

1 Capítulo

Hemofilia A y B

Víctor Jiménez Yuste, María Teresa Álvarez Román, Mónica Martín Salces e Isabel Rivas Pollmar

PUNTOS CLAVE

- La hemofilia A y B son trastornos de la coagulación de naturaleza congénita.
- Las alteraciones moleculares son las que condicionan la gravedad de la enfermedad.
- La gravedad de la clínica hemorrágica viene condicionada por los niveles de factor en plasma.
- La profilaxis es el objetivo fundamental del tratamiento de la hemofilia.
- El desarrollo de inhibidores es la complicación más importante de la hemofilia.

INTRODUCCIÓN

La hemofilia A (HA) y B (HB) son enfermedades con una tendencia hemorrágica causada por la deficiencias de factor VIII (FVIII) y factor IX (FIX), respectivamente (1). Ambas son trastornos de la coagulación de origen genético que se transmiten de forma recesiva ligada al cromosoma X (2). La fisiopatología de esta enfermedad se basa en la generación insuficiente de trombina por el complejo IXa/VIIIa en la vía intrínseca de la coagulación, impidiendo así una correcta hemostasia (3).

Las manifestaciones clínicas, que consisten en un patrón hemorrágico, son indistinguibles entre pacientes afectados de HA y HB; la HA es de cuatro a seis veces más común que la HB (3) y la gravedad de ambas se relaciona estrechamente con el nivel del factor circulante.

BASES MOLECULARES

La HA y HB son enfermedades que se transmiten de forma recesiva ligada al cromosoma X, por lo que la enfermedad ocurre mayoritariamente en los varones (3) (Figura 1). Aproximadamente desde un tercio y hasta la mitad de los pacientes con hemofilia no tienen historia familiar.

La HA es una enfermedad monogénica causada por variantes patológicas en el gen *F8* encargado de codificar la proteína del FVIII. El gen del FVIII fue clonado en los años ochenta por Gitschier y cols. (4). Es uno de los genes más grandes y complejos con tamaño de 187 kb y se encuentra situado en el brazo largo del cromosoma X en la banda más distal (Xq28). Consta de 26 exones que dan lugar a un mRNA de 9 kb, incluyendo 7.053 nucleótidos codificantes. De los 25 intrones, 6 tienen más de 14 kb, uno de estos, es el intrón 22,

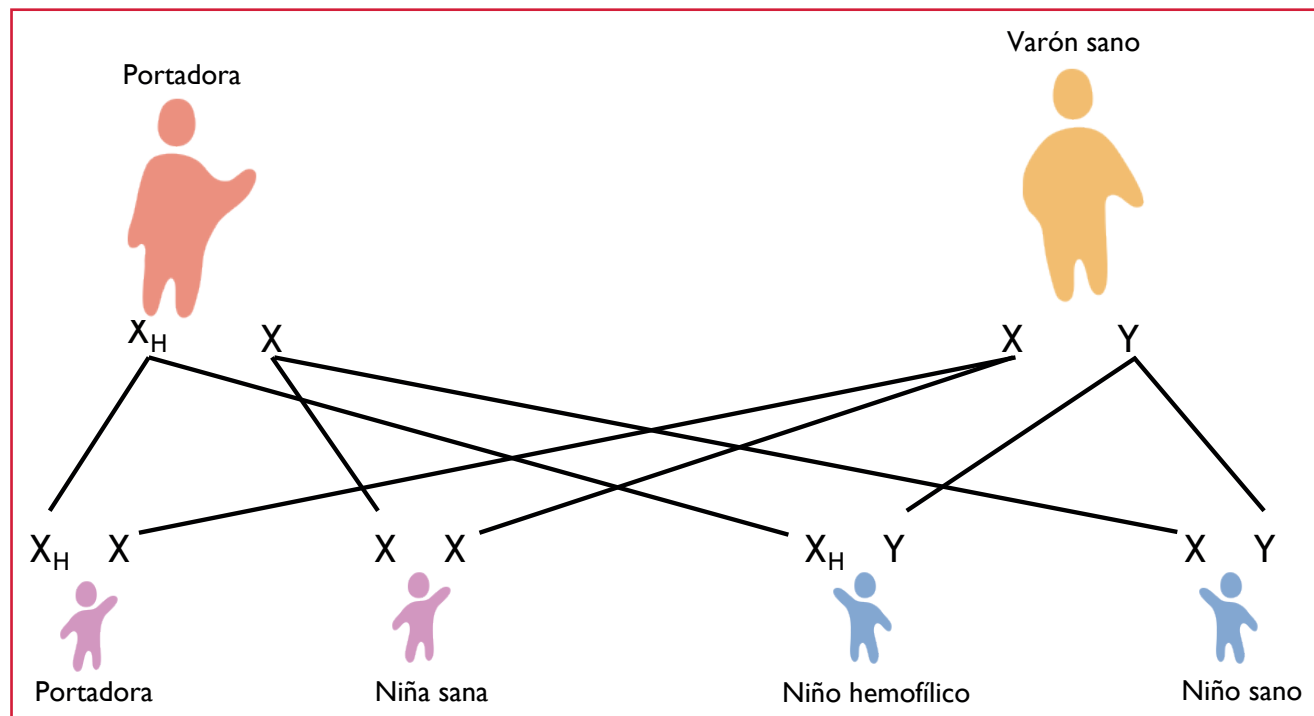


Figura 1. Herencia de la hemofilia: recesiva ligada al cromosoma X.

que a su vez contiene dos genes denominados *F8A* y *F8B* que no parecen tener ninguna vinculación fisiológica con el gen huésped (4).

El FVIII es una proteína constituida en su forma madura por una secuencia de 2.332 aminoácidos, con un peso molecular de 265 kDa. El FVIII circula en el plasma unido de forma no covalente al factor von Willebrand (FvW), el cual actúa como molécula transportadora, asegurando su protección frente a la degradación proteolítica y rápida depuración. El análisis de esta estructura revela su organización en dominios (tres dominios homólogos A, dos homólogos C y un único dominio B) denominados A1-a1-A2-a2-B-a3-A3-C1-C2 (5).

El papel del FVIII en la coagulación es la activación del FX, esto lo hace como cofactor del FIX aumentando en 20.000 veces su actividad proteolítica. Previamente, el FVIII precisa ser activado. Los principales activadores del FVIII son el FIIa y FXa. La mayoría de las variantes patológicas en la HA pueden reducir la síntesis o secreción de FVIII o alterar su actividad como cofactor.

Se han descrito más de 2.000 variantes del gen *F8* en la base de datos EAHAD-DB Coagulation Factors Database (6). La mayoría de los casos de HA (66,5 %) se asocian a variantes de un único nucleótido (*single nucleotide variants*, SNV). De estas SNV, las mutaciones con cambio de sentido (*missense mutations*) son las más frecuentes en todos los tipos de gravedad de la enfermedad, siendo las mutaciones que generan un codón de parada (*nonsense mutations*) y las

mutaciones en lugares de corte y empalme entre intrones y exones (*splice site mutations*) las más frecuentes asociadas a la hemofilia A grave (HAG). El resto de variantes patológicas de la HA incluye deleciones (23 %), duplicaciones (4,8 %), inserciones (1,6 %) e inserciones-deleciones (*indels*) en un 1,3 %. Mención aparte merecen la inversión del intrón 22 e intrón 1. Aproximadamente el 45 % de las variantes patológicas de la HA grave son debidas a una inversión intracromosomal en el intrón 22, que es el resultado de una recombinación espontánea entre una secuencia dentro del intrón 22 del *F8* y una de las dos secuencias homólogas localizadas aproximadamente 450 kb *upstream* del gen *F8* (7). Una inversión similar ocurre entre una secuencia homóloga del intrón 1 que existe 140 kb *upstream* del gen *F8* y que aparece en el 1-2 % de los casos de HAG (8).

HEMOFILIA B: GENÉTICA DEL FIX

La menor incidencia de la HB en comparación con la HA está probablemente relacionada con el menor tamaño del gen en comparación con el gen *F8* (34 kb vs. 187 kb), así como con el menor número de inversiones, tal y como se asocian en el caso de la HAG (9). La HB se asocia exclusivamente con variantes patogénicas en el gen de *F9* que se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma X (Xq27), y que consta de 8 exones, dando lugar a un mRNA de 2,8 kb (2).

El FIX es una quimotripsina que pertenece a la superfamilia de las serinproteasas y que se activa después de sufrir proteólisis específica por el FXIa o por el complejo FVIIIa-FX.

La primera mutación detectada en el gen del FIX fue realizada antes de su clonación. La mutación Chapel Hill fue identificada por primera vez en 1983. El espectro mutacional de la HB ocurre a lo largo de todo el gen *F9*, incluyendo el promotor 3'UTR, y son de naturaleza heterogénea. La base de datos de variantes patológicas describe más de 1.000 variantes asociadas a la HB (6). La mayoría son sustituciones aisladas de nucleótidos (73 %), con variantes con cambio de sentido (*missense mutations*) en la mayoría de las HB leves (HBL) y moderadas (HBM) y mutaciones que generan un codón de parada (*nonsense mutations*) asociadas a los casos de HB grave. De forma adicional se han descrito delecciones (16,3 %), inserciones (3,3 %), *indels* (1,5 %) y duplicaciones (0,4 %). A diferencia de la HA no se han descrito inversiones genéticas asociadas a la HB.

DIAGNÓSTICO

Dentro de la cascada de la coagulación, los factores VIII y IX proveen el soporte natural para la conversión de FX a FXa. El déficit de estos factores disminuye de forma dramática la capacidad de esta reacción, provocando así una formación retardada e insuficiente de frágiles cadenas de fibrina (Figura 2). El diagnóstico de hemofilia comienza con una extensa revisión de la historia familiar, especialmente en la familia materna. Posteriormente, se realizarán test de coagulación específicos que confirmarán el diagnóstico.

En un paciente con HA o HB encontraremos una cifra de plaquetas normal, un tiempo de protrombina (TP) normal y una prolongación del tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa). En ausencia de un inhibidor, lo cual no ocurre en pacientes hemofílicos no tratados previamente,

el TTPa debe corregirse con plasma normal. Los métodos utilizados para determinar los niveles de FVIII y FIX son los coagulativos (método en una etapa) y los métodos cromogénicos. En el test coagulativo la activación del FVIII depende principalmente de la formación de trombina. El test cromogénico contiene trombina endógena que activa directamente al FVIII. Las técnicas más comúnmente utilizadas para el diagnóstico de inhibidores son: los test cualitativos, como el test de Kasper que detecta inhibidores que interfieren con la vía intrínseca de la coagulación, o los test cuantitativos, como el test de Bethesda, descrito inicialmente en 1975 se basa en el principio de inactivación por inhibición de moléculas de FVIII y FIX del plasma normal, que posteriormente fue modificado por la técnica de Nijmegen.

Las técnicas de diagnóstico molecular utilizadas incluyen tanto el diagnóstico indirecto mediante estudios de análisis de ligamiento de marcadores intragénicos o extragénicos como las técnicas de diagnóstico directo. Entre estas últimas, la técnica de elección es la secuenciación nucleotídica directa mediante el método clásico de Sanger o a través de Next Generation Sequencing (NGS) (2).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La hemofilia se ha clasificado según la gravedad de las manifestaciones hemorrágicas que presenta y se relaciona directamente con el nivel de factor circulante en plasma (Tabla I).

La edad a la que se produce el primer episodio hemorrágico varía según la gravedad. El sangrado puede presentarse tan temprano como en el periodo neonatal. El paciente hemofílico puede llegar a sangrar en cualquier localización anatómica, pero la manifestación clínica fundamental en la hemofilia es el sangrado intraarticular y muscular. Se estima que el 80 % de los episodios hemorrágicos en pacientes

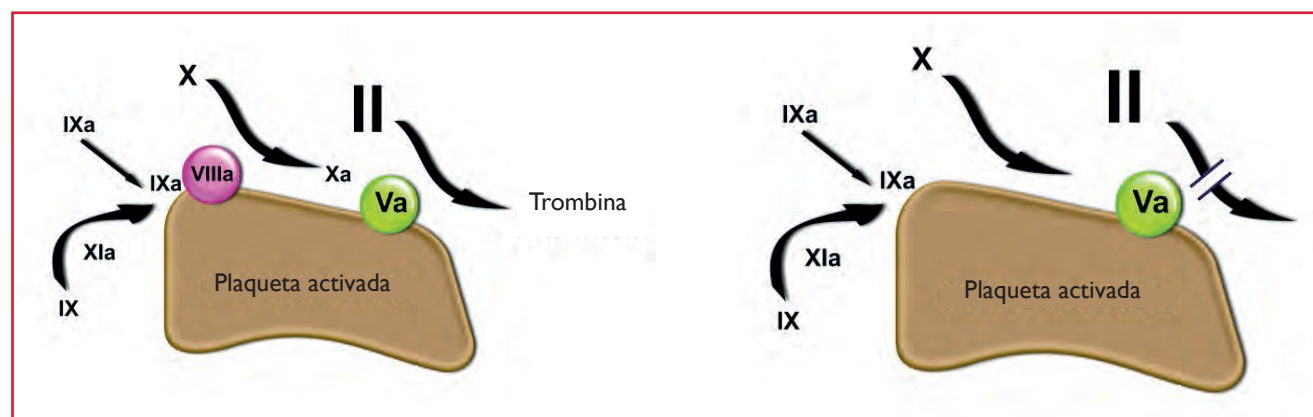


Figura 2. Generación de trombina en condiciones fisiológicas y en paciente afecto de hemofilia A.

Tabla I
Clasificación de la hemofilia según la gravedad clínica y los niveles de factor circulante

Gravedad	Nivel de factor	Clínica
Grave	< 1 %	Grave Sangrado espontáneo Hemorragia masiva tras trauma/cirugía
Moderada	1-5 %	Moderada Sangrado espontáneo ocasional Hemorragia importante tras trauma/cirugía
Leve	> 5 %	Leve Hemorragia importante tras trauma/cirugía

hemofílicos son hemartrosis (10). Durante la infancia el tobillo es la articulación principalmente afectada, mientras que el sangrado en las rodillas, codos y tobillos es más habitual en la adolescencia y vida adulta.

La hemartrosis aguda se presenta de forma inicial con una sensación de calor y hormigueo, que precede al dolor intenso y edema. Posteriormente la movilidad articular se ve comprometida debido al dolor, edema y rigidez, manteniendo la articulación en una posición flexionada.

Si los episodios de hemartrosis de repetición no reciben el tratamiento adecuado, se producen cambios crónicos, desarrollándose finalmente una artropatía crónica hemofílica (11). Otras manifestaciones hemorrágicas menos frecuentes incluyen el sangrado digestivo, hematuria, hemorragia intracralear, sangrado en mucosas y hemorragia tras intervenciones quirúrgicas.

TRATAMIENTO

El tratamiento del paciente hemofílico es complejo y requiere cuidados por un equipo multidisciplinar. Su base fundamental es la terapia sustitutiva, y desde su introducción a principios de los años setenta, con la infusión de factores derivados del plasma, la calidad de vida y pronóstico del paciente hemofílico han mejorado de forma notable. Debido a la fisiopatología de la hemofilia, el principio fundamental de su tratamiento es la reposición rápida y eficaz del factor de la coagulación deficiente, con el fin de obtener una hemostasia adecuada. A la luz de diferentes experiencias, los esquemas de profilaxis, entendida como la administración regular y repetida de concentrados de factor, se han preconizado como el único tratamiento capaz de prevenir el desarrollo de artropatía hemofílica (12), y en la actualidad el objetivo de la terapéutica de la hemofilia es la prevención del sangrado mediante esquemas de profilaxis (13).

Control de la hemorragia

En el momento actual la dosis y la frecuencia en el tratamiento de la hemofilia dependerán del tipo de hemofilia, el lugar y gravedad del sangrado, el modo de tratamiento, el peso del paciente y de la existencia o no de inhibidor frente al factor deficitario.

De forma general, las recomendaciones en relación con la dosis se han generado de forma empírica a lo largo de la experiencia en el tiempo (14). Sin embargo, se conoce que en el tratamiento sustitutivo con FVIII cada unidad de FVIII administrada por kilogramo de peso aumenta los niveles plasmáticos en un 2 % (0,02 UI/ml) y que la vida media del FVIII se encuentra en torno a las 8-12 horas; es sencillo, por lo tanto, calcular la dosis necesaria de FVIII necesaria para obtener un determinado nivel de FVIII en plasma y el intervalo de tiempo para mantener niveles adecuados. Cálculos similares pueden ser realizados para la dosificación de los concentrados de FIX. El volumen de distribución del FIX es aproximadamente el doble que el del FVIII debido a un equilibrio en la distribución con el espacio extravascular y su vida media es superior a la del FVIII con valores en torno a 18-24 horas. Una unidad de FIX administrada por kilogramo de peso aumenta los niveles plasmáticos entre un 1-1,4 % (0,01-0,014 UI/ml) (9).

En relación con los niveles plasmáticos necesarios para el control de los episodios hemorrágicos, el intervalo de tiempo de administración y la duración del tratamiento dependerán de la gravedad y localización del sangrado. Las guías para el manejo de la hemofilia, publicadas por la Federación Mundial de la Hemofilia (WFH) en 2012 y que actualmente están bajo revisión para su publicación en 2018, indican dos tipos de niveles de factor en plasma y duración del tratamiento en función de los recursos económicos. En la tabla II se reflejan las dosis y niveles en plasma en nuestro entorno. Estos niveles se fundamentan en recomendaciones de los años noventa (15), por lo que a pesar de que permanecen vigentes deben ser considerados como meramente orientativos.

Tabla II
Niveles recomendados en el tratamiento de las complicaciones hemorrágicas en hemofilia

	Hemofilia A		Hemofilia B	
<i>Tipo de hemorragia</i>	<i>Nivel deseado (%)</i>	<i>Duración (días)</i>	<i>Nivel deseado (%)</i>	<i>Duración (días)</i>
Articular	40-60	1-2, quizás más días si la respuesta no es eficaz	40-60	1-2, quizás más días si la respuesta no es eficaz
Muscular superficial sin compromiso neurovascular	40-60	2-3, quizás más días si la respuesta no es eficaz	40-60	2-3, quizás más días si la respuesta no es eficaz
Músculo ilioespsoas o muscular con compromiso neurovascular	Inicial: 80-100 Mantenimiento: 30-60	1-2 3-5, quizás más días como profilaxis de la rehabilitación	Inicial: 60-80 Mantenimiento: 30-60	1-2 3-5, quizás más días como profilaxis de la rehabilitación
Garganta y cuello	Inicial: 80-100 Mantenimiento: 50	1-7 8-14	Inicial: 60-80 Mantenimiento: 30	1-7 8-14
SNC/cabeza	Inicial: 80-100 Mantenimiento: 30-60	1-7 8-21	Inicial: 60-80 Mantenimiento: 30	1-7 8-21
Gastrointestinal	Inicial: 80-100 Mantenimiento: 30-60	7-14	Inicial: 60-80 Mantenimiento: 30	7-14
Renal	50	3-5	40	3-5
Laceración profunda	50	5-7	40	5-7

SNC: sistema nervioso central.

En relación con el tipo de concentrados de la coagulación, existen actualmente dos tipos de concentrados: los de origen plasmático y los de origen recombinante. Los avances en el desarrollo de nuevos productos más seguros y especialmente con una prolongación en la vida media están cambiando en el momento actual el abordaje de los pacientes con hemofilia (16).

INHIBIDORES EN HEMOFILIA

El desarrollo de anticuerpos inhibidores frente al factor VIII (FVIII) o factor IX (FIX) constituye en la actualidad la complicación más grave e importante del tratamiento de la hemofilia (17). Diferentes estudios prospectivos en pacientes con hemofilia A grave previamente no tratados indican que la incidencia acumulada se encuentra de forma general entre el 25-40 %, aunque la prevalencia se cifra en torno al 12 % debido al carácter transitorio de estos anticuerpos en algunos pacientes (18). En la hemofilia B grave esta incidencia es mucho menor con solo 1-2 % de aparición de inhibidor. El desarrollo de anticuerpos inhibidores condiciona no solo una disminución de la calidad de vida de los pacientes, sino que también tiene importantes consecuencias socioeconómicas dado el incremento en el coste del tratamiento (19). Se define de forma general a

un inhibidor como un anticuerpo IgG de alta afinidad de naturaleza policlonal frente al FVIII o FIX de la coagulación.

En relación con la etiopatogenia, mucho se ha especulado acerca de las causas que condicionan la aparición de anticuerpos inhibidores. De forma general se han implicado factores genéticos, asociados a la persona con hemofilia y como tal no modificables, y factores no genéticos y por lo tanto modificables (20). Las alteraciones moleculares a nivel del gen del FVIII han demostrado que son el factor de riesgo más importante de desarrollo de inhibidores (21).

El tratamiento de los pacientes con inhibidor presenta dos vertientes fundamentales. Por un lado, el objetivo fundamental es conseguir la desaparición del inhibidor mediante tratamientos de inmunotolerancia, que consisten en intentar borrar el anticuerpo mediante la administración repetida de factor. De otro lado, el control de los episodios hemorrágicos de los pacientes con inhibidor es fundamental y se basa en el título de anticuerpo. De este modo, en pacientes con título bajo de inhibidor la administración de FVIII es útil en el control de los episodios hemorrágicos cuando el título de inhibidor se encuentra entre 3-5 UB.

La situación actual en el manejo de los episodios hemorrágicos de los pacientes con hemofilia e inhibidor y alto título se fundamenta en la utilización de los denominados

agentes *bypass*. En nuestro medio están disponibles dos agentes: uno de ellos es un concentrado del complejo protrombínico activado de origen plasmático (CCPA) y el otro agente es un factor VII activado recombinante (rFVIIa). De forma general, las respuestas hemostáticas a CCPA y rFVIIa son comparables, aunque los resultados globales en los diferentes trabajos varían en cierto grado (22). A pesar de la constatación de que FEIBA® y rFVIIa son efectivos y seguros en el tratamiento de los episodios hemorrágicos en los pacientes con inhibidor, se ha observado que algunos pacientes responden mejor a FEIBA®, mientras que otros lo hacen a rFVIIa. Esta es la razón por la cual ambos agentes son necesarios en el manejo global de los pacientes con inhibidor.

PERSPECTIVAS

El tratamiento de la hemofilia está sufriendo una importante revolución con el desarrollo de concentrados de vida media alargada, la búsqueda de alternativas para promover la hemostasia como el desarrollo de anticuerpos biespecíficos, anticuerpos frente al inhibidor de la vía del factor tisular, o ARN silenciadores de la producción de antitrombina y la posible curación de la enfermedad a través de la terapia génica. Todos estos avances, junto con un conocimiento mayor de los mecanismos que conducen a la formación de inhibidores, conformarán sin duda un cambio radical en el manejo de las personas con hemofilia en los próximos años.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mannucci PM, Tuddenham EG. The hemophilias—from royal genes to gene therapy. *N Engl J Med* 2001;344(23):1773-9.
2. Swystun LL, James PD. Genetic diagnosis in hemophilia and von Willebrand disease. *Blood Rev* 2017;31(1):47-56.
3. Hoyer LW. Hemophilia A. *N Engl J Med* 1994;330(1):38-47.
4. Gitschier J, Wood WI, Goralka TM, Wion KL, Chen EY, Eaton DH, et al. Characterization of the human factor VIII gene. *Nature* 1984;312(5992):326-30.
5. Vehar GA, Keyt B, Eaton D, Rodríguez H, O'Brien DP, Rotblat F, et al. Structure of human factor VIII. *Nature* 1984;312(5992):337-42.
6. EAHAD. Factor VIII Gene (F8). Variant Database. Available from: <http://www.factorviii-db.org/>
7. Rossetti LC, Radic CP, Abelleiro MM, Larripa IB, de Brasi CD. Eighteen years of molecular genotyping the hemophilia inversion hotspot: from southern blot to inverse shifting-PCR. *Int J Mol Sci* 2011;12(10):7271-85.
8. Bagnall RD, Waseem N, Green PM, Giannelli F. Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A. *Blood* 2002;99(1):168-74.
9. Dolan G, Benson G, Duffy A, Hermans C, Jiménez-Yuste V, Lambert T, et al. Haemophilia B: Where are we now and what does the future hold? *Blood Rev* 2018;32(1):52-60.
10. Rodríguez-Merchan EC, Jiménez-Yuste V, Aznar JA, Hedner U, Knobe K, Lee CA, et al. Joint protection in haemophilia. *Haemophilia* 2011;17(Suppl 2):1-23.
11. Peyvandi F, Klamroth R, Carcao M, Federici AB, G DIM, Jiménez-Yuste V, et al. Management of bleeding disorders in adults. *Haemophilia* 2012;18(Suppl 2):24-36.
12. Berntorp E, Astermark J, Björkman S, Blanchette VS, Fischer K, Giangrande PL, et al. Consensus perspectives on prophylactic therapy for haemophilia: summary statement. *Haemophilia* 2003;9(Suppl 1):1-4.
13. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Valentino LA, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med* 2007;357(6):535-44.
14. Srivastava A. Dose and response in haemophilia—optimization of factor replacement therapy. *Br J Haematol*. 2004;127(1):12-25.
15. Rickard KA. Guidelines for therapy and optimal dosages of coagulation factors for treatment of bleeding and surgery in haemophilia. *Haemophilia* 1995;1(Suppl 1):8-13.
16. Mancuso ME, Santagostino E. Outcome of Clinical Trials with New Extended Half-Life FVIII/IX Concentrates. *J Clin Med* 2017;6(4). PII: E39. DOI: 10.3390/jcm6040039.
17. Leissinger CA. Inhibitor development in patients with hemophilia: an overview. *Semin Hematol* 2006;43(2 Suppl 4):S1-2.
18. Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemophilia* 2003;9(4):418-35.
19. Goudemand J. Hemophilia. Treatment of patients with inhibitors: cost issues. *Haemophilia* 1999;5(6):397-401.
20. Kempton CL, White GC, 2nd. How we treat a hemophilia A patient with a factor VIII inhibitor. *Blood* 2009;113(1):11-7.
21. Oldenburg J, Schroder J, Brackmann HH, Muller-Reible C, Schwaab R, Tuddenham E. Environmental and genetic factors influencing inhibitor development. *Semin Hematol* 2004;41(1 Suppl 1):82-8.
22. Berntorp E, Collins P, D'Oiron R, Ewing N, Gringeri A, Negrier C, et al. Identifying non-responsive bleeding episodes in patients with haemophilia and inhibitors: a consensus definition. *Haemophilia* 2011;17(1):e202-10.