



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultad de Ciencias

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

Hemofilia y estrategias para mejorar su tratamiento

Sergio Martínez Nuñez

Grado de Biología

Año académico 2017-18

Trabajo tutelado por Regina Alemany Alonso
Departamento de Biología

Se autoriza a la Universidad a influir este Trabajo en el Repositorio Institucional para su consulta en acceso abierto y difusión en línea, con finalidades exclusivamente académicas y de investigación.

Autor		Tutor	
Sí	No	Sí	No
X		X	

Palabras clave del trabajo:

Hemofilia A, factor FVIII, inhibidores del FVIII, factores genéticos, factores ambientales.

Índice

1. Resumen.....	2
2. Introducción.....	3
3. Objetivo.....	11
4. Metodología.....	12
5. Resultados.....	13
6. Conclusiones.....	18
7. Agradecimientos.....	18
8. Bibliografía.....	19

1. Resumen

La hemofilia A es una enfermedad de carácter hereditario ligada al cromosoma X que se caracteriza por una ausencia, parcial o completa, del factor de coagulación VIII (FVIII), un factor clave en la cascada de coagulación. Para tratar dicha enfermedad se realizan infusiones de este factor para activar la capacidad coagulante del paciente, pero se ha visto que un 30% de los pacientes con hemofilia A severa y un 13% de los pacientes con hemofilia A no severa desarrollan inhibidores contra el factor VIII administrado, requiriendo alternativas al tratamiento y asumiendo por ello mayores costes sanitarios. En este trabajo bibliográfico, se han estudiado qué factores genéticos y ambientales pueden estar implicados en la aparición de inhibidores contra el factor VIII. Su conocimiento podría ayudar a elegir anticipadamente una estrategia terapéutica con la finalidad de disminuir el riesgo a desarrollar dichos inhibidores. Los resultados del trabajo indican que distintos factores genéticos están implicados en el desarrollo de inhibidores durante el tratamiento de la hemofilia A: el tipo de mutación que afecta al gen F8, las mutaciones de los genes implicados en la respuesta inmune y la etnia. Sin embargo, los estudios llevados a cabo hasta el momento indican que los pacientes con hemofilia A que presentan inversión del intrón 22 en el gen F8 son los más propensos al desarrollo de inhibidores frente al tratamiento. Por otro lado, en cuanto a los factores ambientales destacan: el estado clínico del paciente, el tipo de tratamiento y el tipo de factor utilizado, habiendo diferencias significativas entre el uso de factor VIII recombinante (rFVIII) y factor VIII plasmático (pdFVIII). Los resultados publicados indican que cuanto más severa sea la hemofilia A mayor será la propensión a desarrollar inhibidores contra el tratamiento, ya que mayor es la exposición del paciente al FVIII (mayor frecuencia y tiempo de administración). Asimismo, pacientes tratados con el FVIII recombinante presentan una mayor propensión a desarrollar inhibidores que pacientes tratados con el FVIII plasmático. En conjunto, se puede concluir que no es un único factor genético o ambiental el que determina que una persona con hemofilia A vaya a desarrollar inhibidores contra el FVIII administrado, sino que todos los factores influyen a la vez. Se produce un efecto umbral, en el que los factores genéticos asientan las bases para el desarrollo de inhibidores, pero finalmente es el efecto de los factores ambientales el que determina si se produce suficiente activación inmunitaria contra el FVIII, desencadenándose el desarrollo de inhibidores contra él.

2. Introducción

La hemofilia es una enfermedad genética recesiva que impide la correcta coagulación de la sangre. Se caracteriza por un déficit en los niveles de algún factor de coagulación debido a una mutación en el gen que codifica para este, provocando que no se pueda expresar o que no realice su función correctamente en la cascada de coagulación (ver más abajo). Esto provoca episodios de sangrado excesivo en las personas con dicha enfermedad y la necesidad de tratamientos con el factor deficiente para detenerlos.

Según el factor de coagulación deficitario hay tres tipos de hemofilia. La hemofilia A, objetivo de este trabajo, es debida al déficit del factor de coagulación VIII (FVIII), con una incidencia de 1/5000 varones (Carcao, 2012). La hemofilia B es debida al déficit de factor de coagulación IX (FIX), con una incidencia de 1/32000 varones, y hemofilia C está producida por el déficit de factor de coagulación XI (FXI). Los tipos de hemofilia A y B están ligadas al cromosoma X. Sin embargo, el tercer tipo, la hemofilia C, no está ligada a dicho cromosoma.

- **Cascada de coagulación**

En el proceso de hemostasis la coagulación o formación de un coágulo es fundamental para parar la pérdida de sangre desde un vaso dañado, y va siempre seguida de un proceso de reparación del tejido lesionado. El mecanismo de coagulación involucra a factores celulares (plaquetas) y a factores proteicos (factores de coagulación), ya que la activación, adhesión y agregación plaquetaria, junto con el depósito y conversión de fibrinógeno soluble en fibrina son necesarios para estabilizar el tapón inicial. El proceso de coagulación implica a toda una serie de reacciones enzimáticas encadenadas que se amplifican a cada paso. En estas reacciones un zimógeno (precursor enzimático inactivo) y su cofactor glicoproteico son activados para convertirse en componentes activos que a continuación catalizan la siguiente reacción en la cascada. Una enzima activa escinde una porción de la siguiente proteína inactiva de la cascada, activándola. El proceso finaliza con la formación de un polímero, la fibrina, que forma una red fibrosa tridimensional que aprisiona eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Se forma así el coágulo sanguíneo (Figura 1).

La coagulación tiene lugar por parte de dos vías iniciadas por mecanismos diferentes, la vía extrínseca y la vía intrínseca, que convergen en la vía común, la cual da lugar a la formación del coágulo.

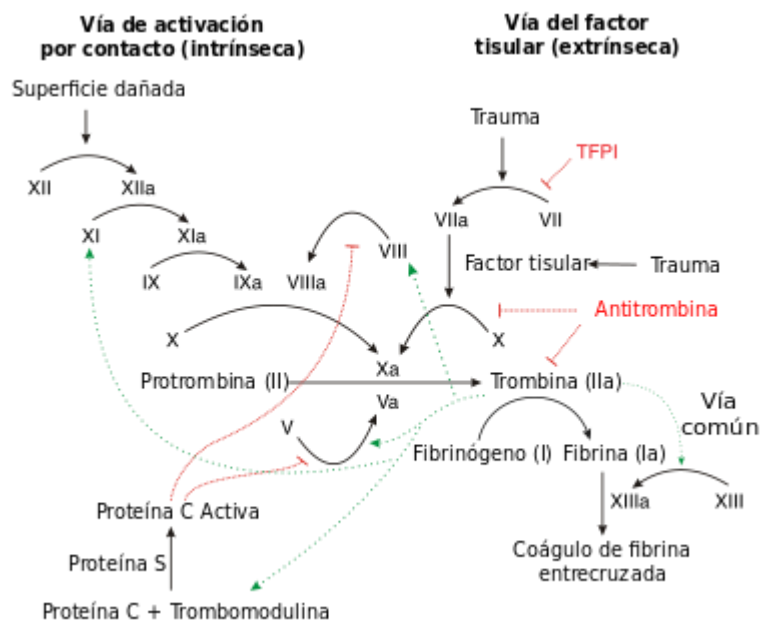


Figura 1. Esquema de la cascada de coagulación obtenido de Joe D, mostrando la vía intrínseca, la vía extrínseca y la vía final común.

De estas dos vías, la extrínseca se inicia por la fisura del tejido, siendo el evento clínico más importante para el mantenimiento de la hemostasis, mientras que la vía intrínseca se origina por una anomalía en el vaso en ausencia de fisuras del tejido, por lo que es poco significativa bajo condiciones fisiológicas normales.

La vía extrínseca se inicia al producirse una lesión tisular debido a que la exposición de la sangre al espacio que se encuentra debajo del endotelio inicia dos procesos: cambios en las plaquetas y la exposición del factor tisular (TF) o factor III que es una glicoproteína subendotelial que se encuentra en la superficie celular unida a los fosfolípidos. Este TF entra en contacto con el factor de la coagulación FVII presente en el plasma, activándolo y formando el complejo activado TF-FVIIa. Este complejo activa tanto al FIX como al FX, dando lugar al FXa. Asimismo, la activación del FX para formar el FXa mediado por el complejo TF-FVIIIa es casi inmediatamente inhibida por el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI).

La vía intrínseca se inicia cuando la sangre entra en contacto con una superficie diferente al endotelio vascular. En una lesión vascular la membrana basal del endotelio o las fibras colágenas del tejido conectivo, proporcionan el punto de iniciación. Sin embargo, superficies cargadas negativamente también pueden desencadenar esta vía. La activación de esta vía se inicia con la formación del complejo primario sobre el colágeno (HMWK), el factor Fletcher o precalicreína (PK) y el factor de coagulación XII (FXII). El FXII tiene una pequeña actividad catalítica con la que activa a la precalicreína convirtiéndola en calicreína. A continuación, la calicreína actúa catalíticamente sobre el FXII para activarlo y convertirlo en XIIa, una enzima más activa. La actividad catalítica de la calicreína se ve potenciada por el HMWK. Como resultado la precalicreína se convierte en calicreína y el FXII se activa convirtiéndose en XIIa. A su vez el FXIIa activa al FXI dando lugar al FXIa. El factor XIa activa al FIX, el cual junto con su cofactor (FVIIIa) forman el complejo tenasa, que finalmente es el que se encarga de activar el FX a FXa.

Vía final común: Una vez activado el FX ambas vías confluyen en la llamada vía común. Esta vía termina con la conversión de fibrinógeno en fibrina y su posterior polimerización que estabiliza el coágulo. El FX activado (FXa) se une a su co-factor, el FVa, formando el complejo protrombinasa, que funciona activando el paso de protrombina a trombina. Este paso se acelera por la formación de un complejo con el FVa y Ca^{2+} sobre la superficie de las membranas plaquetarias (fosfolípidos de membrana). El FXa y la protrombina se adsorben sobre la membrana utilizando los iones Ca^{2+} como puentes. El FVa se une a la protrombina acelerando la reacción. El FVa se produce por la acción de la trombina sobre el factor V en un claro ejemplo de una reacción que va acelerándose a medida que progresa (reacción autoacelerada). A continuación, la trombina provoca el paso de fibrinógeno a monómeros de fibrina que polimerizan espontáneamente y también activa al FXIII, FXIIIa. El FXIIIa forma enlaces covalentes uniendo los polímeros de fibrina, estabilizando de esa manera el coágulo. La trombina tiene además otras funciones como activar plaquetas, activar a los factores FVIII y FV, así como a su proteína C inhibidora (en presencia de trombomodulina).

- **Hemofilia A: deficiencia del factor de coagulación FVIII**
 - **Etiología**

Debido a que la hemofilia A está ocasionada por la presencia de un alelo recesivo del gen F8 situado en la posición Xq28 del cromosoma X se manifiesta mayoritariamente en hombres hemocigotos, con una incidencia de 1/5000 varones nacidos (Carcao, 2012; Wight y Paisley, 2003). El gen humano F8 fue identificado y clonado entre 1982 y 1984 (Gitschier et al., 1984; Wood et al., 1984), siendo uno de los más largos descritos, con 186 kbp, 26 exones, 25 intrones y 7053 nucleótidos que dan lugar al factor VIII (FVIII), una proteína de 2351 aminoácidos (Gitschier et al., 1984; Wood et al., 1984). Desde entonces, se han registrado alrededor de 1500 mutaciones para este gen que han sido registradas en la base de datos internacional para la mutación (worldwide mutation database, HADB), también conocida como HAMSTeRS (The Haemophilia A Mutation, Structure, Test and Resource Site) (Inaba et al., 2013). Una mutación en el gen F8 es la causa de la hemofilia A en la que los afectados presentan niveles bajos del FVIII que, como se ha mencionado anteriormente, es un componente crítico de la cascada de coagulación (Parvathaneni et al., 2017). Las mujeres heterocigotas suelen ser portadoras asintomáticas, presentando una actividad del FVIII normal o intermedia (FVIII:C) (Radic et al., 2015). Sin embargo, aunque rara vez se expresa en portadoras femeninas (Radic et al., 2015), se han descrito casos en los que mujeres pueden padecer la hemofilia debido al proceso de inactivación o lionización del cromosoma X “sano”. La inactivación del cromosoma X es un fenómeno epigenético que se da en etapas tempranas de la embriogénesis de los mamíferos hembras, debido a que uno de los dos cromosomas X es silenciado aleatoriamente para compensar la dosis de genes ligados al cromosoma X entre machos 46(XY) y hembras 46(XX) (Radic et al., 2015). Dicha inactivación da lugar a hembras con mosaicos de células con dos poblaciones diferenciadas por la expresión de uno u otro cromosoma X (Lyon, 1961). Las portadoras sintomáticas expresan FVIII similar a los hombres afectados con hemofilia A (Radic et al., 2015).

Su severidad se clasifica de acuerdo a la actividad coagulativa del FVIII en el plasma de los pacientes, siendo severa si es <1%, moderada si se encuentra entre el 1 y el 5% y leve si su actividad es >5% y <40% de lo normal (Blanchette et al., 2014). Debido a su deficiencia estos pacientes tienen riesgo de por vida de padecer sangrados y como tratamiento requieren frecuentes infusiones intravenosas de concentrados de FVIII para prevenir los sangrados (Schep et al., 2018).

El factor VIII se produce mayoritariamente en las células endoteliales sinusoidales del hígado y es liberado a la circulación como una glicoproteína heterodimérica altamente glicosilada consistente en 2332 aminoácidos y compuesto por 6 dominios: A1, A2 y B formando la cadena pesada (HC) y A3, C1 y C2 formando la cadena ligera (LC) (Lenting et al., 1998). Tras su secreción a la sangre, el FVIII se une no-covalentemente al factor de von Willebrand (VWF del inglés “von Willebrand factor”), el cual lo estabiliza y concentra en el lugar de acción (Vlod et al., 1996). La unión se produce entre los dominios A3 y C2 del FVIII y el dominio D'D3 de VWF. Bajo condiciones fisiológicas aproximadamente el 94% de moléculas de FVIII se encuentran unidas a VWF (Vlod et al., 1996) y presenta una vida media de 12-16 h tras las que es eliminado principalmente por el hígado (Over et al., 1978; Lacroix et al., 2008).

- Estados clínicos de la enfermedad

Se describen dos estados clínicos de la enfermedad. El estado clínico no severo (leve o moderado) se caracteriza porque los pacientes solo presentan hemorragias en respuesta a traumatismos mayores o cirugía. Sin embargo, en el estado clínico severo los pacientes presentan hemorragias espontáneas o hemartrosis espontánea, que se pueden dar en cualquier zona del cuerpo, pero aparecen principalmente en las articulaciones, los músculos y el sistema digestivo. Alrededor del 60% de pacientes con hemofilia A se clasifican como no severos (Antonarakis et al., 1995).

- Tratamiento

Como se ha indicado anteriormente, el tratamiento principal para la hemofilia A es administrar concentrados de FVIII. Según las necesidades del paciente se administran dos tratamientos:

a) Profilaxis

Se realizan administraciones de concentrado de FVIII de 2 a 3 veces por semana (Hartholt et al., 2017). Este tratamiento se lleva a cabo principalmente para los pacientes con hemofilia severa y para los pacientes tanto de hemorragia severa como leve en los primeros años de vida.

b) A demanda

Se realizan administraciones del concentrado de FVIII únicamente en los casos en los que este sea requerido, como por ejemplo cuando se ha producido un traumatismo severo o una cirugía. Este tratamiento solo se da en casos de hemofilia leve o moderada (Hartholt et al., 2017).

- Tipo de tratamiento

Según el origen del FVIII el tratamiento puede ser plasmático o recombinante.

a) Plasmático

El tratamiento con FVIII plasmático (pdFVIII del inglés "plasma-derived FVIII") consiste en administrar el factor VIII que se ha extraído del plasma sanguíneo de donantes. Tras extraerse, se congela en seco para obtener el concentrado. Este concentrado es tratado por medio de diferentes métodos para la eliminación de virus y proteínas indeseadas, aunque algunos virus consiguen sobrevivir al tratamiento. Es el caso de la Hepatitis A, que se ha descrito que algunas personas se han contagiado de dicha enfermedad al recibir el concentrado.

En la circulación, FVIII se encuentra unida al factor de Von Willebrand (VWF) que es una proteína altamente glucosilada (Hartholt et al., 2017) producida por células endoteliales y megacariocitos (Nachman et al., 1977). VWF protege a FVIII de la degradación proteolítica, activación prematura y clareamiento (Hartholt et al., 2017). La importancia de esta proteína la vemos en la enfermedad de von Willebrand (VWD) tipo 3, que se caracteriza por una completa ausencia de este factor, la cual

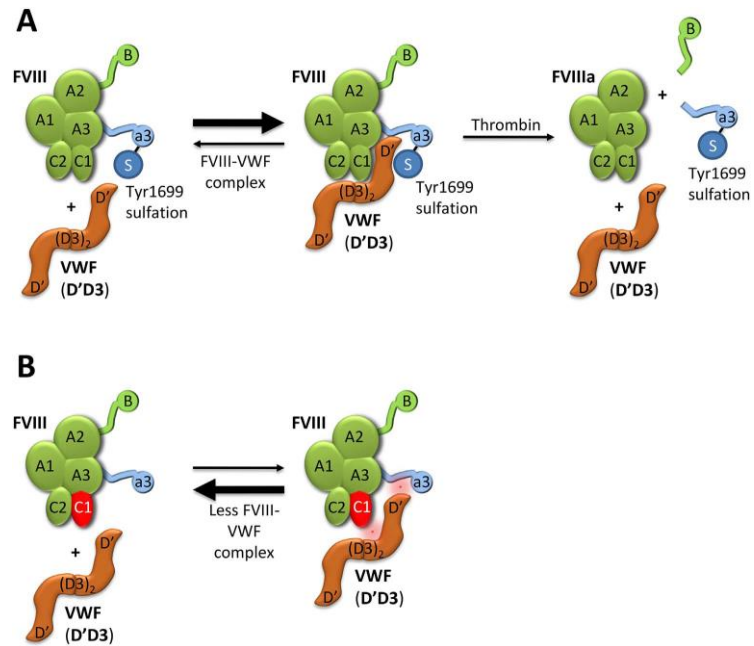


Figura 1. Representación de Hartholt et al. (2017) del enlace entre FVIII y VWF, pudiéndose formar este en A debido a la sulfatación del residuo a3 de FVIII y no pudiéndose dar en B debido a que a3 no está sulfatado.

se asocia con bajos niveles de FVIII (< 10 IU/dL) debido a un incremento del clareamiento (Hartholt et al., 2017). VWF se une a los dominios C1 (Jacquemin et al., 2000) y C2 (Saenko et al., 1994) del FVIII impidiendo la unión a la fosfatidilserina (PS) que contienen las membranas, manteniéndolo así en la circulación para formar parte de la cascada de coagulación (Hartholt et al, 2017). Además, la sulfatación de Tyr1699 en el dominio ácido a3 del FVIII está críticamente implicada en su unión a VWF (Hartholt et al, 2017), la ausencia de dicha sulfatación impide que el FVIII forme el complejo con VWF (Figura 2) (Hartholt et al, 2017).

b) Recombinante

En el tratamiento con FVIII recombinante (rFVIII), el factor VIII se obtiene a partir de células genéticamente diseñadas que portan el gen F8 humano, produciendo células transgénicas que producen FVIII. De esta manera se obtiene un concentrado de FVIII que, al no proceder de la sangre humana, carece de virus y proteínas indeseadas. Es por ello, que este tipo de tratamiento es más seguro para los pacientes con hemofilia tipo A. En algunos casos, la albúmina pasteurizada se utiliza como estabilizador para el concentrado no proveniente de la sangre humana, por lo que esta albúmina sí podría tener algún virus, aunque no se ha descrito ningún caso donde se haya producido una infección por parte de la albúmina.

En el caso de rFVIII se ha sugerido que se produce una sulfatación incompleta de Tyr1699, dando lugar a una unión incompleta con VWF al ser administrado en los pacientes con hemofilia A (Hartholt et al., 2017).

- Respuesta inmune al FVIII y desarrollo de inhibidores

Históricamente las transfusiones conllevaban la infección por virus, pero actualmente el mayor riesgo al que se enfrenta el tratamiento de la hemofilia A es la aparición de

anticuerpos contra el FVIII (Schep et al., 2018). La respuesta inmune a la administración de FVIII sigue el paradigma de respuesta inmune clásica, que podemos dividir en la respuesta primaria y la respuesta secundaria (Schep et al., 2018).

La respuesta primaria se inicia con el reconocimiento y endocitosis del FVIII administrado por células presentadoras de antígeno (APCs del inglés “antigen presenting cells”), ya sean CD, macrófagos o células B (Schep et al., 2018). El FVIII pasa a presentarse en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC del inglés “major histocompatibility complex”) de clase II a las células T del ganglio linfático para que estas células T se activen y se diferencien en células T CD4+ específicas para el FVIII, las cuales proporcionarán ayuda a las células B, que se diferenciarán en células B de memoria específica de FVIII y células plasmáticas productoras de anticuerpos anti-FVIII (Schep et al., 2018).

La respuesta secundaria viene mediada por las células B de memoria específicas para el FVIII, que activan a las células T CD4+, las cuales ayudan a las células B a diferenciarse en células secretoras de anticuerpos (Schep et al., 2018).

La aparición de inhibidores se da aproximadamente en el 25-30 % de los pacientes con hemofilia A severa y en un 5-13 % con hemofilia no severa (leve y moderada) (Velzen et al., 2017; Wight y Paisley, 2003; Schep et al., 2018), ocasionando que la terapia se vuelva inefectiva e incrementando los riesgos de sangrados incontrolables y la mortalidad. Todo ello, además, aumenta los costes sanitarios (Schep et al., 2018). Una de las consecuencias del desarrollo de inhibidores contra el FVIII es la necesidad de cambiar el tratamiento tradicional por tratamientos alternativos mediante el uso de agentes puente, que son menos eficientes y más caros (Schep et al., 2018). Estos agentes puente consisten en la utilización de otros factores implicados en la coagulación, como son el FVIIa y aPCC, para generar trombina en el lugar de la lesión en ausencia de FVIII, aunque estos, al ser solo un sustitutivo del factor faltante, presentan una eficacia en el control de los sangrados del 70-90%, y aumenta el riesgo de una hemorragia severa, incrementando así los costes sanitarios (Escobar M.A., 2015; Solano M.H., et al. 2015). El uso de estos agentes de manera repetida o en dosis altas puede llegar a ocasionar trombosis (Aledort, 2004).

El desarrollo de inhibidores contra el FVIII es de carácter multifactorial y tanto factores genéticos como factores relacionados con el tratamiento han sido descritos como factores de riesgo en su aparición. La exposición a concentrados del FVIII es un prerrequisito para la aparición de inhibidores, dependiendo esta de la acumulación de días de exposición (ED del inglés “exposition days”). En pacientes con hemofilia A severa la aparición de inhibidores se da pronto, durante los 50 primeros días de exposición, mientras que en pacientes con hemofilia A no severa (leve o moderada) la aparición de inhibidores aparece más allá de los 50 primeros ED, presentando una incidencia del 13,3 % a los 100 ED (Velzen et al., 2017). Más allá de estos ED comentados, el riesgo de desarrollo de inhibidores permanece, pudiéndose dar su aparición a causa de una cirugía o alguna condición inflamatoria importante (Pratt, 2017).

Estos inhibidores son anticuerpos anti-FVIII, moléculas de IgG policlonales con una alta afinidad y sobrerrepresentación de IgG4 (Schep et al., 2018). A pesar de que muchos inhibidores contra FVIII tienen múltiples epítomos específicos, los anticuerpos que atacan al dominio A2 y al C2 del FVIII son los más frecuentes (Schep et al., 2018). Aunque los estudios han demostrado que los anticuerpos más comunes son anti-A2 y anti-C2, también se han documentado anti-A3 y anti-C1 (Astermark et al., 2003). Estos estudios demuestran que la respuesta inmune al factor VIII es policlonal y hay múltiples epítomos para dichos anticuerpos (Astermark et al., 2003). La manera más frecuente por la que estos anticuerpos contrarrestan la actividad coagulante del factor VIII es neutralizándolo mediante impedimento estérico, es decir, la unión de estos anticuerpos a epítomos funcionales del factor VIII impide su unión con otras moléculas e interfiere en la actividad de este en la cascada de coagulación (Schep et al., 2018). Por ejemplo, los anticuerpos anti-A2 impiden la unión y activación del FVIII al FX. Sin embargo, se han descrito otros mecanismos de inhibición. Algunos anticuerpos anti-FVIII tienen actividad enzimática que inactiva al FVIII por hidrólisis (Lacroix et al., 1999; Lacroix et al., 2002). Por otro lado, anticuerpos dirigidos a epítomos no funcionales, como el A1 y el C1, limitan la función del FVIII mediante la disminución de su estabilidad y mediante la formación de complejos inmunes que aceleran el proceso de eliminación de dicho factor (Jacquemin et al., 2000; Schep et al., 2018). Se han localizado epítomos inhibidores en los dominios A2, A3-C1 y C2 (Prescott et al., 1997; Zhong et al., 1998; Nogami et al., 2018).

- Alternativas para contrarrestar el desarrollo de inhibidores

a) Agentes puente

El tratamiento hemostático de pacientes de hemofilia A con inhibidores considerados de alta respuesta, como ya se ha mencionado anteriormente, depende de terapias de agentes puente. Para ello se dispone de los agentes puente FVIIa recombinante (rFVIIa) y de los complejos de protrombina activada plasmática (aPCC) (Nogami et al., 2018) que amplifican la cascada de coagulación para generar más trombina (Franchini y Mannucci, 2018).

a.1) Factor recombinante VIIa

El uso del rFVIIa como agente puente consiste en administrar dicho factor activado para que active directamente al FX en las plaquetas y este aumente la producción de trombina para que pueda continuar con la cascada de coagulación, dando un coágulo estable (Figura 1) (Escobar, 2015). En el experimento de Klintman et al. (2010) se demostró que la generación de protrombina se potenciaba al añadir a muestras de plasma provenientes de pacientes con hemofilia A e inhibidores con un concentrado resultante de la mezcla de agentes puente con FVIII en comparación a la administración del agente puente por sí solo.

a.2) Complejo concentrado de protrombina activada (aPCC del inglés “activated prothrombin complex concentrates”)

El uso del complejo de protrombina activada (aPCC), que es un agente puente utilizado en clínica con el nombre de FEIBA, consiste en la administración de este fármaco que actúa a nivel del complejo protrombinasa, convirtiendo protrombina a trombina en la superficie de fosfolípidos por medio del FXa (Figura 1) (Escobar, 2015). Debe su efecto a que contiene las proteínas FII, FIX y FX inactivas y el FVII activo (FVIIa) (Carrillo-Esper et al., 2015)

Yada et al. (2013) demostró en estudios en los que estaba presentes FVIII y aPCC que la preactivación de FVIII en presencia del factor tisular (TF) y el FVIIa contenido en aPCC contribuye a mejorar la actividad de coagulación independientemente de la presencia de inhibidores (Nogami et al., 2018). Por ello, aPCC activa al FVIII *in vitro* y esta activación está mediada por el FVIIa contenido en aPCC (Nogami et al., 2018). Estos estudios demostraron que la terapia combinando FVIII con aPCC puede dar un mejor control hemostático en pacientes que han desarrollado inhibidores (Nogami et al., 2018), concluyendo que el mecanismo de coagulación relacionado con FVIII/FVIIa mejora la función hemostática global debido a la presencia conjunta de agentes puentes y FVIII en pacientes con hemofilia A que han desarrollado inhibidores (Nogami et al., 2018).

b) Administración de NAC (N-acetil cisteína)

En estudios utilizando muestras de ratones deficientes en FVIII como modelo de hemofilia A severa se vio que el estado oxidativo sistémico contribuía al desarrollo de inhibidores contra el FVIII al oxidar sus epítomos (Peyron et al., 2018). Por ello se realizó un estudio preclínico administrando N-acetil cisteína (NAC), un componente antioxidante, a dichos ratones deficientes en FVIII durante una semana y se comprobó que la capacidad de absorción del radical oxidante (ORAC del inglés “oxidant radical absorbance capacity”) en muestras de plasma era significativamente mayor que en el control, reduciendo así el estado oxidativo sistémico de los ratones deficientes en FVIII y disminuyendo así el riesgo de desarrollo de inhibidores contra el FVIII (Peyron et al., 2018). Sin embargo, se comprobó también mediante este estudio que el NAC resultaba inefectivo en el caso de la administración de FVIII previamente oxidado (Peyron et al., 2018).

c) Complejos de coagulación plasmáticos

El efecto de los inhibidores puede ser evitado, además de con los agentes puente, mediante el uso de complejos de emicizumab, un anticuerpo biespecífico obtenido de complejos de coagulación plasmáticos y desarrollado recientemente. Emicizumab se une al FIXa y a FX, mimetizando así la actividad como cofactor del FVIII localizando y orientando los componentes del complejo tenasa intrínseco para incrementar su eficiencia catalítica (Shima et al., 2016; Pratt, 2017). Debido a su estructura no se ve afectado por los inhibidores contra el factor FVIII y tiene una vida media de 4 a 5 semanas en voluntarios sanos (Shima et al., 2016). En el estudio clínico realizado por Shima et al. (2016) en 18 pacientes japoneses con hemofilia A severa con o sin inhibidores, el emicizumab consiguió que no se produjeran

sangrados en el 73% de los pacientes con inhibidores y en el 71% de pacientes sin inhibidores contra el FVIII. Así mismo se comprobó que el uso de emicizumab no se asociaba con efectos adversos graves ni con el desarrollo de anomalías clínicamente relevantes en la coagulación.

d) ITI

La única terapia probada y efectiva para erradicar el desarrollo de inhibidores en el tratamiento de la hemofilia es el protocolo ITI (del inglés “Immune Tolerance Induction”). Este protocolo consiste en administrar repetida y frecuentemente dosis de FVIII en condiciones no inflamatorias, lo que regula negativamente la respuesta de anticuerpo e induce la tolerancia inmune (Schep et al., 2018), siendo efectivo en un 60-80% de los casos (Schep et al., 2018; Franchini y Mannucci, 2018). Por ello, con la administración regular de altas dosis de FVIII durante meses u años se consigue inducir tolerancia del sistema inmune para que FVIII pueda volver a ser usado profilácticamente para mantener el control hemostático. De hecho, es la única terapia que permite volver al régimen de FVIII profiláctico (Carcao et al., 2018). Sin embargo, es una terapia muy invasiva y cara, además lleva varios años generar tolerancia (Schep et al., 2018). En el experimento de Oldenburg et al. (2013) se estudió el régimen de FVIII plasmático con VWF para pacientes de ITI con alto riesgo y se registró un tiempo medio de 20 meses para el desarrollo de tolerancia.

Durante el tratamiento, los agentes puente (rFVIIa y complejo de protrombina activado [aPCCs]) son usados para tratar el sangrado hasta que se alcanza la tolerancia (Carcao et al., 2018). En aquellos donde funciona correctamente, tarda aproximadamente 1-2 años y para aquellos ITI que fallan inicialmente se opta por usar un ITI de rescate, lo que normalmente implica un cambio en el factor de coagulación (Carcao et al., 2018).

Cabe destacar que mucha de la información sobre el ITI proviene de estudios *in vitro*, modelos animales o cohortes de pequeña retrospectiva, por lo que los resultados resultan inconclusos (Schep et al., 2018).

3. Objetivo

En este trabajo bibliográfico se ha llevado a cabo una revisión de las características patofisiológicas de la hemofilia A y de las estrategias terapéuticas utilizadas actualmente en su tratamiento. Uno de los mayores inconvenientes de las terapias utilizadas en el tratamiento de pacientes con hemofilia A, basadas en concentrados del factor de coagulación VIII (FVIII), es la aparición de inhibidores contra él que provocan que la terapia se vuelva inefectiva, obligando a cambiarla o combinarla con otras terapias alternativas. Al revisar las estrategias terapéuticas para contrarrestar el desarrollo de inhibidores se concluye que son menos eficientes y más caras.

Por ello, el principal objetivo de este estudio fue realizar una investigación bibliográfica para evaluar qué factores genéticos y ambientales pueden estar involucrados en el desarrollo de inhibidores contra el factor VIII en pacientes con hemofilia A durante su tratamiento con concentrados de dicho factor. Su conocimiento podría ayudar a elegir anticipadamente una estrategia terapéutica con la finalidad de disminuir el riesgo a desarrollar inhibidores.

4. Metodología

Para llevar a cabo este estudio sobre los factores que influyen en el desarrollo de inhibidores contra el tratamiento de la hemofilia A se ha hecho una revisión bibliográfica desde febrero del 2017 a julio del 2018 que ha consistido en diversas búsquedas de bibliografía en la base de datos PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>).

Para iniciar la búsqueda de información y tener un primer acercamiento con el tema se realizaron cinco búsquedas generales iniciales utilizando las combinaciones de palabras clave “Factor VIII inhibitors in hemophilia A”, “Immunogenicity in hemophilia A”, “Hemophilia treatment inhibitors”, “Genetic differences factor VIII”, “Genetic factor VIII in races”, obteniendo respectivamente 2550, 223, 3246, 116 y 66 resultados (ver Tabla 1). De esto resultados obtenidos se realizó una criba, mirando principalmente las dos primeras páginas de cada búsqueda y seleccionando aquellos artículos científicos que incorporaran en su título las palabras “Hemophilia A” o “FVIII” y que considerara que aportaran más información al leer tanto título como resumen, así como que fueran lo más recientes posibles (teniendo 10 años como mucho). En esta criba, además, se excluyeron aquellos artículos que considerara que aportaran información repetitiva que ya tenía de los elegidos anteriormente. Como resultado de cada búsqueda se eligieron, respectivamente, 12, 11, 2, 11 y 11 artículos científicos (Tabla 1). Para este estudio se han aceptado artículos tanto en idioma español como en idioma inglés.

Tabla 1. Palabras claves y resultados obtenidos para las búsquedas bibliográficas iniciales.

PALABRAS CLAVE	RESULTADOS	ELEGIDOS
FACTOR VIII INHIBITORS IN HEMOPHILIA A	2250	12
IMMUNOGENICITY IN HEMOPHILIA A	223	11
HEMOPHILIA TREATMENT INHIBITORS	3246	2
GENETIC DIFFERENCES FACTOR VIII	116	11
GENETIC FACTOR VIII IN RACES	66	11

De estos artículos seleccionados por el título, se realizó una lectura del resumen y se descartaron aquellos que no aportaran nada al tema del estudio o que no resultaran de interés, mientras que de los que sí aportaban información se realizó la lectura completa del artículo.

Tras estas búsquedas iniciales y generales se realizaron búsquedas concretas de artículos citados en los obtenidos inicialmente para concretar la información tanto en la base de datos PubMed como en Google Académico.

Una vez obtenida la información se procedió a la redacción del estudio y a la realización de tablas resumen de los resultados obtenidos.

5. Resultados y discusión

El desarrollo de inhibidores está influenciado por factores de riesgo tanto genéticos como ambientales. Estos últimos incluyen la conformación de la proteína FVIII, su interacción con el sistema inmune y la condición inflamatoria e inmune del paciente en el momento del tratamiento basado en la administración del concentrado de FVIII (Scheep et al., 2018).

¿Están los factores genéticos involucrados en el desarrollo de inhibidores en pacientes con hemofilia A durante su tratamiento con concentrados de factor VIII?

Los riesgos genéticos incluyen la mutación del gen 8, las mutaciones en genes del sistema inmune y la etnia (Hartholt et al., 2017; Scheep et al., 2018; Luna et al., 2018).

El mejor indicador genético del desarrollo de inhibidores parece ser el genotipo del FVIII, siendo el riesgo mayor del 65% en deleciones de multidominio, del 30% en mutaciones sin sentido, de entre el 15-30% en la inversión del intrón 22, entre 17-13% en mutaciones en los dominios A3 y C2 y menor del 10% en mutaciones de cambio de sentido, mutaciones en sitios de empalme y pequeñas deleciones e inserciones (Tabla 2) (Gouw et al., 2011). De estas mutaciones solo se ha comprobado la correlación de una de ellas con la gravedad de hemofilia A que produce, siendo el 45% de los casos de hemofilia A severa ocasionados por la inversión del intrón 22 y siendo considerada, por ello, una mutación de alto riesgo (Lakich et al., 1993; Bardi y Astermark, 2014).

Tabla 2. Mutaciones del gen F8 como factor genético para el desarrollo de inhibidores contra el FVIII en pacientes con hemofilia A, indicando el tipo de factor del que se trata, el tamaño de muestra (N), el porcentaje de desarrollo de inhibidores obtenido y la referencia bibliográfica.

Factor		N	% desarrollo inhibidores	Referencia
Defectos en genes de alto riesgo	Total	200	18%	Gouw et al. (2011)
	Deleciones largas		67%	
	Mutaciones sin sentido		30%	
	Inversiones del intrón 1 o 22		15-30%	
Defectos en genes de bajo riesgo	Total	118	7%	
	Pequeñas deleciones e inserciones		7%	
	Mutaciones sin sentido		6%	
	Mutaciones en sitios de empalme		8%	
	Mutaciones en		13%	

	el dominio A3			
	Mutaciones en el dominio C2		17%	

Cabe destacar que un factor de importancia en el desarrollo de inhibidores contra el FVIII es el propio sistema inmunitario, ya que es este el responsable de la generación de los anticuerpos contra el FVIII. La fuerte relación entre el genotipo del FVIII y el riesgo de desarrollo de inhibidores contra el FVIII se explica mejor por el hecho de que los pacientes con hemofilia A tienen una falta de tolerancia central para el FVIII (Schep et al., 2018). Como consecuencia de la completa ausencia de FVIII autólogo en pacientes de hemofilia A, las células T y B específicas para el FVIII pueden escapar al proceso de selección para eliminar células autorreactivas, teniendo una mayor propensión a activarse tras la administración de FVIII (Schep et al., 2018).

Además, muchos polimorfismos en genes de respuesta inmunitaria como interleukina 10 (IL-10), factor de necrosis tumoral (TNF) y el antígeno asociado a linfocitos T citotóxicos 4 (CTLA-4) han sido identificados como factores de riesgo genético en el desarrollo de inhibidores (Hartholt et al., 2017; Schep et al., 2018). Teóricamente, aunque no ha sido probado, el tipo de antígeno leucocitario humano (HLA) puede ser un factor de riesgo en la formación de inhibidores debido a que es uno de los factores que determinan qué péptidos están presentes en las células T helper (Schep et al., 2018).

La etnia parece estar también implicada en el desarrollo de inhibidores por factores genéticos en pacientes con hemofilia A. En un estudio de una cohorte coreana de 100 pacientes con hemofilia A se vio una incidencia del 30% para la inversión del intrón 22 en pacientes con hemofilia A severa, coincidiendo con otros estudios realizados en Corea con unas incidencias del 32% y 40%, siendo inferior al 45% que presentan los pacientes de países del oeste (Kim et al., 2012). Otros estudios de países asiáticos muestran proporciones similares a los países del oeste, siendo del 37% en Taiwán, 43% en Japón y 51% en China (Kim et al., 2012). Ello sugiere que la prevalencia de inversión del intrón 22 en pacientes con hemofilia A en Corea es inferior a la de otras poblaciones (Kim et al., 2012). Por ello, al presentar esta mutación un riesgo del 30% para el desarrollo de inhibidores contra el FVIII, el desarrollo de inhibidores fruto de esta mutación en la población coreana será menor. La incidencia de la aparición de inhibidores contra el FVIII varía del 6,2% al 30% en pacientes de diferentes regiones, siendo del 8,2% en pacientes con hemofilia A severa de India, un porcentaje similar al de pacientes de occidente antes de la introducción de la terapia de factor altamente purificado, lo que sugiere que dicha terapia, pese a ser más segura en cuanto a la infección por virus, presenta un porcentaje mayor de desarrollo de inhibidores (Ghosh et al., 2001). También se ha mostrado una incidencia tras realizar una cirugía del 19% de aparición de inhibidores en pacientes indios (Ghosh et al., 2002). Hay algunos artículos que demuestran una mayor incidencia de inhibidores en pacientes afroamericanos, indios e hispanos respecto de los caucásicos (Luna et al., 2018), así como se ha descrito que la frecuencia de aparición de inhibidores es el doble en afroamericanos que en caucásicos (Bardi y Astermark, 2015), probablemente debido a que la mayor prevalencia de inhibidores en afroamericanos se da en subgrupos con inversión del intrón 22 (Luna et al., 2018).

Tabla 3. Tabla resumen de los factores genéticos implicados en el desarrollo de inhibidores contra el FVIII.

Factor	Referencia
Mutación del gen F8	Gouw et al. (2011)
Mutación en genes de respuesta inmune	Harthold et al. (2017)
Etnia	Gunasekera et al. (2015) Kim et al. (2012)

¿Están los factores ambientales involucrados en el desarrollo de inhibidores en pacientes con hemofilia A durante su tratamiento con concentrados de factor VIII?

En lo concerniente a los factores asociados con el tratamiento (Tabla 4), algunos estudios demostraron que altas dosis de FVIII incrementan el riesgo de desarrollo de inhibidores (Eckhardt et al., 2016). Así mismo, podemos considerar un factor de riesgo el tipo de factor (pdFVIII o rFVIII) utilizado durante el tratamiento (Calvez et al., 2017). La agencia de medicina europea (EMA) especula que las células de origen (humano o animal) del rFVIII puede influir en la inmunogenicidad, ya que los epítomos no humanos potencialmente presentes en rFVIII derivado de células de hámster puede tener propiedades antigénicas (Klukowska et al., 2018).

Tabla 4. Factores ambientales para el desarrollo de inhibidores contra el FVIII en pacientes con hemofilia A, indicando el tipo de factor del que se trata, el tamaño de muestra (N), el porcentaje de desarrollo de inhibidores obtenido y la referencia bibliográfica.

Factor		N	% desarrollo inhibidores	Referencia
Tratamiento/estado clínico	Profilaxis/severa	-	30%	Velzen et al. (2017)
	A demanda/no severa	1112	7-13%	Eckhardt et al. (2013)
Tipo de factor	rFVIII	-	44,5%	Schep et al. (2018)
		127	20,4-31,6%	Calvez et al. (2017)
	pdFVIII	-	26,8%	Schep et al. (2018)
		131	12,7%	Calvez et al. (2017)
Estado oxidativo	-	-	Peyron et al. (2018)	

Otro factor de riesgo para el desarrollo de inhibidores contra el FVIII que ha sido descrito es el estado oxidativo sistémico (Tabla 4) (Peyron et al., 2018). Los episodios de sangrado van asociados a una rotura del endotelio que libera algunos mediadores proinflamatorios, incluyendo especies reactivas de oxígeno (ROS del inglés “reactive oxygen species”), como es HOCl, en el lugar de la lesión (Alom et al., 2008). ROS produce diversas modificaciones químicas en las proteínas, influyendo en su estructura, función e inmunogenicidad (Peyron et al., 2018).

Concretamente, la oxidación de proteínas produce modificaciones en sus residuos expuestos en la superficie, produciendo nuevos epítomos altamente susceptibles para activar al sistema inmune (Peyron et al., 2018). Además, la oxidación de antígenos favorece un aumento de la inmunogenicidad (Peyron et al., 2018). Como los factores de coagulación se concentran en el lugar de sangrado, se ven expuestos a especies pro-oxidativas. El FVIII es una proteína sensible a la oxidación (Peyron et al., 2018), y por ello el rFVIII es producido en condiciones libres de oxígeno para preservarlo de modificaciones oxidativas, consiguiendo que conserve su capacidad procoagulante al igual que pdFVIII (Peyron et al., 2018). Sin embargo, se vio que al producirse sangrado activo en el momento de la administración del FVIII en ratones deficientes en FVIII usados como modelo de hemofilia A severa, dicho sangrado incrementa el desarrollo de inhibidores contra el FVIII al producirse la ya mencionada liberación de ROS (Peyron et al., 2018). Además, se ha comprobado que exposiciones ex vivo de rFVIII a exceso de HOCl inducen la oxidación de la molécula como resultado de la pérdida de aminas y produce un aumento del desarrollo de inhibidores contra el FVIII *in vivo* cuando es administrada a los ratones con hemofilia A al compararla con el FVIII no oxidado (Peyron et al., 2018).

Haplotype	484	776	1241	2238
H1	R	R	D	M
H2	R	R	E	M
H3	R	R	E	V
H4	H	R	E	M
H5	R	R	D	V
H6	R	G	E	M

Figura 3. Tabla obtenida de Gunasekera et al. (2015) mostrando los 6 haplotipos de FVIII y los polimorfismos que forman cada una de ellas. En gris se resaltan aquellos polimorfismos o variantes de aminoácidos que no se encuentran presentes en rFVIII.

Se han identificado también 6 secuencias alélicas para el gen F8, dando lugar a 6 proteínas FVIII con la misma actividad que pueden llegar a diferir entre sí por un único aminoácido (Figura 3), haplotipos denominados desde H1 hasta H6 (Bardi y Astermark, 2014; Gunasekera et al., 2015; Mathew et al., 2016). Dos de ellos, H1 y H2, se han encontrado presentes en todos los grupos raciales, mientras que H3, H4 y H5 solo se han encontrado en la población negra (Gunasekera et al., 2015). Por último, H6 solo se ha encontrado en la población asiática (Bardi y Astermark, 2014). Estos datos son respaldados por un estudio con 229 pacientes con hemofilia A con un 51% de población negra y un 49% de población blanca. En este estudio se observó que el 71% de los pacientes que presentaban el haplotipo H1 eran de la población blanca, mientras que el 74% de quienes presentaban el haplotipo H2 eran de la población negra. Estos resultados demuestran que, aunque ambos haplotipos se encuentran presentes tanto en la población blanca como en la negra, presentan una frecuencia diferente (Bardi y Astermark, 2014). Por otro lado, los haplotipos H3 y H5 solo se encontraron en pacientes de la población negra (Bardi y Astermark, 2014).

Debido a que los concentrados de FVIII, ya sean rFVIII o pdFVIII, contienen principalmente los haplotipos H1 y H2 ha surgido la hipótesis que la falta de coincidencia entre el tipo de factor VIII usado en el tratamiento y el haplotipo de los pacientes podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de inhibidores (Bardi y Astermark, 2014). En un estudio con pacientes afroamericanos y caucásicos se obtuvieron muestras de sangre de 174 pacientes afroamericanos y 198 pacientes blancos con hemofilia A severa tratados con rFVIII y se analizaron las secuencias del gen F8 para probar la hipótesis de que la respuesta inmune a los lugares del

FVIII con mayor prevalencia en afroamericanos provoca la aparición de inhibidores debido a las variantes de aminoácidos que presentan (Gunasekera et al., 2015). En este estudio se vio que los pacientes afroamericanos con inversión del intrón 22 presentaban una incidencia de inhibidores 2-3 veces superior a la de los pacientes caucásicos con la misma mutación, pero no se vio correlación entre el uso de un producto de F8 proveniente de una variante alélica diferente a la del paciente y el desarrollo de inhibidores, por lo que se concluye que el uso de un haplotipo de FVIII diferente al del paciente durante el tratamiento no contribuye significativamente al desarrollo de inhibidores contra el FVIII (Bardi y Astermark, 2014). Como consecuencia no podemos afirmar que una diferencia entre los haplotipos del FVIII usados en el tratamiento y el del del paciente se asocie con un aumento del desarrollo de inhibidores (Bardi y Astermark, 2014).

El estado clínico puede ser considerado un factor para el desarrollo de inhibidores contra el FVIII en la hemofilia debido a que, como ya se ha dicho en la introducción, mientras que la hemofilia leve es comúnmente tratada a demanda, la severa se trata por administración profiláctica intravenosa de 2 a 3 veces por semana (Hartholt et al., 2017). Esto provoca una mayor exposición al FVIII en pacientes con hemofilia A severa que en pacientes con hemofilia A no severa, produciéndose el desarrollo de inhibidores en un 30% de pacientes con hemofilia severa y en un 13% de pacientes con hemofilia no severa (Tabla 4) (Eckhardt et al., 2013; Velzen et al., 2017; Schep et al., 2018).

En lo referente al tipo de FVIII utilizado, muchos estudios han descrito un incremento del riesgo a desarrollar inhibidores contra el rFVIII comparado con pdFVIII (Tabla 4) (Calvez et al., 2017; Klukowska et al., 2018). En Goudemand et al. (2006) demostraron que el riesgo a desarrollar inhibidores contra el tratamiento en pacientes a los que se les administró rFVIII fue 3 veces mayor que en pacientes a los que se les administró pdFVIII. En Calvez et al. (2017) se comparó la incidencia de desarrollar inhibidores en jóvenes tratados con los 3 productos de FVIII más comunes en Francia, uno plasmático (Factane) y dos recombinantes (Advate y Kogenate Bayer). Se trataron 395 pacientes, de los cuales 131 se trataron con Factane, 137 con Advate y 127 con Kogenate. Los datos del desarrollo de inhibidores fueron recogidos en los 75 días de tratamiento y se demostró una asociación significativa entre el FVIII administrado durante el tratamiento y el desarrollo de inhibidores contra él. La incidencia acumulativa a los 75 días de exposición fue del 12,7% con Factane, el producto plasmático, 20,4% con Advate y 31,6% con Kogenate Bayer. Así mismo, en 2016 se realizó un estudio SIPPET (del inglés "Survey of Inhibitors in Plasma-Product Exposed Toddlers") en el que se comparó el porcentaje de desarrollo de inhibidores entre en pacientes tratados con pdFVIII y pacientes tratados con rFVIII (Schep et al., 2018). El estudio demostró que, en 251 pacientes con hemofilia A severa sin tratar previamente, el tratamiento con pdFVIII que contenía VWF resultaba en una incidencia de desarrollo de inhibidores significativamente menor que la que mostró el tratamiento con rFVIII (un 26,8% en comparación con un 44,5% respectivamente). Este hecho puede ser debido a que, como se ha explicado en la introducción, el VWF se encuentra unido al FVIII plasmático, y este complejo es menos inmunogénico que los concentrados de rFVIII, disminuyendo el riesgo a desarrollar inhibidores contra él (Hartholt et al., 2017). El VWF presente en los productos pdFVIII sirve como chaperona protegiendo al FVIII contra la formación de inhibidores (Schep et al., 2018). De esta manera, VWF puede

disminuir la inmunogenicidad a FVIII al enmascarar el epítipo, protegiendo al FVIII de la endocitosis por células presentadoras de antígeno (Klukowska et al., 2018).

Como se ha comentado en la introducción, la sulfatación de Tyr1699 en el dominio ácido a3 de FVIII está críticamente implicado en su unión a VWF, la ausencia de sulfatación de Tyr1699 del FVIII impide que forme el complejo con VWF (Hartholt et al., 2017). En consecuencia, se ha sugerido que la sulfatación incompleta de Tyr1699 que ocurre en varios productos recombinantes de FVIII es la causa de que no forme complejo con el VWF, lo que aumenta el riesgo a desarrollar inhibidores al tratamiento (Hartholt et al., 2017).

6. Conclusiones

Con la información recogida en este trabajo se puede concluir que:

Los principales factores genéticos que están implicados en el desarrollo de inhibidores durante el tratamiento de la hemofilia A son: a) el tipo de mutación que afecte al gen F8 en los pacientes con hemofilia A, b) las mutaciones de los genes de respuesta inmune y c) la etnia. Sin embargo, los estudios llevados a cabo hasta el momento indican que los pacientes con hemofilia A que presentan inversión del intrón 22 en el gen F8 son más propensos al desarrollo de inhibidores frente al tratamiento.

Los principales factores ambientales que están implicados en el desarrollo de inhibidores durante el tratamiento de la hemofilia A son: a) el estado clínico y b) el tipo de factor VIII administrado durante el tratamiento. Cuanto más severa sea la hemofilia A mayor será la propensión a desarrollar inhibidores contra el tratamiento ya que mayor es su exposición al FVIII (mayor frecuencia y tiempo de administración). Asimismo, los resultados publicados indican que el tratamiento con el FVIII recombinante presenta una mayor propensión a desarrollar inhibidores que el FVIII plasmático.

Por último, hay que constatar que no es un único factor genético o ambiental el que determina que una persona con hemofilia A vaya a desarrollar inhibidores contra el FVIII administrado, sino que todos los factores influyen a la vez. Se produce un efecto umbral en el que los factores genéticos asientan las bases para el desarrollo de inhibidores, pero finalmente es el efecto de los factores ambientales el que determina si se produce suficiente activación inmunitaria contra el FVIII, desencadenándose el desarrollo de inhibidores contra él.

7. Agradecimientos

Agradezco en primer lugar a la tutora de mi trabajo, la Dra. Regina Alemany, por ofrecerme el tema sobre el que este trabajo se centra y por ello brindarme la oportunidad de conocer más en profundidad el tema en cuestión. También he de agradecer a la Universidad de las Islas Baleares por ofrecerme las herramientas para tener acceso a los artículos científicos que he necesitado y finalmente a mi familia y amigos por el apoyo brindado.

8. Bibliografía

- Aledort, L. M.** (2004). Comparative thrombotic event incidence after infusion of recombinant factor VIIIa versus factor VIII inhibitor bypass activity. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2(10), 1700-1708.
- Alom-Ruiz, S. P., Anilkumar, N., & Shah, A. M.** (2008). Reactive oxygen species and endothelial activation. *Antioxidants & redox signaling*, 10(6), 1089-1100.
- Antonarakis, S. E., Kazazian, H. H., & Tuddenham, E. G.** (1995). Molecular etiology of factor VIII deficiency in hemophilia A. *Human mutation*, 5(1), 1-22.
- Astermark, J., Voorberg, J., Lenk, H., DiMichele, D., Shapiro, A., Tjønnefjord, G., & Berntorp, E.** (2003). Impact of inhibitor epitope profile on the neutralizing effect against plasma-derived and recombinant factor VIII concentrates in vitro. *Haemophilia*, 9(5), 567-572.
- Bardi, E., & Astermark, J.** (2015). Genetic risk factors for inhibitors in haemophilia A. *European journal of haematology*, 94, 7-10.
- Blanchette, V. S., Key, N. S., Ljung, L. R., Manco-Johnson, M. J., Van Den Berg, H. M., Srivastava, A., & Subcommittee on Factor VIII, Factor IX and Rare Coagulation Disorders.** (2014). Definitions in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 12(11), 1935-1939.
- Calvez, T., Chambost, H., d'Oiron, R., Dalibard, V., Demiguel, V., Doncarli, A., Gruel, Y., Huguenin, Y., Lutz, P., Rothschild, C., Vinciguerra, C., & Goudemand, J.** (2017). Analyses of the FranceCoag cohort support immunogenicity differences among one plasma-derived and two recombinant factor VIII brands in boys with severe hemophilia A. *haematologica*, 103(1), 179-189.
- Carcao, M. D.** (2012). The diagnosis and management of congenital hemophilia. In *Seminars in thrombosis and hemostasis* (Vol. 38, No. 07, pp. 727-734). Thieme Medical Publishers.
- Carcao, M., Shapiro, A., Staber, J. M., Hwang, N., Druzgal, C., Lieu, K., Belletrutti, M., Thornburg, C. D., Ahuja, S. P., Morales-Arias, J., Dumont, J., Miyasato, G., Tsao, E., Jain, N., & Pipe, S. W.** (2018). Recombinant factor VIII Fc fusion protein for immune tolerance induction in patients with severe haemophilia A with inhibitors—A retrospective analysis. *Haemophilia*, 24(2), 245-252.
- Carrillo-Esper, R., Espinoza de los Monteros-Estrada, I., Rosales-Gutiérrez, A. O., Zepeda-Mendoza, A. D., Alonso-Martínez, D., Sánchez-Moreno, M. A., & Cabrera-Joachin, C. M.** (2015). Concentrado de complejo protrombínico en el perioperatorio. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 38(1), 35-43.
- Eckhardt, C. L., van Velzen, A. S., Fijnvandraat, C. J., & van der Bom, J. G.** (2016). Dissecting intensive treatment as risk factor for inhibitor development in haemophilia. *Haemophilia*, 22(3), e241-e244.
- Eckhardt, C. L., Van Velzen, A. S., Peters, M., Astermark, J., Brons, P. P., Castaman, G., Cnossen MH, Dors N, Escuriola-Ettingshausen C, Hamulyak K, Hart, D. P., Hay, C. R. M., Haya, S., Van Heerde, W.L., Hermans C., Holmström M., Jimenez-Yuste V., Keenan R. D., Klamroth R., Laros-van Gorkom, L., Leebeek, F. W. G., Liesner, R., Mäkiperna, A.,**

A., Male, C., Mauser-Bunschoten, E., Mazzucconi, M. G, McRae, S., Meijer, K., Mitchell, M., Morfini, M., Nijziel, M., Oldenburg, J., Peerlinck, K., Petrini, P., Platokouki, P., Reitter-Pfoertner, S. E., Santagostino, E., Schinco, P., Smiers, F. J., Siegmund, B., Tagliaferri, A., Yee, T. T., Willem Kamphuisen, P., van der Bom, J. G., & Karin Fijnvandraat (2013). Factor VIII gene (F8) mutation and risk of inhibitor development in non-severe hemophilia A. *Blood*, 122(11), 1954-1962.

Escobar, M. A. (2015). Profilaxis en pacientes con hemofilia que tienen inhibidores de alta respuesta. *Acta Médica Colombiana*, 40(4), 277-278.

Franchini, M., & Mannucci, P. M. (2018). Non-factor replacement therapy for haemophilia: a current update. *Blood transfusion= Trasfusione del sangue*, 1-5.

Ghosh, K., Jijina, F., Shetty, S., Madkaikar, M., & Mohanty, D. (2002). First-time development of FVIII inhibitor in haemophilia patients during the postoperative period. *Haemophilia*, 8(6), 776-780.

Ghosh, K., Shetty, S., Kulkarni, B., Nair, S., Pawar, A., Khare, A., Baidur, S., & Mohanty, D. (2001). Development of inhibitors in patients with haemophilia from India. *Haemophilia*, 7(3), 273-278.

Gitschier, J., Wood, W. I., Goralka, T. M., Wion, K. L., Chen, E. Y., Eaton, D. H., Vehar, G. A., Capon, D. J., & Lawn, R. M. (1984). Characterization of the human factor VIII gene. *nature*, 312(5992), 326-330.

Goudemand, J., Rothschild, C., Demiguel, V., Vinciguerrat, C., Lambert, T., Chambost, H., Borel-Derlon, A., Claeysens, S., Laurian, Y., & Calvez, T. (2006). Influence of the type of factor VIII concentrate on the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A. *Blood*, 107(1), 46-51.

Gouw, S. C., Van Der Bom, J. G., Van Den Berg, H. M., Zewald, R. A., Ploos Van Amstel, J. K., & Mauser-Bunschoten, E. P. (2011). Influence of the type of F8 gene mutation on inhibitor development in a single centre cohort of severe haemophilia A patients. *Haemophilia*, 17(2), 275-281.

Gunasekera, D., Ettinger, R. A., Fletcher, S. N., James, E. A., Liu, M., Barrett, J. C., Withycombe, J., Matthews, D. C., Epstein, M. S., Hughes, R. J., & Pratt, K. P. (2015). Factor VIII gene variants and inhibitor risk in African American hemophilia A patients. *Blood*, 126(7), 895-904.

Hartholt, R. B., van Velzen, A. S., Peyron, I., ten Brinke, A., Fijnvandraat, K., & Voorberg, J. (2017). To serve and protect: The modulatory role of von Willebrand factor on factor VIII immunogenicity. *Blood reviews*, 31(5), 339-347.

Inaba, H., Shinozawa, K., Seita, I., Otaki, M., Suzuki, T., Hagiwara, T., Amano, K., & Fukutake, K. (2013). Genotypic and phenotypic features of Japanese patients with mild to moderate hemophilia A. *International journal of hematology*, 97(6), 758-764.

Inaba, H., Shinozawa, K., Seita, I., Otaki, M., Suzuki, T., Hagiwara, T., Amano, K., & Fukutake, K. (2013). Genotypic and phenotypic features of Japanese patients with mild to moderate hemophilia A. *International journal of hematology*, 97(6), 758-764.

Jacquemin, M., Benhida, A., Peerlinck, K., Desqueper, B., Vander Elst, L., Lavend'homme, R., d'Oiron, R., Schwaab, R., Bakkus, M., Thielemans, K., Gilles, J. G., Vermynen, J., & Saint-Remy, J. (2000). A human antibody directed to the factor VIII C1

domain inhibits factor VIII cofactor activity and binding to von Willebrand factor. *Blood*, 95(1), 156-163.

Jacquemin, M., Lavend'homme, R., Benhida, A., Vanzielegem, B., d'Oiron, R., Lavergne, J. M., Brackmann, H. H., Schwaab R., VandenDriessche T., Chuah, M. K. L., Hoylaerts, M., Gilles, J. G., Peerlinck, K., Vermynen, J., & Saint-Remy J. R. (2000). A novel cause of mild/moderate hemophilia A: mutations scattered in the factor VIII C1 domain reduce factor VIII binding to von Willebrand factor. *Blood*, 96(3), 958-965.

Kim, H. J., Chung, H. S., Kim, S. K., Yoo, K. Y., Jung, S. Y., Park, I. A., Lee, K. O., Kim, S. H., & Kim, H. J. (2012). Mutation spectrum and inhibitor risk in 100 Korean patients with severe haemophilia A. *Haemophilia*, 18(6), 1008-1013.

Klintman, J., Astermark, J., & Berntorp, E. (2010). Combination of FVIII and by-passing agent potentiates in vitro thrombin production in haemophilia A inhibitor plasma. *British journal of haematology*, 151(4), 381-386.

Klintman, J., Astermark, J., & Berntorp, E. (2010). Combination of FVIII and by-passing agent potentiates in vitro thrombin production in haemophilia A inhibitor plasma. *British journal of haematology*, 151(4), 381-386.

Klukowska, A., Komrska, V., Vdovin, V., Pavlova, A., Jansen, M., Lowndes, S., Belyanskaya, L., Walter, O., & Laguna, P. (2018). Low incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe haemophilia A treated with octanate®: Final report from a prospective study. *Haemophilia*, 24(2), 221-228.

Lacroix-Desmazes, S., Moreau, A., Bonnemain, C., Stieltjes, N., Pashov, A., Sultan, Y., Hoebeke, J., Kazatchkine, M. D., & Kaveri, S. V. (1999). Catalytic activity of antibodies against factor VIII in patients with hemophilia A. *Nature medicine*, 5(9), 1044-1047.

Lacroix-Desmazes, S., Bayry, J., Misra, N., Horn, M. P., Villard, S., Pashov, A., Stieltjes, N., d'Oiron, R., Saint-Remy, J., Hoebeke, J., Kazatchkine, M. D., Reinbolt, J., Mohanty, D., & Kaveri, S. V. (2002). The prevalence of proteolytic antibodies against factor VIII in hemophilia A. *New England Journal of Medicine*, 346(9), 662-667.

Lacroix-Desmazes, S., Navarrete, A. M., André, S., Bayry, J., Kaveri, S. V., & Dasgupta, S. (2008). Dynamics of factor VIII interactions determine its immunologic fate in hemophilia A. *Blood*, 112(2), 240-249.

Lakich, D., Kazazian Jr, H. H., Antonarakis, S. E., & Gitschier, J. (1993). Inversions disrupting the factor VIII gene are a common cause of severe haemophilia A. *Nature genetics*, 5(3), 236-241.

Lenting, P. J., van Mourik, J. A., & Mertens, K. (1998). The life cycle of coagulation factor VIII in view of its structure and function. *Blood*, 92(11), 3983-3996.

Luna-Záizar, H., González-Alcázar, J. Á., Evangelista-Castro, N., Aguilar-López, L. B., Ruiz-Quezada, S. L., Beltrán-Miranda, C. P., & Jaloma-Cruz, A. R. (2018). F8 inversions of introns 22 and 1 confer a moderate risk of inhibitors in Mexican patients with severe hemophilia A. Concordance analysis and literature review. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 71, 45-52.

Lyon, M. F. (1961). Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). *nature*, 190(4773), 372-373.

- Mathew, P., Dinter, H., Church, N., Humphries, T. J., & Kulkarni, R.** (2016). Inhibitors in haemophilia A: a perspective on clotting factor products as a potential contributing factor. *Haemophilia*, 22(3), 334-341.
- Nachman, R., Levine, R., & Jaffe, E. A.** (1977). Synthesis of factor VIII antigen by cultured guinea pig megakaryocytes. *The Journal of clinical investigation*, 60(4), 914-921.
- Nogami, K., Matsumoto, T., Yada, K., Ogiwara, K., Furukawa, S., Shida, Y., Takeyama, M., & Shima, M.** (2018). Factor (F) VIII/VII a enhances global haemostatic function in the co-presence of bypassing agents and FVIII among patients with haemophilia A with inhibitor. *British journal of haematology*, 181(4), 528-536.
- Oldenburg, J., Jiménez-Yuste, V., Peiró-Jordán, R., Aledort, L. M., & Santagostino, E.** (2014). Primary and rescue immune tolerance induction in children and adults: a multicentre international study with a VWF-containing plasma-derived FVIII concentrate. *Haemophilia*, 20(1), 83-91.
- Over, J., Sixma, J. J., Bruine, M. H., Trieschnigg, M. C., Vlooswijk, R. A., Beeser-Visser, N. H., & Bouma, B. N.** (1978). Survival of 125iodine-labeled Factor VIII in normals and patients with classic hemophilia. Observations on the heterogeneity of human Factor VIII. *The Journal of clinical investigation*, 62(2), 223-234.
- Peyron, I., Dimitrov, J. D., Delignat, S., Gangadharan, B., Srivastava, A., Kaveri, S. V., & Lacroix-Desmazes, S.** (2018). Oxidation of factor VIII increases its immunogenicity in mice with severe hemophilia A. *Cellular immunology*, 325, 64-68.
- Pratt, K. P.** (2017). Marginal immunogenicity of factor VIII. *Blood*, 130(23), 2450-2451.
- Radic, C. P., Rossetti, L. C., Abelleyro, M. M., Tetzlaff, T., Candela, M., Neme, D., SCIUCCATI, G., BONDUEL, M., MEDINA-ACOSTA, E., LARRIPA I. B., de Tezanos Pinto, M., & De Brasi, C. D.** (2015). Phenotype–genotype correlations in hemophilia A carriers are consistent with the binary role of the phase between F8 and X-chromosome inactivation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 13(4), 530-539.
- Saenko, E. L., Shima, M., Rajalakshmi, K. J., & Scandella, D.** (1994). A role for the C2 domain of factor VIII in binding to von Willebrand factor. *Journal of Biological Chemistry*, 269(15), 11601-11605.
- Schep, S. J., Schutgens, R. E. G., Fischer, K., & Boes, M. L.** (2018). Review of immune tolerance induction in hemophilia A. *Blood reviews*, 32(4), 326-338.
- Shima, M., Hanabusa, H., Taki, M., Matsushita, T., Sato, T., Fukutake, K., Fukuzawa, N., Yoneyama, K., Yoshida, H., & Nogami, K.** (2016). Factor VIII–mimetic function of humanized bispecific antibody in hemophilia A. *New England Journal of Medicine*, 374(21), 2044-2053.
- Solano, M. H., Linares, A., Sarmiento, I., Casas, C., Sossa, C., & Peña, Á.** (2015). Profilaxis con CCPa en pacientes con hemofilia A con inhibidores de alta respuesta Una estrategia alternativa al estándar de tratamiento. *Acta Médica Colombiana*, 40(4), 288-293.
- van Velzen, A. S., Eckhardt, C. L., Peters, M., Leebeek, F. W. G., Escuriola-Ettingshausen, C., Hermans, C., Keenan, R., Astermark, J., Male, C., Peerlinck, K., le Cessie, S., van Der Bom, J. G., & Fijnvandraat, K.** (2017). Intensity of factor VIII treatment and the development of inhibitors in non-severe hemophilia A patients: results of the INSIGHT case–control study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 15(7), 1422-1429.

Parvathaneni, K., Abdeladhim, M., Pratt, K. P., & Scott, D. W. (2017). Hemophilia A inhibitor treatment: the promise of engineered T-cell therapy. *Translational Research*, 187, 44-52.

Vlot, A. J., Koppelman, S. J., Meijers, J. C., Dama, C., van den Berg, H. M., Bouma, B. N., Sixma, J. J., & Willems, G. M. (1996). Kinetics of factor VIII-von Willebrand factor association. *Blood*, 87(5), 1809-1816.

Wight, J., & Paisley, S. (2003). The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemophilia*, 9(4), 418-435.

Wood, W. I., Capon, D. J., Simonsen, C. C., Eaton, D. L., Gitschier, J., Keyt, B., Seeburg, P. H., Smith, D. H., Hollingshead, P., Wion, K. L., Delwart, E., Tuddenham, E. G. D., Vehar, G. A., & Lawn, R. M. (1984). Expression of active human factor VIII from recombinant DNA clones. *Nature*, 312(5992), 330-337.

Yada, K., Nogami, K., Ogiwara, K., & Shima, M. (2013). Activated prothrombin complex concentrate (APCC)-mediated activation of factor (F) VIII in mixtures of F VIII and APCC enhances hemostatic effectiveness. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 11(5), 902-910.