



Hemofilia

Lauro Fabián Amador-Medina,^a Ángel Gabriel Vargas-Ruiz^a

Hemophilia

Hemophilia is a genetic disease in which the clinical manifestation is mainly the presence of hemorrhage. There are two known types of hemophilia: hemophilia A and B, which have a deficiency of factor VIII or IX clotting, respectively. The intensity of bleeding in hemophilia depends on the plasma levels of factor VIII or IX and has traditionally been classified as mild (> 5 % activity), moderate (1-5 % activity) and severe (< 1 % activity). In laboratory tests, it can be found isolated prolongation of activated partial thromboplastin time (aPTT), but it is necessary to determine the plasma levels of factor VIII or IX to establish the diagnosis of hemophilia A or B. The treating of this disease involves replacing exogenous factor VIII or IX concentrates. Gene therapy could be an option in the future to achieve the cure of the disease. Complications of hemophilia are the risk of transfusion-associated infections, pseudo tumor hemophilic, hemophilic arthropathy and the presence of serum inhibitors.

Key words

hemophilia
hemorrhage
factor VIII
factor IX

En épocas pasadas, la hemofilia A era considerada una enfermedad de la realeza: los hijos de la reina Victoria, portadora de hemofilia y clínicamente normal, transmitieron la enfermedad a varias familias de la realeza europea.¹ La hemofilia es una enfermedad hereditaria caracterizada por manifestaciones hemorrágicas causadas por las bajas concentraciones plasmáticas del factor de coagulación VIII o IX. A la deficiencia del factor VIII se le conoce como hemofilia A y a la deficiencia del factor IX como hemofilia B. Ambos tipos de hemofilia tienen un patrón de herencia recesiva ligada al cromosoma X.² La deficiencia del factor XI (antes llamada hemofilia C) no se le considera hemofilia, ya que es menos común y en la mayor parte de los casos se caracteriza por hemorragias leves, con un patrón de herencia autosómico recesivo.²

La prevalencia de la hemofilia A es de uno entre 5000 recién nacidos vivos del sexo masculino. La hemofilia B afecta a uno de 30 000 hombres recién nacidos vivos, proporción que se mantiene en todas las razas.^{3,4}

Estructura y función de los factores VIII y IX

El gen que codifica al factor VIII se localiza en la banda distal del cromosoma X, específicamente en la porción Xq28.⁴ Este gen tiene una longitud de 186 kilobases (kb) y consta de 26 exones, el cual codifica un ARN mensajero de 9 kb que sintetiza al factor VIII.⁵ El factor VIII maduro está integrado por 2332 aminoácidos. En su estructura hay una cadena pesada (compuesta por los dominios A1 y A2) y una cadena ligera (compuesta por los dominios A3, C1 y C2). En el centro del factor VIII hay un dominio B de función desconocida.⁶

Los principales sitios de síntesis del factor VIII son el hígado, el riñón, el bazo y el endotelio de los vasos sanguíneos.⁶ El factor VIII es una proteína lábil, susceptible de degradación proteolítica, por tal motivo siempre va unido al factor de von Willebrand, el cual le ofrece resistencia a la degradación proteolítica durante su forma inactiva; cuando el factor VIII se activa, se separa del factor von Willebrand y se convierte en blanco de otros factores de coagulación tales como los factores Xa y IXa, proteína C activada y trombina.^{4,6}

El factor VIII es indispensable para la activación del complejo tenasa por parte de la vía intrínseca de la cascada de coagulación, así como también en el modelo celular de la coagulación, ya que el factor VIII tiene una participación muy importante en la fase de propagación. Esto explica por qué un paciente con hemofilia A es incapaz de producir cantidades suficientes del factor Xa que puedan sobrepasar la vía del inhibidor del factor tisular y la hemorragia es inevitable.^{7,8}

El gen que codifica al factor IX de la coagulación se encuentra localizado en la banda distal del cromosoma

La hemofilia es una enfermedad genética en la que las manifestaciones clínicas consisten básicamente en la presencia de hemorragias. Se conocen dos tipos de hemofilia: *A* y *B*, las cuales se originan por la deficiencia de los factores VIII y IX de la coagulación, respectivamente. La intensidad de la hemorragia en la hemofilia depende de los niveles plasmáticos del factor VIII o IX y tradicionalmente se ha clasificado como leve (> 5 % de actividad), moderada (de 1 a 5 % de actividad) y severa (< 1 % de actividad). En las pruebas se identifica prolongación aislada del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), pero es necesario determinar los niveles plasmáticos del factor VIII o IX para establecer el diagnóstico de hemofilia *A* o *B*.

El tratamiento de esta enfermedad consiste en la reposición exógena con concentrados del factor VIII o IX. En el futuro, la terapia genética podría ser una opción para lograr la curación de la enfermedad. Las complicaciones de la hemofilia son el riesgo de infecciones relacionadas con las transfusiones, el pseudotumor hemofílico, la artropatía hemofílica y la presencia de inhibidores.

Resumen

Palabras clave

hemofilia
hemorragia
factor VIII
factor IX

X, específicamente en la porción Xq27.⁴ Este gen tiene una longitud de 38 kb y consta de ocho exones y codifica un ARN mensajero de 3 kb que sintetiza al factor IX en forma de una proteína de 415 aminoácidos. El producto final contiene al menos dos regiones importantes dentro de su estructura, una región catalítica, la cual está diseñada para su sitio de unión al factor VIII, y una región Gla, que necesita un proceso de gammacarboxilación para activar al factor IX antes de su unión al factor VIII.⁴⁻⁶

La unión y activación bioquímica del factor VIII con el factor IX se lleva a cabo en la superficie de las membranas celulares.⁷ A su vez, el factor IX es activado durante la fase de iniciación del modelo celular por el complejo factor tisular-factor VIIa y por el factor XIa en la fase de propagación.^{7,8} Al igual que en la hemofilia *A*, en la hemofilia *B* no se pueden producir cantidades suficientes del factor Xa, por la deficiencia del factor IX, y el paciente tiene tendencia a la hemorragia.⁸ En la figura 1 se presenta un esquema de la estructura de los factores VIIIa y IXa.

En este momento hay múltiples mutaciones genéticas conocidas, sin embargo, la más importante en la hemofilia *A* es la mutación del intrón 22, causante más común de la hemofilia *A* severa (< 1 % de actividad del factor VIII).^{9,10} Un tercio de todos los casos de hemofilia *A* es resultado de mutaciones espontáneas, sin antecedentes familiares previos.¹⁰ Respecto a la hemofilia *B* también se han descrito múltiples mutaciones genéticas, sin embargo, un tipo interesante es el fenotipo Leiden. Los individuos con fenotipo Leiden de la hemofilia *B* sufren hemofilia moderada o severa hasta la pubertad, después de la cual los niveles del factor IX se incrementan significativamente. Los defectos genéticos de los pacientes con este fenotipo están relacionados con la región del nucleótido 40 de la secuencia promotora. Se cree que estas mutaciones afectan a regiones importantes para unirse a hormonas esteroideas, tales como los andrógenos, que incrementan la expresión del factor IX.^{11,12}

Herencia en la hemofilia

El tipo de herencia en la hemofilia sigue las leyes mendelianas y se considera que es recesiva ligada al cromosoma *X*.⁴⁻⁶ Se conoce que las hijas de un hombre hemofílico son siempre portadoras y que los hijos de una mujer portadora tienen 50 % de probabilidad de padecer hemofilia (figura 2). Tradicionalmente se ha considerado que solo los varones son los que padecen la hemofilia, sin embargo, puede haber situaciones en las cuales es posible que una mujer padezca hemofilia: una mujer con un padre hemofílico y una madre portadora o una mujer con síndrome de Turner, hija de una madre portadora de hemofilia.^{5,6}

La hemofilia es resultado de mutaciones de los genes que codifican a los factores VIII y IX. Hasta el

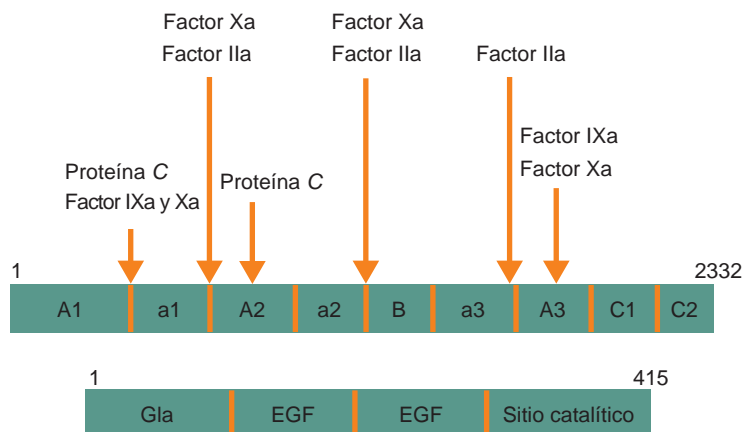


Figura 1 Arriba, la estructura del factor VIIIa, compuesto por 2332 aminoácidos, y sus dominios (los sitios catalíticos de los factores de coagulación IXa, Xa, IIa y proteína C). Abajo, la estructura del factor IXa, compuesto por 415 aminoácidos: dominio Gla (gammacarboxilación), dos dominios EGF (factor de crecimiento epitelial) y el sitio catalítico para su unión al factor VIIIa

| | | Hombre hemofílico $X^H Y$ | Hombre normal XY |
|----------------------------|--|------------------------------|-------------------------|
| Mujer normal XX | | $X^H X$ (Mujer portadora) | XY (Hombre normal) |
| Mujer portadora $X^H X$ | | XX^H (Mujer portadora) | XY (Hombre normal) |

Figura 2 Izquierda, posibles combinaciones si la madre fuera normal y el padre, hemofílico: las hijas siempre son portadoras. Derecha, posibles combinaciones si la mujer es portadora y el hombre normal: la mitad de las hijas será portadora y la mitad de los hijos tendrá hemofilia

Manifestaciones clínicas

La principal manifestación clínica de la hemofilia es la hemorragia, cuyo grado depende del nivel del factor VIII o IX presente en el plasma. Por la intensidad del sangrado y el nivel del factor, la hemofilia se clasifica en tres tipos: hemofilia severa (< 1 % de actividad del factor), hemofilia moderada (de 1 a 5 % de actividad del factor), hemofilia leve (> 5 % de actividad del factor). Los individuos con hemofilia severa por lo general experimentan hemorragias repetitivas y espontáneas.¹³ La frecuencia de cada tipo de hemofilia varía según la serie revisada, pero en general 50 % de los pacientes tiene hemofilia leve, 15 % hemofilia moderada y 35 % hemofilia grave.¹³ Los principales sitios de hemorragia son las articulaciones y entre ellas la de la rodilla; otros sitios frecuentes de hemorragia son los músculos y los tejidos blandos.¹³ Afortunadamente, las hemorragias en el sistema nervioso central ocurren en menos de 5 % de los pacientes.¹⁴

Diagnóstico prenatal y posnatal

Ante un antecedente de un miembro familiar con hemofilia, es importante determinar los posibles recién nacidos que pudieran estar afectados. Actualmente se están llevando a cabo técnicas intrauterinas para diagnosticar la hemofilia, tales como la toma de muestras de vellosidad coriónica o de líquido amniótico, para evaluar la actividad del factor VIII.¹⁵⁻¹⁸ Una vez nacido un niño con sospecha probable de hemofilia se puede medir la actividad del factor VIII o IX en el cordón umbilical. Debe considerarse que el diagnóstico de hemofilia B puede no ser certero, porque los factores K dependientes están disminuidos en los primeros seis meses de vida debido a la inmadurez hepática.¹⁷⁻¹⁹

Detección de mujeres portadoras

Una mujer es una portadora obligada de hemofilia si se cumple una de las siguientes condiciones y, por lo tanto, el estudio de portador es innecesario:

- Su padre tiene hemofilia.
- Ella tuvo dos o más hijos con hemofilia.
- Ella tuvo un hijo con hemofilia y se encuentra una historia familiar bien documentada de hemofilia por la rama materna de su árbol genealógico.

La confirmación por laboratorio de un gen defectuoso del factor VIII o IX se lleva a cabo mediante dos tipos de análisis: ensayo del factor de la coagulación y técnicas basadas en el ADN. Si el factor VIII o IX de una mujer es muy bajo, es razonable asumir que es portadora. El diagnóstico por análisis de los genes del factor VIII o IX en las familias, ya sea por genes basados en polimorfismos o detecciones mutacionales, son los métodos preferidos de detección de portadoras y del diagnóstico prenatal de hemofilia.^{20,21}

Diagnóstico y exámenes de laboratorio

Es importante una historia clínica detallada de los antecedentes familiares, tipo y patrón de sangrado, además del sitio de sangrado en un paciente con sospecha de hemofilia, ya que estas situaciones pueden darnos un diagnóstico preciso. Entre los estudios de laboratorio, la biometría hemática es generalmente normal. Entre las pruebas de coagulación, el tiempo de protrombina y el tiempo de sangrado son normales. Característicamente, el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) se encuentra prolongado en forma aislada en algunos individuos con hemofilia, aunque puede haber pacientes con hemofilia leve con un TTPa normal. La corrección del TTPa con plasma normal, incubado a 37 °C apoya el diagnóstico de la deficiencia de algún factor de coagulación de la vía intrínseca. El diagnóstico de hemofilia se confirma con niveles bajos del factor VIII o IX. Se debe hacer diagnóstico diferencial con enfermedad de von Willebrand.²²

Tratamiento

Las siguientes acciones deben formar parte del manejo integral del paciente con hemofilia:²³⁻²⁶

- *Cuidado dental*: la buena higiene dental es esencial para prevenir la enfermedad periodontal, la cual predispone a gingivorragias. De ser necesaria una extracción dental se debe establecer un plan

de manejo con las especialidades involucradas, para asegurar una adecuada hemostasia; los medicamentos antifibrinolíticos pueden disminuir las necesidades de terapia de reemplazo.

- *Actividad física o deportiva:* debe ser fomentada para promover la buena forma física y desarrollo neuromuscular normal, con el cuidado de evitar deportes de contacto, a menos que se lleve a cabo una adecuada profilaxis.
- *Valoración ortopédica:* la disminución en la densidad ósea puede estar disminuida en los sujetos con hemofilia, además, es común el desarrollo de artropatías, por lo cual es necesaria la valoración ortopédica al menos cada año.
- *Educación acerca de la enfermedad:* debe involucrar tanto al paciente como a su familia y asegurar que se cubran adecuadamente las necesidades relativas al padecimiento.
- *Vacunación:* deben ser vacunadas las personas con desórdenes de sangrado, preferentemente de forma subcutánea, a menos que estén protegidas por infusión de concentrados del factor de coagulación deficiente. La inmunización contra las hepatitis A y B es importante para todas las personas con hemofilia. Estas inmunizaciones pueden no ser tan efectivas en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana.
- *Consejo genético:* cuando sea posible, debe ofrecerse consejo genético a los pacientes y a las portadoras de hemofilia.

El objetivo principal del tratamiento de la hemofilia es prevenir y tratar las hemorragias con el factor deficiente. En general, se recomienda el uso de concentrados del factor VIII o IX sobre el uso de plasma fresco congelado o crioprecipitados, debido al riesgo inherente de infecciones relacionadas con la transfusión. La desmopresina o los medicamentos antifibrinolíticos son la mejor opción para los pacientes con hemofilia leve.¹³ En cuanto a los concentrados del factor VIII o IX, estos se clasifican en dos según su fuente de origen:

- *Derivados del plasma:* el plasma se puede obtener por sangre total o por aféresis. Estos concentrados, a su vez, se clasifican de acuerdo con su pureza. El término *pureza* se refiere al contenido del factor en UI/mg de proteína. Los productos de pureza intermedia contienen de 10 a 100 UI/mg de proteína. Los productos de alta pureza, obtenidos por cromatografía de anticuerpos monoclonales, contienen de 100 a 1000 UI/mg de proteína. Los productos de muy alta pureza contienen más de 1000 UI/mg de proteína.²⁷
- *Obtenidos de forma recombinante:* existen tres tipos de concentrados recombinantes; los de primera generación están estabilizados con albúmina

Cuadro I Concentrados del factor VIII o IX derivados del plasma

| Nombre comercial | Factor presente | Pureza |
|-----------------------------|-----------------|-------------------|
| Derivados del plasma | | |
| Haemate P | VIII | Pureza intermedia |
| Proplex T | IX | Pureza intermedia |
| Profilnine | IX | Pureza intermedia |
| Inmunine | IX | Alta pureza |
| Octayne | IX | Alta pureza |
| Alphanine | IX | Alta pureza |
| Mononine | IX | Alta pureza |
| Replene | IX | Alta pureza |
| Octanate | VIII | Alta pureza |
| Inmunate | VIII | Alta pureza |
| Beriate P | VIII | Alta pureza |
| Fandhi | VIII | Alta pureza |
| Alphanate | VIII | Alta pureza |
| Monoclonate P | VIII | Muy alta pureza |
| Hemofil M | VIII | Muy alta pureza |
| Octanativ M | VIII | Muy alta pureza |
| Generación | | |
| Recombinantes | | |
| Recombinate | VIII | Primera |
| Kogenate | VIII | Segunda |
| Helixate | VIII | Segunda |
| Refacto | VIII | Segunda |
| Advate | VIII | Segunda |
| Benefix | IX | Tercera |

humana; los de segunda generación se estabilizan con sacarosa y solamente se utiliza albúmina en el cultivo celular, pero no en el producto final; los de tercera generación no tienen proteínas humanas o animales en ningún paso de la producción.²⁷

En el cuadro I se describen los principales concentrados derivados del plasma y los obtenidos de forma recombinante disponibles en México. El nivel óptimo, dosis y duración del factor VIII o IX para la hemorragia aguda en los diferentes sitios se describen en el cuadro II. La vida media de los factores VIII y IX es de 12 y 24 horas, respectivamente, tiempo en el cual se debe repetir la mitad de la dosis para alcanzar los niveles terapéuticos deseados; es recomendable el monitoreo de la actividad antes de la siguiente dosis. Para la administración de los concentrados hay dos técnicas: la infusión en bolo y la infusión continua. En algunos estudios se ha encontrado un beneficio de ahorro del factor VIII con la infusión continua cuando se compara con la infusión en bolo, aunque son necesarias más investigaciones para establecer el verdadero papel de la infusión continua del concentrado del factor VIII.²⁸

Cuadro II Intensidad del tratamiento según el sitio de la hemorragia

| Sitio de la hemorragia | Nivel óptimo del factor | Dosis (UI/kg) | | Duración en días |
|-------------------------|-------------------------|---------------|-----------|------------------|
| | (%) | Factor VIII | Factor IX | |
| Articulación | 30-50 | 20-30 | 30-50 | 1-2 |
| Músculo | 30-50 | 20-30 | 30-40 | 1-2 |
| Tracto gastrointestinal | 40-60 | 30-40 | 40-60 | 7-10 |
| Mucosa oral | 30-50 | 20-30 | 30-60 | Hasta resolución |
| Epistaxis | 30-50 | 20-30 | 40-60 | Hasta resolución |
| Hematuria | 30-100 | 20-50 | 70-100 | Hasta resolución |
| Sistema nervioso | 60-100 | 50 | 80-100 | 7-10 |
| Retroperitoneo | 50-100 | 30-50 | 60-100 | 7-10 |
| Trauma o cirugía | 50-100 | 30-50 | 60-100 | Hasta resolución |

Terapia genética

La hemofilia se considera candidata a terapia genética, ya que es una enfermedad que involucra un solo gen y pequeños incrementos de los niveles del factor de coagulación disminuyen las manifestaciones clínicas. Se ha observado que cuando a un paciente con hemofilia B se le administra un vector viral que lleva inserto un gen que codifica para el factor IX, hay una elevación de las concentraciones plasmáticas de hasta 5 % de la actividad del factor respecto a su nivel basal.²⁹ Probablemente en los siguientes años se implementarán más y mejores técnicas que permitan una adecuada terapia genética.

Complicaciones

- *Infecciones adquiridas por transfusiones sanguíneas*: hay riesgo de infecciones por los virus de la inmunodeficiencia humana o de la hepatitis B y C.
- *Pseudotumores (hematomas encapsulados)*: los pseudotumores se presentan en 1 a 2 % de los pacientes hemofílicos graves. Los sitios más frecuentes son los huesos, músculos y tejidos blandos. La resección quirúrgica conlleva una tasa de mortalidad de 20 %, aun cuando se tenga buena reposición con concentrados del factor.³⁰
- *Artropatía hemofílica*: se debe a hemartrosis recurrente que daña el cartílago articular. Se ha encontrado que el tratamiento profiláctico (antes de la aparición de la hemartrosis) con infusiones repetidas de factor VIII o IX provoca menos daño

articular y menos desarrollo de inhibidores que la terapia episódica (tratamiento a demanda según la hemartrosis); por esto, es recomendable que en el niño con hemofilia severa se comience con el tratamiento profiláctico antes de los cuatro años de edad, cuando aparecen las primeras hemartrosis.³¹

- *Desarrollo de inhibidores*: los inhibidores son aloanticuerpos que se dirigen contra el factor VIII o IX de la coagulación. Se desarrollan hasta en 30 % de los pacientes con hemofilia A severa y en 5 % de los pacientes con hemofilia B durante el transcurso de toda su vida. El manejo inicial de un paciente con hemofilia e inhibidor consiste en cuantificar el título del inhibidor mediante el ensayo de unidades Bethesda (UB). En pacientes con títulos bajos de inhibidor (< 5 UB), el tratamiento consiste en administrar dosis altas del factor VIII en un intento de superar la concentración del inhibidor y detener el sangrado; en pacientes con títulos altos de inhibidor (> 5 UB), consiste con agentes *bypassing* tales como concentrados de complejo protrombínico activado o factor VII recombinante activado. Es recomendable establecer medidas para erradicar o reducir el inhibidor: plasmaféresis, remoción de anticuerpos por inmunoadsorción, uso del factor VIII porcino, ciclofosfamida, globulina inmune, rituximab o técnicas de inmunotolerancia.³²

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo

^aDepartamento de Hematología y Oncología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", Secretaría de Salud, Distrito Federal, México

Comunicación con: Lauro Fabián Amador-Medina
Teléfono: (55) 5487 0900, extensión 2720.
Fax (55) 5485 1760
Correo electrónico: lafab81@hotmail.com

Referencias

1. Mannucci PM, Tuddenham EG. The hemophilias —from royal genes to gene therapy. *N Engl J Med*. 2001;344(23):1773-9.
2. Bolton-Maggs PH, Pasi KJ. Haemophilias A and B. *Lancet*. 2003;361(9371):1801-9.
3. Berntorp E, Shapiro AD. Modern haemophilia care. *Lancet*. 2012;379(9824):1447-56.
4. Pruthi RK. Hemophilia: a practical approach to genetic testing. *Mayo Clin Proc*. 2005;80(11):1485-99.
5. Jayandharan G, Srivastava A, Srivastava A. Role of molecular genetics in hemophilia: from diagnosis to therapy. *Semin Thromb Hemost*. 2012;38(1):64-78. Texto libre en <https://www.thieme-connect.com/DOI/DOI?10.1055/s-0031-1300953>
6. Lenting PJ, van Mourik JA, Mertens K. The life cycle of coagulation factor VIII in view of its structure and function. *Blood*. 1998;92(11):3983-96. Texto libre en <http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/92/11/3983.long>
7. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost*. 2001;85:958-65.
8. Quintana-González S, Martínez-Murillo C. Modelo celular de la coagulación. *Rev Hemo Trombo*. 2008;2(1):59-65.
9. Graw J, Brackmann HH, Oldenburg J, Schneppenheimer R, Spannagl M, Schwaab R. Haemophilia A: from mutation analysis to new therapies. *Nat Rev Genet*. 2005;6(6):488-501.
10. Rossetti LC, Radic CP, Abelleyro MM, Larripa IB, De Brasi CD. Eighteen years of molecular genotyping the hemophilia inversion hotspot: From Southern blot to inverse shifting-PCR. *Int J Mol Sci*. 2011;12(10):7271-85. Texto libre en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3211038/>
11. Reijnen MJ, Peerlinck K, Maasdam D, Bertina RM, Reitsma PH. Hemophilia B Leyden: substitution of thymine for guanine at position -21 results in a disruption of a hepatocyte nuclear factor 4 binding site in the factor IX promoter. *Blood*. 1993;82(1):151-8.
12. Reijnen MJ, Maasdam D, Bertina RM, Reitsma PH. Hemophilia B Leyden: the effect of mutations at position +13 on the liver-specific transcription of the factor IX gene. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1994;5(3):341-8.
13. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia* 2013;19(1):e1-47.
14. Ljung RC. Intracranial haemorrhage in haemophilia A and B. *Br J Haematol*. 2008;140(4):378-84.
15. Lee CA, Chi C, Pavord SR, Bolton-Maggs PH, Pollard D, Hinchcliffe-Wood A, et al. The obstetric and gynaecological management of women with inherited bleeding disorders: review with guidelines produced by a taskforce of UK Haemophilia Centre Doctors Organization. *Haemophilia*. 2006;12(4):301-36.
16. Michaelides K, Tuddenham EG, Turner C, Lavander B, Lavary SA. Liver birth following the first mutation specific preimplantation genetic diagnosis for haemophilia A. *Thromb Haemost*. 2006;95(2):373-9.
17. Chi C, Lee CA, Shiltagh N, Khan A, Pollard D, Kadir RA. Pregnancy in carriers of hemophilia. *Haemophilia*. 2008;14(1):56-64.
18. Wapner RJ. Invasive prenatal diagnostic techniques. *Semin Perinatol*. 2005;29(6):401-4.
19. Katiyar R, Kriplani A, Agarwal N, Bhatla N, Kabra M. Detection of fetomaternal hemorrhage following chorionic villus sampling by Kleihauer Betke test and rise in maternal serum alpha fetal protein. *Prenat Diagn*. 2007;27(2):139-42.
20. DiMichele D. Haemophilia 1996. New approaches to an old disease. *Paediatr Clin North Am*. 1996;43(3):709-36.
21. Smith O, Hann I. Secondary haemostatic defects. En: Owen P, Smith, Hann IM, editores. *Essential paediatric haematology*. London, UK: Martin Dunitz; 2002. pp. 120-30.
22. Jennings I, Kitchen DP, Woods TA, Kitchen I, Walker D, Preston E. Laboratory performance in the World Federation of Hemophilia EQA Programme, 2003-2008. *Haemophilia*. 2009;15(2):571-7.
23. Berntorp E, Boulyzenkov V, Brettler D, Chandy M, Jones P, Lee C, et al. Modern treatment of haemophilia. *Bull WHO*. 1995;73:691-701.
24. Gomis M, Querol F, Gallach JE, González LM, Aznar JA. Exercise and sport in the treatment of haemophilic patients: a systematic review. *Haemophilia*. 2009;15(1):43-54.
25. Evatt BL. The natural evolution of haemophilia care: developing and sustaining comprehensive care globally. *Haemophilia*. 2006;12(Suppl 3):13-21.
26. Evatt BL, Black C, Batorova A, Street A, Srivastava A. Comprehensive care for haemophilia around the world. *Haemophilia*. 2004;10(Suppl 4):9-13.
27. Quintana-González S, Martínez-Murillo C. Concentrados de factor VIII/factor IX para el tratamiento de hemofilia y otras alternativas. *Rev Hemo Trombo*. 2007;1(1):30-9.
28. Batorova A, Martinowitz U. Continuous infusion of coagulation factors: current opinion. *Curr Opin Hematol*. 2006;13(5):308-15.
29. Nathwani A, Edward G, Tuddenham M, Rangarajan S, Rosales C, McIntosh J, et al. Adenovirus-associated virus vector-mediated gene transfer in hemophilia B. *N Engl J Med*. 2011;365:2357-65.
30. Rodríguez-Merchan EC. The haemophilic pseudotumor. *Int Orthop*. 1995;19(4):255-60.
31. Manco-Johnson M, Abshire T, Shapiro A, Riske B, Hacker M, 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.
32. Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemophilia*. 2003;9(4):418-35.