

Biología molecular de la enfermedad de von Willebrand

Brenda Melo-Nava,* Rosenda Peñaloza*

* Unidad de Investigación Médica en Genética Humana, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

Molecular biology of von Willebrand disease

RESUMEN

ABSTRACT

Von Willebrand Factor (VWF) is a large multimeric glycoprotein expressed in the megakaryocytes and endothelial cells of all vertebrates. It participates fundamentally in the primary and secondary hemostasis because it induces the adhesion of platelets to vascular subendothelium and promotes aggregation of platelets when blood vessels and capillaries are damaged. In addition, VWF links to factor VIII which avoids its proteolysis. The deficiency or the inadequate synthesis of the VWF causes von Willebrand disease (VWD), which is the most common hereditary bleeding disorder in humans principally from mucous and cutaneous sites. VWD is difficult to detect with accuracy due to interrelation among VWF with different components of hemostasis, although it is performed by different tests of haemostatic system, and the basic mechanisms in VWD are herein emphasized. The diagnosis of VWD is difficult due to the heterogeneous manifestation of the disease, which also complicates its classification. This article focuses on the molecular aspects of the disease and discusses their possible clinical implications.

Key words. von Willebrand Factor. von Willebrand Disease. Bleeding. Coagulation.

El factor de von Willebrand (FVW) es una glicoproteína multimérica de gran tamaño, que se expresa en las células endoteliales y megacariocitos de todos los vertebrados. Participa de manera primordial en la hemostasia primaria y secundaria, ya que induce la adhesión de las plaquetas al endotelio vascular y la agregación de las mismas cuando en el organismo hay una lesión. También se une al factor VIII de la coagulación evitando su proteólisis. La deficiencia o la síntesis inadecuada del FVW provocan la enfermedad de von Willebrand (EVW), padecimiento hereditario hemorrágico más frecuente en humanos, principalmente de mucosas y sitios cutáneos. La detección exacta de la EVW es complicada debido a la interrelación del FVW con diferentes componentes biológicos que participan en la hemostasia, sin embargo ésta se realiza con diferentes pruebas del sistema de coagulación, y aquí se enfatizan los mecanismos básicos. El diagnóstico de la EVW es difícil debido a lo heterogéneo de sus manifestaciones, lo que complica su clasificación. Este artículo se enfoca a los aspectos moleculares de la enfermedad y discute sus posibles implicaciones clínicas.

Palabras clave. Factor de von Willebrand. Enfermedad de von Willebrand. Hemorragia. Coagulación.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de von Willebrand (EVW) fue descrita en 1926 por el Dr. Erick von Willebrand, cuyos miembros padecían de hemorragias que afectaban a hombres y mujeres por igual, siendo este padecimiento diferente a la hemofilia. La alteración más importante que se encontró fue el tiempo de coagulación prolongado con cuenta normal de plaquetas, lo que sugirió que se debía a un defecto funcional de las plaquetas que estaba asociado a la lesión sistémica de las paredes de los vasos, por lo que la denominó pseudohemofilia hereditaria.¹ En 1971 se

identificó que el responsable de esta enfermedad era el factor de von Willebrand (FVW) y no el factor VIII (FVIII).²

Las principales manifestaciones clínicas de la EVW son hemorragias mucocutáneas como epistaxis, gingivorragias, hemorragias del tubo digestivo, equimosis en la piel, hematomas y metrorragias.³ Actualmente, la EVW se clasifica en tres tipos.^{4,5} Los tipos 1 y 3 son por deficiencia o ausencia del FVW y el tipo 2 por alteraciones en la calidad de la proteína.

Se considera que la EVW es la alteración hereditaria de la coagulación más frecuente y se debe a la deficiencia o anomalía del FVW. La prevalencia

de la EVW es del 1% en la población mundial.⁶ Según la revisión hecha por Castaman, *et al.*, se considera que las formas clínicamente significativas de la enfermedad afectan a 100 personas por cada millón de la población.³ Los datos de prevalencia de centros especializados han mostrado valores desde 2.3 en Kagoshima, Japón, hasta 11.3 en Chile, mientras que valores intermedios se encuentran en el Reino Unido, Suiza, Jordania, Venezuela y Suecia. En el año 2005 se informó una frecuencia estimada de 8 por 100,000 habitantes en la región nórdica.⁶ Si se asume esta prevalencia, en nuestro país para el 2005 habría alrededor de 826,107 afectados en 103,263,388 habitantes.⁷

En México, no hay un registro epidemiológico de la enfermedad, sólo se han informado algunos estudios desde el punto de vista clínico y hematológico. En uno de ellos se informaron 60 casos en 24 familias con diagnóstico de EVW,⁸ y en otro se estudió la asociación entre la gravedad de hemorragias en pacientes pediátricos con las variantes de la enfermedad para lograr un mejor diagnóstico clínico.⁹ El presente artículo revisa los aspectos moleculares de la enfermedad cuyo conocimiento puede ayudar a establecer un diagnóstico preciso y un consejo genético apropiado.

GEN DEL FACTOR DE VON WILLEBRAND (VWF)

El FVW es sintetizado en células endoteliales y megacariocitos. El gen que codifica para el factor se localiza en el cromosoma 12p13.2. Es un gen compuesto de 178 kilobases (kb) y contiene 52 exones que originan un mRNA de 8923 pares de bases (pb).¹⁰

La secuencia del gen VWF contiene una caja TATA a -30 pb y la caja CCAAT a -22 pb del sitio de inicio de la transcripción.¹¹ El gen también contiene secuencias de elementos que actúan en la región +155 a +247 que son sitios obligatorios para los factores de la transcripción GATA y NFY, que contribuyen a la activación específica del promotor. Las asociaciones de los factores de unión a VWF son quienes determinan el patrón de activación de este gen en la célula.¹²

Existe un pseudogen de 23 kb ubicado en el cromosoma 22, que tiene una secuencia parcial (abarca los exones 23 al 34) y una homología de 97% del gen VWF.¹³ Este gen es altamente conservado de las regiones codificantes del extremo 3' en diferentes especies de vertebrados.¹¹

El gen codifica para un péptido señal de 22 aminoácidos (aa), un propéptido de 741 aa, (también cono-

cido como antígeno II del FVW) y para la proteína madura de 2050 aa.^{3,14} Las dos primeras secuencias son codificadas por los 17 primeros exones, mientras que la proteína madura del FVW es codificada por 35 exones en la porción restante del gen. La proteína precursora de 2813 aminoácidos alcanza un peso de 360 (Kilodaltones) KDa. El propéptido de 741 aminoácidos pesa 100 KDa y la subunidad madura de 2050 aminoácidos 270 KDa.¹⁴⁻¹⁶

El factor de von Willebrand (FVW)

El FVW es sintetizado por células endoteliales, megacariocitos y plaquetas donde se almacena en los cuerpos de Weibe Palade y los gránulos alfa. También se encuentra unido a diferentes tipos de colágena de la matriz subendotelial.¹⁵ En la unión y actividad del FVW participan los dominios D1, D2, D', D3, A1, A2, A3, D4, B1, B2, B3, C1, C2, C3 y CTCK. El dominio CTCK participa de manera importante en la dimerización del FVW y D3 en su multimerización (Figura 1).

El procesamiento postraducciona se inicia con la eliminación del péptido señal y la glicosilación de sus cadenas en el retículo endoplásmico, seguida de su dimerización por enlaces disulfuro y la proteólisis de los dominios D1 y D2.¹⁷ En el aparato de Golgi termina el proceso de glicosilación tipo O y N y los carbohidratos específicos de la glicosilación tipo N son modificados por sulfatación.^{3,15} Finalmente ocurre la polimerización del factor en más de 50 unidades, quedando de un tamaño de 0.5 a 20 MDa. En la red *trans* de Golgi la enzima furina o PACE (endoproteasa dependiente de calcio asociada a membrana) escinde el propéptido, proceso importante para la unión al FVIII pero no para la multimerización.¹⁸ La secreción del FVW puede inducirse por desmopresina (análogo de la vasopresina) mediante su unión al receptor V2 de células endoteliales.³

En el plasma, la metaloproteasa ADAMTS-13 actúa sobre los multímeros del FVW en el dominio A2, entre Y1605 y M1606. Este proceso crea las diferentes formas en que encontramos al factor que van desde su forma de dímero simple hasta las 20 unidades que forman el multímero más complejo.^{3,19} La degradación proteolítica de los multímeros es un evento normal, ya que estos tienen un elevado potencial trombogénico, porque poseen sitios de interacción con las plaquetas y las paredes de los vasos sanguíneos. En condiciones de homeostasis esta reacción inhibe el crecimiento del trombo que forman las plaquetas.¹⁹

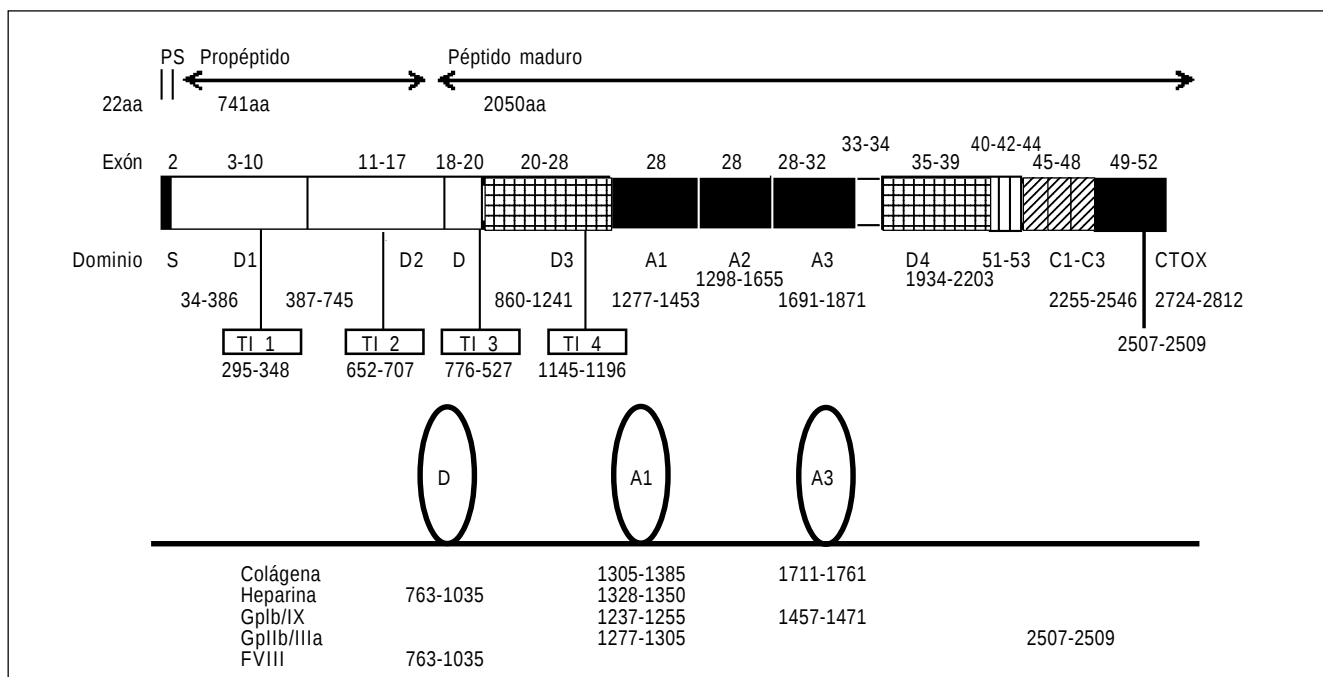


Figura 1. Representación esquemática del factor de humano. von Willebrand. Los primeros 2 exones del gen VWF codifican para el péptido señal (PS), el propéptido es codificado por los exones 3-17 y el péptido maduro por los exones 18-52. El Factor VIII se une al FVW en su dominio D', el dominio D3 permite la unión a GPIb/IX, el dominio A1 a la heparina, y la colágena con GPIb/IX, que también interacciona con en el dominio A2. El dominio A3 es importante para unirse a la colágena, mientras que la unión con la GPIIb/IIIa se hace en el dominio CTCK.

Función del FVW

El FVW interacciona en su dominio D' con el FVIII manteniéndolo en un estado activo, pero inhibiendo su actividad sobre la trombina y prolongando su vida media en el plasma.^{2,20} Otro modo de acción del FVW es compitiendo con los sitios de unión a fosfolípidos del FVIII y evitando que el factor de la coagulación sea degradado por la actividad de proteasas de serina, incluyendo a la proteína C activada.²

La actividad del FVW en el proceso de formación del tapón plaquetario es importante, ya que las plaquetas se adhieren a células de la matriz subendotelial por la interacción del FVW con la colágena I y III vía su dominio A3 (E1673-G1874) y su dominio A1 (E1260 y G1479) con la glicoproteína GPIb α (subunidad del complejo GPIb-IX-V) de las plaquetas.²¹ Además, el FVW se une a glicolípidos sulfatados que sirven de moléculas accesorias en su interacción con las plaquetas en el dominio A1.²² En la adhesión plaquetaria, los multímeros del FVW tienen una participación mayor ya que poseen múltiples sitios de anclaje a receptores de las glicoproteínas.

Las plaquetas se activan ante el daño vascular por diferentes mecanismos que aumentan las señales

de transducción, que da lugar a la redistribución de proteínas del citoesqueleto, a la exposición y activación de receptores de GP IIB/IIIA y a la traslocación de la selectina-P de los gránulos alfa a la superficie plaquetaria. Esto permite la agregación de las plaquetas adyacentes, entre otros, por la selectina-P de la superficie de las plaquetas a sus receptores, las glicoproteínas ligandos (PSGL-1)²³ La GPIa/IIa (integrina $\alpha 2 \beta 1$) es otro receptor importante de las plaquetas y su interacción con el FVW permite un aumento de su afinidad a la colágena.²¹ Cuando GPIa/IIa y el complejo de interfase GPIb-IX-V se unen al FVW, la colágena es expuesta a P-selectina para reparar la ruptura de vasos sanguíneos.²⁴

A nivel intracelular, la activación de las plaquetas por el FVW, lleva a la activación a la enzima fosfatidilinositol-3-cinasa que estimula la síntesis de fosfatidilinositol 3, 4, 5 trifosfato (PIP³).²⁵ También activa al receptor Fc γ RIIA (Fc γ RIIA) y estimula a la fosfolipasa A2 por acción del Ca²⁺ y de la cinasa MAPK 38.^{23,26} El nivel de FVW se usa como marcador de daño endotelial en pacientes con dermatomiositis y está relacionada al aumento de las enzimas aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa y aldolasa.²⁷

Variantes de la enfermedad de von Willebrand

La clasificación de la EVW revisada por la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) identifica dos categorías de EVW: la deficiencia cuantitativa del factor (tipos 1 y 3) y la deficiencia cualitativa (tipo 2).²⁸

- **Variante 1.** La EVW tipo 1 se manifiesta de forma autosómica dominante con penetrancia y fenotipo variable. El patrón de multímeros del FVW en una electroforesis es reducido, lo que describe a la variante como una deficiencia parcial cuantitativa del factor.²⁹ Se considera que esta variante es la más frecuente con un 70-80% de los casos, pero a pesar de ello su causa genética no ha sido comprendida. Ninguna mutación dominante ha sido identificada en gran proporción.³⁰ Por lo que es importante mencionar el estudio de 70 familias con EVW tipo 1 en Canadá, donde se encontró que el 14.3% presentó el polimorfismo Y1584C.³¹ En el estudio multicéntrico de estudios de EVW tipo 1 se informó que ese mismo polimorfismo tiene una incidencia de 7% en 400 individuos afectados y en 0.4% de 1070 controles.³²

Sólo se han informado delecciones y algunas mutaciones de cambio de sentido, por ejemplo de C1149R en el dominio D3, que produce un FVW defectuoso que inhibe su secreción y es retenido en el retículo endoplásmico y sólo los homodímeros silvestres son liberados.³⁰ También se han detectado mutaciones en los exones 19, 26, 28, 37 y 52.³³

Existen otros factores que afectan la variedad y penetrancia incompleta de esta variante, como el tipo sanguíneo ya que en sujetos tipo O los niveles de FVW son más bajos en un 25-35% que en los demás grupos. Esto podría deberse a una susceptibilidad mayor del FVW a sufrir proteólisis por ADAMTS-13.³⁴

- **Variante 2.** En este grupo se incluyen las diferentes formas de la enfermedad en las que la proteína cualitativamente anormal por un defecto en la estabilidad, función o en la distribución de sus multímeros. La herencia de estas variantes es autosómica dominante con excepción del tipo 2N que es recesiva.²

Con el conocimiento de los dominios de unión del FVW involucrados en la interacción con las plaquetas, FVIII y la colágena se han buscado mutaciones que estén localizadas en los exones que codifican principalmente para los dominios

A1, A2 y A3. Por lo que en la determinación de las variantes tipo 2 son especialmente valiosas las técnicas de biología molecular, porque permiten clasificar a pacientes con variantes tipo 2 e inclusive reclasificar a pacientes mal diagnosticados con tipo 1 y clasificarlos como tipo 2.³⁵

- **Variante 2A.** El tipo 2A de la EVW está caracterizado por un defecto cualitativo del FVW de herencia autosómica dominante y con la ausencia de multímeros de elevado e intermedio peso molecular.³

Se han informado 66 mutaciones de cambio de sentido responsables de este fenotipo.³³ Estas mutaciones se dividen en dos grupos. En el primer grupo, mutaciones como V1607D, S1506L y G51505R afectan el transporte intracelular, provocan defectos en el ensamblaje, en el almacenamiento o en la secreción de sus multímeros de alto peso molecular.³ En el segundo grupo, mutaciones como R1597W y G1505E provocan defectos en la proteólisis de los multímeros de alto peso molecular (multímeros necesarios para la unión del complejo de glicoproteínas GPIb-IX-V) y pueden incrementar los multímeros de bajo peso molecular.¹⁶ La mayoría de las mutaciones han sido localizadas en el exón 28 y sólo tres mutaciones en el 52.³³

- **Variante tipo 2B.** La EVW tipo 2B se caracteriza por la pérdida de los multímeros de gran tamaño del FVW y por su afinidad aumentada por complejo GPIb-IX-V. Las pruebas de laboratorio muestran una hiperrespuesta del plasma rico en plaquetas a la ristocetina. La unión del FVW mutante puede iniciar trombocitopenia que llega a ser grave. Este desorden representa menos del 20% de las variantes tipo 2.³⁶⁻³⁸ La mayoría de las mutaciones en la variante 2B se deben a mutaciones en el dominio A1, y se sabe que el 90% son causadas por mutaciones en las posiciones 1306, 1308, 1316 y 1341, siendo el exón 28 el que se ve principalmente afectado (dominio A1).³³

- **Variante 2M (tipo Milwaukee).** La variante 2M se debe a un defecto cualitativo en la función del FVW que no le permite interaccionar adecuadamente con las plaquetas por lo que se observa una disminución en las funciones de las plaquetas. Se han informado 18 mutaciones, de las cuales 17 son de cambio de sentido pero no hay alguna que sea particularmente común en esta variante.³³ La mutación en el tipo Vicenza (R1205H), ha sido informada en familias europeas y está asociada a un cambio en el nucleótido 7401.³ La mayoría de las mutaciones han sido lo-

calizadas en el dominio A1, en el asa formada por puentes disulfuro entre C1272-C1458 que evita la unión con GPIbIX.³⁹ Estas mutaciones incluyen la delección del segmento R1392-Q1402 y las mutaciones de cambio de sentido G1324S, F1369I e I1425F.³ Los exones afectados en este tipo de EVW son 18, 27 y 28 que afectan a los dominios A1, D' y D3.³³

- **Variante 2N.** La variante 2N (tipo Normandía) se debe a un defecto en la región de unión al FVIII sin cambio en la distribución de los multímeros del FVW en el plasma.² Debido a la interacción del FVW con el FVIII es importante poder distinguir la variante de la hemofilia, una enfermedad ligada al cromosoma X. Se han informado 16 mutaciones de cambio de sentido en los exones 18, 19, 20, 21 y 24 que codifican para la región comprendida entre los exones D'y D3.³³
- **Variante 3.** Esta variante de la enfermedad es la forma clínica más severa debido a la ausencia o a los niveles muy bajos del FVW. El modo de herencia es autosómico recesivo, aunque puede haber homocigocidad o heterocigocidad del alelo afectado.^{3,36} Las eliminaciones parciales o totales del gen han sido relacionadas con esta variante, aunque también se han informado mutaciones en casi todos los exones del gen FVW.³³ La homocigocidad en la delección del gen puede asociarse con la aparición de anticuerpos en contra del FVW, lo que también es utilizado como un estímulo en reacciones anafilácticas.⁴⁰ En esta variante se han identificado 85 alteraciones en todo el gen: delecciones, mutaciones que llevan a un corrimiento del marco de lectura o mutaciones sin sentido.³³ En la revisión hecha por Castaman, *et al.*, consideraron que la mutación 2680 del C terminal o R2535X era más frecuente al norte de Europa debido a que la región codificante del FVW contiene 11 codones CGA (arginina), por lo que los dinucleótidos CG se convierten en puntos calientes para sufrir cambio de C a T lo que produce un codón de paro (UGA).³ Este tipo de mutaciones han sido informadas en los exones 9, 28, 32 y 45 y una eliminación que abarca los exones 26-34 y 27 en mutaciones sin sentido.³³

DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD

Dado que la biosíntesis y el procesamiento del FVW son eventos muy complejos puede haber alteraciones en los diferentes loci involucrados, que pudieran resultar en fenotipos semejantes a EVW, por lo

que se tiene que ser muy cuidadoso en el diagnóstico.⁴¹

La enfermedad debe sospecharse en cualquier paciente con una historia familiar de hemorragias con un patrón de herencia autosómica, por lo que es muy importante documentar la historia familiar, aunque hay que considerar que la hemorragia no es un síntoma específico, pues puede tener diferentes causas.⁴² Aunque se ha informado que la EVW tipo 1 es la forma más común de la enfermedad, en la práctica su diagnóstico es muy difícil de realizar porque los valores de laboratorio de un paciente pueden parecerse a los valores considerados normales.⁴³ Regularmente la interpretación de los valores de laboratorio en el diagnóstico de la enfermedad es difícil de hacer y muchas veces no se puede hacer una clasificación de la enfermedad que afecta a un paciente;³³ además de que variables como el ejercicio, el tabaquismo, enfermedad subyacente, fármacos y el embarazo pueden modificar los niveles del FVW.⁴⁴

Las pruebas básicas en el diagnóstico son la cuenta de plaquetas (CP) que es usualmente normal, aunque la trombocitopenia ligera puede observarse en pacientes con tipo 2B, el tiempo de hemorragia (TH) usualmente es prolongado, pero puede estar normal en pacientes con formas leves de la enfermedad como ocurre en el tipo 1. El tiempo de protrombina (TP) es normal y el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa) puede estar prolongado de acuerdo a la concentración del FVIII. El FVW: Antigénico (FVW:Ag) y la actividad del cofactor ristocetina (FvW:RCO), estudios adicionales como la agregación plaquetaria inducida por ristocetina (RIPA) y el estudio de los multímeros, permiten caracterizar a la EVW para un tratamiento apropiado. La capacidad de unión a la colágena (FVW:CB%) puede encontrarse disminuida a normal en la variante 1.^{43,45,46} Las principales pruebas utilizadas en el diagnóstico se observan en el cuadro 1.

Asesoramiento genético en la EVW

El asesoramiento del riesgo de EVW requiere que se determine si una familia está afectada por una variante dominante o recesiva. Para las familias afectadas con formas graves de la enfermedad, el asesoramiento es el mismo que en un desorden con carácter recesivo. Es importante documentar las metrorragias recurrentes porque éstas pueden llegar a ser muy graves, sobre todo en mujeres embarazadas en quienes aumenta el riesgo de sufrir hemorragias al momento del parto.⁴⁷

El gen es altamente polimórfico por lo que en los estudios genéticos diagnósticos se utilizan a más de

Cuadro 1. Descripción de las variantes de la EVW, pseudo EVW y Hemofilia. La clasificación de la Sociedad Internacional de Hemostasia y Trombosis agrupa en 3 variantes (números arábigos) las más de 20 subvariantes (números romanos) de la EVW. Se observan los valores de las principales pruebas de laboratorio en el diagnóstico de la enfermedad.

Diagnóstico Normal	Definición	Herencia	Subvariantes	FVIII % 50-100	FVW: Ag% 50-100	FVIII:RCo % 50-100	FVW CB % 50-100
Tipo 1	Deficiencia parcial cuantitativa del FVW. Presencia de todos los multímeros	Autosómica dominante	I plaquetas normales, I plaquetas bajas, IA y I-1 I-2 y I-3	Bajo ↔ Normal	Bajo ↔ Normal	Bajo ↔ Normal	Bajo ↔ Normal
Tipo 2A	Disminución de la función de plaquetas con ausencia de multímeros de elevado peso molecular. -2A. Alteraciones en el transporte y secreción de multímeros. -2B. Plaquetas discordantes -2C. Defecto en la multimerización -2D. Defecto en la dimerización	Autosómica dominante	IIA, IB, I plaquetas discordantes, IIC, IID, IIE, IIF, IIG, IIH, II1, IIA-1, IIA-2, IIA-3	Bajo ↔ Normal	Bajo ↔ Normal	Bajo	Bajo
Tipo 2B	Afinidad incrementada del FVW con Gplb. asociado a trombocitopenia, especialmente después de administrar desmopresina -2B. New York, Mälmo	Autosómica dominante	IIB, I New York, Mälmo	Bajo ↔ Normal	Bajo ↔ Normal	Bajo	Bajo
Tipo 2M	Función del FVW dependiente de plaquetas disminuida con la presencia de grandes multímeros. No hay ausencia de multímeros de elevado peso molecular -B Vicenza	Autosómica dominante	B, I Vicenza, IC y ID	Bajo ↔ Normal	Bajo ↔ Normal	Bajo	Bajo a medio pero más alto que FVIII:RCo
Tipo 2N	Disminución de la afinidad del FVW por el FVIII -Normandía	Autosómica recesiva	Defecto de unión a FVIII Tipo Normandía	Bajo	Bajo ↔ Normal	Bajo ↔ Normal	Bajo ↔ Normal
Tipo 3	Deficiencia completa del FVW	Recesiva homocigota o doblemente heterocigota	III	Muy bajo	Indetectable	Indetectable	Indetectable
Pseudo EVW	Sin defecto en el FVW Desorden en las plaquetas con una afinidad incrementada del FVW por Gplb. Puede haber trombocitopenia	Dominante		Bajo ↔ Normal	Bajo ↔ Normal	Bajo	
Hemofilia	Pueden estar alterados los niveles de FVW	Ligado a IX		< 1	50-100	50-100	50-100

Ref. 43,45,46

40 marcadores, de los cuales el más informativo es el repetido de tetranucleótidos del intrón 40 con cerca de 98 alelos, también utilizado en el diagnóstico prenatal.⁴⁸ La secuenciación de polimorfismos también es utilizada para confirmar el diagnóstico. Finalmente, con el diagnóstico preciso es factible proporcionar el mejor tratamiento a los pacientes, conocer el riesgo de la enfermedad y proporcionar un adecuado asesoramiento genético.

Perspectivas

La EVW es muy difícil de diagnosticar, por lo que se necesita realizar todas las pruebas básicas de hemostasia que sólo pueden realizarse en un hospital de tercer nivel, que también debe tener implementado la prueba de patrón de multímeros de alta resolución, prueba muy importante para poder determinar los subtipos de la variante tipo 2.⁴⁹

Dado que hay un gran número de mutaciones que han sido informadas para VWF y a la complejidad que implica el estudio completo del gen es difícil realizar la búsqueda de alguna mutación en particular. Pero el conocimiento de la localización del defecto a nivel proteico nos indica la actividad del factor que ha sido alterada, especialmente en las variantes cualitativas de la enfermedad. En el estudio molecular de VWF en pacientes mexicanos no relacionados con EVW se encontraron los cambios P812L, S1287F, R1308P, E1447Q, R1597L, G1609R, S1613P, I1628T y P2781S relacionados directamente con la deficiencia en alguna actividad de la proteína [Melo-Nava, *et al.*, 2007].⁵⁰ De esta manera se propone que el diagnóstico genético directo puede ser una opción para las variantes cualitativas, mientras que en las cuantitativas los estudios de hemostasia e inmunológicos supondrían una alternativa para el diagnóstico de portadores, especialmente en los casos de alta penetrancia.

El presente trabajo se realizó con el apoyo del Instituto Mexicano del Seguro Social, a través del Fondo para el Fomento a la Investigación 2002/718/0022 a RP.

REFERENCIAS

1. Von Willebrand E. Hereditar pseudohemofili. *Finska Lakar. Hand* 1926; 68: 87-112.
2. Federici A. The factor VIII/von Willebrand Factor complex: basic and clinical issues. *Haematologica* 2003; 88: 3-12.
3. Castaman G, Federici A, Rodeghiero F, Mannucci P. Von Willebrand's disease in the year 2003: towards the complete identification of gene defects for correct diagnosis and treatment. *Haematologica* 2003; 88: 90-108.
4. Zimmerman T, Ruggeri Z. Von Willebrand's disease. *Clin Haemat* 1983; 12: 1.
5. Sadler J. A revised classification of von Willebrand disease. *J Thromb Haemost* 1994; 71: 520-5.
6. Berntorp E, Ölundarson P. Prevalence of von Willebrand disease in the Nordic Region. *Haematologica* 2005; 1: 4-6.
7. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Resultados del II Censo de población y vivienda 2005. México, D. F. INEGI; 2005.
8. Ambríz R. Enfermedad de von Willebrand informe de 60 casos de 24 familias en México; *Rev Med IMSS* 1984; 22: 241-7.
9. Benítez H, Fernández G, López A, Nieva B, Shum L, Rodríguez M, Trejo J, Bernáldez R. Gravedad del sangrado y su asociación con las distintas variantes de la enfermedad de von Willebrand en pacientes pediátricos. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 2004; 61: 297-306.
10. Mancuso D, Tuley E, Westfield L, Worral N, Shelton B, Sorace J, Avelly Y, Sadler J. Structure of the gene for human von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1989; 264: 19514-27.
11. Collins C, Underdahl J, Levene R, Ravera C, Morin M, Dombagalian J, Ricc G, Livingston D, Lyncj D. Molecular cloning of the human gene for von Willebrand factor and identification of the transcription initiation site. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 4394-7.
12. Wang X, Peng Y, Ma Y, Jahroudi N. Histone H1-like protein participates in endothelial cell-specific activation of the von Willebrand factor promoter. *Blood* 2004; 104: 1725-32.
13. Mancuso J, Tuley A, Westfield A. Human von Willebrand factor gene and pseudogene: structural analysis and differentiation by polymerase chain reaction. *Biochemistry* 1991; 30: 253-69.
14. Ruggeri Z, Ware J. Von Willebrand factor. *FASEB J* 1993; 7: 308-16.
15. Ginsburg D. The molecular biology of von Willebrand disease. *Haemophilia* 1999; 5: 19-27.
16. Jenkins V, Pasi J, Perkins S. Molecular modeling of ligand and mutation sites of the type A domains human von Willebrand factor and their relevance to von Willebrand's disease. *Blood* 1998; 6: 2032-44.
17. Enayat M, Guilliat A, Surdhar, Hill H. A new candidate missense mutation (Leu 1657 Ile) in an apparently asymptomatic type 2A (phenotype IIA) von Willebrand disease family. *J Thromb Haemost* 2000; 84: 369-73.
18. Turecek P, Pichler L, Auer W, Eder G, Varadi K, Mitterer A, Mundt W, Schlokot U, Dörner F, Drouet L, Rousi J, van Mourik J, Schwarz H. Evidence for extracellular processing of Pro-von Willebrand Factor after infusion in animals with and without severe von Willebrand disease. *Blood* 1999; 94: 1637-47.
19. Bowen D, Collins P. An amino acid polymorphism in von Willebrand factor correlates with increased susceptibility to proteolysis by ADAMTS-13. *Blood* 2004; 103: 941-7.
20. Ruggeri Z, Zimmerman T. The complex multimeric composition of FVIII/ von Willebrand Factor. *Blood* 1981; 57: 1140-3.
21. Schmugge M, Rand L, Bang W, Mody M, Dunn S, Amankwah S, Blanchette S, Freedman J. The relationship of von Willebrand factor binding to activated platelets from healthy neonates and adults. *Pediatr Res* 2003; 54: 474-9.
22. Cruz M, Chen J, Whitelock J, Morales L, Lopez J. The platelet glycoprotein Ib-von Willebrand Factor interaction activates the collagen receptor alpha 2 beta1 to bind collagen: activation-dependent conformational change of the alpha2-I domain. *Blood* 2005; 105: 1986-91.
23. Oury C, Sticker E, Cornelissen H, De Vos R, Vermynen J, Hoyaerts M. ATP augments von Willebrand factor-dependent shear-induced platelet aggregation through Ca²⁺-calmodulin and myosin light chain kinase activation. *J Biol Chem* 2004; 279: 26266-73.
24. Andrews R, Berndt M. Platelet physiology and thrombosis. *Thromb Res* 2004; 114: 447-53.

25. Resendiz J, Feng S, J, Kroll M. von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib-IX-V stimulates the assembly of an alpha-actinin-based signaling complex. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 161-9.
26. Canobbio I, Reineri S, Sinigaglia F, Balduini C, Torti M. A role for p38 MAP kinase in platelet activation by von Willebrand factor. *J Thromb Haemost* 2004; 91: 102-10.
27. Komiya T, Negoro N, Kondo K, Miura K, Hirota Y, Yoshikawa J. Clinical significance of von Willebrand factor in patients with adult dermatomyositis. *Clin Rheumatol* 2005; 24: 352-7.
28. Ingerslev J. Von Willebrand's disease-is a new classification system required? *Haematologica* 2005; 1: 38-41.
29. Keeney S, Cumming A, Hay C. Mutations in von Willebrand Factor multimerization domains are not a common cause of classical type 1 von Willebrand disease. *J Thromb Haemost* 1999; 82: 1446-50.
30. Tjernerberg P, Vos H, Castaman G, Bertina RM, Eikenboom J. Dimerization and multimerization defects of von Willebrand factor due to mutated cysteine residues. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 257-65.
31. O'Brien L, James P, Othman M, Berber E, Cameron C, Notley C, Hegadorn C, Sutherland J, Hough C, O'Shaunessey D. Founder vonWillebrand factor haplotype associated with type 1 vonWillebrand disease. *Blood* 2003; 102: 549-57.
32. Hashemi M, Peake I, Goodeve A, Rodeghiero F, Castaman G, Federici A, et al. The incidence and penentrance of common VWF gene mutations in a cohort of type 1 VWD patients. Results from the EU funded MCMDM-1VWD Project. *J Thromb Haemost* 2005; 3(Supp 1): 1469a.
33. Base de datos de VWF por la Universidad de Sheffield. UK: 2004. <http://www.vwf.group.shef.ac.uk/>
34. Gill J, Endres J, Bauer P, Marks W, Montgomery R. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood* 1987; 69: 1691-5.
35. Goodeve A. Genotypic classification of von Willebrand disease. *Hematologica* 2005; 1: 16-19.
36. Lillicrap D. The basic science, diagnosis, and clinical management of von Willebrand disease. Treatment of Hemophilia. Word Federation of Hemophilia. 2004; no 35, pp 1-12. [consulta 13 octubre 2006] Disponible en internet <http://www.wfh.org/2/docs/Publications/VWD_WomenBleedingDisorders/TOH-35_English_VWD.pdf
37. Cooney K, Nichols W, Bruck M, Bahou W, Shapiro A, Bowle W, et al. The molecular defect in type IIB von Willebrand disease. *J Clin Invest* 1991; 81: 1226-33.
38. Randi A, Rabinowitz I, Mancuso D, Mannuci P, Sadler E. Molecular basis of von Willebrand disease type IIB. *J Clin Invest* 1991; 87: 1220-26.
39. Hillery C, Mancuso D, Sadler E, Ponder J, Jozwiak M, Christopherson P, et al. Type 2M von Willebrand disease: F606I and I662F Mutations in the glycoprotein Ib binding domain selectively impair ristocetin but not botrocetin-mediated binding of von Willebrand factor to platelets. *Blood* 1998; 91: 1572-81.
40. Peng Y, Jahroudi N. The NFY transcription factor inhibits von Willebrand factor promoter activation in non-endothelial cells through recruitment of histone deacetylases. *J Biol Chem* 2003; 278: 8385-94.
41. Nichols W, Lyons S, Harrison J, Cody R, Ginsburg D. Severe von Willebrand disease due to a defect at the level of von Willebrand factor mRNA expression: Detection by exonic PCR-restriction fragment length polymorphism analysis. *Proc Nat Acad Sci USA* 1991; 88: 3857-61.
42. Sadler E. Von Willebrand disease type 1: a diagnosis in search of a disease. *Blood* 2003; 101: 2089-93.
43. Budde U, Drewke E, Mainusch K, Schneppenheim R. Laboratory diagnosis of congenital von Willebrand disease. *Sem Thromb Hemost* 2002; 28: 173-89.
44. Jiménez R. Actualidades en el diagnóstico y la clasificación de la enfermedad de von Willebrand. *Gac Med Mex* 2002; 138: 55-7.
45. Schneppenheim R, Budde U, Obster T, Brassard J, KerstinM, Ruggeri M, et al. Expression and characterization of von Willebrand factor dimerization defects in different types of von Willebrand disease. *Blood* 2001; 97: 2059-66.
46. Kasper C. Von Willebrand disease. An introductory discussion for young physicians. ISTH SSC Publications 2005, pp 1-57. [consulta 13 octubre 2006] Disponible en internet http://www.med.unc.edu/wrkunits/journals/isth/publications/vwd_monograph/VWD_monograph_2005.pdf
47. Paper R. Gynecological complications in women with bleeding disorders. Treatment of Hemophilia. Word Federation of Hemophilia. 2004; no 5, pp 1-8. [consulta 13 octubre 2006]. Disponible en internet http://www.wfh.org/2/docs/Publications/VWD_WomenBleedingDisorders/TOH_English_gynecological.pdf
48. Ni X, Guo J, Xia J, Li L. Prenatal determination of a variable number of tandem repeats in intrón 40 of the von Willebrand Factor gene from maternal peripheral blood using the Polymerase Chain Reaction. *Hum Hered* 2000; 50: 201-4.
49. Majluf-Cruz A, Jaloma-Cruz AR, Martínez C, Quintana GS, Ambriz-Fernández R. Cap 5. Panorama de la hemofilia y trastornos hemorrágicos hereditarios en México. En Hematología. Actualización 2005. Góngora-Bianchi RA Editor. Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología. México; 2005: 72-81.
50. Melo-Nava BM, Benítez H, Palacios J, Nieva B, Arenas D, Jaloma-Cruz R, et al. Molecular study of VWF gene from Mexican Mestizo patients with von Willebrand disease, and the finding of three new mutations, and the finding of three new mutations. *Blood Cells Mol Dis* 2007 Aug; 1 (Epub ahead of print).

Reimpresos:

Bióloga Brenda Melo-Nava

Unidad de Investigación Médica en Genética Humana
Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS
Coahuila No. 5. Col. Roma
A.P.E.-014
06700 México, D.F.
Tel.: 5627-6941
Correo electrónico: icewind_@hotmail.com

Recibido el 17 de julio de 2006.
Aceptado el 13 de junio de 2007.