

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

NUEVAS TERAPIAS EN HEMOFILIA

Trabajo final de investigación aplicada sometido a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Especialidades en Microbiología para optar al grado y título de Especialidad en Hematología

SUSTENTANTE

Mariela Chacón Murillo

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

Dedicatoria

A Dios porque nunca me ha abandonado y me muestra su amor día tras día.

A mi mamita porque es la persona más increíble que conozco, su amor es infinito y ha sido un apoyo incondicional en mi vida siempre.

A Lau porque además de ser mi hermana es mi mejor amiga, siempre ha estado para mí, pero en estos dos últimos años ha sido mi mayor apoyo.

A Papi porque sé que su amor por mí es enorme y siempre puedo contar con él.

Agradecimientos

A Walter y Meli por acompañarnos estos dos años, por la confianza que nos han dado y la guía.

A mis compañeros de trabajo por el apoyo y los momentos en que quedaron solos para poder yo asistir a clases.

Y a mis compañeros de especialidad que hicieron de estos dos años un chuzo.

**SISTEMA DE ESTUDIOS EN POSGRADO
PROGRAMA DE POSGRADO EN ESPECIALIDADES EN MICROBIOLOGÍA**

ACTA-65-2021

Acta presentación de Requisito Final de Graduación Trabajo de Investigación

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el jueves 29 de julio de 2021 con el objeto de recibir el informe oral de la estudiante **Mariela Chacón Murillo** carné # **A71740**, quien se acoge al Reglamento General del Sistema de Estudios de Posgrado para presentar el Trabajo Final de Graduación, para optar por el grado académico de **Especialista en Hematología**. Están presentes los siguientes miembros del Tribunal Examinador: Walter Rodríguez Romero, Esp. y tutor, quien preside, Juan Richmond Navarro, Esp. y Paola Granados Alfaro, Esp., lectores.

ARTICULO 1

Quien preside solicita a la postulante realizar la presentación oral de su Trabajo de Investigación titulado: **"Nuevas Terapias en Hemofilia"**.

ARTICULO 2

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan a la postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

ARTICULO 3

El Tribunal Examinador declara el Trabajo Final de Graduación: Aprobado Reprobado

ARTICULO 4

Se da lectura al acta que firman los miembros del Tribunal Examinador y el Postulante, a las 18.20__ horas.

Nombre	Firma	No. Cédula
<u>Walter Rodríguez Romero, Esp.</u> Quien preside	 WALTER ENRIQUE RODRIGUEZ ROMERO (FIRMA) Fecha: 2021-07-29 09:13:19 -0500'	<u>106380038</u>
<u>Juan Richmond Navarro, Esp.</u>	 JUAN ENRIQUE RICHMOND NAVARRO (FIRMA) Fecha: 2021-07-29 10:29:14 -0500'	<u>107760853</u>
<u>Paola Granados Alfaro, Esp.</u>	 PAOLA GRANADOS ALFARO (FIRMA) Fecha: 2021-07-29 20:55:42 -0500'	<u>111960537</u>
<u>Mariela Chacón Murillo</u> Estudiante	 MARIELA CHACON MURILLO (FIRMA) Fecha: 2021-07-29 20:34:40 -0500'	<u>206650554</u>

Observaciones: _____

Nota: Solamente firmarán el acta los responsables de la actividad descrita

Si el trabajo es merecedor de mención de honor anotar en observaciones

Tabla de Contenidos

	Página
Portada	i
Dedicatoria y Agradecimiento	I
Acta de aprobación	II
Tabla de contenido	III
Resumen	IV
Lista de cuadros	V
Lista de figuras	VI
Licencia de publicación	VII
Objetivos	1
Introducción	2
Capítulo 1: Sistema de la coagulación	5
Capítulo 2: Generalidades de la hemofilia	10
Capítulo 3: Terapias utilizadas en el tratamiento de la hemofilia: tratamiento convencional y nuevas terapias	20
Capítulo 4: Resultados del uso de nuevas terapias en hemofilia en el mundo y en Costa Rica	40
Conclusiones	58
Referencias	60

Resumen

La hemofilia es un desorden genético de herencia recesiva ligado al cromosoma X, la A se da por deficiencia del factor VIII mientras que la B por ausencia de IX. Se clasifican en tres grupos: leve, moderada y severa. Una de las principales complicaciones en el manejo del paciente hemofílico es el desarrollo de anticuerpos neutralizantes del factor, conocidos como inhibidores.

El tratamiento de los pacientes se puede dividir en: tratamiento sustitutivo a demanda y profilaxis para evitar sangrados espontáneos y, por ende, la artropatía. La inmunotolerancia es una alternativa para los pacientes con inhibidor en donde las metodologías anteriores tienen poco éxito. En los últimos años se habla de realizar profilaxis personalizada pues no todos los pacientes tienen las mismas características, razón por la cual el tratamiento puede fallar si se generaliza.

Los medicamentos que se encuentran disponibles para el manejo de la hemofilia son los concentrados de factores tanto plasmáticos como recombinantes, los mismos tienen como desventaja sus vidas medias cortas, así como ineffectividad ante el desarrollo de anticuerpos neutralizantes. Existen estrategias para extender la vida media de los productos entre las que se encuentran la pegilación, la fusión a proteínas como albúmina o inmunoglobulinas permitiendo aumentar la vida media a 4 días en el caso del FVIII y de 7 a 10 días para el IX.

El emicizumab es un anticuerpo quimérico de origen humano que tiene la capacidad de mimetizar la función del factor VIII. Dado su mecanismo de acción puede ser utilizado únicamente en la hemofilia de tipo A. Es de aplicación subcutánea además su vida media va de 4 a 5 semanas.

El concizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado de tipo IgG4, dirigido contra el TFPI, de forma tal que evita la unión del TFPI tanto al Xa como al complejo VIIa/factor tisular. Se puede ser utilizado en ambos tipos de hemofilia, sin embargo, aún se encuentra en fase de estudios clínicos. Al ser de aplicación subcutánea, su uso es más sencillo.

Fitusiran es un medicamento que tiene como diana la antitrombina. Su mecanismo de acción se basa en un sistema llamado ARN de interferencia (ARNi), el ARNi se dirige al núcleo de la célula y produce la degradación del ARNm de la proteína diana, en este caso, la antitrombina, cabe destacar que fitusiran se puede utilizar en hemofilia tanto A como B.

Por último, la terapia génica ha sido ampliamente estudiada en las hemofilias por ser enfermedades monogénicas. Consiste en introducir el gen de interés en un vector, usualmente se ha utilizado en el caso de hemofilia un virus adenoasociado (VAA). La ingeniería genética permite reemplazar las secuencias codificantes del VAA por las secuencias del gen de interés.

En general todos los medicamentos descritos anteriormente han mostrado buenos resultados en cuanto a disminución de las tasas de sangrado en los ensayos clínicos, son escasos los reportes de desarrollo de anticuerpos neutralizantes contra las drogas y en general los efectos adversos que se han documentado no son serios, por lo que se espera muy buenas noticias en los años venideros para los hemofílicos.

Lista de cuadros

	Página
Cuadro 1: Categorías según dosis para el manejo profiláctico de hemofilia A y B con concentrados de vida media estándar	23
Cuadro 2: Principales resultados y características de los ensayos HAVEN para el análisis de emicizumab y su uso clínico en pacientes con hemofilia A	43
Cuadro 3: Cuadro comparativo de las principales características de las distintas terapias para el manejo de la hemofilia	53
Cuadro 4: Distribución según edad de sujetos con hemofilia A y B de todas las severidades en Costa Rica	55

Lista de figuras

	Página
Figura 1: Representación esquemática del sistema de la coagulación	8
Figura 2: Ejemplo de curvas farmacocinéticas de factores de la coagulación en el uso de la profilaxis personalizada en hemofilia	24
Figura 3: Mecanismo de acción de emicizumab	31
Figura 4: Mecanismo de acción de los Inhibidores de TFPI	34
Figura 5: Mecanismo de acción de fitusiran	36



Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Mariela Chacón Murillo, con cédula de identidad 206650554, en mi condición de autor del TFG titulado Nuevas terapias en hemofilia

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI NO *

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: _____ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

INFORMACIÓN DEL ESTUDIANTE:

Nombre Completo: Mariela Chacón Murillo

Número de Carné: A71740 Número de cédula: 206650554

Correo Electrónico: marichacon07@hotmail.com

Fecha: 02/08/2021 Número de teléfono: 88817219

Nombre del Director (a) de Tesis o Tutor (a): Walter Rodríguez Romero

MARIELA
CHACON
MURILLO
(FIRMA)

Firmado digitalmente
por MARIELA CHACON
MURILLO (FIRMA)
Fecha: 2021.08.03
20:51:26 -06'00'

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Conocer el sistema de la coagulación y los desórdenes presentes en la hemofilia, así como las nuevas terapias utilizadas en el tratamiento de la enfermedad tanto a nivel mundial como en Costa Rica.

Objetivos Específicos

- Describir el sistema de la coagulación y las alteraciones que se presentan en la hemofilia
- Conocer las nuevas terapias utilizadas en el tratamiento de la hemofilia
- Investigar sobre los resultados del uso de las nuevas terapias en hemofilia en el mundo y en Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

La Hemofilia es un desorden congénito de sangrado asociado al cromosoma X, por ende, los hombres son quienes manifiestan la enfermedad y las mujeres serán únicamente portadoras. Se tiene una deficiencia de proteínas de la coagulación, específicamente factor VIII en el caso de la hemofilia A y IX en el caso de la hemofilia B (Eichler et al., 2018). En ambas situaciones, producto de esta deficiencia, la generación de trombina y el tapón hemostático no se produce de manera adecuada, manifestándose como una patología sangrante.

Las manifestaciones clínicas más comunes son sangrados en articulaciones, musculares y hematomas, entre otros, la severidad de estos dependerá del nivel de factor residual en el paciente. (Machin & Ragni, 2018)

Los tratamientos para la hemofilia han evolucionado a través de los años; los primeros médicos trataban a sus pacientes con sangre de otros colaboradores, pero en la actualidad estas prácticas rudimentarias han quedado en desuso, y los enfermos son tratados con concentrados del factor deficiente e incluso factor modificado genéticamente (J. Mahlangu et al., 2018), lo que es conocido como factor recombinante. Sin embargo, estos medicamentos son únicamente profilácticos, no tienen fines curativos, por lo que la investigación de nuevas terapias que mejoren la condición o incluso puedan llegar a curarla han sido el auge en las últimas décadas.

Algunos de los nuevos medicamentos desarrollados en los últimos años son el emicizumab, concizumab, fitusiran e incluso la terapia génica, todos ellos parecen ser prometedores (Chowdary, 2018; Eichler et al., 2018; Machin & Ragni, 2018; J. Mahlangu et al., 2018; Oldenburg, Mahlangu, Kim, Schmitt, Callaghan, Young, Santagostino, Krusejarres, et al., 2017; K. J. Pasi et al., 2017; Peyvandi & Garagiola, 2019; A. D. Shapiro et al., 2019).

La prevalencia por cada 100 000 hombres es de 17.1 para todos los casos de hemofilia A y 3.8 todos los casos de hemofilia B según la Federación Mundial de la Hemofilia. Es por ello la segunda enfermedad por sangrados más importante después de la Enfermedad de Von Willebrand, de ahí que el estudio de nuevos medicamentos para tratar a los pacientes tome tanta relevancia (World Federation of Hemophilia, 2021).

Quienes padecen de hemofilia presentan sangrados importantes desencadenados por golpes, esfuerzo o en ocasiones se dan de manera espontánea, el principal blanco de sangrado son las articulaciones, músculos u otros tejidos blandos (Eichler et al., 2018), pero en los casos más severos se pueden dar sangrados en áreas muy peligrosas como el sistema nervioso central, lo que pone en riesgo la vida. Por lo anterior, es imaginable el dolor que deben soportar estas personas y aún más complicado, lo incapacitante que puede llegar a ser esta cruel enfermedad, pues desarrollar un estilo de vida “normal” es difícil.

El tratamiento estándar para el paciente con hemofilia severa, es una profilaxis con inyecciones intravenosas de concentrados del factor deficiente entre dos a tres veces por semanas (J. Mahlangu et al., 2018; Oldenburg, Mahlangu, Kim, Schmitt, Callaghan, Young, Santagostino, Krusejarres, et al., 2017), con el fin de evitar los sangrados espontáneos, objetivo que no siempre es cumplido, pues a pesar de la profilaxis los sangrados pueden ocurrir de igual manera. La constante punción y movilización a los centros médicos complica la atención médica y un estilo de vida de calidad.

Sumado a lo anterior, algunos pacientes con hemofilia severa desarrollan anticuerpos contra el factor en que son deficientes dada por la inmunización que genera el tratamiento profiláctico (Oldenburg, Mahlangu, Kim, Schmitt, Callaghan, Young, Santagostino, Krusejarres, et al., 2017). El manejo de estos es muy complicado pues las opciones terapéuticas se agotan y el riesgo de sangrados fuertes es alto.

Por lo tanto, las complicaciones citadas anteriormente, han promovido el desarrollo de nuevos y renovadores tratamientos que permitan dar soporte tanto a los pacientes hemofílicos severos, como a aquellos que desarrollan inhibidores. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo de graduación es conocer y actualizar las nuevas terapias en hemofilia disponibles en el mercado. Se pretende conocer sus mecanismos de acción, efectos a corto y largo plazo, resultados obtenidos en otros países y estudios, así como la situación actual en Costa Rica, además de la forma de seguimiento de estos medicamentos por parte del laboratorio en caso de que sea necesario dar soporte diagnóstico y de seguimiento al personal médico.

CAPÍTULO 1:
SISTEMA DE LA COAGULACIÓN

La hemostasia está conformada por diversos componentes y mecanismos que interactúan entre sí para permitir fluidez en la sangre, así como la correcta permeabilidad de los vasos sanguíneos, obteniéndose un flujo constante de la sangre sin extravasación ni formación de trombos. La pared del vaso sanguíneo o endotelio, las plaquetas y las proteínas de la coagulación son los tres grandes protagonistas del sistema de la hemostasia. Ellos entran en juego ante cualquier injuria de la pared vascular, para que se dé la formación del tapón hemostático, posteriormente y como parte de la homeostasis del sistema será activado el sistema fibrinolítico quien es el encargado de la resorción del tapón hemostático formado. Esto es importante para evitar la formación de trombos; el plasminógeno es el protagonista de la fibrinólisis, sin embargo, existen muchos activadores e inhibidores de este (Hoffman et al., 2018).

Por otro lado existen los llamados inhibidores de la coagulación, quienes son indispensables para permitir la fluidez de la sangre ante situaciones normales, es decir evitan un ambiente procoagulante, entre ellos están la antitrombina, proteína C, proteína S, inhibidor tisular del plasminógeno, entre otros (Palta et al., 2014).

Es entonces el sistema de la coagulación un conjunto de proteínas y mecanismos perfectamente orquestados, siendo fácil entender como ante un evento que provoque un desbalance entre los factores pro y anticoagulantes, es altamente probable que se desencadena una patología.

Para un estudio más sencillo de la hemostasia, se ha dividido en dos grandes grupos conocidos como hemostasia primaria y hemostasia secundaria, aunque son mecanismos que trabajan en conjunto. Se conoce como hemostasia primaria a la formación del tapón inicial producto de una injuria en el endotelio, las células

endoteliales son productoras de sustancias como colágeno, factor de Von Willebrand, vitronectina, trombospondina entre otros, estos compuestos se encargan de mediar la adhesión inicial de plaquetas (Cines et al., 1998). Posterior a la formación de este pequeño tapón hemostático, las plaquetas ya unidas y activadas secretan todos los mediadores procoagulantes presentes en sus gránulos α y δ como fibrinógeno, factor VIII, ADP, ATP, calcio, fosfolípidos entre muchos otros (Heemskerk et al., 2002) que llevan a la formación de un gran tapón de muchas plaquetas donde además se activa la cascada de la coagulación y es a esto a lo que llamamos hemostasia secundaria.

La cascada de la coagulación ha sido estudiada por años y es ahora bien conocida, es indispensable entender su funcionamiento para comprender el porqué de las enfermedades hemorrágicas y trombóticas, su tratamiento, diagnóstico y seguimiento. El presente trabajo profundizará en la hemofilia, razón por la cual el entendimiento de la cascada de la coagulación es de vital importancia ya que es acá donde se presentan las alteraciones en esta patología y es allí también donde en los últimos años se ha promovido la fuerte investigación para encontrar nuevas terapias que permitan una cura o mejor calidad de vida a los pacientes hemofílicos.

Para hablar de la cascada de la coagulación se puede decir que existen tres etapas: iniciación, propagación y terminación. En la iniciación, que es dada principalmente por la vía extrínseca, se da la rápida formación de trombina, pero en cantidades pequeñas, justo y necesario para iniciar el siguiente proceso. En la propagación, es la vía intrínseca el efector primario, una producción explosiva de trombina se da en esta etapa. Por último, en la terminación se garantiza que la producción de trombina sea controlada y finita, a través de diferentes inhibidores de proteasas. Se debe tener presente que todo lo anterior se desarrolla sobre una superficie celular como el endotelio que proporciona todos los demás componentes de la hemostasia primaria mencionados anteriormente (Palta et al., 2014).

Se ha dividido durante años la cascada de la coagulación en tres grandes vías para un fácil estudio: la vía extrínseca, la vía intrínseca y la vía común. La vía extrínseca es iniciada cuando hay exposición del factor tisular quien está presente en su mayoría en células endoteliales, pero también se encuentra en macrófagos y monocitos. Por ello es usual que esta vía se inicie cuando se produce una ruptura endotelial, el factor tisular es el receptor para el factor VIIa, este factor se encuentra circulante en pequeñas cantidades y es inactivo hasta que no encuentre disponibilidad de factor tisular para conjugarse, esta unión se da bajo la presencia de calcio y una superficie rica en fosfolípidos (Spronk et al., 2003). La unión de estas dos moléculas es conocido como el complejo tenasa y es un fuerte activador del factor IX y X, representantes de la vía intrínseca y común respectivamente. En este paso se obtiene una pequeña cantidad de trombina necesaria para generar una retroalimentación positiva hacia la vía intrínseca, dado lo anterior y como ya se mencionó, es la vía extrínseca el principal efector de la fase de iniciación (Hoffman et al., 2018).

La vía intrínseca como es descrita teóricamente inicia a partir de la precalicreína que es activada a calicreína y esta a su vez activa el factor XII a factor XIIa, el factor XI es activado gracias al XIIa, sin embargo, se discute mucho la función de estas moléculas en el adecuado funcionamiento de la hemostasia pues pacientes que son deficientes en ellos no experimentan clínicas de sangrado, por el contrario alteraciones a nivel de estos factores conocidos como factores de contacto se ha asociado más con riesgo de trombosis. Por ende, la vía intrínseca toma fuerza a partir del factor IX quien fue activado tanto por el XIa como por el complejo tenasa. Como se observa en la figura 1, el IXa se encarga de activar al factor VIII y este a su vez colabora con la activación de la vía común a través del factor X (Hoffman et al., 2018).

(TFPI), la proteína C y la proteína S son los principales reguladores de la fase de terminación. El TFPI tal como su nombre lo dice se encarga de inhibir al factor VIIa por lo que frena la fase de iniciación. La antitrombina se encargará de bloquear las cantidades sustanciales de trombina producidas durante la fase de amplificación. En cuanto a la proteína C es un potente inhibidor de la cascada a nivel del factor Va, la proteína S funciona como un cofactor en este proceso (Hoffman et al., 2018).

No se puede dejar de lado el sistema fibrinolítico, indispensable en la homeostasis de la coagulación. Después de la reparación del daño vascular, el plasminógeno se encarga de activar la plasmina quien tiene como función principal la degradación del tapón de fibrina, pero también degrada fibrinógeno circulante y ciertos factores de la coagulación como el Va y VIIIa. El plasminógeno es activado por dos moléculas el activador tisular del plasminógeno (tPA) y el activador de tipo uroquinasa (uPA). El sistema del plasminógeno-plasmina tiene por supuesto ciertos inhibidores pues un desbalance en esta organización puede ser crítico, entre ellos se puede mencionar la alfa 2 macroglobulina, la glicoproteína rica en histidina y el C₁ inhibidor (Grupo CAHT, 2013).

En resumen, el sistema de la coagulación es un complejo círculo de constantes señales y retroalimentación tanto negativa como positiva de sus distintos colaboradores, con el fin de evitar daño tisular, extravasación sanguínea, sangrados y trombosis, ante el desbalance de alguno de sus componentes, es posible que una patología se desarrolle.

CAPÍTULO 2:
GENERALIDADES DE LA HEMOFILIA

Una vez estudiado y comprendido los mecanismos normales de la coagulación, es fácil entender como la deficiencia de algún componente del sistema puede generar un desbalance en la cascada de la coagulación y desencadenar una patología. Es esta situación justo lo que sucede en la hemofilia A y la hemofilia B donde se tiene una deficiencia de factor VIII y IX respectivamente, presentándose en el paciente una clínica de sangrado importante, que puede ser de distintas severidades como se verá más adelante.

La hemofilia es una enfermedad recesiva ligada al cromosoma X, por ello son los hombres quienes manifiestan la enfermedad dado su estado hemicigoto, mientras que las mujeres usualmente son portadoras de esta.

La hemofilia tanto A como B se clasifica en distintos grados de severidad dependiendo de la cantidad de factor VIII y IX respectivamente. El paciente hemofílico leve es aquel que presenta niveles del factor respectivo entre 5-40%, es moderada cuando hay entre 1 y 5% del factor y finalmente se presenta un cuadro de hemofilia grave cuando los niveles de factor circulante caen a 1% o menos (Rossetti LC, 2016).

La hemofilia A se genera por mutaciones en el gen que codifica por el factor VIII el cual está localizado en la región Xq28, este gen es conformado por 26 exones. Por otro lado, la hemofilia B se presenta ante mutaciones en el gen del factor IX que está localizado en Xq27 y es conformado por 8 exones (Bowen, 2002).

La transcripción del factor VIII genera un producto de aproximadamente 9010 bases de longitud, dividido en tres secciones, una primera región que no se traduce, seguido del marco de lectura para la producción de la proteína con un codón de terminación y posteriormente otra región sin traducir. De la traducción del gen se genera un

péptido señal quien tiene como función guiar el tránsito celular del factor VIII y el factor VIII como tal en su forma inactiva, quien será activado por proteólisis en ciertos sitios específicos, dicha proteólisis para la activación del factor VIII es la que genera la liberación del factor Von Willebrand, ya que se debe recordar que el factor VIII en circulación viaja unido al factor Von Willebrand para evitar su degradación (Bowen, 2002).

La proteína del factor VIII está formada por tres tipos de dominios: A, B y C. En la estructura de la proteína se encuentra primero el dominio A1 y A2, seguido por el dominio B y nuevamente un dominio A, el A3, por último, se encuentran los dominios C1 y C2. Es importante señalar que los dominios A y C tienen una homología en cuanto a secuencia de aminoácidos muy grande con los dominios A y C del factor V, lo que cual no resulta extraño al ser estos cofactores que trabajan en conjunto. Durante la activación del factor hay pérdida del dominio B y reorganización de los dominios A y C (Hoffman et al., 2018).

Por su parte el gen del factor IX genera un producto de tan solo 2803 pares de bases aproximadamente, bastante más pequeño que el factor VIII lo que se explica por la diferencia en la cantidad de exones de ambos genes. Al igual que el factor VIII, el factor IX tiene una primera región que no se traduce, seguido del marco de lectura para la producción de la proteína con un codón de terminación y posteriormente otra región sin traducir. El factor IX contiene una pre y pro secuencia, la primera tiene función de señalización para que el factor pueda ser secretado, la pro secuencia por su parte permite la unión de una carboxilasa de vitamina K vital para la activación del factor. Posterior a la eliminación de la pre y pro secuencia se obtiene el factor IX en su estado inactivo, quien será activado como ya se estudió por el factor XIa o por el complejo protrombinasa, al eliminarse ciertos enlaces peptídicos (Bowen, 2002).

Las mutaciones reportadas a nivel de hemofilia A y B son abundantes, por supuesto son más las descritas en hemofilia A por la extensión del gen. En la literatura se

pueden encontrar una amplia variedad de mutaciones, así como bases de datos que recopilan las mismas. Las mutaciones descritas son deleciones e inserciones tanto de pequeños como grandes segmentos, mutaciones puntuales que pueden generar un cambio sin sentido, sentido equivocado o alteraciones en el splicing. Es importante tener presente que existe una variedad amplia de polimorfismos sin significado clínico, por ende, la consulta de bases de datos mutacionales es indispensables. A la fecha existen más de 2000 mutaciones de variante única descritas para hemofilia A y más de 1000 para hemofilia B, creciendo cada día más (www.factorviii-db.org y www.factorix.org).

La identificación de la mutación causal de la hemofilia es transcendental para dar consejo genético a las portadoras de la enfermedad, pero también toma relevancia para el manejo del paciente hemofílico pues hay relación establecida entre la mutación fundadora y la severidad de la patología, así como el desarrollo de inhibidores.

Una de las mutaciones más importantes en hemofilia A severa es la inversión del intrón 22, se describe una prevalencia aproximada de 50% dependiendo la fuente consultada. Dentro del gen del factor VIII existen dos secuencias a nivel del intrón 22 llamadas F8A y F8B también conocidas como copias intragénicas del intrón 22. Estas secuencias son repetidas en al menos dos ocasiones en el cromosoma X en una posición extragénica del factor VIII, localizada cerca de los telómeros. La llamada inversión del intrón 22 en la hemofilia A se debe a una inversión entre la secuencia F8A del intrón 22 con una de las copias extragénicas, provocando una translocación de los exones 1 y hasta el 22 a la región telomérica donde se ubican las copias extragénicas de F8A. Como resultado final del mecanismo molecular descrito, se obtiene una ausencia completa de factor VIII circulante en el paciente y un fenotipo de hemofilia A severa (Bowen, 2002), (Gouw et al., 2012).

La inversión del intrón 1 que tiene un mecanismo similar a la del intrón 22, es en frecuencia la segunda mutación más importante en la hemofilia A severa rondando una prevalencia de 3 a 5% según la literatura (Bagnall et al., 2002).

No existe una mutación de tan alta prevalencia en el caso de la hemofilia B por lo que es común que para su investigación se realice secuenciación de Sanger de todo el gen. Largas deleciones del factor IX no son comunes, se dice que están presente en aproximadamente un 3% de todas las variaciones genéticas reportadas en la hemofilia B y un 2% en el caso de la región promotora del factor IX quien también es recomendable estudiar. Es importante estudiar también las uniones intrón-exón en caso de no encontrar mutación en los 9 exones secuenciados. (Peyvandi, Garagiola, et al., 2016)

En cuanto a prevalencia. son las mutaciones de sustitución de un solo nucleótido las más prevalentes en todas las severidades de hemofilia tanto A como B, seguido de deleciones y en tercer lugar las inserciones y rearrreglos (Bowen, 2002)(a excepción de la inversión del intrón 22).

Como se mencionó anteriormente, la distinta variedad de mutaciones presentes en la hemofilia puede implicar desde la síntesis afuncional de la proteína del factor VIII o IX, hasta una ausencia total de la proteína. Como se verá en detalle más adelante, los pacientes deficientes de un factor en cuestión son tratados con distintos esquemas sustitutivos con el fin de reemplazar el factor carente. Lamentablemente en muchas ocasiones este factor exógeno que es aplicado representa una carga de nuevos epítomos, que puede ser reconocido por el sistema inmune y como resultado final se tiene una de las principales complicaciones de la hemofilia A y B, el desarrollo de aloanticuerpos anti factor VIII o anti factor IX respectivamente capaces de neutralizar el factor en cuestión, ellos son conocidos en la literatura como inhibidores (Cormier et al., 2020).

Inhibidores

Aproximadamente un 15-20% de las pacientes con hemofilia A severa y un 3-7% de los que presentan hemofilia B severa desarrollan inhibidores (Oldenburg et al., 2004), si bien no son porcentajes exorbitantes, el manejo clínico de estos se vuelve muy complicado. Básicamente la producción de anticuerpos neutralizantes contra el factor lo que genera es un rápido bloqueo y aclaramiento del factor exógeno aplicado, provocando la falla en el tratamiento y aumentado el riesgo de sangrado.

En un metaanálisis realizado donde se comparan los genotipos de los individuos que padecen hemofilia A severa con el desarrollo de inhibidores, se obtuvo que en grandes deleciones e inserciones (las cuales implican más de 50 pares de bases) el desarrollo de inhibidores se da en un 45% de los sujetos llegando hasta un 67% cuando las alteraciones implican más de un exón. Obtuvieron un 28% de incidencia para el desarrollo de inhibidores en aquellos pacientes que presentaban mutaciones sin sentido variando este porcentaje según la zona afectada. Las deleciones e inserciones de 50 pares de bases o menos eran consideradas pequeñas y en ellas, el desarrollo de inhibidores fue de 15%. En mutaciones sin sentido, la proporción para el desarrollo de inhibidores fue del 8%. Finalmente, las mutaciones del sitio de corte y splicing obtuvieron una incidencia de 7% en el desarrollo de inhibidores (Gouw et al., 2012). Por lo anterior, es importante conocer la mutación fundadora de la hemofilia para tenerla en consideración al seleccionar el tratamiento en el manejo del enfermo.

También se ha estudiado el rol del sistema inmune en el desarrollo de inhibidores. Se cree que el complejo mayor de histocompatibilidad de clase II podría estar implicado en la facilidad para desarrollar inhibidores, pues ciertos haplotipos de HLA se ha visto en investigaciones son más propensos a presentar péptidos del factor VIII exógeno a células T cooperadores, llevando al desarrollo de inhibidores. (Kempton & Payne, 2018). De igual forma se ha demostrado que algunos polimorfismos en citoquinas (como interleucinas o factor de necrosis tumoral) y el

antígeno 4 del linfocito T citotóxico (CTLA-4) pueden favorecer el desarrollo de anticuerpos neutralizantes anti-factor. (Bardi & Astermark, 2015)

Se dice entonces que el desarrollo de inhibidores en la hemofilia A y B es básicamente una consecuencia multifactorial, dada por factores no modificables como lo es la genética propia de cada persona, es decir la mutación fundadora de la patología, el fenotipo de MHC II, los polimorfismos de citoquinas y la raza o etnia. Y por otro lado se encuentran los factores ambientales o modificables entre los cuales se puede mencionar la terapia de manejo del paciente, el tipo de concentrado administrado, así como el modo de aplicación y la edad de la primera exposición al factor exógeno. (Witmer & Young, 2013)

Es trascendental la detección de los inhibidores por todo lo ya comentado. La técnica para la detección de los inhibidores contra factor VIII y IX es el conocido método Bethesda.

El método Bethesda se basa en medir la capacidad de los aloanticuerpos de neutralizar el factor VIII de un plasma normal. Se realizan diluciones seriadas del plasma a testear con un buffer imidazol y posteriormente se le adiciona un plasma normal, los anticuerpos si están presentes neutralizan el factor VIII aportado por el plasma, en paralelo se trabaja un tubo control que contiene en partes iguales buffer imidazol y plasma normal. Una Unidad Bethesda (UB) se define como la cantidad de inhibidor capaz de neutralizar el 50% del factor VIII del plasma normal, por ende, para reportar las UB de un paciente se debe trabajar en una dilución donde se tenga entre 25% y 75% de factor VIII residual. El factor VIII residual se calcula al dividir la actividad de factor VIII en la mezcla del paciente entre la mezcla control y multiplicando por 100. La determinación de las UB en los hemofílicos con inhibidor es de suma importancia pues estas son tomadas en cuenta por las guías para el manejo clínico. Según la Sociedad Internacional de Hemostasia y Trombosis (ISTH) el título de un inhibidor igual o mayor a 0.6UB/mL es clínicamente significativo. (Seheult et al., 2020)

Con el pasar de los años se ha visto que el método Bethesda tiene ciertas limitantes que pueden generar resultados falsamente disminuidos en la cuantificación del inhibidor y es a partir de ello que se crea la modificación conocida como el Método de Nijmegen, el cual hace básicamente dos modificaciones a la metodología inicial. La primera modificación es que el plasma normal utilizado para hacer las mezclas es bufferizado a un pH de 7,4 y la segunda es que se trabaja con un plasma depletado de factor VIII para realizar la mezcla control, con esto se asegura no tener falsas disminuciones en el VIII residual por degradación del factor. (Connie H. Miller, Brian Boylan, Amy D. Shapiro, Steven R. Lentz, 2016). Tanto en el Hospital Nacional de Niños como en el Hospital México que son los dos grandes centros médicos públicos que dan atención a pacientes hemofílicos en el país, por temas de costos se trabaja con el método Bethesda, sin embargo, se espera pronto hacer las modificaciones del caso para poder instaurar el método de Nijmegen.

Manifestaciones Clínicas

Las manifestaciones clínicas en el paciente hemofílico van a variar dependiendo de la severidad del caso y son indistinguibles entre hemofilia A y B. Los hemofílicos leves prácticamente cursan asintomáticos y muchas veces son diagnosticados simplemente por valores anómalos en el tiempo de tromboplastina (TTP) en exámenes de rutina. Los hemofílicos moderados rara vez presentan clínica de sangrado, salvo en situaciones de estrés como operaciones, extracciones dentarias o situaciones similares. Caso contrario sucede en los hemofílicos severos quienes si presentaran una clínica de sangrado importante desde sus primeros meses de vida o incluso al nacimiento (Kulkarni & Soucie, 2011).

En recién nacidos, el riesgo de sangrado más común es posterior a la circuncisión seguido del sangrado en sistema nervioso central que ronda un 18%, este riesgo es un poco más elevado que en niños de mayor edad, donde los porcentajes de sangrado en sistema nervioso central disminuyen notablemente, quizá se deba a la

inmadurez del sistema óseo, así como el evento traumático que implica el nacimiento (Kulkarni & Soucie, 2011).

A nivel general, la principal manifestación clínica de la hemofilia severa es el daño en las articulaciones producto de los constantes sangrados, los cuales pueden ser espontáneos o desencadenados por pequeñas situaciones como golpes, caídas, entre otros. Rodillas, codos y tobillos son las articulaciones diana de esta patología. Cuando se produce sangrado en una articulación, usualmente el mismo es reabsorbido por las células sinoviales y macrófagos, sin embargo, cuando se produce con constancia como sucede en la hemofilia severa, se presenta una hipertrofia e hiperplasia de las células del líquido sinovial resultando en fibrosis, erosión y formación de quistes y finalmente degeneración de la articulación, cuadro clásico de esta enfermedad. Se dice que en promedio a los 25 años un 90% de los hemofílicos severos tienen cambios crónicos degenerativos en al menos una de sus articulaciones. (Valentino et al., 2012)

Es posible identificar sangrados musculares y de tejidos blandos, contrario a la epistaxis o sangrado de mucosas que son muy raros en hemofilia y se debería pensar ante estas situaciones en otras patologías como la Enfermedad de Von Willebrand. (Kulkarni & Soucie, 2011)

La edad en la cual es diagnosticada la hemofilia dependerá de si existe historia familiar, en estos casos incluso en los primeros días de vida o *in útero* es posible realizar el diagnóstico. Por el contrario, cuando no hay historia familiar de hemofilia, el diagnóstico se realiza un poco más tardío, usualmente cuando el niño inicia el gateo y se empiezan a manifestar los primeros hematomas u otros sangrados (Hoffman et al., 2018).

Diagnóstico

Para estudiar a un paciente por estas patologías se inicia con una de las pruebas más básicas, el tiempo de tromboplastina parcial activado o TTP, prueba que evalúa la vía intrínseca de la coagulación, por ende, ante la disminución de factor VIII o IX se tendrán tiempos alargados en el TTP. Siempre que se tenga un valor alterado de TTP es recomendable realizar la cuantificación de factores incluso en ausencia de clínica pues como se mencionó anteriormente, los sujetos con hemofilia leve y moderada, rara vez presentan clínica sangrante (Grupo CAHT, 2013).

El paso por seguir es la cuantificación de factor VIII y IX para determinar el valor exacto y clasificar al individuo en hemofilia severa, moderada o leve e iniciar el correcto tratamiento profiláctico si así lo necesitase. Para la cuantificación de los factores existen métodos coagulométricos que se basan en la medición del tiempo en segundos que tarda en coagular un plasma libre del factor en estudio, posterior a la adición del plasma del paciente (que sería la fuente de factor). Estos métodos son los más comunes en los laboratorios, sin embargo, pueden ser alterados por factores externos como el inhibidor lúpico, paraproteína, entre otros, por ello existen también en el mercado los métodos cromogénicos (Grupo CAHT, 2013). El factor VIII cromogénico (FVII:C) tiene como fundamento la medición de la producción de factor Xa mediante una reacción colorimétrica, en un sistema controlado donde se tiene factor X, factor IXa, fosfolípidos, calcio, el factor VIII sería aportado por la muestra en estudio (Grupo CAHT, 2013). El FVIII:C posee la ventaja de no verse afectado por otros inhibidores como el inhibidor lúpico y además logra detectar ciertas variables de factor VIII inestable producidas por mutaciones sin sentido que en ocasiones se escapan por el método coagulométrico (Hoffman et al., 2018). En el caso de la hemofilia B se debe tomar en cuenta que los recién nacidos tienden a manejar niveles bajos de los factores vitamina K dependientes, entre ellos el factor IX, por inmadurez de las carboxilasas encargadas de metabolizar la vitamina K, por ende, niveles disminuidos de factor IX deberían ser confirmados después de los 6 meses o inclinarse al diagnóstico genético. (Peyvandi, Garagiola, et al., 2016)

Otra arista del diagnóstico en hemofilia es el diagnóstico molecular. Es de vital importancia la detección de portadoras para consejo genético. En el caso de niños hemofílicos es importante identificar la mutación fundadora pues como se ha mencionado el genotipo tiene relación con el fenotipo y el desarrollo de inhibidores. Si se conoce la mutación fundadora en una familia pues se inicia por buscar dicha mutación, sin embargo, en la mayoría de los pacientes se desconoce (Rossetti LC, 2016).

En el caso de un hemofílico A se debe iniciar por la búsqueda de la inversión del intrón 22 dada su alta prevalencia, seguida de la inversión del intrón 1, en caso de no encontrar alguna de dichas inversiones lo que resta es continuar con secuenciación de Sanger de los 26 exones del gen del factor VIII. En el caso de la hemofilia B como no existen mutaciones de alta incidencia, lo acostumbrado es pasar a la secuenciación de los 9 exones del gen de factor IX, los límites entre intrón y exón y la región promotora del factor IX. En ambas patologías es posible utilizar la técnica de MLPA para la detección de grandes deleciones o inserciones. (Peyvandi, Garagiola, et al., 2016)

En Costa Rica, el Hospital Nacional de Niños es el único centro de la Caja Costarricense del Seguro Social que cuenta con diagnóstico molecular para los hemofílicos. El algoritmo diagnóstico utilizado inicia con la búsqueda de la inversión el intrón 22 en el caso de ser una hemofilia A, si dicha alteración no es encontrada, se pasa a la secuenciación, pasando por alto la inversión del intrón 1 pues la detección ha sido prácticamente nula en los pacientes de dicho nosocomio. Se utiliza secuenciación de nueva generación y no secuenciación de Sanger por temas prácticos, sin embargo, al detectar alguna variante de un solo nucleótido (SNV) la misma es confirmada por secuenciación de Sanger (Santamaría Quesada, 2021).

Como es posible leer, la hemofilia tanto A como B son patologías de diagnóstico complejo que necesita de centros médicos equipados con las metodologías para tal fin, y su manejo clínico es igualmente difícil como se verá más adelante.

CAPÍTULO 3

TERAPIAS UTILIZADAS EN EL TRATAMIENTO DE LA HEMOFILIA:

TRATAMIENTO CONVENCIONAL Y NUEVAS TERAPIAS

La hemofilia es una enfermedad de la cual se logran recopilar indicios desde el siglo II después de Cristo, se puede leer en papiros judíos como los hijos de madres que habían perdido sus dos primogénitos por causa de hemorragia post circuncisión, eran exentos de este procedimiento. Aparte de lo anterior, se intentaba encontrar el tratamiento idóneo para el manejo de estos pacientes, la literatura indica por ahí de los años 1900 cuando ya se habla de la patología como tal, el uso de cal, peróxido de hidrógeno, gelatina e inhalación de oxígeno como opciones terapéuticas. Para 1926 en una publicación del catálogo del Cirujano General de los Estados Unidos se puede leer como indican el uso de citrato de sodio, lactato de calcio y esplenectomía para el manejo de los enfermos, pero más interesante aún, es que indican la terapia con inyección de sueros de animales y humanos, incluso documentan el uso de suero de la madre de un niño enfermo acercándose un poco más a un tratamiento adecuado. Sin embargo, no fue hasta la puesta en práctica de la transfusión sanguínea que se desarrolla en 1840, cuando realmente se obtuvieron mejores resultados en el manejo del hemofílico. Se comprende entonces que existía una deficiencia en el organismo que se corregía cuando se administraba plasma sanguíneo, se nota que esta era efectiva para crisis hemorrágicas por traumatismo y también lo era para las hemorragias espontáneas en articulaciones y músculos. Sin embargo mayor cantidad de producto era necesario ante un traumatismo, dada esta necesidad y el avance en la investigación, se descubre que al descongelar el plasma se obtiene una porción rica en factores idónea para el manejo de los pacientes sangrantes y es lo que hoy en día conocemos como crioprecipitados (Ingram, 1976). Con el pasar de los años y la incursión del virus del VIH en la población, muchos hemofílicos se vieron contagiados por el uso de

derivados sanguíneos y este suceso hizo necesario el cambio en la hemoterapia y la búsqueda de nuevas opciones más seguras.

Hoy en día el tratamiento para el paciente hemofílico tiene dos vertientes: la terapia sustitutiva y la terapia profiláctica.

La terapia sustitutiva o de reemplazo tiene como finalidad otorgar el factor deficiente, ya sea VIII o IX según corresponda, con el fin de lograr una hemostasia adecuada en la persona que está ante un sangrado agudo. La cantidad de factor a infundirse, así como la frecuencia dependerán de distintos elementos como gravedad de la hemorragia, tipo de hemofilia (severa, moderada o leve), características del factor, entre otros. Por ejemplo, para hemorragias que ponen en riesgo la vida, se desea niveles de factor entre 80 a 100%, para hemorragias leves con un 40-60% será suficiente para lograr una estabilización (Peters & Harris, 2018)

La terapia profiláctica tiene como principal objetivo la prevención de sangrados espontáneos y por ende conservar la funcionalidad de las articulaciones y evadir el daño musculoesquelético. La profilaxis surge producto de la observación de que los sujetos hemofílicos moderados, quienes tienen niveles de factor entre 1 y 5UI/dL no sangran espontáneamente, por ello, con la terapia profiláctica se busca mantener niveles de factor VIII y IX por encima de 1UI/dL (Srivastava et al., 2020).

El primer tratamiento profiláctico que se reporta es el protocolo Malmö en Suecia en el año 1958. Con éste se pretendía que al administrar altas dosis de factor VIII, de entre 20-40IU/kg cada dos días o al menos tres veces por semana, se mantuvieran niveles del factor siempre por encima de 1UI/dL. El protocolo se iniciaba tan pronto como se pudiera, incluso antes de que se reportara el primer sangrado, consiguiendo para los años 90 excelentes resultados en la disminución de artropatías en las personas que participaban de este procedimiento clínico. Poco después llega el protocolo holandés en el año 1960 donde se utiliza una concentración menor, 15-20 IU/Kg de factor VIII dos a tres veces por semana era usado en individuos con hemofilia A y en el caso de la hemofilia B se utilizaba 30-

50 IU/Kg de factor IX una o dos veces por semana, además la profilaxis se iniciaba después de la primera hemartrosis, alrededor de los dos años. El sistema holandés ofrecía un menor consumo de concentrado de factor en comparación con el protocolo sueco. Posteriormente surge el protocolo canadiense que a diferencia de los europeos, utilizaba menores cantidades de concentrado, ya que se administraba una dosis semanal de factor de 50UI/Kg, si la frecuencia de sangrados era inaceptable se escalonaba a dos veces por semana a 30UI/Kg de factor; sin embargo, se observó que los sujetos del sistema canadiense presentaban mayores daños articulares que en los europeos (Dargaud et al., 2018). Lo anterior permite evidenciar como el manejo de los hemofílicos es sumamente complicado y llegar a una terapia consenso es difícil.

Hoy en día, la recomendación de la Federación Mundial de Hemofilia es realizar dos infusiones por semana de factor IX en el caso de la hemofilia B y dos a tres veces por semana de factor VIII en el caso de la hemofilia A. Cada IU de factor VIII por kilogramo de peso infundido intravenosamente, eleva los niveles plasmáticos en aproximadamente 2UI/dL, se reporta una vida media de 12 horas en adultos y un poco menos en niños, para los concentrados de vida media estándar, pues como se verá más adelante existen ahora nuevos concentrados modificados que poseen una vida media extendida. Para el factor IX por el contrario cada IU de factor concentrado por kilogramo de peso infundido intravenosamente, eleva los niveles plasmáticos en aproximadamente 1 UI/dL, pero posee una vida media un poco mayor, de aproximadamente 18 a 24 horas. (Srivastava et al., 2020).

La profilaxis convencional se divide en primaria, secundaria y terciaria, dicha división está dada por el tiempo de inicio; y en alta dosis, intermedia dosis y baja dosis según la cantidad de factor infundido. La profilaxis primaria comienza en ausencia de enfermedad articular, antes de la segunda hemorragia articular clínicamente evidente y antes de los 3 años de edad. La secundaria es iniciada después de dos o más hemorragias articulares, pero antes de del inicio de la enfermedad articular, esto usualmente es a los 3 años de edad o más. Finalmente,

la terciaria se inicia posterior al comienzo de la enfermedad articular documentada, esto usualmente durante la edad adulta.

Por otro parte, la división según dosis para concentrados de factor de vida media estándar se puede observar en el cuadro 1.

Cuadro 1: Categorías según dosis para el manejo profiláctico de hemofilia A y B con concentrados de vida media estándar (Srivastava et al., 2020)

	HEMOFILIA A	HEMOFILIA B
Dosis baja	10-15 U FVIII/Kg 2 a 3 días por semana	10-15 UI FIX/Kg 2 días por semana
Dosis intermedia	15-25 UI FVIII/Kg 3 días por semana	20-40 UI FIX/Kg 2 veces por semana.
Dosis alta	20-45 UI FVIII/Kg cada 2 días	40-60 UI FIX/Kg 2 veces por semana

El tratamiento profiláctico en hemofilia es un reto importante, se desearía que las infusiones lleven a niveles de 15UI/dL o más, pero esto no es viable por temas de costos. La diferencia en las vidas medias de los factores explica en parte la variabilidad en frecuencia de infusión de ambos concentrados, sin embargo, estos valores teóricos son dependientes de muchas condiciones asociadas al paciente, por ejemplo, estilo de vida, presencia de inhibidores, adherencia al tratamiento, edad, intensidad de actividad física, estado de las venas, entre otros y por ende la ausencia total de sangrados espontáneos lamentablemente no es posible. En vista de la variabilidad intraindividual, se propone personalizar el tratamiento mediante estudios de farmacocinética que toman en cuenta la frecuencia de hemorragias, la actividad física, así como el estado de las articulaciones y el sistema musculoesquelético de cada persona (Collins, 2012).

La farmacocinética es vital en el manejo de la persona que padece hemofilia pues está más que evidenciado que los protocolos no son efectivos para todos, y muchas veces no se logra el objetivo de mantener niveles por encima de 1UI/dL. Por ejemplo, suponiendo que se le aplica a un individuo una dosis tres veces por semana, es decir lunes, miércoles y viernes, es altamente probable que el día domingo se presenten niveles subóptimos de factor y se encuentre desprotegido ante sangrados espontáneos, en ese caso sería ideal reajustar la dosis el día viernes para procurar alargar el aclaramiento del factor, de forma tal que el día domingo aún el enfermo se encuentre cubierto (Figura 2) (Collins, 2012).

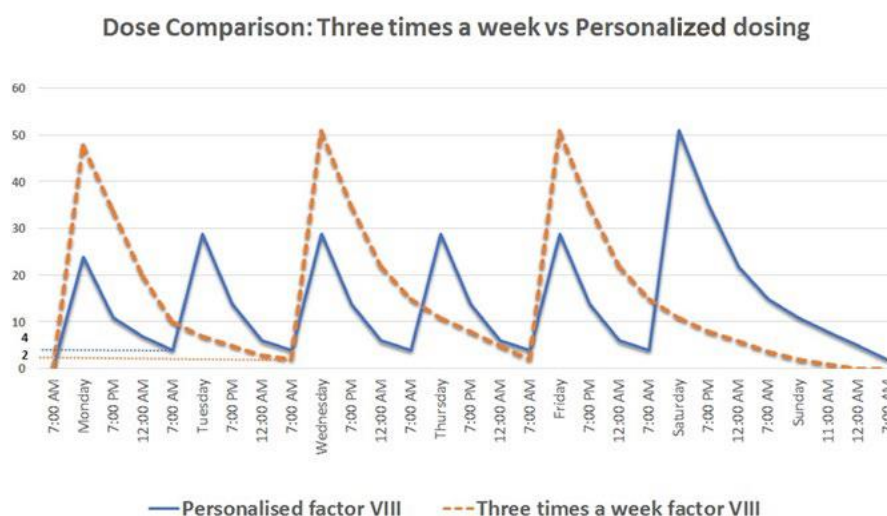


Figura 2: Ejemplo de curvas farmacocinéticas de factores de la coagulación en el uso de la profilaxis personalizada en hemofilia (Dargaud et al., 2018)

Los estudios de farmacocinética evalúan la concentración de un fármaco en sangre producto de la absorción, distribución, metabolismo y eliminación de este, y es lo que se pretende obtener en las curvas de farmacocinética de los hemofílicos (Dargaud et al., 2018).

En el caso de los estudios farmacocinéticos para hemofilia, se realizan mediciones seriadas posterior a la infusión del bolo de concentrado de factor con el fin de determinar el pico máximo de concentración sanguínea, así como la disminución

posterior del mismo, hasta detectar el tiempo en que el enfermo llegue a niveles no óptimos, es decir menos de 1UI/dL de factor. El tiempo en que el factor se encuentre en 1UI/dL es clave, pues sería el indicador para la aplicación de la próxima dosis. Según el comité científico y de estandarización de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) para estudios de farmacocinética es indispensable tomar una muestra pre-infusión, seguido de una a los 10-15 minutos que sería el tiempo aproximado en completarse la infusión, además de una toma a los 30 minutos y 1 hora. Los tiempos de toma de muestra posteriores dependen del factor infundido. Para el factor VIII, lo recomendado es tomar especímenes a las 3, 6, 9, 24, 28 y 32 horas post infusión. En el caso del factor IX lo ideal es hacer las tomas a las 3, 6, 9, 24, 48 y 50 horas post infusión (Lee et al., 2001). Si se trabaja con concentrados de vida media extendida, toma de muestras deben ser adicionadas a las 60-84 en el caso del factor VIII y 5 a 14 días en el caso del factor IX (Iorio et al., 2017).

Los análisis de farmacocinética pueden tornarse un tanto complejos en cuanto a términos económicos por las mediciones de laboratorio, así como intensos para los pacientes por la cantidad de punciones, por lo que existen modificaciones a las recomendaciones, de forma tal que se logra adaptar las dosis individuales al estimar parámetros farmacocinéticos por comparación con modelos poblacionales. Para el factor VIII un protocolo aceptable sería la toma de dos a tres colecciones, separadas al menos por 12 horas en un periodo de 24 a 48 horas, es importante tomar la muestra a las 24 horas pues es de las más informativas. En el caso de la hemofilia B se puede realizar la medición de factor IX con dos muestras, con al menos 24 horas de diferencia, logrando obtenerse de un protocolo reducido como este, información valiosa (Iorio et al., 2017).

Existen páginas web y programas informáticos que se encargan de realizar predicciones, al comparar el nivel plasmático del factor del paciente con estándares farmacocinéticos poblacionales. Estos se encargan de predecir la concentración en el momento en que se realizó la medición, tomando en cuenta variables como peso,

dosis aplicada, medicamento empleado, entre otros, dándole una idea al clínico del comportamiento del paciente y si este necesita un reajuste de dosis o frecuencia de aplicación (McMaster University, 2021).

Existen además varios instrumentos que permiten individualizar el tratamiento, prediciendo si el régimen aplicado a un enfermo es efectivo o no, no limitándose únicamente al nivel cuantitativo de la proteína de la coagulación. En su mayoría son utilizados para la investigación clínica, entre ellos se puede nombrar la tasa anual de sangrado, que es una medida de la frecuencia de hemorragias que se presentan en el paciente (Recht et al., 2016) y el puntaje de salud de las articulaciones que es otra herramienta de medida. Dos de los puntajes de salud más utilizados son el puntaje de examen físico de la Federación Mundial de Hemofilia conocido como puntaje de Gilbert y el puntaje de salud de las articulaciones de hemofilia. Existen otros sistemas que evalúan el estado de rodillas, codos y tobillos principalmente, que son las articulaciones diana en la hemofilia, toman en cuenta el dolor, deformaciones, rango de movilidad, entre otros (Boehlen et al., 2014). Finalmente están los cuestionarios de calidad de vida que proporcionan una medida cuantitativa e integral de la calidad de vida de los mórbidos, tomando en cuenta aspectos funcionales, emocionales y sociales (Boehlen et al., 2014).

Los instrumentos mencionados anteriormente, si bien se utilizan en investigación clínica como se indicó, poco a poco se han ido incorporando en el manejo clínico, sin embargo, la estandarización es mínima y se requiere el desarrollo de más y mejores herramientas que colaboren en el seguimiento idóneo del paciente (Recht et al., 2016).

Concentrado de factores

El producto más sencillo de producir para tratamiento en hemofilia son los crioprecipitados o el plasma fresco congelado, desde luego no es la opción ideal

por temas de estandarización, cantidad de factor, vida media, contaminación con agentes virales, entre otros, pero lamentablemente existen países subdesarrollados que únicamente cuentan con este recurso. (Srivastava et al., 2020)

Lo más utilizado en la actualidad son los concentrados de vida media estándar, hay muchas opciones disponibles en el mercado y en la página de la Federación Mundial de la Hemofilia es posible consultar la lista de productos que se comercializan tanto para factor VIII como factor IX (<https://elearning.wfh.org/resource/online-cfc-registry/>).

Los concentrados de factor derivados de plasma son aquellos que se consiguen de los crioprecipitados obtenidos de grandes pools de plasmas de donantes. La proteína es purificada mediante diversas técnicas de adsorción y precipitación, cromatografía con anticuerpos monoclonales, entre otras, lo que permite obtener un producto de buena calidad en cuanto a concentración de factor, pero no un producto seguro pues puede estar contaminado con diversos microorganismos patógenos como el virus del HIV, hepatitis B, C, entre otros y de hecho esta fue una problemática severa en los años 90. Por ello, es indispensable someter los concentrados a tratamientos que permitan la eliminación de microorganismos. Los más utilizadas son el lavado con solventes y detergentes, pasteurización, tratamiento con calor seco y calor de vapor y la nanofiltración; todos ellos permiten la inactivación y eliminación de virus y bacterias, al menos de los más problemáticos como HIV y hepatitis B, sin embargo hay algunos microorganismos que se ha evidenciado pueden escapar a estos tratamientos y causar infección en los pacientes hemofílicos que reciben el concentrado de factor (Kevane & O'Connell, 2018).

Factores recombinantes

Con la caracterización genética del ADN que codifica por el factor VIII y IX en los años 1984 y 1982 respectivamente (Kurachi & Davie, 1982) (Franchini & Lippi, 2010), surge una nueva era en el tratamiento de la persona hemofílico con la producción de factores recombinantes. La proteína de factor VIII y IX fue sintetizada en cultivo celular, al realizarse la transferencia genética a células de ovario y riñón de hámster, las proteínas obtenidas son bastantes similares a los factores salvajes. Estas proteínas derivadas de cultivo celular son estabilizadas con albúmina humana y animal y son conocidos como la primera generación de factores recombinantes. Para la segunda generación, la albúmina es sustituida por sacarosa. Toda proteína animal y humana adicional, tanto a nivel de formulación como de producto final, es eliminada, con el fin de obtener un producto más puro y es lo que se conoce como factores recombinantes de tercera generación. Algunas marcas comerciales trabajan con la proteína completa, mientras que en el caso del factor VIII, algunos excluyen el dominio B pues se ha visto que posee mayor potencial inmunogénico, pero este dominio no es necesario para la funcionalidad de la proteína. (Franchini & Lippi, 2010). Una de las principales ventajas de recombinantes es su nivel de seguridad en cuanto a la prácticamente nula contaminación con microorganismos infectocontagiosos, eliminando uno de los principales efectos negativos de los concentrados de factores derivados de plasma (Kevane & O'Connell, 2018).

Factores de vida media extendida

Algunos de los factores recombinantes son llamados además de vida media extendida, pues sufren de procesos adicionales que tienen como fin disminuir la tasa de eliminación de la proteína. Algunos de estos mecanismos son la unión a una molécula que sirva como un vehículo de liberación lenta, la unión a moléculas hidrofílicas y la producción de nueva moléculas de fusión o variantes (Lillicrap, 2010). La pegilación es una de las estrategias más utilizadas y es el proceso

mediante el cual, el factor recombinante es unido a una molécula de polietilenglicol, la cual proporciona un escudo hidrófilo que lo protegerá de procesos proteolíticos y a la vez inhibe el aclaramiento mediado por receptores (Arruda et al., 2018), este procedimiento colabora además en la reducción de la inmunogenicidad del producto final ya que algunos epítomos pueden quedar ocultos (Lillicrap, 2010).

Otro mecanismo utilizado en la extensión de la vida media es la fusión del factor con proteínas como la albúmina o la inmunoglobulina, quienes tienen vidas medias de aproximadamente 25 días y además son ricas en plasma. Esta fusión se da a través del receptor neonatal Fc, que evita la degradación lisosomal (Arruda et al., 2018; Lillicrap, 2010).

Se ha visto que la vida media del factor Von Willebrand, la cual es de aproximadamente 16 horas, representa una limitante para los factores VIII de vida media extendida, pues el VIII se une covalentemente a este para poder viajar en circulación y protegerse de proteólisis, por ende, la eliminación del factor Von Willebrand llevará consigo la eliminación del factor VIII unido, restándole potencia a todos los esfuerzos realizados por efectuar modificaciones sobre el VIII para extender su vida media. Se crea entonces la necesidad de trabajar e investigar en moléculas que den solución a este inconveniente (Peters & Harris, 2018). BIVV001 es un novedoso producto que consiste en una molécula de factor VIII acoplada a un Fc dimérico, un dominio D'D3 del factor Von Willebrand y dos polipéptidos XTEN. El Fc de IgG como ya se mencionó colabora en extender la vida media del VIII, los XTEN blindan estéricamente al factor protegiéndolo de su degradación y colaborando también en extender la vida media; lo más novedoso de esta molécula es el dominio D'D3 del factor Von Willebrand pues esta unión evita el acople con Von Willebrand endógeno, sin embargo tiene las mismas características estabilizadores, se logra entonces la permanencia en circulación por más tiempo de la molécula (Konkle et al., 2020).

Lamentablemente tanto los concentrados de factores, los factores recombinantes y los factores de vida media extendida tienen el potencial inmunogénico para desarrollar anticuerpos, se dice que un tercio de las personas con hemofilia severa desarrolla inhibidores, lo que representa hoy en día uno de los principales retos en el manejo del paciente. Los sangrados agudos se tratan con agentes hemostáticos alternativos (bypaseantes), concentrado de complejo protrombínico y factor VII activado recombinante (Franchini et al., 2019).

Muchos individuos que desarrollan inhibidores son sometidos a terapia de inmunotolerancia, donde se aplican altas dosis del factor en cuestión de forma tal que, tras la aplicación, se logre la erradicación de los aloanticuerpos, por inmunotolerancia del sistema inmune (Kevane & O'Connell, 2018). La dosis y el producto por utilizar no está bien estandarizado, pero se habla de una baja dosis y frecuencia aplicando 50UI/kg 3 veces a la semana y una alta dosis y frecuencia de 200UI/kg diario con concentrados de vida media estándar, hay pocos datos para esta técnica relacionados a los factores de vida media extendida (Srivastava et al., 2020). Sin embargo, el objetivo no siempre se logra y los costos de esta estrategia son elevados razón por la que la búsqueda de nuevos y mejores tratamientos es constante y a continuación revisaremos algunos de los principales y más innovadores medicamentos que hay en el mercado o en fases de estudio. Cabe destacar que muchos de ellos evaden la terapia sustitutiva, es decir, no intentan suplementar la deficiencia que el paciente tiene como se maneja normalmente, si no que tratan de instaurar la generación de trombina mediante la estimulación de distintos mecanismos como se verá a continuación.

Emicizumab

Este fármaco responde al nombre comercial de HEMLIBRA®. Consiste en un anticuerpo quimérico de origen humano que tiene la capacidad de mimetizar la función del factor VIII, es decir un brazo del anticuerpo se puede unir al factor IX

activado y el otro brazo al factor X, permitiendo la producción de trombina tras la activación normal de la cascada de la coagulación (Yada & Nogami, 2019).

Es importante mencionar que este medicamento cuenta con la aprobación de la US Food and Drug Administration (FDA) para su aplicación en el manejo clínico de la hemofilia A (Franchini & Mannucci, 2018).

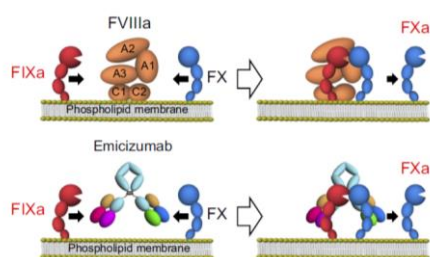


Figura 3: Mecanismo de acción de emicizumab (Yada & Nogami, 2019)

Dado su mecanismo de acción es utilizado únicamente en la hemofilia A, para pacientes sin inhibidores y con inhibidores. La administración se realiza subcutáneamente, lo que brinda una mejora excepcional en aquellos sujetos con accesos venosos complicados además que permite la auto aplicación desde la comodidad de la casa. Tiene una vida media de 4 a 5 semanas aproximadamente, lo que permite que una aplicación subcutánea semanal o incluso con menor frecuencia, sea suficiente para mantener la hemostasia y disminuir el riesgo de sangrado (Oldenburg et al., 2019).

Aspectos importantes de este medicamento que se deben tener presentes en la monitorización del paciente, es que dado su mecanismo de acción, interfiere con todas las pruebas coagulométricas convencionales que se tienen en el laboratorio, por ello es necesario que los centros médicos cuenten con métodos cromogénicos pero además es indispensable que estén conformados por factor IXa de origen no humano (en su mayoría son de origen bovino), pues como se mencionó el emicizumab reconoce el IX y X humanos, entonces en las pruebas in vitro sucedería

lo mismo que sucede in vivo, pero con los factores que aporta el reactivo, por eso la necesidad de usar reactivos con IXa bovino para lograr una cuantificación real de los tiempos de coagulación y factor VIII. (Franchini et al., 2019).

Lo anterior suma una limitación al uso de este medicamento pues las metodologías cromogénicas son costosas y no todos los laboratorios cuentan con ellas. Otra limitante que se puede mencionar es la poca experiencia que se tiene con este medicamento pues su uso en la clínica es de poco más de un año por lo que es necesario estudios observacionales a largo plazo para dar con posibles efectos, entre ellos la salud articular. No se puede dejar de lado los altos costos de este medicamento, justificante para que muchos no puedan, lamentablemente, acceder a él (Neme, 2021).

Es importante mencionar la necesidad de tratamientos adicionales para el manejo de hemorragias agudas y cirugías, pero una consideración importante que se debe tener presente en el manejo de pacientes que son tratados con este fármaco, es que según resultados obtenidos del estudio clínico HAVEN 1, los investigadores establecieron claramente que no puede darse el uso concomitante de emicizumab y concentrados de complejo protrombínico activado en el manejo de sangrado agudo pues el riesgo de un evento trombótico es alto, por ello estas situaciones agudas deben ser tratadas con concentrados de factor VIIIa en el caso de individuos sin inhibidor o agentes bypasseantes como FVIIa para quienes han desarrollado aloanticuerpos (Franchini et al., 2019; Oldenburg, Mahlangu, Kim, Schmitt, Callaghan, Young, Santagostino, Kruse-Jarres, et al., 2017).

Inhibidores de TFPI (Inhibidor de la vía del Factor Tisular)

Como se venía mencionando, muchos de las nuevas ideas terapéuticas cambian el manejo sustitutivo clásico y se enfocan en otros objetivos como reducir la cantidad y función de ciertos inhibidores naturales de la coagulación. Uno de los principales

objetivos blancos es el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), quien es un inhibidor de proteinasa plasmática de tipo Kunitz multivalente y como su nombre lo dice es una molécula implicada en la inhibición del factor tisular, actor principal de la fase de iniciación. (Franchini & Mannucci, 2018).

Es importante recordar que producto de una lesión endotelial, el factor tisular es expuesto, este se une al factor VIIa y juntos activan al factor X. La producción de factor Xa está regulada por el TFPI, pues se forma un complejo TF/FVIIa/TFPI/FXa donde los dominios kunitz 1 y 2 del TFPI se unen al FVIIa y FXa respectivamente y se inhibe de esta forma el complejo tenasa, la formación de FXa y por ende la generación de trombina (Hoffman et al., 2018).

Existen varias moléculas en el mercado que utilizan esta vía como blanco principal. Cabe destacar que dichos agentes terapéuticos pueden ser ensayados tanto en pacientes con hemofilia A como hemofilia B pues utilizan un mecanismo de acción independiente al factor VIII y IX, e intentan únicamente mediante la inhibición del TFPI lograr una producción de cantidades adecuadas de trombina (Figura 4). Uno de ellos es el BAY1093884 o Befovacimab de la empresa Bayer, el cual es un anticuerpo de tipo IgG2 de origen humano dirigido contra el TFPI humano y murino que se perfila con bajo potencial de toxicidad e inmunogenicidad (Chowdary et al., 2018).

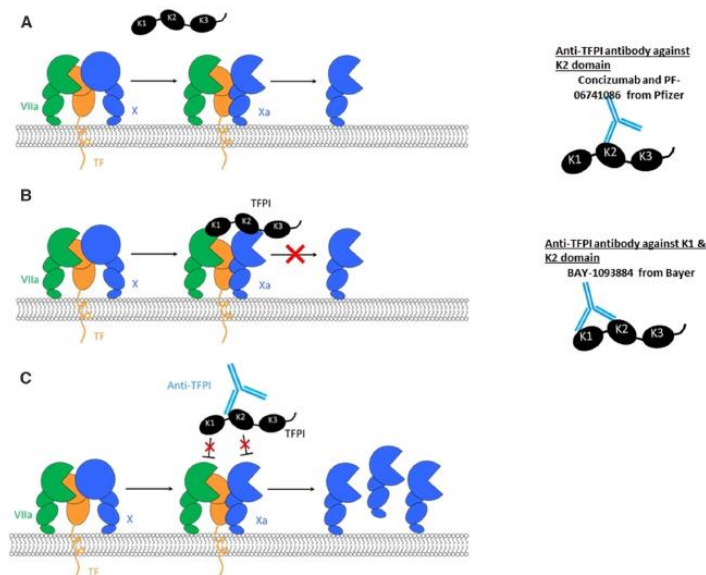


Figura 4: Mecanismo de acción de los Inhibidores de TFPI (Chowdary, 2018)

Otra molécula estudiada es el BAX-499, este tiene una estructura un poco diferente a la anterior pues es un aptámero oligonucleotídico que ha sido conjugado con polietilenglicol, el cual tiene la capacidad de unirse con los dominios kunitz 1, 3 y la porción C-terminal del TFPI logrando su inhibición. En ensayos preclínicos mostró resultados muy buenos al corregir pruebas viscoelásticas y tiempos de sangrado en modelos hemofílicos en animales, además corrigió los tiempos de coagulación de plasmas hemofílicos tanto A como B. Lamentablemente, al iniciar ensayos clínicos de esta molécula se presentaron eventos hemorrágicos importantes en los sujetos de estudio, donde los autores explicaron que este efecto adverso fue producto de elevaciones plasmáticas de TFPI contrario a lo esperado (Muczynski et al., 2017).

Dada la situación con BAX-499, nuevas moléculas han sido propuestas, pero dirigiéndolas contra los dominios kunitz 1 y 2. Estos dos dominios son los blancos terapéuticos ya que se ha identificado que kunitz 2 es necesario para la unión e inhibición del factor Xa, mientras que tanto kunitz 1 como kunitz 2 son necesarios para la inhibición del factor VIIa/factor tisular. Por otra parte, las alteraciones que

sufra el kunitz 3 no se ha visto que tenga un efecto significativo en la función de la proteína (Chowdary, 2018).

Uno de los fármacos más estudiados y con mayor avance en fases clínicas es el concizumab de la empresa Novo Nordisk también conocido como mAb2021. Este es un anticuerpo monoclonal humanizado de tipo IgG4, dirigido contra el TFPI, específicamente contra el dominio kunitz 2, de forma tal que evita la unión del TFPI tanto al Xa como al complejo VIIa/factor tisular. Los ensayos preclínicos de este medicamento fueron prometedores, pues una sola dosis, redujo los sangrados en modelos hemofílicos en conejos, este efecto fue observado con una sola dosis por hasta 7 días, por ende, los estudios clínicos no se hicieron esperar. Estudios de fase 3 se encuentran en desarrollo y permitirán esclarecer este punto. Otra ventaja de este medicamento es que se puede aplicar intravenosamente pero también la aplicación subcutánea ha sido validada, mostrando una buena biodisponibilidad y estabilidad, permitiendo que la aplicación mediante dispositivos de fácil uso y manejables en la comodidad de la casa sea viable, claramente esto es una ventaja maravillosa para el paciente hemofílico con difícil acceso venoso. (Chowdary, 2018; Franchini & Mannucci, 2018; Muczynski et al., 2017; Neme, 2021)

Al igual que otros nuevos medicamentos, los inhibidores de TFPI tienen las limitaciones de necesitar de otro tratamiento cuando se presenten hemorragias y cirugías, además se desconoce su efecto en la salud articular a largo plazo y los métodos de laboratorio necesarios para su monitoreo (Neme, 2021).

Inhibidores de antitrombina

Otro inhibidor de la coagulación que ha sido blanco terapéutico es la antitrombina, pues esta se encarga de inhibir la trombina, así como el Xa, por ende el bloquear la función de esta molécula puede ser una solución en el manejo de patologías sangrantes como la hemofilia A y B (Muczynski et al., 2017).

Esta observación surge del hecho de un raro caso de una persona con un perfil de hemofílico severo por sus niveles de factor VIII pero que presentaba un fenotipo de hemofílico moderado, situación que se presentó ante la concomitancia de la hemofilia y una deficiencia de antitrombina. Además, en modelos murinos la observación anterior fue constatada, pues ratones deficientes de VIII mejoraban su función hemostática por un aumento en la producción de trombina, ante niveles disminuidos de antitrombina (Muczynski et al., 2017).

Echando mano de un mecanismo natural que se presenta en plantas y mamíferos que es el silenciamiento de genes a partir de ARN de interferencia (ARNi) se desarrolla el medicamento conocido como fitusiran o ALN-AT3 de Alnylam Pharmaceuticals. El ARNi es un mecanismo bastante específico, se produce una degradación del ARNm de un gen diana al dirigirse a la eliminación por unión a un ARN bicatenario (Franchini & Mannucci, 2018; Machin & Ragni, 2018).

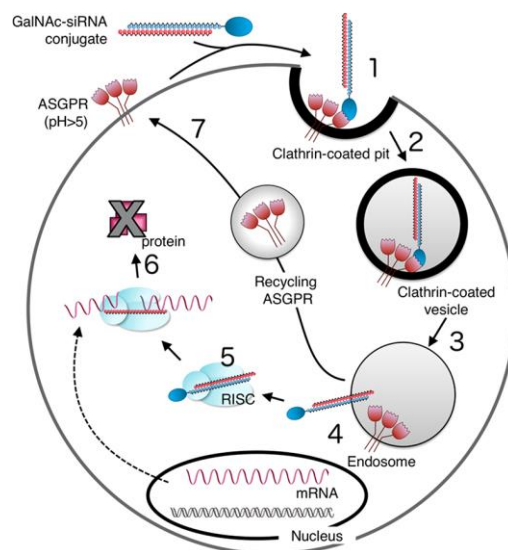


Figura 5: Mecanismo de acción de fitusiran (Benizri et al., 2019)

Fitusiran es un ARNi que tiene como blanco específico el ARNm que codifica por la antitrombina. Para llevar a cabo dicho bloqueo es necesario que el fármaco llegue hasta el hepatocito, pues el hígado es el principal órgano productor de antitrombina. Para lograr este direccionamiento, el ALN-AT3 es conjugado con N-

acetilgalactosamina (GalNac) ya que en los hepatocitos se expresa el receptor de asialoglicoproteína (ASGPR) que es el receptor para GalNac, lo que permite la unión del fármaco, la internalización por caveolas de clatrina y tras la acidificación de la caveola, se dé la liberación del ARNi para que se dirija al núcleo y se bloquee la producción de antitrombina por inhibición de su ARNm (Benizri et al., 2019; Muczynski et al., 2017; K. J. Pasi et al., 2017).

Los ensayos preclínicos de este fármaco mostraron buenos resultados en la disminución de los niveles circulantes de antitrombina, dicha disminución fue dosis dependiente, además se evidenció un aumento en la generación de trombina y una reducción en los sangrados. Basado en modelos hemofílicos de ratón, se estima que una reducción de más del 50% de los niveles de antitrombina podría devolver la hemostasia normal y mejorar los fenotipos de sangrado en hemofílicos con y sin inhibidores (Machin & Ragni, 2018).

Este novedoso fármaco está indicado para sujetos con hemofilia A y B con y sin inhibidor, pues su mecanismo de acción es independiente de los factores VIII y IX. Al igual que algunos de los medicamentos descritos anteriormente, el fitusiran es aplicado de forma subcutánea, pues su mecanismo de acción permite llegar fácilmente a las células diana, facilitando eventualmente la aplicación en el paciente y quizá evitando el desplazamiento a centros médicos (Machin & Ragni, 2018)

Algunas limitaciones que se puede señalar para este fármaco es la necesidad de otro tratamiento cuando se presenten hemorragias y cirugías, además de establecer si existe riesgo de interacción entre ambos medicamentos, por otro lado, se desconoce su efecto en la salud articular a largo plazo o los métodos de laboratorio necesarios para su monitoreo, estas son algunas de las interrogantes aún pendientes para fitusiran (Neme, 2021).

Terapia génica

Muchas son las opciones terapéuticas que están actualmente disponibles o en estudio para el manejo clínico del paciente hemofílico, como se ha visto algunas apuntan a la terapia sustitutiva del factor deficiente mientras que otras optan por mecanismos alternativos de la generación de trombina; sin embargo, ninguna de ellas aporta una cura a la enfermedad y es aquí donde entra en juego la terapia génica, que a través de los años y en diferentes enfermedades ha mostrado resultados prometedores. Se dice que tanto la hemofilia A y B son buenos candidatos a la terapia génica pues son patologías que se producen por defectos genéticos en un solo gen, por ende al lograr la reintroducción de dicho gen y su respectiva transducción, se puede revertir la clínica de la enfermedad (Peyvandi & Garagiola, 2019). Otra ventaja que presenta la hemofilia para la terapia génica, es el hecho de que una regulación estricta en los niveles del factor no es necesaria, pues como se ha visto, niveles por encima de 1% transforman un fenotipo severo a moderado y con ello se evitan las manifestaciones clínicas, por ende, al lograr el aumento en unas cuantas unidades del factor en cuestión con terapia génica, la mejora clínica en el enfermo será notoria (Perrin et al., 2019).

Un vector es necesario, la mayoría de los estudios se han realizado con el virus adenoasociado (VAA) perteneciente a la familia de los parvovirus, quien tiene un genoma de 4,7kb y es un vector no integrable que tiene como ventaja la reducción del riesgo de mutagénesis pero la desventaja de necesitar células postmitóticas de larga vida para tener expresiones a largo plazo del gen de interés (Schutgens, 2018).

La ingeniería genética permite reemplazar las secuencias codificantes del VAA por las secuencias del gen de interés. Dado el tamaño del genoma del VAA, los estudios iniciales se centraron en la hemofilia B pues el tamaño del factor IX era más compatible, con el pasar de los años y gracias a distintas modificaciones en el gen del factor VIII como la eliminación del dominio no funcional B y otras estrategias, la

terapia génica está ahora disponible también para la hemofilia A (Doshi & Arruda, 2018). En vista de que la producción de las proteínas de la coagulación se da principalmente en el hígado, es indispensable colocar un promotor específico de este órgano, para que posterior a la infusión, las cápsides se dirijan a las células diana (Schutgens, 2018).

Se ha visto que la inmunización previa con el VAA puede ser una limitante importante en el éxito de la terapia, de hecho, muchos ensayos excluyen aquellas personas que tienen serologías positivas. Además, en algunos casos se puede presentar una hepatitis tras la infusión que, si bien no genera mayor problema en el paciente, si limita la expresión génica (Bonanad., 2021; Perrin et al., 2019)

Son varios los ensayos clínicos que se están llevando a cabo como se verá en el siguiente capítulo, pero en general se ha visto que una única infusión intravenosa del vector modificado con las secuencias del factor ya sea VIII o IX, genera aumentos en los niveles sanguíneos de las proteínas de la coagulación durante periodos de tiempo prolongados, aunque quizá no lo deseado, pero generando ausencia de sangrados espontáneos y por ende permitiendo la interrupción de los regímenes de profilaxis (Peyvandi & Garagiola, 2019). Al menos, como puntos favorables de esta terapia es que no se han evidenciado efectos adversos ni trombóticos importantes, ni tampoco el desarrollo de inhibidores contra los factores producidos (Neme, 2021).

Como se puede ver, han sido décadas productivas para el tratamiento de la hemofilia y la generación de información e investigaciones es constante. En el siguiente capítulo se mostrarán los resultados de los distintos ensayos clínicos de estas nuevas terapias, así como el impacto en la calidad de vida de los pacientes a nivel mundial. Además de investigar si en Costa Rica algunas de estas terapias están disponibles.

CAPÍTULO 4
RESULTADOS DEL USO DE NUEVAS TERAPIAS EN HEMOFILIA EN EL MUNDO Y
EN COSTA RICA

Como se ha documentado, son muchas las opciones nuevas para el manejo clínico del paciente hemofílico, algunos se encuentran disponibles y aprobados para su uso, otros se encuentran en fases de estudios clínicos para lograr introducirse en el mercado. A continuación, se mostrarán los resultados obtenidos del uso de los distintos fármacos en el mundo y se investigará sobre el uso de estos en Costa Rica.

Es importante resumir que en la actualidad lo que se ofrece para el hemofílico son en su mayoría tratamiento sustitutivo, el cual para su aplicación necesita la punción intravenosa, lo que implica problemas para aquellos pacientes que tiene difícil acceso venoso o puede requerirse la necesidad de colocar un catéter con todos los riesgos que esto implica, como sangrado, infecciones, entre otros. La terapia además inicia a edades muy tempranas y se maneja bajo dos grandes modalidades: tratamiento a demanda para tratar sangrados agudos y tratamiento profiláctico para evitarlos. Sin embargo, bajo estas metodologías la ausencia de sangrado es muy difícil y el daño en las articulaciones se va acumulando con el pasar de los años. Se suma otra desventaja que es la vida media de los componentes la cual es relativamente corta y se necesitan una alta frecuencia de aplicación de los medicamentos, de ahí que aparecen en el mercado los productos de vida media extendida para intentar solventar esta carencia. Finalmente, el desarrollo de anticuerpos neutralizantes complica de gran manera el manejo clínico (Bonanad, 2021)

Dado todo lo mencionado anteriormente, una opción es sustituir la aplicación intravenosa por aplicaciones subcutáneas u orales, lo que representa un excelente

beneficio para aquellas personas con difícil acceso venoso. La inmunotolerancia y la profilaxis personalizada son técnicas que día a día se recomiendan aún más, pues la primera permite la erradicación de inhibidores y la segunda ofrece un manejo más adecuado de cada enfermo, el inconveniente con ambas es que son metodologías costosas por las implicaciones que conllevan y no todos los países cuentan con los recursos económicos para ponerlos en funcionamiento (Bonanad, 2021). Finalmente, otra alternativa es la implementación de nuevas moléculas que intentan extender vidas medias, agregar nuevas dianas terapéuticas y no solamente la sustitución de factores, sin embargo, son opciones relativamente nuevas que presentan aún interrogantes.

En la actualidad los medicamentos que se encuentran aprobados por la FDA para uso en hemofílicos son los concentrados de factores, concentrados de factores recombinantes, concentrados de factores de vida media extendida y el emicizumab (U.S. Food and Drug Administration, 2021). Las demás moléculas como fitusiran, concizumab, terapia génica y otros, se encuentran en fases clínicas de estudio por lo que aún no están disponibles en el mercado, pero se hallan distintas publicaciones de diversos ensayos.

Tasas de Sangrado

Los factores recombinantes han demostrado ser muy eficaces en la contención de hemorragias, tanto agudas como espontáneas, así como en el manejo profiláctico. En un estudio observacional realizado en Europa con una molécula de VIII recombinante de segunda generación, se obtuvo que los episodios de sangrado fueron tratados de manera satisfactoria en un 85,4% de los casos con tan solo una o dos infusiones del producto (Musso et al., 2008). De manera similar, otro ensayo, pero este realizado con un factor recombinante de tercera generación refuerza el hecho de que el manejo de episodios hemorrágicos con estos productos es eficiente, un 99.8% de dichos episodios respondieron a una o dos infusiones del

medicamento. También el régimen profiláctico con estos fabricados demuestra buenos resultados al documentarse baja incidencia de hemorragias espontáneas (A. Shapiro et al., 2009).

Carcao y colaboradores comparan la tasa de sangrado en pacientes manejados profilácticamente con productos de vida media estándar y la tasa de sangrado cuando son cambiados a un régimen de profilaxis con productos de vida media extendida. Los resultados no muestran gran mejora en cuanto a las tasas de sangrado, pero justifican que las tasas iniciales eran bastante bajas y que la mejora de estos productos con vida media extendida está dada más por la disminución en dosis de aplicación que por disminución en los sangrados (Carcao et al., 2020).

Los estudios clínicos iniciales para el uso de emicizumab en hemofilia se desarrollan bajo el nombre de HAVEN. De estos se desprendieron resultados maravillosos dejando en visto la eficacia que tiene este medicamento en el manejo profiláctico del trastorno sangrante asociado a deficiencia de factor VIII (cuadro 2). El HAVEN 1 se desarrolló en adolescentes y adultos con hemofilia A severa con inhibidores, aplicándoles dosis de 3mg/kg/por semana por 4 semanas como dosis inicial y posteriormente dosis de mantenimiento de 1.5mg/kg por semana. Los resultados mostraron una tasa anual de sangrado en el grupo de profilaxis con emicizumab de 2.9 eventos contra 23.3 eventos en el grupo que no recibió profilaxis con el anticuerpo monoclonal, resultando en una reducción del 87% de la tasa anual de sangrado. En el HAVEN 2 la población de estudio es pediátrica y se mantienen las mismas dosis iniciales, la de mantenimiento es escalonada a incluso 6mg/kg cada 4 semanas, la tasa anual de sangrado en el grupo de profilaxis con emicizumab fue de 3.0, mientras que esa misma tasa en el grupo que no recibió el medicamento fue de 21.2, lo que representa que la reducción de la tasa anual de sangrado en este estudio fue del 99%. Para los HAVEN 3 y 4 se incluyen pacientes sin inhibidor tanto adultos como adolescentes y los resultados en cuanto a reducción de tasa de sangrado son tan prometedores como los estudios anteriores. (Doshi & Arruda, 2018; Franchini et al., 2019; Johnny Mahlangu et al., 2018; Oldenburg, Mahlangu,

Kim, Schmitt, Callaghan, Young, Santagostino, Kruse-Jarres, et al., 2017; Young et al., 2019).

Cuadro 2: Principales resultados y características de los ensayos HAVEN para el análisis de emicizumab y su uso clínico en pacientes con hemofilia A

ESTUDIO	POBLACIÓN	EFICACIA	DOSIS	SEGURIDAD
HAVEN 1	109, adolescentes y adultos con hemofilia A con inhibidores	Reducción del 87% de la tasa anual de sangrado entre profilaxis con emicizumab y no profilaxis	Dosis de carga: 3mg/kg/semana por 4 semanas Dosis de mantenimiento; 1.5mg/kg/semana	microangiopatías trombóticas y eventos trombóticos
HAVEN 2	60, pacientes pediátricos con hemofilia A con inhibidores	Reducción del 99% de la tasa anual de sangrado entre profilaxis con emicizumab y no profilaxis	Dosis de carga: 3mg/kg/semana por 4 semanas Dosis de mantenimiento; 1.5mg/kg/semana o 3mg/kg/cada dos semanas o 6mg/kg/cada cuatro semanas	No eventos adversos
HAVEN 3	152 adolescentes y adultos con hemofilia A sin inhibidores	Reducción del 96% y 97% de la tasa anual de sangrado en las dos dosis de emicizumab respectivamente, en comparación con la terapia episódica de FVIII	Dosis de carga: 3mg/kg/semana por 4 semanas Dosis de mantenimiento; 1.5mg/kg/semana o 3mg/kg/cada dos semanas	No eventos adversos
HAVEN 4	48 adolescentes y adultos con hemofilia A con y sin inhibidores	Resultados similares a HAVEN 1, 2 y 3	Dosis de carga: 3mg/kg/semana por 4 semanas Dosis de mantenimiento; 6mg/kg/cada cuatro semanas	No eventos adversos

Al hablar de tasas de sangrado, pero esta vez con concizumab, el inhibidor de TFPI, los resultados que se han obtenido son muy buenos. En un estudio, 26 participantes

todos con desarrollo de inhibidores fueron asignados al azar, 9 pacientes con hemofilia A y 8 con hemofilia B fueron expuestos a profilaxis con concizumab, mientras que 7 hemofílicos A y 2 hemofílicos B fueron tratados con factor VIIa recombinante a demanda. Después de las 24 semanas que duró el ensayo, se documentó una reducción del 78% de todas las hemorragias tratadas entre el grupo que estaba usando concizumab contra el grupo que recibió factor VIIa recombinante a demanda, así como una reducción del 88% para hemorragias espontáneas y un 79% para sangrados articulares (Shapiro et al., 2019).

Otra investigación realizada pero esta vez solo en hemofílicos A severos sin inhibidores, evaluó la seguridad de una dosis diaria subcutánea de concizumab en prevenir sangrados, y obtuvo una tasa anual de sangrado de 7.0 y tan solo de 2,5 para las hemorragias espontáneas, números bastante prometedores (Eichler et al., 2019).

Por otro lado, la efectividad del fitusiran para reducir el sangrado se demostró en un protocolo con 33 pacientes con hemofilia A o B, 19 de ellos sin inhibidores y 14 con inhibidores con el fin de evaluar la eficacia del fármaco. Aquellos sujetos sin inhibidores que recibían profilaxis tenían una tasa anual de sangrado de 2 la cual disminuyó a 1,7 cuando se aplicó profilaxis con fitusiran por 13 meses. El cambio más dramático se documentó en aquellos participantes sin inhibidor pero que eran manejados con terapia a demanda donde la tasa anual de sangrado cayó de 12 a 1,7 cuando fueron incluidos en la profilaxis con el nuevo fármaco. Por otro lado, quienes, si tenían inhibidor, documentaron resultados aún más sorprendentes pues la tasa anual de sangrado antes del fitusiran era de 38 y bajó a cero después de 6 meses de ser sometidos a profilaxis con el ARNi (Machin & Ragni, 2018; K. J. Pasi et al., 2017).

Además de los medicamentos indicados, una alternativa es la terapia génica. En este apartado se han registrado más de 20 ensayos clínicos, por lo que en los siguientes años se espera la generación de una cantidad importante de información

al respecto (Perrin et al., 2019). Un estudio involucró a 15 adultos con hemofilia A severa, ellos recibieron una única infusión del virus vector cargado con el gen del factor VIII. Distintas dosis de virus fueron aplicadas entre los 15 participantes. Tras 3 años de seguimiento dos pacientes no lograron mantener niveles de factor VIII por encima de 1UI/dL pero 7 de ellos tenían una expresión media de 20UI/dL, en este último subgrupo la tasa anual de sangrado fue de cero. El uso de factor exógeno no fue necesario y el sangrado en articulaciones diana no se dio. Otros 6 participantes presentaron una concentración media de 13UI/dL pero a los dos años, en ellos la tasa anual de sangrado también fue de cero, con mínimo uso de factor VIII y el sangrado en las articulaciones resolvió en 5 de esos 6 participantes (K. John Pasi et al., 2020).

Inmunogenicidad

La inmunogenicidad de los productos utilizados es uno de los objetivos de varios protocolos científicos, ya que las nuevas moléculas pueden ver su funcionalidad interrumpida producto de anticuerpos neutralizantes.

Un estudio llevado a cabo entre enero de 2010 y diciembre del 2014 enroló 251 niños menores de 6 años con hemofilia A severa, de 14 países distintos, quienes no habían sido previamente tratados con ningún concentrado de factor o mínimamente tratados (menos de 5 veces). Los sujetos fueron aleatorizados en dos grupos, un grupo fue tratado con concentrado de VIII mientras que al otro grupo se le aplicó factor recombinante. Los pacientes fueron seguidos durante 50 días de exposición consecutivos o 3 años o hasta que se confirmó el desarrollo de inhibidores. De todo el grupo, un 35.4% desarrolló inhibidores, siendo mayor la incidencia de formación de inhibidores en el grupo de terapia recombinante (44,5%) contra los concentrados plasmáticos de factor (26,8%) (Peyvandi, Mannucci, et al., 2016).

Se dice entonces que los concentrados plasmáticos de factor VIII son menos inmunogénicos, esto se explica por la hipótesis de que el Factor Von Willebrand que no se encuentra disponible en los concentrados de factor recombinante, juega un papel importante en la protección del factor VIII exógeno de la captación por las células presentadoras de antígeno y del reconocimiento por los efectores inmunes. Específicamente la unión factor VIII-factor Von Willebrand enmascara el dominio C2 del factor VIII que se ha visto es uno de los más inmunogénicos y es este enmascaramiento de epítomos lo que contribuye a una menor estimulación inmune en los concentrados de VIII plasmático. Se sabe además que los factores recombinantes tienen distintos patrones de glicosilación y sulfatación por provenir de modelos murinos, sin embargo, esta variante no está claro si puede contribuir a la inmunogenicidad (Oldenburg et al., 2015).

Se han desarrollado protocolos con una molécula como el BIVV001, mencionada en capítulos anteriores, al estar compuesta por FVIII, acoplado a Fc dimérico, y un dominio D'D3 del factor Von Willebrand puede solventar el problema de la inmunogenicidad por ausencia de Von Willebrand. Estudios in vitro con modelos animales con esta molécula han demostrado que no se generan uniones al complejo mayor de histocompatibilidad, previniendo la presentación de antígenos (Chhabra et al., 2020), además en un estudio clínico realizado con BIVV001 donde se aplica una simple dosis a los participantes, no se evidencia desarrollo de inhibidores después de un mes de seguimiento (Konkle et al., 2020).

Por otro lado, existe evidencia que apoya que los factores recombinantes pueden ser menos inmunogénicos dependiendo de su manufactura, por ejemplo, aquellos productos recombinantes que son acoplados al fragmento Fc de las inmunoglobulinas. Se plantea estimulan en menor medida el sistema inmunológico, ya que la porción Fc, se dice posee algunos epítomos capaces de expandir la respuesta inmune mediada por la células T reguladoras, disminuyendo la probabilidad de que se dé la producción de un anticuerpo neutralizante (Janbain & Pipe, 2016).

A pesar de que existen robustos trabajos que comparan los concentrados de factores plasmáticos y los recombinantes, como el de Peyvadi, quedan algunos cuestionamientos como el hecho de que este estudio se centró en países de África y Medio Oriente quienes manejan a sus pacientes con sustitución a demanda y no de forma profiláctica como se realiza en Europa y América, además la mayoría de los productos recombinantes del estudio eran de primera y segunda generación. Se indica que la tercera generación viene a mejorar de manera importante la inmunogenicidad al eliminar toda proteína animal adicionada. Por ende se debate aún cual producto es mejor en cuanto a inmunogenicidad (Kevane & O'Connell, 2018).

Los resultados desprendidos de los estudios HAVEN con emicizumab en cuanto a inmunogenicidad son muy alentadores. En los estudios HAVEN 1, 2, 3 y 4, de 398 personas enroladas, solamente 14 de ellas tuvieron resultados positivos para anticuerpos contra la droga. Siete casos tuvieron resultados positivos por una única vez, mientras que otros seis a pesar de la positividad de los anticuerpos, los mismos no eran neutralizantes y por ende no afectaron la funcionalidad del medicamento. El potencial neutralizante de los anticuerpos contra la droga se evidenció al basarse en propiedades farmacocinéticas y prolongación en el tiempo de tromboplastina parcial activado. Únicamente se reporta un paciente que debió interrumpir el uso del medicamento pues la pérdida de eficacia de este era evidente, los anticuerpos contra la droga se detectaron en la semana 5, justo después del periodo de carga y subsecuentemente la concentración plasmática de emicizumab, rápidamente disminuyó hasta niveles indetectables (Young et al., 2019, Paz-Priel., 2018).

El otro agente concizumab muestra un perfil inmunogénico similar al emicizumab, pues ensayos en usuarios del inhibidor del TFPI han identificado anticuerpos dirigidos contra la droga mediante técnicas de ELISA, pero los mismos no tuvieron potencial neutralizante del medicamento, lo que les resta importancia clínica (Shapiro et al., 2019). Otro reporte indica la presencia de un caso con anticuerpos contra la droga que, si neutralizaban la misma in vitro, pero se detectó un ensayo

positivo una única vez y no se vieron implicaciones clínicas de importancia, por lo que este resultado aislado se tomó como no significativo (Eichler et al., 2019). Sin embargo, más estudios observacionales son necesarios para asegurar el perfil inmunogénico de esta droga.

Similar a los medicamentos anteriores, para fitusiran no se describe aún la presencia o el desarrollo de anticuerpos inhibidores de la droga (Neme., 2021).

La inmunogenicidad asociada a la terapia génica es en extremo más complicada que la de las otras terapéuticas mencionadas, debido a que tanto el vector como el producto transgénico pueden ser reconocidos por el sistema inmune, ya sea por células T citotóxicas como por anticuerpos. La respuesta por inmunoglobulinas puede disminuir la carga de cápsidas aplicadas y evitar su entrega a los hepatocitos, razón por la cual es preferible evitar aquellos individuos que tengan una serología positiva contra AAV, sin embargo, no siempre una respuesta detectable in vitro, tendrá repercusiones en los ensayos in vivo. El desarrollo de anticuerpos neutralizantes también tendrá implicaciones en una futura administración del mismo vector, lo cual no sería posible al menos en un periodo muy cercano. En cuanto a la respuesta celular, se ha observado que la expresión de factor VIII o IX en el hígado induce tolerancia inmunológica, al favorecer la conversión de células T efectoras en células T reguladoras, estas últimas evitarán que se produzca una activación dirigida contra los factores en cuestión. Sin embargo, para que se produzca dicha tolerancia inmunológica mediante la activación de T reguladores, se necesita cierto nivel umbral de las proteínas de la coagulación transgénicas, pues en ausencia de las células T reguladoras, los epítopos ya sea de factor VIII o IX serán presentados en MHCII a las células T efectoras, provocando además la activación de células B y la consecuente producción de anticuerpos neutralizantes (Herzog, 2019).

Vida Media y Aplicación

Según la WFH la profilaxis con productos de vida media estándar, dependerá de la dosis escogida, pero a grandes rasgos se dice que entre 2 a 3 infusiones por semana deben aplicarse en el caso de hemofilia A y dos infusiones en el caso de hemofilia B (Srivastava et al., 2020), entonces los productos de vida media extendida vienen a mejorar por mucho los tiempos de aplicación. Se ha establecido, según la FDA que para profilaxis, el dosaje de rFVIII Fc es de 4 días, pudiendo requerirse dosis más frecuentes en niños pequeños (menores de 6 años), mientras que para la hemofilia B el rFIX Fc se indica cada 7 a 10 días, también siendo necesarias dosis más altas en niños pequeños. Es evidente la disminución en el número de aplicaciones y por ende representa una mejora importante para los usuarios en términos de venopunciones así como una reducción en el consumo de factor importante para el sistema de salud (Wang & Young, 2018).

En un ensayo clínico realizado para la molécula BIVV001 en un grupo de hemofílicos A severos, cuyos objetivos eran medir la seguridad del producto así como la farmacocinética de una simple dosis comparada con un factor VIII recombinante humano de longitud completa. Se obtuvo que una sola inyección de BIVV001 permitía valores altos sostenidos de factor VIII y que la vida media de esta nueva molécula fue cuatro veces mejor que la del factor VIII recombinante usado como comparación (37,6 horas frente a 9,1 horas en el grupo de dosis más baja y 42,5 frente a 13,2 horas en el grupo de dosis más alta). Incluso se propone la posibilidad de aplicaciones semanales para este medicamento, pues en el grupo de alta dosis el 51% de los pacientes tuvieron valores de factor en el rango normal durante 4 días y el 17% de ellos lo mantuvo incluso hasta el día 7 (Konkle et al., 2020).

Fármacos como el emicizumab han mejorado en gran manera los regímenes ya establecidos para las dosis y frecuencia empleadas en las terapias profilácticas, ya que después de dar las dosis necesarias para una carga inicial adecuada, las dosis

de mantenimiento se ha documentado que pueden ir desde 2 y hasta 4 semanas dependiendo de diversas características asociadas al paciente, esto se da gracias a la larga vida media que presenta el anticuerpo, la cual es de 4,5 semanas (Rodríguez-Merchan & Valentino, 2019; Yoneyama et al., 2018). Se ha establecido que una dosis de carga adecuada son 3mg/kg/semana durante cuatro semanas, posterior a ello, la dosis de mantenimiento se establece en 1,5mg/kg/semana o 3mg/kg/ cada 15 días o incluso se puede administrar 6mg/kg/ 1 vez al mes. La elección de la dosis de mantenimiento depende de ciertas variables, como estilo de vida, riesgo de sangrado, entre otros (Blair, 2019).

Lo anterior representa una ventaja inigualable para las personas que padecen de un fenotipo sangrante, pues se disminuye de manera muy significativa el número de aplicaciones y por ende de punciones a las que deben someterse.

Otra característica muy beneficiosa de emicizumab es el hecho de que su farmacocinética no se ve afectada por la edad, raza, presencia de inhibidor contra el factor VIII, insuficiencia hepática o renal. La única variante que puede afectar sus características farmacocinéticas es el peso corporal; a mayor peso, mayor aclaramiento del anticuerpo, es por ello que la dosificación debe ser peso específico (Blair, 2019).

El fitusiran es un medicamento que también se aplica vía subcutánea como muchos de los nuevos tratamientos en hemofilia, los estudios clínicos trabajan ya con dosis de 50 y 80 mg con tan solo una aplicación al mes. Tiempos tan largos entre una dosis y otra se ha logrado solo en medicamentos como el emicizumab y ahora parece suceder lo mismo con el fitusiran (K. John Pasi et al., 2021).

Los estudios ExplorerTM, son una serie de ensayos clínicos llevados a cabo con el concizumab para estudiar este medicamento desde distintas aristas. El explorer 3 fue diseñado para investigar cinco dosis escaladas de concizumab. Mediante aplicación subcutánea como se aplica este medicamento, dosis de 0.25mg/kg, 0.5mg/kg, 0.8mg/kg, 1.1mg/kg y 1.5mg/k fueron aplicadas a los participantes. Sin

embargo, por cambios observados en las pruebas de coagulación, los protocolos fueron detenidos después de completar la aplicación en el tercer grupo (Eichler et al., 2018). Por ende, se estima que la dosis aceptable actual sería de 0.15 a 0.25 mg/kg/día, sin embargo, la fase 3 de este estudio se reinició en agosto de 2020 y se esperan con ansias sus resultados (Neme, 2021). Cabe destacar que la frecuencia en las aplicaciones para este compuesto es mayor que la observada para los otros fármacos, ya que los pacientes necesitaron de 12 aplicaciones de carga para llegar a la dosis deseada (Eichler et al., 2018).

La terapia génica por su parte ofrece una ventaja en su modo de colocación pues usualmente una sola aplicación intravenosa de cápsides transgénicas se ha visto puede ser suficiente, son varios los ensayos clínicos que se encuentran en desarrollo y utilizan esta vía de aplicación en los enfermos (K. John Pasi et al., 2020).

Efectos Adversos

Los concentrados recombinantes han demostrado a través de los años la enorme ventaja de no transmitir microorganismos infecciosos además de ser seguros al no causar efectos adversos que se cataloguen como severos en quienes los reciben (Lieuw, 2017; Pipe, 2018).

Emicizumab ha resultado ser un medicamento seguro en el manejo clínico, siempre y cuando no se use de forma concomitante con concentrado de complejo protrombínico pues el riesgo de desarrollar eventos trombóticos es alto. A excepción de la advertencia anterior, el medicamento es muy seguro y eficaz, efectos no severos como dolor en el sitio de inyección, fiebre, cefalea y dolor articular o muscular, han sido reportados (Neme, 2021).

Por otro lado, si se habla de los inhibidores del TFPI, varios estudios clínicos están en proceso, pero de momento concizumab parece ser un medicamento seguro, no se han relacionados efectos adversos severos a su uso como muertes o eventos

tromboembólicos graves, si algunos efectos adversos no severos como flebitis, reacciones en el sitio de inyección y trombosis en sitios no críticos. Sin embargo, algunos ensayos de dosis escalonada han sido detenidos por observar alteraciones en las mediciones de pruebas de coagulación, es decir, se debe investigar y ahondar más en conocer la dosis segura de este fármaco. (Chowdary, 2018; Franchini & Mannucci, 2018; Muczynski et al., 2017; Neme, 2021)

Una pequeña investigación realizada tanto en hemofílicos A y B con inhibidores, donde se tenía como objetivo secundario evaluar la seguridad del uso concomitante de concizumab subcutáneo y factor VIIa recombinante, demostró que después de 24 semanas de seguimiento los participantes no presentaron ningún efecto adverso o evento tromboembólico, lo cual es una observación positiva pues el sangrado agudo o espontáneo se podría tratar con este producto de derivación (Shapiro., 2019).

En cuanto al fitusiran, en voluntarios sanos no se han observado efectos adversos. En hemofílicos sometidos a ensayos clínicos, algunos eventos adversos de severidad media han sido documentados como, dolor y eritema en el sitio de inyección, incremento de la enzima alanina aminotransferasa que tras el cese del medicamento volvió a sus valores normales, razón por la cual es importante esclarecer y estudiar cual sería el efecto de este medicamento en pacientes con alguna alteración o daño hepático. Efectos severos como dolor de pecho han sido documentados pero la relación directa con el medicamento fue difícil de establecer, por ello varios ensayos de seguridad son llevados a cabo para tratar de esclarecer mejor el perfil de este fármaco. Algunos casos de trombosis fueron documentados por lo que los protocolos clínicos fueron detenidos de forma voluntaria por la casa comercial, tras desentrañar las causas, los mismos fueron reiniciados. (Machin & Ragni, 2018; Sanofi, 2020; Neme, 2021)

Cuadro 3: Cuadro comparativo de las principales características de las distintas terapias para el manejo de la hemofilia

	INMUNOGENICIDAD	VIDA MEDIA	VÍA DE APLICACIÓN	EFFECTOS ADVERSOS
Concentrados plasmáticos	Desarrollo de inhibidores	2 a 3 infusiones por semana HA, 2 infusiones por semana HB	Intravenoso	Transmisión de microorganismos
Factores recombinantes	Desarrollo de inhibidores	Infusiones cada 4 días HA y 7 a 10 días HB (en el caso de EHL)	Intravenoso	No efectos adversos reportados
BIVV001	No desarrollo de inhibidores	Vida media 4 veces mejor que SHL	Intravenoso	No efectos adversos reportados
Emicizumab	1 caso reportado de anticuerpos neutralizantes	Vida media: 4,5 semanas. Aplicaciones mensuales	Subcutáneo	No efectos adversos mientras no se use junto con complejo protrombínico
Concizumab	1 caso reportado de anticuerpos neutralizantes sin importancia clínica	Varias aplicaciones para alcanzar dosis deseada (frecuencia de aplicación aún en estudio)	Subcutáneo	Efectos adversos no severos como flebitis, reacción en el sitio de inyección y trombosis en sitios no críticos
Fitusiran	No desarrollo de inhibidores	Aplicaciones mensuales	Subcutáneo	Dolor, eritema en el sitio de inyección, incremento en ALT
Terapia Génica	Anticuerpos contra AAV, estudios en desarrollo	Aplicación única. Vida media en estudio	Intravenoso	Reacción en el sitio de inyección, aumento ALT/AST

HA: Hemofilia A. HB: Hemofilia B. SHL: Vida media estándar. EHL: Vida media extendida.

En cuanto a la seguridad en terapia génica, no se han reportado efectos adversos serios, tampoco eventos trombóticos. Reacciones asociadas a la infusión en el sitio de inyección se han reportado y el aumento de transaminasas es común. Sin embargo, las elevaciones de enzimas hepáticas se catalogan como leves, no graves y transitorias, usualmente desarrolladas por la instauración de cápsides en el hígado, dichos incrementos son manejados satisfactoriamente con glucocorticoides en la mayoría de los casos, sin hepatotoxicidad aparente (K. John Pasi et al., 2020).

Situación en Costa Rica

Según la más reciente encuesta anual de la Federación Mundial de la Hemofilia, en Costa Rica a la fecha están identificados 182 personas con hemofilia A y 36 con hemofilia B de todas las severidades. De ellos, 22 hemofílicos A poseen inhibidores activos y ninguno de los hemofílicos B tienen anticuerpos contra el factor (Federación Mundial de Hemofilia, 2020).

La distribución según grupo etario para los sujetos con hemofilia A y B observa en el cuadro 4 donde se puede resaltar que, en el país, la mayor proporción de enfermos son adultos de entre 19 y 44 años (Federación Mundial de Hemofilia, 2020). Todos los hemofílicos son atendidos en básicamente dos centros médicos de la Caja Costarricense del Seguro Social, el Hospital Nacional de Niños quien se encarga de los dos primeros grupos etarios, es decir, atiende paciente hasta los 13 años aproximadamente y el Hospital México quien atiende al restante.

Cuadro 4: Distribución según edad de sujetos con hemofilia A y B de todas las severidades en Costa Rica

	HEMOFILIA A	HEMOFILIA B
0 a 4 años	5%	6%
5 a 13 años	16%	17%
14 a 18 años	13%	6%
19 a 44 años	53%	58%
Más de 45 años	13%	14%

En Costa Rica lo que se utiliza para el manejo clínico es un concentrado plasmático de factor VIII en el caso de las hemofilias A, de marca comercial Beriate[®] que contiene 100UI/mL del factor. Hasta hace aproximadamente poco más de un año, no se contaba con concentrados de factor IX, por ende, era utilizado el medicamento PROTHROMPLEX TOTAL NF en el manejo de los hemofílicos B, que es un concentrado de complejo protrombínico obtenido de plasma humano, que de hecho es un medicamento que se puede utilizar también en el manejo de sangrados agudos. Sin embargo, en la actualidad los médicos cuentan con un concentrado de factor IX de nombre IMMUNINE de la casa comercial Baxter, el cual posee 120UI/mL del factor (Granados., 2021)

Los sangrados agudos, son manejados con el factor en cuestión en caso de que el enfermo no posea inhibidores, situación contraria, se utiliza aPCC o FEIBA[®]. Todos los sujetos hemofílicos son manejados con terapia profiláctica con el fin de evitarles la enfermedad artropática. (Granados, 2021; Ugalde, 2021)

La profilaxis personalizada con métodos farmacocinéticos como tal no es aplicada en el país. Sin embargo, según indica la Dra Paola Granados, hematóloga del Hospital Nacional de Niños, la profilaxis se personaliza en los pacientes según su fenotipo sangrante, es decir aquellos que sangran mucho recibirán 3 veces por

semana mayor concentración del factor, comparado con un niño que sangra poco y se mantiene estable con tan solo una aplicación semanal (Granados, 2021).

Aquellos individuos que llegan a desarrollar inhibidores contra el producto exógeno son sometidos a terapia de inmunotolerancia, obteniéndose muy buenos resultados en la erradicación de dicho anticuerpo, es posible intentar una segunda inducción a inmunotolerancia en caso de que la primera falle. Finalmente, para aquellos en los que este método falla y el inhibidor no se logra eliminar se tienen dos opciones, la primera de ellas es el manejo con medicamentos de derivación como el factor VIIa o el complejo protrombínico y la segunda alternativa es el uso de emicizumab. (Granados, 2021; Ugalde, 2021)

El uso de emicizumab, dado sus altos costos, es muy restringido en el país. Para que un paciente pueda acceder a este fármaco, su caso debe ser presentando ante el comité de farmacoterapia de la Caja Costarricense del Seguro Social, con toda la justificación del caso y es dicho comité quien se encarga de tomar la decisión final. Básicamente los casos que son enviados a farmacoterapia son aquellos que tienen un fenotipo de sangrado muy importante sumado a la presencia de inhibidores, lo que hace que las opciones terapéuticas para ellos sean limitadas (Granados, 2021; Ugalde. 2021). En estos casos especiales, si se considera el alto uso de complejo protrombínico, factor VIIa y las extensas estancias hospitalarias, a largo plazo, el anticuerpo quimérico

a pesar de su elevado costo, puede ser más económico que la suma de todos los puntos mencionados anteriormente. De hecho, se encuentra en la literatura análisis del impacto económico de profilaxis con emicizumab en comparación con complejo protrombínico y FVIIa, mostrando un costo 27% menor en el paciente pediátrico que es tratado con el anticuerpo monoclonal y 50% en el adulto (García-Sacristán et al., 2020).

En Costa Rica, en la actualidad únicamente dos pacientes están recibiendo esta terapia, uno de ellos debido a la presencia de un inhibidor y el otro no presenta

inhibidor pero un fenotipo de sangrado importante (Federación Mundial de Hemofilia, 2020; Ugalde, 2021).

Sumado a los dos individuos descritos anteriormente, quienes reciben el emicizumab aportado por la Caja Costarricense del Seguro Social, 12 hemofílicos más fueron participes de un estudio clínico multicéntrico en las etapas de ensayos clínicos del medicamento, por ende, en la actualidad reciben el fármaco otorgado por la casa comercial como beneficio de la participación en este estudio, privilegio que se les debe mantener por el resto de sus vidas (Ugalde, 2021).

Con la información recopilada tanto a nivel clínico como de laboratorio, se puede decir que, a diferencia de otros países, Costa Rica posee un manejo bastante bueno de sus pacientes y se compara en muchos aspectos con los países de primer mundo, sin embargo, quedan muchas cosas por mejorar.

CONCLUSIONES

1. La hemofilia es una patología cosmopolita, que afecta a personas de todas las edades y estratos sociales, la misma presenta bajas tasas de mortalidad, pero altas de morbilidad, lo que ha hecho que la investigación en mejoras terapéuticas sea constante para otorgar a los hemofílicos una buena calidad de vida a largo plazo.
2. Los concentrados plasmáticos siguen siendo a hoy los de mayor uso a nivel mundial a pesar de la existencia de mejores y más novedosos tratamientos, por ser más accesibles económicamente.
3. El manejo profiláctico es claramente superior al tratamiento a demanda, sin embargo, no todos los países pueden ofrecer este manejo a sus enfermos, pues el consumo per cápita de factor es bastante más elevado en el primer escenario.
4. Emicizumab es el medicamento más reciente que se suma a la lista de fármacos usados en hemofilia con resultados muy superiores a los obtenidos con las demás terapias ofrecidas en el mercado, sin embargo, se debe evaluar sus efectos con el pasar de los años pues es relativamente nuevo para identificar efectos a muy largo plazo.
5. Son muchas las promesas terapéuticas que se desarrollan para las personas hemofílicas, sin embargo, muchas de ellas se encuentran en etapas de ensayo clínico y es necesario esperar para tener los resultados de estos y el aval para su uso clínico.

6. La economía no deja de ser un tema importante en el manejo de la hemofilia, pues si bien existen nuevos y excelentes medicamentos, estos tienen un costo elevado lo que los hace inaccesibles para ciertos países y sus sistemas de salud. Algunos países como es el caso de Costa Rica echan mano de análisis costo-efectividad para justificar medicamentos costosos como el emicizumab en sus pacientes.

REFERENCIAS

- Arruda, V. R., Doshi, B. S., & Samelson-Jones, B. J. (2018). Emerging therapies for hemophilia: Controversies and unanswered questions [version 1; referees: 4 approved]. *F1000Research*, 7(0), 1–13.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.12491.1>
- Bagnall, R. D., Waseem, N., Green, P. M., & Giannelli, F. (2002). Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A. *Blood*, 99(1), 168–174. <https://doi.org/10.1182/blood.V99.1.168>
- Bardi, E., & Astermark, J. (2015). Genetic risk factors for inhibitors in haemophilia A. *European Journal of Haematology*, 94(s77), 7–10.
<https://doi.org/10.1111/ejh.12495>
- Benizri, S., Gissot, A., Martin, A., Vialet, B., Grinstaff, M. W., & Barthélémy, P. (2019). Bioconjugated Oligonucleotides: Recent Developments and Therapeutic Applications. *Bioconjugate Chemistry*, 30(2), 366–383.
<https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.8b00761>
- Blair, H. A. (2019). Emicizumab: A Review in Haemophilia A. *Drugs*, 79(15), 1697–1707. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01200-2>
- Boehlen, F., Graf, L., & Berntorp, E. (2014). Outcome measures in haemophilia: A systematic review. *European Journal of Haematology*, 93(S76), 2–15.
<https://doi.org/10.1111/ejh.12369>
- Bonanad, S. (29 de Abril de 2021). Cambiando la visión del tratamiento en Hemofilia. Avances en terapia de remplazo en Hemofilia.
- Bowen, D. J. (2002). Haemophilia A and haemophilia B: Molecular insights.

Journal of Clinical Pathology - Molecular Pathology, 55(1), 1–18.

<https://doi.org/10.1136/mp.55.1.1>

Carcao, M., Zunino, L., Young, N. L., Dover, S., Bouskill, V., Hilliard, P., Price, V. E., & Blanchette, V. S. (2020). Measuring the impact of changing from standard half-life (SHL) to extended half-life (EHL) FVIII prophylaxis on health-related quality of life (HRQoL) in boys with moderate/severe haemophilia A: Lessons learned with the CHO-KLAT tool. *Haemophilia*, 26(1), 73–78. <https://doi.org/10.1111/hae.13905>

Chhabra, E. S., Liu, T., Kulman, J., Patarroyo-White, S., Yang, B., Lu, Q., Drager, D., Moore, N., Liu, J., Holthaus, A. M., Sommer, J. M., Ismail, A., Rabinovich, D., Liu, Z., van der Flier, A., Goodman, A., Furcht, C., Tie, M., Carlage, T., ... Peters, R. (2020). BIVV001, a new class of factor VIII replacement for hemophilia A that is independent of von Willebrand factor in primates and mice. *Blood*, 135(17), 1484–1496. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.2019001292>

Chowdary, P. (2018). Inhibition of Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) as a Treatment for Haemophilia: Rationale with Focus on Concizumab. *Drugs*, 78(9), 881–890. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0922-6>

Chowdary, P., Lissitchkov, T. J., Willmann, S., Schwers, S., Michaels, L. A., & Shah, A. (2018). Pharmacodynamics, Pharmacokinetics and Safety of Bay 1093884, an Antibody Directed Against Human TFPI, in Patients with Factor VIII or IX Deficiency (With and Without Inhibitors): A Phase 1 Study. *Blood*, 132(Supplement 1), 1176. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-114683>

Cines, B. D. B., Pollak, E. S., Buck, C. A., Loscalzo, J., Zimmerman, G. A., Mcever, R. P., Pober, J. S., Wick, T. M., Konkle, B. A., Schwartz, B. S., Barnathan, E. S., McCrae, K. R., Hug, B. A., Schmidt, A., & Stern, D. M. (1998). *The Journal of The American Society of Hematology*. 91(10), 3527–

3561.

Collins, P. W. (2012). Personalized prophylaxis. *Haemophilia*, *18*(SUPPL.4), 131–135. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2012.02838.x>

Connie H. Miller, Brian Boylan, Amy D. Shapiro, Steven R. Lentz, and B. M. (2016). Limit of Detection and Threshold for Positivity of the Centers for Disease Control and Prevention Assay for Factor VIII Inhibitors. *Thrombosis and Haemostasis*, *176*(1), 100–106. <https://doi.org/10.1111/jth.13795>.Limit

Cormier, M., Batty, P., Tarrant, J., & Lillicrap, D. (2020). Advances in knowledge of inhibitor formation in severe haemophilia A. *British Journal of Haematology*, *189*(1), 39–53. <https://doi.org/10.1111/bjh.16377>

Dargaud, Y., Delavenne, X., Hart, D. P., Meunier, S., & Mismetti, P. (2018). Individualized PK-based prophylaxis in severe haemophilia. *Haemophilia*, *24*(November 2017), 3–17. <https://doi.org/10.1111/hae.13397>

Doshi, B. S., & Arruda, V. R. (2018). Gene therapy for hemophilia: what does the future hold? *Therapeutic Advances in Hematology*, *9*(9), 273–293. <https://doi.org/10.1177/2040620718791933>

Eichler, H., Angchaisuksiri, P., Astermark, J., Gary, B., Cepo, K., Chowdary, P., . . . Oldenburg, J. (2019). Efficacy and Safety of Subcutaneous Prophylaxis with Concizumab in Patients with Severe Hemophilia a without Inhibitors: Results from the Phase 2 explorer5 Trial. *Blood*.

Eichler, H., Angchaisuksiri, P., Kavakli, K., Knoebl, P., Windyga, J., Jiménez-Yuste, V., Hyseni, A., Friedrich, U., & Chowdary, P. (2018). A randomized trial of safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of concizumab in people with hemophilia A. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, *16*(11), 2184–2195. <https://doi.org/10.1111/jth.14272>

Federación Mundial de Hemofilia. (2020). *Informe del Sondel Mundial Anual 2019*.

Quebec: Federación Mundial de Hemofilia.

- Franchini, M., & Lippi, G. (2010). Recombinant factor VIII concentrates. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 36(5), 493–497. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1255443>
- Franchini, M., & Mannucci, P. M. (2018). Non-factor replacement therapy for Haemophilia: A current update. *Blood Transfusion*, 16(5), 457–461. <https://doi.org/10.2450/2018.0272-17>
- Franchini, M., Marano, G., Pati, I., Candura, F., Profili, S., Veropalumbo, E., Masiello, F., Catalano, L., Piccinini, V., Vaglio, S., Pupella, S., & Liunbruno, G. M. (2019). Emicizumab for the treatment of haemophilia A: A narrative review. *Blood Transfusion*, 17(3), 223–228. <https://doi.org/10.2450/2019.0026-19>
- Garcia-Sacristan, A., Dominguez-Pinilla, N., Cuesta-Tovar, J., & Garcia-Palomo, M. (2020). Impacto económico de emicizumab en pacientes con hemofilia a con inhibidor en un hospital de tercer nivel. In *Revista de la Ofil. Ibero Latin American Journal of Health System Pharmacy* (pp. 1–5). <https://www.revistadelaofil.org/impacto-economico-de-emicizumab-en-pacientes-con-hemofilia-a-con-inhibidor-en-un-hospital-de-tercer-nivel/>
- Gouw, S. C., Van Den Berg, H. M., Oldenburg, J., Astermark, J., De Groot, P. G., Margaglione, M., Thompson, A. R., Van Heerde, W., Boekhorst, J., Miller, C. H., Le Cessie, S., & Van Der Bom, J. G. (2012). F8 gene mutation type and inhibitor development in patients with severe hemophilia A: Systematic review and meta-analysis. *Blood*, 119(12), 2922–2934. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-09-379453>
- Granados, P. (12 de Mayo de 2021). Tratamiento del paciente hemofílico pediátrico en Costa Rica. (M. Chacón, Entrevistador)
- Grupo CAHT. (2013). *Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de*

hemostasia. (A. Blanco, & L. Kordich, Edits.) Buenos Aires, Argentina: Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis.

Heemskerk, J. W. M., Bevers, E. M., & Lindhout, T. (2002). Platelet activation and blood coagulation. *Thrombosis and Haemostasis*, *88*(2), 186–193.
<https://doi.org/10.1055/s-0037-1613209>

Herzog, R. W. (2019). Complexity of immune responses to AAV transgene products – Example of factor IX. *Cellular Immunology*, *342*, 1–21.
<https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2017.05.006>

Hoffman, R., Benz Jr, E., Silberstein, L., Heslop, H., Jeffrey I, W., Anastasi, J., . . . Abutalib, S. (2018). *Hematology Basic Principles and Practice*. Philadelphia: Elseiver.

Ingram, C. (1976). The history of haemophilia1. *Journal of Clinical Pathology*, *5*(29), 469–479.

Iorio, A., Blanchette, V., Blatny, J., Collins, P., Fischer, K., & Neufeld, E. (2017). Estimating and interpreting the pharmacokinetic profiles of individual patients with hemophilia A or B using a population pharmacokinetic approach: communication from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, *15*(12), 2461–2465. <https://doi.org/10.1111/jth.13867>

Janbain, M., & Pipe, S. (2016). What is the role of an extended half-life product in immune tolerance induction in a patient with severe hemophilia A and high-titer inhibitors? *Hematology (United States)*, *2016*(1), 648–649.
<https://doi.org/10.1182/asheducation-2016.1.648>

Kempton, C. L., & Payne, A. B. (2018). HLA-DRB1-factor VIII binding is a risk factor for inhibitor development in nonsevere hemophilia: A case-control study. *Blood Advances*, *2*(14), 1750–1755.
<https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2018019323>

- Kevane, B., & O'Connell, N. (2018). The current and future role of plasma-derived clotting factor concentrate in the treatment of haemophilia A. In *Transfusion and Apheresis Science* (Vol. 57, Issue 4, pp. 502–506). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.transci.2018.07.012>
- Konkle, B. A., Shapiro, A. D., Quon, D. V., Staber, J. M., Kulkarni, R., Ragni, M. V., Chhabra, E. S., Poloskey, S., Rice, K., Katragadda, S., Rudin, D., Fruebis, J., & Benson, C. C. (2020). BIVV001 Fusion Protein as Factor VIII Replacement Therapy for Hemophilia A. *New England Journal of Medicine*, 383(11), 1018–1027. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2002699>
- Kulkarni, R., & Soucie, J. M. (2011). Pediatric hemophilia: A review. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 37(7), 737–744. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1297164>
- Kurachi, K., & Davie, E. W. (1982). Isolation and characterization of a cDNA coding for human factor IX. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(21 1), 6461–6464.
<https://doi.org/10.1073/pnas.79.21.6461>
- Lee, M., Morfinin, M., Schulman, S., & Ingerslev, J. (2001). Scientific and Standardization Committee Communication. The Design and Analysis of Pharmacokinetic Studies of Coagulation Factors. *ISTH Website*, 1–9.
https://cdn.ymaws.com/www.isth.org/resource/group/d4a6f49a-f4ec-450f-9e0f-7be9f0c2ab2e/official_communications/fviiipharmaco.pdf
- Lieuw, K. (2017). Many factor VIII products available in the treatment of hemophilia a: An embarrassment of riches? *Journal of Blood Medicine*, 8, 67–73.
<https://doi.org/10.2147/JBM.S103796>
- Lillicrap, D. (2010). Improvements in factor concentrates. *Current Opinion in Hematology*, 17(5), 393–397.
<https://doi.org/10.1097/MOH.0b013e32833c06c6>

- Machin, N., & Ragni, M. V. (2018). An investigational RNAi therapeutic targeting antithrombin for the treatment of hemophilia A and B. *Journal of Blood Medicine*, 9, 135–140. <https://doi.org/10.2147/JBM.S159297>
- McMaster University. (04 de Abril de 2021). *WAPPS-HEMP*. Obtenido de <https://www.wapps-hemo.org>
- Mahlangu, J., Oldenburg, J., Paz-Priel, I., Negrier, C., Niggli, M., Mancuso, M. E., Schmitt, C., Jiménez-Yuste, V., Kempton, C., Dhalluin, C., Callaghan, M. U., Bujan, W., Shima, M., Adamkewicz, J. I., Asikanius, E., Levy, G. G., & Kruse-Jarres, R. (2018). Emicizumab prophylaxis in patients who have hemophilia a without inhibitors. *New England Journal of Medicine*, 379(9), 811–822. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1803550>
- Mahlangu, Johnny, Oldenburg, J., Paz-Priel, I., Negrier, C., Niggli, M., Mancuso, M. E., Schmitt, C., Jiménez-Yuste, V., Kempton, C., Dhalluin, C., Callaghan, M. U., Bujan, W., Shima, M., Adamkewicz, J. I., Asikanius, E., Levy, G. G., & Kruse-Jarres, R. (2018). Emicizumab Prophylaxis in Patients Who Have Hemophilia A without Inhibitors. *New England Journal of Medicine*, 379(9), 811–822. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1803550>
- Muczynski, V., Christophe, O. D., Denis, C. V., & Lenting, P. J. (2017). Emerging Therapeutic Strategies in the Treatment of Hemophilia A. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 43(6), 581–590. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1604053>
- Musso, R., Santagostino, E., Faradji, A., Iorio, A., van der Meer, J., Ingerslev, J., Lambert, T., Maas-Enriquez, M., & Gorina, E. (2008). Safety and efficacy of sucrose-formulated full-length recombinant factor VIII: Experience in the standard clinical setting. *Thrombosis and Haemostasis*, 99(1), 52–58. <https://doi.org/10.1160/TH07-06-0409>

- Neme, D. (29 de Abril de 2021). Alternativas diferentes a la terapia de remplazo en Hemofilia.
- Oldenburg, J., Lacroix-Desmazes, S., & Lillicrap, D. (2015). Alloantibodies to therapeutic factor viii in hemophilia A: The role of von willebrand factor in regulating factor viii immunogenicity. *Haematologica*, *100*(2), 149–156. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.112821>
- Oldenburg, J., Mahlangu, J. N., Bujan, W., Trask, P., Callaghan, M. U., Young, G., Asikanius, E., Peyvandi, F., Santagostino, E., Kruse-Jarres, R., Negrier, C., Kessler, C., Xu, J., Windyga, J., Shima, M., & von Mackensen, S. (2019). The effect of emicizumab prophylaxis on health-related outcomes in persons with haemophilia A with inhibitors: HAVEN 1 Study. *Haemophilia*, *25*(1), 33–44. <https://doi.org/10.1111/hae.13618>
- Oldenburg, J., Mahlangu, J. N., Kim, B., Schmitt, C., Callaghan, M. U., Young, G., Santagostino, E., Kruse-Jarres, R., Negrier, C., Kessler, C., Valente, N., Asikanius, E., Levy, G. G., Windyga, J., & Shima, M. (2017). Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with Inhibitors. *New England Journal of Medicine*, *377*(9), 809–818. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1703068>
- Oldenburg, J., Mahlangu, J. N., Kim, B., Schmitt, C., Callaghan, M. U., Young, G., Santagostino, E., Krusejarres, R., Negrier, C., Kessler, C., Valente, N., Asikanius, E., Levy, G. G., Windyga, J., & Shima, M. (2017). Emicizumab prophylaxis in hemophilia A with inhibitors. *New England Journal of Medicine*, *377*(9), 809–818. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1703068>
- Oldenburg, J., Schröder, J., Brackmann, H. H., Müller-Reible, C., Schwaab, R., & Tuddenham, E. (2004). Environmental and Genetic Factors Influencing Inhibitor Development. *Seminars in Hematology*, *41*(1 SUPPL. 1), 82–88. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2003.11.016>
- Palta, S., Saroa, R., & Palta, A. (2014). Overview of the coagulation system. *Indian*

Journal of Anaesthesia, 58(5), 515–523. <https://doi.org/10.4103/0019-5049.144643>

- Pasi, K. J., Rangarajan, S., Georgiev, P., Mant, T., Creagh, M. D., Lissitchkov, T., Bevan, D., Austin, S., Hay, C. R., Hegemann, I., Kazmi, R., Chowdary, P., Gercheva-Kyuchukova, L., Mamonov, V., Timofeeva, M., Soh, C. H., Garg, P., Vaishnav, A., Akinc, A., ... Ragni, M. V. (2017). Targeting of antithrombin in hemophilia A or B with RNAi therapy. *New England Journal of Medicine*, 377(9), 819–828. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1616569>
- Pasi, K. John, Lissitchkov, T., Mamonov, V., Mant, T., Timofeeva, M., Bagot, C., Chowdary, P., Georgiev, P., Gercheva-Kyuchukova, L., Madigan, K., Nguyen, H., Yu, Q., Mei, B., Benson, C. C., & Ragni, M. V. (2021). Targeting of antithrombin in hemophilia A or B with investigational siRNA therapeutic fitusiran—Results of the phase 1 inhibitor cohort. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, March 2020, 1436–1446. <https://doi.org/10.1111/jth.15270>
- Pasi, K. John, Rangarajan, S., Mitchell, N., Lester, W., Symington, E., Madan, B., Laffan, M., Russell, C. B., Li, M., Pierce, G. F., & Wong, W. Y. (2020). Multiyear Follow-up of AAV5-hFVIII-SQ Gene Therapy for Hemophilia A. *New England Journal of Medicine*, 382(1), 29–40. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1908490>
- Paz-Priel, I., Chang, T., Asikanius, E., Chebon, S., Emrich, T., Fernandez, E., . . . Schmitt, C. (2018). Immunogenicity of Emicizumab in People with Hemophilia A (PwHA): Results from the HAVEN 1-4 Studies. *Blood*, 92-99.
- Perrin, G. Q., Herzog, R. W., & Markusic, D. M. (2019). Update on clinical gene therapy for hemophilia. *Blood*, 133(5), 407–414. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-07-820720>
- Peters, R., & Harris, T. (2018). Advances and innovations in haemophilia treatment. *Nature Reviews Drug Discovery*, 17(7), 493–508.

<https://doi.org/10.1038/nrd.2018.70>

- Peyvandi, F., & Garagiola, I. (2019). Clinical advances in gene therapy updates on clinical trials of gene therapy in haemophilia. *Haemophilia*, *25*(5), 738–746. <https://doi.org/10.1111/hae.13816>
- Peyvandi, F., Garagiola, I., & Young, G. (2016). The past and future of haemophilia: diagnosis, treatments, and its complications. *The Lancet*, *388*(10040), 187–197. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01123-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01123-X)
- Peyvandi, F., Mannucci, P. M., Garagiola, I., El-Beshlawy, A., Elalfy, M., Ramanan, V., Eshghi, P., Hanagavadi, S., Varadarajan, R., Karimi, M., Manglani, M. V., Ross, C., Young, G., Seth, T., Apte, S., Nayak, D. M., Santagostino, E., Mancuso, M. E., Sandoval Gonzalez, A. C., ... Rosendaal, F. R. (2016). A Randomized Trial of Factor VIII and Neutralizing Antibodies in Hemophilia A. *New England Journal of Medicine*, *374*(21), 2054–2064. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1516437>
- Pipe, S. W. (2018). Bioengineered molecules for the management of haemophilia: Promise and remaining challenges. *Haemophilia*, *24*(April), 68–75. <https://doi.org/10.1111/hae.13507>
- Recht, M., Konkle, B. A., Jackson, S., Neufeld, E. J., Rockwood, K., & Pipe, S. (2016). Recognizing the need for personalization of haemophilia patient-reported outcomes in the prophylaxis era. *Haemophilia*, *22*(6), 825–832. <https://doi.org/10.1111/hae.13066>
- Rodriguez-Merchan, E. C., & Valentino, L. A. (2019). Emicizumab: Review of the literature and critical appraisal. *Haemophilia*, *25*(1), 11–20. <https://doi.org/10.1111/hae.13641>
- Rossetti LC. (2016). Alteraciones genéticas en hemofilia A. Implicancias en el desarrollo de inhibidores Haemophilia A genetic alterations. Implications in inhibitor development. *Hematologia*, *20*(Número extraordinario), 180–184.

<http://www.sah.org.ar/revista/numeros/25-vol-20-congre-2016.pdf>

- Sanofi. (2020). *Media Update Sanofi to resume dosing in fitusiran clinical studies in the U . S .*
- Santamaría Quesada, C. (18 de Marzo de 2021). Diagnóstico molecular de la hemofilia. (M. Chacón Murillo, Entrevistador) San José, San José, Costa Rica.
- Schutgens, R. (2018). Gene Therapy in Hemophilia. *HemaSphere*, 2(2), e37. <https://doi.org/10.1097/hs9.0000000000000037>
- Seheult, J. N., Cardel, L., Tange, J. I., Ashrani, A., Nichols, W. L., Heikal, N., & Chen, D. (2020). An in Silico Exploration of the Factors That Affect the Precision of the Bethesda Assay. *American Journal of Clinical Pathology*, 154(5), 671–682. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa085>
- Shapiro, A. D., Angchaisuksiri, P., Astermark, J., Benson, G., Castaman, G., Chowdary, P., Eichler, H., Jiménez-Yuste, V., Kavakli, K., Matsushita, T., Poulsen, L. H., Wheeler, A. P., Young, G., Zupancic-Salek, S., & Oldenburg, J. (2019). Subcutaneous concizumab prophylaxis in hemophilia A and hemophilia A/B with inhibitors: Phase 2 trial results. *Blood*, 134(22), 1973–1982. <https://doi.org/10.1182/blood.2019001542>
- Shapiro, A., Castaman, G., Cepo, K., Hvitfeldt Poulsen, L., Hollensen, C., Matsushita, T., Jimenez-Yuste, V. (2019). Efficacy and safety of subcutaneous prophylaxis with Concizumab in patients with hemophilia A or B with inhibitors: results from explorer 4, a phase 2, randomized, open-label, controlled trial. *Blood*, 1139.
- Shapiro, A., Gruppo, R., Pabinger, I., Collins, P. W., Hay, C. R. M., Schroth, P., Casey, K., Patrone, L., Ehrlich, H., & Ewenstein, B. M. (2009). Integrated analysis of safety and efficacy of a plasma- and albumin-free recombinant factor VIII (rAHF-PFM) from six clinical studies in patients with hemophilia A.

Expert Opinion on Biological Therapy, 9(3), 273–283.

<https://doi.org/10.1517/14712590902729392>

Spronk, H. M. H., Govers-Riemslog, J. W. P., & Ten Cate, H. (2003). The blood coagulation system as a molecular machine. *BioEssays*, 25(12), 1220–1228. <https://doi.org/10.1002/bies.10360>

Srivastava, A., Santagostino, E., Dougall, A., Kitchen, S., Sutherland, M., Pipe, S. W., Carcao, M., Mahlangu, J., Ragni, M. V, Windyga, J., Llinás, A., Goddard, N. J., Mohan, R., Poonnoose, P. M., Feldman, B. M., Lewis, S. Z., van den Berg, H. M., & Pierce, G. F. (2020). WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia*, 26(Suppl 6), 1–158. <https://doi.org/10.1111/hae.14046>

Ugalde, D. (14 de Mayo de 2021). Tratamiento del paciente hemofílico adulto en Costa Rica. (M. Chacón, Entrevistador)

U.S. Food and Drug Administration. (15 de Mayo de 2021). *U.S. Food and Drug Administration*. Obtenido de <https://www.fda.gov/>

Valentino, L. A., Hakobyan, N., Enockson, C., Simpson, M. L., Kakodkar, N. C., Cong, L., & Song, X. (2012). Exploring the biological basis of haemophilic joint disease: Experimental studies. *Haemophilia*, 18(3), 310–318. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2011.02669.x>

Wang, C., & Young, G. (2018). Clinical use of recombinant factor VIII Fc and recombinant factor IX Fc in patients with haemophilia A and B. *Haemophilia*, 24(3), 414–419. <https://doi.org/10.1111/hae.13432>

Witmer, C., & Young, G. (2013). Factor VIII inhibitors in hemophilia A: Rationale and latest evidence. *Therapeutic Advances in Hematology*, 4(1), 59–72. <https://doi.org/10.1177/2040620712464509>

- World Federation of Hemophilia. (13 de 02 de 2021). *World Federation of Hemophilia*. Obtenido de <https://www.wfh.org/en/home>
- Yada, K., & Nogami, K. (2019). Spotlight on emicizumab in the management of hemophilia a: Patient selection and special considerations. *Journal of Blood Medicine*, *10*, 171–181. <https://doi.org/10.2147/JBM.S175952>
- Yoneyama, K., Schmitt, C., Kotani, N., Levy, G. G., Kasai, R., Iida, S., Shima, M., & Kawanishi, T. (2018). A Pharmacometric Approach to Substitute for a Conventional Dose-Finding Study in Rare Diseases: Example of Phase III Dose Selection for Emicizumab in Hemophilia A. *Clinical Pharmacokinetics*, *57*(9), 1123–1134. <https://doi.org/10.1007/s40262-017-0616-3>
- Young, G., Liesner, R., Chang, T., Sidonio, R., Oldenburg, J., Jiménez-Yuste, V., Mahlangu, J., Kruse-Jarres, R., Wang, M., Uguen, M., Doral, M. Y., Wright, L. Y., Schmitt, C., Levy, G. G., Shima, M., & Mancuso, M. E. (2019). A multicenter, open-label phase 3 study of emicizumab prophylaxis in children with hemophilia A with inhibitors. *Blood*, *134*(24), 2127–2138. <https://doi.org/10.1182/blood.2019001869>