

## Algoritmo diagnóstico para la enfermedad de von Willebrand (EvW) en población mexicana

María Guadalupe Zavelia Padilla-Romo<sup>1,2</sup> y Ana Rebeca Jaloma-Cruz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>División de Genética, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Guadalajara, Jal., México;

<sup>2</sup>Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jal., México

### Resumen

El diagnóstico de la EvW es complejo, pues requiere diversas pruebas para su escrutinio y confirmación, como el análisis de multímeros del factor de von Willebrand (FvW), considerado el estándar de oro para la subtipificación de la EvW, aunque sólo discrimina el subtipo 2A; las variantes 2B, 2M y 2N requieren pruebas complementarias para su confirmación definitiva, incluido el diagnóstico genético. Es importante considerar el hemotipo de los pacientes para el diagnóstico de EvW, particularmente en México, con población predominante de grupo sanguíneo O que presenta una disminución del 20-25% del FvW plasmático y mayor tendencia hemorrágica.

**PALABRAS CLAVE:** Enfermedad de von Willebrand. Pruebas diagnósticas y complementarias. Diagnóstico genético. Grupo sanguíneo. Población mexicana.

### Abstract

The diagnosis of von Willebrand disease (vWD) is complex and requires several screening and confirmation tests, such as the analysis of vWF multimers, which is considered the gold standard for vWD subtyping; however, it only discriminates 2A subtype while the 2B, 2M, and 2N subtypes require additional tests and even genetic testing for final confirmation. It is important to consider the patients' hemotype for the vWD diagnosis, particularly in Mexico where hemotype "O" predominates and may entail a 20-25% decreased level of plasma vWF and increased bleeding tendency. (Gac Med Mex. 2015;151:399-402)

**Corresponding author:** Ana Rebeca Jaloma Cruz, arjaloma@gmail.com

**KEY WORDS:** Von Willebrand disease. Diagnostic and complementary tests. Genetic testing. Blood group. Mexican population.

## Generalidades de la EvW

La EvW es el trastorno hemorrágico hereditario más frecuente, con una prevalencia mundial del 1%,

y es el resultado de defectos cuantitativos o cualitativos del FvW. A pesar de su alta frecuencia, muchos casos de EvW permanecen sin diagnóstico o se clasifican de forma errónea como hemofilia leve o moderada, debido a la complejidad y alto costo de las pruebas diagnósticas, así como a las características propias de la enfermedad. Por ejemplo, una disminución del 20-25% del FvW plasmático, que ocurre normalmente en individuos con grupo sanguíneo O, podría enmascarar una EvW cuantitativa leve. Por lo

#### Correspondencia:

\*Ana Rebeca Jaloma Cruz  
División de Genética  
Centro de Investigación Biomédica de Occidente  
Instituto Mexicano del Seguro Social  
Sierra Mojada, 800  
Col. Independencia, C.P. 44340, Guadalajara, Jal., México  
E-mail: arjaloma@gmail.com

Fecha de recepción en versión modificada: 07-11-2014

Fecha de aceptación: 08-12-2014

tanto, el grupo sanguíneo es un rasgo que debe considerarse, sobre todo en México, donde el hemotipo O tiene una frecuencia del 82% en población mestiza abierta<sup>1</sup>.

Esta breve revisión pretende integrar las recomendaciones internacionales y la experiencia de trabajos nacionales recientes para proponer un algoritmo diagnóstico de EvW enfocado en las características de nuestra población.

### Diagnóstico por pruebas de escrutinio y confirmatorias

La sospecha de EvW comienza con un historial de hemorragias (característicamente mucocutáneas) en el paciente y/o en los familiares, junto con pruebas de coagulación (tiempo de tromboplastina parcial, tiempo de protrombina, fibrinógeno, tiempo de sangrado de Ivy [TS], plaquetas). Si bien estas pruebas de escrutinio no diagnostican la EvW, son necesarias porque pueden apoyar su sospecha y/o descartar otros trastornos de coagulación<sup>2</sup>. Según la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH), se requiere tener al menos dos síntomas hemorrágicos simultáneos en ausencia de transfusión sanguínea, un síntoma por el que se haya recibido transfusión o un síntoma recurrente en al menos tres ocasiones distintas para que la tendencia hemorrágica se considere significativa y sospechosa de EvW<sup>3</sup>.

El siguiente paso consiste en realizar pruebas confirmatorias, incluyendo la medición del factor VIII coagulante (FVIII:C), la evaluación de la función del FvW (comúnmente mediante la prueba de aglutinación de plaquetas por ristocetina, o FvW:RCo) y la evaluación del antígeno del FvW (FvW:Ag). La relación de los valores de los dos últimos parámetros permite establecer el diagnóstico y clasificar la EvW como deficiencia cuantitativa (tipos 1 y 3) o cualitativa (tipo 2)<sup>2</sup>. Dada la amplia variación de la concentración plasmática del FvW debida a diversos factores fisiológicos y ambientales, con el fin de evitar sesgos en la relación FvW:RCo/FvW:Ag, es importante efectuar dichas mediciones en muestras obtenidas en una misma toma. Cabe subrayar que, a pesar de su disponibilidad en las instituciones de seguridad social, la poca resolución de la prueba FvW:RCo implica extremar las precauciones en su interpretación. Así, se recomienda repetir dicha prueba en caso de discordancia diagnóstica, es decir, cuando la relación de FvW:RCo/FvW:Ag no concuerde con la verificación realizada por el patrón de multímeros<sup>4</sup>.

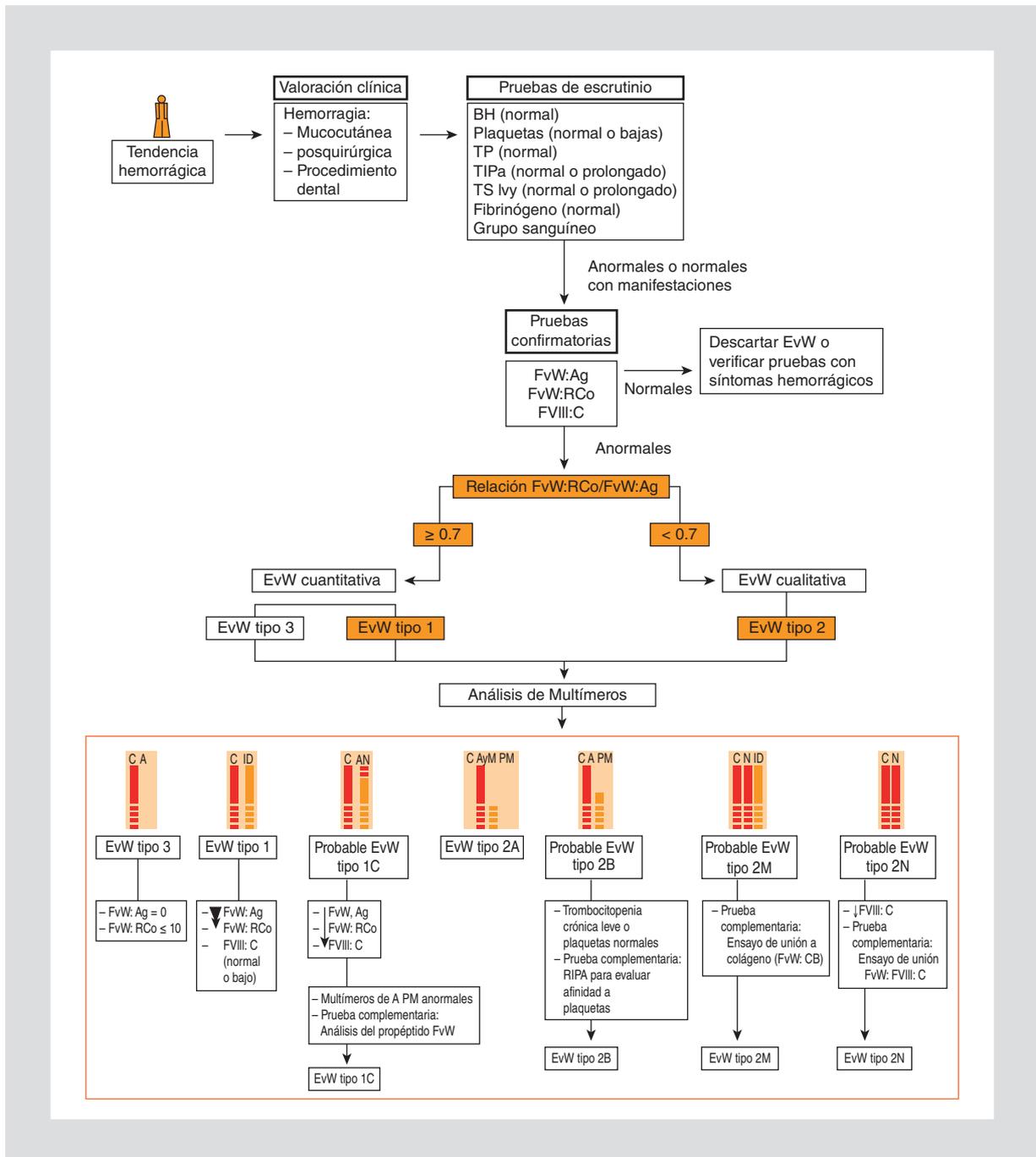
### Análisis de multímeros del FvW

El análisis de multímeros del FvW es considerado como el estándar de oro para la subtipificación de la EvW, ya que permite la definición de las variantes cuantitativas de la EvW a baja resolución y de las cualitativas 2A, 2B, 2M y 2N a alta resolución al separar en detalle los multímeros de bajo peso molecular<sup>2</sup>. Si bien este estudio está dirigido a la identificación de algunas variantes de la EvW tipo 2 con la alteración en la estructura de los multímeros, también permite confirmar algunos casos de tipo 1 (leve a grave) con las debidas consideraciones a los resultados de las pruebas de escrutinio y confirmatorias. Recomendamos el empleo de *pools* del grupo sanguíneo correspondiente a cada paciente para tener un control normal acorde con el hemotipo específico, ya que el patrón de intensidad disminuida propio de sujetos normales con grupo sanguíneo O puede confundirse con EvW tipo 1 leve de individuos con grupos sanguíneos no O<sup>4</sup>. El subtipo 2A, caracterizado por un patrón de multímeros con ausencia de agregados de peso molecular medio y alto, es la única variante que puede discriminarse directa y claramente mediante el ensayo de multímeros.

### Pruebas complementarias para el diagnóstico

Las pruebas complementarias para la confirmación de los subtipos de EvW son fundamentales en la estrategia diagnóstica (se observará entonces que la prueba de multímeros está lejos de ser el estándar de oro). Cuando un paciente presenta un valor drásticamente disminuido de FVIII (generalmente entre el 1 y el 10%), tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) alargado y hemartrosis, probablemente se trate de la variante de EvW tipo 2N (Normandía), en la cual existe un defecto de unión entre el FvW y el FVIII, pero un patrón de multímeros normal<sup>4</sup>. Ya que este último hallazgo también es propio de la EvW tipo 2M, la prueba no es capaz de discriminar ambas variantes<sup>4</sup>, por lo que el valor francamente disminuido del FVIII:C marca la pauta para distinguir estos subtipos.

Morales-De la Vega, et al. (2008) identificaron algunos casos de EvW tipo 2N en población mexicana diagnosticados previamente como hemofilia A leve<sup>5</sup>. Utilizaron la prueba de afinidad de enlace FVIII/FvW para confirmar el diagnóstico. La población del estudio estuvo formada por 30 pacientes: 25 con diagnóstico de hemofilia A leve o moderada y 5 con sospecha de EvW. Se reclasificaron 3 (~10%) pacientes con diagnóstico previo de hemofilia A como EvW tipo 2N.



**Figura 1.** Algoritmo de diagnóstico de la EvW. Es recomendable el empleo de un control (C) para el análisis de multímeros con un pool de plasmas de acuerdo con el grupo sanguíneo del paciente. En la EvW tipo 1 los valores de FvW:Ag y FvW:RCo pueden variar de normales (EvW tipo 1 leve) a muy disminuidos (EvW tipo 1 grave). N: patrón de multímeros normal; ID: intensidad disminuida (de leve a grave) del patrón de multímeros; A: ausencia completa de multímeros; AN: multímeros de alto peso molecular anormales; A y M PM: ausencia de los multímeros de alto y mediano peso molecular; A PM: ausencia de los multímeros de alto peso molecular.

La EvW 2B presenta un patrón de multímeros con ausencia de agregados de alto peso molecular; sin embargo, por variaciones en las condiciones del corrimiento electroforético, puede confundirse con el patrón del subtipo 2A. Para confirmar esta variante, debe

considerarse si hay trombocitopenia leve y, además, hay que complementar el análisis de multímeros con el ensayo de agregación con ristocetina (RIPA) a muy baja concentración ( $< 6$  mg/ml). Aunque normalmente no hay unión a las plaquetas, en pacientes con EvW

2B caracterizados por mutaciones en el dominio del FvW de unión a las plaquetas, se observa una afinidad incrementada al receptor plaquetario GP 1bA (glicoproteína 1b $\alpha$ ) (GP 1b $\alpha$ )<sup>2</sup>. Cabe destacar que la pseudo-EvW o EvW tipo plaquetario también presenta afinidad incrementada a la ristocetina, pero es debida a mutaciones en GP 1b $\alpha$ <sup>2</sup>, y muestra un patrón de multímeros semejante a la EvW 2B; por lo tanto, se requiere un ensayo de plasmas cruzados para discriminar tales variantes y el diagnóstico genético como prueba definitiva<sup>2</sup>.

El ensayo de unión a colágeno (CB) mide la afinidad de grandes multímeros de FvW al colágeno tipo I, III o IV, y representa otra manera de medir la actividad funcional de la molécula sin el uso de ristocetina. La prueba es útil para diferenciar el tipo 2M de la EvW tipo 1 leve, ambos con patrones multiméricos y CB normales, pero con la relación FvW:RCo/FvW:Ag disminuida (< 0.7) sólo en la EvW 2M.

El análisis del propéptido FvW permite conocer la velocidad con la que el FvW es eliminado de la circulación sanguínea. Branchford, et al.<sup>3</sup> señalan que la rápida eliminación del FvW de la circulación, secundaria a las mutaciones de la EvW tipo 1, tiene implicaciones terapéuticas, ya que tales pacientes presentan una respuesta inicial vigorosa; sin embargo, la concentración sanguínea del FvW tiende a disminuir precipitadamente en un periodo de 3 h. Dichos pacientes pueden ser identificados cuando la proporción normal de FvW:Ag sintetizado y de propéptido (1:1) se ve alterada a favor del propéptido, dato que indica un aumento del aclaramiento del FvW y permite diagnosticar la EvW tipo 1 C o Vicenza<sup>3</sup>.

## Diagnóstico genético

El diagnóstico genético de la EvW es complejo debido a la dificultad de identificar la mutación causal en el gen *FvW*, que mide 178 kb y contiene 52 exones; además, la presencia de un pseudogén altamente polimórfico en el cromosoma 22 puede causar confusión al obtener e interpretar los datos de secuenciación<sup>3</sup>. Como las mutaciones y los SNP no sólo afectan a la cantidad del FvW, sino también a su función y dominios de CB, plaquetas, endotelio, FVIII:C, etc., se explica entonces el amplio efecto pleiotrópico en el fenotipo, que ha condicionado que el diagnóstico genético se realice primordialmente como investigación básica y de forma muy restringida con fines asistenciales<sup>3</sup>.

Con el fin de optimizar el diagnóstico, debemos considerar que los exones 18, 19, 20, 28, 45 y 52 del gen *FvW* son sitios pronos a presentar mutaciones<sup>1</sup>, por lo que el diagnóstico molecular puede centrarse inicialmente en estas regiones. Otra estrategia es la búsqueda dirigida de mutaciones por dominio específico, de acuerdo con el diagnóstico clínico y laboratorial antes descrito y partiendo del subtipo de la EvW que podría indicar los dominios proteicos involucrados. Así, podremos proporcionar un asesoramiento genético rápido, certero y de menor costo.

Algunos casos diagnosticados con el tamizaje antes descrito requieren adicionalmente el diagnóstico genético, como cuando se pretende discriminar la variante de EvW 2B de la EvW tipo plaquetario, o bien cuando se requiere confirmar el diagnóstico, como en la EvW 2 Normandía<sup>3</sup>. Asimismo, pueden encontrarse pacientes heterocigotos compuestos con mutaciones de distinto subtipo que dificulten la interpretación de las pruebas de análisis proteico.

Sin duda alguna, el esfuerzo por realizar el análisis del gen *FvW* ha arrojado un alto número de mutaciones y polimorfismos que han sido de gran utilidad para comprender en parte la compleja función y estructura del FvW. Con las consideraciones anteriores y de acuerdo con el complejo abordaje clínico y laboratorial que requiere el diagnóstico de la EvW, se sugiere el algoritmo de diagnóstico ilustrado en la figura 1.

## Agradecimientos

María Guadalupe Zavelia Padilla Romo ha recibido una beca del IMSS, con número de becario 2013-008, y otra del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, con registro 267218, para la realización de su trabajo doctoral relacionado con el tema de esta revisión.

Agradecemos al Dr. Horacio Rivera Ramírez sus aportaciones en la redacción del manuscrito.

## Bibliografía

1. Melo-Nava BM, Benitez H, Palacios JJ, Nieva B, Arenas D, Jaloma-Cruz AR, et al. Molecular study of VWF gene from Mexican Mestizo patients with von Willebrand disease, and the finding of three new mutations. *Blood Cells Mol Dis*. 2007;39(3):361-5.
2. Favaloro EJ. Diagnosis and classification of von Willebrand disease: a review of the differential utility of various functional von Willebrand factor assays. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2011;22(7):553-64.
3. Branchford BR, Di Paola J. Making a diagnosis of VWD. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:161-7.
4. Majluf-Cruz A, Velez-Ruelas MA, Gonzalez-Avila AI, et al. von Willebrand's disease in Mexico: a pilot study. *Haemophilia*. 2013;19(2):231-5.
5. Morales-De la Vega A, Reyes-Maldonado E, Martínez-Murillo C, Quintana-González S. [Type 2N von Willebrand disease (Normandy)]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2008;46(1):55-62.