Concentrate in Hemophilia A Patients with Inhibitors on Emicizumab [abstract]. *Res Pract Thromb Haemost*. 2021;5.
- [64] Leebeek FWG, Miesbach W. Gene therapy for hemophilia: a review on clinical benefit, limitations, and remaining issues. *Blood*. 2021;138:923–31.
- [65] van Helden PMW, Berg van den HM, Gouw SC, Kraijnen PHP, Zuurveld MG, Mauser-Bunschoten EP, et al. IgG subclasses of anti-FVIII antibodies during immune tolerance induction in patients with hemophilia A. *Br J Haematol*. 2008;142:644–52.
- [66] Van Helden PMW, Kaijen P, Mauser-Bunschoten E, Fischer K, Van den Berg HM, Voorberg J. Domain specificity of factor VIII inhibitors during immune tolerance induction in patients with haemophilia A. *Haemophilia*. 2010;16:892–901.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1016/j.rpth.2022.100020>

1 **Supplemental data to**

2 Determinants of successful immune tolerance induction in persons with hemophilia A: systematic
3 review and meta-analysis

4

5 Ilja Oomen^{1,2}, Ricardo M Camelo^{3,4}, Suely Meireles Rezende³, Jan Voorberg², Maria Elisa Mancuso⁵,
6 Johannes Oldenburg⁶, Manuel Carcao⁷, Davide Matino⁸, David Lillicrap⁹, Kathelijn Fischer¹⁰, Karin
7 Fijnvandraat^{1,2}, Samantha C Gouw^{1,4}; on behalf of the International GO-ITI study group.

8

9 **Table of contents**

Table S1. First literature search electronic databases.	Page 30
Table S2. Updated literature search electronic databases.	Page 31
Table S3. Quality Assessment.	Page 32
Table S4. Methodological quality assessment.	Page 34
Table S5. Explanation for excluded studies that appeared to meet inclusion criteria	Page 35
Table S6. Patient-related determinants for primary ITI outcome	Page 37
Table S7. Treatment-related determinants for primary ITI outcome	Page 39
Table S8. Inhibitor-related determinants for primary ITI outcome	Page 44
Table S9. Patient-related determinants for ITI outcome in rescue ITI	Page 49
Table S10. Treatment-related determinants for ITI outcome in rescue ITI	Page 50
Table S11. Inhibitor-related determinants for ITI outcome in rescue ITI	Page 51
Figures S1. Meta-analysis and sensitivity analysis for patient-related determinant: Ethnicity – white versus nonwhite	Page 52
Figures S2. Meta-analysis and sensitivity analysis for patient-related determinant: Ethnicity – African American (AA) versus non-African American	Page 54
Figures S3. Meta-analysis and sensitivity analysis for patient-related determinant: <i>F8</i> genotype – high-risk versus low-risk mutation	Page 56
Figures S4. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related determinant: Interval between inhibitor development and ITI start – ≤1 versus >1 month	Page 58
Figures S5. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related determinant: Interval between inhibitor development and ITI start – ≤12 versus >12 months	Page 61
Figures S6. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related determinant: Interval between inhibitor development and ITI start – ≤24 versus >24 months	Page 64
Figures S7. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related determinant: Age at ITI start - ≤12 versus >12 months	Page 67

Figures S8. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related determinant: ITI product – plasma-derived versus recombinant FVIII	Page 70
Figures S9. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related determinant: ITI dose - <100 versus \geq 100 IU/kg/day	Page 73
Figures S10. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related determinant: ITI frequency – daily versus less than daily	Page 76
Figures S11. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related determinant: CVAD infections – CVAD infection versus no infection	Page 77
Figures S12. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related determinant: Adjuvant immunomodulatory treatment – Adjuvant immunomodulatory drugs or no adjuvant therapy	Page 79
Figures S13. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant: Exposure days - <25 versus >25 days	Page 80
Figures S14. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant: Age at inhibitor development - \leq 12 versus >12 months	Page 83
Figures S15. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant: Pre-ITI titer - <5 versus \geq 5 BU/mL	Page 85
Figures S16. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant: Pre-ITI titer - \leq 10 versus >10 BU/mL	Page 88
Figures S17. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant: Historical peak titer - \leq 100 versus >100 BU/mL	Page 91
Figures S18. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant: Historical peak titer - \leq 200 versus >200 BU/mL	Page 94
Figures S19. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant: Peak titer during ITI - \leq 100 versus >100 BU/mL	Page 97
Figures S20. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant: Peak titer during ITI - \leq 200 versus >200 BU/mL	Page 100

10

11

12 **Supplementary Table S1. First literature search electronic databases.** Literature search performed
 13 on February 15, 2021.

Ovid MEDLINE(R) ALL <1946 to February 15, 2021>			
Search history sorted by search number ascending			
#	Searches	Results	Type
1	exp Factor VIII/ or exp Hemophilia A/	29443	Advanced
2	(H?emophilia or ((factor-VIII or factor-8) adj (deficienc* or disorder*)) or Subhemophilia).ti,ab,kf.	21195	Advanced
3	1 or 2	35123	Advanced
4	exp Immune Tolerance/	44238	Advanced
5	((immune adj3 tolerance) or immunotolerance or ITI).ti,ab,kf.	11960	Advanced
6	(bonn or creveld or malmo).ti,ab.	3980	Advanced
7	exp Cyclophosphamide/	54198	Advanced
8	(Cyclophosphamide or apcc or activated-prothrombin).ti,ab.	50131	Advanced
9	haven.ti,ab.	2723	Advanced
10	4 or 5 or 6 or 7 or 8 or 9	133385	Advanced
11	3 and 10	1701	Advanced
12	case reports.pt.	2157623	Advanced
13	11 not 12	1311	

14

Embase Classic+Embase <1947 to 2021 February 15>			
Search history sorted by search number ascending			
#	Searches	Results	Type
1	exp blood clotting factor 8/ or exp hemophilia/	61111	Advanced
2	(H?emophilia or ((factor-VIII or factor-8) adj (deficienc* or disorder*))) or Subhemophilia).ti,ab,kw.	36894	Advanced
3	1 or 2	63440	Advanced
4	exp immunological tolerance/	50882	Advanced
5	((immune adj3 tolerance) or immunotolerance or ITI).ti,ab,kw.	18904	Advanced
6	(bonn or creveld or malmo).ti,ab.	5721	Advanced
7	exp cyclophosphamide/	228234	Advanced
8	(Cyclophosphamide or apcc or activated-prothrombin).ti,ab.	81154	Advanced
9	haven.ti,ab.	4063	Advanced
10	4 or 5 or 6 or 7 or 8 or 9	303148	Advanced
11	3 and 10	4401	Advanced
12	exp case report/	2694927	Advanced
13	11 not 12	3417	Advanced
14	limit 13 to embase	1840	Advanced
15	limit 13 to conference abstracts	1432	

15

16

17 **Supplementary Table S2. Updated literature search electronic databases.** Literature search
 18 performed on December 29, 2021.

Ovid MEDLINE(R) ALL <December 29, 2020 to December 29, 2021>			
Search history sorted by search number ascending			
#	Searches	Results	Type
1	"hemophilia" OR "haemophilia" OR ((factor VIII OR factor-8) adj (deficienc* or disorder*))	31796	Advanced
2	"immune tolerance" OR ((immune adj3 tolerance) or immunotolerance or ITI or ITT)	52545	Advanced
3	1 and 2	1041	Advanced
4	Filter: in the last year	58	Advanced

19

20

21 **Supplementary Table S3. Quality Assessment.** JBI Critical Appraisal checklist for cohort- and cross-
 22 sectional studies

23

Reviewer

Date

Title

Author

Year

24

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Were the criteria for inclusion in the sample clearly defined? <ul style="list-style-type: none"> • Yes: clear description of the included population, e.g. type of hemophilia, acquired or congenital hemophilia, severity of hemophilia. 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were the study subjects described in detail? <ul style="list-style-type: none"> • Yes: e.g. if demographic data, such as sex, ethnicity/descent or age; or <i>F8</i> genotype or hemophilia severity were described (≥2 = yes). 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Was the setting described in detail? <ul style="list-style-type: none"> • Yes: if <u>where</u> was clearly described; f.e. if the country or name of the hemophilia treatment center were described. 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Was the setting described in detail? <ul style="list-style-type: none"> • Yes: if <u>when</u> was clearly described; f.e. if the time period of the study described. 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Was the immune tolerance induction clearly described? <ul style="list-style-type: none"> • Yes: if the provide on information on the immune tolerance induction regimen. 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Were the outcome measurements objectively defined? <ul style="list-style-type: none"> • Yes: clear definition of the outcome measurements, used in every subject. 	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Were confounding factors identified? <ul style="list-style-type: none"> • Yes: if other factors than the determinant that could potentially attribute to ITI outcome, were clearly described. 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Were strategies to deal with confounding factors stated? <ul style="list-style-type: none"> • Yes: if strategies to adjust for confounding factors for ITI outcome were clearly described in the methods. (NA if question 7 is answered no). 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- 9. **Were the determinants for ITI outcome measured in a valid and reliable way?**
 - Yes: if the determinants (e.g. peak titer, pre-ITI titer) were measured or evaluated in all subjects.

- 10. **Was the follow up time reported and long enough for outcomes to occur?**
 - Yes: if the follow up time was reported and if ITI success or failure could be achieved.

- 11. **Was follow up complete, and if not, were the reasons to loss to follow up described and explored?**
 - Yes: if all persons reached the ITI endpoint, or description of patients with ongoing ITI or if reasons to loss to follow up were described.

- 12. **Were strategies to address incomplete follow up utilized?**
 - Yes: if a strategy is described to address incomplete follow-up. (NA if question 11 is answered yes).

- 13. **Was statistical analysis appropriate?**
 - Yes: if the statistical analysis was appropriate for the population to calculate the outcome measure, if odds ratios or relative risk ratios were calculated with corresponding confidence intervals.

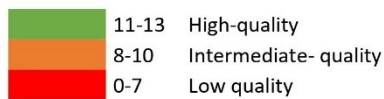
TOTAL	Yes	No	Unclear	NA

25

26 **Supplementary Table S4. Methodological quality assessment.** Results methodological quality of
 27 each included study

Source	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9	Q10	Q11	Q12	Q13	TOTAL
	Target population	Subject descriptives	Setting where	Setting when	Therapy definitions	Outcome definitions	Confounding	Strategies confounding	Outcome measurements	Follow-up	Loss of follow-up	Strategies incomplete follow-up	Statistical analysis	
Barnes[53]	Y	Y	Y	Y	Y	N	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	9
Batorova[54]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	10
Callaghan[52]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	NA	Y	11
DiMichele[25]	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y	N	Y	Y	Y	NA	Y	10
DiMinno[55]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	NA	Y	11
Dou[56]	N	N	N	Y	Y	Y	Y	N	U	Y	Y	NA	Y	7
El Alfy[57]	U	Y	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	9
Elafly[58]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	10
Escobar[59]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	10
Greninger[50]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	10
Hay[21]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	Y	Y	12
Haya[39]	N	N	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	8
Kreuz[60]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	NA	Y	12
Kurth[30]	Y	Y	Y	N	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	9
Lapalud[51]	Y	N	Y	N	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	8
Lenk[47]	N	N	Y	N	N	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	6
Lin[61]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	U	Y	Y	Y	NA	Y	11
Mariani[46]	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	U	Y	Y	Y	NA	Y	10
Nakar[40]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	U	Y	Y	Y	NA	Y	11
Nogami[31]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	10
Oldenburg[62]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	10
Rivard[63]	Y	Y	Y	Y	Y	N	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	9
Rocino[64]	Y	Y	Y	N	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	9
Ryu[65]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	10
Salviato[24]	Y	Y	Y	N	N	N	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	7
Ter Avest[66]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	Y	NA	Y	10
Unuvar[37]	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	NA	Y	Y	N	N	Y	9

28 Abbreviations: Y = yes, N = no, NA = not applicable, U = unknown



29

Supplementary Table S5. Reason for exclusion of studies that may appear to meet inclusion criteria

Title	Author	Year	Country	Cohort	Inclusion criteria	Outcome definitions			Reason for exclusion
						CS	PS	F	
Immune tolerance induction with a factor VIII concentrate containing von Willebrand factor (Haemoctin SDH R) in 14 patients with severe haemophilia A	Bidlingmaier	2011	Germany, Austria, Hungary	MC	HR Inhibitor	†	na	(i) ITI stopped because lack of response.	They do not perform any analysis on determinants of ITI outcome.
The Malmo model for immune tolerance induction: impact of previous treatment on outcome	Carlborg	2008	Sweden	SC	ITI according Malmo protocol	na	na	na	This study seemed to evaluate the effect of previous treatment on ITI outcome. They describe that the persons who became tolerant "generally received more FVIII over the years, especially in combination with cyclophosphamide". This study provided too little information on previous treatment to be included in this systematic review.
Factor VIII gene (F8) mutations as predictors of outcome in immune tolerance induction of hemophilia A patients with high-responding inhibitors.	Coppola	2009	Italy	SC	†	‡	(i) Inhibitor <5 BU/mL; (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life; (iii) Clinical response to FVIII therapy without an anamnestic increase	(A) Inability to achieve CS in 22 months; (B) ≤20% decrease inhibitor titer over a 6-month period after 3 months ITI	Duplicate publication of cohort DiMinno et al. (2021) Predictors of inhibitor eradication in severe hemophilia A with high-responding inhibitors.
Analysis of the North American Immune Tolerance Registry (NAITR) 1993-1997: Current Practice Implications	DiMichele	1999	US, Canada	MC	†	‡	na	na	Duplicate cohort DiMichele et al. (2002) The North American Immune Tolerance Registry: practices, outcomes, outcome predictors.
Variables that might affect the outcome of immune tolerance therapy in haemophiliacs with factor VIII inhibitors	Ehrenforth	1994	Germany	SC	Children	na	na	na	Duplicate publication of cohort Kreuz et al. (1995) Immune tolerance therapy in children with hemophilia A with factor VIII inhibitors: 14 years follow-up Hemophilia.
The international registry of immune tolerance: 1994 update	Ghirardini	1996	Australia, Canada, Europe, Japan, US	MC	†	‡	na	na	Duplicate publication of cohort Mariani et al. (2001) Immune tolerance in hemophilia with factor VIII inhibitors: predictors of success.
Immune tolerance induction with a high purity von Willebrand factor/VIII complex concentrate in haemophilia A patients with inhibitors at high risk of a poor response	Gringeri	2007	Italy, Spain	MC	HR inhibitor; ≥1 poor prognostic factor	‡	(i) Inhibitor titer <3 BU/mL; (ii) Recovery ≥66% of expected; (iii) Half-life ≥66% of expected	(i) Reduction inhibitor titer <20%	They do not perform any analysis on determinants of ITI outcome. They evaluate the efficacy of Fankh, but do not compare this treatment to other treatments regarding ITI outcome.
Predictive factors of immune tolerance treatment response in severe haemophilia A patients with inhibitors: A real world report from a single centre, mixed retrospective-prospective long-term study.	Haya	2019	Spain	MC	†	‡	na	na	Duplicate publication of cohort Haya et al. (2001) Immune tolerance treatment in persons with hemophilia with inhibitors: the Spanish Registry. Haya (2001) includes a larger cohort and therefore Haya (2019) was excluded from this systematic review.
Immune tolerance therapy in paediatric haemophiliacs with factor VIII inhibitors: 14 years follow-up Haemophilia.	Kreuz	1995	Germany	SC	†	(i) Negative inhibitor; (ii) FVIII recovery normalization; (iii) Absence of anamnestic response upon subsequent FVIII exposure	na	na	Duplicate publication of cohort Lenk et al. (2000) The German Registry of immune tolerance treatment in Hemophilia - 1999 update.
The German National Immune Tolerance Registry, 1997 update. Study Group of German Haemophilia Centres	Lenk	1999	Germany	MC	†	(i) Therapy completed; (ii) Normal FVIII recovery; (iii) Normal FVIII half-life	(i) Inhibitor ≤2 BU/mL and/or Inability to normalize FVIII recovery or half life	Inability to achieve CS/PS (lack of compliance or death included)	Duplicate publication of cohort Lenk et al. (2000) The German Registry of immune tolerance treatment in Hemophilia - 1999 update.
Low-dose immune tolerance induction alone or with immunosuppressants according to prognostic risk factors in Chinese children with hemophilia A inhibitors	Li	2021	China	SC	Children (<14 y); HR inhibitor (>10 BU/mL)	‡	(i) Negative inhibitor (<0.6 BU/mL); (ii) Inability to normalize FVIII recovery or half-life	(i) Inability to achieve CS at the time of data analysis; or (B) ≥20% decrease inhibitor titer over a 6-month period after starting RTX; (C) Inhibitor remained ≥100 BU/mL	Duplicate publication of cohort Dou et al. (2021) Persons with hemophilia A with inhibitors in China: a national real-world analysis and follow-up.
A low-dose immune tolerance induction (ITI) protocol incorporating immunosuppressive agents in haemophilia A children with high-titre factor VIII inhibitor and poor-ITI prognostic risk	Li	2021	China	SC	Children	na	na	na	Duplicate publication of cohort Dou et al. (2021) Persons with hemophilia A with inhibitors in China: a national real-world analysis and follow-up.
Immune tolerance in hemophilia: principal results from the International Registry, Report of the factor VIII and IX Subcommittee	Mariani	1994	Australia, Canada, Europe, Japan, US	MC	†	‡	Immune response shifted from a high- to low responder	No decrease inhibitor titer	Duplicate publication of cohort Mariani et al. (2001) Immune tolerance in hemophilia with factor VIII inhibitors: predictors of success.
International immune tolerance registry, 1997 update	Mariani	1999	Australia, Canada, Europe, Japan, US	MC	†	‡	Immune response shifted from a high- to low responder	No decrease inhibitor titer	Duplicate publication of cohort Mariani et al. (2001) Immune tolerance in hemophilia with factor VIII inhibitors: predictors of success.
Immune tolerance in children with factors VIII and IX inhibitors: a single centre experience	Mathias	2005	UK	SC	†	na	na	na	Participants were divided into fast or slow tolerance or failure.

Abbreviations: na = not available, SC = single center, MC = multicenter, ITI = immune tolerance induction, BU = Bethesda unit, HR inhibitors = high-responding inhibitor ≥25 BU/mL, y = year, CS = complete success, PS = partial success, F = failure.
 † inclusion criteria (i) hemophilia A; (ii) inhibitor; (iii) ITI treatment. ‡ ITI success defined according to the International ITI study: (i) Negative inhibitor (<0.6 BU/mL); (ii) FVIII recovery >66%; (iii) FVIII half-life >6 hours; (iv) Absence of anamnestic response upon subsequent FVIII exposure. [21]

Supplementary Table S6. Patient-related determinants for primary ITI outcome

Variable	Source	N	Classification	Complete response	Non-complete response	Calculated		Reported			
						RR for success (95% CI)	OR for success (95% CI)	OR for success (95% CI)	p-value (univariate)	OR success (95% CI); p-value (multivariate)	
Ethnicity White vs non-white	Barnes[53]	29	White	15 (83)	3	1.15 (0.76-1.74)	1.88 (0.31-11.52)	na	0.64	na	
			Non-white	8 (73)	3						
	Callaghan[52]	31	White	7 (88)	1	1.34 (0.90-2.00)	3.73 (0.39-35.93)	na	na	na	
			Non-white	15 (85)	8						
	Greninger[50]	7	White	1 (50)	1	0.63 (0.15-2.67)	0.25 (0.01-8.56)	na	na	na	na
			Non-white	4 (80)	1						
Hay[21]	115	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.71	na		
Kurth[30]	8	White	1 (50)	1	1.50 (0.25-8.98)	2.00 (0.08-51.60)	na	na	na		
Ethnicity African-American vs non-African-American	Callaghan[52]	31	African-American	11 (88)	8	0.63 (0.42-0.96)	0.13 (0.01-1.17)	na	0.04	0.0001 [†]	
			Non-African-American	11 (92)	1						
	DiMichele[25]	160	African-American	14 (67)	7	0.94 (0.68-1.29)	0.81 (0.30-2.15)	na	0.67	na	
			Non-African-American	99 (71)	40						
	Escobar[59]	6	African-American	3 (100)	0	1.50 (0.67-3.34)	not calculable	na	na	na	na
			Non-AA	2 (67)	1						
Greninger[50]	7	African-American	0 (0)	0	not calculable	not calculable	na	na	na	na	
		Non-African-American	5 (71)	2							
Kurth[30]	8	African-American	1 (25)	3	0.50 (0.07-3.55)	0.33 (0.02-6.65)	na	na	na		
F8 genotype High risk vs low risk mutation	Batorova[54]	16	High risk	7 (88)	1	0.88 (0.67-1.14)	not calculable	na	na	na	
			Low risk	8 (100)	0						
	DiMinno[55]	137	High risk	48 (95)	59	0.57 (0.42-0.76)	0.21 (0.07-0.62)	4.7 (1.6-13.4)	0.002	1.9 (1.1-3.3); 0.027 [‡]	
			Low risk	15 (79)	5						
	Escobar[59]	3	High risk	2 (67)	1	not calculable	not calculable	na	na	na	na
			Low risk	0 (0)	0						
Rocino[64]	66	High risk	40 (82)	9	0.87 (0.73-1.04)	0.78 (0.03-2.37)	na	0.4324	na		
Ryu[65]	17	High risk	9 (82)	2	0.98 (0.62-1.55)	0.90 (0.06-12.98)	na	na	na	na	
		Low risk	5 (83)	1							
Salviato[24]	16	High risk	0 (0)	2	not calculable	not calculable	na	na	na		
F8 genotype Intron 22 inversion vs other mutation	Greninger[50]	5	Intron 22 inversion	3 (100)	0	1.00 (1.00-1.00)	not calculable	na	na	na	
			Other mutation	2 (100)	0						
Family history of hemophilia Yes vs no	Nogami[31]	132	Yes	44 (68)	21	0.84 (0.68-1.04)	0.50 (0.22-1.16)	na	0.15	na	
			No	46 (84)	11						
Family history of inhibitor development Yes vs no	Nogami[31]	132	Yes	16 (70)	7	0.92 (0.69-1.24)	0.75 (0.27-2.06)	na	0.77	na	
			No	67 (75)	22						
Number of risk factors for poor prognosis [§]	DiMinno[55]	137	0-1	45 (66)	23	1.90 (1.30-2.76)	3.65 (1.77-7.50)	3.65 (1.77-7.50)	0.0003	na	
			2-3	22 (39)	41						
	DiMinno[55]	137	0-1	41 (84)	9	4.35 (2.31-8.21)	9.64 (4.08-22.75)	9.64 (4.09-23.41)	0.000001	na	
			2-4	26 (32)	55						
	Kreuz[60]	48	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.0187	na	
Oldenburg[62]	41	0	12 (80)	3	1.49 (0.96-2.30)	3.43 (0.78-15.09)	na	na	na		
		>1	14 (54)	12							

10

HIV serology	DiMichele[25]	164	Positive	22 (69)	10	0.98 (0.75-1.26)	0.92 (0.40-2.13)	na	na	na
Positive vs negative			Negative	93 (70)	39					

Abbreviations: NA = not applicable, na = not available, N = number of participants, RR = relative risk, OR = odds ratio, CI = confidence interval.
[†]Factors for poor response: Age at ITI start > 7 y; historical peak titer > 200 BU/ml; interval > 3 y; pre-ITI titer > 10 BU/ml; rescue ITI > 24 months between inhibitor diagnosis and ITI start.
[‡]Adjusted for: ¹pre-ITI titer, historical peak titer, interval between inhibitor detection and ITI start, age at inhibitor development; ²not specified.

31

11

Supplementary Table S7. Treatment-related determinants for primary ITI outcome

Variable	Source	N	Classification	Complete response	Non-complete response	Calculated		Hazard Ratio (HR)/OR for success (95% CI)	Reported	
						RR for success (95% CI)	OR for success (95% CI)		p-value (univariate)	p-value (multivariate)
Interval between inhibitor development and ITI start ≤12 vs >12 months	Barnes[53]	29	≤1	10 (83)	2	1.09 (0.76-1.57)	1.54 (0.23-10.15)	na	na	na
			>1	13 (76)	4					
	Callaghan[52]	30	≤1	NA	NA	1.50 (1.15-1.96)	na	na	0.22	na
			>1	18 (67)	9					
	DiMichele[25]	156	≤1	19 (68)	9	0.99 (0.75-1.31)	0.96 (0.40-2.31)	na	na	na
			>1	88 (69)	40					
	Greninger[50]	7	≤1	2 (100)	0	1.67 (0.81-3.41)	not calculable	na	na	na
			>1	3 (60)	2					
	Haya[39]	37	≤1	3 (75)	1	1.13 (0.61-2.08)	1.50 (0.14-16.14)	na	na	na
			>1	22 (67)	11					
	Lapalud[51]	15	≤1	3 (75)	1	2.06 (0.79-5.41)	5.25 (0.40-68.95)	na	na	na
			>1	4 (36)	7					
	Lenk[47]	111	≤1	47 (81)	11	1.02 (0.85-1.23)	1.12 (0.44-2.85)	na	na	na
			>1	42 (79)	11					
	Lin[61]	5	≤1	0 (0)	0	not calculable	not calculable	na	na	na
			>1	3 (60)	2					
	Nakar[40]	32	≤1	22 (96)	1	1.53 (1.04-2.26)	13.20 (1.40-124.63)	OR 13.2 (1.4-125)	0.02	OR 15.9 (1.5-169); 0.02*
			>1	10 (63)	6					
	Ryu[65]	17	≤1	0 (0)	0	not calculable	not calculable	na	na	na
			>1	14 (82)	3					
Interval between inhibitor development and ITI start ≤12 vs >12 months	Barnes[53]	29	≤12	14 (78)	4	0.95 (0.66-1.38)	0.78 (0.12-5.16)	na	na	na
			>12	9 (82)	2					
	Callaghan[52]	30	≤12	8 (80)	2	1.23 (0.79-1.92)	2.15 (0.36-13.05)	na	0.56	na
			>12	13 (66)	7					
	DiMichele[25]	156	≤12	41 (69)	18	1.02 (0.82-1.27)	1.07 (0.53-2.15)	na	na	na
			>12	66 (68)	31					
	Greninger[50]	7	≤12	3 (100)	0	2.00 (0.75-5.33)	not calculable	na	na	na
			>12	2 (50)	2					
	Haya[39]	37	≤12	8 (80)	2	1.27 (0.83-1.94)	2.35 (0.42-13.34)	na	na	na
			>12	17 (63)	10					
	Lapalud[51]	15	≤12	6 (50)	6	1.50 (0.27-8.19)	2.00 (0.14-28.42)	na	na	na
			>12	1 (33)	2					
	Lenk[47]	111	≤12	63 (81)	15	1.02 (0.83-1.26)	1.13 (0.41-3.09)	na	0.85	na
			>12	26 (79)	7					
	Lin[61]	5	≤12	0 (0)	1	not calculable	not calculable	na	na	na
			>12	3 (75)	1					
	Rivard[63]	32	≤12	15 (79)	4	1.74 (0.87-3.45)	4.50 (0.89-22.74)	na	na	na
			>12	5 (46)	6					
	Ryu[65]	17	≤12	0 (0)	0	not calculable	not calculable	na	na	na
			>12	14 (82)	3					

12

Interval between inhibitor development and ITI start ≤24 vs >24 months	Unwar[37]	9	≤12	8 (89)*	1	2.22 (1.01-4.91)	12.00 (1.05-136.80)	OR 2.2 (1.0-4.9)	0.05	na
			>12	4 (40)*	6					
	Barnes[53]	29	≤24	17 (77)	5	0.90 (0.62-1.32)	0.57 (0.05-5.88)	na	na	na
			>24	6 (86)	1					
	Callaghan[52]	30	≤24	16 (73)	6	1.16 (0.64-2.11)	1.60 (0.29-8.86)	na	na	na
			>24	5 (63)	3					
	DiMichele[25]	156	≤24	48 (69)	22	1.00 (0.81-1.24)	1.00 (0.51-1.97)	na	na	na
			>24	59 (69)	27					
	DiMinno[55]	137	≤24	43 (53)	38	1.10 (0.78-1.55)	1.22 (0.61-2.40)	OR 1.2 (0.6-2.4)	0.57	na
			>24	27 (48)	29					
	Elalfy[58]	20	≤24	11 (65)	6	1.94 (0.38-9.99)	3.67 (0.27-49.29)	na	na	na
			>24	1 (33)	2					
	Escobar[59]	5	≤24	3 (100)	0	2.00 (0.50-8.00)	not calculable	na	na	na
			>24	1 (50)	1					
	Greninger[50]	7	≤24	3 (75)	1	1.13 (0.42-3.00)	1.50 (0.06-40.64)	na	na	na
			>24	2 (67)	1					
	Haya[39]	37	≤24	14 (78)	4	1.34 (0.85-2.12)	2.55 (0.61-10.71)	na	na	na
			>24	11 (58)	8					
	Lapalud[51]	15	≤24	7 (50)	7	not calculable	not calculable	na	na	na
			>24	0 (0)	1					
Lin[61]	5	≤24	1 (50)	1	0.75 (0.15-3.72)	0.50 (0.01-19.56)	na	na	na	
		>24	2 (67)	1						
Oidenburg[62]	60*	≤24	19 (58)	14	1.03 (0.83-1.26)	1.09 (0.39-3.03)	na	na	na	
		>24	15 (56)	12						
Ryu[65]	17	≤24	0 (0)	0	not calculable	not calculable	na	na	na	
		>24	14 (82)	3						
Other categories (months)	DiMichele[25]	164	≤60	na	na	na	na	na	0.08	na
			overall	NA	NA	NA	NA	na	0.0001	na
Mariani[46]	314	≤15	12 (92)	1	1.15 (0.93-1.42)	2.92 (0.33-25.47)	na	na	0.02	na
		>15	37 (80)	9						
Nagami[33]	132	≤60	9 (100)	0	1.60 (0.94-2.74)	not calculable	na	0.032	na	
		>60	5 (63)	3						
Oidenburg[62]	60*	≤12	1 (100)	0	1.07 (0.94-1.23)	not calculable	na	na	na	
		>12	14 (93)	1						
Age at ITI start ≤12 vs >12 months	Callaghan[52]	31	≤12	3 (60)	2	0.83 (0.39-1.78)	0.58 (0.08-4.27)	na	na	na
			>12	18 (72)	7					
DiMichele[25]	162	≤12	106 (71)	43	1.32 (0.79-2.21)	2.11 (0.67-6.65)	na	na	na	
		>12	7 (54)	6						
El Alfay[57]	10	≤12	1 (100)	0	1.29 (0.91-1.82)	not calculable	na	na	na	
		>12	7 (78)	2						
Escobar[50]	6	≤12	0 (0)	0	not calculable	not calculable	na	na	na	
		>12	5 (83)	1						
Greninger[50]	7	≤12	1 (100)	0	1.50 (0.85-2.64)	not calculable	na	na	na	
		>12	4 (67)	2						
Haya[39]	38	≤12	0 (0)	1	not calculable	not calculable	na	na	na	
		>12	26 (70)	11						
Kurth[30]	8	≤12	1 (100)	0	3.50 (1.08-11.29)	not calculable	na	na	na	
		>12	2 (71)	5						

13

Age at ITI start Other categories (months)	Lapalud[51]	15	<12 >12	1 (100) 6 (43)	0 8	2.33 (1.27-4.27)	not calculable	na	na	na	
	DiMino[55]	137	<96 ≥96	43 (52) 27 (49)	39 28	1.07 (0.76-1.50)	1.14 (0.58-2.27)	OR 1.1 (0.6-2.3)	0.69	na	
	Dou[56]	77	overall	NA	NA	NA	NA	na	na	OR 0.897 (0.878-0.970); 0.007**	
	Elally[58]	20	≤84 >84	11 (69) 1 (25)	5 3	2.75 (0.49-15.50)	6.60 (0.54-80.24)	na	na	na	
	Hay[21]	115	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.83	na	
	Leh[47]	121	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.35	na	
	Marian[46]	192	<60 ≥60	38 (70) 88 (64)	16 50	1.10 (0.89-1.37)	1.35 (0.68-2.66)	na	na	na	
	Nogami[31]	192	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.005	0.008***	
	Oidenburg[62]	132	60 ^a ≥84 <15 ≥15	22 (63) 11 (44) 10 (91) 40 (30)	13 14 1 9	1.43 (0.86-2.38)	2.15 (0.76-6.13)	na	na	na	
	Ryu[65]	17	≤96 >96	9 (100) 5 (63)	0 3	1.60 (0.94-2.74)	not calculable	na	0.13	na	
	Unuvar[37]	12	≤120 >120	9 (75) 3 (43)	3 4	1.75 (0.70-4.37)	4.00 (0.55-29.18)	OR 1.7 (0.7-4.3)	0.32	na	
	ITI product pdFVIII vs rFVIII	Barnes[53]	29	pdFVIII rFVIII	4 (100) 19 (76)	0 6	1.32 (1.06-1.64)	not calculable	na	0.55	na
		Batorova[54]	16	pdFVIII rFVIII	14 (93) 1 (100)	1 0	0.93 (0.82-1.07)	not calculable	na	na	na
		Callaghan[52]	29	pdFVIII rFVIII	7 (88) 14 (67)	1 7	1.31 (0.88-1.96)	3.50 (0.36-34.33)	na	0.22	na
		DiMichele[25]	164	pdFVIII rFVIII	28 (68) 87 (71)	13 36	0.97 (0.76-1.22)	0.89 (0.42-1.91)	na	na	na
DiMino[55]		137	pdFVIII rFVIII	16 (48) 54 (56)	21 46	0.80 (0.53-1.21)	0.65 (0.30-1.39)	OR 0.7 (0.3-1.4)	0.26	na	
Hay[21]		115	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.58	na	
Lapalud[51]		15	pdFVIII rFVIII	0 (0) 7 (64)	4 4	not calculable	not calculable	na	na	na	
Nogami[31]		132	pdFVIII rFVIII	11 (61) 82 (73)	7 31	0.84 (0.57-1.24)	0.59 (0.21-1.67)	na	0.32	na	
Ter Avest[66]		21	pdFVIII rFVIII	9 (90) 9 (82)	1 7	1.10 (0.78-1.56)	2.00 (0.15-26.19)	HR 1.30 (0.51-3.33)	0.581	na	
			overall	NA	NA	NA	NA	na	0.54	na	
FVIII product brand same at inhibitor development as ITI Yes vs no		DiMino[55]	137	Yes No	46 (52) 24 (50)	43 24	1.03 (0.73-1.46)	1.07 (0.5-2.16)	OR 1.1 (0.6-3.6)	0.84	na
ITI dose <100 vs ≥100 IU/kg/day		DiMichele[25]	157	<100 ≥100	19 (76) 90 (68)	6 42	1.11 (0.87-1.43)	1.48 (0.55-3.97)	na	na	na
			128	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.01	0.014
		DiMino[55]	137	<100 ≥100	22 (61) 48 (48)	14 53	1.29 (0.92-1.79)	1.74 (0.80-3.77)	OR 1.3 (0.5-3.0)	0.57	na
	Escobar[59]	6	<100 ≥100	1 (100) 4 (80)	0 1	1.25 (0.81-1.94)	not calculable	na	na	na	
	Hay[21]	115	<100 ≥100	24 (41) 22 (39)	34 35	1.07 (0.68-1.68)	1.12 (0.53-2.37)	na	0.909	na	

14

ITI dose Other dosing (IU/kg/day)	Haya[39]	38	<100 ≥100	10 (91) 16 (59)	1 11	1.53 (1.07-2.21)	6.88 (0.77-61.70)	(0.000289-0.342)	na	0.0106***
	Lapalud[51]	15	<100 ≥100	5 (71) 2 (25)	2 6	2.86 (0.79-10.36)	7.50 (0.76-74.16)	na	na	na
	Marian[46]	194	<100 ≥100	54 (58) 74 (73)	39 27	0.79 (0.64-0.98)	0.51 (0.28-0.92)	na	0.001	0.03***
	Oidenburg[62]	60 ^a	<100 ≥100	11 (44) 22 (63)	14 13	0.70 (0.42-1.17)	0.46 (0.16-1.32)	na	na	na
	Nogami[31]	84	<90 ≥90	13 (72) 47 (71)	5 19	1.01 (0.73-1.40)	1.05 (0.33-3.36)	na	na	na
	Lin[61]	21	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.206	na
	Rivard[63]	32	<85 ≥85	14 (67) 8 (73)	7 3	0.92 (0.57-1.47)	0.75 (0.15-3.74)	na	na	na
	Ter Avest[66]	21	50 25	na na	na na	na na	na na	HR 1.80 (0.68-4.78)	0.237	na
	ITI frequency Daily vs less than daily	Barnes[53]	29	Daily Less	19 (83) 4 (67)	4 2	1.24 (0.68-2.25)	2.38 (0.32-17.74)	na	0.57
DiMino[55]		137	Daily Less	51 (59) 19 (60)	54 13	0.82 (0.58-1.16)	0.65 (0.29-1.44)	OR 0.6 (0.2-1.4)	0.28	na
Hay[21]		115	Daily Less	22 (39) 24 (41)	35 34	0.93 (0.60-1.46)	0.89 (0.42-1.88)	na	na	na
Nogami[31]		132	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.26	na
Rocino[64]		69	Daily Less	40 (82) 18 (90)	9 2	0.91 (0.75-1.11)	0.49 (0.10-2.52)	na	0.49	na
CVAD infections Infection vs no infection	Greninger[50]	11 ^a	Infection No Infection	0 (0) 5 (33)	3 3	not calculable	not calculable	na	na	na
	Hay[21]	93	Infection No Infection	18 (44) 25 (48)	23 27	0.91 (0.58-1.43)	0.85 (0.37-1.92)	na	0.83	na
	Lapalud[51]	15	Infection No Infection	1 (25) 6 (55)	3 5	0.46 (0.08-2.72)	0.28 (0.02-3.58)	na	na	na
	Rivard[63]	25	Infection No Infection	14 (74) 3 (50)	5 3	1.47 (0.63-3.43)	2.80 (0.42-18.69)	na	na	na
Interruption of therapy Yes vs no	Rivard[63]	32	Yes No	3 (75) 19 (68)	1 9	1.11 (0.59-2.06)	1.42 (0.13-15.64)	na	na	na
Infections Yes vs no	Rivard[63]	32	Yes No	12 (67) 10 (73)	6 4	0.93 (0.59-1.49)	0.80 (0.18-3.65)	na	na	na
Adjuvant immunomodulatory therapy Yes vs no	Barnes[53]	29	Yes No	6 (26) 2 (33)	17 4	0.78 (0.21-2.94)	0.71 (0.10-4.89)	na	0.99	na
	Kurth[30]	8	Yes No	0 (0) 3 (50)	2 3	not calculable	not calculable	na	na	na
	Nogami[31]	132	Yes No	8 (57) 84 (73)	6 31	0.78 (0.49-1.25)	0.49 (0.16-1.53)	na	0.35	na
Bleeding during ITI Yes vs no	DiMino[55]	137	Yes No	28 (42) 23 (77)	38 9	0.59 (0.41-0.84)	0.29 (0.12-0.72)	OR 3.45 (1.4-8.6)	0.011	na
Monthly bleeding rate	DiMino[55]	137	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.05	na
	Kreuz[60]	48	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.0005	na
Surgery during ITI Yes vs no	Ter Avest[66]	21	Yes No	5 (71) 13 (92)	2 1	0.77 (0.47-1.26)	0.19 (0.01-2.62)	HR 0.82 (0.29-2.35)	0.751	na

15

Adverse events	DiMinno[55]	137	No	na	na	na	na	OR 2.6 (1.3-5.3) OR 3.25 (1.5-7.2) [†]	0.002 [†]	na
----------------	-------------	-----	----	----	----	----	----	--	--------------------	----

Abbreviations: NA = not applicable, na = not available, N = number of participants, ITI = immune tolerance induction, RR = relative risk, OR = odds ratio, CI = confidence interval, IU = international unit, BU = Bethesda unit, kg = kilogram, pdFVIII = plasma-derived factor VIII, rFVIII = recombinant factor VIII, CVAD = central venous access device.
[†]161 patients. [‡]Both primary and rescue ITI. [§]Adverse events without bleedings. [¶]CS+PS vs F.
 Adjusted for: ¹pre-ITI titer, ²titer at diagnosis, ³historical peak titer; ⁴pre-ITI titer, titer at diagnosis, historical peak titer; ⁵interval between inhibitor development and ITI start, FVIII product and dose, adjuvant therapy. ^{**}not specified.

32

16

Supplementary Table S8. Inhibitor-related determinants for primary ITI outcome

Variable	Source	N	Classification	Complete response	Non-complete response	Calculated		Reported	
						RR for success (95% CI)	OR for success (95% CI)	Hazard Ratio (HR)/OR for success (95% CI)	p-value (univariate)
ED at inhibitor development <25 vs ≥25 days	Batorova[54]	16	<25	6 (100)	0	1.11 (0.90-1.37)	not calculable	na	na
			≥25	9 (90)	1				
	Callaghan[52]	24	<25	14 (51)	9	0.61 (0.44-0.84)	not calculable	na	na
			≥25	1 (100)	0				
	El Alfay[57]	10	<25	4 (100)	0	1.50 (0.85-2.64)	not calculable	na	na
			≥25	4 (67)	2				
	Ryu[65]	12	<25	7 (88)	1	0.88 (0.67-1.14)	not calculable	na	na
			≥25	4 (100)	0				
	Ter Aves[66]	21	<25	11 (85)	2	0.97 (0.68-1.37)	0.79 (0.06-10.38)	na	0.77
			≥25	7 (88)	1				
Unuvar[37]	16	<25	2 (33)	4	1.11 (0.25-4.86)	1.17 (0.13-10.22)	na	na	
		≥25	3 (50)	7					
ED between inhibitor development and ITI start Other category	Lenk[47]	121	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.33
	Ter Aves[66]	21	≤15	9 (90)	1	1.10 (0.78-1.56)	2.00 (0.15-26.19)	HR 0.93 (0.37-2.35)	0.870
			>15	9 (82)	2				
Age at inhibitor development <12 vs ≥12 months	Barnes[53]	29	<12	2 (50)	2	0.60 (0.22-1.61)	0.19 (0.02-1.78)	na	0.27
			≥12	21 (84)	4				
	Batorova[54]	16	<12	2 (100)	0	1.08 (0.93-1.25)	not calculable	na	na
			≥12	13 (93)	1				
	Callaghan[52]	23	<12	4 (57)	3	0.91 (0.43-1.93)	0.80 (1.13-4.87)	na	na
			≥12	10 (63)	6				
	Escobar[59]	5	<12	0 (0)	0	not calculable	not calculable	na	na
			≥12	4 (80)	1				
	Greninger[50]	7	<12	1 (33)	2	0.33 (0.07-1.65)	not calculable	na	na
			≥12	4 (100)	0				
	Kurth[30]	7	<12	0 (0)	0	not calculable	not calculable	na	na
			≥12	2 (29)	5				
	Lin[61]	21	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.089 [§]
Nagami[31]	132	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.47	
Ryu[65]	17	<12	2 (67)	1	0.78 (0.34-1.78)	0.33 (0.02-6.64)	na	0.949	
		≥12	12 (86)	2					
Ter Aves[66]	21	<12	2 (67)	1	0.75 (0.33-1.70)	0.25 (0.02-4.17)	na	na	
		≥12	15 (89)	2					
Inhibitor titer at diagnosis <5 vs ≥5 BU/mL	Nogami[31]	132	overall	NA	NA	NA	NA	HR 0.98 (0.95-1.01)	0.157
	Unuvar[37]	19	<5	2 (67)	1	1.07 (0.44-2.59)	1.20 (0.09-16.24)	na	0.06
			≥5	10 (63)	6				
Inhibitor response <5 vs ≥5 BU/mL	Nogami[31]	132	<5	35 (95)	2	1.52 (1.27-1.81)	10.56 (2.39-46.64)	na	0.0001
			≥5	58 (62)	35				
			<5	13 (72)	5	0.79 (0.56-1.12)	0.26 (0.03-2.59)	na	0.49
Pre-ITI titer <5 vs ≥5 BU/mL	Barnes[53]	29	<5	10 (91)	1				
	Batorova[54]	16	<5	14 (100)	0	2.00 (0.50-8.00)	not calculable	na	na
			≥5	1 (50)	1				
	Callaghan[52]	31	<5	15 (94)	1	2.00 (1.15-3.50)	17.14 (1.78-164.98)	na	na
		≥5	7 (47)	8					

17

Pre-IT titer ≤10 vs >10 BU/mL	DiMichele[25]	156	<5	67 (88)	9	1.72 (1.37-2.16)	7.08 (3.11-16.12)	na	na	na
			≥5	41 (51)	39					
	DiMinno[55]	137	<5	49 (65)	27	1.87 (1.28-2.75)	3.46 (1.70-7.01)	OR 3.5 (1.7-7.0)	0.01	OR 2.3 (1.3-4.1); 0.001*
			≥5	21 (34)	40					
	El Alfay[57]	10	<5	1 (100)	0	1.29 (0.91-1.82)	not calculable	na	na	na
			≥5	7 (78)	2					
	Escobar[59]	6	<5	4 (100)	0	2.00 (0.50-8.00)	not calculable	na	na	na
			≥5	1 (50)	1					
	Greninger[50]	7	<5	2 (67)	1	0.89 (0.33-2.37)	0.67 (0.02-18.06)	na	na	na
			≥5	3 (75)	1					
	Haya[39]	37	<5	6 (75)	2	1.14 (0.91-1.85)	1.58 (0.27-9.31)	na	na	na
			≥5	19 (66)	10					
	Kurth[30]	8	<5	0 (0)	2	not calculable	not calculable	na	na	na
			≥5	3 (60)	3					
	Lapalad[51]	15	<5	3 (60)	2	1.50 (0.53-4.26)	2.25 (0.25-20.13)	na	na	na
			≥5	4 (40)	6					
	Lin[61]	5*	<5	1 (50)	1	0.75 (0.15-3.72)	0.50 (0.01-19.56)	na	na	na
			≥5	2 (67)	1					
	Ryu[65]	21	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.189†	na
			<5	9 (82)	2	0.98 (0.62-1.55)	0.90 (0.06-12.58)	na	0.705	na
			≥5	5 (83)	1					
	Salviato[24]	17	<5	7 (88)	1	1.53 (0.77-3.06)	5.25 (0.40-68.95)	na	na	na
			≥5	4 (57)	3					
	Ter Avest[66]	21	<5	11 (100)	0	1.43 (0.95-2.14)	not calculable	na	0.003	na
			≥5	7 (70)	3					
	Barnes[53]	29	≤10	22 (81)	5	1.63 (0.40-6.59)	4.40 (0.23-82.98)	na	na	na
		>10	1 (50)	1						
Batorova[54]	16	≤10	15 (100)	0	not calculable	not calculable	na	na	na	
		>10	0 (0)	1						
Callaghan[52]	31	≤10	17 (89)	2	2.15 (1.08-4.27)	11.90 (1.85-76.53)	na	na	na	
		>10	5 (42)	7						
DiMichele[25]	156	≤10	80 (86)	13	1.94 (1.45-2.58)	7.69 (3.57-16.59)	na	na	na	
		>10	28 (44)	35						
DiMinno[55]	128	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.005	0.001*	
		≤10	60 (57)	45	1.83 (1.07-3.14)	2.93 (1.26-6.81)	OR 2.9 (1.2-6.8)	0.01		
		>10	10 (31)	22						
El Alfay[57]	10	≤10	1 (100)	0	1.29 (0.91-1.82)	not calculable	na	na	na	
		>10	7 (78)	2						
Escobar[59]	6	≤10	4 (100)	0	2.00 (0.50-8.00)	not calculable	na	na	na	
		>10	1 (50)	1						
Greninger[50]	7	≤10	4 (80)	1	1.60 (0.37-6.85)	4.00 (0.12-136.97)	na	na	na	
		>10	1 (50)	1						
Haya[39]	37	≤10	16 (89)	2	1.88 (1.14-3.10)	8.89 (1.59-49.84)	na	na	(0.00253-0.7189) 0.0286*	
		>10	9 (67)	10						
Kurth[30]	8	≤10	1 (33)	2	0.83 (0.12-5.72)	0.75 (0.04-14.97)	na	na	na	
		>10	2 (40)	3						
Lapalad[51]	15	≤10	4 (44)	5	0.89 (0.30-2.63)	0.80 (0.10-6.35)	na	na	na	
		>10	3 (50)	3						
Lin[61]	5*	≤10	2 (67)	1	1.33 (0.27-6.61)	2.00 (0.05-78.25)	na	na	na	
		>10	1 (50)	1						

18

Pre-IT titer Other categories [BU/mL]	Marian[46]	173	≤10	84 (79)	23	1.62 (1.24-2.12)	3.88 (1.99-7.57)	na	na	na
			>10	32 (48)	34					
	Oldenburg[62]	173	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.03	0.04*
			≤10	20 (71)	8	1.76 (1.09-2.84)	3.65 (1.24-10.78)	na	na	na
			>10	13 (41)	19					
	Rivard[63]	32	<10	14 (93)	1	1.98 (1.18-3.34)	15.75 (1.67-148.12)	na	na	na
			≥10	8 (47)	9					
	Ryu[65]	17	≤10	14 (82)	3	not calculable	not calculable	na	na	na
			>10	0 (0)	0					
	Salviato[24]	17	≤10	10 (83)	2	not calculable	not calculable	na	na	na
			>10	0 (0)	3					
	Ter Avest[66]	21	≤10	15 (100)	0	2.00 (0.90-4.45)	not calculable	na	na	na
			>10	3 (50)	3					
	Unuvar[37]	19	≤10	6 (100)*	0	2.17 (1.20-3.90)	not calculable	OR 2.1 (1.2-3.8)	0.04	na
			>10	6 (46)	7					
	Hay[21]	115	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.98	na
			<40	NA	NA	NA	NA	na	0.0068	na
	Kreuz[60]	48	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.08	na
	Nagami[31]	122	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.01	na
	Oldenburg[62]	60*	≤2.5	13 (85)	2	2.17 (1.44-3.26)	9.75 (1.96-48.47)	na	na	na
			>2.5	18 (40)	27					
	Ter Avest[66]	21	<40	17 (100)	0	4.00 (0.73-21.84)	not calculable	HR 0.18 (0.02-1.34)	0.096	na
			≥40	1 (25)	3					
	Barnes[53]	29	≤100	21 (81)	5	1.21 (0.53-2.76)	2.10 (0.16-28.02)	na	na	na
			>100	2 (67)	1					
	Batorova[54]	16	≤100	13 (100)	0	1.50 (0.67-3.34)	not calculable	na	na	na
		>100	2 (67)	1						
Callaghan[52]	31	≤100	19 (83)	4	2.20 (0.88-5.49)	7.92 (1.32-47.51)	na	na	na	
		>100	3 (88)	5						
DiMichele[25]	160	≤100	96 (83)	20	2.43 (1.60-3.69)	9.28 (4.22-20.40)	na	na	na	
		>100	15 (34)	29						
El Alfay[57]	10	≤100	8 (89)	1	not calculable	not calculable	na	na	na	
		>100	0 (0)	1						
Escobar[59]	6	≤100	4 (100)	0	2.00 (0.50-8.00)	not calculable	na	na	na	
		>100	1 (50)	1						
Greninger[50]	7	≤100	3 (75)	1	1.13 (0.42-3.00)	1.50 (0.06-40.64)	na	na	na	
		>100	2 (67)	1						
Haya[39]	38	≤100	18 (90)	2	2.03 (1.18-3.46)	11.25 (1.99-63.56)	na	na	na	
		>100	8 (44)	10						
Kurth[30]	8	≤100	2 (50)	2	2.00 (0.28-14.70)	3.00 (0.15-59.89)	na	na	na	
		>100	1 (25)	3						
Lapalad[51]	14	≤100	5 (50)	5	2.00 (0.33-12.18)	3.00 (0.23-39.61)	na	na	na	
		>100	1 (25)	3						
Lenk[47]	121	≤100	63 (89)	8	1.36 (1.10-1.67)	4.16 (1.65-10.45)	na	0.0012	na	
		>100	10 (65)	19						
Lin[61]	5*	≤100	3 (60)	2	not calculable	not calculable	na	na	na	
		>100	0 (0)	0						
Marian[46]	194	<100	93 (74)	32	1.47 (1.14-1.89)	2.82 (1.52-5.25)	na	na	na	
		≥100	35 (51)	34						
Marian[46]	194	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.01	0.04*	
		≤100	21 (75)	7	3.00 (0.54-16.60)	9.00 (0.80-101.16)	na	na	na	
		>100	1 (25)	3						

19

Historical peak titer ≤200 vs >200 BU/mL	Ryu[65]	17	<100	14 (82)	3	not calculable	not calculable	na	na	na
			>100	0 (0)	0					
	Salviato[24]	17	<100	3 (75)	1	1.18 (0.57-2.42)	1.71 (0.13-22.51)	na	na	na
			>100	7 (64)	4					
	Unuvar[37]	19	<100	4 (56)	7	2.91 (0.40-21.35)	4.00 (0.35-45.39)	na	na	na
			>100	1 (33)	7					
	Barnes[53]	29	<200	21 (81)	5	1.21 (0.53-2.76)	2.10 (0.16-28.02)	na	0.28	na
			>200	2 (67)	1					
	Batorova[54]	16	<200	13 (93)	1	0.93 (0.80-1.07)	not calculable	na	na	na
			>200	2 (100)	0					
	Callaghan[52]	31	<200	21 (84)	4	5.04 (0.84-30.41)	26.25 (2.38-288.95)	na	0.02	na
			>200	1 (27)	5					
	DiMichele[25]	160	<200	104 (79)	27	3.29 (1.72-6.31)	12.11 (4.68-31.30)	na	na	na
			>200	7 (44)	22					
	overall	128	NA	NA	NA	NA	NA	OR 2.4 (1.1-5.4)	0.05	na
	DiMinno[55]	137	<200	57 (52)	48	1.34 (0.85-2.10)	1.74 (0.78-3.88)		0.02	OR 1.9 (1.1-3.3); 0.033 [†]
			>200	13 (41)	19					
	Ei Alfay[57]	10	<200	8 (80)	2	not calculable	not calculable	na	na	na
		>200	0 (0)	0						
Escobar[59]	6	<200	5 (83)	1	not calculable	not calculable	na	na	na	
		>200	0 (0)	0						
Greninger[50]	7	<200	4 (67)	2	0.67 (0.38-1.17)	not calculable	na	na	na	
		>200	1 (100)	0						
Hay[21]	115	overall	NA	NA	NA	NA		0.026	na	
Hay[39]	38	<200	23 (84)	4	2.18 (1.08-4.44)	8.40 (1.79-39.44)	na	na	(0.98-0.9994); 0.0214 [†]	
		>200	5 (38)	8						
Kurth[30]	8	<200	2 (50)	2	2.00 (0.28-14.20)	3.00 (0.15-59.89)	na	na	na	
		>200	1 (25)	3						
Lapalud[51]	14	<200	5 (45)	6	1.36 (0.24-7.66)	1.67 (0.11-24.26)	na	na	na	
		>200	1 (33)	2						
Lin[61]	5 [*]	<200	3 (60)	2	not calculable	not calculable	na	na	na	
		>200	0 (0)	0						
Nogami[31]	132	overall	NA	NA	NA	NA		0.04	na	
Oldenburger[62]	60 [†]	<200	28 (58)	20	1.40 (0.69-2.85)	1.96 (0.54-7.07)	na	na	na	
		>200	5 (42)	7						
Ryu[65]	17	<200	14 (82)	3	not calculable	not calculable	na	0.9	na	
		>200	0 (0)	0						
Salviato[24]	17	<200	5 (71)	2	1.14 (0.56-2.33)	1.50 (0.17-13.23)	na	na	na	
		>200	5 (53)	3						
Unuvar[37]	19	<200	4 (29)	10	1.43 (0.21-9.93)	1.60 (0.13-19.09)	na	na	na	
		>200	1 (20)	4						
Oldenburger[62]	60 [†]	<25	19 (83)	4	2.18 (1.39-3.44)	7.80 (2.20-27.69)	na	0.01	na	
		>25	14 (38)	23						
Unuvar[37]	19	<50	8 (89)	1	4.67 (0.73-29.92)	12.00 (1.05-136.80)	OR 2.2 (1.0-4.9)	0.05	na	
		>50	4 (60)	6						
Barnes[53]	29	<100	19 (86)	3	1.51 (0.78-2.93)	4.75 (0.69-32.71)	na	na	na	
		>100	4 (57)	3						
Batorova[54]	16	<100	15 (100)	0	not calculable	not calculable	na	na	na	
		>100	0 (0)	1						
Callaghan[52]	31	<100	19 (86)	3	2.59 (1.01-6.62)	12.67 (2.00-80.15)	na	na	na	
		>100	3 (33)	6						

20

Peak titer during ITI ≤200 vs >200 BU/mL	DiMichele[25]	100	<100	57 (95)	3	3.17 (1.97-5.10)	44.33 (11.57-169.92)	na	na	na
			>100	12 (30)	28					
	DiMinno[55]	137	<100	55 (71)	22	2.86 (1.80-4.53)	7.50 (3.49-16.13)	OR 7.5 (3.4-16.1)	0.001	OR 4.8 (2.5-9.2); 0.001 [†]
			>100	15 (25)	49					
	Greninger[50]	7	<100	4 (67)	2	0.67 (0.38-1.17)	not calculable	na	na	na
			>100	1 (100)	0					
	Lapalud[51]	15	<100	3 (60)	2	1.50 (0.53-4.26)	2.25 (0.25-20.13)	na	na	na
			>100	4 (40)	6					
	Lin[61]	5 [*]	<100	3 (75)	1	not calculable	not calculable	na	na	na
			>100	0 (0)	1					
	Ryu[65]	17	<100	14 (82)	3	not calculable	not calculable	na	na	na
			>100	0 (0)	0					
	Barnes[53]	29	<200	21 (84)	4	1.68 (0.62-4.54)	5.25 (0.56-48.96)	na	0.001	na
			>200	2 (50)	2					
	Batorova[54]	16	<200	15 (100)	0	not calculable	not calculable	na	na	na
			>200	0 (0)	1					
	Callaghan[52]	31	<200	20 (80)	5	2.40 (0.76-7.57)	8.00 (1.13-56.79)	na	na	na
			>200	2 (33)	4					
DiMichele[25]	100	<200	61 (88)	8	3.17 (1.97-5.10)	21.92 (7.36-65.27)	na	na	na	
		>200	8 (76)	23						
overall	128	NA	NA	NA	NA	NA		0.001 [†]	0.005 [†]	
Ei Alfay[57]	20	<200	10 (67)	5	1.67 (0.54-5.17)	3.00 (0.37-24.17)	na	na	na	
		>200	2 (40)	3						
Greninger[50]	7	<200	4 (67)	2	0.67 (0.38-1.17)	not calculable	na	na	na	
		>200	1 (100)	0						
Lapalud[51]	15	<200	3 (60)	2	1.50 (0.53-4.26)	2.25 (0.25-20.13)	na	na	na	
		>200	4 (40)	6						
Lin[61]	5 [*]	<200	3 (75)	1	not calculable	not calculable	na	na	na	
		>200	0 (0)	1						
Ryu[65]	17	<200	14 (82)	3	not calculable	not calculable	na	0.413	na	
		>200	0 (0)	0						
Hay[21]	115	≤250	na	na	na	na		0.0002	na	
Other categories (BU/mL)		overall	NA	NA	NA	NA		0.002	0.002 [†]	
Krausz[60]	48	overall	NA	NA	NA	NA		0.0007	na	
Nogami[31]	132	overall	NA	NA	NA	NA		0.01	na	
Rocino[64]	71	overall	NA	NA	NA	NA	OR 1.2 (1.04-1.38)	0.0133	na	
Ter Avest[66]	21	<40	17 (100)	0	4.00 (0.73-21.84)	not calculable	HR 0.12 (0.02-0.91)	0.040	na	
		≥40	1 (25)	3						
Low titer inhibitor during ITI	Ter Avest[66]	21	Yes	na	na	na	na	HR 0.31 (0.11-0.91)	0.033	na

Abbreviations: NA = not applicable, na = not available, N = number of participants, ED = exposure days, ITI = immune tolerance induction, BU = Bethesda unit, HR = hazard ratio, RR = relative risk, OR = odds ratio, CI = confidence interval, CS = complete success, PS = partial success, F = failure.
[†]HR participants. †LR participants. †CS+PS vs F. †Both primary and rescue ITI.
 Adjusted for, †not specified

Supplementary Table S9. Patient-related determinants for ITI outcome in rescue ITI

Variable	Source	N	Classification	Complete response	Non-complete response	Calculated		Reported	
						RR for success (95% CI)	OR for success (95% CI)	OR for success (95% CI)	p-value (univariate)
Ethnicity	Escobar[59]	7	White	1 (50)	1	2.50 (0.27-23.36)	4.00 (0.12-136.97)	na	na
			Non-White	1 (20)	4				
White vs non-white	Kurth[30]	25	White	5 (31)	11	0.94 (0.29-3.04)	0.91 (0.16-5.20)	na	na
			Non-White	3 (33)	6				
Ethnicity	Escobar[59]	7	African American	1 (33)	2	1.33 (0.13-13.74)	1.50 (0.06-40.64)	na	na
			Non-African American	1 (25)	3				
African American vs non-AA	Greninger[50]	4	African American	0 (0)	1	not calculable	not calculable	na	na
			Non-African American	0 (0)	3				
F8 genotype	Escobar[59]	3	High risk mutation	1 (33)	2	not calculable	not calculable	na	na
			Low risk mutation	0 (0)	0				
High risk vs low risk mutation	Kurth[30]	25	>1	12 (50)	12	2.00 (1.34-2.98)	not calculable	na	na
			<1	1 (100)	0				
Number of risk factors for poor prognosis*	Oldenburg[62]	41	1	1 (100)	0	1.38 (1.04-1.84)	not calculable	na	na
			>1	13 (72)	5				

Abbreviations: na = not available, N = number of participants, RR = relative risk, OR = odds ratio, CI = confidence interval, CS = complete success, PS = partial success, F = failure.
 * Factors for poor response: Age at ITI start >7 y; historical peak titer >200 BU/ml; interval >2 years; pre-ITI titer >10 BU/ml; >24 months between inhibitor diagnosis and ITI start and rescue ITI. 1CS4PS vs F.

34

35

22

Supplementary Table S10. Treatment-related determinants for ITI outcome in rescue ITI

Variable	Source	N	Classification	Complete response	Non-complete response	Calculated		Reported	
						RR for success (95% CI)	OR for success (95% CI)	OR for success (95% CI)	p-value (univariate)
Interval between inhibitor development and ITI start	Greninger[50]	4	≤1	0 (0)	2	not calculable	not calculable	na	na
			>1	0 (0)	2				
≤1 vs >1 month	Greninger[50]	4	≤12	0 (0)	3	not calculable	not calculable	na	na
			>12	0 (0)	1				
Interval between inhibitor development and ITI start	Escobar[59]	7	≤24	0 (0)	0	not calculable	not calculable	na	na
			>24	2 (29)	5				
≤24 vs >24 months	Greninger[50]	4	≤12	0 (0)	1	not calculable	not calculable	na	na
			>12	0 (0)	3				
Age at ITI start	Kurth[30]	25	≤12	1 (100)	0	2.00 (1.34-2.98)	not calculable	na	na
			>12	12 (50)	12				
≤12 vs >12 months	Nogami[31]	12	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.03
			overall	NA	NA				
ITI dose (IU/kg/day)	Nogami[31]	12	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.80
			overall	NA	NA				
ITI frequency	Nogami[31]	12	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.22
			overall	NA	NA				
Daily vs less than daily	Kurth[30]	25	Yes	6 (55)	5	1.09 (0.51-2.32)	1.20 (0.25-5.84)	na	na
			No	7 (50)	7				
Adjuvant immunomodulatory therapy	Kurth[30]	25	Yes	6 (55)	5	1.09 (0.51-2.32)	1.20 (0.25-5.84)	na	na
			No	7 (50)	7				

Abbreviations: NA = not applicable, na = not available, N = number of participants, ITI = immune tolerance induction, IU = international unit, kg = kilogram, RR = relative risk, OR = odds ratio, CI = confidence interval.

36

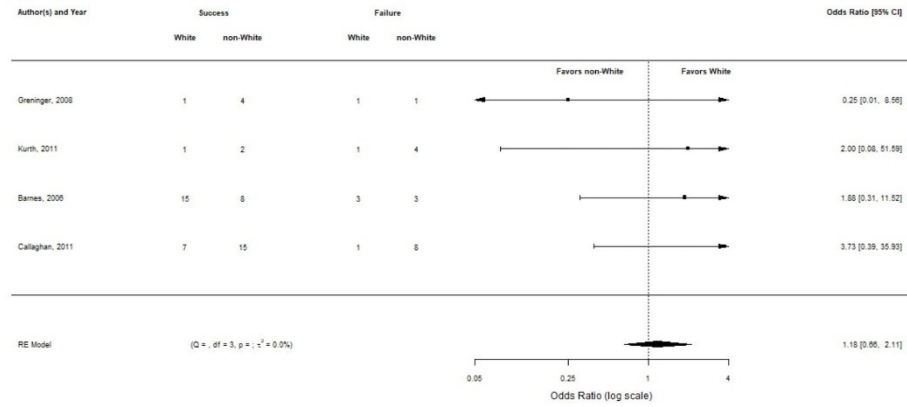
23

Supplementary Table S11. Inhibitor-related determinants for ITI outcome in rescue ITI

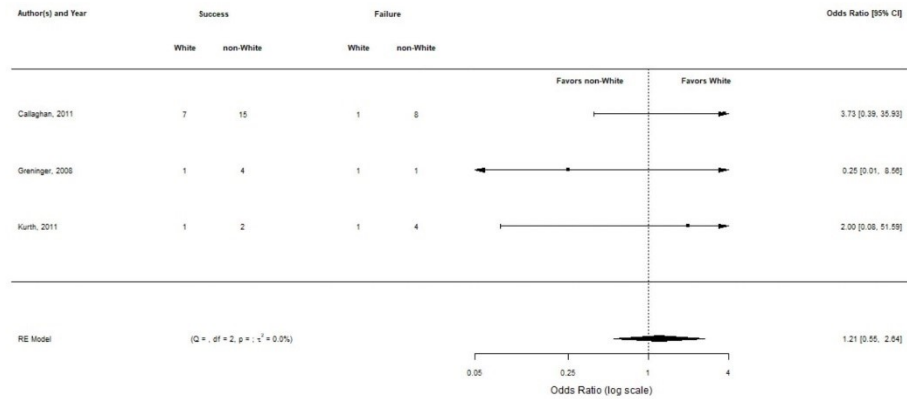
Variable	Source	N	Classification	Complete response	Non-complete response	Calculated		Reported	
						RR for success (95% CI)	OR for success (95% CI)	OR for success (95% CI)	p-value (univariate)
Age at inhibitor development ≤12 vs >12 months	Greninger[50]	4	≤12	0 (0)	2	not calculable	not calculable	na	na
	Kurth[30]	25	>12	0 (0)	16	not calculable	not calculable	na	na
Age at inhibitor development Other category (months)	Escobar[59]	7	<84	1 (17)	5	0.17 (0.03-1.00)	not calculable	na	na
			>84	1 (100)	0			na	0.44
Inhibitor response <5 vs ≥5 BU/mL	Nogam[31]	12	LR	2 (100)	0	2.50 (1.17-5.34)	not calculable	na	0.44
			HR	4 (40)	6				
Pre-ITI titer <5 vs ≥5 BU/mL	Greninger[50]	4	<5	0 (0)	1	not calculable	not calculable	na	na
			≥5	0 (0)	3				
Pre-ITI titer <10 vs ≥10 BU/mL	Kurth[30]	25	<5	4 (57)	3	2.57 (0.88-7.54)	4.67 (0.72-30.11)	na	na
			≥5	4 (22)	14				
Pre-ITI titer <10 vs ≥10 BU/mL	Escobar[59]	7	<10	1 (50)	1	2.50 (0.27-23.36)	4.00 (0.12-136.97)	na	0.68
			≥10	1 (20)	4				
Historical peak titer ≤200 vs >200 BU/mL	Greninger[50]	4	<10	0 (0)	3	not calculable	not calculable	na	na
			≥10	0 (0)	1				
Historical peak titer ≤200 vs >200 BU/mL	Kurth[30]	25	<10	4 (50)	4	2.13 (0.71-6.40)	3.25 (0.55-19.32)	na	na
			≥10	4 (24)	13				
Historical peak titer ≤200 vs >200 BU/mL	Nogam[31]	12	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.16
	Escobar[59]	6	≤200	2 (50)	2	not calculable	not calculable	na	na
Historical peak titer ≤200 vs >200 BU/mL			>200	0 (0)	2				
	Greninger[50]	4	≤200	0 (0)	3	not calculable	not calculable	na	na
Historical peak titer ≤200 vs >200 BU/mL			>200	0 (0)	1				
	Kurth[30]	24	≤200	7 (88)	1	not calculable	not calculable	na	na
Peak titer during ITI ≤200 vs >200 BU/mL			>200	0 (0)	16				
	Greninger[50]	4	≤200	0 (0)	1	not calculable	not calculable	na	na
Peak titer during ITI ≤200 vs >200 BU/mL			>200	0 (0)	3				
	Nogam[31]	12	overall	NA	NA	NA	NA	na	0.08

Abbreviations: na = not available, N = number of participants, BU = Bethesda units, ITI = immune tolerance induction, RR = relative risk, OR = odds ratio, CI = confidence interval.

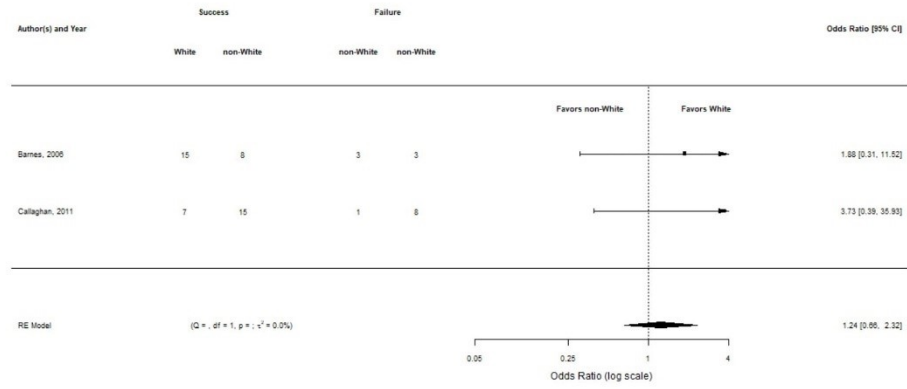
37 **Supplementary Figure S1. Meta-analysis and sensitivity analysis for patient-related determinant:**
 38 **Ethnicity – white versus nonwhite**



39
 40 **Figure S1A.** Meta-analysis for ethnicity on ITI success comparing white versus nonwhite, all studies included. Studies were arranged by
 41 study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only intermediate- or high-quality studies.
 42

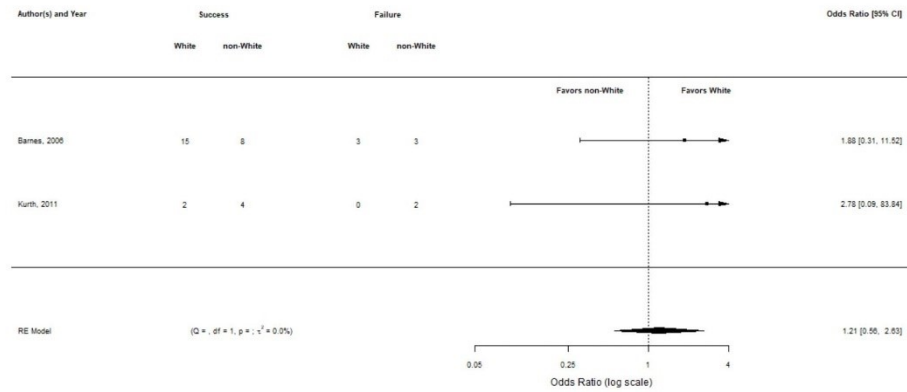


43
 44 **Figure S1B.** Meta-analysis for ethnicity on ITI success comparing white versus nonwhite, including only persons with severe hemophilia A.
 45 This plot was similar when including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI
 46 study.[21]
 47



48
49
50

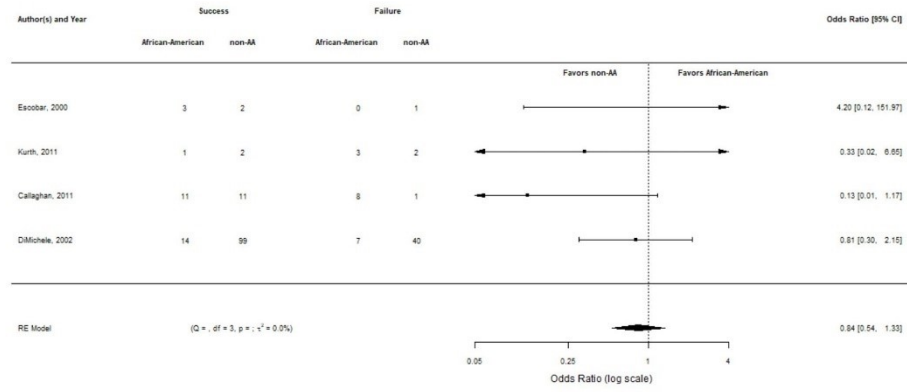
Figure S1C. Meta-analysis for ethnicity on ITI success comparing white versus nonwhite, with only studies including >20 participants.



51
52
53
54
55
56

Figure S1D. Meta-analysis for ethnicity on ITI success comparing white versus nonwhite, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure.

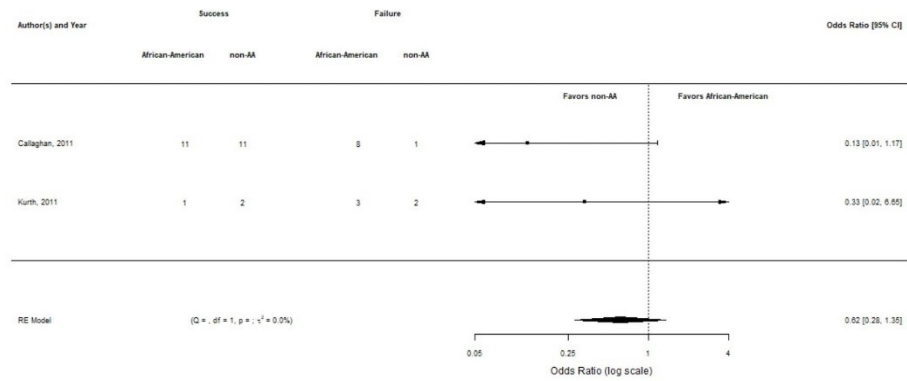
57 **Supplementary Figure S2. Meta-analysis and sensitivity analysis for patient-related determinant:**
 58 **Ethnicity – African American (AA) versus non-African American**



59

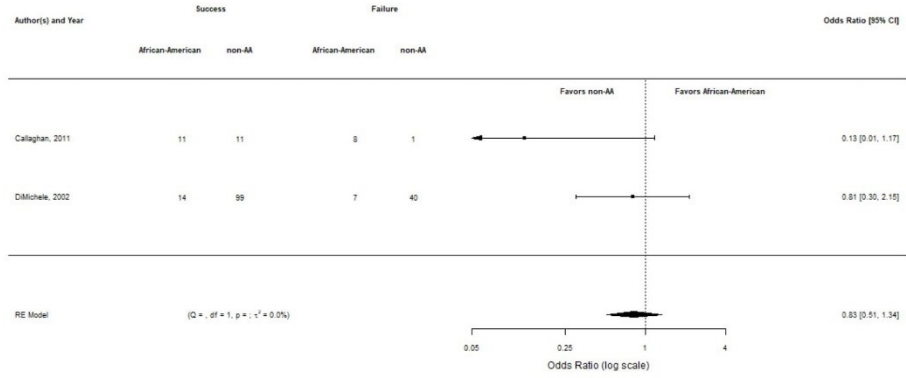
60 **Figure S2A.** Meta-analysis for ethnicity on ITI success comparing African-American versus non-African-American, all studies included.
 61 Studies were arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only when including only
 62 studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study[21] or intermediate- or high-quality
 63 studies. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants in the African American group.

64



65

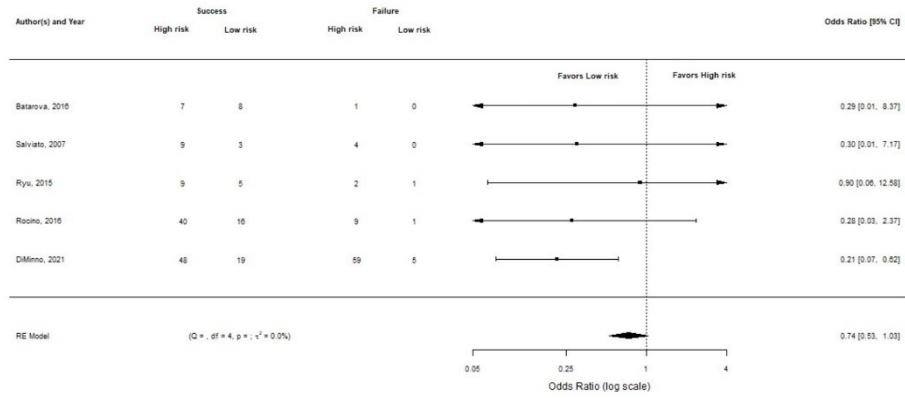
66 **Figure S2B.** Meta-analysis for ethnicity on ITI success comparing African-American versus non-African-American, including only studies with
 67 persons with severe hemophilia A. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants in the African American group.
 68
 69



70
71
72
73
74

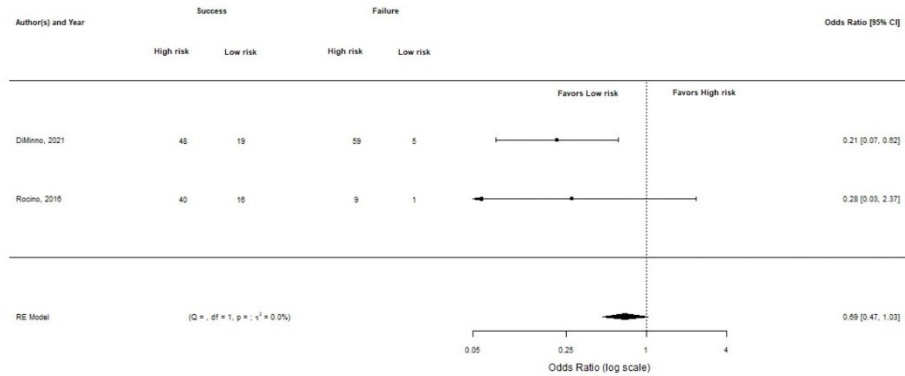
Figure S2C. Meta-analysis for ethnicity on ITI success comparing African-American versus non-African-American, with only studies including >20 participants. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants in the African American group.

75 **Supplementary Figure 3S. Meta-analysis and sensitivity analysis for patient-related determinant:**
 76 **F8 genotype – high-risk versus low-risk mutation**

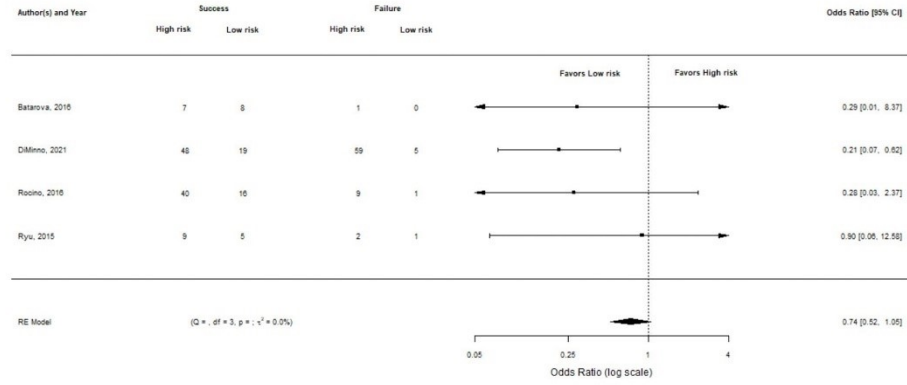


77
 78 **Figure 3SA.** Meta-analysis for *F8* genotype on ITI success comparing high- versus low-risk mutations, all studies included. Studies were
 79 arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only persons with severe hemophilia A,
 80 because all these studies only include persons with severe hemophilia A. Escobar[59] is not included in the plot because of zero
 81 participants in the low risk mutation group.

82

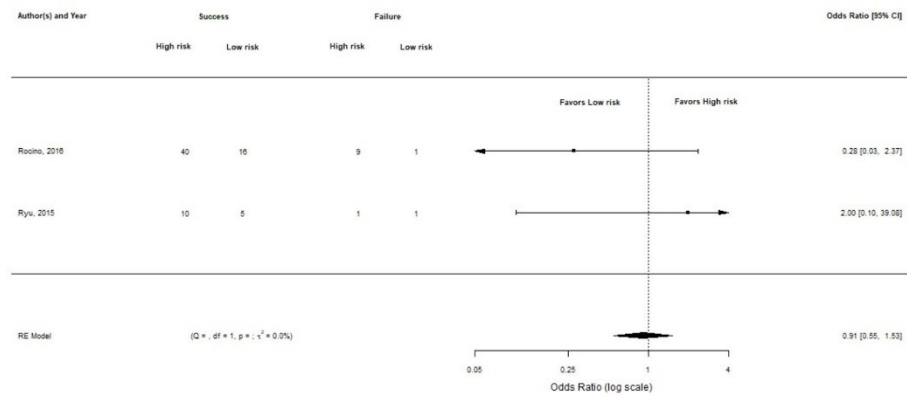


83
 84 **Figure 3SB.** Meta-analysis for *F8* genotype on ITI success comparing high- versus low-risk mutations, with only studies including >20
 85 participants.
 86
 87



88
89
90
91
92

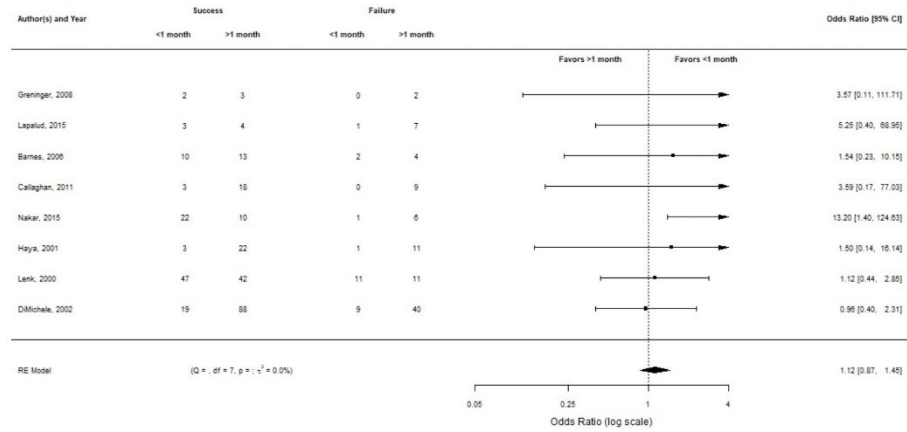
Figure 53C. Meta-analysis for *F8* genotype on ITI success comparing high- versus low-risk mutations, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21] This plot was similar when including only intermediate- or high-quality studies. Escobar[59] is not included in the plot because of zero participants in the low risk mutation group.



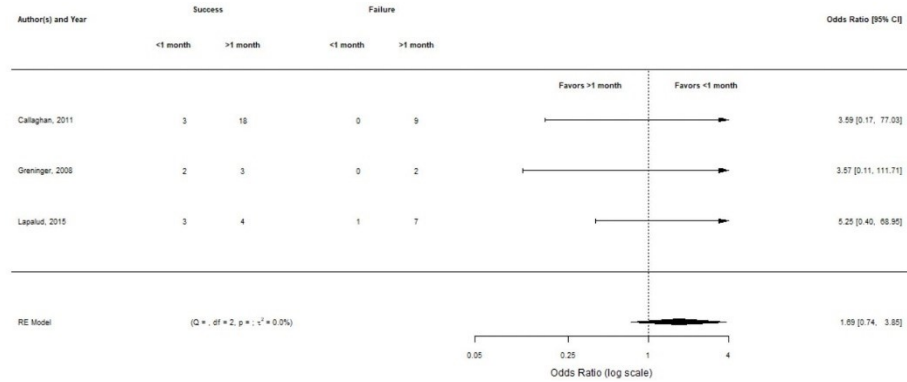
93
94
95
96
97
98

Figure 53D. Meta-analysis for *F8* genotype on ITI success comparing high- versus low-risk mutations, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Batorova[54] and DiMinno[55] are not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

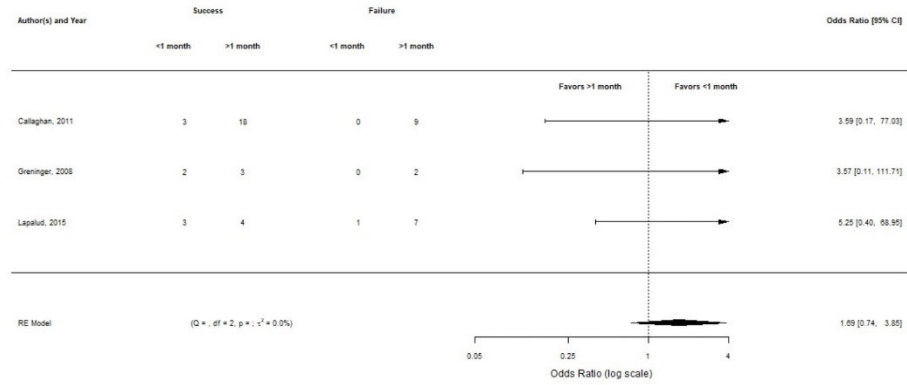
99 **Supplementary Figure S4. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related**
 100 **determinant: Interval between inhibitor development and ITI start – ≤1 versus >1 month**



101 **Figure S4A.** Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤1 versus >1 month, all studies
 102 included. Studies were arranged by study sample size, with on top the smallest study. Ryu[65] is not included in the plot because of zero
 103 participants in the ≤1 month group.
 104
 105

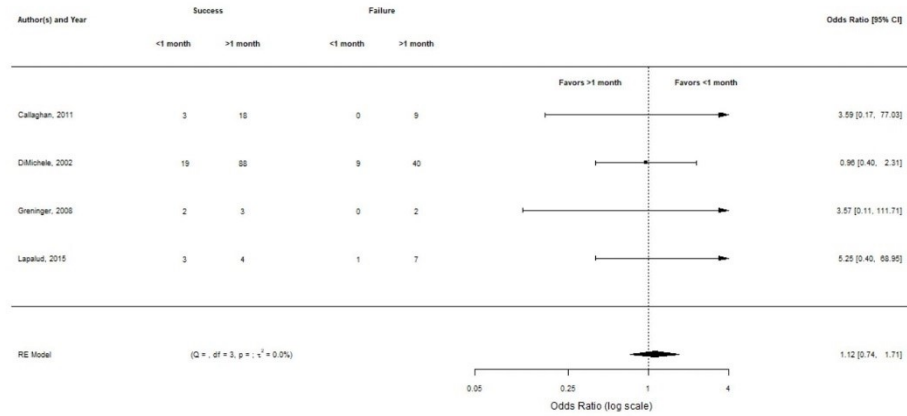


106 **Figure S4B.** Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤1 versus >1 month, including
 107 only persons with severe hemophilia A. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the ≤1 month group.
 108
 109



110
111
112
113
114

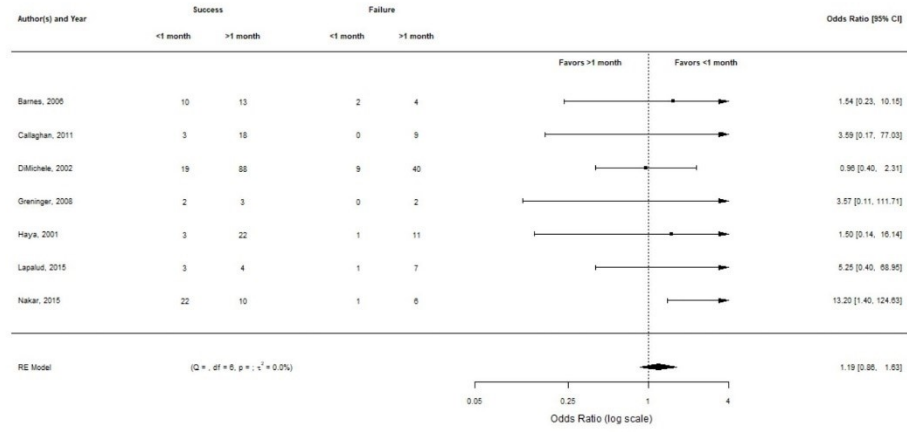
Figure S4C. Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤1 versus >1 month, with only studies including >20 participants.



115
116
117
118
119

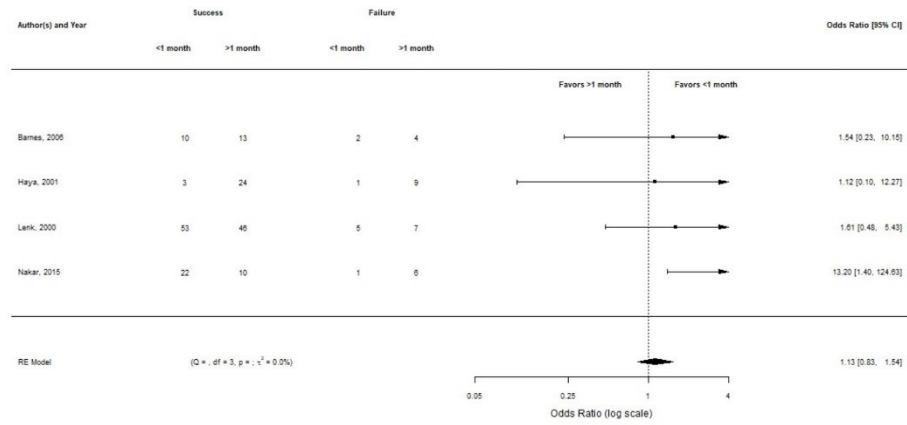
Figure S4D. Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤1 versus >1 month, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21] Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the ≤1 month group.

120



121
122
123
124

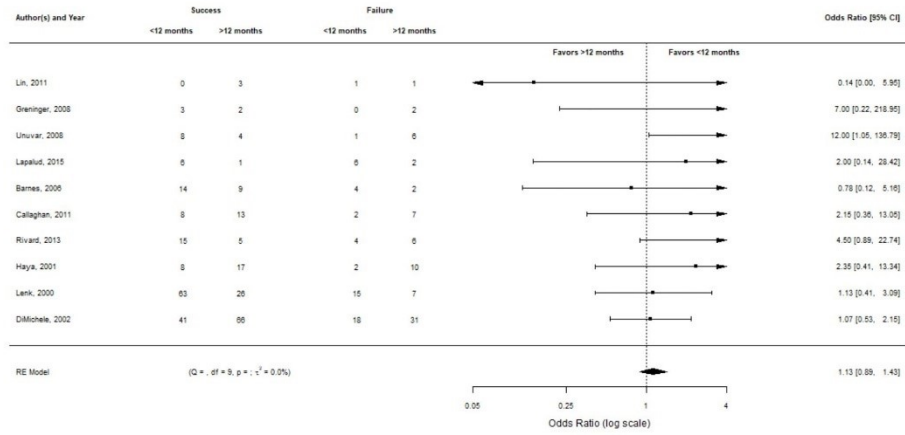
Figure S4E. Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤1 versus >1 month, including only intermediate- or high-quality studies. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the ≤1 month group.



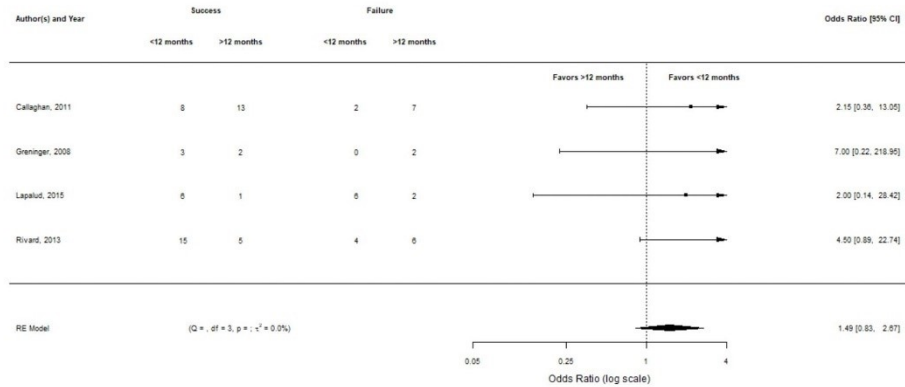
125
126
127
128

Figure S4F. Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤1 versus >1 month, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure.

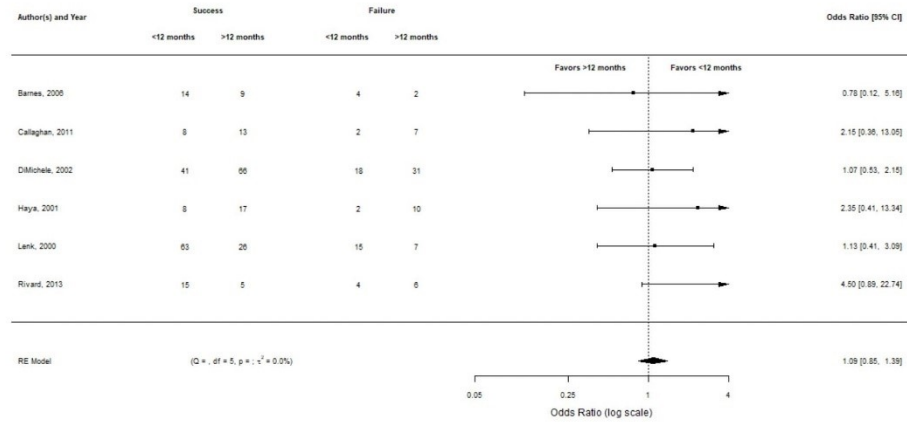
129 **Supplementary Figure S5. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related**
 130 **determinant: Interval between inhibitor development and ITI start – ≤12 versus >12 months**



131 **Figure S5A.** Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, all
 132 studies included. Studies were arranged by study sample size, with on top the smallest study. Ryu[65] is not included in the plot because of
 133 zero participants in the ≤12 months group.
 134

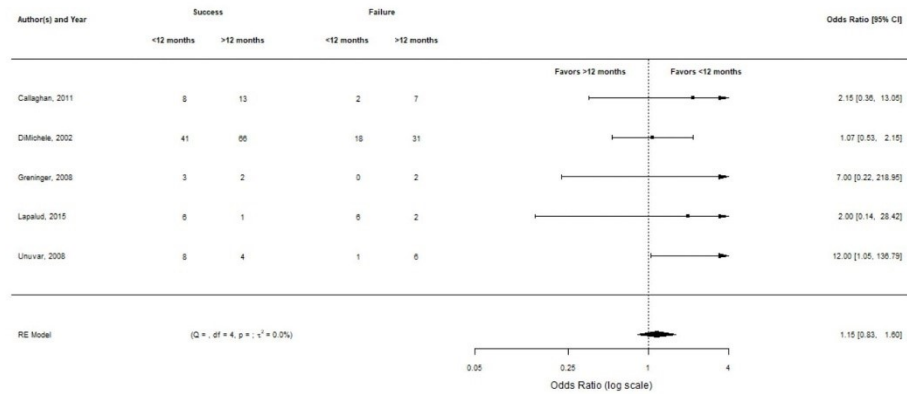


135 **Figure S5B.** Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤12 versus >12 months,
 136 including only persons with severe hemophilia A. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the ≤12 months group.
 137



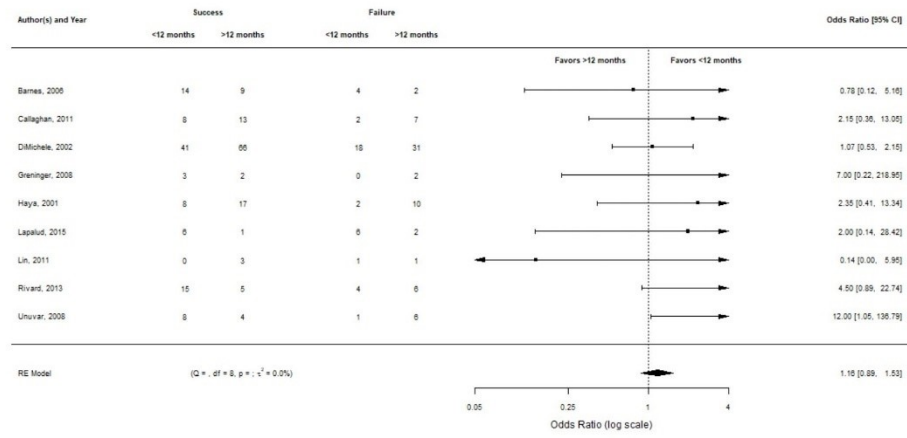
138
139
140
141

Figure 55C. Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, with only studies including >20 participants.



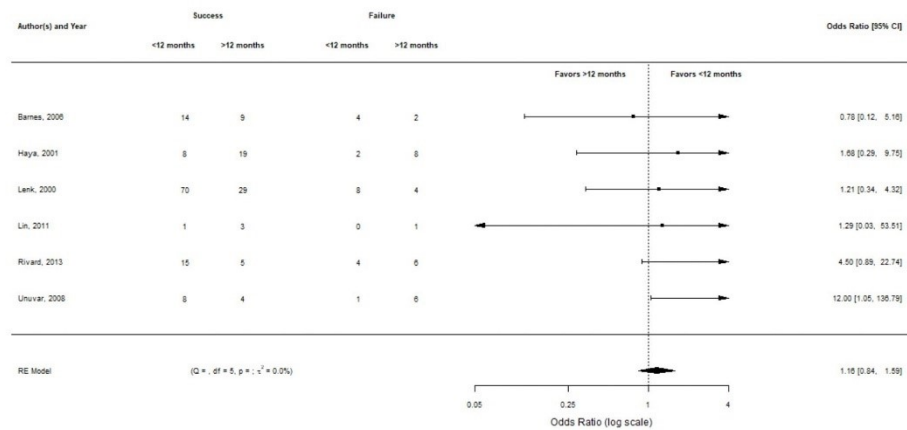
142
143
144
145
146

Figure 55D. Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study. [21] Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the ≤12 months group.



147
148
149
150
151

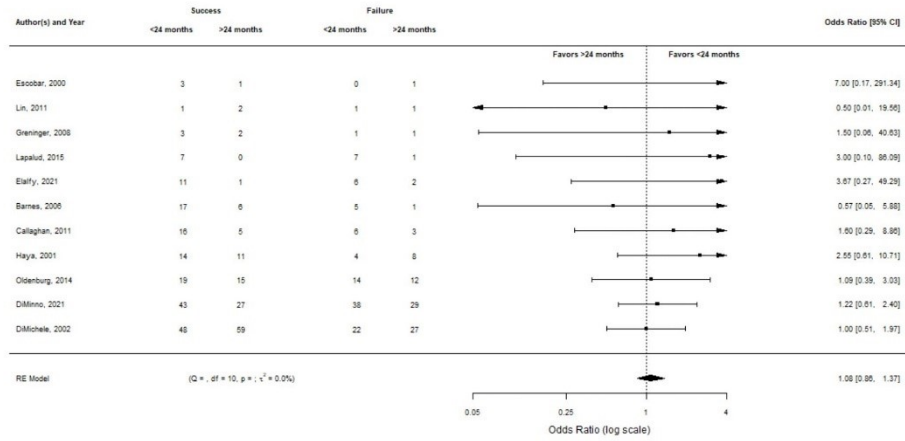
Figure S5E. Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, including only intermediate- or high-quality studies. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the ≤12 months group.



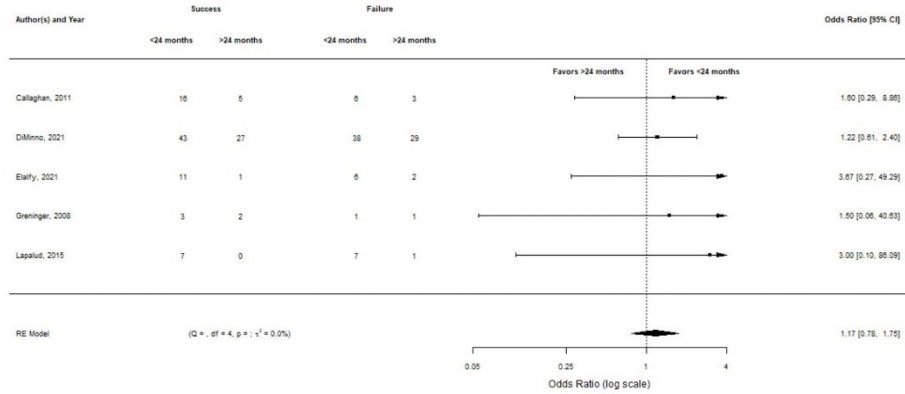
152
153
154
155

Figure S5F. Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure.

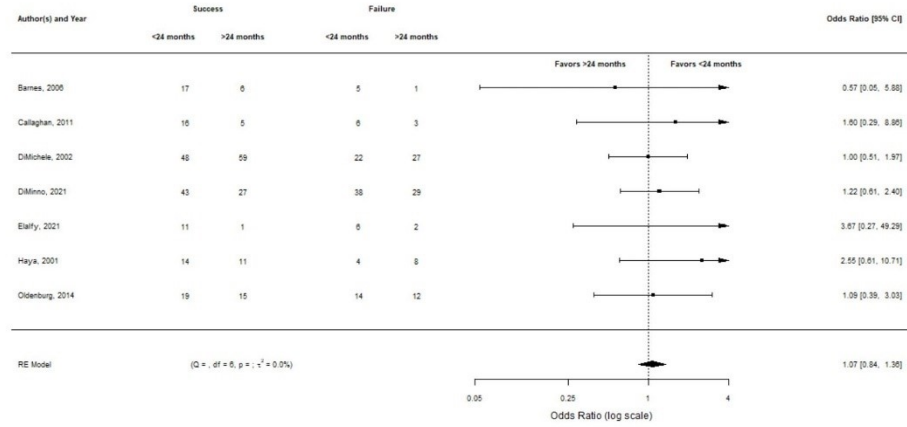
156 **Supplementary Figure S6. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related**
 157 **determinant: Interval between inhibitor development and ITI start – ≤24 versus >24 months**



158 **Figure S6A.** Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤24 versus >24 months, all
 159 studies included. Studies were arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only
 160 intermediate- or high-quality studies. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the ≤24 months group.
 161

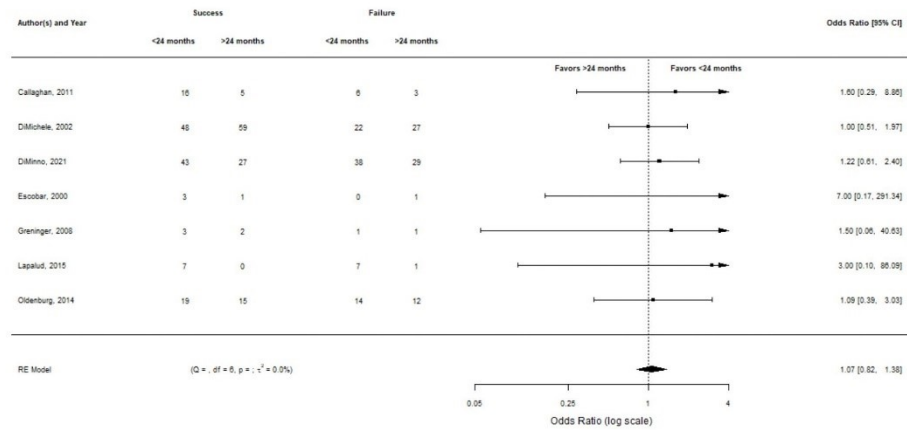


162 **Figure S6B.** Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤24 versus >24 months,
 163 including only persons with severe hemophilia A. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the ≤24 months group.
 164
 165



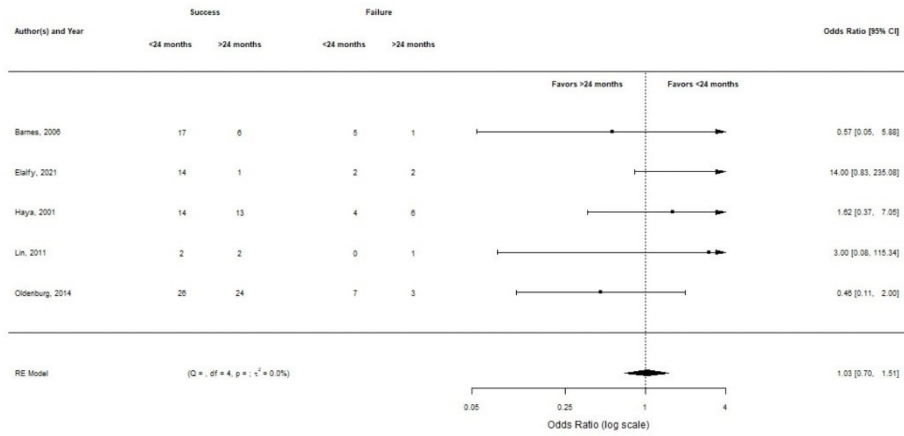
166
167
168
169

Figure S6C. Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤24 versus >24 months, with only studies including >20 participants.



170
171
172
173
174

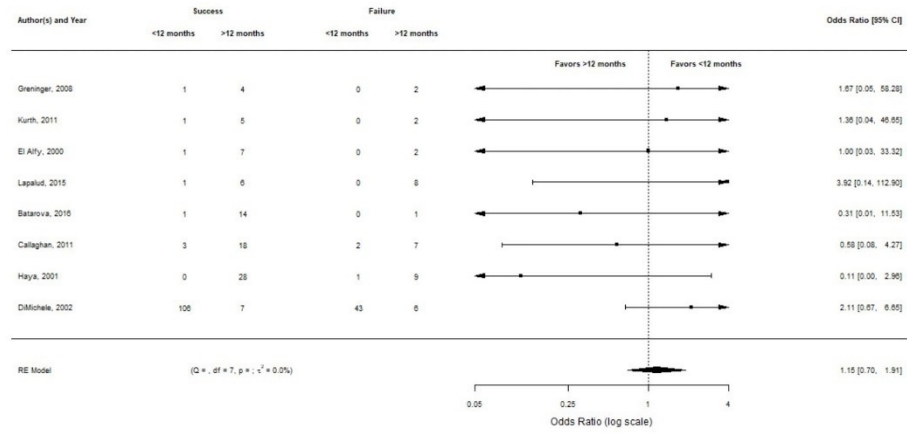
Figure S6D. Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤24 versus >24 months, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study. [21] Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the ≤24 months group.



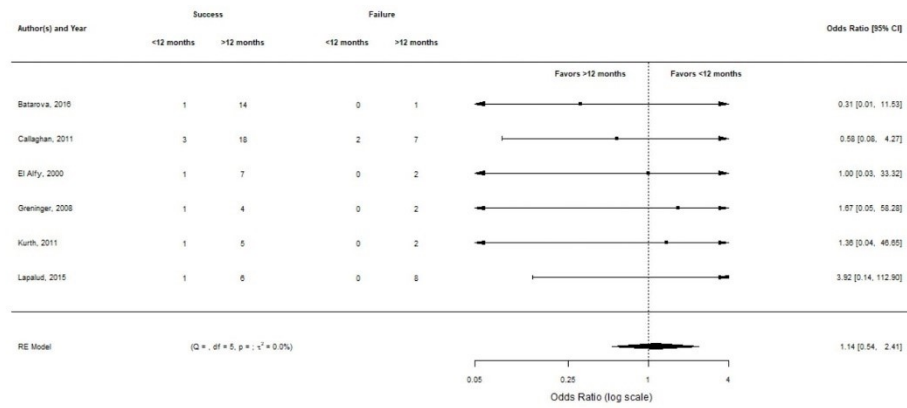
175
 176
 177
 178
 179
 180
 181

Figure S6E . Meta-analysis for interval between inhibitor development and ITI start on ITI success comparing ≤24 versus >24 months, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure. DiMinno[55] and Escobar[59] are not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

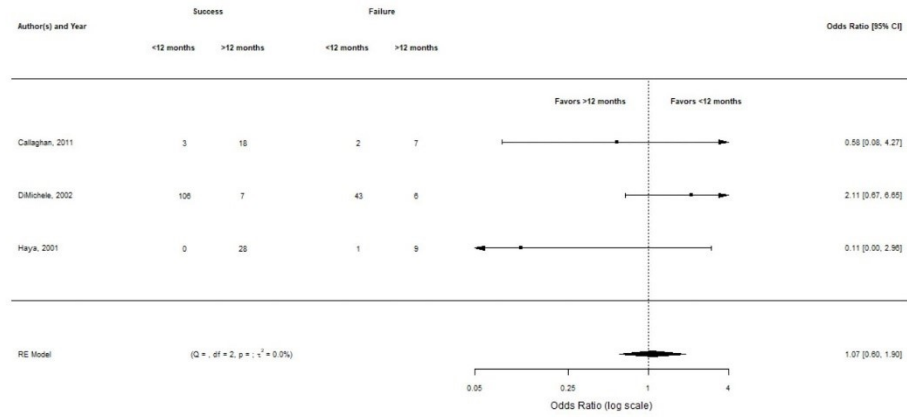
182 **Supplementary Figure S7. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related**
 183 **determinant: Age at ITI start - ≤12 versus >12 months**



184 **Figure S7A.** Meta-analysis for age at ITI start on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, all studies included. Studies were arranged
 185 by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only intermediate- or high-quality studies.
 186 Escobar[59] is not included in the plot because of zero participants in the ≤12 months group.
 187
 188

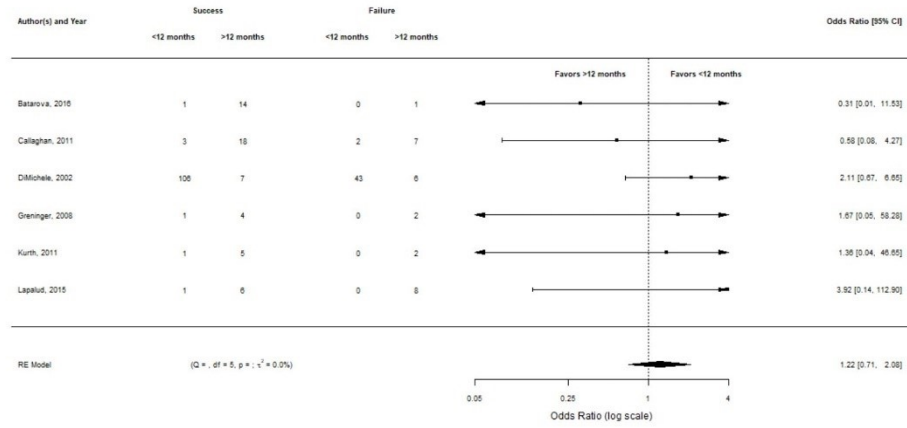


189 **Figure S7B.** Meta-analysis for age at ITI start on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, including only persons with severe
 190 hemophilia A.
 191
 192



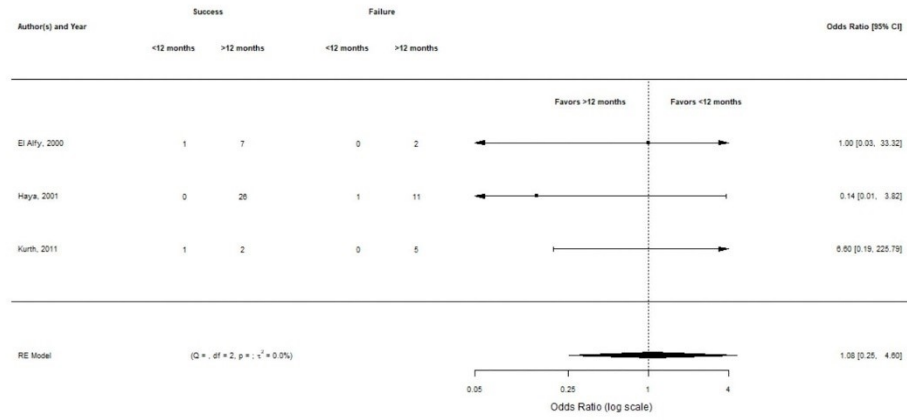
193
194
195
196

Figure 57C. Meta-analysis for age at ITI start on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, with only studies including >20 participants.



197
198
199
200

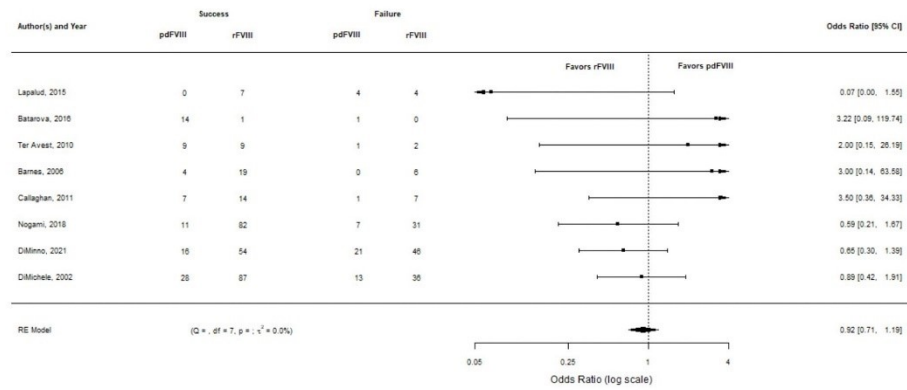
Figure 57D. Meta-analysis for age at ITI start on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21]



201
 202 **Figure S7E .** Meta-analysis for age at ITI start on ITI success comparing ≤ 12 versus > 12 months, including only studies comparing complete
 203 and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not
 204 included in the plot because of zero participants with ITI failure. Batorova[54] is not included in the plot because of either zero patients
 205 with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

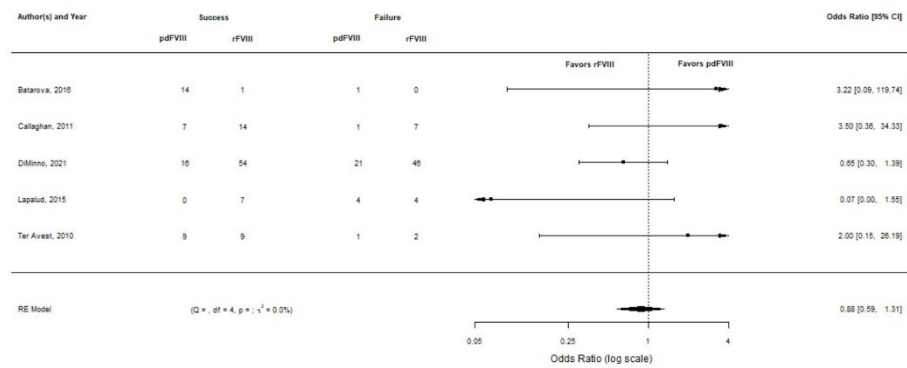
206

207 **Supplementary Figure S8. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related**
 208 **determinant: ITI product – plasma-derived versus recombinant FVIII**



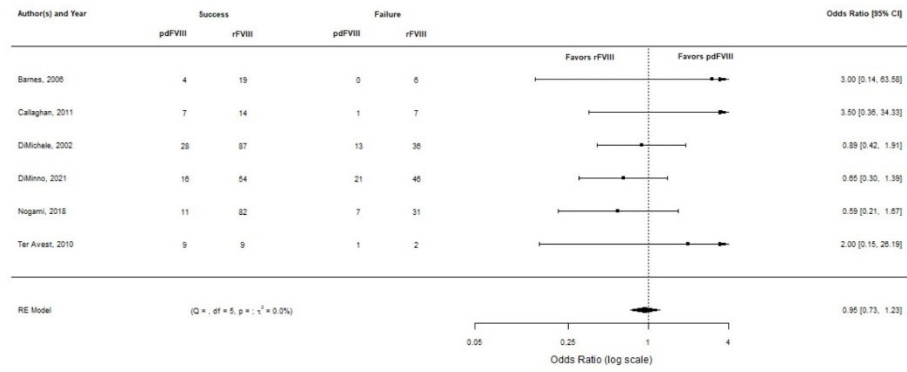
209

210 **Figure 58A.** Meta-analysis for ITI product on ITI success comparing plasma-derived versus recombinant FVIII, all studies included. Studies
 211 were arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only intermediate- or high-quality
 212 studies.
 213



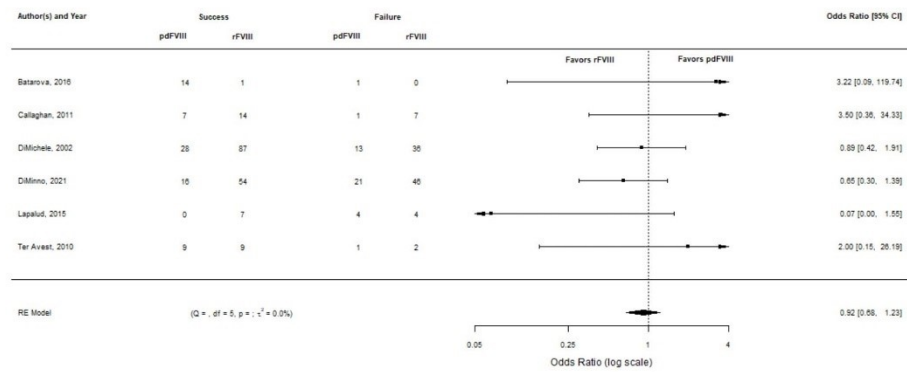
214
 215
 216
 217
 218

Figure 58B. Meta-analysis for ITI product on ITI success comparing plasma-derived versus recombinant FVIII, including only persons with severe hemophilia A.



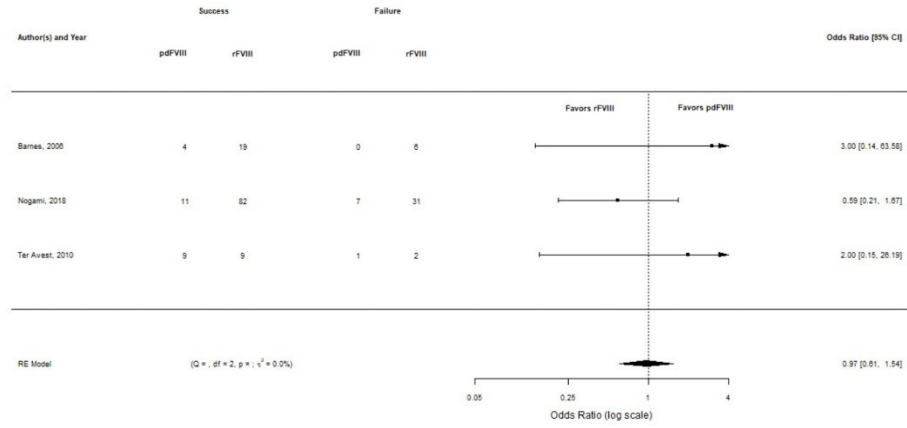
219
220
221
222

Figure 58C. Meta-analysis for ITI product on ITI success comparing plasma-derived versus recombinant FVIII, with only studies including >20 participants.



223
224
225
226
227

Figure 58D. Meta-analysis for ITI product on ITI success comparing plasma-derived versus recombinant FVIII, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21]



228

229

Figure S8E . Meta-analysis for ITI product on ITI success comparing plasma-derived versus recombinant FVIII, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Batorova[54] and DiMinno[55] are not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

230

231

232

233

234

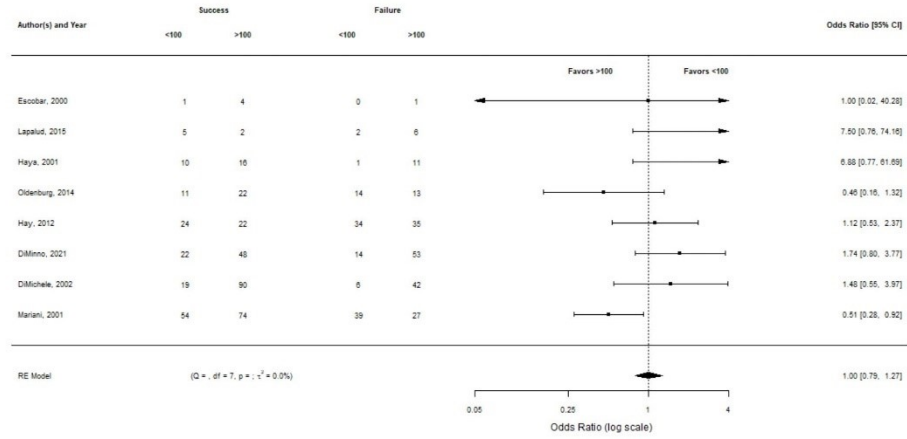
235

236

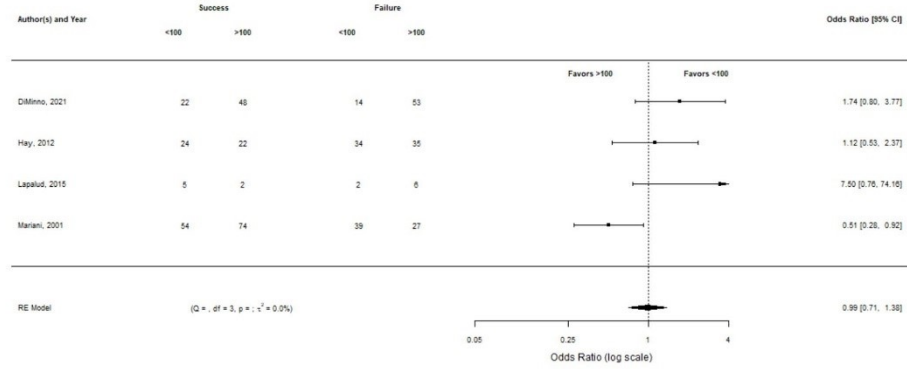
237

238

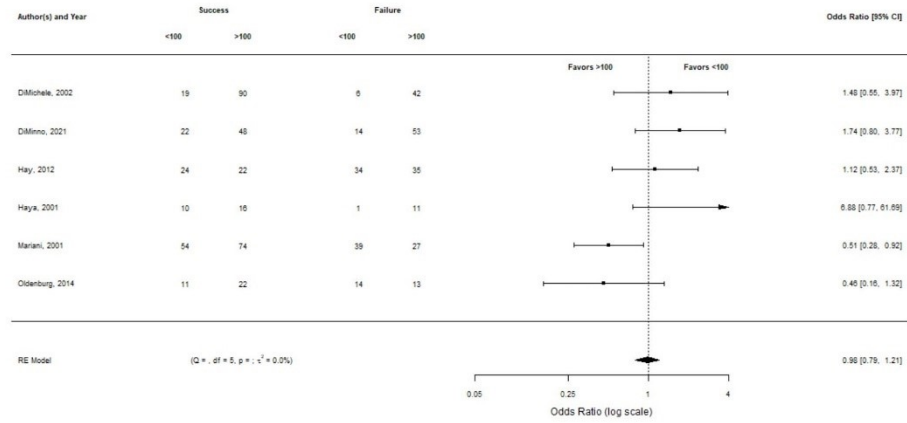
239 **Supplementary Figure S9. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related**
 240 **determinant: ITI dose - <100 versus ≥100 IU/kg/day**



241 **Figure S9A.** Meta-analysis for ITI dose on ITI success comparing ≤100 versus >100 IU/kg/day, all studies included. Studies were arranged by
 242 study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only intermediate- or high-quality studies.
 243
 244

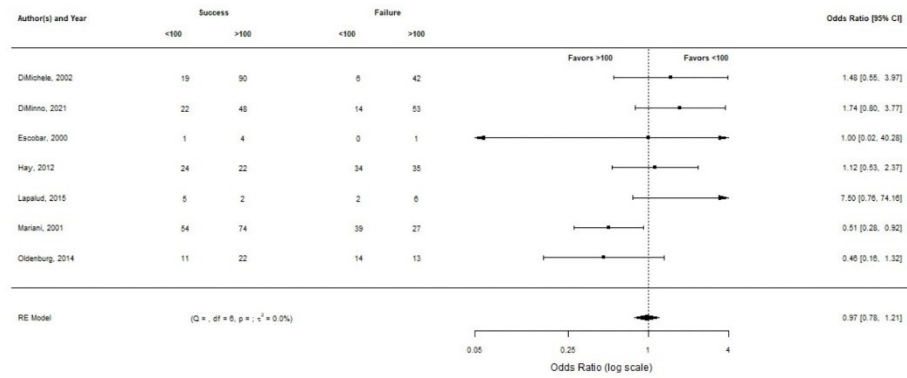


245 **Figure S9B.** Meta-analysis for ITI dose on ITI success comparing ≤100 versus >100 IU/kg/day, including only persons with severe hemophilia
 246 A.
 247
 248



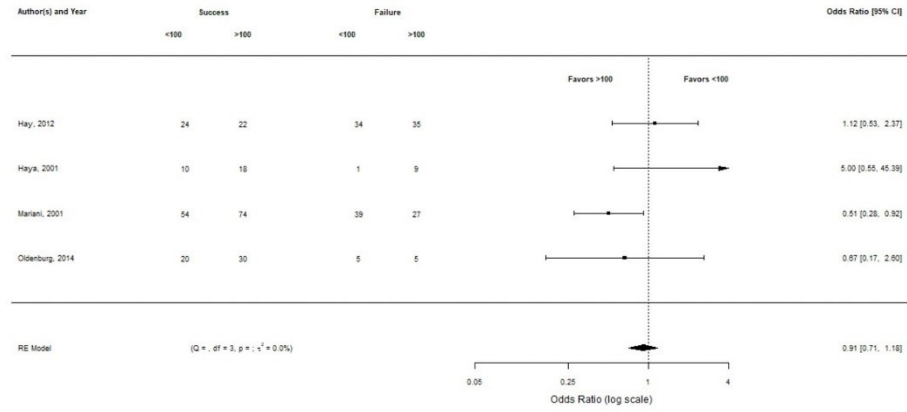
249
250
251

Figure S9C. Meta-analysis for ITI dose on ITI success comparing ≤100 versus >100 IU/kg/day, with only studies including >20 participants.



252
253
254
255

Figure S9D. Meta-analysis for ITI dose on ITI success comparing ≤100 versus >100 IU/kg/day, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21]



256

257

258

259

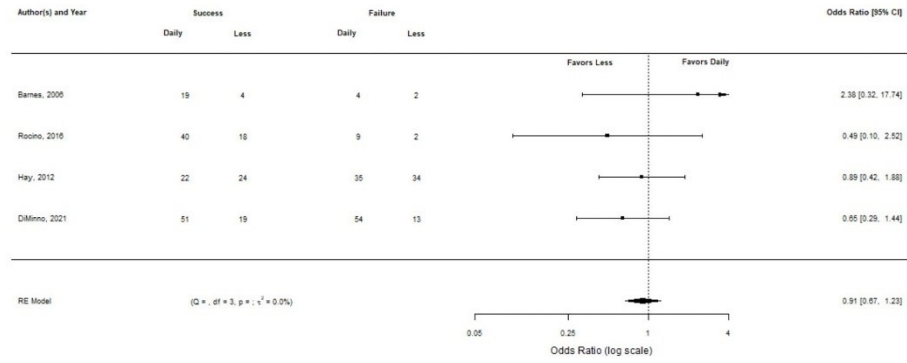
260

261

262

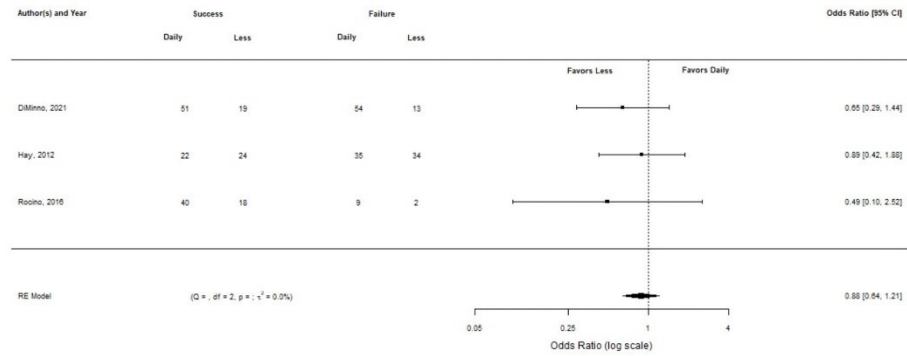
Figure S9E. Meta-analysis for ITI dose on ITI success comparing ≤ 100 versus > 100 IU/kg/day, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. DiMinno[55] and Escobar[59] are not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

263 **Supplementary Figure S10. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related**
 264 **determinant: ITI frequency – daily versus less than daily**



265

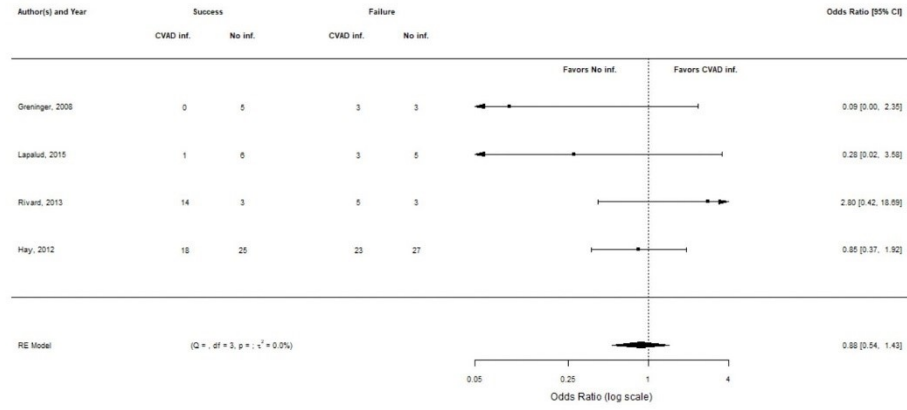
266 **Figure S10A.** Meta-analysis for ITI frequency on ITI success comparing daily versus less than daily, all studies included. Studies were
 267 arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar with only studies including >20 participants and when
 268 including only intermediate- or high-quality studies.
 269



270
 271
 272
 273
 274

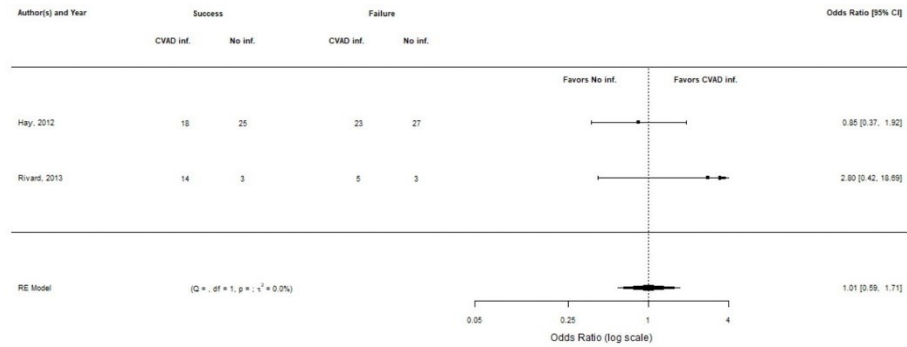
Figure S10B. Meta-analysis for ITI frequency on ITI success comparing daily versus less than daily, including only persons with severe hemophilia A. This plot was similar when including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21]

275 **Supplementary Figure S11. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related**
 276 **determinant: CVAD infections – CVAD infection versus no infection**

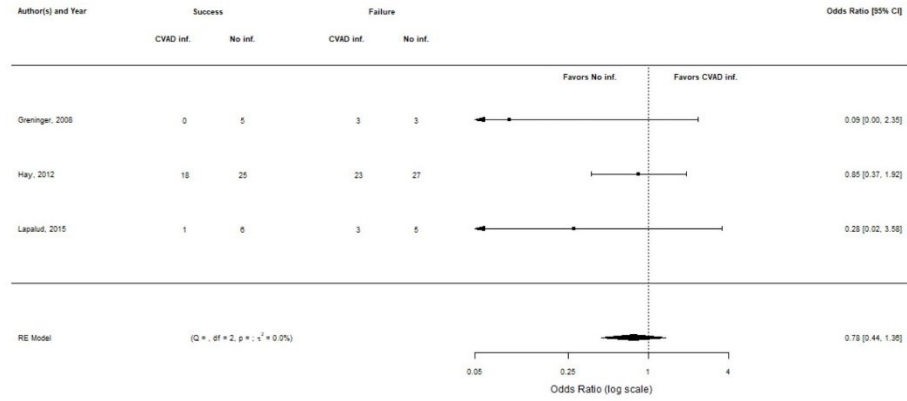


277
 278 **Figure S11A.** Meta-analysis for CVAD infections on ITI success comparing CVAD infection versus no CVAD infection, all studies included.
 279 Studies were arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only persons with severe
 280 hemophilia A, because all these studies only include persons with severe hemophilia A, and when including only intermediate- or high-
 281 quality studies.

282
 283

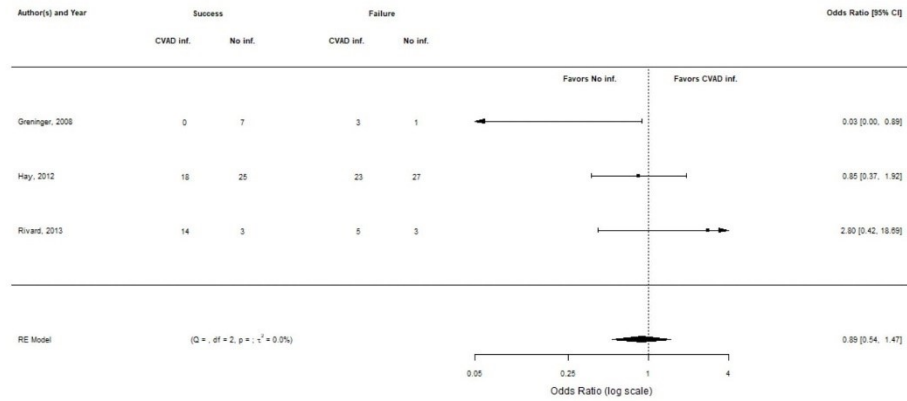


284
 285 **Figure S11B.** Meta-analysis for CVAD infections on ITI success comparing CVAD infection versus no CVAD infection, with only studies
 286 including >20 participants.
 287



288
289
290
291

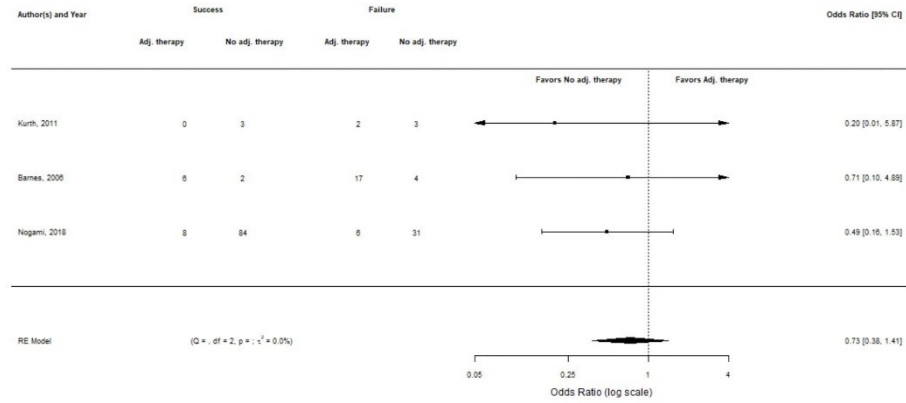
Figure S11C. Meta-analysis for CVAD infections on ITI success comparing CVAD infection versus no CVAD infection, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21]



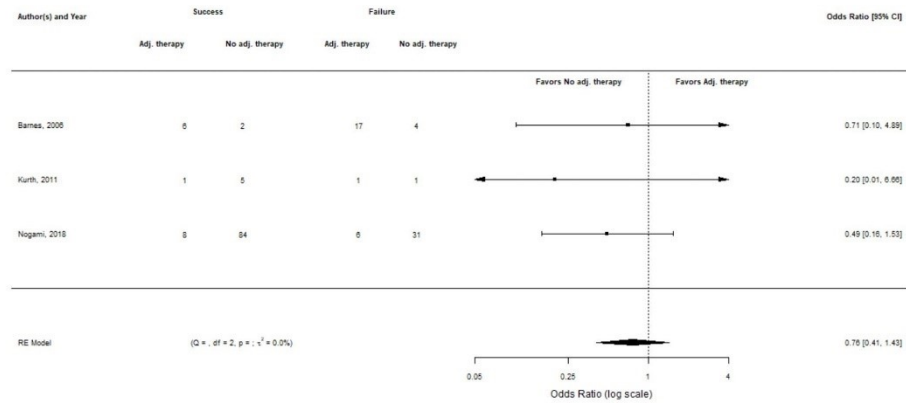
292
293
294
295

Figure S11D . Meta-analysis for CVAD infections on ITI success comparing CVAD infection versus no CVAD infection, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure.

296 **Supplementary Figure S12. Meta-analysis and sensitivity analysis for treatment-related**
 297 **determinant: Adjuvant immunomodulatory treatment – Adjuvant immunomodulatory drugs or no**
 298 **adjuvant therapy**



299
 300 **Figure S12A.** Meta-analysis for adjuvant immunomodulatory treatment on ITI success comparing adjuvant therapy versus no adjuvant
 301 therapy, all studies included. Studies were arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when
 302 including only intermediate- or high-quality studies. No sensitivity analysis was performed with studies including only persons with severe
 303 hemophilia A or including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study[21],
 304 because Kurth[30] is the only study including in these analyses.



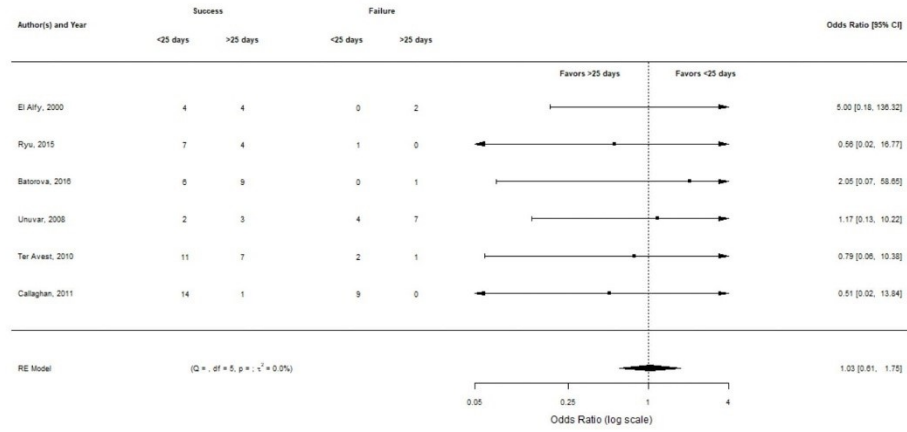
305
 306 **Figure S12B.** Meta-analysis for adjuvant immunomodulatory treatment on ITI success comparing adjuvant therapy versus no adjuvant
 307 therapy, including studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI
 308 study[21], versus ITI failure.

309
 310

311
 312
 313

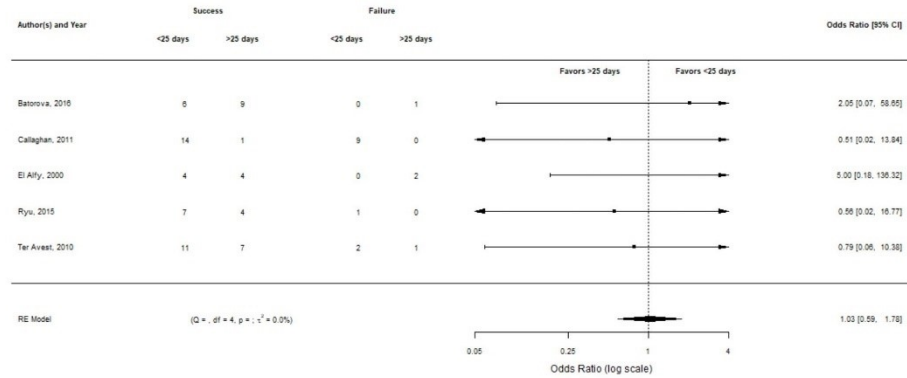
314
 315

316 **Supplementary Figure S13. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant:**
 317 **Number of exposure days before inhibitor development - <25 versus >25 days**

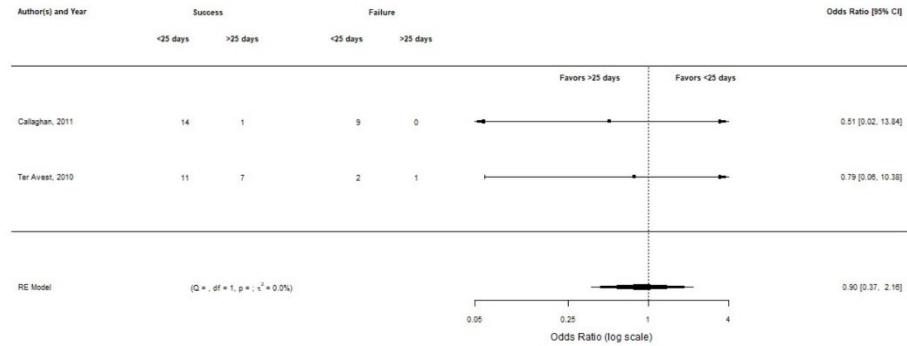


318 **Figure S13A.** Meta-analysis for number of exposure days before inhibitor development on ITI success comparing ≤25 versus >25, all studies
 319 included. Studies were arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only
 320 intermediate- or high-quality studies.
 321

322

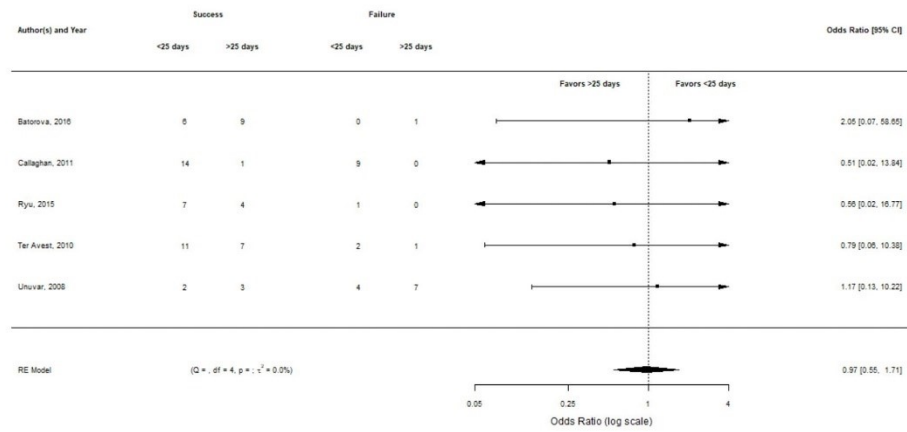


323 **Figure S13B.** Meta-analysis for number of exposure days before inhibitor development on ITI success comparing ≤25 versus >25, including
 324 only persons with severe hemophilia A.
 325
 326
 327



328
329
330
331

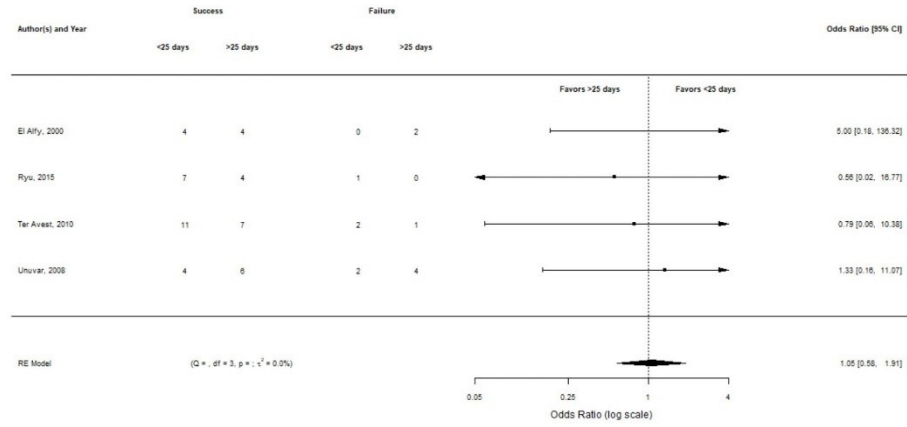
Figure S13C. Meta-analysis for number of exposure days before inhibitor development on ITI success comparing ≤25 versus >25, with only studies including >20 participants.



332
333
334
335

Figure S13D. Meta-analysis for number of exposure days before inhibitor development on ITI success comparing ≤25 versus >25, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21]

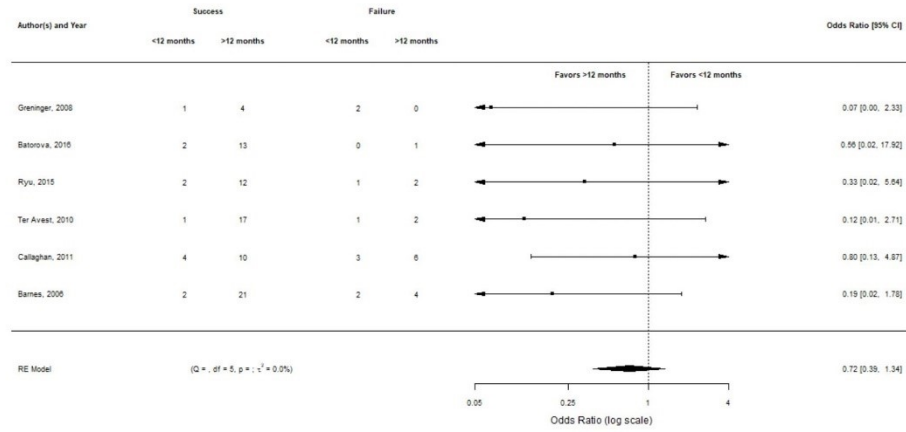
336



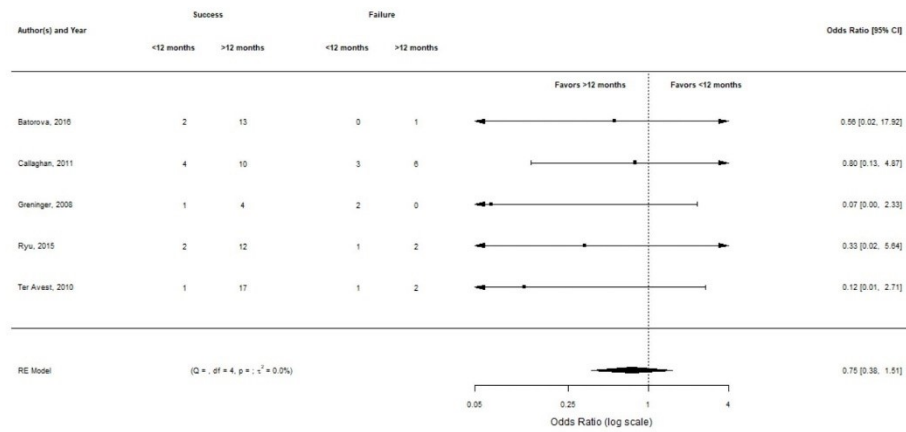
337
 338 **Figure S13E.** Meta-analysis for number of exposure days before inhibitor development on ITI success comparing ≤25 versus >25, including
 339 only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus
 340 ITI failure. Batorova[54] is not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients
 341 into this subdivision of complete and partial success versus failure.

342

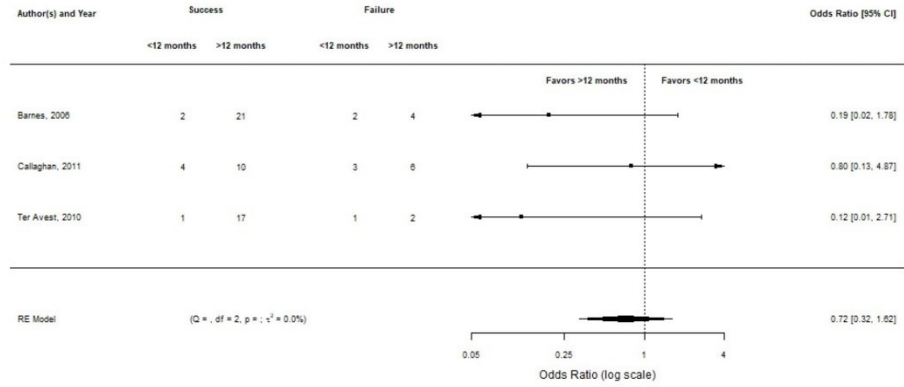
343 **Supplementary Figure S14. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant:**
 344 **Age at inhibitor development - ≤12 versus >12 months**



345 **Figure S14A.** Meta-analysis for age at inhibitor development on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, all studies included. Studies
 346 were arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only intermediate- or high-quality
 347 studies. Escobar[59] and Kurth[30] are not included in the plot because of zero participants in the ≤12 months group.
 348
 349

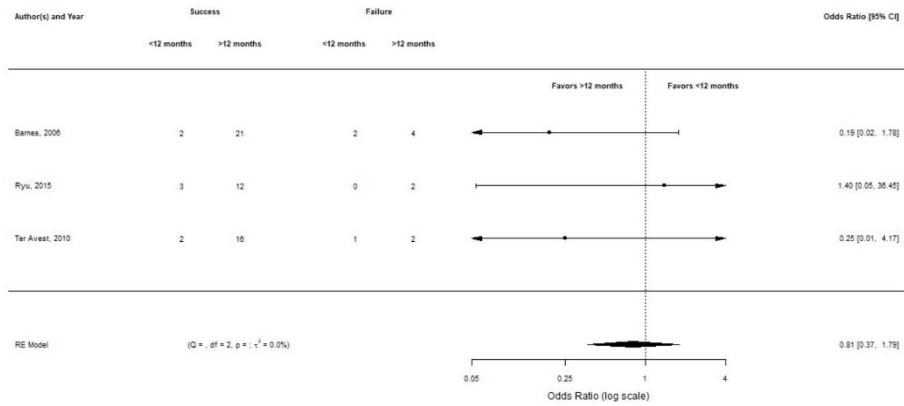


350 **Figure S14B.** Meta-analysis for age at inhibitor development on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, including only persons with
 351 severe hemophilia A. This plot was similar when including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the
 352 International ITI study.[21] . Escobar[59] and Kurth[30] are not included in the plot because of zero participants in the ≤12 months group.
 353
 354
 355



356
357
358
359

Figure S14C. Meta-analysis for age at inhibitor development on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, with only studies including >20 participants.

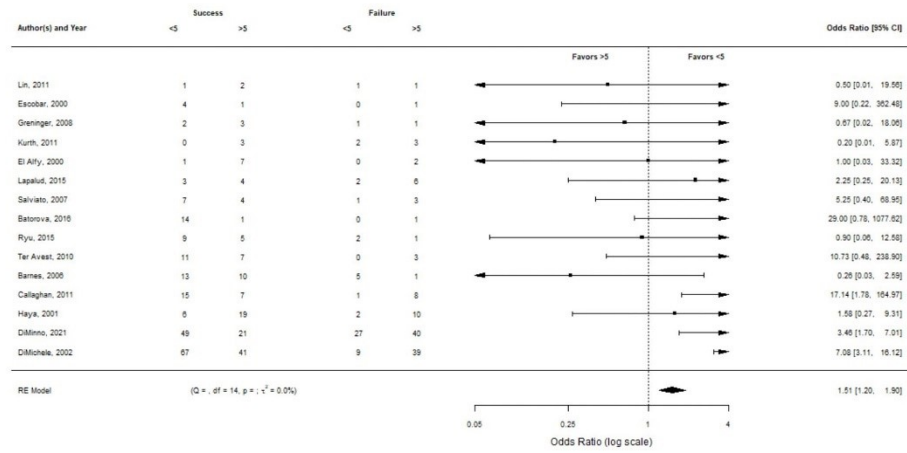


360
361
362
363
364
365

Figure S14D . Meta-analysis for age at inhibitor development on ITI success comparing ≤12 versus >12 months, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure. Batorova[54] is not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

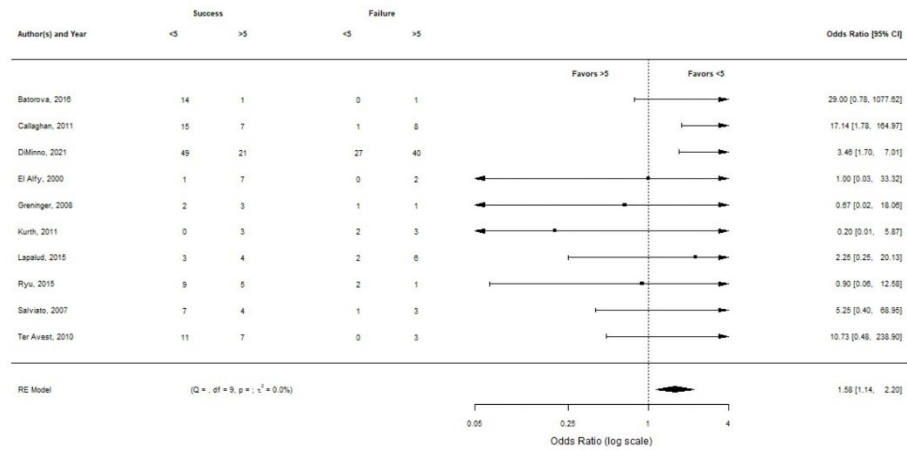
366

367 **Supplementary Figure S15. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant:**
 368 **Pre-ITI titer - <5 versus ≥5 BU/mL**

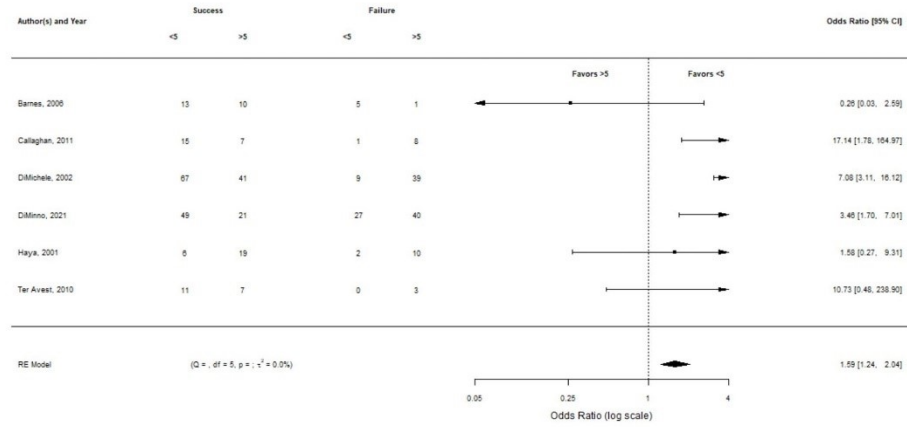


369 **Figure S15A.** Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing <5 versus ≥5 BU/mL, all studies included. Studies were arranged by
 370 study sample size, with on top the smallest study.
 371

372
 373

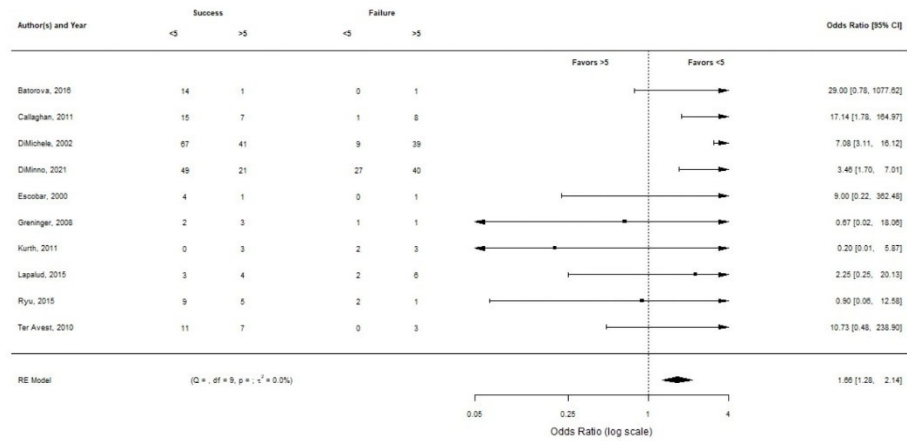


374 **Figure S15B.** Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing <5 versus ≥5 BU/mL, including only persons with severe hemophilia A.
 375



376
377
378
379

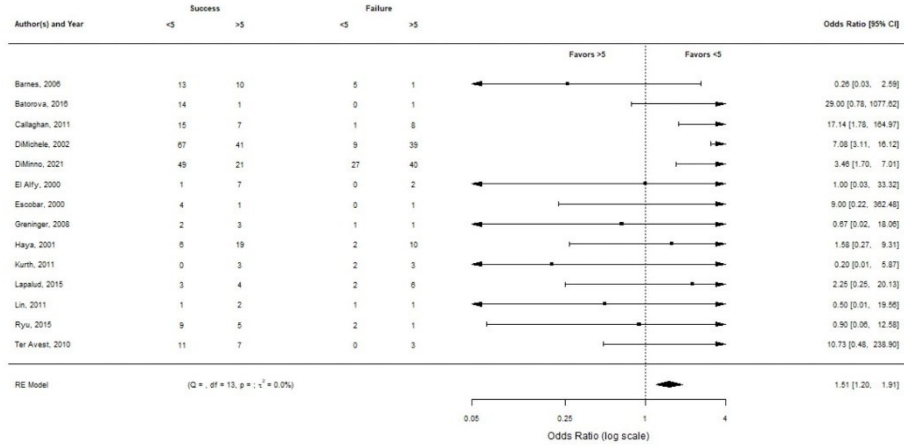
Figure S15C. Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing <5 versus ≥5 BU/mL, with only studies including >20 participants.



380
381
382
383

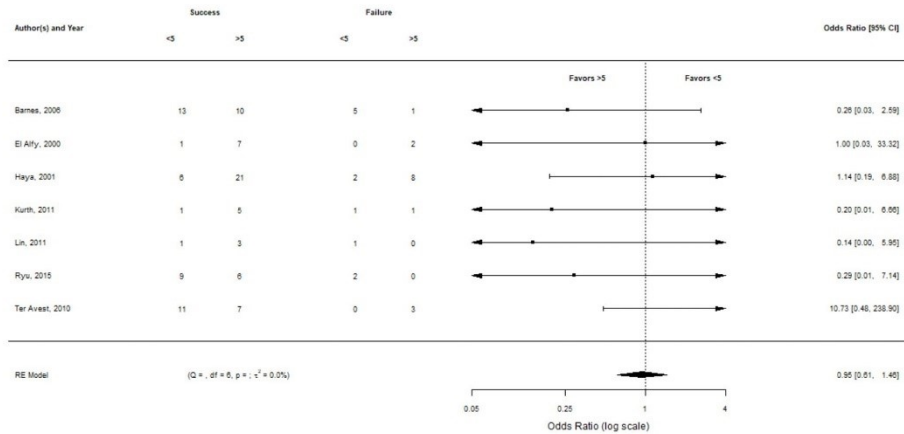
Figure S15D. Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing <5 versus ≥5 BU/mL, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21]

384



385
386
387
388

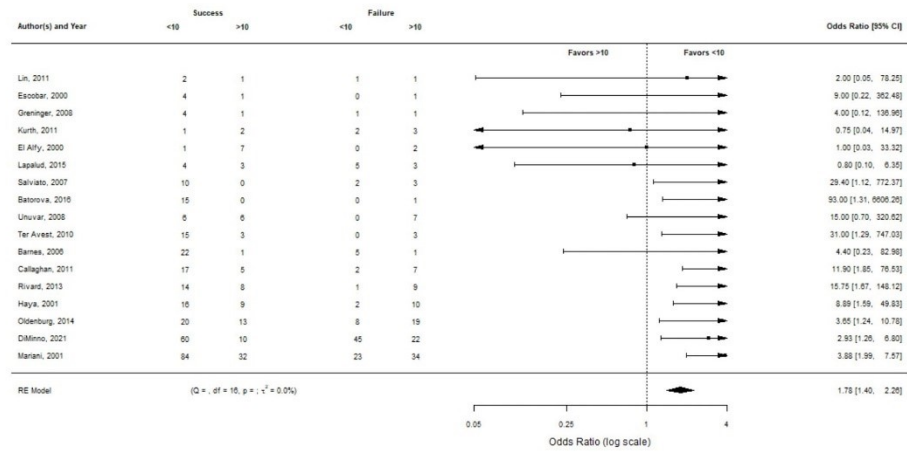
Figure S15E. Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing <5 versus ≥5 BU/mL, including only intermediate- or high-quality studies.



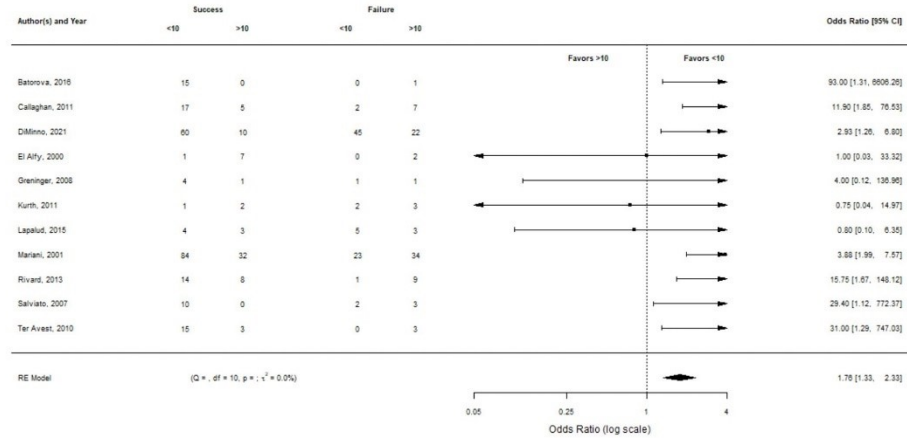
389
390
391
392
393
394

Figure S15F. Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing <5 versus ≥5 BU/mL, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure. Batorova[54], DiMinno[55], and Escobar[59] are not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

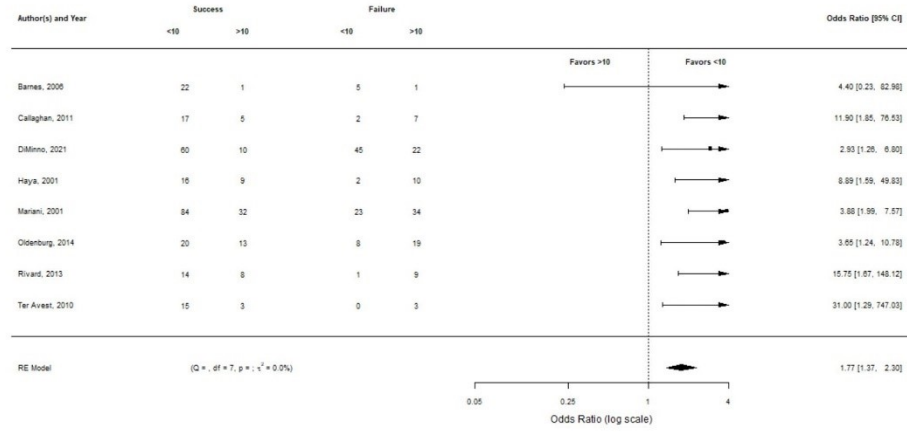
395 **Supplementary Figure S16. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant:**
 396 **Pre-ITI titer - ≤ 10 versus >10 BU/mL**



397 **Figure S16A.** Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing ≤ 10 versus >10 BU/mL, all studies included. Studies were arranged by
 398 study sample size, with on top the smallest study. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the >10 BU/mL group.
 399

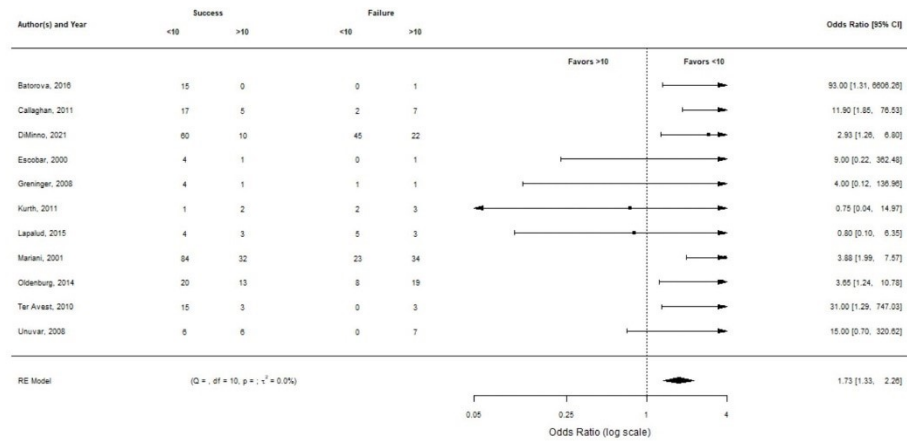


400 **Figure S16B.** Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing ≤ 10 versus >10 BU/mL, including only persons with severe hemophilia
 401 A. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the >10 BU/mL group.
 402
 403



404
405
406

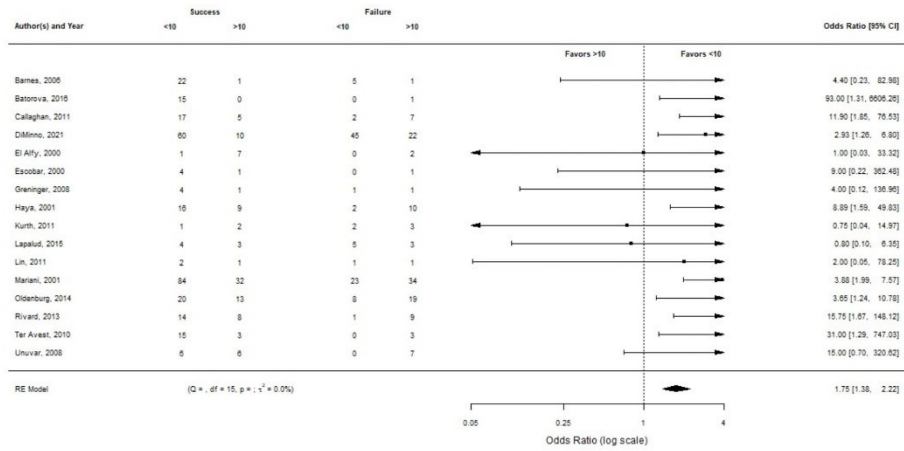
Figure S16C. Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing ≤10 versus >10 BU/mL, with only studies including >20 participants.



407
408
409
410
411

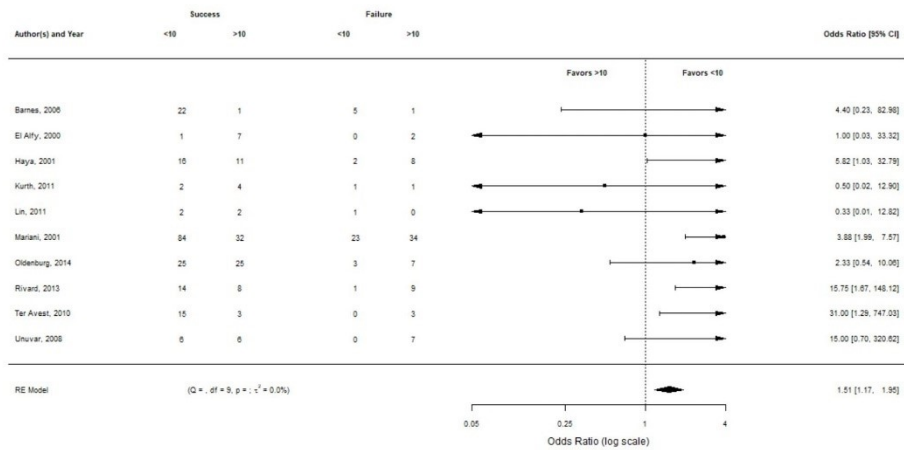
Figure S16D. Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing ≤10 versus >10 BU/mL, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21] Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the >10 BU/mL group.

412
413



414
415
416
417

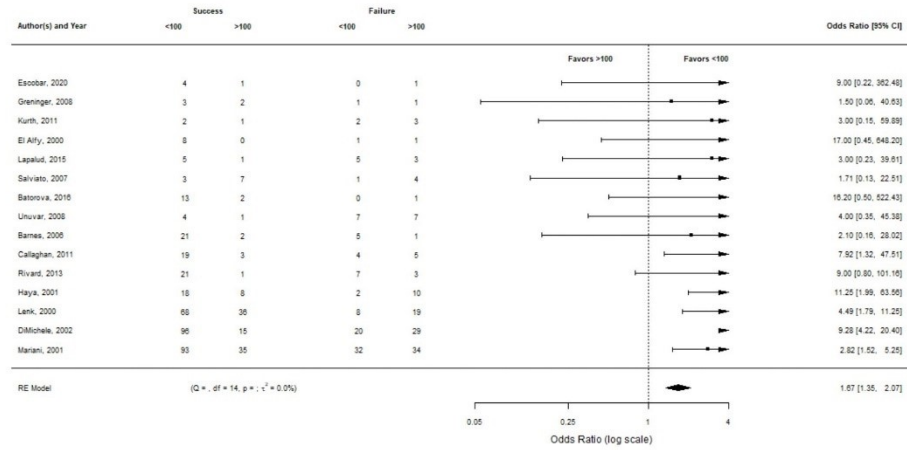
Figure S16E. Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing ≤10 versus >10 BU/mL, including only intermediate- or high-quality studies. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the >10 BU/mL group.



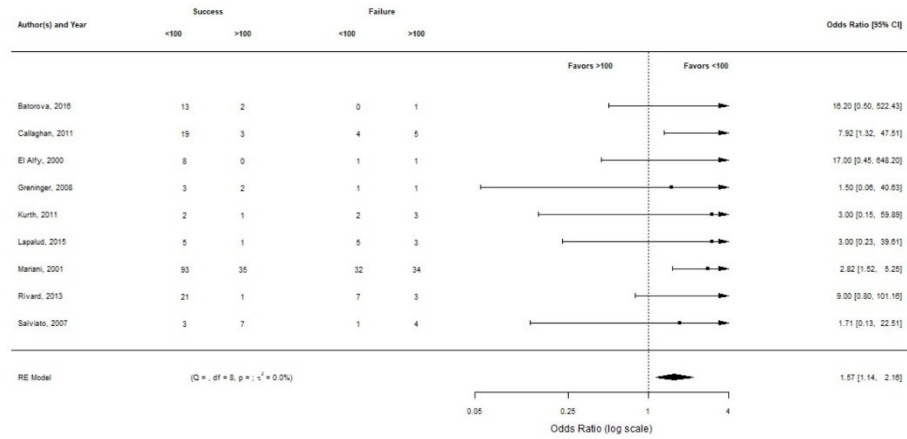
418
419
420
421
422
423

Figure S16F. Meta-analysis for pre-ITI titer on ITI success comparing ≤10 versus >10 BU/mL, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure. Batorova[54], DiMinno[55], and Escobar[59] are not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

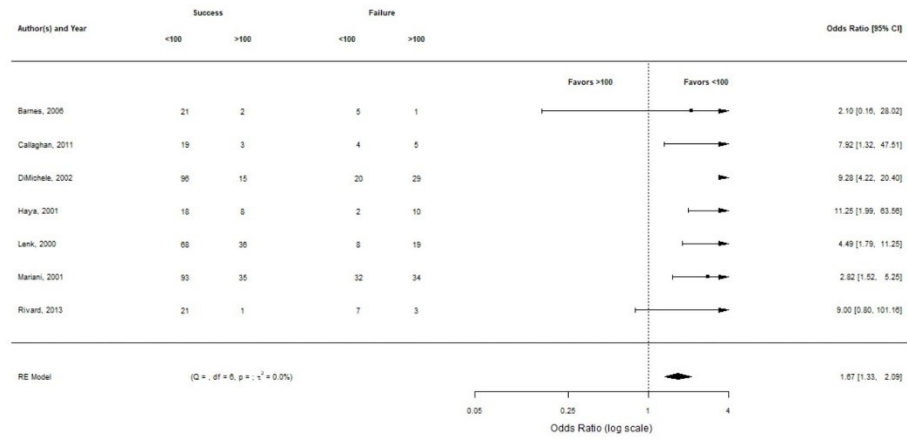
424 **Supplementary Figure S17. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant:**
 425 **Historical peak titer - ≤ 100 versus >100 BU/mL**



426 **Figure S17A. Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤ 100 versus >100 BU/mL, all studies included. Studies were**
 427 **arranged by study sample size, with on top the smallest study. Lin[61] and Ryu[65] are not included in the plot because of zero participants**
 428 **in the >100 BU/mL group.**
 429

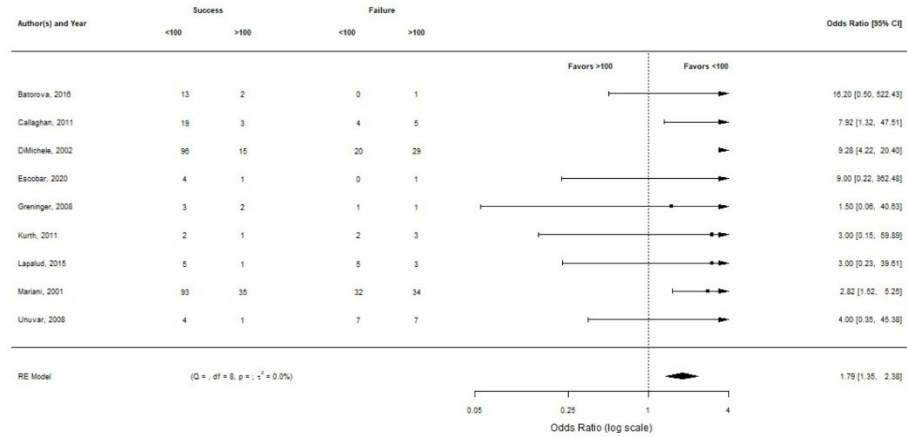


430 **Figure S17B. Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤ 100 versus >100 BU/mL, including only persons with severe**
 431 **hemophilia A. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the >100 BU/mL group.**
 432



433
434
435
436

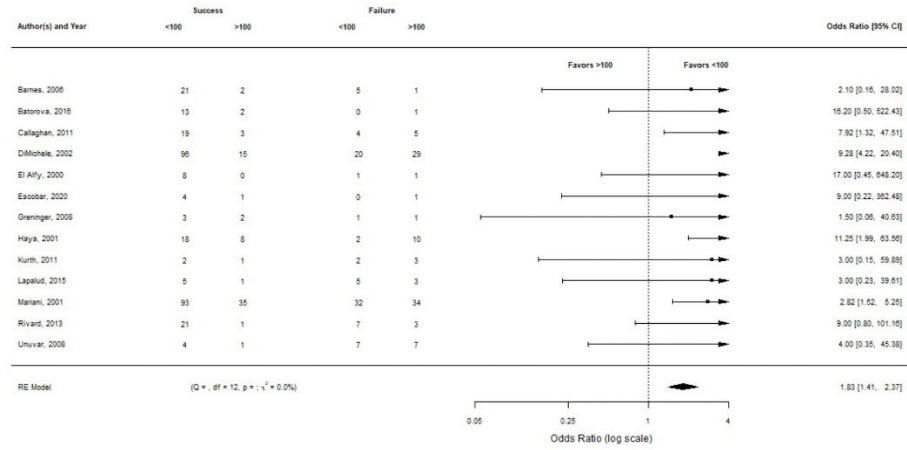
Figure S17C. Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤100 versus >100 BU/mL, with only studies including >20 participants.



437
438
439
440
441
442

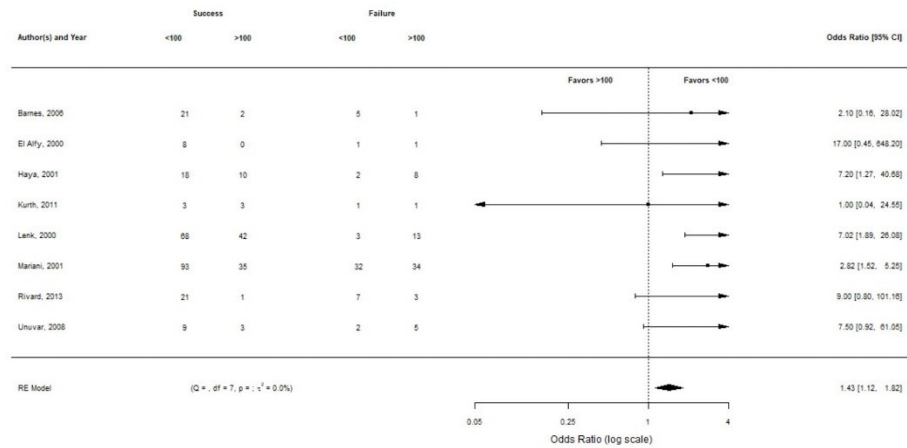
Figure S17D. Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤100 versus >100 BU/mL, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21] Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the >100 BU/mL group.

443
444



445
446
447
448

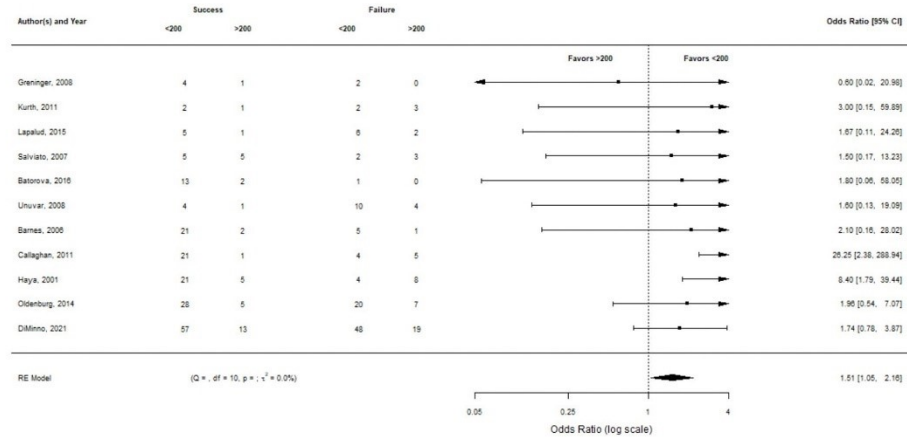
Figure S17E. Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤100 versus >100 BU/mL, including only intermediate- or high-quality studies. Lin[61] and Ryu[65] are not included in the plot because of zero participants in the >100 BU/mL group.



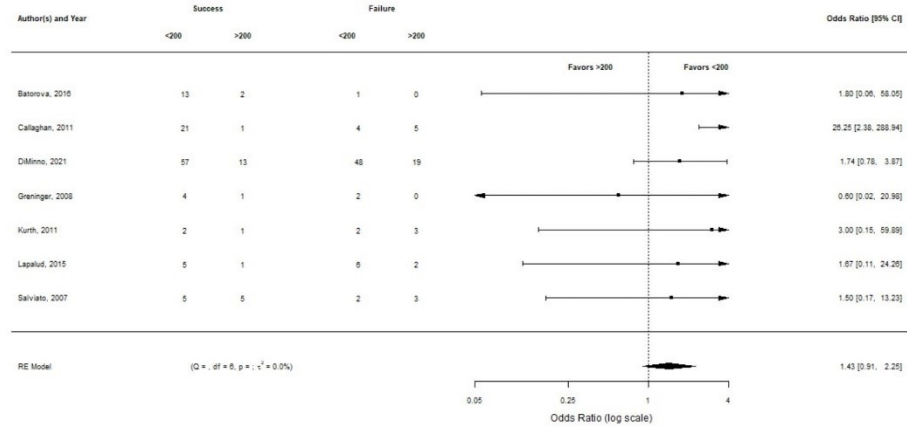
449
450
451
452
453
454

Figure S17F. Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤100 versus >100 BU/mL, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure. Batorova[54], and Escobar[59] are not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

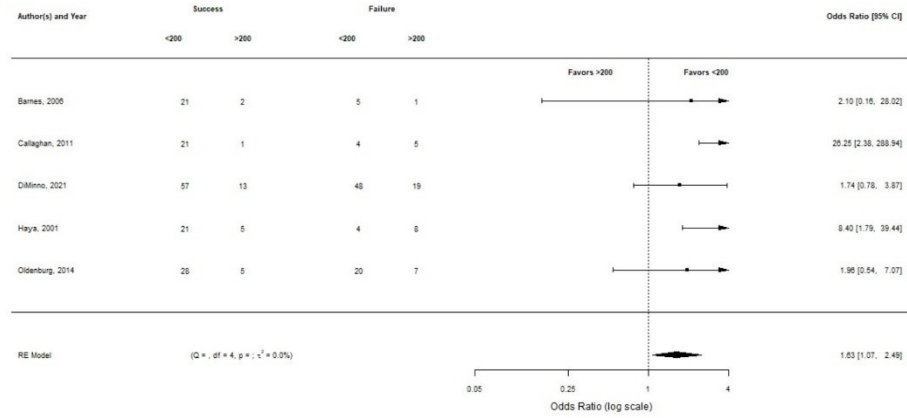
455 **Supplementary Figure S18. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant:**
 456 **Historical peak titer - ≤ 200 versus >200 BU/mL**



457 **Figure S18A.** Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤ 200 versus >200 BU/mL, all studies included. Studies were
 458 arranged by study sample size, with on top the smallest study. El Alfay[57], Escobar[59], Lin[61], and Ryu[65] are not included in the plot
 459 because of zero participants in the >200 BU/mL group.
 460
 461

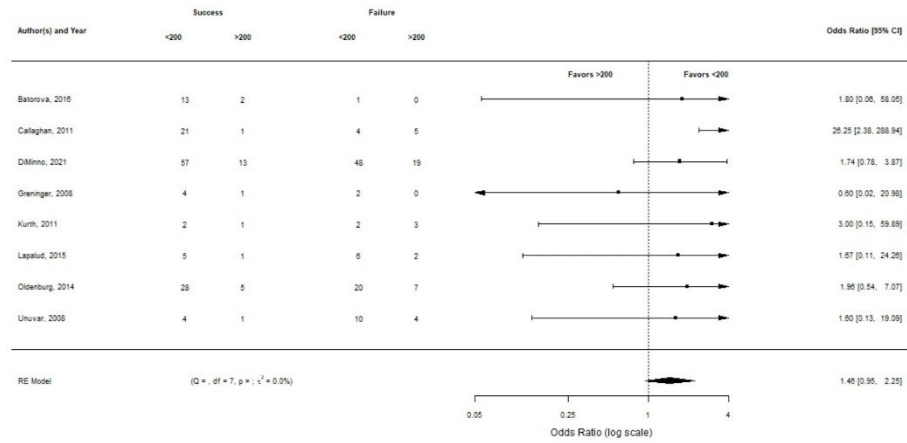


462 **Figure S18B.** Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤ 200 versus >200 BU/mL, including only persons with severe
 463 hemophilia A. El Alfay[57] and Ryu[65] are not included in the plot because of zero participants in the >200 BU/mL group.
 464
 465
 466



467
468
469
470

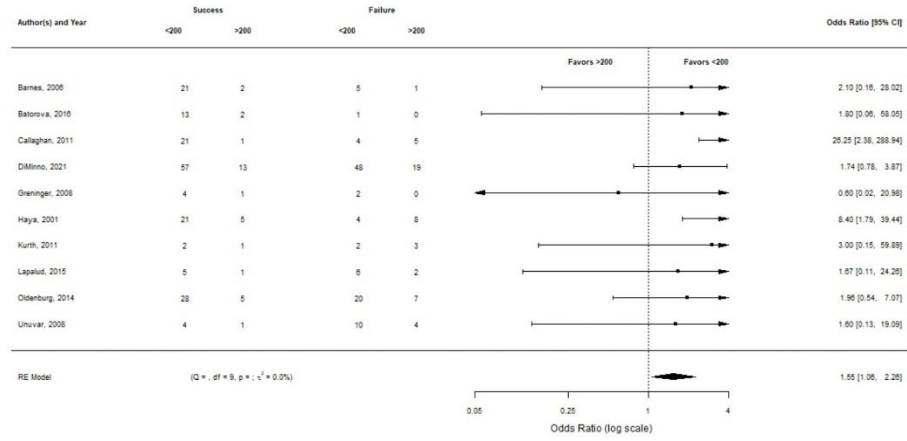
Figure S18C. Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤200 versus >200 BU/mL, with only studies including >20 participants.



471
472
473
474
475
476

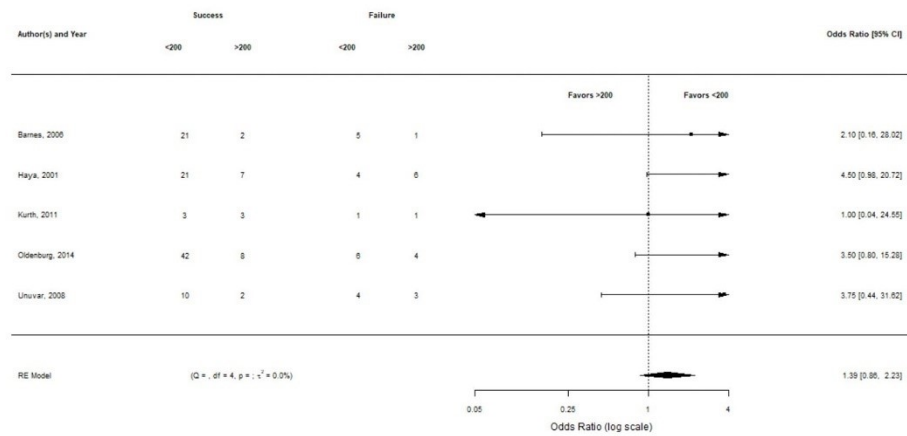
Figure S18D. Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤200 versus >200 BU/mL, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study.[21] Escobar[59] and Ryu[65] are not included in the plot because of zero participants in the >200 BU/mL group.

477



478
479
480
481
482

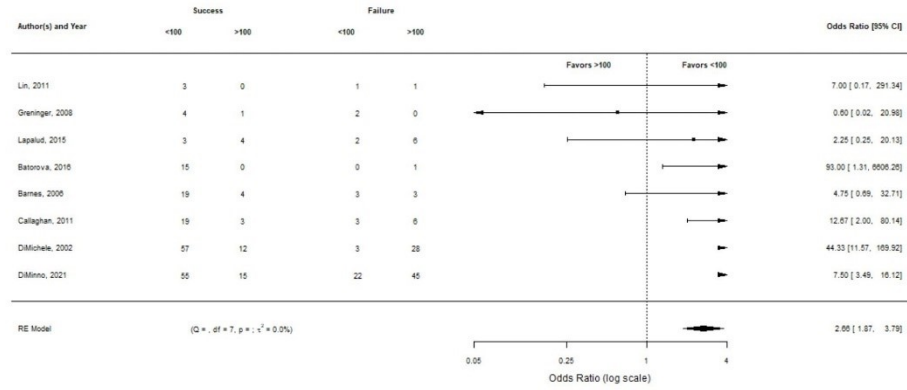
Figure S18E. Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤200 versus >200 BU/mL, including only intermediate- or high-quality studies. El Alfy[57], Escobar[59], Lin[61], and Ryu[65] are not included in the plot because of zero participants in the >200 BU/mL group.



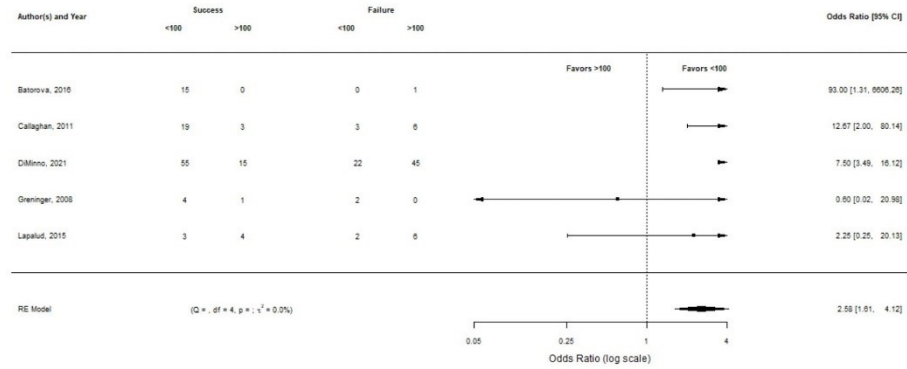
483
484
485
486
487
488

Figure S18F. Meta-analysis for historical peak titer on ITI success comparing ≤200 versus >200 BU/mL, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure. Batorova[54], and DiMinno[55] are not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

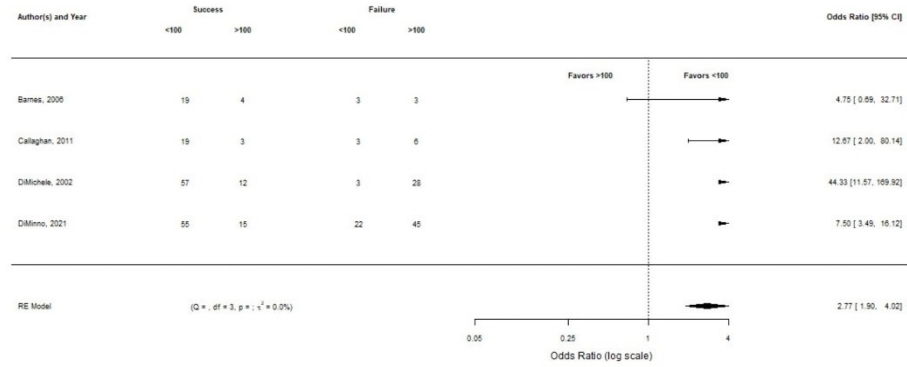
489 **Supplementary Figure S19. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant:**
 490 **Peak titer during ITI - ≤ 100 versus >100 BU/mL**



491 **Figure S19A.** Meta-analysis for peak titer during ITI on ITI success comparing ≤ 100 versus >100 BU/mL, all studies included. Studies were
 492 arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only intermediate- or high-quality
 493 studies. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the >100 BU/mL group.
 494
 495

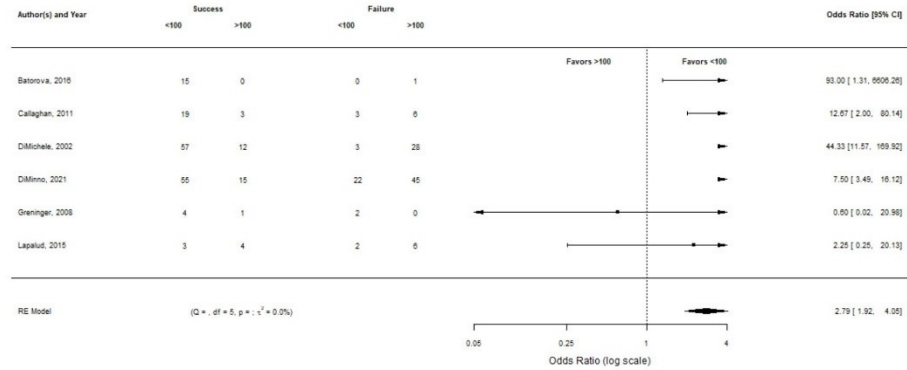


496 **Figure S19B.** Meta-analysis for peak titer during ITI on ITI success comparing ≤ 100 versus >100 BU/mL, including only persons with severe
 497 hemophilia A. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the >100 BU/mL group.
 498
 499



500
501
502
503

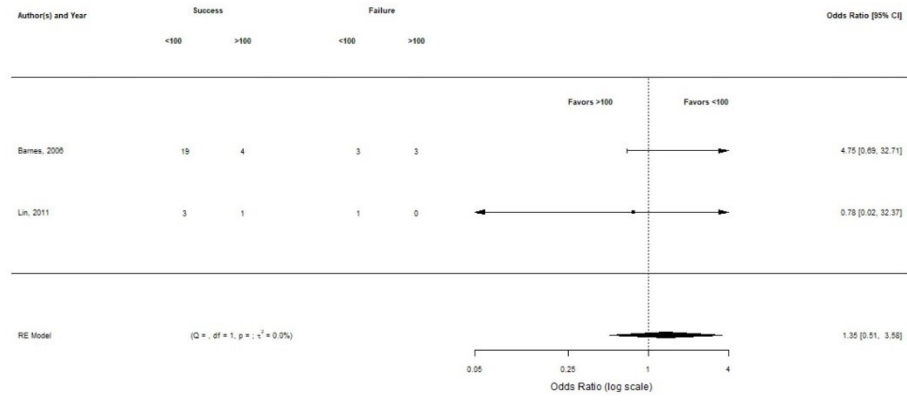
Figure S19C. Meta-analysis for peak titer during ITI on ITI success comparing ≤ 100 versus > 100 BU/mL, with only studies including > 20 participants.



504
505
506
507

Figure S19D. Meta-analysis for peak titer during ITI on ITI success comparing ≤ 100 versus > 100 BU/mL, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study. [21] Ryu [65] is not included in the plot because of zero participants in the > 100 BU/mL group.

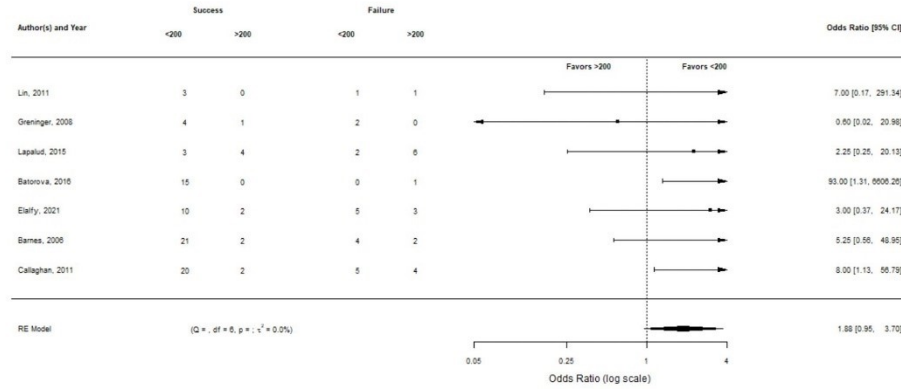
508



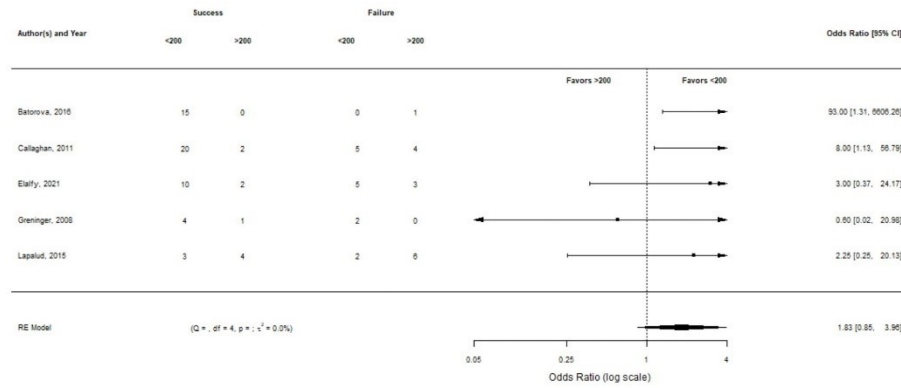
509
510
511
512
513
514

Figure S19E . Meta-analysis for peak titer during ITI on ITI success comparing ≤ 100 versus > 100 BU/mL, including only studies comparing complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure. Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure. Batorova[54] is not included in the plot because of either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus failure.

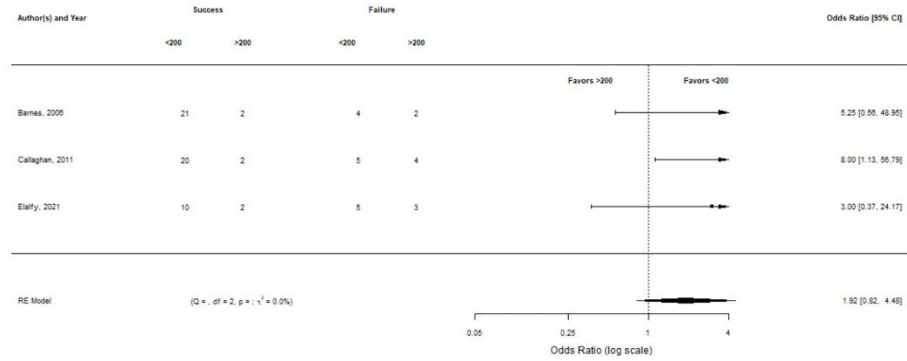
515 **Supplementary Figure S20. Meta-analysis and sensitivity analysis for inhibitor-related determinant:**
 516 **Peak titer during ITI - ≤ 200 versus >200 BU/mL**



517 **Figure S20A.** Meta-analysis for peak titer during ITI on ITI success comparing ≤ 200 versus >200 BU/mL, all studies included. Studies were
 518 arranged by study sample size, with on top the smallest study. This plot was similar when including only intermediate- or high-quality
 519 studies. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the >200 BU/mL group.
 520
 521



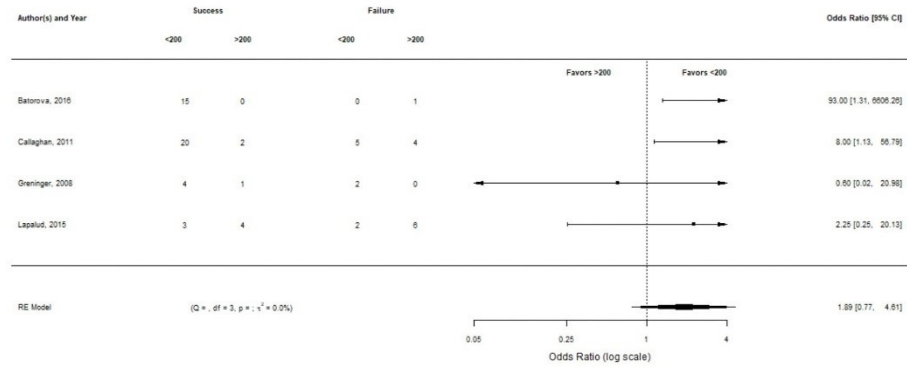
522 **Figure S20B.** Meta-analysis for peak titer during ITI on ITI success comparing ≤ 200 versus >200 BU/mL, including only persons with severe
 523 hemophilia A. Ryu[65] is not included in the plot because of zero participants in the >200 BU/mL group.
 524
 525



526
527
528

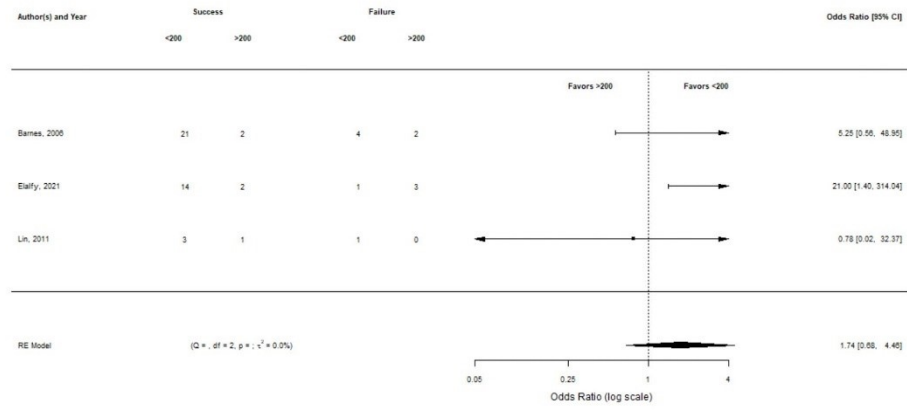
Figure S20C. Meta-analysis for peak titer during ITI on ITI success comparing ≤ 200 versus > 200 BU/mL, with only studies including > 20 participants.

529
530



531
532
533
534
535
536

Figure S20D. Meta-analysis for peak titer during ITI on ITI success comparing ≤ 200 versus > 200 BU/mL, including only studies using the complete ITI success outcome definition according to the International ITI study. [21] Ryu [65] is not included in the plot because of zero participants in the > 200 BU/mL group.



537
 538 **Figure S20E** . Meta-analysis for peak titer during ITI on ITI success comparing ≤ 200 versus > 200 BU/mL, including only studies comparing
 539 complete and partial ITI success, or less strict defined complete success than the International ITI study[21], versus ITI failure.
 540 Greninger[50] is not included in the plot because of zero participants with ITI failure. Batorova[54] is not included in the plot because of
 541 either zero patients with partial success or inability to re-categorize patients into this subdivision of complete and partial success versus
 542 failure.

543

7 CONCLUSÕES

O presente estudo é um subprojeto do Estudo BraziT que é um estudo de coorte cujo objetivo é identificar fatores preditores de desfecho da IT. Conforme nosso conhecimento, o BraziT é o estudo que incluiu a maior amostra de PcHA e inibidores até esta data com o objetivo de avaliar fatores prognósticos da IT e que envolve um único protocolo de tratamento com os mesmos critérios de desfecho. Das 163 PcHA que finalizaram o tratamento, a taxa de sucesso foi de 69,3% (113 PcHA), semelhante aos demais estudos realizados até o presente (BRACKMANN *et al.*, 2018; OSOOLI; BERNTORP, 2015; SCHEP *et al.*, 2018). O BraziT continua em andamento, com 33 PcHA ainda em acompanhamento e em tratamento de IT.

Um dos fatores prognósticos de resposta à IT bastante discutido na literatura é o Δt_{ini-IT} . Dentre 142 PcHA-iAR e graves, a taxa de sucesso da IT foi de 64,5%. Em análise univariável, a presença de mutações em *F8* diferentes de inversões dos íntrons 1 ou 22, altos títulos de inibidor em diversas situações (pico histórico, título imediatamente antes do início da IT e pico durante a IT), a necessidade de intensificação do regime da IT (aumento de dose e/ou da frequência do FVIII), a necessidade de profilaxia com agente de *bypass* e altos valores de taxa de sangramento anualizada se associaram com a falha à IT. No entanto, após análise com ajuste para potenciais fatores confundidores e classificação do Δt_{ini-IT} em diferentes estratos, não houve relação entre o Δt_{ini-IT} com o desfecho, nos casos nos quais a IT foi iniciada a partir de 6 meses da identificação do inibidor. Assim, um maior Δt_{ini-IT} não é um fator de mau prognóstico de resposta a IT para os PcHA-iAR. Finalmente, acreditamos que a IT deve ser ofertada para quaisquer PcHA-iAR ainda que estes estejam presentes há muitos anos. Ressalta-se, entretanto, que a recomendação de iniciar IT o mais precocemente possível para PcHA-iAR é justificável para reduzir o tempo de exposição ao inibidor, não para aumentar a probabilidade de resposta favorável à terapia.

Alguns especialistas sugerem que, no caso da IT com rFVIII não estar evoluindo com redução do título do inibidor, dever-se-ia trocar o tipo de concentrado para dpFVIII, associado ou não à intensificação do regime (aumento da dose e/ou da frequência). Na população de PcHA-iAR e grave do Estudo BraziT, identificamos 8 PcHA-iAR que trocaram rFVIII para dpFVIII, devido à evolução desfavorável com o primeiro. No

entanto, nenhum desses indivíduos obteve sucesso. Sendo assim, embora a amostra avaliada tenha sido pequena, nossos resultados sugerem que a troca de rFVIII para dpFVIII devido à falta de resposta do primeiro durante a IT não tem fundamentação prática como recomendação.

Finalmente, realizamos uma revisão sistemática seguida de metanálise, em colaboração com o Hospital Universitário da Universidade de Amsterdam, para avaliar fatores preditores do desfecho da IT. Das 1.734 PCHA avaliadas através de 27 estudos, o pico histórico < 100 UB/mL, o título de inibidor pré-IT < 10 UB/mL e o pico de inibidor durante IT < 100 UB/mL se associaram com o sucesso da IT. Esse resultado corrobora com a análise que realizamos para avaliar o efeito do Δt_{ini-IT} no desfecho da IT, que não foi incluída na metanálise em questão.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

O Estudo BrazIT ainda se encontra em andamento. Para as análises futuras, será necessário finalizar o acompanhamento das PcHA e inibidor que ainda estão em tratamento (n = 33). O acompanhamento e a atualização dos dados dessas PcHA ocorrem a cada 6 meses, com o envio dos dados pelos pesquisadores locais, após contato da equipe coordenadora mediante lista atualizada de pendências. Em paralelo, uma força-tarefa foi implementada para a obtenção das amostras biológicas faltantes com o transporte para Belo Horizonte/MG. As amostras de 179 (86,4%) PcHA foram avaliadas através de sequenciamento do exoma. Até o presente, completou-se a genotipagem de *F8* de 148 (71,5% de todas as PcHA participantes do estudo) participantes, restando, assim 59 participantes para se completar a análise genômica de *F8*. A realização dos demais testes imunológicos encontra-se em andamento, devendo ser finalizada nos próximos meses.

Uma vez que os dados estiverem completos, prosseguiremos com a avaliação dos fatores preditores de desfecho da IT. Utilizando-se de um modelo estatístico previamente estabelecido, envolvendo análise multivariável, incluiremos dados de PcHA, informações terapêuticas com desfecho, resultado dos exames que fazem parte do tratamento (atividade de FVIII e titulação de inibidor), além de informações sobre genótipo de *F8* e marcadores imunológicos. A predição será avaliada para a população em geral e estritamente para a população que foi tratada conforme o Protocolo Brasileiro de IT (*per protocol*). Dessa forma, esperamos ter informações para contribuir com o Programa de Coagulopatias Hereditárias do Ministério da Saúde assim como para a sociedade científica.

REFERÊNCIAS

ABDEL-MESSIH, I. Y. *et al.* Persistent factor VIII inhibitors and orthopaedic complications in children with severe haemophilia A. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 17, n. 3, p. 490-493, May 2011.

ABDI, A. *et al.* Inhibitors in Nonsevere Hemophilia A: What Is Known and Searching for the Unknown. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 44, n. 6, p. 568-577, Sep. 2018.

ABSHIRE, T.; KENET, G. Recombinant factor VIIa: Review of efficacy, dosing regimens and safety in patients with congenital and acquired factor VIII or IX inhibitors. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 2, n. 6, p. 899-909, Jun. 2004.

ACHENBACH, W. *et al.* Die Plasma-Fraktion I nach Cohn - ihre Anwendung bei der Hämophilie, der Angiohämophilie und schweren Blutungen nach einer Antikoagulantienbehandlung. **DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v. 84, n. 14, p. 675-682, Abr. 1959.

ADDIS, T. The effect of intravenous injections of fresh human serum and of phosphated blood, on the coagulation time of the blood in hereditary hemophilia. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 14, n. 1, p. 19-23, Oct. 1916.

ADDIS, T. The pathogenesis of hereditary haemophilia. **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 15, p. 427-452, 1911.

AHLBERG, A. Haemophilia in Sweden VII. Incidence, Treatment and Prophylaxis of Arthropathy and other Musculo-Skeletal Manifestations of Haemophilia A and B. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, p. 3-132, Mar. 1965. Suppl. 77.

ALAM, A. U. I. *et al.* All-cause mortality and causes of death in persons with haemophilia: A systematic review and meta-analysis. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 27, n. 6, p. 897-910, Nov. 2021.

ALEDORT, L. *et al.* Factor VIII replacement is still the standard of care in haemophilia A. **Blood Transfusion**, v. 17, n. 6, p. 479-486, 2019.

ALEDORT, L. M. Factor VIII inhibitor bypassing activity (FEIBA) - Addressing safety issues. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 14, n. 1, p. 39-43, 2008.

AMIN, C.; SHARATHKUMAR, A.; GRIEST, A. Bleeding diathesis and hemophilias. **Handbook of clinical neurology**, v. 120, p. 1045-1059, 2014.

ANDERSSON, N. G. *et al.* Novel F8 and F9 gene variants from the PedNet hemophilia registry classified according to ACMG/AMP guidelines. **Human mutation**, v. 41, n. 12, p. 2058-2072, 2020.

ASTERMARK, J. *et al.* A randomized comparison of bypassing agents in hemophilia complicated by an inhibitor: the FEIBA NovoSeven Comparative (FENOC) Study. **Blood**, v. 109, n. 2, p. 546-551, Jan. 2007.

ASTERMARK, J. *et al.* Polymorphisms in the IL10 but not in the IL1beta and IL4 genes are associated with inhibitor development in patients with hemophilia A. **Blood**, v. 107, n. 8, p. 3167-3172, Apr. 2006.

ASTERMARK, J. *et al.* The Malmö International Brother Study (MIBS). Genetic defects and inhibitor development in siblings with severe hemophilia A. **Haematologica**, v. 90, n. 7, p. 924-931, Jul. 2005.

AUERSWALD, G. *et al.* The EPIC study: A lesson to learn. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 21, n. 5, p. 622-628, Sep. 2015.

BACHELET, D. *et al.* Risk stratification integrating genetic data for factor VIII inhibitor development in patients with severe hemophilia A. **PLoS One**, v. 14, n. 6, p. e0218258, Jun. 2019.

BAGHAIPOUR, M. R.; STEEN CARLSSON, K. Strategies for inhibitor treatment and costs in the short and long term: A critical evaluation of recent clinical studies. **European Journal of Haematology**, v. 94, p. 30-37, 2015. Suppl. 77.

BAGNALL, R. *et al.* Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A. **Blood**, v. 99, n. 1, p. 168-74, 2002.

BALKAN, C.; KAVAKLI, K.; KARAPINAR, D. Iliopsoas haemorrhage in patients with haemophilia: Results from one centre. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 11, n. 5, p. 463-467, 2005.

BARG, A. A. *et al.* Emicizumab treatment and monitoring in a paediatric cohort: real-world data. **British Journal of Haematology**, v. 191, n. 2, p. 282-290, 2020.

BATSULI, G. *et al.* Immune tolerance induction in paediatric patients with haemophilia A and inhibitors receiving emicizumab prophylaxis. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 25, n. 5, p. 789-796, 2019.

BENDIEN, W. M; VAN CREVELD, S. Investigations on haemophilia. **The American Journal of Diseases of Children**, v. 54, n. 4, p. 713-725, Oct. 1937.

BENSON, G. *et al.* Immune tolerance induction in patients with severe hemophilia with inhibitors: Expert panel views and recommendations for clinical practice. **European Journal of Haematology**, v. 88, n. 5, p. 371-379, 2012.

BERNTORP, E. Differential response to bypassing agents complicates treatment in patients with haemophilia and inhibitors. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 15, n. 1, p. 3-10, 2009.

BERNTORP, E. *et al.* Haemophilia. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 1, p. 45, Dec. 2021.

BERNTORP, E. *et al.* Identifying non-responsive bleeding episodes in patients with haemophilia and inhibitors: A consensus definition. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 17, n. 1, p. 202-210, 2011.

BERNTORP, E.; ASTERMARK, J.; CARLBORG, E. Immune tolerance induction and the treatment of hemophilia. Malmo protocol update. **Haematologica**, v. 85, p. 48-51, 2000. Suppl. 10.

BEYAN, C.; KAPTAN, K.; IFRAN, A. Hemophilic arthropathy in non-severe hemophiliacs. **Rheumatology International**, v. 27, n. 5, p. 501-502, Feb. 2007.

BIGGS, R. *et al.* Christmas disease: a condition previously mistaken for haemophilia. **British medical journal**, v. 2, n. 4799, p. 1378-1382, Dec. 1952.

BISWAS, M. *et al.* B Cell Depletion Eliminates FVIII Memory B Cells and Enhances AAV8-coF8 Immune Tolerance Induction When Combined With Rapamycin. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1293, Jun. 2020.

BLADEN, M. *et al.* Factors affecting the Haemophilia Joint Health Score in children with severe haemophilia. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 19, n. 4, p. 626-631, 2013.

BLAIR, H. A. Emicizumab: A Review in Haemophilia A. **Drugs**, v. 79, n. 15, p. 1697-1707, 2019.

BLANCHETTE, V. S. *et al.* Definitions in hemophilia: Communication from the SSC of the ISTH. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 12, n. 11, p. 1935-1939, 2014.

BOLTON-MAGGS, P. H. B.; PASI, K. J. Haemophilias A and B. **The Lancet**, v. 361, n. 9371, p. 1801-1809, May 2003.

BORENSTEIN, M. *et al.* **Introduction to Meta-Analysis**. New York: John Wiley & Sons, 2009.

BOYLAN, B. *et al.* Evaluation of anti-factor VIII antibody levels in patients with haemophilia A receiving immune tolerance induction therapy or bypassing agents. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 27, n. 1, p. e40-e50, Oct. 2021.

BRACKMANN, H. H. *et al.* Immune tolerance induction: What have we learned over time? **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 24, p. 3-14, Apr. 2018. Suppl. 3.

BRACKMANN, H. H. *et al.* Origins, Development, Current Challenges and Future Directions with Activated Prothrombin Complex Concentrate for the Treatment of Patients with Congenital Haemophilia with Inhibitors. **Hämostaseologie**, v. 40, n. 5, p. 606-620, Dec. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Imunotolerância: protocolo de uso de indução de imunotolerância para pacientes com hemofilia A e inibidor**. Brasília, 2015a.

Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_inducao_imunotolerancia_pacientes_hemofilia%20.pdf. Acesso em: 29 dez. 2021

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Diagnóstico Laboratorial das Coagulopatias Hereditárias e Plaquetopatias**. Brasília, 2012. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diagnostico_laboratorial_coagulopatias_hereditarias_plaquetopatias.pdf. Acesso em: 29 dez. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Hemofilia**. Brasília, 2015b. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_hemofilia_2ed.pdf. Acesso em: 29 dez. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Reabilitação na Hemofilia**. Brasília, 2011. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_reabilitacao_hemofilia.pdf. Acesso em: 29 dez. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 1.114, de 16 de novembro de 2021**. Brasília, 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-n-1.114-de-16-de-novembro-de-2021-360545310>. Acesso em: 29 dez. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 478, de 16 de junho de 2014**. Brasília, 2014. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2014/prt0478_16_06_2014.html. Acesso em: 29 dez. 2021.

BRETTSCHEIDER, K. *et al.* Elimination of factor VIII-specific B cells by immunotoxins composed of a single factor VIII domain fused to Pseudomonas exotoxin A. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 16, n. 11, p. 2223-2232, 2018.

BRINKHOUS, K. M. A study of the clotting defect in hemophilia: the delayed formation of thrombin. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 198, p. 509-516, 1939.

BRINKHOUS, K. M. Clotting Defect in Hemophilia: Deficiency in a Plasma Factor Required for Platelet Utilization. **Experimental Biology and Medicine**, v. 66, n. 1, p. 117-120, Oct. 1947.

BRINKMANN, T. *et al.* Synthesis of Tissue Factor Pathway Inhibitor in Human Synovial Cells and Chondrocytes Makes Joints the Predilected Site of Bleeding in Haemophiliacs. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 32, n. 4, p. 313-317, 1994.

BUTENAS, S. *et al.* Potency and mass of factor VIII in FVIII products. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 15, n. 1, p. 63-72, Jan. 2009.

BUTENAS, S. *et al.* The “normal” factor VIII concentration in plasma. **Thrombosis Research**, v. 126, n. 2, p. 119-123, Aug. 2010.

CAMELO, R. M. *et al.* Predictors of the outcome of immune tolerance induction in patients with haemophilia A and inhibitors: The Brazilian Immune Tolerance (BrazIT) Study protocol. **PLoS ONE**, v. 16, n. 8, p. e0256265, Aug. 2021.

CARCAO, M. *et al.* Key questions in the new hemophilia era: update on concomitant use of FVIII and emicizumab in hemophilia A patients with inhibitors. **Expert Review of Hematology**, v. 14, n. 2, p. 143-148, 2021.

CARCAO, M. *et al.* The changing face of immune tolerance induction in haemophilia A with the advent of emicizumab. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 25, n. 4, p. 676-684, 2019.

CASTAMAN, G. Desmopressin for the treatment of haemophilia. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 14, p. 15-20, Dec. 2007.

CASTILLO, L.; MACCALLUM, D. M. Cytokine Measurement Using Cytometric Bead Arrays. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, v. 845, p. 425-434, 2012.

CHAI-ADISAKSOPHA, C. *et al.* Bypassing agent prophylaxis in people with hemophilia A or B with inhibitors. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 9, n. 9, p. CD011441, Sep. 2017.

CHEN, J. *et al.* The spectrum of FVIII gene variants detected by next generation sequencing in 236 Chinese non-inversion hemophilia A pedigrees. **Thrombosis Research**, v. 202, p. 8-13, Jun. 2021.

CHUANSUMRIT, A. *et al.* Association of factor VIII and factor IX mutations, HLA Class II, tumour necrosis factor- α and interleukin-10 on inhibitor development among Thai haemophilia A and B patients. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 23, n. 6, p. e518-e523, 2017.

COLLINS, P. W. *et al.* Diagnosis and treatment of factor VIII and IX inhibitors in congenital haemophilia: (4th edition). **British Journal of Haematology**, v. 160, n. 2, p. 153-170, 2013.

COPPOLA, A. *et al.* Factor VIII gene (F8) mutations as predictors of outcome in immune tolerance induction of hemophilia A patients with high-responding inhibitors. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 7, n. 11, p. 1809-1815, Nov. 2009.

CROMWELL, C.; ALEDORT, L. FEIBA: A Prohemostatic Agent. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 38, n. 3, p. 265-267, Apr. 2012.

D'OIRON, R.; O'BRIEN, S.; JAMES, A. H. Women and girls with haemophilia: Lessons learned. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 27, n. 3, p. 75-81, Sep. 2020.

DARGAUD, Y. *et al.* The potential role of synovial thrombomodulin in the pathophysiology of joint bleeds in haemophilia. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 18, n. 5, p. 818-823, Sep. 2012.

DASA. **Site DASA**. Barueri, 2021. Disponível em: <https://dasa.com.br/>. Acesso em: 29 dez. 2021

DASGUPTA, S. *et al.* A role for exposed mannosylations in presentation of human therapeutic self-proteins to CD4+ T lymphocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 21, p. 8965-8970, May 2007.

DAUTY, M. *et al.* Iliopsoas hematoma in patients with hemophilia: A single-center study. **Joint Bone Spine**, v. 74, n. 2, p. 179-183, 2007.

DEN UIJL, I. E. M. *et al.* Clinical severity of haemophilia A: does the classification of the 1950s still stand? **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 17, n. 6, p. 849-853, Nov. 2011.

DHOLAKIA, A. M.; HOWARTH, F. H. The urinary tract in haemophilia. **Clinical Radiology**, v. 30, n. 5, p. 533-538, Jan. 1979.

DI MINNO, G. *et al.* Predictors of inhibitor eradication by primary immune tolerance induction in severe haemophilia A with high responding inhibitors. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, Nov. 2021. No prelo. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/hae.14431>. Acesso em: 29 dez. 2021.

DIMICHELE, D. M. *et al.* The North American Immune Tolerance Registry: Practices, outcomes, outcome predictors. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 87, n. 1, p. 52-57, 2002.

DIMICHELE, D. M. Immune tolerance: Critical issues of factor dose, purity and treatment complications. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 12, p. 81-86, 2006. Suppl. 6.

DIMICHELE, D. M.; HAY, C. R.M. The international immune tolerance study: A multicenter prospective randomized trial in progress [2]. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 4, n. 10, p. 2271-2273, 2006.

DOYLE, A. J.; BACK, D. L.; AUSTIN, S. Characteristics and management of the haemophilia-associated pseudotumours. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 26, n. 1, p. 33-40, Jan. 2020.

DUTREIL, S. Physical and psychosocial challenges in adult hemophilia patients with inhibitors. **Journal of Blood Medicine**, v. 5, p. 115-122, Jul. 2014.

EBBERT, P. T. *et al.* Efficacy of emicizumab prophylaxis in patients with haemophilia A with and without inhibitors. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 26, n. 1, p. 41-46, 2020.

ECHARDT, C. L. *et al.* Surgery and inhibitor development in hemophilia A: a systematic review. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 9, n. 10, p. 1948-1958, Oct. 2011.

ECKHARDT, C. L. *et al.* Factor VIII gene (F8) mutation and risk of inhibitor development in nonsevere hemophilia A. **Blood**, v. 122, n. 11, p. 1954-1962, Sep. 2013.

ECKHARDT, C. L. *et al.* Inhibitor development and mortality in non-severe hemophilia A. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 13, n. 7, p. 1217-1225, 2015.

ENANORIA, W. T. A. *et al.* Treatment outcomes after highly active antiretroviral therapy: a meta-analysis of randomised controlled trials. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 4, n. 7, p. 414-425, Jul. 2004.

ENGELHART, S.; GLYNN, R. J.; SCHUR, P. H. Disease associations with isolated elevations of each of the four IgG subclasses. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 47, n. 2, p. 276-280, Oct. 2017.

ESCURIOLA ETTINGSHAUSEN, C.; SIDONIO, R. F. Design of an international investigator-initiated study on MODern Treatment of Inhibitor-positiVe pATIEnts with haemophilia A (MOTIVATE). **Therapeutic Advances in Hematology**, v. 12, p. 1-12, Jan. 2021.

FEDERICI, A. B. The factor VIII/von Willebrand factor complex: basic and clinical issues. **Haematologica**, v. 88, n. 6, p. EREP02, Jun. 2003.

FERREIRA, A. *et al.* Hemophilia A in Brazil - epidemiology and treatment developments. **Journal of Blood Medicine**, v. 5, p. 175-184, 2014.

FLANAGIN, A. *et al.* The Reporting of Race and Ethnicity in Medical and Science Journals: Comments Invited. **JAMA**, v. 325, n. 11, p. 1049-1052, Mar. 2021.

FLETCHER, S. *et al.* The lived experience of a novel disruptive therapy in a group of men and boys with haemophilia A with inhibitors: Emi & Me. **Health expectations: an international journal of public participation in health care and health policy**, Dec. 2021. No prelo. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/hex.13404>. Acesso em: 29 dez. 2021.

FRANCHINI, M.; LIPPI, G. Recombinant Factor VIII Concentrates. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 36, n. 5, p. 493-497, Jul. 2010.

FRANCHINI, M.; MANNUCCI, P. M. Modifiers of clinical phenotype in severe congenital hemophilia. **Thrombosis Research**, v. 156, p. 60-64, 2017.

FRANCHINI, M.; MANNUCCI, P. M. The safety of pharmacologic options for the treatment of persons with hemophilia. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 15, n. 10, p. 1391-1400, 2016.

FREIBURGHAUS, C. *et al.* Tolerance induction using the Malmo treatment model 1982-1995. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 5, n. 1, p. 32-39, 1999.

GARCIA, J.; ZIA, A. Real-world case series and summary of current literature of infants and toddlers with severe hemophilia A with inhibitor on prophylaxis with emicizumab. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 68, n. 5, p. e28942, May 2021.

GIANSILY-BLAIZOT, M.; SCHVED, J. F. Recombinant human factor VIIa (rFVIIa) in hemophilia: mode of action and evidence to date. **Therapeutic Advances in Hematology**, v. 8, n. 12, p. 345-352, Dec. 2017.

GILES, A. R. *et al.* A detailed comparison of the performance of the standard versus the Nijmegen modification of the Bethesda assay in detecting Factor VIII:C inhibitors in the haemophilia A population of Canada. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 79, n. 4, p. 872-875, 1998.

GILLES, J. G. *et al.* Anti-factor VIII antibodies of hemophiliac patients are frequently directed towards nonfunctional determinants and do not exhibit isotypic restriction. **Blood**, v. 82, n. 8, p. 2452-2461, Oct. 1993.

GIROLAMI, A. *et al.* Rare and Unusual Bleeding Manifestations in Congenital Bleeding Disorders. **Clinical and applied thrombosis/hemostasis: official journal**

of the **International Academy of Clinical and Applied**, v. 18, n. 2, p. 121-127, Apr. 2012.

GOODING, R. *et al.* Asymptomatic Joint Bleeding and Joint Health in Hemophilia: A Review of Variables, Methods, and Biomarkers. **Journal of Blood Medicine**, v. 12, p. 209-220, Apr. 2021.

GOUW, S. C. *et al.* F8 gene mutation type and inhibitor development in patients with severe hemophilia A: Systematic review and meta-analysis. **Blood**, v. 119, n. 12, p. 2922-2934, 2012.

GOUW, S. C. *et al.* Intensity of factor VIII treatment and inhibitor development in children with severe hemophilia A: The RODIN study. **Blood**, v. 121, n. 20, p. 4046-4055, 2013.

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**, v. 109, n. 11, p. 4648-4654, 2007.

GOVAERTS, P.; GATIA, A. Contribution à l'étude de l'hémophilie. **Revue Belge des Sciences Médicales**, v. 3, p. 689-696, 1931.

GRAHAM, J. B.; BARROW, E. M.; ROBERTS, H. R. Possible implications of the autosomal and X-linked hemophilia phenotypes. **Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica**, v. 17, p. 151-61, 1965.

GREEN, P. The 'Royal Disease'. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 8, n. 10, p. 2214-2215, Oct. 2010.

GRINGERI, A. *et al.* Tertiary prophylaxis in adults: Is there a rationale? **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 18, n. 5, p. 722-728, 2012.

GRINGERI, A.; EWENSTEIN, B.; REININGER, A. The burden of bleeding in haemophilia: Is one bleed too many? **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 20, n. 4, p. 459-463, 2014.

HARKINS DRUZGAL, C. *et al.* Neutralizing antidrug antibody to emicizumab in a patient with severe hemophilia A with inhibitors: New case with detailed laboratory evaluation. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 18, n. 9, p. 2205-2208, Sep. 2020.

HART, Daniel P. *et al.* Immune tolerance induction in severe haemophilia A: A UKHCDO inhibitor and paediatric working party consensus update. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 27, n. 6, p. 932-937, Nov. 2021.

HASSAN, S. *et al.* Factor VIII products and inhibitor development in previously treated patients with severe or moderately severe hemophilia A: a systematic review. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 16, n. 6, p. 1055-1068, 2018.

HAUSL, C. *et al.* High-dose factor VIII inhibits factor VIII-specific memory B cells in hemophilia A with factor VIII inhibitors. **Blood**, v. 10, n. 106, p. 3415-3422, 2012.

HAUSL, C. *et al.* Long-term persistence of anti-factor VIII antibody-secreting cells in hemophilic mice after treatment with human factor VIII. **Thrombosis and haemostasis**, v. 87, n. 5, p. 840-845, May 2002.

HAY, C. R. M.; DIMICHELE, D. M. The principal results of the International Immune Tolerance Study: A randomized dose comparison. **Blood**, v. 119, n. 6, p. 1335-1344, 2012.

HAY, C. R. M.; NISSEN, F.; PIPE, S. W. Mortality in congenital hemophilia A - a systematic literature review. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 19, p. 6-20, Jan. 2021. Suppl. 1.

HAY, C. R.; DIMICHELE, D. M.; INTERNATIONAL IMMUNE TOLERANCE STUDY. The principal results of the International Immune Tolerance Study: a randomized dose comparison. **Blood**, v. 119, n. 6, p. 1335-1344, Feb. 2012.

HAYA, S. *et al.* Immune tolerance treatment in haemophilia patients with inhibitors: The Spanish registry. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 7, n. 2, p. 154-159, 2001.

HAYA, S. Prophylactic treatment in hemophilic patients with inhibitors. **Blood Coagulation & Fibrinolysis**, v. 30, p. S14-S18, Sep. 2019. Suppl. 1.

HE, Y. *et al.* Surgical Management of Haemophilic Pseudotumors: Experience in a Developing Country. **Journal of Investigative Surgery**, v. 32, n. 2, p. 127-136, 2019.

HEDNER, U.; LEE, C. A. First 20 years with recombinant FVIIa (NovoSeven). **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 17, n. 1, p. 172-182, 2011.

HERCZENIK, E. *et al.* Uptake of blood coagulation factor VIII by dendritic cells is mediated via its C1 domain. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 129, n. 2, p. 501–509.e5095, Feb. 2012.

HIRAYAMA, A. B. *et al.* Prevalence of symptoms in hemophilia carriers in comparison with the general population: a systematic review. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 41, n. 4, p. 349-355, 2019.

HOFFMAN, M.; DARGAUD, Y. Mechanisms and monitoring of bypassing agent therapy. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 10, n. 8, p. 1478-1485, 2012.

HOLSTEIN, K. *et al.* Immune tolerance induction in the era of emicizumab - still the first choice for patients with haemophilia A and inhibitors? **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, Dec. 2021. No prelo. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/hae.14470>. Acesso em: 29 dez. 2021.

HOPFF, F. **Ueber die Haemophilie: oder die erbliche Anlage zu tödtlichen Blutungen**. Würzburg: Becker, 1828.

HYNES, H. E. *et al.* Development of the present concept of hemophilia. **Mayo Clinic proceedings**, v. 44, n. 3, p. 193-206, Mar. 1969.

INGRAM, G. I. The history of haemophilia. **Journal of Clinical Pathology**, v. 29, n. 6, p. 469-479, Jun. 1976.

INTERNATIONAL SOCIETY ON THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS. **The Design and Analysis of Pharmacokinetic Studies of Coagulation Factors**. Carrboro, 2001. Disponível em: https://cdn.ymaws.com/www.isth.org/resource/group/d4a6f49a-f4ec-450f-9e0f-7be9f0c2ab2e/official_communications/fviii-pharmaco.pdf. Acesso em: 29 dez. 2021.

IORIO, A. *et al.* Clotting factor concentrates given to prevent bleeding and bleeding-related complications in people with hemophilia A or B. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 9, p. CD003429, Sep. 2011.

IORIO, A. *et al.* Establishing the prevalence and prevalence at birth of hemophilia in males a meta-analytic approach using national registries. **Annals of Internal Medicine**, v. 171, n. 8, p. 542-546, 2019.

IORIO, A. *et al.* Rate of inhibitor development in previously untreated hemophilia A patients treated with plasma-derived or recombinant factor VIII concentrates: A systematic review. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 8, n. 6, p. 1256-1265, 2010.

IRIGOYEN, M. B. *et al.* IgG subclasses of FVIII inhibitors in an argentine cohort of severe hemophilia A patients: Analysis by flow cytometry. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 39, n. 6, p. 569-576, 2017.

JACQUEMIN, M. *et al.* A human antibody directed to the factor VIII C1 domain inhibits factor VIII cofactor activity and binding to von Willebrand factor. **Blood**, v. 95, n. 1, p. 156-63, Jan. 2000.

JARDIM, L. L. *et al.* Immune status of patients with haemophilia A before exposure to factor VIII: first results from the HEMFIL study. **British Journal of Haematology**, v. 178, n. 6, p. 971-978, 2017.

JARDIM, L. L. *et al.* Mortality of patients with haemophilia in Brazil: First report. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 25, n. 3, p. e146-e152, 2019.

JAYANDHARAN, G.; SRIVASTAVA, A. The Phenotypic Heterogeneity of Severe Hemophilia. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 34, n. 1, p. 128-141, Feb. 2008.

JIMÉNEZ-YUSTE, V. *et al.* Practical considerations for nonfactor-replacement therapies in the treatment of haemophilia with inhibitors. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 27, n. 3, p. 340-350, May 2021.

JOSEPHSON, C. D; ABSHIRE, T. The new albumin-free recombinant factor VIII concentrates for treatment of hemophilia: do they represent an actual incremental improvement? **Clinical Advances in Hematology & Oncology**, v. 2, n. 7, p. 441-446, Jul. 2004.

KALAFATELI, M. *et al.* Pharmacological interventions for acute hepatitis C infection. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 3, n. 3, p. CD011644, Mar. 2017.

KANEDA, M. *et al.* Detailed analysis of anti-emicizumab antibody decreasing drug efficacy, using plasma samples from a patient with hemophilia A. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 19, n. 12, p. 2938-2946, Dec. 2021.

KAPUR, R.; EINARSDOTTIR, H. K.; VIDARSSON, G. IgG-effector functions: "the good, the bad and the ugly". **Immunology Letters**, v. 160, n. 2, p. 139-144, Aug. 2014.

KASPER, C. K. *et al.* Proceedings: A more uniform measurement of factor VIII inhibitors. **Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica**, v. 34, n. 2, p. 612, Nov. 1975.

KAZATCHKINE, M. D. *et al.* Circulating immune complexes containing anti-VIII antibodies in multi-transfused patients with haemophilia A. **Clinical and experimental immunology**, v. 39, n. 2, p. 315-320, Feb. 1980.

KESHAVA, S. N.; GIBIKOTE, S.; DORIA, A. S. Imaging Evaluation of Hemophilia: Musculoskeletal Approach. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 41, n. 8, p. 880-893, 2015.

KHAIR, K. *et al.* HaemophiliaLIVE: an ethnographic study on the impact of haemophilia on daily life. **The Journal of Haemophilia Practice**, v. 1, n. 3, p. 14-20, 2015.

KITAZAWA, T. *et al.* Factor VIIIA-mimetic cofactor activity of a bispecific antibody to factors IX/IXA and X/XA, emicizumab, depends on its ability to bridge the antigens. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 117, n. 7, p. 1348-1357, 2017.

KNOL, M. J. *et al.* Overestimation of risk ratios by odds ratios in trials and cohort studies: alternatives to logistic regression. **Canadian Medical Association Journal**, v. 184, n. 8, p. 895-899, May 2012.

KREUZ, W. *et al.* Immune tolerance therapy in paediatric haemophiliacs with factor VIII inhibitors: 14 years follow-up. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 1, n. 1, p. 24-32, Jan. 1995.

KULKARNI, R.; LUSHER, J. M. Intracranial and extracranial hemorrhages in newborns with hemophilia: A review of the literature. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 21, n. 4, p. 289-295, 1999.

KURTH, M. *et al.* The use of a single von Willebrand factor-containing, plasma-derived FVIII product in hemophilia A immune tolerance induction: the US experience. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 9, n. 11, p. 2229-2234, Nov. 2011.

LACROIX-DESMAZES, S. *et al.* Catalytic activity of antibodies against factor VIII in patients with hemophilia A. **Nature Medicine**, v. 5, n. 9, p. 1044-1047, Sep. 1999.

LACROIX-DESMAZES, S. *et al.* The Prevalence of Proteolytic Antibodies against Factor VIII in Hemophilia A. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 9, p. 662-667, Feb. 2002.

LANDSTEINER, K. Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. **Wien Klin Wochenschr**, v. 14, p. 1132-1134, 1901.

LANDSTEINER, K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. **Zentralbl Bakteriol**, v. 27, p. 357-62, 1900.

LANE, S. A. Haemorrhagic diathesis: successful transfusion of blood. **The Lancet**, v. 35, p. 185-188, 1840.

LARSSON, S. A. Life expectancy of Swedish haemophiliacs, 1831-1980. **British Journal of Haematology**, v. 59, p. 593-602, 1985.

LASSANDRO, G. *et al.* The risk of venipuncture in newborn with severe hemophilia: Case report of a large elbow hemorrhage and literature review of compartment syndrome. **Hematology Reports**, v. 13, n. 2, p. 8967, Jun. 2021.

LEE, M. *et al.* The pharmacokinetics of coagulation factors. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 12, p. 1-7, Jul. 2006. Suppl. 3.

LETHAGEN, S. Desmopressin in Mild Hemophilia A: Indications, Limitations, Efficacy, and Safety. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 29, n. 1, p. 101-106, 2003.

LEWANDOWSKA, M. *et al.* Management of people with haemophilia A undergoing surgery while receiving emicizumab prophylaxis: Real-world experience from a large comprehensive treatment centre in the US. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 27, n. 1, p. 90-99, 2021.

LEWIS, J. H. *et al.* The relation of certain fractions of the plasma globulins to the coagulation defect in hemophilia. **Blood**, v. 1, p. 166-172, 1946.

LILLICRAP, D. *et al.* Patients with hemophilia A and inhibitors: prevention and evolving treatment paradigms. **Expert Review of Hematology**, v. 13, n. 4, p. 313-321, Apr. 2020.

LIM, M. Y. *et al.* Inhibitors and mortality in persons with nonsevere hemophilia A in the United States. **Blood Advances**, v. 4, n. 19, p. 4739-4747, 2020.

LINARI, S.; CASTAMAN, G. Concomitant use of RFVIIA and emicizumab in people with hemophilia a with inhibitors: Current perspectives and emerging clinical evidence. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 16, p. 461-469, 2020.

- LIU, X. *et al.* Efficacy and safety of sofosbuvir-based therapy for the treatment of chronic hepatitis C in treatment-naïve and treatment-experienced patients. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 44, n. 2, p. 145-151, Aug. 2014.
- LJUNG, R. C. R.; SJÖRIN, E. Origin of mutation in sporadic cases of haemophilia A. **British Journal of Haematology**, v. 106, n. 4, p. 870-874, Sep. 1999.
- LOOMANS, J. I. *et al.* Desmopressin in moderate hemophilia a patients: A treatment worth considering. **Haematologica**, v. 103, n. 3, p. 550-557, 2018.
- LOOMANS, J. I. *et al.* Mortality caused by intracranial bleeding in non-severe hemophilia A patients. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 15, n. 6, p. 1115-1122, Jun. 2017.
- LÓPEZ-FERNÁNDEZ, M. F. *et al.* Spanish consensus guidelines on prophylaxis with bypassing agents in patients with haemophilia and inhibitors. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 115, n. 5, p. 872-895, 2016.
- LUO, A. *et al.* Efficacy and safety of direct-acting antiviral therapy for chronic hepatitis C genotype 6. **Medicine (Baltimore)**, v. 98, n. 20, p. e15626, May 2019.
- MABEE, J. R.; BOSTWICK, T. L. Pathophysiology and mechanisms of compartment syndrome. **Orthopaedic Review**, v. 22, n. 2, p. 175-181, Feb. 1993.
- MAHER, K. N. *et al.* Prophylaxis for children with moderate hemophilia: Use of a guideline to increase early initiation. **Pediatric Blood and Cancer**, v. 68, n. 1, p. 3-5, 2021.
- MAHLANGU, J. *et al.* Bleeding events and safety outcomes in persons with haemophilia A with inhibitors: A prospective, multi-centre, non-interventional study. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 24, n. 6, p. 921-929, 2018.
- MAHLANGU, J. *et al.* Efficacy of emicizumab prophylaxis in patients who have hemophilia a without inhibitors. **New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 9, p. 811-822, 2018.
- MAHLANGU, J. *et al.* Health-related quality of life and health status in persons with haemophilia A with inhibitors: A prospective, multicentre, non-interventional study (NIS). **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 25, n. 3, p. 382-391, 2019.

MAKRIS, M.; IORIO, A.; LENTING, P. J. Emicizumab and thrombosis: The story so far. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 17, n. 8, p. 1269-1272, 2019.

MARGAGLIONE, M.; INTRIERI, M. Genetic Risk Factors and Inhibitor Development in Hemophilia: What Is Known and Searching for the Unknown. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 44, n. 6, p. 509-516, 2018.

MARIANI, G. *et al.* Immune tolerance in hemophilia with factor VIII inhibitors: Predictors of success. **Haematologica**, v. 86, n. 11, p. 1186-1193, 2001.

MATINO, D. *et al.* Recombinant factor VIIa concentrate versus plasma-derived concentrates for treating acute bleeding episodes in people with haemophilia and inhibitors. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2015, n. 12, p. CD004449, Dec. 2015.

MAUSER-BUNSCHOTEN, E. P. *et al.* Low-dose immune tolerance induction in hemophilia A patients with inhibitors. **Blood**, v. 86, n. 3, p. 983-988, 1995.

MAZURKIEWICZ-PISAREK, A. *et al.* The factor VIII protein and its function. **Acta Biochimica Polonica**, v. 63, n. 1, p. 11-16, 2016.

MCCARY, I. *et al.* Real-world use of emicizumab in patients with haemophilia A: Bleeding outcomes and surgical procedures. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 26, n. 4, p. 631-636, 2020.

MCCORMICK, M. C.; SIRIPONG, N.; COOPER, J. D. Desmopressin stimulation testing: Response to intravenous and intranasal forms. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 24, n. 4, p. e194-e198, 2018.

MEEKS, S. L.; LEISSINGER, C. A. The evolution of factor VIIa in the treatment of bleeding in haemophilia with inhibitors. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 25, n. 6, p. 911-918, Nov. 2019.

MELCHIORRE, D.; MANETTI, M.; MATUCCI-CERINIC, M. Pathophysiology of Hemophilic Arthropathy. **Journal of Clinical Medicine**, v. 6, n. 7, p. 63, 2017.

MESSORI, A. Inhibitors in Hemophilia A: A Pharmacoeconomic Perspective. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 44, n. 6, p. 561-567, 2018.

MIGEON, B. R. X-linked diseases: susceptible females. **Genetics in Medicine**, v. 22, n. 7, p. 1156-1174, Jul. 2020.

MINGOT-CASTELLANO, M. E. Clinical pattern of hemophilia and causes of variability. **Blood Coagulation & Fibrinolysis**, v. 30, p. S4-S6, Sep. 2019.

MINGOT-CASTELLANO, M. E. *et al.* Spanish consensus guidelines on prophylaxis with bypassing agents for surgery in patients with haemophilia and inhibitors. **European Journal of Haematology**, v. 96, n. 5, p. 461-474, 2016.

MIYAZAKI, K.; HIGASHIHARA, M. Massive Hemorrhage into the Iliopsoas Muscle. **Internal Medicine**, v. 44, n. 2, p. 158-159, 2005.

MOHER, D. *et al.* Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. **Systematic Reviews**, v. 4, n. 1, p. 1, Jan. 2015.

MONDORF, W.; KALNINS, W.; KLAMROTH, R. Patient-reported outcomes of 182 adults with severe haemophilia in Germany comparing prophylactic vs. on-demand replacement therapy. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 19, n. 4, p. 558-563, 2013.

MONTALVÃO, S. A. *et al.* A longitudinal evaluation of anti-FVIII antibodies demonstrated IgG4 subclass is mainly correlated with high-titre inhibitor in haemophilia A patients. **Haemophilia**, v. 21, n. 5, p. 686-692, Sep. 2015.

MONTALVÃO, S. A. L.; LOWE, A.; KITCHEN, S. Advantages of external quality assessment-EQA programs. **Haemophilia**, Apr. 2022. No prelo. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/hae.14562>. Acesso em: 21 maio 2022.

MOOREHEAD, P. C. *et al.* Rapid acquisition of immunologic tolerance to factor VIII and disappearance of anti-factor VIII IgG4 after prophylactic therapy in a hemophilia A patient with high-titer factor VIII inhibitor. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 37, n. 4, p. 220-222, May 2015.

MOREAU, A. *et al.* Antibodies to the FVIII light chain that neutralize FVIII procoagulant activity are present in plasma of nonresponder patients with severe hemophilia A and in normal polyclonal human IgG. **Blood**, v. 95, n. 11, p. 3435-3441, 2000.

MORFINI, M. *et al.* European Study on Orthopaedic Status of haemophilia patients with inhibitors. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 13, n. 5, p. 606-612, 2007.

MORGAN, E. *et al.* Cytometric bead array: a multiplexed assay platform with applications in various areas of biology. **Clinical Immunology**, v. 110, n. 3, p. 252-266, Mar. 2004.

NACCA, C. R.; HARRIS, A. P.; TUTTLE, J. R. Hemophilic arthropathy. **Orthopedics**, v. 40, n. 6, p. e940-e946, 2017.

NAKAR, C. *et al.* Prompt immune tolerance induction at inhibitor diagnosis regardless of titre may increase overall success in haemophilia A complicated by inhibitors: Experience of two US centres. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 21, n. 3, p. 365-373, 2015.

NAKAR, C.; SHAPIRO, A. Hemophilia A with inhibitor: Immune tolerance induction (ITI) in the mirror of time. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 58, n. 5, p. 578-589, 2019.

NAPODANO, C. *et al.* Immunological Role of IgG Subclasses. **Immunological Investigations**, v. 50, n. 4, p. 427-444, May 2021.

NARANJA, R. J. *et al.* Treatment of considerations in patients with compartment syndrome and an inherited bleeding disorder. **Orthopedics**, v. 20, n. 8, p. 706-709, Aug. 1997.

NEGRIER, C.; DARGAUD, Y.; BORDET, J. C. Basic aspects of bypassing agents. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 12, p. 48-52, Dec. 2006. Suppl. 6.

NIJDAM, A. *et al.* Long-term effects of joint bleeding before starting prophylaxis in severe haemophilia. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 22, n. 6, p. 852-858, 2016.

NILSSON, I. M. *et al.* Twenty-five years' experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B. **Journal of Internal Medicine**, v. 232, n. 1, p. 25-32, Jul. 1992.

NILSSON, I. M.; BLOMBÄCK, M; RAMGREN, O. Haemophilia in Sweden. VI. Treatment of haemophilia A with the human antihemophilic factor preparation (fraction I-0). **Acta Medica Scandinavica**, v. 379, p. 61-110, 1962.

NOGAMI, K. *et al.* The Japanese Immune Tolerance Induction (J-ITI) study in haemophilia patients with inhibitor: Outcomes and successful predictors of ITI treatment. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 24, n. 5, p. e328-e337, 2018.

NOGAMI, K. *et al.* The Japanese Immune Tolerance Induction (J-ITI) study in haemophilia patients with inhibitor: Outcomes and successful predictors of ITI treatment. **Haemophilia**, v. 24, n. 5, p. e328-e337, Sep. 2018.

NUSS, R.; SOUCIE, J. M.; EVATT, B. Changes in the occurrence of and risk factors for hemophilia-associated intracranial hemorrhage. **American Journal of Hematology**, v. 68, n. 1, p. 37-42, Sep. 2001.

OESTERN, H. J. [Compartment syndrome. Definition, etiology, pathophysiology]. **Der Unfallchirurg**, v. 94, n. 5, p. 210-215, May 1991.

OLADAPO, A. O. *et al.* Health-related quality of life assessment in haemophilia patients on prophylaxis therapy: A systematic review of results from prospective clinical trials. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 21, n. 5, p. e344-e358, 2015.

OLADAPO, A. O. *et al.* Inhibitor clinical burden of disease: A comparative analysis of the CHES data. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 13, n. 1, p. 1-11, 2018.

OLASUPO, O. O. *et al.* Clotting factor concentrates for preventing bleeding and bleeding-related complications in previously treated individuals with haemophilia A or B. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 8, n. 8, p. CD014201, Aug. 2021.

OLDENBURG, J. *et al.* Emicizumab prophylaxis in hemophilia A with inhibitors. **New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 9, p. 809-818, 2017.

OLDENBURG, J. *et al.* The importance of inhibitor eradication in clinically complicated hemophilia A patients. **Expert Review of Hematology**, v. 11, n. 11, p. 857-862, Nov. 2018.

OLDENBURG, J.; EL-MAARRI, O. New Insight into the Molecular Basis of Hemophilia A. **International Journal of Hematology**, v. 83, n. 2, p. 96-102, Feb. 2006.

OLDENBURG, J.; SCHWAAB, R.; BRACKMANN, H. H. Induction of immune tolerance in haemophilia A inhibitor patients by the "Bonn Protocol": Predictive parameter for therapy duration and outcome. **Vox Sanguinis**, v. 77, p. 49-54, 1999. Suppl. 1.

OLIVEIRA, C. A. *et al.* Cytokine profile and FVIII inhibitors development in haemophilia A. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 19, n. 3, p. 139-142, 2013.

ORFEO, T. *et al.* Activation, activity and inactivation of factor VIII in factor VIII products. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 22, n. 3, p. 462-473, May 2016.

OSOOLI, M.; BERNTORP, E. Inhibitors in haemophilia: What have we learned from registries? A systematic review. **Journal of Internal Medicine**, v. 277, n. 1, p. 1-15, 2015.

OTTENBERG, R; KALISKI, DJ. Die Gefahren der Transfusionen und deren Verhütung. **Dtsch Med Wochenschr**, v. 39, p. 2243-2247, 1913.

OTTO, J. C. An Account of an Hemorrhagic Disposition Existing in Certain Families. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 328, p. 4-6, Jul. 1996.

OVANESOV, M. V. *et al.* Effect of factor VIII on tissue factor-initiated spatial clot growth. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 89, n. 2, p. 235-242, 2003.

PAUTARD, B. *et al.* Successful immune tolerance induction by FVIII in hemophilia A patients with inhibitor may occur without deletion of FVIII-specific T cells. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 9, n. 6, p. 1163-1170, Jun. 2011.

PAVLOVA, A. *et al.* Impact of polymorphisms of the major histocompatibility complex class II, interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha and cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 genes on inhibitor development in severe hemophilia A. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 7, n. 12, p. 2006-2015, Dec. 2009.

PAVLOVA, A.; OLDENBURG, J. Defining Severity of Hemophilia: More than Factor Levels. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 39, n. 7, p. 702-710, Sep. 2013.

PAVLOVSKY, A. Contribution to the pathogenesis of hemophilia. **Blood**, v. 2, p. 185-191, 1947.

PEYVANDI, F. *et al.* A randomized trial of factor VIII and neutralizing antibodies in hemophilia A. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 21, p. 2054-2064, 2016.

PEYVANDI, F. *et al.* New findings on inhibitor development: from registries to clinical studies. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 23, p. 4-13, 2017.

PICKLES, C. W.; BISS, T.; BITAR, R. Gastrointestinal Bleeding in Children With Hemophilia A. **Clinical Pediatrics**, v. 57, n. 7, p. 854-856, Jun. 2018.

PIO, S. F. *et al.* Detection of int1h-related inversion of the factor VIII gene. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 17, n. 2, p. 313-314, 2011.

PIPE, S. W. *et al.* Efficacy, safety, and pharmacokinetics of emicizumab prophylaxis given every 4 weeks in people with haemophilia A (HAVEN 4): a multicentre, open-label, non-randomised phase 3 study. **The Lancet Haematology**, v. 6, n. 6, p. e295-e305, 2019.

PLUG, I. *et al.* Mortality and causes of death in patients with hemophilia, 1992-2001: A prospective cohort study. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 4, n. 3, p. 510-516, 2006.

POGGI, H. *et al.* Introns 1 and 22 inversions and F8 gene sequencing for molecular diagnosis of hemophilia A in Chile. **Revista Medica de Chile**, v. 139, n. 2, p. 189-196, Feb. 2011.

POOL, J. G.; SHANNON, A. E. Production of High-Potency Concentrates of Antihemophilic Globulin in a Closed-Bag System. **New England Journal of Medicine**, v. 273, n. 27, p. 1443-1447, Dec. 1965.

POTGIETER, J. J.; DAMGAARD, M.; HILLARP, A. One-stage vs. chromogenic assays in haemophilia A. **European Journal of Haematology**, v. 94, p. 38-44, Feb. 2015. Suppl. 77.

QUICK, A. J. STUDIES ON THE ENIGMA OF THE HEMOSTATIC DYSFUNCTION OF HEMOPHILIA. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 214, n. 3, p. 272-280, Sep. 1947.

QUICK, A. J.; STANLEY-BROWN, M.; BANCROFT, F. W. A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice. **The American Journal of The Medical Sciences**, v. 190, p. 501-511, 1935.

RAMGREN, O. Haemophilia in Sweden. III. Symptomatology, with special reference to differences between haemophilia A and B. **Acta Medica Scandinavica**, v. 171, p. 237-42, 1962.

RECHT, M. *et al.* Impact of acute bleeding on daily activities of patients with congenital hemophilia with inhibitors and their caregivers and families: Observations

from the dosing observational study in hemophilia (DOSE). **Value in Health**, v. 17, n. 6, p. 744-748, 2014.

REIPERT, B. M. *et al.* Mechanisms of action of immune tolerance induction against factor VIII in patients with congenital haemophilia A and factor VIII inhibitors. **British Journal of Haematology**, v. 136, n. 1, p. 12-25, Jan. 2007.

REIPERT, B. M. *et al.* Modulation of factor VIII-specific memory B cells. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 16, n. 102, p. 25-34, May 2010.

REIPERT, B. M. *et al.* The prospective Hemophilia Inhibitor PUP Study reveals distinct antibody signatures prior to FVIII inhibitor development. **Blood Advances**, v. 4, n. 22, p. 5785-5796, Nov. 2020.

REZENDE, S. M. *et al.* Building the National Program of Inherited Bleeding Disorders in Brazil. **Blood Advances**, v. 3, p. 48-50, Dec. 2019. Suppl. 1.

REZENDE, S. M. *et al.* Evaluation of a web-based registry of inherited bleeding disorders: A descriptive study of the Brazilian experience with HEMOVIDAweb Coagulopatias. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 12, n. 1, p. 27, Feb. 2017.

ROCINO, A. *et al.* Immune tolerance induction in haemophilia a patients with high-responding inhibitors to factor VIII: Experience at a single institution. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 7, n. 1, p. 33-38, 2001.

RODRIGUES, E. *et al.* Novos conceitos sobre a fisiologia da hemostasia. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 10, n. 1, p. 218-233, 2012.

RODRIGUEZ-MERCHAN, E. C. Complications of Muscle Hematomas in Hemophilia. **Cardiovascular & Hematological Disorders-Drug Targets**, v. 20, n. 4, p. 242-248, Jan. 2021.

RODRIGUEZ-MERCHAN, E. C. Musculo-skeletal manifestations of haemophilia. **Blood Reviews**, v. 30, n. 5, p. 401-409, 2016.

ROSNER, F. Hemophilia in the Talmud and Rabbinic Writings. **Annals of Internal Medicine**, v. 70, n. 4, p. 833, Apr. 1969.

ROSSETTI, L. C. *et al.* Developing a new generation of tests for genotyping hemophilia-causative rearrangements involving int22h and int1h hotspots in the

factor VIII gene. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 6, n. 5, p. 830-836, 2008.

SAKURAI, Y. *et al.* Alterations of T cell receptor V β repertoire of CD8 T lymphocytes in immune tolerance induction in two hemophilia A patients with inhibitors.

Vojnosanitetski pregled, v. 68, n. 12, p. 1047-1050, 2011.

SAMPEI, Z. *et al.* Identification and Multidimensional Optimization of an Asymmetric Bispecific IgG Antibody Mimicking the Function of Factor VIII Cofactor Activity. **PLoS One**, v. 8, n. 2, p. e57479, 2013.

SAMPEI, Z. *et al.* Non-antigen-contacting region of an asymmetric bispecific antibody to factors IXa/X significantly affects factor VIII-mimetic activity. **mAbs**, v. 7, n. 1, p. 120-128, 2015.

SANTAGOSTINO, E. *et al.* Inhibitors: A Need for Eradication? **Acta Haematologica**, v. 141, n. 3, p. 151-155, 2019.

SANTO, A. H. Causes of death and mortality trends related to hemophilia in Brazil, 1999 to 2016. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 43, n. 2, p. 171-178, Apr-Jun. 2021.

SAULYTE TRAKYMIENE, S. *et al.* Progression of haemophilic arthropathy in children: a Lithuanian - Danish comparative study. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 19, n. 2, p. 212-218, Mar. 2013.

SCANDELLA, D. H. Properties of Anti-Factor VIII Inhibitor Antibodies in Hemophilia A Patients. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 26, n. 2, p. 137-142, 2000.

SCHEIBEL, E. *et al.* Continuous high-dose factor VIII for the induction of immune tolerance in haemophilia A patients with high responder state: a description of eleven patients treated. **Thrombosis and haemostasis**, v. 58, n. 4, p. 1049-1052, Dec. 1987.

SCHEP, S. J. *et al.* Review of immune tolerance induction in hemophilia A. **Blood Reviews**, v. 32, n. 4, p. 326-338, 2018.

SCHEP, S. J. *et al.* Role of Regulatory Cells in Immune Tolerance Induction in Hemophilia A. **HemaSphere**, v. 5, n. 5, p. e557, Apr. 2021.

SCHULZ, W. Über Bluttransfusion beim Menschen unter Berücksichtigung biologischer Vorprüfungen. **Berl Klin Wochenschr**, v. 47, p. 1407-1409, 1910.

SCHUR, P. H. IgG subclasses--a review. **Annals of allergy**, v. 58, n. 2, p. 89-96, Feb. 1987.

SHAPIRO, A. D.; MITCHELL, I. S.; NASR, S. The future of bypassing agents for hemophilia with inhibitors in the era of novel agents. **Journal of thrombosis and haemostasis**, v. 16, n. 12, p. 2362-2374, Dec. 2018.

SIGAL, L. H. Basic science for the clinician 58: IgG subclasses. **Journal of clinical rheumatology**, v. 18, n. 6, p. 316-318, Sep. 2012.

SMITH, M. P. *et al.* Immune tolerance therapy for haemophilia A patients with acquired factor VIII alloantibodies: Comprehensive analysis of experience at a single institution. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 81, n. 1, p. 35-38, 1999.

SOORI, S. *et al.* Relationship Between Single-Nucleotide Polymorphisms of Tumor Necrosis Factor Alpha, Interleukin-10, Factor II and Factor V with Risk of Inhibitor Development in Patients with Severe Hemophilia A. **Cardiovascular & Hematological Disorders-Drug Targets**, v. 19, n. 3, p. 228-232, Oct. 2019.

SRIVASTAVA, A. *et al.* WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 26, p. 1-158, Aug. 2020. Suppl. 6.

STEIN, R. S.; COLMAN, R. W. Hemophilia with Factor VIII Inhibitor - Elimination of Anamnestic Response. **Annals of Internal Medicine**, v. 79, n. 1, p. 84-87, 1973.

STIJNEN, T.; HAMZA, T. H.; OZDEMIR, P. Random effects meta-analysis of event outcome in the framework of the generalized linear mixed model with applications in sparse data. **Statistics in medicine**, v. 29, n. 29, p. 3046-3067, Dec. 2010.

STONEBRAKER, J. S. *et al.* The World Federation of Hemophilia Annual Global Survey 1999-2018. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 26, n. 4, p. 591-600, Jul. 2020.

SVENSSON, P. J. *et al.* Desmopressin in treatment of haematological disorders and in prevention of surgical bleeding. **Blood Reviews**, v. 28, n. 3, p. 95-102, May 2014.

SWEETING, M. J.; SUTTON, A. J.; LAMBERT, P. C. What to add to nothing? Use and avoidance of continuity corrections in meta-analysis of sparse data. **Statistics in**

medicine, v. 23, n. 9, p. 1351-1375, May 2004. Erratum in: **Statistics in medicine**, v. 25, n. 15, p. 2700, Aug. 2006.

TER AVEST, P. C. *et al.* Successful low dose immune tolerance induction in severe haemophilia A with inhibitors below 40 Bethesda Units. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 16, p. 71-79, 2010.

TIMMER, M. A. *et al.* Differentiating between signs of intra-articular joint bleeding and chronic arthropathy in haemophilia: a narrative review of the literature. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 21, n. 3, p. 289-296, May 2015.

TURECEK, P. L. *et al.* FEIBA: mode of action. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 10, p. 3-9, Sep. 2004. Suppl. 2.

VALSECCHI, C. *et al.* Characterization of the neutralizing anti-emicizumab antibody in a patient with hemophilia A and inhibitor. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 19, n. 3, p. 711-718, Mar. 2021.

van CREVELD, S. Zeldzame haemorrhagische diathesen (acuut haemorrhagisch oedeem - sporadische haemophilie). **Maandschr Kindergeneeskd**, v. 3, p. 351-366, 1934.

van HELDEN, P. M. *et al.* Domain specificity of factor VIII inhibitors during immune tolerance induction in patients with haemophilia A. **Haemophilia**, v. 16, n. 6, p. 892-901, Nov. 2010.

van HELDEN, P. M. *et al.* IgG subclasses of anti-FVIII antibodies during immune tolerance induction in patients with hemophilia A. **British Journal of Haematology**, v. 142, n. 4, p. 644-652, Aug. 2008. Erratum in: **British Journal of Haematology**, v. 144, n. 4, p. 625, Feb. 2009.

van HELDEN, P. M. W. *et al.* Factor VIII-specific memory B cells in patients with hemophilia A. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 5, n. 11, p. 2306-2308, Nov. 2007.

van VELZEN, A. S. *et al.* The incidence and treatment of bleeding episodes in non-severe haemophilia A patients with inhibitors. **Thrombosis and haemostasis**, v. 115, n. 3, p. 543-550, Mar. 2016.

van VULPEN, L. F. D. *et al.* The detrimental effects of iron on the joint: a comparison between haemochromatosis and haemophilia. **Journal of Clinical Pathology**, v. 68, n. 8, p. 592-600, Aug. 2015.

van VULPEN, L. F. D.; HOLSTEIN, K.; MARTINOLI, C. Joint disease in haemophilia: Pathophysiology, pain and imaging. **Haemophilia**, v. 24, p. 44-49, May 2018. Suppl. 6.

VARAKLIOTI, A. *et al.* Health-Related Quality of Life and Association With Arthropathy in Greek Patients with Hemophilia. **Clinical and applied thrombosis/hemostasis: official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis**, v. 24, n. 5, p. 815-821, Jul. 2018.

VARRO, Rudolf. *et al.* Bead-Based Multianalyte Flow Immunoassays. **Methods in Molecular Biology**, v. 378, p. 125-152, 2007.

VERBRUGGEN, B. *et al.* Improvements in Factor VIII Inhibitor Detection: From Bethesda to Nijmegen. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, v. 35, n. 8, p. 752-759, Nov. 2009.

VERBRUGGEN, B. *et al.* The Nijmegen modification of the Bethesda assay for factor VIII:C inhibitors: improved specificity and reliability. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 73, n. 2, p. 247-251, 1995.

WALKER, I. R.; JULIAN, J. A. Causes of death in Canadians with haemophilia 1980 ± 1995. **Haemophilia: the official journal of the World Federation of Hemophilia**, v. 4, n. 5, p. 714-720, Sep. 1998.

WALSH, C. E. *et al.* The burden of inhibitors in haemophilia patients mortality. **The Journal of Thrombosis and Haemostasis.**, v. 116, p. S10-S17, 2016. Suppl. 1.

WALSH, C. E.; SOUCIE, J. M.; MILLER, C. H. Impact of inhibitors on hemophilia A mortality in the United States. **American Journal of Hematology**, v. 90, n. 5, p. 400-405, 2015.

WANG, M. *et al.* Hemophilia without prophylaxis: Assessment of joint range of motion and factor activity. **Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis**, v. 4, n. 6, p. 1035-1045, Aug. 2020.

WARREN, B. B. *et al.* Young adult outcomes of childhood prophylaxis for severe hemophilia A: results of the Joint Outcome Continuation Study. **Blood Advances**, v. 4, n. 11, p. 2451-2459, 2020.

WECKMANN, G.; CHENOT, J. F.; REBER, K. C. A practical approach to reading and interpreting meta-analyses. **Zeitschrift für Allgemeinmedizin**, v. 91, n. 469-473, Nov. 2015.

WHELAN, S.F. *et al.* Distinct characteristics of antibody responses against factor VIII in healthy individuals and in different cohorts of hemophilia A patients. **Blood**, v. 121, n. 6, p. 1039-1048, Feb. 2013.

WIEBECKE, D. *et al.* Zur Geschichte der Transfusionsmedizin in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts (unter besonderer Berücksichtigung ihrer Entwicklung in Deutschland). **Transfusion Medicine and Hemotherapy**, v. 31, p. 12-31, 2004. Suppl. 2.

WIGHT, J.; PAISLEY, S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A : a systematic review. **Haemophilia: The Official Journal of The World Federation of Hemophilia**, v. 9, n. 4, p. 418-435, 2003.

WITMER, C. *et al.* Associations between intracranial haemorrhage and prescribed prophylaxis in a large cohort of haemophilia patients in the United States. **British journal of haematology**, v. 152, n. 2, p. 211-216, Jan. 2011.

WOOD, W. I. *et al.* Expression of active human factor VIII from recombinant DNA clones. **Nature**, v. 312, n. 5992, p. 330-337, Nov. 1984.

WORLD FEDERATION OF HEMOPHILIA. **Annual Global Survey**. Montréal, 2020. Disponível em: <https://www.wfh.org/en/our-work-research-data/annual-global-survey>. Acesso em: 29 dez. 2021.

WROBLEWSKA, A. *et al.* Modification of an exposed loop in the C1 domain reduces immune responses to factor VIII in hemophilia A mice. **Blood**, v. 119, n. 22, p. 5294-5300, May 2012.

WYSEURE, T. *et al.* Defective TAFI activation in hemophilia A mice is a major contributor to joint bleeding. **Blood**, v. 132, n. 15, p. 1593-1603, Oct. 2018.

YI, S. *et al.* A novel splicing mutation in F8 causes various aberrant transcripts in a hemophilia A patient and identifies a new transcript from healthy individuals. **Blood coagulation & fibrinolysis: an international journal in haemostasis and thrombosis**, v. 31, n. 8, p. 506-510, Dec. 2020.

YOSHIMURA, T. *et al.* Longitudinal profiling of anti-factor VIII antibodies in Japanese patients with congenital hemophilia A during factor VIII replacement and immune-tolerance induction therapy. **International Journal of Hematology**, May 2022. No prelo. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12185-022-03359-z>. Acesso em: 21 maio 2022.

YOUNG, G. *et al.* A multicenter, open-label phase 3 study of emicizumab prophylaxis in children with hemophilia A with inhibitors. **Blood**, v. 134, n. 24, p. 2127-2138, 2019.

ZANON, E. *et al.* Intracranial haemorrhage in the Italian population of haemophilia patients with and without inhibitors. **Haemophilia**, v. 18, n. 1, p. 39-45, Jan. 2012.

ZANON, E.; PASCA, S. Intracranial haemorrhage in children and adults with haemophilia A and B: a literature review of the last 20 years. **Blood transfusion = Trasfusione del sangue**, v. 17, n. 5, p. 378-384, Sep. 2019.

ZHAI, J. *et al.* Surgical management of hemophilic pseudotumor complicated by destructive osteoarthropathy. **Blood coagulation & fibrinolysis: an international journal in haemostasis and thrombosis**, v. 26, n. 4, p. 373-377, Jun. 2015.

ZHOU, Z. Y.; HAY, J. W. Efficacy of Bypassing Agents in Patients With Hemophilia and Inhibitors: A **Systematic Review and Meta-Analysis**. **Clinical Therapeutics**, v. 34, n. 2, p. 434-445, Feb. 2012.

ZWAGEMAKER, A. F. *et al.* Incidence and mortality rates of intracranial hemorrhage in hemophilia: a systematic review and meta-analysis. **Blood**, Aug. 2021. No prelo. Disponível em: <https://doi.org/10.1182/blood.2021011849>. Acesso em: 29 dez. 2021.

APÊNDICES

Apêndice A – TALE 6-12 anos em tratamento

Página 1 de 2

TCLE - TERMO DE ASSENTIMENTO PARA PESQUISA CIENTÍFICA (PACIENTE ENTRE 6 A 12 ANOS QUE JÁ PARTICIPA DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Gostaríamos de convidar você para participar de um projeto de pesquisa. Seu responsável será informado sobre esse estudo e deverá também autorizar a sua participação. Você só participa deste estudo se você quiser. Você e seus responsáveis não terão nenhum gasto com a participação no estudo. Vocês têm o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que têm direito em seu centro de tratamento.

Você tem hemofilia A e participa do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Nem todo mundo consegue ficar sem inibidores após o tratamento de imunotolerância e queremos entender porque isso acontece. Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no seu sangue e consultar seus prontuários, onde o médico anota informações sobre você sempre que você vem para uma consulta.



Se você concordar em participar deste estudo, você será solicitado a ceder um pouco de sangue (10ml) para exames no laboratório quando terminar o seu tratamento. A amostra de sangue coletada será utilizada para dosagens de substâncias envolvidas na proteção do seu organismo e também para tentarmos melhorar o seu diagnóstico de hemofilia. Os resultados dos testes serão dados aos seus responsáveis pelo médico. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa). Além disso, existe o risco de que as suas informações sejam divulgadas sem permissão dos pesquisadores. Para diminuir esses problemas, apenas pessoas treinadas irão coletar seu sangue e verão suas informações. Você tem garantia de indenização caso você tenha algum dano por causa de sua participação na pesquisa. As suas amostras serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. Você não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro.

Você pode consultar seu médico a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do seu médico estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde você recebe seu tratamento. O CEP protege os participantes e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final desse documento.



Este Termo de Assentimento deverá ser rubricado em todas as suas folhas por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto e assinado na última página por vocês. Este Termo de Assentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra para você.

Declaração de assentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu assentimento de livre e espontânea vontade para que eu participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosrioroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábria Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Êça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesa@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice B – TALE 6-12 anos sem tratamento (ainda não iniciou)

Página 1 de 2

TA - TERMO DE ASSENTIMENTO PARA PESQUISA CIENTÍFICA (PACIENTE ENTRE 6 E 12 ANOS QUE IRÁ PARTICIPAR DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Queremos convidar você para participar de um projeto de pesquisa. Seu responsável será informado sobre esse estudo e deverá também autorizar a sua participação. Você só participa deste estudo se você quiser. Você e seus responsáveis não terão nenhum gasto com a participação no estudo. Vocês têm o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que têm direito em seu centro de tratamento.

Você tem hemofilia A e vai participar do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Nem todo mundo consegue ficar sem inibidores após o tratamento de imunotolerância e queremos entender porque isso acontece. Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no seu sangue e consultar seus os prontuários, onde o médico anota informações sobre você sempre que você vem para uma consulta.



Se você concordar em participar deste estudo, você será solicitado a ceder um pouco de sangue (20mL) para exames no laboratório. Você vai coletar 10mL antes de começar o tratamento e mais 10mL só quando terminar o tratamento. As amostras de sangue coletadas serão utilizadas para dosagens de substâncias envolvidas na proteção do seu organismo e também para tentarmos melhorar o seu diagnóstico de hemofilia. Os resultados dos testes serão dados aos seus responsáveis pelo médico. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa). Além disso, existe o risco de que as suas informações sejam divulgadas sem permissão dos pesquisadores. Para diminuir esses problemas, apenas pessoas treinadas irão coletar seu sangue e verão suas informações. Você tem garantia de indenização caso você tenha algum dano por causa de sua participação na pesquisa. As suas amostras serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. Você não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro.

Você pode consultar seu médico a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do seu médico estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde você recebe seu tratamento. O CEP protege os participantes e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final desse documento.

Este Termo de Assentimento deverá ser rubricado em todas as suas folhas por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto e assinado na última página por vocês. Este Termo de Assentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra para você.



Declaração de assentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu assentimento de livre e espontânea vontade para que eu participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosrioroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábila Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro..

Apêndice C – TALE 6-12 anos (já concluiu o tratamento)

Página 1 de 2

TA - TERMO DE ASSENTIMENTO PARA PESQUISA CIENTÍFICA (PACIENTE ENTRE 6 E 12 ANOS QUE JÁ PARTICIPOU DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Queremos convidar você para participar de um projeto de pesquisa. Seu responsável será informado sobre esse estudo e deverá também autorizar a sua participação. Você só participa deste estudo se você quiser. Você e seus responsáveis não terão nenhum gasto com a participação no estudo. Vocês têm o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que têm direito em seu centro de tratamento.

Você tem hemofilia A e participou do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Nem todo mundo consegue ficar sem inibidores após o tratamento de imunotolerância e queremos entender porque isso acontece. Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no seu sangue e consultar seus os prontuários, onde o médico anota informações sobre você sempre que você vem para uma consulta.



Se você concordar em participar deste estudo, você será solicitado a ceder um pouco de sangue (10mL) para exames no laboratório. As amostras de sangue coletadas serão utilizadas para dosagens de substâncias envolvidas na proteção do seu organismo e também para tentarmos melhorar o seu diagnóstico de hemofilia. Os resultados dos testes serão dados aos responsáveis pelo médico. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa). Além disso, existe o risco de que as suas informações sejam

divulgadas sem permissão dos pesquisadores. Para diminuir esses problemas, apenas pessoas treinadas irão coletar seu sangue e verão suas informações. Você tem garantia de indenização caso você tenha algum dano por causa de sua participação na pesquisa. As suas amostras serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. Você não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro.

Você pode consultar seu médico a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do seu médico estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde você recebe seu tratamento. O CEP protege os participantes e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final desse documento.

Este Termo de Assentimento deverá ser rubricado em todas as suas folhas por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto e assinado na última página por vocês. Este Termo de Assentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra para você.



Declaração de assentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu assentimento de livre e espontânea vontade para que eu participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosrioroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábila Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice D – TALE 13-17 anos em tratamento

Página 1 de 3

TA - TERMO DE ASSENTIMENTO PARA PESQUISA CIENTÍFICA(PACIENTE ENTRE 12 A 17 ANOS QUE JÁ PARTICIPA DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Gostaríamos de convidar você para participar de um projeto de pesquisa. Seu responsável será informado sobre esse estudo e deverá também autorizar a sua participação. A participação neste estudo é voluntária. Você e seus responsáveis não terão nenhum gasto com a participação no estudo. Vocês têm o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que têm direito em seu centro de tratamento.

Você tem hemofilia A e participa do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Os inibidores são anticorpos contra o fator VIII presente no concentrado que você recebe para tratar a hemofilia. Os anticorpos são uma defesa do organismo e fazem parte do nosso sistema imunológico, mas nesse caso eles podem atrapalhar o tratamento dos pacientes. Nem todo mundo desenvolve esses anticorpos, e alguns pacientes não têm sucesso no tratamento de imunotolerância. Ainda não se sabe por que alguns pacientes respondem e outros não respondem ao tratamento, e queremos entender porque isso acontece.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A e o papel do DNA (molécula herdada dos seus pais) no desenvolvimento desses anticorpos. O DNA de cada pessoa é composto por quatro letras (A,T,C e G) chamados nucleotídeos. A sequência dessas letras forma palavras (genes), e essas palavras determinam quais serão as proteínas fabricadas pelo nosso corpo. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no seu sangue e consultar os seus prontuários, onde o médico anota informações sobre você sempre que comparece para uma consulta.

Se você concordar em participar deste estudo, você será solicitado a ceder um pouco de sangue (10mL) para exames laboratoriais quando terminar o tratamento de imunotolerância. Este material será separado e estocado no laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Pesquisa no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação Hemominas e será usado apenas para os fins propostos nesta pesquisa. A amostra de sangue coletada será utilizada para dosagens de moléculas envolvidas na resposta imune (anticorpos, citocinas e micropartículas). Também será utilizada para analisar regiões específicas do DNA que podem estar envolvidas com o desenvolvimento de inibidores. Essas regiões contêm informações de: I) genes que participam normalmente da regulação do nosso sistema imunológico, II) genes responsáveis por transporte de substâncias entre as células, III) regiões próximas a esses genes que podem ser importantes (como as que determinam a quantidade que produzimos dessas proteínas, e o gene da lactase, que digere o açúcar do leite que bebemos), assim como IV) marcadores que podem nos dizer o tanto de DNA de europeus, africanos e índios que herdamos dos nossos pais e avós. Também queremos analisar quais mutações (letras diferentes) existem no gene do fator VIII (responsável por sua doença) e de outro fator de coagulação, o von Willebrand. Uma parte da sua amostra será enviada para o Laboratório Multiusuário de Genômica da Universidade Federal de Minas Gerais, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Lá eles farão as análises do seu DNA por uma técnica chamada sequenciamento, definindo em detalhes toda a sequência de letras e palavras dessas regiões. A amostra excedente será descartada após as análises genéticas pela equipe responsável pelo Laboratório Multiusuário de Genômica. Outra parte da sua amostra ficará armazenada na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, sob os cuidados da Professora Suely Meireles Rezende. Na Faculdade de Medicina também poderemos realizar o sequenciamento do DNA ou a

técnica de genotipagem (que procura apenas por letras específicas) para confirmar as mutações encontradas no Laboratório Multiusuário de Genômica, ou complementar as análises que não funcionaram.

Ao aceitar participar deste projeto, você também autoriza a consulta do seu prontuário médico pela equipe de pesquisadores. Os pesquisadores consultarão os registros (prontuários) para conhecer e analisar dados como (I) a sua idade quando do início do tratamento, (II) quantidade de FVIII infundido em você, (III) motivo da infusão de FVIII, (IV) tipo de FVIII utilizado no seu tratamento, (V) histórico das suas dosagens de inibidor, (VI) seu pico histórico de inibidores em Unidades de Bethesda/mL e (VII) quantidade e tipos hemorragias que você teve durante o tratamento. Os resultados dos testes genéticos, quando disponíveis, serão repassados a você pelo médico do estudo e anexados ao prontuário. Os resultados de análise do sistema imunológico não serão repassados a você, pois eles não alteram o seu tratamento. Mesmo assim, caso você tenha interesse, você pode solicitar os resultados à equipe do projeto de pesquisa. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa no local da punção) e quebra de confidencialidade. Para minimizar esses riscos, apenas profissional técnico treinado fará a coleta da amostra. Além disso, apenas pesquisadores autorizados e treinados terão acesso ao seu prontuário. As suas amostras serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. Você não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro. Os seus dados genéticos serão mantidos em sigilo pela equipe da pesquisa e não repassaremos essas informações para outras pessoas. Os resultados dos exames genéticos não serão fornecidos a terceiros como, por exemplo: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Vamos garantir a privacidade dos dados. As suas informações ficarão protegidas em computadores com senha e os dados serão codificados para que você não seja identificado. Você tem garantia de aconselhamento genético ao final do estudo, e pode nos procurar caso queira esclarecimentos sobre os dados genéticos. Você tem direito de receber os resultados dos seus exames genéticos, bastando solicitá-los à equipe do projeto.

Você não será identificado quando o sangue coletado ou os registros médicos forem utilizados, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este Termo de Assentimento, você autoriza a leitura e acompanhamento dos seus prontuários médicos. Na divulgação dos resultados, o seu nome não será mostrado, garantindo a você sigilo e privacidade. Você tem garantia de ressarcimento de suas despesas (transporte, alimentação, etc.) caso compareça ao centro de tratamento para fins exclusivos da pesquisa. Você tem garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Depois que você for incluído na pesquisa, caso você queira desistir da sua participação, você deve informar a equipe do projeto por escrito, em documento assinado. Caso desista de participar, as amostras serão descartadas. As suas amostras ficarão armazenadas na Universidade Federal de Minas Gerais e na Fundação Hemominas e poderão, no futuro, serem utilizadas para outros testes. Caso isso aconteça, um novo projeto de pesquisa será submetido para análise pelo sistema CEP-CONEP e um novo assentimento deverá ser assinado. Não realizaremos nenhuma análise nas suas amostras sem seu assentimento.

Você pode consultar seu médico a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do seu médico estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde recebe tratamento. O CEP protege os participantes de pesquisa e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final deste documento.

Este Termo de Assentimento deverá ser rubricado em todas as folhas e assinado na última folha por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto. Este Termo de Assentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra do participante.

Declaração de assentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu assentimento de livre e espontânea vontade para que eu participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosrioroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábila Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice E – TALE 13-17 anos sem tratamento

Página 1 de 3

TA - TERMO DE ASSENTIMENTO PARA PESQUISA CIENTÍFICA(PACIENTE ENTRE 12 A 17 ANOS QUE IRÁ PARTICIPAR DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Gostaríamos de convidar você para participar de um projeto de pesquisa. Seu responsável será informado sobre esse estudo e deverá também autorizar a sua participação. A participação neste estudo é voluntária. Você e seus responsáveis não terão nenhum gasto com a participação no estudo. Vocês têm o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que têm direito em seu centro de tratamento.

Você tem hemofilia A e irá participar do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Os inibidores são anticorpos contra o fator VIII presente no concentrado que você recebe para tratar a hemofilia. Os anticorpos são uma defesa do organismo e fazem parte do nosso sistema imunológico, mas nesse caso eles podem atrapalhar o tratamento dos pacientes. Nem todo mundo desenvolve esses anticorpos, e alguns pacientes não têm sucesso no tratamento de imunotolerância. Ainda não se sabe por que alguns pacientes respondem e outros não respondem ao tratamento, e queremos entender porque isso acontece.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A e o papel do DNA (molécula herdada dos seus pais) no desenvolvimento desses anticorpos. O DNA de cada pessoa é composto por quatro letras (A,T,C e G) chamados nucleotídeos. A sequência dessas letras forma palavras (genes), e essas palavras determinam quais serão as proteínas fabricadas pelo nosso corpo. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no seu sangue e consultar os seus prontuários, onde o médico anota informações sobre você sempre que comparece para uma consulta.

Se você concordar em participar deste estudo, você será solicitado a ceder um pouco de sangue (20mL) para exames laboratoriais. Serão feitas duas coletas de sangue: uma antes de iniciar o tratamento de imunotolerância (10mL) e outra no final do tratamento (10mL). Este material será separado e estocado no laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Pesquisa no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação Hemominas e será usado apenas para os fins propostos nesta pesquisa. A amostra de sangue coletada será utilizada para dosagens de moléculas envolvidas na resposta imune (anticorpos, citocinas e micropartículas). Também será utilizada para analisar regiões específicas do DNA que podem estar envolvidas com o desenvolvimento de inibidores. Essas regiões contêm informações de: I) genes que participam normalmente da regulação do nosso sistema imunológico, II) genes responsáveis por transporte de substâncias entre as células, III) regiões próximas a esses genes que podem ser importantes (como as que determinam a quantidade que produzimos dessas proteínas, e o gene da lactase, que digere o açúcar do leite que bebemos), assim como IV) marcadores que podem nos dizer o tanto de DNA de europeus, africanos e índios que herdamos dos nossos pais e avós. Também queremos analisar quais mutações (letras diferentes) existem no gene do fator VIII (responsável por sua doença) e de outro fator de coagulação, o von Willebrand. Uma parte da sua amostra será enviada para o Laboratório Multiusuário de Genômica da Universidade Federal de Minas Gerais, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Lá eles farão as análises do seu DNA por uma técnica chamada sequenciamento, definindo em detalhes toda a sequência de letras e palavras dessas regiões. A amostra excedente será descartada após as análises genéticas pela equipe responsável pelo Laboratório Multiusuário de Genômica. Outra parte da sua amostra ficará armazenada na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, sob os cuidados da Professora Suely Meireles Rezende. Na Faculdade de Medicina também poderemos realizar o sequenciamento do DNA ou a técnica de genotipagem (que procura apenas por letras

específicas) para confirmar as mutações encontradas no Laboratório Multiusuário de Genômica, ou complementar as análises que não funcionaram.

Ao aceitar participar deste projeto, você também autoriza a consulta do seu prontuário médico pela equipe de pesquisadores. Os pesquisadores consultarão os registros (prontuários) para conhecer e analisar dados como (I) a sua idade quando do início do tratamento, (II) quantidade de FVIII infundido em você, (III) motivo da infusão de FVIII, (IV) tipo de FVIII utilizado no seu tratamento, (V) histórico das suas dosagens de inibidor, (VI) seu pico histórico de inibidores em Unidades de Bethesda/mL e (VII) quantidade e tipos hemorragias que você teve durante o tratamento. Os resultados dos testes genéticos, quando disponíveis, serão repassados a você pelo médico do estudo e anexados ao prontuário. Os resultados de análise do sistema imunológico não serão repassados a você, pois eles não alteram o seu tratamento. Mesmo assim, caso você tenha interesse, você pode solicitar os resultados à equipe do projeto de pesquisa. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa no local da punção) e quebra de confidencialidade. Para minimizar esses riscos, apenas profissional técnico treinado fará a coleta da amostra. Além disso, apenas pesquisadores autorizados e treinados terão acesso ao seu prontuário. As suas amostras serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. Você não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro. Os seus dados genéticos serão mantidos em sigilo pela equipe da pesquisa e não repassaremos essas informações para outras pessoas. Os resultados dos exames genéticos não serão fornecidos a terceiros como, por exemplo: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Vamos garantir a privacidade dos dados. As suas informações ficarão protegidas em computadores com senha e os dados serão codificados para que você não seja identificado. Você tem garantia de aconselhamento genético ao final do estudo, e pode nos procurar caso queira esclarecimentos sobre os dados genéticos. Você tem direito de receber os resultados dos seus exames genéticos, bastando solicitá-los à equipe do projeto.

Você não será identificado quando o sangue coletado ou os registros médicos forem utilizados, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este Termo de Assentimento, você autoriza a leitura e acompanhamento dos seus prontuários médicos. Na divulgação dos resultados, o seu nome não será mostrado, garantindo a você sigilo e privacidade. Você tem garantia de ressarcimento de suas despesas (transporte, alimentação, etc.) caso compareça ao centro de tratamento para fins exclusivos da pesquisa. Você tem garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Depois que você for incluído na pesquisa, caso você queira desistir da sua participação, você deve informar a equipe do projeto por escrito, em documento assinado. Caso desista de participar, as amostras serão descartadas. As suas amostras ficarão armazenadas na Universidade Federal de Minas Gerais e na Fundação Hemominas e poderão, no futuro, serem utilizadas para outros testes. Caso isso aconteça, um novo projeto de pesquisa será submetido para análise pelo sistema CEP-CONEP e um novo assentimento deverá ser assinado. Não realizaremos nenhuma análise nas suas amostras sem seu assentimento.

Você pode consultar seu médico a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do seu médico estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde recebe tratamento. O CEP protege os participantes de pesquisa e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final deste documento.

Este Termo de Assentimento deverá ser rubricado em todas as folhas e assinado na última folha por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto. Este Termo de Assentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra do participante.

Declaração de assentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu assentimento de livre e espontânea vontade para que eu participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosrioroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábila Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice F – TALE 13-17 anos

Página 1 de 3

TA - TERMO DE ASSENTIMENTO PARA PESQUISA CIENTÍFICA (PACIENTE ENTRE 12 A 17 ANOS QUE JÁ FINALIZOU PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Gostaríamos de convidar você para participar de um projeto de pesquisa. Seu responsável será informado sobre esse estudo e deverá também autorizar a sua participação. A participação neste estudo é voluntária. Você e seus responsáveis não terão nenhum gasto com a participação no estudo. Vocês têm o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que têm direito em seu centro de tratamento.

Você tem hemofilia A e participou do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Os inibidores são anticorpos contra o fator VIII presente no concentrado que você recebe para tratar a hemofilia. Os anticorpos são uma defesa do organismo e fazem parte do nosso sistema imunológico, mas nesse caso eles podem atrapalhar o tratamento dos pacientes. Nem todo mundo desenvolve esses anticorpos, e alguns pacientes não têm sucesso no tratamento de imunotolerância. Ainda não se sabe por que alguns pacientes respondem e outros não respondem ao tratamento, e queremos entender porque isso acontece.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A e o papel do DNA (molécula herdada dos seus pais) no desenvolvimento desses anticorpos. O DNA de cada pessoa é composto por quatro letras (A,T,C e G) chamados nucleotídeos. A sequência dessas letras forma palavras (genes), e essas palavras determinam quais serão as proteínas fabricadas pelo nosso corpo. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no seu sangue e consultar os seus prontuários, onde o médico anota informações sobre você sempre que comparece para uma consulta.

Se você concordar em participar deste estudo, você será solicitado a ceder um pouco de sangue (10mL) para exames laboratoriais. Este material será separado e estocado no laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Pesquisa no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação Hemominas e será usado apenas para os fins propostos nesta pesquisa. A amostra de sangue coletada será utilizada para dosagens de moléculas envolvidas na resposta imune (anticorpos, citocinas e micropartículas). Também será utilizada para analisar regiões específicas do DNA que podem estar envolvidas com o desenvolvimento de inibidores. Essas regiões contêm informações de: I) genes que participam normalmente da regulação do nosso sistema imunológico, II) genes responsáveis por transporte de substâncias entre as células, III) regiões próximas a esses genes que podem ser importantes (como as que determinam a quantidade que produzimos dessas proteínas, e o gene da lactase, que digere o açúcar do leite que bebemos), assim como IV) marcadores que podem nos dizer o tanto de DNA de europeus, africanos e índios que herdamos dos nossos pais e avós. Também queremos analisar quais mutações (letras diferentes) existem no gene do fator VIII (responsável por sua doença) e de outro fator de coagulação, o von Willebrand. Uma parte da sua amostra será enviada para o Laboratório Multiusuário de Genômica da Universidade Federal de Minas Gerais, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Lá eles farão as análises do seu DNA por uma técnica chamada sequenciamento, definindo em detalhes toda a sequência de letras e palavras dessas regiões. A amostra excedente será descartada após as análises genéticas pela equipe responsável pelo Laboratório Multiusuário de Genômica. Outra parte da sua amostra ficará armazenada na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, sob os cuidados da Professora Suely Meireles Rezende. Na Faculdade de Medicina também poderemos realizar o sequenciamento do DNA ou a técnica de genotipagem (que procura apenas por letras

específicas) para confirmar as mutações encontradas no Laboratório Multiusuário de Genômica, ou complementar as análises que não funcionaram.

Ao aceitar participar deste projeto, você também autoriza a consulta do seu prontuário médico pela equipe de pesquisadores. Os pesquisadores consultarão os registros (prontuários) para conhecer e analisar dados como (I) a sua idade quando do início do tratamento, (II) quantidade de FVIII infundido em você, (III) motivo da infusão de FVIII, (IV) tipo de FVIII utilizado no seu tratamento, (V) histórico das suas dosagens de inibidor, (VI) seu pico histórico de inibidores em Unidades de Bethesda/mL e (VII) quantidade e tipos hemorragias que você teve durante o tratamento. Os resultados dos testes genéticos, quando disponíveis, serão repassados a você pelo médico do estudo e anexados ao prontuário. Os resultados de análise do sistema imunológico não serão repassados a você, pois eles não alteram o seu tratamento. Mesmo assim, caso você tenha interesse, você pode solicitar os resultados à equipe do projeto de pesquisa. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa no local da punção) e quebra de confidencialidade. Para minimizar esses riscos, apenas profissional técnico treinado fará a coleta da amostra. Além disso, apenas pesquisadores autorizados e treinados terão acesso ao seu prontuário. As suas amostras serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. Você não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro. Os seus dados genéticos serão mantidos em sigilo pela equipe da pesquisa e não repassaremos essas informações para outras pessoas. Os resultados dos exames genéticos não serão fornecidos a terceiros como, por exemplo: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Vamos garantir a privacidade dos dados. As suas informações ficarão protegidas em computadores com senha e os dados serão codificados para que você não seja identificado. Você tem garantia de aconselhamento genético ao final do estudo, e pode nos procurar caso queira esclarecimentos sobre os dados genéticos. Você tem direito de receber os resultados dos seus exames genéticos, bastando solicitá-los à equipe do projeto.

Você não será identificado quando o sangue coletado ou os registros médicos forem utilizados, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este Termo de Assentimento, você autoriza a leitura e acompanhamento dos seus prontuários médicos. Na divulgação dos resultados, o seu nome não será mostrado, garantindo a você sigilo e privacidade. Você tem garantia de ressarcimento de suas despesas (transporte, alimentação, etc.) caso compareça ao centro de tratamento para fins exclusivos da pesquisa. Você tem garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Depois que você for incluído na pesquisa, caso você queira desistir da sua participação, você deve informar a equipe do projeto por escrito, em documento assinado. Caso desista de participar, as amostras serão descartadas. As suas amostras ficarão armazenadas na Universidade Federal de Minas Gerais e na Fundação Hemominas e poderão, no futuro, serem utilizadas para outros testes. Caso isso aconteça, um novo projeto de pesquisa será submetido para análise pelo sistema CEP-CONEP e um novo assentimento deverá ser assinado. Não realizaremos nenhuma análise nas suas amostras sem seu assentimento.

Você pode consultar seu médico a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do seu médico estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde recebe tratamento. O CEP protege os participantes de pesquisa e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final deste documento.

Este Termo de Assentimento deverá ser rubricado em todas as folhas e assinado na última folha por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto. Este Termo de Assentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra do participante.

Declaração de assentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu assentimento de livre e espontânea vontade para que eu participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosrioroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábía Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice G – TCLE paciente adulto, em tratamento

Página 1 de 3

TCLE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA CIENTÍFICA (ADULTO QUE JÁ PARTICIPA DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Vimos pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido convidar você a participar de um projeto de pesquisa. A participação neste estudo é voluntária. Você não terá nenhum gasto com a participação no estudo. Você tem o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que tem direito em seu centro de tratamento.

Você tem hemofilia A e participa do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Os inibidores são anticorpos contra o fator VIII presente no concentrado que você recebe para tratar a hemofilia. Os anticorpos são uma defesa do organismo e fazem parte do seu sistema imunológico, mas nesse caso eles podem atrapalhar o tratamento dos pacientes. Nem todo mundo desenvolve esses anticorpos, e alguns pacientes não têm sucesso no tratamento de imunotolerância. Ainda não se sabe por que alguns pacientes respondem e outros não respondem ao tratamento, e queremos entender porque isso acontece.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A e o papel do DNA (molécula herdada dos seus pais) no desenvolvimento desses anticorpos. O DNA de cada pessoa é composto por quatro letras (A, T, C e G) chamados nucleotídeos. A sequência dessas letras forma palavras (genes), e essas palavras determinam quais serão as proteínas fabricadas pelo nosso corpo. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no seu sangue e consultar seus prontuários, onde o médico anota informações sobre você sempre que você vem para uma consulta.

Se você concordar em participar deste estudo, você será solicitado a ceder um pouco de sangue (10mL) para exames laboratoriais quando terminar o tratamento de imunotolerância. Este material será separado e estocado no laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Pesquisa no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação Hemominas e será usado apenas para os fins propostos nesta pesquisa. A amostra de sangue coletada será utilizada para dosagens de moléculas envolvidas na resposta imune (anticorpos, citocinas e micropartículas). Também será utilizada para analisar regiões específicas do DNA que podem estar envolvidas com o desenvolvimento de inibidores. Essas regiões contêm informações de: I) genes que participam normalmente da regulação do nosso sistema imunológico, II) genes responsáveis por transporte de substâncias entre as células, III) regiões próximas a esses genes que podem ser importantes (como as que determinam a quantidade que produzimos dessas proteínas, e o gene da lactase, que digere o açúcar do leite que bebemos), assim como IV) marcadores que podem nos dizer o tanto de DNA de europeus, africanos e índios que herdamos dos nossos pais e avós. Também queremos analisar quais mutações (letras diferentes) existem no gene do fator VIII (responsável por sua doença) e de outro fator de coagulação, o von Willebrand. Uma parte da sua amostra será enviada para o Laboratório Multiusuário de Genômica da Universidade Federal de Minas Gerais, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Lá eles farão as análises do seu DNA por uma técnica chamada sequenciamento, definindo em detalhes toda a sequência de letras e palavras dessas regiões. A amostra excedente será descartada após as análises genéticas pela equipe responsável pelo Laboratório Multiusuário de Genômica. Outra parte da sua amostra ficará armazenada na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, sob os cuidados da Professora Suely Meireles Rezende. Na Faculdade de Medicina também poderemos realizar o sequenciamento do DNA ou a técnica de genotipagem (que procura apenas por letras específicas) para confirmar as mutações encontradas no Laboratório Multiusuário de Genômica, ou complementar as análises que não funcionaram.

Ao aceitar participar deste projeto, você também autoriza a consulta do seu prontuário médico pela equipe de pesquisadores. Os pesquisadores consultarão os registros (prontuários) para conhecer e analisar dados como (I) sua idade quando do início do tratamento, (II) quantidade de FVIII infundido em você, (III) motivo da infusão de FVIII, (IV) tipo de FVIII utilizado no seu tratamento, (V) histórico de suas dosagens de inibidor, (VI) seu pico histórico de inibidores em Unidades de Bethesda/mL e (VII) quantidade e tipos de hemorragias que você teve durante o tratamento. Os resultados dos testes genéticos, quando disponíveis, serão repassados a você pelo médico do estudo e anexados ao prontuário. Os resultados de análise do sistema imunológico não serão repassados a você, pois eles não alteram o seu tratamento. Mesmo assim, caso você tenha interesse, você pode solicitar os resultados à equipe do projeto de pesquisa. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa no local da punção) e quebra de confidencialidade. Para minimizar esses riscos, apenas profissional técnico treinado fará a coleta da amostra. Além disso, apenas pesquisadores autorizados e treinados terão acesso ao seu prontuário. As suas amostras serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. Você não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro. Os seus dados genéticos serão mantidos em sigilo pela equipe da pesquisa e não repassaremos essas informações para outras pessoas. Os resultados dos exames genéticos não serão fornecidos a terceiros como, por exemplo: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Vamos garantir a privacidade dos seus dados. Suas informações ficarão protegidas em computadores com senha e os seus dados serão codificados para que você não seja identificado. Você tem garantia de aconselhamento genético ao final do estudo, e pode nos procurar caso queira esclarecimentos sobre seus dados genéticos. Você tem direito de receber os resultados dos seus exames genéticos, bastando solicitá-los à equipe do projeto.

Você não será identificado quando o sangue coletado ou os registros médicos forem utilizados, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este consentimento informado, você autoriza a leitura e acompanhamento dos seus prontuários médicos. Na divulgação dos resultados, o seu nome não será mostrado, garantindo a você sigilo e privacidade. Você terá garantia de ressarcimento de suas despesas (transporte, alimentação, etc.) caso compareça ao centro de tratamento para fins exclusivos da pesquisa. Você tem garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Depois que você for incluído na pesquisa, caso você queira desistir da sua participação, você deve informar a equipe do projeto por escrito, em documento assinado. Caso desista de participar suas amostras serão descartadas. Suas amostras ficarão armazenadas na Universidade Federal de Minas Gerais e na Fundação Hemominas e poderão, no futuro, serem utilizadas para outros testes. Caso isso aconteça, um novo projeto de pesquisa será submetido para análise pelo sistema CEP-CONEP e um novo consentimento deverá ser assinado. Não realizaremos nenhuma análise em suas amostras sem seu consentimento.

Você pode consultar seu médico a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do seu médico estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde você recebe seu tratamento. O CEP protege os participantes e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final desse documento.

Este Termo de Consentimento deverá ser rubricado em todas as folhas e assinado na última folha por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto. Este Termo de Consentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra do participante.

Declaração de consentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para que eu participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosrioroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábía Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice H – TCLE paciente adulto, sem tratamento

Página 1 de 3

TCLE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA CIENTÍFICA (ADULTO QUE IRÁ PARTICIPAR DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Vimos pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido convidar você a participar de um projeto de pesquisa. A participação neste estudo é voluntária. Você não terá nenhum gasto com a participação no estudo. Você tem o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que tem direito em seu centro de tratamento.

Você tem hemofilia A e irá participar do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Os inibidores são anticorpos contra o fator VIII presente no concentrado que você recebe para tratar a hemofilia. Os anticorpos são uma defesa do organismo e fazem parte do seu sistema imunológico, mas nesse caso eles podem atrapalhar o tratamento dos pacientes. Nem todo mundo desenvolve esses anticorpos, e alguns pacientes não têm sucesso no tratamento de imunotolerância e ainda não se sabe por que alguns pacientes respondem e outros não respondem ao tratamento e queremos entender porque isso acontece.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A e o papel do DNA (molécula herdada dos seus pais) no desenvolvimento desses anticorpos. O DNA de cada pessoa é composto por quatro letras (A, T, C e G) chamados nucleotídeos. A sequência dessas letras forma palavras (genes), e essas palavras determinam quais serão as proteínas fabricadas pelo nosso corpo. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no seu sangue e consultar seus prontuários, onde o médico anota informações sobre você sempre que você vem para uma consulta.

Se você concordar em participar deste estudo, você será solicitado a ceder um pouco de sangue (20mL). Serão feitas duas coletas de sangue: uma antes de iniciar o tratamento de imunotolerância (10mL) e outra no final do tratamento (10mL). Este material será separado e estocado no laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Pesquisa no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação Hemominas e será usado apenas para os fins propostos nesta pesquisa. A amostra de sangue coletada será utilizada para dosagens de moléculas envolvidas na resposta imune (anticorpos, citocinas e micropartículas). Também será utilizada para analisar regiões específicas do DNA que podem estar envolvidas com o desenvolvimento de inibidores. Essas regiões contêm informações de: I) genes que participam normalmente da regulação do nosso sistema imunológico, II) genes responsáveis por transporte de substâncias entre as células, III) regiões próximas a esses genes que podem ser importantes (como as que determinam a quantidade que produzimos dessas proteínas, e o gene da lactase, que digere o açúcar do leite que bebemos), assim como IV) marcadores que podem nos dizer o tanto de DNA de europeus, africanos e índios que herdamos dos nossos pais e avós. Também queremos analisar quais mutações (letras diferentes) existem no gene do fator VIII (responsável por sua doença) e de outro fator de coagulação, o von Willebrand. Uma parte da sua amostra será enviada para o Laboratório Multiusuário de Genômica da Universidade Federal de Minas Gerais, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Lá eles farão as análises do seu DNA por uma técnica chamada sequenciamento, definindo em detalhes toda a sequência de letras e palavras dessas regiões. A amostra excedente será descartada após as análises genéticas pela equipe responsável pelo Laboratório Multiusuário de Genômica. Outra parte da sua amostra ficará armazenada na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, sob os cuidados da Professora Suely Meireles Rezende. Na Faculdade de Medicina também poderemos realizar o sequenciamento do DNA ou a técnica de genotipagem (que procura apenas por letras

específicas) para confirmar as mutações encontradas no Laboratório Multiusuário de Genômica, ou complementar as análises que não funcionaram.

Ao aceitar participar deste projeto, você também autoriza a consulta do seu prontuário médico pela equipe de pesquisadores. Os pesquisadores consultarão os registros (prontuários) para conhecer e analisar dados como (I) a sua idade quando do início do tratamento, (II) quantidade de FVIII infundido em você, (III) motivo da infusão de FVIII, (IV) tipo de FVIII utilizado no seu tratamento, (V) histórico das suas dosagens de inibidor, (VI) seu pico histórico de inibidores em Unidades de Bethesda/mL e (VII) quantidade e tipos de hemorragias que você teve durante o tratamento. Os resultados dos testes genéticos, quando disponíveis, serão repassados a você pelo médico do estudo e anexados ao seu prontuário. Os resultados de análise do sistema imunológico não serão repassados a você, pois eles não alteram o seu tratamento. Mesmo assim, caso você tenha interesse, você pode solicitar os resultados à equipe do projeto de pesquisa. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa no local da punção) e quebra de confidencialidade. Para minimizar esses riscos, apenas profissional técnico treinado fará as coletas das suas amostras. Além disso, apenas pesquisadores autorizados e treinados terão acesso ao seu prontuário. As suas amostras serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. Você não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro. Os seus dados genéticos serão mantidos em sigilo pela equipe da pesquisa e não repassaremos essas informações para outras pessoas. Os resultados dos exames genéticos não serão fornecidos a terceiros como, por exemplo: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Vamos garantir a privacidade dos seus dados. Suas informações ficarão protegidas em computadores com senha e os seus dados serão codificados para que você não seja identificado. Você tem garantia de aconselhamento genético ao final do estudo, e pode nos procurar caso queira esclarecimentos sobre seus dados genéticos. Você tem direito de receber os resultados dos seus exames genéticos, bastando solicitá-los à equipe do projeto.

Você não será identificado quando o sangue coletado ou os registros médicos forem utilizados, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este consentimento informado, você autoriza a leitura e acompanhamento dos seus prontuários médicos. Na divulgação dos resultados, o seu nome não será mostrado, garantindo a você sigilo e privacidade. Você terá garantia de ressarcimento de suas despesas (transporte, alimentação, etc.) caso compareça ao centro de tratamento para fins exclusivos da pesquisa. Você tem garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Depois que você for incluído na pesquisa, caso você queira desistir da sua participação, você deve informar a equipe do projeto por escrito, em documento assinado. Caso desista de participar suas amostras serão descartadas. Suas amostras ficarão armazenadas na Universidade Federal de Minas Gerais e na Fundação Hemominas e poderão, no futuro, serem utilizadas para outros testes. Caso isso aconteça, um novo projeto de pesquisa será submetido para análise pelo sistema CEP-CONEP e um novo consentimento deverá ser assinado por você. Não realizaremos nenhuma análise em suas amostras sem seu consentimento.

Você pode consultar seu médico a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do seu médico estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde você recebe seu tratamento. O CEP protege os participantes e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final desse documento.

Este Termo de Consentimento deverá ser rubricado em todas as folhas e assinado na última folha por você pelo pesquisador responsável pelo projeto. Este Termo de Consentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra do participante.

Declaração de consentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para que eu participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosrioroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábila Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice I – TCLE paciente adulto

Página 1 de 3

TCLE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA CIENTÍFICA (ADULTO QUE JÁ REALIZOU PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Vimos pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido convidar você a participar de um projeto de pesquisa. A participação neste estudo é voluntária. Você não terá nenhum gasto com a participação no estudo. Você tem o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que tem direito em seu centro de tratamento.

Você tem hemofilia A e participou do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Os inibidores são anticorpos contra o fator VIII presente no concentrado que você recebe para tratar a hemofilia. Os anticorpos são uma defesa do organismo e fazem parte do seu sistema imunológico, mas nesse caso eles podem atrapalhar o tratamento dos pacientes. Nem todo mundo desenvolve esses anticorpos, e alguns pacientes não têm sucesso no tratamento de imunotolerância. Ainda não se sabe por que alguns pacientes respondem e outros não respondem ao tratamento, e queremos entender porque isso acontece.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A e o papel do DNA (molécula herdada dos seus pais) no desenvolvimento desses anticorpos. O DNA de cada pessoa é composto por quatro letras (A, T, C e G) chamados nucleotídeos. A sequência dessas letras forma palavras (genes), e essas palavras determinam quais serão as proteínas fabricadas pelo nosso corpo. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no seu sangue e consultar seus prontuários, onde o médico anota informações sobre você sempre que você vem para uma consulta.

Se você concordar em participar deste estudo, você será solicitado a ceder um pouco de sangue (10mL) para exames laboratoriais. Este material será separado e estocado no laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Pesquisa no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação Hemominas e será usado apenas para os fins propostos nesta pesquisa. A amostra de sangue coletada será utilizada para dosagens de moléculas envolvidas na resposta imune (anticorpos, citocinas e micropartículas). Também será utilizada para analisar regiões específicas do DNA que podem estar envolvidas com o desenvolvimento de inibidores. Essas regiões contêm informações de: I) genes que participam normalmente da regulação do nosso sistema imunológico, II) genes responsáveis por transporte de substâncias entre as células, III) regiões próximas a esses genes que podem ser importantes (como as que determinam a quantidade que produzimos dessas proteínas, e o gene da lactase, que digere o açúcar do leite que bebemos), assim como IV) marcadores que podem nos dizer o tanto de DNA de europeus, africanos e índios que herdamos dos nossos pais e avós. Também queremos analisar quais mutações (letras diferentes) existem no gene do fator VIII (responsável por sua doença) e de outro fator de coagulação, o von Willebrand. Uma parte da sua amostra será enviada para o Laboratório Multiusuário de Genômica da Universidade Federal de Minas Gerais, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Lá eles farão as análises do seu DNA por uma técnica chamada sequenciamento, definindo em detalhes toda a sequência de letras e palavras dessas regiões. A amostra excedente será descartada após as análises genéticas pela equipe responsável pelo Laboratório Multiusuário de Genômica. Outra parte da sua amostra ficará armazenada na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, sob os cuidados da Professora Suely Meireles Rezende. Na Faculdade de Medicina também poderemos realizar o sequenciamento do DNA ou a técnica de genotipagem (que procura apenas por letras específicas) para confirmar as mutações encontradas no Laboratório Multiusuário de Genômica, ou complementar as análises que não funcionaram.

Ao aceitar participar deste projeto, você também autoriza a consulta do seu prontuário médico pela equipe de pesquisadores. Os pesquisadores consultarão os registros (prontuários) para conhecer e analisar dados como (I) sua idade quando do início do tratamento, (II) quantidade de FVIII infundido em você, (III) motivo da infusão de FVIII, (IV) tipo de FVIII utilizado no seu tratamento, (V) histórico de suas dosagens de inibidor, (VI) seu pico histórico de inibidores em Unidades de Bethesda/mL e (VII) quantidade e tipos de hemorragias que você teve durante o tratamento. Os resultados dos testes genéticos, quando disponíveis, serão repassados a você pelo médico do estudo e anexados ao prontuário. Os resultados de análise do sistema imunológico não serão repassados a você, pois eles não alteram o seu tratamento. Mesmo assim, caso você tenha interesse, você pode solicitar os resultados à equipe do projeto de pesquisa. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa no local da punção) e quebra de confidencialidade. Para minimizar esses riscos, apenas profissional técnico treinado fará a coleta da amostra. Além disso, apenas pesquisadores autorizados e treinados terão acesso ao seu prontuário. As suas amostras serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. Você não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro. Os seus dados genéticos serão mantidos em sigilo pela equipe da pesquisa e não repassaremos essas informações para outras pessoas. Os resultados dos exames genéticos não serão fornecidos a terceiros como, por exemplo: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Vamos garantir a privacidade dos seus dados. Suas informações ficarão protegidas em computadores com senha e os seus dados serão codificados para que você não seja identificado. Você tem garantia de aconselhamento genético ao final do estudo, e pode nos procurar caso queira esclarecimentos sobre seus dados genéticos. Você tem direito de receber os resultados dos seus exames genéticos, bastando solicitá-los à equipe do projeto.

Você não será identificado quando o sangue coletado ou os registros médicos forem utilizados, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este consentimento informado, você autoriza a leitura e acompanhamento dos seus prontuários médicos. Na divulgação dos resultados, o seu nome não será mostrado, garantindo a você sigilo e privacidade. Você terá garantia de ressarcimento de suas despesas (transporte, alimentação, etc.) caso compareça ao centro de tratamento para fins exclusivos da pesquisa. Você tem garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Depois que você for incluído na pesquisa, caso você queira desistir da sua participação, você deve informar a equipe do projeto por escrito, em documento assinado. Caso desista de participar, seus dados não serão incluídos na análise e suas amostras serão descartadas. Suas amostras ficarão armazenadas na Universidade Federal de Minas Gerais e na Fundação Hemominas e poderão, no futuro, serem utilizadas para outros testes. Caso isso aconteça, um novo projeto de pesquisa será submetido para análise pelo sistema CEP-CONEP e um novo consentimento deverá ser assinado. Não realizaremos nenhuma análise em suas amostras sem seu consentimento.

Você pode consultar seu médico a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do seu médico estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde você recebe seu tratamento. O CEP protege os participantes e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final desse documento.

Este Termo de Consentimento deverá ser rubricado em todas as folhas e assinado na última folha por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto. Este Termo de Consentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra do participante.

Declaração de consentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para que eu participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosrioroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábila Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice J – TCLE adulto responsável pela criança, em tratamento

Página 1 de 3

TCLE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA CIENTÍFICA (RESPONSÁVEL POR PACIENTE QUE JÁ PARTICIPA DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Vimos pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido convidar a criança pela qual você é responsável a participar de um projeto de pesquisa. A participação neste estudo é voluntária. Você e a criança não terão nenhum gasto com a participação no estudo. Vocês têm o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que têm direito em seu centro de tratamento.

A criança pela qual você é responsável tem hemofilia A e participa do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Os inibidores são anticorpos contra o fator VIII presente no concentrado que a criança recebe para tratar a hemofilia. Os anticorpos são uma defesa do organismo e fazem parte do nosso sistema imunológico, mas nesse caso eles podem atrapalhar o tratamento dos pacientes. Nem todo mundo desenvolve esses anticorpos, e alguns pacientes não têm sucesso no tratamento de imunotolerância. Ainda não se sabe por que alguns pacientes respondem e outros não respondem ao tratamento, e queremos entender porque isso acontece.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A e o papel do DNA (molécula herdada dos pais) no desenvolvimento desses anticorpos. O DNA de cada pessoa é composto por quatro letras (A, T, C e G) chamados nucleotídeos. A sequência dessas letras forma palavras (genes), e essas palavras determinam quais serão as proteínas fabricadas pelo nosso corpo. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no sangue da criança e consultar os prontuários dela, onde o médico anota informações sobre ela sempre que comparece para uma consulta.

Se vocês concordarem em participar deste estudo, será solicitado que a criança ceda um pouco de sangue (10mL) para exames laboratoriais quando terminar o tratamento de imunotolerância. Caso a criança seja menor de 5 anos, a coleta de sangue será de apenas 5mL. Este material será separado e estocado no laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Pesquisa no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação Hemominas e será usado apenas para os fins propostos nesta pesquisa. A amostra de sangue coletada será utilizada para dosagens de moléculas envolvidas na resposta imune (anticorpos, citocinas e micropartículas). Também será utilizada para analisar regiões específicas do DNA que podem estar envolvidas com o desenvolvimento de inibidores. Essas regiões contêm informações de: I) genes que participam normalmente da regulação do nosso sistema imunológico, II) genes responsáveis por transporte de substâncias entre as células, III) regiões próximas a esses genes que podem ser importantes (como as que determinam a quantidade que produzimos dessas proteínas, e o gene da lactase, que digere o açúcar do leite que bebemos), assim como IV) marcadores que podem nos dizer o tanto de DNA de europeus, africanos e índios que herdamos dos nossos pais e avós. Também queremos analisar quais mutações (letras diferentes) existem no gene do fator VIII (responsável por sua doença) e de outro fator de coagulação, o von Willebrand. Uma parte da amostra será enviada para o Laboratório Multiusuário de Genômica da Universidade Federal de Minas Gerais, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Lá eles farão as análises do DNA por uma técnica chamada sequenciamento, definindo em detalhes toda a sequência de letras e palavras dessas regiões. A amostra excedente será descartada após as análises genéticas pela equipe responsável pelo Laboratório Multiusuário de Genômica. Outra parte da amostra ficará armazenada na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, sob os cuidados da Professora Suely Meireles Rezende. Na Faculdade de Medicina também poderemos realizar o sequenciamento do DNA ou a técnica de genotipagem (que procura apenas por letras

específicas) para confirmar as mutações encontradas no Laboratório Multiusuário de Genômica, ou complementar as análises que não funcionaram.

Ao aceitar participar deste projeto, você também autoriza a consulta do prontuário médico da criança pela equipe de pesquisadores. Os pesquisadores consultarão os registros (prontuários) para conhecer e analisar dados como (I) a idade da criança quando do tratamento, (II) quantidade de FVIII infundido na criança, (III) motivo da infusão de FVIII, (IV) tipo de FVIII utilizado no tratamento da criança, (V) histórico das dosagens de inibidor da criança, (VI) pico histórico de inibidores da criança em Unidades de Bethesda/mL e (VII) quantidade e tipos hemorragias que a criança teve durante o tratamento. Os resultados dos testes genéticos, quando disponíveis, serão repassados a você e a criança pelo médico do estudo e anexados ao prontuário. Os resultados de análise do sistema imunológico não serão repassados a vocês, pois eles não alteram o tratamento da criança. Mesmo assim, caso vocês tenham interesse, vocês podem solicitar os resultados à equipe do projeto de pesquisa. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa no local da punção) e quebra de confidencialidade. Para minimizar esses riscos, apenas profissional técnico treinado fará a coleta da amostra da criança. Além disso, apenas pesquisadores autorizados e treinados terão acesso ao prontuário dela. As amostras da criança serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. A criança não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro. Os dados genéticos da criança serão mantidos em sigilo pela equipe da pesquisa e não repassaremos essas informações para outras pessoas. Os resultados dos exames genéticos não serão fornecidos a terceiros como, por exemplo: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Vamos garantir a privacidade dos dados da criança a qual você é responsável. As informações da criança ficarão protegidas em computadores com senha e os dados serão codificados para que ela não seja identificada. Vocês têm garantia de aconselhamento genético ao final do estudo, e podem nos procurar caso queira esclarecimentos sobre os dados genéticos. A criança tem direito de receber os resultados dos seus exames genéticos, bastando solicitá-los à equipe do projeto.

A criança não será identificada quando o sangue coletado ou os registros médicos forem utilizados, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este consentimento informado, você autoriza a leitura e acompanhamento dos prontuários médicos da criança. Na divulgação dos resultados, o nome da criança não será mostrado, garantindo a ela sigilo e privacidade. Vocês terão garantia de ressarcimento de suas despesas (transporte, alimentação, etc.) caso compareçam ao centro de tratamento para fins exclusivos da pesquisa. Vocês têm garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Depois que a criança for incluída na pesquisa, caso vocês queiram desistir da sua participação, vocês devem informar a equipe do projeto por escrito, em documento assinado. Caso desistam de participar, as amostras serão descartadas. As amostras da criança ficarão armazenadas na Universidade Federal de Minas Gerais e na Fundação Hemominas e poderão, no futuro, serem utilizadas para outros testes. Caso isso aconteça, um novo projeto de pesquisa será submetido para análise pelo sistema CEP-CONEP e um novo consentimento deverá ser assinado. Não realizaremos nenhuma análise nas amostras da criança sem seu consentimento.

Você pode consultar o médico da criança a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do médico da criança estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde a criança recebe tratamento. O CEP protege os participantes de pesquisa e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final deste documento.

Este Termo de Consentimento deverá ser rubricado em todas as folhas e assinado na última folha por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto. Este Termo de Consentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra do responsável pelo participante.

Declaração de consentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para que a criança pela qual sou responsável participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do responsável pelo participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosriroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábila Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice K – TCLE adulto responsável pela criança, sem tratamento

Página 1 de 3

TCLE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA CIENTÍFICA (RESPONSÁVEL POR PACIENTE QUE IRÁ PARTICIPAR DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Vimos pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido convidar a criança pela qual você é responsável a participar de um projeto de pesquisa. A participação neste estudo é voluntária. Você e a criança não terão nenhum gasto com a participação no estudo. Vocês têm o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que têm direito em seu centro de tratamento.

A criança pela qual você é responsável tem hemofilia A e irá participar do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Os inibidores são anticorpos contra o fator VIII presente no concentrado que a criança recebe para tratar a hemofilia. Os anticorpos são uma defesa do organismo e fazem parte do nosso sistema imunológico, mas nesse caso eles podem atrapalhar o tratamento dos pacientes. Nem todo mundo desenvolve esses anticorpos, e alguns pacientes não têm sucesso no tratamento de imunotolerância. Ainda não se sabe por que alguns pacientes respondem e outros não respondem ao tratamento, e queremos entender porque isso acontece.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A e o papel do DNA (molécula herdada dos pais) no desenvolvimento desses anticorpos. O DNA de cada pessoa é composto por quatro letras (A, T, C e G) chamados nucleotídeos. A sequência dessas letras forma palavras (genes), e essas palavras determinam quais serão as proteínas fabricadas pelo nosso corpo. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no sangue da criança e consultar os prontuários dela, onde o médico anota informações sobre ela sempre que comparece para uma consulta.

Se vocês concordarem em participar deste estudo, será solicitado que a criança ceda um pouco de sangue (10mL) para exames laboratoriais. Serão feitas duas coletas de sangue: uma antes de iniciar o tratamento de imunotolerância e outra no final do tratamento. Caso a criança seja menor de 5 anos, a coleta de sangue será de apenas 5mL. Este material será separado e estocado no laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Pesquisa no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação Hemominas e será usado apenas para os fins propostos nesta pesquisa. A amostra de sangue coletada será utilizada para dosagens de moléculas envolvidas na resposta imune (anticorpos, citocinas e micropartículas). Também será utilizada para analisar regiões específicas do DNA que podem estar envolvidas com o desenvolvimento de inibidores. Essas regiões contêm informações de: I) genes que participam normalmente da regulação do nosso sistema imunológico, II) genes responsáveis por transporte de substâncias entre as células, III) regiões próximas a esses genes que podem ser importantes (como as que determinam a quantidade que produzimos dessas proteínas, e o gene da lactase, que digere o açúcar do leite que bebemos), assim como IV) marcadores que podem nos dizer o tanto de DNA de europeus, africanos e índios que herdamos dos nossos pais e avós. Também queremos analisar quais mutações (letras diferentes) existem no gene do fator VIII (responsável por sua doença) e de outro fator de coagulação, o von Willebrand. Uma parte da amostra será enviada para o Laboratório Multiusuário de Genômica da Universidade Federal de Minas Gerais, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Lá eles farão as análises do DNA por uma técnica chamada sequenciamento, definindo em detalhes toda a sequência de letras e palavras dessas regiões. A amostra excedente será descartada após as análises genéticas pela equipe responsável pelo Laboratório Multiusuário de Genômica. Outra parte da amostra ficará armazenada na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, sob os cuidados da Professora Suely Meireles Rezende. Na Faculdade de Medicina também

poderemos realizar o sequenciamento do DNA ou a técnica de genotipagem (que procura apenas por letras específicas) para confirmar as mutações encontradas no Laboratório Multiusuário de Genômica, ou complementar as análises que não funcionaram.

Ao aceitar participar deste projeto, você também autoriza a consulta do prontuário médico da criança pela equipe de pesquisadores. Os pesquisadores consultarão os registros (prontuários) para conhecer e analisar dados como (I) a idade da criança quando do tratamento, (II) quantidade de FVIII infundido na criança, (III) motivo da infusão de FVIII, (IV) tipo de FVIII utilizado no tratamento da criança, (V) histórico das dosagens de inibidor da criança, (VI) pico histórico de inibidores da criança em Unidades de Bethesda/mL e (VII) quantidade e tipos hemorragias que a criança teve durante o tratamento. Os resultados dos testes genéticos, quando disponíveis, serão repassados a você e a criança pelo médico do estudo e anexados ao prontuário. Os resultados de análise do sistema imunológico não serão repassados a vocês, pois eles não alteram o tratamento da criança. Mesmo assim, caso vocês tenham interesse, vocês podem solicitar os resultados à equipe do projeto de pesquisa. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa no local da punção) e quebra de confidencialidade. Para minimizar esses riscos, apenas profissional técnico treinado fará a coleta da amostra da criança. Além disso, apenas pesquisadores autorizados e treinados terão acesso ao prontuário dela. As amostras da criança serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. A criança não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro. Os dados genéticos da criança serão mantidos em sigilo pela equipe da pesquisa e não repassaremos essas informações para outras pessoas. Os resultados dos exames genéticos não serão fornecidos a terceiros como, por exemplo: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Vamos garantir a privacidade dos dados da criança a qual você é responsável. As informações da criança ficarão protegidas em computadores com senha e os dados serão codificados para que ela não seja identificada. Vocês têm garantia de aconselhamento genético ao final do estudo, e podem nos procurar caso queira esclarecimentos sobre os dados genéticos. A criança tem direito de receber os resultados dos seus exames genéticos, bastando solicitá-los à equipe do projeto.

A criança não será identificada quando o sangue coletado ou os registros médicos forem utilizados, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este consentimento informado, você autoriza a leitura e acompanhamento dos prontuários médicos da criança. Na divulgação dos resultados, o nome da criança não será mostrado, garantindo a ela sigilo e privacidade. Vocês terão garantia de ressarcimento de suas despesas (transporte, alimentação, etc.) caso compareçam ao centro de tratamento para fins exclusivos da pesquisa. Vocês têm garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Depois que a criança for incluída na pesquisa, caso vocês queiram desistir da sua participação, vocês devem informar a equipe do projeto por escrito, em documento assinado. Caso desistam de participar, as amostras serão descartadas. As amostras da criança ficarão armazenadas na Universidade Federal de Minas Gerais e na Fundação Hemominas e poderão, no futuro, serem utilizadas para outros testes. Caso isso aconteça, um novo projeto de pesquisa será submetido para análise pelo sistema CEP-CONEP e um novo consentimento deverá ser assinado. Não realizaremos nenhuma análise nas amostras da criança sem seu consentimento.

Você pode consultar o médico da criança a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do médico da criança estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde a criança recebe tratamento. O CEP protege os participantes de pesquisa e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final deste documento.

Este Termo de Consentimento deverá ser rubricado em todas as folhas e assinado na última folha por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto. Este Termo de Consentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra do responsável pelo participante.

Declaração de consentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para que a criança pela qual sou responsável participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do responsável pelo participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosriroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábila Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice L – TCLE adulto responsável pela criança

Página 1 de 3

TCLE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA CIENTÍFICA (RESPONSÁVEL POR PACIENTE QUE JÁ PARTICIPOU DO PROTOCOLO DE IMUNOTOLERÂNCIA)

Projeto: Avaliação de fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor

Vimos pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido convidar a criança pela qual você é responsável a participar de um projeto de pesquisa. A participação neste estudo é voluntária. Você e a criança não terão nenhum gasto com a participação no estudo. Vocês têm o direito de escolher não fazer parte ou desistir do estudo em qualquer momento, sem perda de qualquer benefício a que têm direito em seu centro de tratamento.

A criança pela qual você é responsável tem hemofilia A e participou do tratamento de imunotolerância porque desenvolveu inibidores. Os inibidores são anticorpos contra o fator VIII presente no concentrado que a criança recebe para tratar a hemofilia. Os anticorpos são uma defesa do organismo e fazem parte do nosso sistema imunológico, mas nesse caso eles podem atrapalhar o tratamento dos pacientes. Nem todo mundo desenvolve esses anticorpos, e alguns pacientes não têm sucesso no tratamento de imunotolerância. Ainda não se sabe por que alguns pacientes respondem e outros não respondem ao tratamento, e queremos entender porque isso acontece.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A e o papel do DNA (molécula herdada dos pais) no desenvolvimento desses anticorpos. O DNA de cada pessoa é composto por quatro letras (A, T, C e G) chamados nucleotídeos. A sequência dessas letras forma palavras (genes), e essas palavras determinam quais serão as proteínas fabricadas pelo nosso corpo. Para atingir esse objetivo, vamos precisar fazer algumas análises no sangue da criança e consultar os prontuários dela, onde o médico anota informações sobre ela sempre que comparece para uma consulta.

Se vocês concordarem em participar deste estudo, será solicitado que a criança ceda um pouco de sangue (10mL) para exames laboratoriais quando terminar o tratamento de imunotolerância. Caso a criança seja menor de 5 anos, a coleta de sangue será de apenas 5mL. Este material será separado e estocado no laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e no Laboratório de Pesquisa no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação Hemominas e será usado apenas para os fins propostos nesta pesquisa. A amostra de sangue coletada será utilizada para dosagens de moléculas envolvidas na resposta imune (anticorpos, citocinas e micropartículas). Também será utilizada para analisar regiões específicas do DNA que podem estar envolvidas com o desenvolvimento de inibidores. Essas regiões contêm informações de: I) genes que participam normalmente da regulação do nosso sistema imunológico, II) genes responsáveis por transporte de substâncias entre as células, III) regiões próximas a esses genes que podem ser importantes (como as que determinam a quantidade que produzimos dessas proteínas, e o gene da lactase, que digere o açúcar do leite que bebemos), assim como IV) marcadores que podem nos dizer o tanto de DNA de europeus, africanos e índios que herdamos dos nossos pais e avós. Também queremos analisar quais mutações (letras diferentes) existem no gene do fator VIII (responsável por sua doença) e de outro fator de coagulação, o von Willebrand. Uma parte da amostra será enviada para o Laboratório Multiusuário de Genômica da Universidade Federal de Minas Gerais, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Lá eles farão as análises do DNA por uma técnica chamada sequenciamento, definindo em detalhes toda a sequência de letras e palavras dessas regiões. A amostra excedente será descartada após as análises genéticas pela equipe responsável pelo Laboratório Multiusuário de Genômica. Outra parte da amostra ficará armazenada na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, sob os cuidados da Professora Suely Meireles Rezende. Na Faculdade de Medicina também poderemos realizar o sequenciamento do DNA ou a técnica de genotipagem (que procura apenas por letras

específicas) para confirmar as mutações encontradas no Laboratório Multiusuário de Genômica, ou complementar as análises que não funcionaram.

Ao aceitar participar deste projeto, você também autoriza a consulta do prontuário médico da criança pela equipe de pesquisadores. Os pesquisadores consultarão os registros (prontuários) para conhecer e analisar dados como (I) a idade da criança quando do tratamento, (II) quantidade de FVIII infundido na criança, (III) motivo da infusão de FVIII, (IV) tipo de FVIII utilizado no tratamento da criança, (V) histórico das dosagens de inibidor da criança, (VI) pico histórico de inibidores da criança em Unidades de Bethesda/mL e (VII) quantidade e tipos hemorragias que a criança teve durante o tratamento. Os resultados dos testes genéticos, quando disponíveis, serão repassados a você e a criança pelo médico do estudo e anexados ao prontuário. Os resultados de análise do sistema imunológico não serão repassados a vocês, pois eles não alteram o tratamento da criança. Mesmo assim, caso vocês tenham interesse, vocês podem solicitar os resultados à equipe do projeto de pesquisa. Os riscos e desconfortos deste estudo incluem o desconforto de coletar o sangue (dor da picada de uma agulha e uma pequena chance de cor roxa no local da punção) e quebra de confidencialidade. Para minimizar esses riscos, apenas profissional técnico treinado fará a coleta da amostra da criança. Além disso, apenas pesquisadores autorizados e treinados terão acesso ao prontuário dela. As amostras da criança serão destruídas ao final do projeto e nós não guardaremos mais nada no laboratório. A criança não terá nenhum benefício direto do estudo, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro. Os dados genéticos da criança serão mantidos em sigilo pela equipe da pesquisa e não repassaremos essas informações para outras pessoas. Os resultados dos exames genéticos não serão fornecidos a terceiros como, por exemplo: seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos, entre outros. Vamos garantir a privacidade dos dados da criança a qual você é responsável. As informações da criança ficarão protegidas em computadores com senha e os dados serão codificados para que ela não seja identificada. Vocês têm garantia de aconselhamento genético ao final do estudo, e podem nos procurar caso queira esclarecimentos sobre os dados genéticos. A criança tem direito de receber os resultados dos seus exames genéticos, bastando solicitá-los à equipe do projeto.

A criança não será identificada quando o sangue coletado ou os registros médicos forem utilizados, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este consentimento informado, você autoriza a leitura e acompanhamento dos prontuários médicos da criança. Na divulgação dos resultados, o nome da criança não será mostrado, garantindo a ela sigilo e privacidade. Vocês terão garantia de ressarcimento de suas despesas (transporte, alimentação, etc.) caso compareçam ao centro de tratamento para fins exclusivos da pesquisa. Vocês têm garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Depois que a criança for incluída na pesquisa, caso vocês queiram desistir da sua participação, vocês devem informar a equipe do projeto por escrito, em documento assinado. Caso desistam de participar, as amostras serão descartadas. As amostras da criança ficarão armazenadas na Universidade Federal de Minas Gerais e na Fundação Hemominas e poderão, no futuro, serem utilizadas para outros testes. Caso isso aconteça, um novo projeto de pesquisa será submetido para análise pelo sistema CEP-CONEP e um novo consentimento deverá ser assinado. Não realizaremos nenhuma análise nas amostras da criança sem seu consentimento.

Você pode consultar o médico da criança a qualquer momento sobre esse projeto. Os contatos do médico da criança estão abaixo. Além disso, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição onde a criança recebe tratamento. O CEP protege os participantes de pesquisa e está aberto a tirar as suas dúvidas. Os contatos do CEP também estão listados ao final deste documento.

Este Termo de Consentimento deverá ser rubricado em todas as folhas e assinado na última folha por você e pelo pesquisador responsável pelo projeto. Este Termo de Consentimento será elaborado em duas vias, sendo uma do pesquisador e outra do responsável pelo participante.

Declaração de consentimento

Declaro que fui informado sobre os métodos e meios de coleta de material a ser utilizado, os problemas, riscos que podem vir a ocorrer em consequência da pesquisa. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para que a criança pela qual sou responsável participe deste projeto de pesquisa.

Nome do participante: _____ Nº Prontuário: _____

Assinatura do responsável pelo participante

Data

Assinatura do pesquisador no centro

Contato com os pesquisadores: Daniel Chaves - Fundação Hemominas - (31) 3768-4587 - daniel.chaves@hemominas.mg.gov.br; Suely Rezende - UFMG - (31) 3409-9746 - srezende@medicina.ufmg.br; Doralice Tan - Hemocentro de Marília - (14) 3402-1744 - hemocentro@famema.br; Vivian Franco - Hemocentro de Santa Catarina - (48) 3251-9700 - viviankbf@hotmail.com; Lêda Pinto - Hemocentro do Pará - (91) 3110-6500 - iedapinto@hotmail.com; Rosângela Ribeiro - Hemocentro do Ceará - (85) 3101 2296 - rosangela.ar@uol.com.br; Maria do Rosário Roberti - Hemocentro de Goiás - (62) 3201-4564 - mariadorosriroberti@gmail.com; Edvis Serafim - Hemocentro de Natal - (84) 3232-6753 - edvisserafim@hotmail.com; Maria Aline Cerqueira - Hemocentro do Piauí - (86) 98809-9300 - alinecerqueira@yahoo.com.br; Daniele Neves - Hemocentro de Rondônia - (69) 99930-4784 - danicafontes@yahoo.com.br; Leina Etto - Hemocentro da Paraíba - (83) 99986-9494 - leina.etto@gmail.com; Andrea Guimarães - Hemocentro S. J. do Rio Preto - (17) 98138-7107 - aagarciaarp@hotmail.com; Sandra Vallin - Universidade Federal de São Paulo - (11) 99402-8112 - sandra.vallin23@unifesp.br; Fábía Callado - Hemocentro de Pernambuco - (81) 99952-9355 - fabiamrac@yahoo.com.br; Claudia Lorenzato - Hemocentro do Paraná - (41) 3281-4000 - csloren@terra.com.br; Monica Cerqueira - Hemocentro do Rio de Janeiro - (21) 2332-8611 - monicahcerqueira@gmail.com.

Contato com os Comitês de Ética: Fundação Hemominas - Telefone: (31) 3768 4587 - E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br - Endereço: Alameda Ezequiel Dias, 321, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais; Universidade Federal de Minas Gerais - Telefone: (31) 3409 4592 - E-mail: coep@prpq.ufmg.br - Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, Sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais; Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA) - Telefone: (14) 3402 1744 - E-mail: cep@famema.br - Endereço: Av. Monte Carmelo, 800, Marília, São Paulo; Hemocentro de Santa Catarina - Telefone: (48) 3251 9826 - E-mail: cep.fns@hemosc.org.br - Endereço: Av. Othon Gama D'Éça, 756, Centro, Florianópolis, Santa Catarina; Hemocentro do Pará - Hospital Ophir Loyola - Telefone: (91) 3265 6645 - Endereço: Av. Magalhães Barata, 992, Belém, Pará; Secretaria de Saúde do Estado do Ceará - Telefone: (85) 3488 2137 - E-mail: cepsesta@saude.ce.gov.br - Endereço: Av. Almirante Barroso, 600, Bloco E, Praia de Iracema, Fortaleza, Ceará; Secretaria de Saúde do Estado de Goiás - Telefone: (62) 3201 3810 - E-mail: ouvidoria@saude.go.gov.br - Endereço: Rua SC-1, 299, Parque Santa Cruz, Goiânia, Goiás; São José do Rio Preto - Telefone: (17) 3201 5813 - E-mail: cepfamerp@famerp.br - Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto, São Paulo; UNIFESP - Telefone: (11) 5571 1062 - E-mail: cep@unifesp.edu.br - Endereço: Rua Francisco de Castro, 55, Vila Clementino, São Paulo, São Paulo; Hemocentro de Pernambuco - Telefone: (81) 3182-4771 - E-mail: cep@hemope.pe.gov.br - Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171 - Graças, Recife, Pernambuco. Secretaria de Saúde do Paraná - Telefone: (41) 3212-5871 - E-mail: vbacon@sesa.pr.gov.br - Endereço: Av. República Argentina, 4406 - Novo Mundo - Curitiba - Paraná. Hemocentro do Rio de Janeiro - Telefone: (21) 2332-8611 - E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br - Endereço: R. Frei Caneca, 8 - Centro, Rio de Janeiro - Rio de Janeiro.

Apêndice M – Momento da Inclusão no Estudo

PROJETO IMUNOTOLERÂNCIA BRASIL:
Avaliação dos fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância, em pacientes com hemofilia A hereditária e inibidor

Formulário de dados clínicos de pacientes no Projeto de Imunotolerância Brasil (BrazilIT): MOMENTO DA INCLUSÃO NO ESTUDO

Número de registro na pesquisa: _____

Data da inclusão no estudo: / /
ASSINATURA DO TCLE

ATENÇÃO! Informar se

Paciente ainda não iniciou o protocolo de imunotolerância. Nesse caso, não é necessário preencher o formulário MOMENTO DA CONCLUSÃO DO TRATAMENTO agora. Entretanto, é necessário coletar amostra de sangue para realização de exames (vide Anexo 1 – Coleta e armazenamento de amostras).

Paciente se encontra em tratamento de imunotolerância. Data de início: / /
Nesse caso, não é necessário preencher o formulário MOMENTO DA CONCLUSÃO DO TRATAMENTO agora. Entretanto, é necessário coletar amostra de sangue para realização de exames (vide Anexo 1 – Coleta e armazenamento de amostras).

Paciente já finalizou o tratamento de imunotolerância. Data de término: / /
Nesse caso, preencher o formulário MOMENTO DA CONCLUSÃO DO TRATAMENTO e coletar a amostra de sangue final.

1. Identificação

1.1. Centro de tratamento: _____

1.2. Nome do paciente (sem abreviação): _____

1.3. Número do prontuário no centro: _____

1.4. Data de nascimento: / /

1.5. Etnia:

1.5.1. Auto-definida:

- Branca
 Preta
 Amarela
 Parda
 Indígena
 Outro. Qual: _____

1.5.2. Definida pelo investigador:

- Branca
 Preta
 Amarela
 Parda
 Indígena
 Outro. Qual: _____

1.6. Endereço completo com CEP: _____

1.7. Telefone fixo com DDD: () _____

1.8. Telefone celular com DDD: () _____

1.9. E-mail: _____

2. Diagnóstico da hemofilia e do inibidor

2.1. Diagnóstico da hemofilia:

2.1.1. Data do diagnóstico da hemofilia: [][]/[][]/[][][][]

2.1.2. Nível de fator VIII ao diagnóstico: [] % Data: [][]/[][]/[][][][]

2.1.3. Menor nível de fator VIII registrado: [] % Data: [][]/[][]/[][][][]

2.1.4. Data da primeira infusão: [][]/[][]/[][][][]

- 2.1.5. Motivo da primeira infusão: Hemartrose
- Cefalohematoma
- Hematoma muscular
- Hemorragia intracraniana
- Outro. Qual: _____

2.2. Diagnóstico de inibidor

2.2.1. Primeiro inibidor positivo: [] UB/mL Data: [][]/[][]/[][][][]

2.2.2. Segundo inibidor positivo: [] UB/mL Data: [][]/[][]/[][][][]

2.2.3. Pico histórico de inibidor (maior título antes da IT): [] UB/mL Data: [][]/[][]/[][][][]

2.3. Data de início da IT: [][]/[][]/[][][][]

3. História familiar

- 3.1. História familiar de hemofilia A: Desconhecido ou não informado.
- Não há história familiar.
- Sim. Quantos parentes? []

Nome: _____ Grau de parentesco: _____

Inibidor: Sim Não Desconhecido ou não informado.

Nome: _____ Grau de parentesco: _____

Inibidor: Sim Não Desconhecido ou não informado.

Nome: _____ Grau de parentesco: _____

Inibidor: Sim Não Desconhecido ou não informado.

Nome: _____ Grau de parentesco: _____

Inibidor: Sim Não Desconhecido ou não informado.

Nome: _____ Grau de parentesco: _____

Inibidor: Sim Não Desconhecido ou não informado.

Nome: _____ Grau de parentesco: _____

Inibidor: Sim Não Desconhecido ou não informado.

Nome: _____ Grau de parentesco: _____

Inibidor: Sim Não Desconhecido ou não informado.

RESPONSÁVEL PELA COLETA DAS INFORMAÇÕES: _____

TELEFONE DE CONTATO: () _____

Apêndice N – Momento da Conclusão da Imunotolerância

PROJETO IMUNOTOLERÂNCIA BRASIL:
Avaliação dos fatores associados à resposta ao tratamento de imunotolerância, em pacientes com hemofilia A hereditária e inibidor

Formulário de dados clínicos de pacientes no Projeto de Imunotolerância Brasil (BrazilIT): MOMENTO DA CONCLUSÃO DO TRATAMENTO

Número de registro na pesquisa: _____

Data da inclusão no estudo: / /
ASSINATURA DO TCLE

ATENÇÃO!

Data do término da imunotolerância: / /

Confira, por favor, se o formulário MOMENTO DA INCLUSÃO NO ESTUDO também está preenchido.

1. Identificação

1.1. Centro de tratamento: _____

1.2. Nome do paciente (sem abreviação): _____

1.3. Número do prontuário no centro: _____

1.4. Data de nascimento: / /

2. Informações sobre o laboratório

2.1. Qual é o tipo de teste Bethesda utilizado no seu laboratório?

- Bethesda clássico Bethesda modificado (Nijmegen)

2.2. Houve troca do teste durante o protocolo de imunotolerância?

- Não. Sim. Quando? / /

3. Titulação de inibidor

3.1. Título imediatamente anterior ao início da imunotolerância: UB/mL

3.2. APENAS PARA AQUELES QUE INICIARAM IT COM OCTAVI^(R):

Data em que houve a troca para Immunate^(R): / /

3.3. Títulos e datas das dosagens de inibidor durante a imunotolerância (usar folha em anexo, se necessário)

UB/mL Data: / /

UB/mL Data: / /

UB/mL Data: / /

UB/mL Data: / /

UB/mL Data: / /

UB/mL Data: / /

UB/mL Data: / /

UB/mL Data: / /

4. Evolução da imunotolerância

4.1. Paciente necessitou de acesso venoso central, em algum momento e por qualquer intervalo de tempo, para infusão de pró-coagulantes (FVIII ou agentes de *bypass*) durante a imunotolerância?

Sim. Não.

4.2. Regimes de tratamento

4.2.1. Tratamento inicial

4.2.1.1. Tipo de FVIII:

Plasmático: Octavi Immunate Outro: _____

Recombinante: Advate Outro: _____

4.2.1.2. Regime de FVIII:

Dose	Posologia
<input type="checkbox"/> 25 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 3x por semana
<input type="checkbox"/> 50 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 5x por semana
<input type="checkbox"/> 100 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 7x por semana
<input type="checkbox"/> 200 UI/kg/dia	
<input type="checkbox"/> Qualquer outro regime diferente dos expostos. Descrever dose _____ UI/kg/dia e posologia _____	

4.2.2. Troca de tratamento 01 (se tiver acontecido)

4.2.2.1. Data da troca: / /

4.2.2.2. Motivo da troca:

Sangramento Falta de resposta ao esquema anterior

Reação alérgica Outro motivo: _____

4.2.2.3. Tipo de FVIII:

Plasmático: Octavi Immunate Outro: _____

Recombinante: Advate Outro: _____

4.2.2.4. Regime de FVIII:

Dose	Posologia
<input type="checkbox"/> 25 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 3x por semana
<input type="checkbox"/> 50 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 5x por semana
<input type="checkbox"/> 100 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 7x por semana
<input type="checkbox"/> 200 UI/kg/dia	
<input type="checkbox"/> Qualquer outro regime diferente dos expostos. Descrever dose _____ UI/kg/dia e posologia _____	

4.2.3. Troca de tratamento 02 (se tiver acontecido)4.2.3.1. Data da troca: / /

4.2.3.2. Motivo da troca:

- Sangramento

 Falta de resposta ao esquema anterior
 Reação alérgica

 Outro motivo: _____

4.2.3.3. Tipo de FVIII:

- Plasmático: Octavi Immunate Outro: _____
 Recombinante: Advate Outro: _____

4.2.3.4. Regime de FVIII:

Dose	Posologia
<input type="checkbox"/> 25 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 3x por semana
<input type="checkbox"/> 50 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 5x por semana
<input type="checkbox"/> 100 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 7x por semana
<input type="checkbox"/> 200 UI/kg/dia	
<input type="checkbox"/> Qualquer outro regime diferente dos expostos. Descrever dose _____ UI/kg/dia e posologia _____	

4.2.4. Troca de tratamento 04 (se tiver acontecido)4.2.4.1. Data da troca: / /

4.2.4.2. Motivo da troca:

- Sangramento

 Falta de resposta ao esquema anterior
 Reação alérgica

 Outro motivo: _____

4.2.4.3. Tipo de FVIII:

- Plasmático: Octavi Immunate Outro: _____
 Recombinante: Advate Outro: _____

4.2.4.4. Regime de FVIII:

Dose	Posologia
<input type="checkbox"/> 25 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 3x por semana
<input type="checkbox"/> 50 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 5x por semana
<input type="checkbox"/> 100 UI/kg/dia	<input type="checkbox"/> 7x por semana
<input type="checkbox"/> 200 UI/kg/dia	
<input type="checkbox"/> Qualquer outro regime diferente dos expostos. Descrever dose _____ UI/kg/dia e posologia _____	

4.3. História de sangramentos

4.3.1. Número total de sangramentos durante a imunotolerância:

4.3.2. Houve necessidade de infusão de agente de *bypass*?

Não. Sim.

Se sim, como? Demanda exclusiva. Profilaxia.

4.3.3. Agente de *bypass* utilizado (marque todas as opções):

Nenhum. Sim.

Se sim, qual (ou quais)? FVII ativado recombinante.

Complexo protrombínico parcialmente ativado.

Outro. Qual? _____

4.4. Houve procedimento cirúrgico durante a imunotolerância? (isso também inclui biópsias, extrações dentárias, radiossinoviórtese e implante de acesso venoso central, por exemplo)

Não. Sim.

Se sim, qual (ou quais)?

Procedimento: _____	Data: <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Procedimento: _____	Data: <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Procedimento: _____	Data: <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Procedimento: _____	Data: <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Procedimento: _____	Data: <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

5. Conclusão da imunotolerância

5.1. Data da suspensão da imunotolerância:

5.2. Motivo da suspensão:

Sucesso

Falha

Abandono

Outro. Descreva: _____

5.3. Resultados laboratoriais ao término da imunotolerância

1º título de inibidor negativo (< 0,6 UB/mL): UB/mL Data: /

2º título de inibidor negativo (< 0,6 UB/mL): UB/mL Data: /

5.3.1. Bloco I

Dosagem do FVIII 48 h depois da infusão de 50 UI/kg de concentrado de FVIII:

% Data: /

Não encontrado ou não pesquisado.

Meia vida do FVIII:

h Data: /

Não encontrado ou não pesquisado.

Teste de recuperação do FVIII

% Data: /

Não encontrado ou não pesquisado.

5.3.2. Bloco II (caso tenha havido repetição dos testes abaixo)

Dosagem do FVIII 48 h depois da infusão de 50 UI/kg de concentrado de FVIII:

% Data: /

Não encontrado ou não pesquisado.

Meia vida do FVIII:

h Data: /

Não encontrado ou não pesquisado.

Teste de recuperação do FVIII

% Data: /

Não encontrado ou não pesquisado.

RESPONSÁVEL PELA COLETA DAS INFORMAÇÕES: _____

TELEFONE DE CONTATO: () _____

Apêndice O – Soluções utilizadas nos testes imunológicos

1) Solução de tampão fosfato-salina:

- 1 tablete de TFS 1X
- 200 mL de água bidestilada

Dissolver 1 tablete em 200 mL de água bidestilada.

2) Solução de lavagem:

- 1 mL de Tween 20
- 1 L de TFS 1X

Misturar 1 mL de Tween 20 em 1 L de TFS 1X.

3) Solução de bloqueio:

- 15 g de albumina sérica bovina
- 500 mL de TFS 1X

Misturar 15 g de albumina sérica bovina em 500 mL de TFS 1X.

4) Solução de tampão de citrato:

- 3,55 g de Na_2HPO_4
- 2,6 g de ácido cítrico
- 500 mL de água bidestilada

Misturar 3,55 g de e 2,6 g de ácido cítrico em 500 mL de água bidestilada. Ajustar o pH para 5,0.

ANEXO

Anexo A – Parecer Consubstanciado de aprovação do Estudo BrazilT

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Projeto Imunotolerância Brasil

Pesquisador: Suely Meireles Rezende

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 52812415.8.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Ministério da Saúde

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.501.431

Apresentação do Projeto:

A hemofilia A (HA) é uma doença hemorrágica hereditária caracterizada pela deficiência do fator VIII (FVIII) da coagulação. O gene que codifica a produção do FVIII está localizado no cromossomo X na região Xq-28 e por isso a HA é uma doença ligada ao cromossomo X. O diagnóstico laboratorial da hemofilia é realizado através da dosagem do FVIII no plasma, por meio da realização de testes funcionais da coagulação. A hemofilia não tem cura e sua terapêutica se baseia na administração (infusão endovenosa) de concentrados do fator deficiente em resposta aos episódios hemorrágicos (tratamento sob demanda) ou para preveni-los (tratamento profilático). Uma das complicações mais temíveis da hemofilia é o desenvolvimento de inibidores, que são aloanticorpos neutralizadores da atividade coagulante do FVIII que resultam da infusão dos concentrados de FVIII. Clinicamente, a presença desses anticorpos dificulta a contenção dos sangramentos pela reposição dos concentrados de fator deficientes, podendo ocorrer hemorragias mais graves e de difícil controle. As alternativas de tratamento, nessa situação, além de não serem capazes de garantir hemostasia eficiente, são de alto custo. O tratamento de imunotolerância (IT) é o único tratamento disponível para a cura dos inibidores, sendo capaz de erradicá-los em 60%-90% dos casos, de acordo com diferentes estudos. Esse tratamento é baseado na administração frequente de altas doses (100 a 300UI/Kg/dia) ou baixas doses (25-50 UI/Kg/3 x por semana) de

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SJ 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.501.431

concentrado de fator VIII, associado ou não a medicamentos imunossupressores. A IT pode durar vários meses, ou até anos. As limitações da IT são relacionadas ao alto custo e a necessidade de infusões endovenosas frequentes, o que pode representar um problema, sobretudo para o acesso venoso em crianças. Além disso, não há garantia de sucesso para todos os casos. No Brasil, a IT foi recentemente instituída como política pública no Sistema Único de Saúde no final de 2011 através do ofício circular 076/2011, sendo efetivada através da portaria no. 478 de 16 de junho de 2014. Atualmente existem 224 pacientes com hemofilia A em tratamento de IT em 21 centros de hemofilia estaduais. A inclusão dos pacientes na IT e seu acompanhamento é realizado conforme protocolo do Ministério da Saúde.

Metodologia: serão convidados a participar da pesquisa todos os pacientes com hemofilia A atendidos na Fundação Hemominas que façam parte dos seguintes grupos: (I) forem iniciar protocolo de imunotolerância; (II) já tenham sido incluídos no protocolo de imunotolerância e não tenham finalizado o mesmo por sucesso ou falha; (III) já tenham finalizado o protocolo de imunotolerância. Será construída uma plataforma de banco de dados para coleta de variáveis relacionadas aos dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes na linha de base do estudo (inclusão na IT), durante o acompanhamento e ao final da IT (mediante sucesso ou falha da IT). Uma amostra de sangue será coletada no momento da inclusão do paciente no protocolo de IT e ao final da IT no momento do sucesso, falha ou aos 33 meses de tratamento que é o tempo máximo da IT) para análise de variáveis imunológicas e moleculares (genotipagem do gene do fator VIII). A análise de custo da IT será realizada através da avaliação das infusões de concentrado de fator VIII para IT inseridas no sistema Hemovidaweb Coagulopatias gerenciado pela Coordenação Nacional de Sangue e Hemoderivados. Serão avaliados os dados clínicos, citocinas plasmáticas, micropartículas plasmáticas, anticorpos anti-fator VIII, reatividade de IgG, Ig1 e Ig4 anti-fator VIII. As variáveis clínicas a serem coletadas são: (I) idade do paciente quando do início do protocolo de imunotolerância, (II) quantidade (em Unidades Internacionais) de FVIII infundido durante o protocolo, detalhando esquemas de alta/baixa dose e alteração do esquema de dose de FVIII utilizado, (III) data de início e término do protocolo de IT, (IV) tipo de FVIII utilizado no tratamento, (V) histórico das dosagens de inibidor (antes, durante e após o protocolo), (VI) pico histórico de inibidores em Unidades de Bethesda/mL e data, (VII) quantidade e tipos de episódios hemorrágicos ocorridos durante o tratamento, (VIII) história familiar de hemofilia, (IX) história familiar de inibidor, (X) meia vida de FVIII ao final do protocolo de IT e (XI) teste de recuperação do FVIII ao final do protocolo de IT. As variáveis contínuas relacionadas aos pacientes e tratamento

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.501.431

serão expressas em mediana e variação interquartil. As variáveis categóricas relacionadas aos pacientes e tratamento serão expressas em números e percentuais. As diferenças entre as variáveis contínuas serão avaliadas por análise de variância e o teste de Mann-Whitney. As diferenças entre as variáveis categóricas serão avaliadas por teste de chi-quadrado e teste exato de Fischer. Os resultados das dosagens de citocinas, IgG1, IgG4, IgG e micropartículas, os dados clínicos coletados e os resultados das mutações no gene do FVIII serão separados por grupo de participantes com e sem sucesso no protocolo de imunotolerância. A análise estatística será feita por teste chi-quadrado, teste não-paramétrico Kruskal-Wallis para variáveis sem distribuição normal e teste Mann Whitney para variáveis que apresentarem distribuição normal. Diferenças estatísticas serão consideradas significativas quando valor de $p < 0,05$. O software SPSS será utilizado para a análise estatística.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar os fatores associados à resposta ao tratamento de IT em pacientes com hemofilia A congênita e inibidor.

Objetivos Secundários:

1. Comparar a eficiência da imunotolerância realizada com concentrado de fator de origem plasmática e recombinante;
2. Comparar a eficiência da imunotolerância realizada com dose baixa e alta de concentrado de fator;
3. Relacionar a eficiência da imunotolerância com pico histórico de inibidor, tempo de existência do inibidor e a titulação do inibidor antes do início da imunotolerância;
4. Relacionar a resposta a imunotolerância com fatores clínicos, genéticos e imunológicos do paciente;
5. Avaliar os custos da imunotolerância.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Foram relatados os riscos de quebra da confidencialidade, riscos inerentes à coleta de amostra e de perda de amostra biológica coletada. Não foram relacionados benefícios diretos aos participantes da pesquisa, mas os resultados poderão ser importantes para o tratamento de outros pacientes no futuro.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante para a área da Saúde, com previsão de término em 31/7/2019.

As solicitações do COEP foram atendidas. Foram incluídos nos TCLEs e TALEs os benefícios do estudo e o esclarecimento sobre o tempo de armazenamento do material biológico e seu destino após utilização. O prazo de armazenamento de material biológico nos biorrepositórios da UFMG e da Fundação Hemominas serão os mesmos, e as amostras biológicas serão destruídas ao final da

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.501.431

pesquisa, conforme cronograma do projeto original. Foi esclarecido que o destino de cada tipo de amostra por biorepositório foi definido conforme os Regimentos de Biorrepositório: o Laboratório de Hematologia Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG ficará responsável por biorrepositório de amostras de DNA e alíquotas de amostras de plasma. Por outro lado, o Laboratório do Serviço de Pesquisa da Fundação Hemominas ficará responsável por biorrepositório de alíquotas de amostras de plasma. Foi esclarecido que o presente estudo não é multicêntrico, embora esteja prevista a inclusão futura de outros centros coparticipantes.

Foi incluída carta de anuência do Laboratório de Hematologia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados os seguintes documentos: informações básicas do projeto no modelo Plataforma Brasil, parecer consubstanciado aprovado pela Câmara do Departamento de Clínica Médica, Termo de Constituição de Biorrepositório, Regimento Institucional de Biorrepositório (UFMG), Regimento Institucional de Biorrepositório (HEMOMINAS-instituição coparticipante), TCLE para o responsável por paciente que já participa do protocolo de imunotolerância, TCLE para o responsável por paciente que já finalizou o protocolo de imunotolerância, TCLE para o adulto que participará do protocolo de imunotolerância, TCLE para o adulto que já participa do protocolo de imunotolerância, ficha de inclusão e acompanhamento de pacientes, carta de anuência da coordenadora do Laboratório de Hematologia.

Recomendações:

Recomenda-se a aprovação do projeto de pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos favoráveis à aprovação do projeto "Projeto Imunotolerância Brasil" da pesquisadora responsável Profa. Dra. Suely Meireles Rezende.

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado conforme parecer.

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o COEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.501.431

emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_595182.pdf	08/04/2016 17:10:49		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Hematologia.jpg	08/04/2016 17:10:25	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Suely.pdf	08/04/2016 17:10:14	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_HEMOMINAS.pdf	08/04/2016 17:10:00	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
Outros	RESPOSTA_AO_PARECER_CONSUBSTANCIADO_1.pdf	08/04/2016 17:09:24	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TCLE_Responsavel_Versao1.doc	08/04/2016 17:06:18	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TCLE_Responsavel_Sem_tratamento_Versao1.doc	08/04/2016 17:06:04	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TCLE_Responsavel_Em_tratamento_Versao1.doc	08/04/2016 17:05:51	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TCLE_Adulto_Versao1.doc	08/04/2016 17:05:35	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TCLE_Adulto_Sem_tratamento_Versao1.doc	08/04/2016 17:05:21	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TCLE_Adulto_Em_tratamento_Versao1.doc	08/04/2016 17:05:06	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.501.431

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TA_12a17_Versao1.doc	08/04/2016 17:04:52	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TA_12a17_Sem_tratamento_Versao1.doc	08/04/2016 17:04:38	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TA_12a17_Em_tratamento_Versao1.doc	08/04/2016 17:04:25	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TA_6a12_Versao1.doc	08/04/2016 17:04:11	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TA_6a12_Sem_tratamento_Versao1.doc	08/04/2016 17:03:58	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Imunotolerancia_TA_6a12_Em_tratamento_Versao1.doc	08/04/2016 17:03:39	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Documento_UFMG.pdf	28/01/2016 11:40:13	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	TermoBiorrepositorio.pdf	26/01/2016 22:08:07	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	RegimentoUFMG2.pdf	26/01/2016 22:07:44	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	RegimentoHemominas2.pdf	26/01/2016 22:07:13	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
Outros	Questionario_IT_280915.doc	15/12/2015 17:50:43	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_IT_Final_110915.doc	15/12/2015 17:33:15	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos,6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 1.501.431

Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	15/12/2015 17:24:01	Daniel Gonçalves Chaves	Aceito
----------------	--------------------	------------------------	----------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 15 de Abril de 2016

Assinado por:
Telma Campos Medeiros Lorentz
(Coordenador)

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br