

Hemofilia: Generalidades y perspectivas sobre la terapia génica.

Haemophilia: overview and perspectives on gene therapy.

Laura Duque-Echeverri^{1,a}, Lina-María Martínez-Sánchez^{2,a}

1. Estudiante de Medicina.
 2. Bacterióloga, Especialista en Hematología, Magister en Educación, Grupo de Investigación en Salud Clínica y Quirúrgica, Universidad Pontificia Bolivariana.
- a. Escuela de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana-Medellín (Colombia).

CORRESPONDENCIA

Laura Duque Echeverri
ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-9707-676X>
Facultad de Medicina
Universidad Pontificia Bolivariana Medellín
(Colombia).
E-mail: laurisde01@hotmail.com

CONFLICTO DE INTERESES

Las autoras del artículo hacen constar que no existe, de manera directa o indirecta, ningún tipo de conflicto de intereses que pueda poner en peligro la validez de lo comunicado.

RECIBIDO: 21 de junio de 2021.
ACEPTADO: 11 de diciembre de 2021.

RESUMEN

Introducción: La hemofilia es una enfermedad que afecta la coagulación, se produce por la deficiencia de los factores VIII y IX, lo que predispone para la hemofilia A y la hemofilia B respectivamente. Actualmente el manejo de la hemofilia se realiza mediante el control del sangrado, por medio de la aplicación de los factores de la coagulación o por la aplicación de profilaxis. Para mejorar la atención de las personas con hemofilia se ha desarrollado la terapia génica como tratamiento a largo plazo, por medio de la edición de los genes mutados, aumentando los niveles séricos y la actividad de estos, atenuando el sangrado y por ende la calidad de vida de los pacientes. **Objetivo:** Describir las principales características de la hemofilia, y la terapia génica como alternativa de tratamiento. **Materiales y métodos:** se realizó una revisión de la literatura en español y en inglés en las bases de datos de Elsevier y PubMed, con el uso de palabras claves como “Hemofilia A”, “Hemofilia B”, “Factor IX”, “Factor VIII”, “Coagulación”. **Conclusiones:** A través de los años se han desarrollado nuevos tratamientos que permiten mejorar la calidad de vida de los pacientes con hemofilia, que en última instancia puedan curar la enfermedad de manera definitiva como es la terapia génica, la cual por medio de vectores de virus no patógenos para el humano, permiten la edición de los genes que afectados y por ende aumentar niveles séricos de los factores de la coagulación.

Palabras clave: Genética, Hemofilia A, Hemofilia B, Factor IX, Factor VIII, coagulación, terapia génica.

ABSTRACT

Introduction: Hemophilia is a disease that affects coagulation, produced by the deficiency of factors VIII and IX, which predisposes to hemophilia A and hemophilia B respectively. Currently, the management of hemophilia is carried out by controlling bleeding, by means of the application of coagulation factors or application of prophylaxis. To improve the care of people with hemophilia, gene therapy has been developed as a long-term treatment, through the editing of mutated genes, increasing serum levels and their activity, reducing bleeding and therefore enhancing the quality of life of patients. **Objective:** To describe the principal characteristics of hemophilia and gene therapy as an alternate treatment. **Materials and methods:** A review of the literature in Spanish and English was carried out in the Elsevier and PubMed databases, with the use of keywords such as “Hemophilia A”, “Hemophilia B”, “Factor IX”, “Factor VIII”, “Coagulation”. **Conclusions:** Over the years, new treatments have been developed that allow improving the quality of life of patients with hemophilia, which can ultimately cure the disease in a definitive way, such as gene therapy, through non-pathogenic virus vectors for humans, allowing the editing of affected genes, hence increasing serum levels of coagulation factors.

Key words: Genetics, Hemophilia A, Hemophilia B, Factor IX, Factor VIII, coagulation, gene therapy.

Duque-Echeverri L, Martínez-Sánchez LM. Hemofilia: Generalidades y perspectivas sobre la terapia génica. *Salutem Scientia Spiritus* 2022; 8(2):30-35.



La Revista *Salutem Scientia Spiritus* usa la licencia Creative Commons de Atribución – No comercial – Sin derivar:

Los textos de la revista son posibles de ser descargados en versión PDF siempre que sea reconocida la autoría y el texto no tenga modificaciones de ningún tipo.

INTRODUCCIÓN

La hemofilia es una enfermedad que afecta la coagulación, se produce por la deficiencia de los factores VIII y IX, lo que predispone para la hemofilia A y la hemofilia B respectivamente.¹ Ambos genes codificantes para estas proteínas se encuentran ubicados en el gonosoma X, por consiguiente, si este se encuentra mutado, se presentará un patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X. Esta enfermedad comprende diferentes grados de severidad; leve, moderado, severo, dependiendo de los niveles del factor alterado en las muestras sanguíneas del paciente.²

La prevalencia mundial de la hemofilia es de 29,6 personas por cada 100.000 habitantes para la hemofilia A y B de todas las severidades.³ De acuerdo con el reporte anual realizado por la Federación Mundial de Hemofilia (WFH), el número de pacientes identificados en el 2019 con hemofilia fueron 195.263, de los cuales 157.517 fueron identificados con hemofilia A, considerada la variedad más frecuente; por otra parte, la cifra para la hemofilia B fue de 31.997 pacientes y de 5.749 personas con un tipo desconocido de hemofilia.⁴

La hemofilia prevalece, por su patrón de herencia ligado al X, en mayor medida en los hombres, cuyas madres sean portadoras de alelos mutados; para la hemofilia A representan el 97% y en la Hemofilia B el 95%. En las mujeres el fenotipo es de carácter portador, y en muy bajo porcentaje estas presentan la enfermedad. De este modo, son consideradas presentadoras de la mutación, aquellas con valores para los factores de coagulación menores o iguales al 40% de los valores normales, para hemofilia A, estas mujeres representan el 3% y para hemofilia B el 5%.^{4,5}

Actualmente el manejo de la hemofilia se realiza mediante el control del sangrado, por medio de la aplicación de los factores de la coagulación faltantes dependiendo del perfil del paciente, y en algunos pacientes, por la aplicación de profilaxis. Estas, si bien mejoran la situación del paciente, no generan una solución a largo plazo y presentan limitaciones como la aplicación recurrente de dosis y las rutas de administración, las cuales pueden traer problemas de adherencia a los pacientes y ser estresantes para los mismos. Debido a esta problemática, se ha desarrollado el uso de la terapia génica como tratamiento a largo plazo, estudiada en los últimos diez años y experimentada en diversos ensayos, permitiendo la edición de los genes mutados por medio de vectores para el transporte del DNA complementario funcional del factor 8 y factor 9 a la célula huésped, aumentando los niveles séricos y la actividad de estas proteínas, atenuando el sangrado y por ende la calidad de vida de los pacientes.^{6,7,8}

Por tanto, el objetivo de esta revisión consistió en describir las principales características de la hemofilia y la terapia génica como alternativa de tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una revisión literaria en inglés y español en las bases de datos de PubMed y Elsevier desde octubre del 2020 hasta febrero del 2021, con el uso de palabras claves y términos MeSH como “Hemofilia A”, “Hemofilia B”, “Factor IX”, “Factor VIII”, “Coagulación”. Posteriormente se realizó un análisis y resumen de la literatura encontrada frente a los aspectos más importantes del tema. El 67,5% de los trabajos seleccionados corresponden a artículos originales y de revisión publicados entre los años 2016 al 2021 y el 32,5% restante son trabajos publicados en años anteriores al 2016.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis y el resumen de los trabajos revisados se organizaron en subtemas de acuerdo con el objetivo descrito en el siguiente orden: Etiología de la hemofilia, aspectos clínicos de la hemofilia, tratamientos actuales, terapia génica como alternativa de tratamiento eficaz para la hemofilia.

Etiología de la hemofilia

La hemofilia es un trastorno sanguíneo de herencia recesiva ligado al gonosoma X de una madre portadora de un alelo mutado. Igualmente se puede presentar por mutaciones espontáneas en uno de los factores de la coagulación que determinan el desarrollo de la enfermedad. Esta se caracteriza por presentar defectos cuantitativos (niveles reducidos o ausencia) de los factores de la coagulación o por defectos cualitativos en los mismos (alteraciones funcionales).⁹

La enfermedad se puede presentar en una de las dos formas principales, como la hemofilia A causada por variantes en el gen F8, ubicado en el cromosoma X en la banda q28 que codifica para factor VIII de la coagulación, este, junto con el factor de Von Willebrand, están encargados de la activación de la cascada intrínseca de la coagulación. Actualmente hay 3.052 variantes únicas en el gen F8 correspondientes a 10.144 casos individuales, reportadas en la base de datos de la Asociación Europea para Hemofilia y Desordenes Aliados o la EAHAD.¹⁰ El mayor porcentaje de los pacientes con hemofilia A grave presentan un tipo de inversión cromosómica macroscópica, en lugar de mutaciones puntuales que involucran al homólogo del intrón 1 o el homólogo del intrón 22 las cuales se presentan en el 5% de los pacientes. Estas inversiones resultan de reparación errónea de roturas de doble cadena de ADN en los intrones mediante recombinación homóloga no alélica (NAHR).¹¹ El resto de las alteraciones en hemofilia A severa se presentan como deleciones e inserciones, así como mutaciones puntuales de sentido erróneo. La Hemofilia A no severa y la moderada generalmente son causadas por mutaciones sin sentido del gen F8.¹²

Por otro lado, la hemofilia B está causada por variantes en el gen humano F9, ubicado en el cromosoma X en la banda q 27.1, que codifica para el factor IX de coagulación; proteína dependiente de vitamina K, cuya función es escindir y activar FX dentro de la cascada de coagulación. Actualmente hay 1.244 variantes únicas en el gen F9 compiladas dentro de la base de datos de EAHAD, correspondientes a 4.713 casos individuales.¹³ Estas variantes comprenden mutaciones puntuales, deleciones, inserciones, duplicaciones, cambios complejos y polimorfismos neutros;¹⁴ la mayor parte de estas mutaciones ocurren en los exones del gen a diferencia de la hemofilia A.¹⁵

Aspectos clínicos de la hemofilia

Los pacientes que padecen este desorden sanguíneo presentan dificultad para llevar a cabo una correcta coagulación, debido a que se ve afectada la vía intrínseca de la misma que con lleva a largos periodos de sangrado y que pueden ocurrir de manera espontánea.

Los dos tipos de hemofilia se pueden clasificar de acuerdo al nivel del factor de la coagulación afectado que se encuentre en el plasma del paciente, en: leve, con niveles del factor en el plasma >5 o hasta 40 IU/dL, el sangrado usualmente no se prolonga en exceso y los pacientes solo experimentan problemas de sangrado durante y después de traumas o cirugías, moderado; en los cuales los niveles del factor en el plasma es de 1 a 5 IU/dL en estos pacientes el sangrado se prolonga más que el sangrado habitual y pueden aparecer hematomas y sangrado fácilmente y el paciente que sufre de una enfermedad severa presenta niveles de factores en plasma <1 UI/dL y en estos pacientes se generan sangrados espontáneos provocados en tejidos blandos y articulaciones, tienen más riesgo de una muerte prematura.^{2,6,9}

El sangrado puede provenir de la nariz, ser el resultado de cortes, extracción de dientes, cirugías o traumatismos leves o severos. Este se presenta de manera continua y prolongada, además pueden presentar resangrados luego de que se detuvo la hemorragia principal, igualmente se puede afectar los tractos gastrointestinal y urinario.

Las articulaciones de las rodillas, codos, tobillos, hombros, muñecas y caderas son las que se encuentran más afectadas y en mayor medida en la forma severa de la enfermedad, este sangrado puede evolucionar hacia una artritis hemofílica. Estos pacientes presentan una sensación inusual en la articulación y esta puede estar acompañada de edema o calor de la piel sobre la articulación, aumento del dolor o pérdida progresiva del rango de movimiento o dificultad en su uso.¹⁶ Igualmente se puede presentar sangrado muscular, el cual a largo plazo genera espasmos musculares. El cual usualmente ocurre en el músculo del psoas y los músculos que conforman el brazo y el antebrazo.^{17,18} En las formas graves

de la enfermedad se presentan los hematomas cerebrales, que producen náuseas, vómito, cefalea, confusión, adinamia, pérdida de la conciencia y pueden resultar fatales.⁹ Todas estas manifestaciones clínicas afectan gravemente el estilo y la calidad de vida de los pacientes que padecen la enfermedad.

Tratamientos actuales

La transmisión de patógenos como parvovirus, hepatitis A, y priones a causa de productos sanguíneos para tratar la hemofilia, generó una gran preocupación, y para subsanar dicha situación surgen los concentrados de factor de origen recombinante, como el factor F7 recombinante, F8 recombinante y F9 recombinante, que están libres de sangre, pero su disponibilidad se ha limitado a los países más desarrollados por sus altos costos y restricciones de producción. Con la expiración de las patentes de FVIII y FIX recombinante, han aparecido en el mercado algunos productos biosimilares y otras variantes con propiedades farmacocinéticas mejoradas, incluso con potencial para una mayor disponibilidad que hasta ahora.¹⁹

El tratamiento actual considerado “estándar de oro” para personas con hemofilia incluye una autoinfusión profiláctica regular de concentrados intravenosos de FVIII o FIX, que permiten aumentar la actividad de los factores por encima de un nivel detectable (> 1%) para prevenir hemorragias y reducir o retrasar la incidencia de enfermedades articulares.²⁰⁻²² Debido a que los concentrados tienen una vida media corta, se requiere que la administración de infusiones sea cada 2-3 días (hemofilia A) o de 3 a 4 días (hemofilia B).²¹ Para mejorar la atención de las personas con hemofilia se ha extendido la vida media de los concentrados de factor por fusión con polietilenglicol, IgG1-Fc o albúmina. Estas modificaciones reducen significativamente la frecuencia de dosificación.^{21,24}

El desarrollo de anticuerpos bioespecíficos, que se unen a los factores activados FIX y el factor X pueden imitar la acción del FVIII (emicizumab), el tratamiento con emicizumab subcutáneo para la deficiencia de FVIII con y sin inhibidores ha sido autorizado por la FDA, y ofrece un grado de libertad por el nivel de protección conferido, al mismo tiempo que elimina la carga de la infusión intravenosa.^{22,25-27}

Como se ha mencionado el tratamiento para la hemofilia es extremadamente costoso y con frecuencia se observan complicaciones clínicas, como sangrado articular a pesar de la sustitución de factor. La necesidad de administrar con frecuencia el factor recombinante para mantener los niveles terapéuticos mínimos son exigentes y altamente invasivos. Estas consideraciones impulsaron el desarrollo de nuevos enfoques para el tratamiento mediante terapia génica, que tiene potencial en la duración e incluso se puede curar la enfermedad.^{3,28,29}

Terapia génica como alternativa de tratamiento eficaz para la hemofilia

La clonación de los genes FVIII y FIX a principios de la década de 1980 resultó en rápidos avances para el desarrollo de concentrados derivados de líneas celulares recombinantes. Posteriormente, la hemofilia se convirtió en uno de los primeros objetivos de estudio para la implementación de terapia génica, debido a su naturaleza monogénica.^{3,21,22,30}

En algunos de los ensayos que se han llevado a cabo, la terapia génica consiste en la administración intravenosa de vectores virales hepatotrópicos, como los virus adenoasociados auto-complementarios recombinantes (scAAV), que no tienen efectos patógenos sobre el cuerpo humano. Son de carácter monocatenario y se han empleado múltiples serotipos. Estos se pliegan sobre sí mismos formando un genoma bicatenario o de doble cadena cuando ingresa a las células infectadas, convirtiéndose en cadenas complementarias. Estos contienen elementos de control transcripcional modificadores de FIX y FVIII que minimizan su tamaño y permiten su empaquetamiento en el vector, para luego ser introducidos en los hepatocitos donde se expresan episómicamente.^{3,19,22,30-32}

Los primeros experimentos que involucraron terapia génica en animales con hemofilia fueron difíciles de reproducir en ensayos clínicos de ratones a humanos, debido a diferencias en las características de transducción de las células blanco, la respuesta inmune aumentada al vector, problemas relacionados con la ampliación de vectores y la eficiencia de la biosíntesis de las células diana de los ratones.³⁰⁻³⁵ Además han sido detenidos prematuramente debido a los efectos secundarios leves y a los bajos niveles o transitorios de expresión transgénica.^{30,37,38} El desarrollo de la terapia génica para la hemofilia también se ha retrasado por el fracaso de la terapia génica para otras enfermedades. Además, para los pacientes hemofílicos, la seguridad del tratamiento se convirtió en un tabú después de las epidemias del Virus de Inmunodeficiencia Humano (VIH) y el Virus Hepatitis C (VHC), por lo que los ensayos clínicos de terapia génica se están realizando con mayor cuidado.^{22,23,30}

Los tratamientos disponibles para personas con hemofilia están evolucionando rápidamente, nuevas terapias de reemplazo se están sometiendo a ensayos clínicos en paralelo con estrategias de modificación para el reemplazo de genes y su desarrollo in vivo en los humanos.^{22,30,31}

En la actualidad se vienen realizando varios ensayos en laboratorios farmacéuticos como Biomarin Pharmaceutical en el cual utilizan el vector AAV5 para la hemofilia A, *Spark Therapeutic Inc* con el vector AAV para hemofilia B y *Bayer* con el AAVhu37 para hemofilia B que se encuentran en fase 1/2 y en fase tres el

laboratorio *UniQure Inc* utilizando una mutación del FIX llamada Padua para terapia génica en pacientes con hemofilia B. Los resultados de la segunda fase indican que la terapia génica curará fisiológicamente la hemofilia. En estos estudios, se observó elevación de los factores de coagulación VIII y IX hasta alcanzar rangos de normalidad.^{3,22,30,31}

Es difícil evaluar cuánto durará el efecto terapéutico de la terapia génica, aunque se ha observado que los pacientes lograron un aumento sostenido de la actividad de los factores después de recibir el vector terapéutico, además, es importante mencionar que ninguno desarrolló anticuerpos que reconozcan los factores de coagulación codificados por el transgén o por la cápside del AVV, aunque algunos tenían un mayor riesgo de desarrollarlos, siendo estos los que tienen infección latente y se reporta un porcentaje del 30-50%. Por lo tanto, se recomienda realizar pruebas de tamizaje previo al tratamiento y no administrar dosis recurrentes del mismo serotipo por el riesgo de desarrollar títulos altos de anticuerpos. Adicionalmente se han reportado elevación leve de las transaminasas en los pacientes que recibían dosis altas, pero de carácter asintomático, lo cual fue resuelto con dosis de corticoides limitando la toxicidad por las TCD8+ y preservando la expresión transgénica de los factores en sangre.^{3,19,30,40}

Las expectativas han cambiado significativamente en los últimos años, ya que se ha visto aumentar la expresión de FIX desde un porcentaje muy bajo a superar el 30%, incluso para la hemofilia A, se ha demostrado expresión en el rango normal (>50 UI/dL), lo que sería suficientes para liberar el paciente de cualquier requerimiento de tratamiento con concentrados de factor. En todas las situaciones, incluidos los procedimientos quirúrgicos, ayudará con la mejora en la calidad de vida de los pacientes con hemofilia.^{19,21-23,39,40}

CONCLUSIÓN

La hemofilia es una enfermedad genética que tiene un impacto en la calidad de vida de las personas que la padecen, por este motivo a través de los años se han desarrollado nuevos tratamientos que permiten mejorar este aspecto y que en última instancia se pueda curar la enfermedad de manera definitiva con la terapia génica, la cual por medio de vectores de virus no patógenos para el humano, permiten la edición de los genes que afectados y por ende aumentar niveles séricos de los factores de la coagulación. Demostrando avances significativos en los ensayos clínicos que se están llevando a cabo.

REFERENCIAS

1. Lippi G, Favaloro EJ. Gene therapy for hemophilias: the end of phenotypic testing or the start of a new era? *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2020;31(4):237-42. DOI: 10.1097/

- MBC.0000000000000905
2. Kloosterman F, Zwagemaker AF, Abdi A, Gouw S, Castaman G, Fijnvandraat K. Hemophilia management: huge impact of a tiny difference. *Res Pract Thromb Haemost.* 2020;4(3):377-85. DOI: 10.1002/rth2.12314
 3. Ohmori T. Advances in gene therapy for hemophilia: basis, current status, and future perspectives. *Int J Hematol.* 2020;111(1):31-41. DOI: 10.1007/s12185-018-2513-4
 4. World Federation of Hemophilia. Report on the Annual Global Survey 2019 [Internet]. Montréal: World Federation of Hemophilia; 2020 [citado 17 de noviembre 2020]. Disponible en: <https://www.wfh.org/en/our-work-research-data/annual-global-survey>
 5. Mingot Castellano ME. General concepts on hemophilia A and on women carrying the disease. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2020;31(1S):S1-S3. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000984
 6. Donners AAMT, Maarseveen EM, Weetink YRJ, *et al.* Comparison between coagulation factor VIII quantified with one-stage activity assay and with mass spectrometry in haemophilia A patients: Proof of principle. *Int J Lab Hematol.* 2020;42(6):819-26. DOI: 10.1111/ijlh.13283
 7. Nathwani AC. Gene therapy for hemophilia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2019;2019(1):1-8. DOI: 10.1182/hematology.2019000007
 8. Reiss UM, Zhang L, Ohmori T. Hemophilia gene therapy-New country initiatives. *Haemophilia.* 2021;27 Suppl 3:132-141. DOI: 10.1111/hae.14080
 9. World Federation of Hemophilia. Hemophilia in pictures [internet]. Montréal: World Federation of Hemophilia; 2020 [citado 17 de noviembre 2020]. Disponible en: <http://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1311.pdf>
 10. EAHAD Factor VIII Variant Database [Internet]. F8-db.eahad.org. 2020 [citado 23 Noviembre 2020]. Disponible en: <https://f8-db.eahad.org/>
 11. Park C, Kim D, Son J, Sung J, Lee J, Bae S *et al.* Functional Correction of Large Factor VIII Gene Chromosomal Inversions in Hemophilia A Patient-Derived iPSCs Using CRISPR-Cas9. *Cell Stem Cell.* 2015;17(2):213-20. DOI: 10.1016/j.stem.2015.07.001
 12. Eckhardt CL, van Velzen AS, Peters M, *et al.* Factor VIII gene (F8) mutation and risk of inhibitor development in nonsevere hemophilia A. *Blood.* 2013;122(11):1954-62.
 13. EAHAD Factor IX Variant Database [Internet]. F9-db.eahad.org. 2020 [citado 23 Noviembre 2020]. Disponible en: <https://f9-db.eahad.org/>
 14. Goodeve AC. Hemophilia B: molecular pathogenesis and mutation analysis. *J Thromb Haemost.* 2015;13(7):1184-95. DOI: 10.1111/jth.12958
 15. Rallapalli PM, Kembal-Cook G, Tuddenham EG, Gomez K, Perkins SJ. An interactive mutation database for human coagulation factor IX provides novel insights into the phenotypes and genetics of hemophilia B. *J Thromb Haemost.* 2013;11(7):1329-40. DOI: 10.1111/jth.12276
 16. Blanchette VS, Key NS, Ljung LR, *et al.* Definitions in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2014;12(11):1935-9. DOI: 10.1111/jth.12672
 17. Salen P, Babiker HM. Hemophilia A. 2020 Nov 19. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
 18. Peyvandi F, Garagiola I, Young G. The past and future of haemophilia: diagnosis, treatments, and its complications. *Lancet.* 2016;388(10040):187-97. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01123-X
 19. Nathwani AC, Davidoff AM, Tuddenham EGD. Gene Therapy for Hemophilia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2017;31(5):853-68. DOI: 10.1182/hematology.2019000007
 20. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, *et al.* Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med.* 2007;357(6):535-44. DOI: 10.1056/NEJMoa067659
 21. Batty P, Lillicrap D. Advances and challenges for hemophilia gene therapy. *Hum Mol Genet.* 2019;28(R1):R95-R101. DOI: 10.1093/hmg/ddz157
 22. Miesbach W, O'Mahony B, Key NS, Makris M. How to discuss gene therapy for haemophilia? A patient and physician perspective. *Haemophilia.* 2019;25(4):545-557. DOI: 10.1111/hae.13769
 23. Smith CIE, Blomberg P. Genterapi – från idé till verklighet - Ännu har få patienter behandlats och preparaten är ofta mycket dyra – men utvecklingen går fort nu [Gene therapy – from idea to reality]. *Lakartidningen.* 2017;114:EWYL. Swedish.
 24. Lambert T, Benson G, Dolan G, Hermans C, Jimenez-Yuste V, Ljung R, *et al.* Practical aspects of extended half-life products for the treatment of haemophilia. *Ther Adv Hematol.* 2018;9(9):295-308. DOI: 10.1177/2040620718796429
 25. US Food and Drug Administration. FDA approves new treatment to prevent bleeding in certain patients with hemophilia A. 2018. Disponible en: <https://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm585567.htm>. Accessed October 26, 2018.
 26. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, *et al.* Efficacy of Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with Inhibitors. *N Engl J Med.* 2017;377(9):809-18. DOI: 10.1056/NEJMoa1703068
 27. Mahlangu J, Oldenburg J, Paz-Priel I, *et al.* Efficacy of Emicizumab Prophylaxis in Patients Who Have Hemophilia A without Inhibitors. *N Engl J Med.* 2018;379(9):811-22. DOI: 10.1056/NEJMoa1803550
 28. Nienhuis AW, Nathwani AC, Davidoff AM. Gene Therapy for Hemophilia. *Mol Ther.* 2017;25(5):1163-67. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.03.033
 29. Bhardwaj R, Rath G, Goyal AK. Advancement in the treatment of haemophilia. *Int J Biol Macromol.* 2018;118(Pt A):289-295. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.084
 30. Kaczmarek R. Terapia genowa hemofilii – czy wkrótce będzie możliwe wyleczenie? [Gene therapy of haemophilia - has the cure come within reach?]. *Postepy Biochem.* 2018;64(4):318-22. DOI: 10.18388/pb.2018_145.
 31. Peyvandi F, Garagiola I. Clinical advances in gene therapy updates on clinical trials of gene therapy in haemophilia. *Haemophilia.* 2019;25(5):738-746. DOI: 10.1111/hae.13816
 32. VandenDriessche T, Chuah MK. Hemophilia Gene Therapy: Ready

- for Prime Time? *Hum Gene Ther.* 2017;28(11):1013-1023. DOI: 10.1089/hum.2017.116
33. Herzog RW, Hagstrom JN, Kung SH, Tai SJ, Wilson JM, Fisher KJ, *et al.* Stable gene transfer and expression of human blood coagulation factor IX after intramuscular injection of recombinant adeno-associated virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(11):5804-9. DOI: 10.1073/pnas.94.11.5804
 34. Kay MA, Manno CS, Ragni M V, *et al.* Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nat Genet.* 2000;24(3):257-61. DOI: 10.1038/73464
 35. Herzog RW, Yang EY, Couto LB, *et al.* Long-term correction of canine hemophilia B by gene transfer of blood coagulation factor IX mediated by adeno-associated viral vector. *Nat Med.* 1999;5(1):56-63. DOI: 10.1038/4743
 36. Kay MA, Rothenberg S, Landen CN, Bellinger DA, Leland F, Toman C, *et al.* In vivo gene therapy of hemophilia B: sustained partial correction in factor IX-deficient dogs. *Science.* 1993;262(5130):117-9. DOI: 10.1126/science.8211118
 37. Kaiser J. Gene therapy. Side effects sideline hemophilia trial. *Science.* 2004;304(5676):1423-5. DOI: 10.1126/science.304.5676.1423b
 38. Gura T. Hemophilia. After a setback, gene therapy progresses... gingerly. *Science.* 2001;291(5509):1692-7. DOI: 10.1126/science.291.5509.1692
 39. Rangarajan S, Walsh L, Lester W, *et al.* AAV5-Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2519-2530. DOI: 10.1056/NEJMoa1708483
 40. Rodriguez-Merchan EC. What's new in Gene Therapy of Hemophilia. *Curr Gene Ther.* 2018;18(2):107-114. DOI: 10.2174/1566523218666180214162312