

11218

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**



FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACION 3 SUROESTE DEL DISTRITO FEDERAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
DR. BERNARDO SEPULVEDA G.
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

**FRECUENCIA DE LOS DIFERENTES TIPOS Y SUBTIPOS DE
ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND EN EL HOSPITAL DE
ESPECIALIDADES DE CENTRO MEDICO NACIONAL
SIGLO XXI**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE LA
ESPECIALIDAD EN HEMATOLOGIA**

P R E S E N T A :

DRA. MIREYA LETICIA PORTILLO GARCIA

ASESORES: DR. LUIS ANTONIO MEILLON GARCIA

DRA. SUE CYNTHIA GOMEZ CORTES



IMSS

MEXICO, D.F.

FEBRERO 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

REGISTRO NACIONAL DE TESIS DE ESPECIALIDAD

Delegación: 3 suroeste México DF. Unidad de adscripción HE CMN Siglo XXI.

Autor:

Apellido Paterno Portillo Materno García Nombre Mireya Leticia.

Matrícula 99080028 Especialidad Hematología Fecha Grad. / /

Asesor:

Apellido paterno Meillón Materno García Nombre Luis Antonio

Matrícula 7346867 Especialidad Hematología Registro 030103

Apellido paterno Gómez Materno Cortés Nombre Sue Cynthia

Matrícula 8023778 Especialidad Hematología Registro 038103

Título de la Tesis:

FRECUENCIA DE LOS DIFERENTES TIPOS Y SUBTIPOS DE ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI

Resumen:

La enfermedad de von Willebrand (EvW) es el desorden hemorrágico más frecuente, se caracteriza por sangrados principalmente a nivel de mucosas. El diagnóstico y clasificación de la EvW se realiza a través del cuadro clínico, historia familiar y alteraciones en las siguientes pruebas de laboratorio: tiempo de hemorragia, cuenta de plaquetas, agregometría plaquetaria con ristocetina, actividad del F VIII, concentración del antígeno del FvW, actividad del cofactor de ristocetina, análisis de los multímeros del FvW. En el presente trabajo se determinó la frecuencia de los diferentes tipos de EvW, así como las alteraciones de laboratorio que se presentan con más frecuencia en relación a dicha patología en la población del hospital de Especialidades CMN SXXI. Se estudio una población de 115 pacientes, los cuales acudieron al laboratorio de coagulación especial con sospecha de enfermedad hemorrágica, de 1997 al 2003, se les realizó una encuesta acerca de manifestaciones clínicas de hemorragia, antecedentes familiares de sangrado y se analizaron sus resultados de laboratorio, de acuerdo a lo anterior se aisló la población con alta probabilidad de EvW, en total 26 individuos, 18 mujeres y 8 varones. El rango de edad fue de 18 a 53 años. Los grupos sanguíneos fueron O (19 pacientes) y el resto grupo A (7 pacientes). Las principales manifestaciones de hemorragia fueron epistaxis, equimosis, gingivorragia y hemorragia post quirúrgica. En cuanto a alteraciones en los exámenes de laboratorio se encontró prolongación del TTP y del tiempo de hemorragia en el 84.6% de los pacientes. En el 69.2% de la población se encontró F VIII disminuido y la RIPA (agregometría plaquetaria con ristocetina) disminuida en el 30%. Se concluyó la siguiente distribución en los diferentes tipos EvW: 88% pacientes con EvW tipo 1, 7.6% tipo 2 y 3.8% tipo 3. Se estudio además un grupo control, compuesta de 24 individuos, aparentemente sanos. 8.3% de los individuos presentaron prolongación en TTP, 4% tiempo de hemorragia prolongado y 16.6% presentó F VIII inferior al rango normal.

Palabras clave

1) Enfermedad 2) von Willebrand 3) Factor von Willebrand
4) _____ 5) _____ Pags. _____ Ilus _____

(Anotar el número real de páginas en el rubro correspondiente sin las dedicatorias ni portada.)

Para ser llenado por el Jefe de Educación e Investigación Médica.

Tipo de Investigación: cl

Tipo de Diseño: cl

Tipo de Estudio: te3c

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: MIREYA LETILIA

PORTILLO GARCIA


FECHA: 26 febrero 2004

FIRMA: _____



SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

DR. ANTONIO CASTELLANOS OLIVARES
JEFE DE LA DIVISION DE
EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI



DR. LUIS ANTONIO MEILLÓN GARCÍA
PROFESOR TITULAR DEL
CURSO DE POSGRADO EN HEMATOLOGÍA
ASESOR DE TESIS
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI



DRA. SUE CYNTHIA GÓMEZ CORTÉS
ASESOR DE TESIS
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI

DELEGACION 3 SUROESTE D.F.
C.M.N. SIGLO XXI
IMSS HOSP. DE ESPECIALIDADES

RECIBIDO

24 FEB 2004

IV. EDUCACION E INVESTIG. MEDICA

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
OBJETIVOS.....	15
MATERIAL Y METODOS.....	16
SELECCIÓN DE MUESTRA.....	18
PROCEDIMIENTOS.....	19
ANALISIS ESTADITISCO.....	20
CONSIDERACIONES ETICAS.....	21
RECURSOS PARA EL ESTUDIO.....	21
RESULTADOS.....	22
DISCUSION.....	27
CONCLUSION.....	29
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	30
ANEXOS.....	32

AGRADECIMIENTOS

A MIS PADRES

Por su apoyo incondicional durante toda mi vida

A MI ESPOSO RAUL

Por la felicidad y motivación que le ha dado a mi vida

A MIS MAESTROS

Por su guía durante este camino

AL PERSONAL DE LABORATORIO

Por su apoyo durante estos años y por su ayuda para el desarrollo de este trabajo

RESUMEN

FRECUENCIA DE LOS DIFERENTES TIPOS Y SUBTIPOS DE LA ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND EN EL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DE CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.

Portillo GML, Meillón GLA, Gómez CSC.

Servicio Hematología. Hospital Especialidades CMN Siglo XXI, IMSS.

La enfermedad de von Willebrand (EvW) agrupa un conjunto heterogéneo de diversas enfermedades o alteraciones hemorrágicas de origen genético, que implica una alteración en la estructura, función o liberación del factor de von Willebrand (FvW). El FvW es una glucoproteína que participa en la hemostasia primaria al favorecer la adhesión y agregación plaquetaria, y en la hemostasia secundaria al estabilizar el F VIII de la coagulación y prolongar su vida media. La EvW es el desorden hemorrágico más frecuente, se caracteriza por sangrados principalmente a nivel de mucosas. La severidad de los síntomas varía en los miembros de una misma familia afectada y también en el mismo individuo en el transcurso del tiempo. La EvW se clasifica en 3 tipos, el tipo 1 y 3 son alteraciones cuantitativas y el tipo 2 son alteraciones cualitativas. El diagnóstico y clasificación de la EvW se realiza a través del cuadro clínico, historia familiar y alteraciones en las siguientes pruebas de laboratorio: tiempo de hemorragia, cuenta de plaquetas, agregometría plaquetaria con ristocetina, actividad del F VIII, concentración del antígeno del FvW, actividad del cofactor de ristocetina, análisis de los multímeros

del FvW. En el presente trabajo se determinó la frecuencia de los diferentes tipos de EvW, así como las alteraciones de laboratorio que se presentan con más frecuencia en relación a dicha patología en la población del hospital de Especialidades CMN SXXI. Se estudio una población de 115 pacientes, los cuales acudieron al laboratorio de coagulación especial con sospecha de enfermedad hemorrágica, de 1997 al 2003, se les realizo una encuesta acerca de manifestaciones clínicas de hemorragia, antecedentes familiares de sangrado y se analizo sus resultados de laboratorio, de acuerdo a lo anterior se aisló la población con alta probabilidad de EvW, en total 26 individuos, 18 mujeres y 8 varones. El rango de edad fue de 18 a 53 años. A ésta población se le realizo nuevamente un estudio completo que incluyo: biometría hemática, tiempos de coagulación, tiempo de sangrado, determinación de la actividad del F VIII, nivel de FvW antigénico, agregometría plaquetaria inducida por ristocetina, actividad de cofactor de ristocetina, multímeros de FvW. Los resultados obtenidos en nuestro grupo de estudio fueron: en relación a los grupos sanguíneos fueron en su mayoría O (19 pacientes) y el resto grupo A (7 pacientes). Los antecedentes familiares fueron positivos en el 53.8% de la población seleccionada. Las principales manifestaciones de hemorragia fueron epistaxis, equimosis, gingivorragia y hemorragia post quirúrgica. En cuanto a alteraciones en los exámenes de laboratorio se encontró prolongación del TTP y del tiempo de hemorragia en el 84.6% de los pacientes. En el 69.2% de la población se encontró F VIII disminuido y la RIPA (agregometría plaquetaria con ristocetina) disminuida en el 30%. Analizando las manifestaciones clínicas, antecedentes familiares y resultados de laboratorio se concluyo la siguiente distribución en los diferentes tipos EvW: 88%

pacientes con EvW tipo 1, 7.6% tipo 2 y 3.8% tipo 3. Se estudio además un grupo control, compuesta de 24 individuos, aparentemente sanos. 8.3% de los individuos presentaron prolongación en TTP, 4% tiempo de hemorragia prolongado y 16.6% presentó F VIII inferior al rango normal. Cabe mencionar que un individuo presento alteraciones de laboratorio compatibles con EvW.

CONCLUSIÓN: La EvW tipo 1 es la más frecuente. Las principales manifestaciones son sangrados a nivel de mucosas y varían de individuo a individuo y en el transcurso del tiempo. Las alteraciones en laboratorio también varían en resultado a diferentes tiempos, influyendo en los niveles de FvW el grupo sanguíneo (25% mas bajo en individuos del grupo O) y otras circunstancias (estrés, inflamación, etc); por lo anterior para que un individuo con antecedente de FvW bajo presente manifestaciones de hemorragia es necesario otros factores. La población aparentemente sana puede presentar niveles de FvW bajos sin traducción clínica y sin que esto signifique enfermedad de von Willebrand, presentándose dicha alteración en aproximadamente 1% de la población, reportado en la literatura y en nuestro grupo control se encontró en un 8.3%.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de von Willebrand (E_{VW}) agrupa a un conjunto heterogéneo de diversas enfermedades o alteraciones hemorrágicas de origen genético, heredadas de acuerdo a un patrón autosómico, ya sea dominante o recesivo, que implica una alteración en la estructura, función o liberación del factor de von Willebrand (F_{VW}). Es el desorden hemorrágico más frecuente, caracterizado principalmente por sangrados a nivel de mucosas, especialmente epistaxis y menorragias. Aunque una disminución en el F_{VW} detectada por laboratorio ocurre aproximadamente en el 1% de la población, menos del 10% de éste grupo presentan manifestaciones hemorrágicas secundarias a un F_{VW} disminuido. Se ha descrito que existen otros factores además del nivel de F_{VW} para que se presenten manifestaciones hemorrágicas. La severidad de los síntomas varía en los miembros de una misma familia afectada y también en el mismo individuo en el transcurso del tiempo. (1,2,17)

El factor de von Willebrand es una glucoproteína que se sintetiza en los megacariocitos y en las células endoteliales. El gen que la codifica se encuentra en el brazo corto del cromosoma 12; la proteína madura forma multímeros de diferentes tamaños y una vez sintetizada, se almacena en los gránulos alfa de las plaquetas y en los cuerpos de Weibel Palade de las células endoteliales. Bajo ciertos estímulos (trombina, calcio, fibrina, activador tisular del plasminógeno, adrenalina, vasopresina, etc.) dicha proteína se transporta hacia el plasma o al subendotelio. El F_{VW} participa en la hemostasia a través de 2 vías: 1) favorece la

adhesión y la agregación plaquetaria a superficies trombogénicas por su interacción con las glucoproteínas Ib/IX y IIb/IIIa de las plaquetas. 2) transporta al factor VIII (F VIII) de la coagulación y lo protege de la acción proteolítica plasmática, aumentando su vida media.(1)

La EvW fue descrita en 1926 por Eric von Willebrand, hematólogo finlandés, quien publicó un desorden hemorrágico hereditario en una familia del archipiélago Aland en el golfo de Bothnia. Los miembros de la familia presentaban prolongación en el tiempo de sangrado, pero tiempos de coagulación y conteo plaquetario sin alteración. Eric von Willebrand reconoció un patrón de herencia autosómico dominante y la llamo pseudo hemofilia hereditaria. En 1953, Alexander y Goldstein describieron por primera vez la asociación de la disminución de F VIII y tiempo de sangrado prolongado en 2 pacientes con pseudo hemofilia típica o enfermedad de von Willebrand, y dicha observación fue observada subsecuentemente. Nilsson y colaboradores observaron que la infusión de una fracción del plasma que contenía FVIII y FvW, de una persona sana o de una persona con hemofilia, corregía el tiempo de sangrado en pacientes con enfermedad de von Willebrand. La caracterización del F VIII y FvW en 1984 y 1985 respectivamente, llevo a conocer múltiples defectos moleculares en ambos factores. Posteriormente se encontró que los pacientes con EvW presentan disminución en el F VIII, como resultado de una interacción no covalente entre el F VIII y FvW, ya que como se menciona previamente el F VIII sirve como transportador del FvW a nivel plasmático protegiéndolo de la acción enzimática y aumentando su vida media; así mismo se determinó la fracción antigénica y la fracción de actividad de los factores VIII y

FvW. En 1971, Howard y Firkin, reportaron que un antibiótico que causaba trombocitopenia, fue capaz de producir agregación plaquetaria en presencia de plasma normal, pero no en presencia de plasma de pacientes con EvW. Esta observación fue confirmada por otros investigadores, concluyendo que un defecto en la agregación plaquetaria vista en el plasma de pacientes con EvW corregía con la adición de plasma normal o con plasma de pacientes con hemofilia. Weiss y colaboradores desarrollaron un ensayo cuantitativo de la función del FvW basada en éste principio, y la actividad medida fue referida como Actividad de Cofactor de Ristocetina. (2)

La enfermedad de von Willebrand se caracteriza por alteraciones en el FvW tanto a nivel cuantitativo como cualitativo. Se han identificado múltiples anormalidades basadas en sus propiedades bioquímicas y en la secuencia de nucleótidos del gene. En 1994 el Subcomité de Enfermedad de von Willebrand de la Sociedad Internacional en Trombosis y Hemostasia, realizó una clasificación basada primariamente en el fenotipo de la proteína de FvW presente en el endotelio, plasma y en las plaquetas de los pacientes. El tipo 1 y el tipo 3 son alteraciones cuantitativas, mientras que el tipo 2 son alteraciones cualitativas. (3)

CLASIFICACION DE LA ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND

TIPO 1, deficiencia parcial cuantitativa de FvW. Representa el 70% de los casos de EvW. Es heredada en forma autosómica dominante en la mayoría de los casos. Los pacientes cursan con hemorragias leves a moderadas, aunque existe una gran heterogeneidad entre los miembros afectados de una misma familia. La evaluación de laboratorio generalmente revela FvW antigénico, factor VIII y actividad de cofactor de ristocetina disminuidos.

TIPO 2, variante cualitativa de la enfermedad, existen varios subtipos. Comprende del 20 al 30% de los casos de EvW. La penetrancia por lo regular es más completa que el tipo 1. Tiene varios subtipos:

SUBTIPO 2A: es la variante cualitativa más común, se encuentra en aproximadamente 5 a 10% de los pacientes con EvW. Generalmente se transmite en forma autosómico dominante, aunque se han reportado casos con patrón autosómico recesivo. Los pacientes presentan diátesis hemorrágica moderada. A nivel de laboratorio encontramos tiempo de sangrado prolongado, F VIII normal o disminuido, FvW antigénico disminuido o normal, actividad de cofactor de ristocetina muy disminuída, agregación plaquetaria inducida por ristocetina (RIPA) disminuída o normal, multímeros en plasma anormales.

SUBTIPO 2B, se caracteriza por un incremento en la reactividad del FvW con el receptor GPIb de las plaquetas. El patrón de herencia es autosómico dominante o recesivo. El aumento en la depuración de los complejos FvW- plaquetas da como resultado la existencia de trombocitopenia en éstos pacientes y a la pérdida de multímeros de alto peso molecular. Estos pacientes presentan grados variables de hemorragia. En laboratorio encontramos tiempo de sangrado prolongado, F VIII normal o disminuido.

SUBTIPO 2M, se caracteriza por disminución en la función plaquetaria, la cuál no es por ausencia de multímeros de alto peso molecular. A pesar de que existen multímeros de tamaño normal, la disminución en la función plaquetaria indica que los multímeros son cualitativamente anormales. Se hereda en forma autosómico dominante. Cursan con tiempo de sangrado aumentando o normal, F VIII normal o disminuido, FvW antigénico disminuido o normal, actividad de cofactor de ristocetina disminuido o normal.

SUBTIPO 2N. Normandy. Variante cualitativa con afinidad disminuída del FvW por el F VIII. Se transmite en forma autosómica recesiva. El cuadro clínico del paciente es muy semejante a la hemofilia. El tiempo de sangrado es normal, el F VIII se encuentra muy disminuido, el FvW antigénico se observa normal o disminuido, el cofactor de ristocetina normal o disminuido, RIPA normal, multímeros en plasma normales o anormales, afinidad del FvW por el FVIII disminuída.

TIPO 3. Se caracteriza por niveles muy bajos o ausencia del FvW. El patrón de herencia es generalmente autosómico recesivo y su prevalencia es baja (1 a 5 por millón). Los pacientes presentan hemorragias severas que pueden poner en peligro la vida y por lo regular requieren de apoyo transfusional. En adición a hemorragias severas a nivel de mucosas, los pacientes también presentan hemorragias a nivel intraarticular y en tejidos blandos, similar a lo que ocurre en pacientes con hemofilia. A nivel de laboratorio se caracterizan por tiempo de sangrado muy prolongado, F VIII disminuido, FvW antigénico muy disminuido o no detectable, sin actividad de cofactor de ristocetina, RIPA no detectable, multímeros en plasma no detectables.(2,3)

En cuanto a la frecuencia de la enfermedad existen pocos estudios. En 1984 se realizó un reporte de 60 casos en 24 familias en México por parte del Dr. Pizzuto y su grupo de colaboradores. En 1987 se reportó un estudio realizado en dos poblaciones de Italia, de 1218 participantes con sospecha de enfermedad de von Willebrand, en un 0.82% se corroboró dicho diagnóstico. En 1989 se reportó una prevalencia de 113 pacientes por millón, en pacientes sintomáticos en la población IX de Chile. En 1991 un estudio de frecuencia en Kagoshima, Japón estimó un rango de 23 casos por millón de habitantes. En 1991 se reportó la prevalencia en 2 zonas de Venezuela, una en 42 casos por millón de habitantes y la otra con 73 casos por millón de habitantes. La aparente variación en la prevalencia de la enfermedad de von Willebrand sintomática probablemente se explique por la diferente eficiencia con la cual los pacientes son diagnosticados y referidos a centros que cuenten con recursos para llevar a cabo las diferentes

pruebas diagnósticas a determinar el padecimiento. En varios estudios la distribución de los diferentes tipos de la enfermedad es de 60 a 80% para el tipo 1, 7 a 30% para el tipo 2 y 5 a 20% para el tipo 3, la variación se explica porque la clasificación de la enfermedad depende de los métodos de laboratorio y criterio clínico para la identificación del paciente. En cuanto a los subtipos de la enfermedad tipo 2, en un reciente análisis de 150 familias en Francia, mostró una distribución de 30% para el subtipo 2 A, 28% para el 2 B, 34% para el 2 N y el 8 % restante entre casos signados como 2 M o no clasificados. Tomando en cuenta los datos de estudios anteriores se puede decir que la prevalencia de enfermedad de von Willebrand sintomática es cercana a 113 casos por millón y puede ser más alta. El número de personas estimadas con enfermedad de von Willebrand es de 1480 a 3580 personas por millón. El número de personas con EvW sintomática estimada es de al menos 100 casos por millón de habitantes. (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10,11).

Como se mencionó previamente, el diagnóstico y clasificación de pacientes con enfermedad de von Willebrand, requieren varias pruebas de laboratorio, las cuales incluyen: el tiempo de hemorragia, cuenta de plaquetas, agregometría plaquetaria, agregación plaquetaria inducida por ristocetina (RIPA), actividad del cofactor de ristocetina (FvW: RiCof), actividad del factor VIII (F VIII:C), concentración del antígeno del factor von Willebrand (Ag:FvW), análisis de los multímeros del factor von Willebrand.(12)

TIEMPO DE HEMORRAGIA. Prueba que mide in vivo la relación endotelio-plaqueta y refleja la capacidad hemostática plaquetaria. El tiempo de hemorragia es útil para detectar un defecto cualitativo o cuantitativo de las plaquetas y FvW. El tiempo de sangrado es muy variable en formas leves de EvW y se prolonga en aproximadamente 50% de los pacientes. El método tradicional es el de Ivy, que consiste en hacer una pequeña incisión en el antebrazo ejerciendo una presión constante de 40mmHg, absorbiendo con papel filtro el exceso de sangre cada 30 segundos. El tiempo de hemorragia es el tiempo que transcurre desde la incisión hasta el cese de la hemorragia. El límite normal de la prueba es de 9 minutos. Algunos medicamentos pueden alterar el resultado como los anticoagulantes, antiinflamatorios no esteroideos.

CUENTA DE PLAQUETAS. El conteo plaquetario es importante ya que, por un lado ayuda a excluir desórdenes de la hemostasia primaria por trombocitopenia, no relacionadas a EvW y por otro lado, los pacientes con EvW subtipo 2 B presentan trombocitopenia continua o intermitente. Un conteo plaquetario bajo nos debe hacer sospechar de un defecto cualitativo de la EvW y un daño en la interacción FvW-plaquetas. Se puede realizar manual o en forma automatizada. La cifra normal de plaquetas oscila entre $150-500 \times 10^9/L$.

AGREGOMETRIA PLAQUETARIA. La agregación plaquetaria es el proceso por el cual las plaquetas se unen unas con otras ante un estímulo físico o químico para formar el coagulo. Este fenómeno depende de glicoproteínas de membrana, fibrinógeno, calcio, así como de otros agentes agregantes. La agregación se

realiza en plasma rico en plaquetas (PRP) y sangre total, adicionando agonistas plaquetarios (ADP, colágena, ristocetina, trombina, etc.) y determinando la agregación por diversos métodos: 1) óptico, 2) impedancia, 3) luminiscencia y 4) flujo de calcio ionizado. En nuestro laboratorio se realiza por método óptico, el cuál utiliza un espectrofotómetro que registra el cambio en la transmisión de la luz al formarse el agregado plaquetario. La agregación plaquetaria inducida por ristocetina (RIPA) utiliza la ristocetina que es un antibiótico que induce in vitro la unión del FvW a la glicoproteína Ib/IX. Esta prueba utiliza plasma rico en plaquetas y ristocetina. La agregación se encuentra disminuida en la trombocitopenia Bernard-Soulier y en la mayoría de los subtipos de EvW, excepto en el subtipo 2B donde encontramos un aumento en la respuesta a la ristocetina (hiperagregación), debido a una mayor afinidad del FvW por la glicoproteína Ib/IX. Esta prueba no detecta pacientes con EvW leve, sin embargo actualmente es de gran utilidad para la identificación de EvW subtipo 2B.

ACTIVIDAD DEL COFACTOR DE RISTOCETINA (FvW:RiCof). Refleja la actividad funcional (adhesiva) de la molécula del FvW. Se basa en la interacción del FvW plasmático y el receptor plaquetario Ib/IX. Esta prueba es similar a RIPA, excepto que utiliza plasma pobre en plaquetas, una concentración estándar de ristocetina y plaquetas normales. La FvW:RiCof se determina por la aglutinación plaquetaria medida por un agregómetro o técnica macroscópica. La FvW:RiCof tiene el mismo peso que el FvW antigénico para el diagnóstico de EvW, sin embargo con ésta prueba se detectan más pacientes con formas leves de la enfermedad.

ACTIVIDAD DEL FACTOR VIII (FVIII:C). Aunque en muchos tipos de EvW, la actividad del FvW se encuentra afectada, ésta prueba es esencial para el diagnóstico del subtipo 2 N (Normandy). El método se basa en la determinación del tiempo parcial de tromboplastina activado (TTPa), en mezclas 1:1 de plasma deficiente en FVIII y el plasma estándar o problema diluido. En estas condiciones el acortamiento del tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la actividad del FVIII. El valor de referencia varía entre 50 a 150 U/dl. La actividad del FVIII se encuentra disminuida en pacientes con EvW, hemofilia clásica e inhibidor al FVIII.

CONCENTRACION DEL ANTIGENO DEL FACTOR VON WILLEBRAND (Ag:FvW). Es importante su determinación para la distinción entre un defecto cuantitativo de un defecto cualitativo. Puede ser medido por una variedad de métodos inmunológicos, donde se utiliza un anticuerpo dirigido para el Ag:FvW. El 80% de los pacientes con EvW tiene disminución del Ag:FvW. En personas sanas con grupo sanguíneo O el Ag:FvW puede ser cuantificado en una cantidad 25% menor en comparación a los grupos sanguíneos restantes, sin una tendencia hemorrágica.

ANALISIS DE LOS MULTIMEROS DEL FACTOR VON WILLEBRAND POR WESTERN BLOTT. Esta prueba se considera confirmatoria y permite clasificar los tipos de la EvW. El estudio de los multimeros evalúa anomalías cuantitativas y cualitativas por inmunoelectroforesis. Es una metodología compleja de realizar. Primero se lleva a cabo la electroforesis en gel de poliacrilamida-agarosa con SDS

(SDS-PAGE), posteriormente se procede a transferir los multimeros a la membrana de nitrocelulosa, se bloquea y se lava exhaustivamente. La membrana se incuba con el anticuerpo anti-FvW, después se incuba con el anticuerpo anti-IgG conjugado con peroxidada.

Finalmente, se revela por el sistema de quimioluminiscencia, analizando las bandas en el equipo STORM 860. La quimioluminiscencia presenta una sensibilidad similar a la radioactividad para detectar precisamente las diversas bandas, así como también nos permite cuantificar por densitometría las mismas. La positividad al FvW en sujetos sanos se determina por la presencia de bandas de alto y bajo peso molecular y su ausencia se manifiesta en los diferentes tipos de la EvW. (12,13).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la frecuencia de los diferentes tipos y subtipos de enfermedad de von Willebrand en el Hospital de Especialidades de Centro Medico Nacional Siglo XXI?

¿Cuales son los parámetros de laboratorio que se alteran con más frecuencia en los diferentes tipos y subtipos de enfermedad de von Willebrand?

OBJETIVOS

Determinar la frecuencia de los diferentes tipos y subtipos de enfermedad de von Willebrand en el Hospital de Especialidades Centro Medico Nacional Siglo XXI.

Determinar cuales parámetros de laboratorio se encuentran alterados con más frecuencia en los diferentes tipos y subtipos de enfermedad de von Willebrand.

MATERIAL, PACIENTES Y METODOS

A) Diseño del Estudio: Transversal, Descriptivo, Observacional, Retrospectivo (serie de casos)

B) Universo de Trabajo: se analizarán 115 expedientes de pacientes con sospecha de enfermedad hemorrágica para enviados a laboratorio de Coagulación Especial del HE CMN SXXI para su estudio en los últimos 5 años (1997-2003). Se realizaran las pruebas para EvW a aquellos pacientes que presenten por datos clínicos y alteraciones en pruebas de laboratorio básicas sospecha de EvW.

El estudio se realizará en el Hospital de Especialidades de Centro Medico Nacional Siglo XXI.

C) Descripción de Variables

VARIABLES INDEPENDIENTES:

1) Enfermedad de von Willebrand tipo 1

2) Enfermedad de von Willebrand tipo 2

Subtipo 2 A

Subtipo 2 B

Subtipo 2 M

Subtipo 2 N

3) Enfermedad de von Willebrand tipo 3

VARIABLES DEPENDIENTES:

1) Tiempo de Hemorragia

2) Cuenta de Plaquetas

3) Agregación plaquetaria inducida por ristocetina (RIPA)

4) Actividad de cofactor de ristocetina (FVW: RiCOF)

5) Actividad del factor VIII (F VIII:C)

6) Concentración del antígeno del factor VW (Ag: FVW)

9) Análisis de los multímeros del factor de VW

SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Criterios de Inclusión: se incluirán todos los pacientes de edad mayor de 16 años, con cuadro sugestivo de enfermedad de von Willebrand (síndrome hemorrágico espontáneo o ante situaciones de riesgo) y que presenten alteraciones en parámetros de laboratorio tales, como tiempo de hemorragia prolongado, TTPa prolongado y cuenta de plaquetas normal o baja.

PROCEDIMIENTOS

Se realizará la recolección de datos de cada paciente enviado al laboratorio de Coagulación Especial del Centro Medico Nacional Siglo XXI por sospecha de coagulopatía, a través de su expediente o por llamada telefónica. La recolección de datos se llevará a cabo por el medico residente participante. El lugar de la toma de muestra será el laboratorio de Coagulación Especial del Servicio de Hematología en el Hospital de Especialidades del Centro Medico Nacional Siglo XXI.

En base a los datos obtenidos en la hoja de recolección (anexo 1) se determinará si el paciente es candidato o no para la realización de pruebas de laboratorio especiales para confirmar el diagnóstico de EvW y clasificarlo. Los métodos de laboratorio que se analizaran en cada paciente son el tiempo de sangrado, conteo plaquetario, agregometria plaquetaria, agregación plaquetaria inducida por ristocetina, actividad del cofactor de ristocetina, actividad del factor VIII, concentración del antígeno del factor von Willebrand y análisis de los multimeros del factor von Willebrand.

La recolección de datos de cada paciente, así como la realización de las pruebas de laboratorio se llevaran a cabo previo consentimiento informado y por escrito por parte del paciente. Se le explicará el objetivo del presente estudio y la importancia de la valoración de su caso para su manejo en un futuro. Se realizará toma de muestra sanguínea en ayuno, previa asepsia y antisepsia.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizará análisis de frecuencia, expresada en porcentajes. Posterior a éste análisis se clasificará a los pacientes en cada uno de los tipos y subtipos de EvW, los cuales se expresaran en porcentajes.

CONSIDERACIONES ETICAS

Tomando en cuenta que es un procedimiento con toma de muestras sanguíneas se solicitará a cada paciente el consentimiento informado por escrito (anexo 2)

RECURSOS PARA EL ESTUDIO

Recursos Humanos: las personas señaladas al inicio.

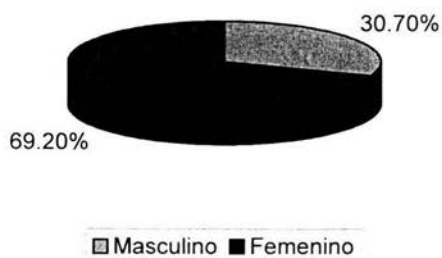
Recursos Materiales: los reactivos para llevar a cabo las pruebas de laboratorio son Simplate R. (Aganon) , Ristocetina (Chonolog), Cofactor (Chonolog), Plasma Deficiente FVIII, Anti FvW, Anti IgG, ACL plus (Amcrsham).

RESULTADOS

Se estudio una población de 115 pacientes, los cuales acudieron al laboratorio de coagulación especial con sospecha de enfermedad hemorragica, de 1997 a 2003, de dicha población se seleccionaron los pacientes que por cuadro clínico y estudios de laboratorio eran altamente sospechosos de Enfermedad de von Willebrand, siendo 26 pacientes. Así mismo, se estudio un grupo control de 24 individuos sanos.

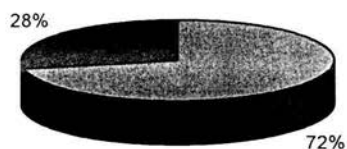
Tanto al grupo control como al grupo problema se les realizaron los estudios comentados previamente. Del grupo problema, 18 fueron mujeres y 8 varones, con rango de edad de 18 a 53 años.

PORCENTAJE DE PACIENTES POR SEXO



Se analizaron los resultados de acuerdo al grupo sanguíneo, encontrando 19 pacientes de grupo O, el resto del grupo problema fue del grupo A (7 pacientes)

PORCENTAJE DE GRUPOS SANGUINEOS

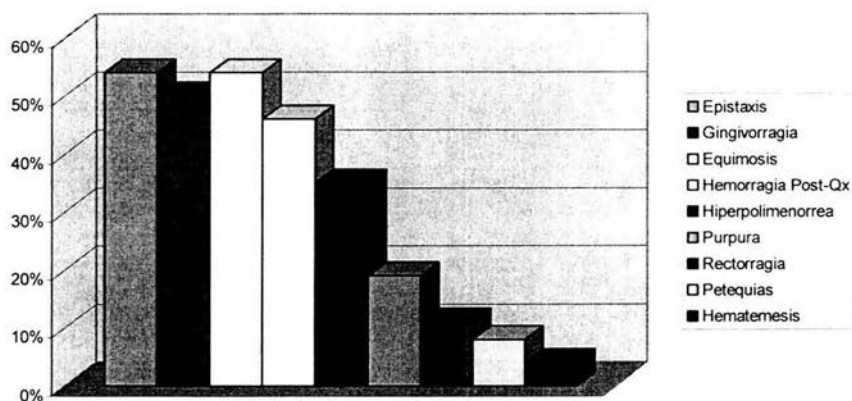


■ Grupo O positivo ■ Grupo A positivo

Los antecedentes familiares de manifestaciones hemorrágicas fueron positivos en 14 pacientes (53.8%). Ningún paciente con antecedente de consanguinidad. Las manifestaciones clínicas principales fueron epistaxis, equimosis, gingivorragia y hemorragia post quirúrgica.

Síntomas	%	Síntomas	%
Epistaxis	54%	Hemoptisis	0%
Gingivorragia	50%	Hematuria	0%
Equimosis	54%	Hemartrosis	0%
Hemorragia Post-Qx	46%	Melena	0%
Hiperpolimenorrea	35%	Hematomas	0%
Purpura	19%	Petequias	8%
Rectorragia	11%	Hematemesis	4%

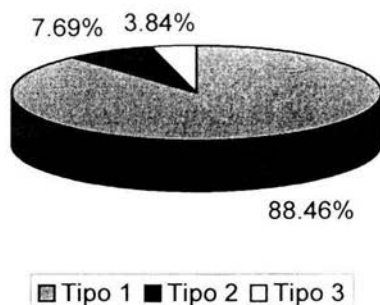
MANIFESTACIONES CLINICAS



En cuanto a los antecedentes personales patológicos, 1 paciente nos refirió hipertiroidismo, actualmente eutiroidea y otro paciente con antecedente de asma, sin cuadro agudo al momento de la toma de la muestra. Los pacientes con antecedente transfusional fueron 11 (45.8%), lo anterior en relación a evento quirúrgico, ya sea como preparación o por sangrado anormal post quirúrgico.

Analizando las manifestaciones clínicas, antecedentes familiares y resultados de laboratorio se concluyó la siguiente distribución en los diferentes tipos de EvW: 23 pacientes con probable tipo 1, 2 con tipo 2 y 1 tipo 3.

PORCENTAJE DE LOS DIFERENTES TIPOS DE EvW



En cuanto a estudios de laboratorio, a todos los pacientes se les había determinado en una a varias ocasiones tiempos de coagulación, TS, F VIII Ag, FvW Ag, RIPA y los mismos estudios se llevaron a cabo nuevamente para el presente reporte, con el objeto de tener varias determinaciones en diferentes tiempos. Todos los pacientes presentaron TP y TT en valores normales. El TTP se reportó anormal en el 84.6% de la población estudiada. El tiempo de sangrado se reportó prolongado en el 84.6%. El F VIII estuvo disminuido en el 69.2% de los pacientes. La RIPA se reportó disminuida en 46% del grupo estudiado. Los valores reportados del valor del FvW Ag estuvo en un rango de 8 a 115 para el grupo sanguíneo O y de 17.9 a 92.2 para el grupo sanguíneo A. Los valores para el factor F VIII fluctuaron de 10 a 146%.

Como se mencionó previamente se estudió un grupo control, el cuál no tenía antecedentes familiares ni personales de sangrado, 5 fueron del grupo A, 4 del grupo B, 1 del grupo AB y 14 del grupo sanguíneo O. Cabe mencionar que 2 de

los individuos control presentaron prolongación en TTP, 1 persona presentó prolongación en TS, y en 4 se reportó F VIII inferior al rango normal.

Dos personas control presentaron disminución en el FvW Ag reportado, ambas del grupo sanguíneo A, sin otras alteraciones significativas en los estudios de laboratorio realizados. Un paciente de los 24, es decir el 4% presentó criterios de laboratorio para Enfermedad de Von Willebrand tipo 1.

DISCUSIÓN

Se estudio una población de 26 pacientes con alta sospecha de EvW, por manifestaciones clínicas, estudios de laboratorio y antecedentes familiares de hemorragia. Para la clasificación de los pacientes se tomo en cuenta la severidad en manifestaciones hemorrágicas, así como el grado de alteración en la pruebas de laboratorio, sobretodo el nivel de FvW. Como se ha reportado en la literatura el tipo 1 de EvW es el más frecuente, encontrando en nuestra población el 88%. El tipo 2 se encontró en un 7.6%, se sospecha de subtipo Normandy ya que los pacientes presentaron FvW en rangos de 20 a 30% y F VIII en rangos de 10 a 30% en diferentes determinaciones. El paciente con tipo 3 presento FvW en todas sus determinaciones inferior a 10%, TTP prolongados en mas de 40 segundos, F VIII en rangos de 20 a 40%, tiempo de sangrado mayor a 15 minutos, RIPA en 0%.

Las manifestaciones de hemorragia reportadas en la literatura como principales son a nivel de mucosas manifestadas principalmente como epistaxis y gingivorragia, lo cuál si corroboro en nuestra población donde además observamos muy frecuentemente equimosis sin relación a traumatismo.

Las alteraciones en laboratorio más frecuentemente observadas fueron la prolongación del TTP, el TS prolongado y la disminución en el nivel de FvW y F VIII, pruebas que en la mayoría de los laboratorios se pueden llevar a cabo y de ésta manera poder estudiar al paciente con sospecha de enfermedad

hemorragia para de una forma lo más completa posible, con el propósito de manejar al paciente conforme al diagnóstico específico.

Los resultados de laboratorio varían dependiendo del momento de la toma, del grupo sanguíneo (25% más bajo en individuos del grupo O) y otras circunstancias (estrés, inflamación, etc); por lo anterior para establecer el diagnóstico de EvW se requiere no sólo contar con un nivel bajo de FvW, sino además con otras alteraciones en las pruebas de coagulación específicas de esta entidad y las manifestaciones clínicas ya comentadas. La población aparentemente sana puede presentar niveles de FvW bajos sin traducción clínica y sin que esto signifique enfermedad de von Willebrand, presentándose dicha alteración en aproximadamente 1% de la población reportado en la literatura, nosotros encontramos en el grupo control una frecuencia del 8.33%. Un individuo del grupo control presentó niveles bajos de FvW y otras alteraciones en sus estudios de coagulación altamente sugestivos de EvW, sin manifestaciones clínicas de la enfermedad.

CONCLUSIÓN

- 1) La Enfermedad de von Willebrand tipo 1 fue la más frecuente en nuestra población estudiada y la menos frecuente la Enfermedad de von Willebrand tipo 3.
- 2) Las alteraciones de laboratorio más frecuentemente observadas fueron TTP prolongado, TS prolongado, disminución en los niveles de Factor von Willebrand.
- 3) En nuestra población control se observó un 8.3% con niveles bajos de Factor de von Willebrand sin traducción clínica, es decir como factor de riesgo para hemorragia únicamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Ruggeri Z.M, et al. The structure and function of von Willebrand factor. *Thromb Haemost* 1992; 67: 594-599.
- 2) Joseph Loscalzo. Von Willebrand Disease. *Thrombosis and Hemorrhage*. 3rd Edition. 539-559.
- 3) Sadler J, et al. Commentary: A new Classification for von Willebrand Disease. *Blood* 1994; 84 (3): 667-679.
- 4) Rodeghiero F, et al. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand´s disease. *Blood* 1987; 69; 2: 454-459.
- 5) Ambriz R, et al. Enfermedad de von Willebrand. Informe de 60 casos de 24 familias en México. *Rev Med. IMSS* 1984; 22: 241-247.
- 6) Jimenez C, et al. Estudio epidemiológico de la enfermedad de von Willebrand en escolares en Costa Rica. Puebla México: memorias de las XVI Jornadas Anuales de la Agrupación Mexicana para el estudio de la hematología; 1995.
- 7) Cabrera M, et al. Enfermedad de von Willebrand en la Región IX de Chile. *Rev. Med. Chile* 1989; 117: 423-430.
- 8) Ewald M, et al. Epidemiología de la Enfermedad de von Willebrand en el estado de Zulia, Venezuela. *Invest Clin* 1991; 32(4): 187-199.
- 9) Lenk H, et al. Frequency of Different Types of von Willebrand´s Disease in the GDR. *Acta Med Scan* 1988; 224: 275-280.

- 10) Connie H, et al. Population Differences in von Willebrand Factor Levels Affect the Diagnosis of von Willebrand Disease in African-American Women. *American Journal of Hematology* 2001; 67: 125-129.
- 11) Sadler JE, et al. Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2000; 84: 160-174.
- 12) Nishino M, et al. New variant of von Willebrand disease with defective binding to Factor VIII. *Blood* 1989; 74 (5): 1591-1599.
- 13) Mazurier C, et al. Factor VIII binding assay of a von Willebrand factor and the diagnosis of type 2 N von Willebrand disease— results of an International Survey. *Thromb Haemost*; 1996; 76 (2): 270-274.
- 14) Casonato A, et al. The evaluation of factor VIII binding activity of von Willebrand factor by means of an ELISA method. Significance and practical Implications. *AJCP* 1998; 109 (3): 347.
- 15) Budde U, et al. Laboratory Diagnosis of Congenital von Willebrand Disease
Thromb Haemost; 2002; 28 (2): 173-189.
- 16) Triplett D. Laboratory Diagnosis of von Willebrand's Disease. *Mayo Clin. Proc* 1991; 66: 832-840.
- 17) Evan J. Von Willebrand disease type 1: a diagnosis in search of a disease. *Blood* 2003; 101: 2089-94.

ANEXO 2

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA
PARTICIPACION EN PROYECTO DE INVESTIGACION CLINICA.
SERVICIO HEMATOLOGIA
HOSPITAL ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**

FECHA:

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado: FRECUENCIA DE LOS DIFERENTES TIPOS Y SUBTIPOS DE ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND EN EL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DE CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO SXXI.

Registrado ante el Comité Local de Investigación con el número:

El objetivo de éste estudio es determinar la frecuencia de Enfermedad de von Willebrand en los pacientes enviados de la consulta externa de Hematología en el HE CMN SXXI con sospecha de enfermedad hemorrágica.

Se me ha explicado que mi participación consiste en acudir a Laboratorio de Coagulación Especial del HE CMN SXXI, donde se realizará toma de 5 muestras de sangre de 3ml cada una, en tubos siliconizados con citrato de sodio al 3.8% como anticoagulante, previa asepsia y antisepsia.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes: dolor al obtener la muestra sanguínea venosa y/o presencia de hematoma posterior a punción. El beneficio consiste en obtener un diagnóstico específico para un adecuado manejo.

NOMBRE Y FIRMA
PACIENTE

NOMBRE Y FIRMA
INVESTIGADOR

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES HE CMN SXXI
SERVICIO HEMATOLOGIA
FRECUENCIA DE LOS DIFERENTES TIPOS Y SUBTIPOS DE ENFERMEDAD DE
VON WILLEBRAND EN EL HE CMN SXXI

FECHA DE RECOLECCION DE DATOS FOLIO:
MEDICO DE BASE Y RESIDENTE QUE SOLICITA:
NOMBRE Y AFILIACION SEXO:
FECHA DE NACIMIENTO: AÑOS CUMPLIDOS:
LUGAR DE NACIMIENTO LUGAR DE RESIDENCIA:
GRUPO SANGUINEO:
ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES:
NUMERO DE HERMANOS: NUMERO DE HIJOS:
TENDENCIA HEMORRAGIPARA EN
PADRE() MADRE() HERMANOS() HIJOS() PRIMOS() TIOS() ABUELOS ()
OBSERVACIONES:

HEMOFILIA() TROMBOCITOPATIA() COAGULOPATIAS()
CONSANGUINIDAD () ENFERMEDAD VON WILLEBRAND ()

ANTECEDENTES PERSONALES:

ETILISMO () TOXICOMANIAS ()
MEDICAMENTOS UTILIZADOS EN EL ULTIMO MES (SOBRETUDO AINES)
ANTECEDENTES GINECOOBSTETRICOS : MENARCA CICLOS
HIPERMENORREA POLIMENORREA COAGULOS
METODO DE ANTICONCEPCION MENARCA EMBARAZO
COMPLICACIONES

ANTECEDENTES HEMORRAGIPAROS : GINGIVORRAGIA () EPISTAXIS ()
PETEQUIAS () PURPURA () EQUIMOSIS ()
HEMOPTISIS () HEMATEMESIS () MELENA () RECTORRAGIA ()
HEMATURIA () HEMARTROSIS () HEMATOMAS ()
OBSERVACIONES

ENF.TIROIDES () UREMIA ()
ENFERMEDAD HEPATICA () INFECCION ()
TERAPIA ESTROGENOS () ENFERMEDAD MIELOPROLIFERATIVAS ()
CIRUGIAS () ENFERMEADES AUTOINMUNES ()
FRACTURAS () TRANSFUSIONES ()

OBSERVACIONES:

EXAMENES DE LABORATORIO

FECHA							
Hba/leucos							
Plaquetas							
TP							
TTPa							
TT							
TSangrado							
FVIII							
RIPA							
FvW							
Cof Ristoc							
Multimeros vonWillebrand							

CONCLUSIONES: