

Epidemiología de la Enfermedad de von Willebrand en el Estado Zulia. Venezuela.

María Díez-Ewald^{}, Gilberto Vizcaíno^{*}, Melvis Arteaga-Vizcaíno^{*}, Nelson Fernández^{*}, Jesús Weir-Medina^{**} Oswaldo Gómez^{**}.*

^{*} Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Maracaibo, Venezuela.

^{**} Instituto Hematológico de Occidente, Maracaibo, Venezuela.

Palabras claves: von Willebrand, prevalencia.

Resumen. La prevalencia de la Enfermedad de von Willebrand (EvW) en el Estado Zulia, Venezuela, fue estudiada en 684 pacientes de edades comprendidas entre 6 meses y 50 años, que habían sido referidos por presentar síntomas hemorrágicos. Se diagnosticaron 96 casos de EvW mediante la determinación de: Tiempo de sangría, concentración de FVIII, FvW plasmático, cofactor ristocetina y agregación plaquetaria con ristocetina. En algunos casos también se realizó inmunoelectroforesis cruzada y determinación de FvW plaquetario.

La prevalencia de EvW en el Estado Zulia fue de $42,9/10^6$ habitantes y de $73/10^6$ habitantes en la zona metropolitana de Maracaibo. Ochenta y cinco casos correspondieron a EvW Tipo I, 2 casos se consideraron EvW Tipo IIb y 4 casos con FvW indetectable se clasificaron como EvW tipo III. En una familia en donde estaban afectados cinco miembros, se encontró FvW normal con otros parámetros alterados, por lo que es necesario el análisis de los multímeros para su clasificación definitiva. Tres pacientes con EvW Tipo I presentaron además Púrpura Trombocitopénica Autoinmune, otra paciente presentó hemoglobinopatía SC y en una quinta paciente la enfermedad coexistía con Prolapso de Válvula Mitral. La prevalencia de EvW, encontrada en el Estado Zulia, es semejante a la hallada en países europeos, por lo cual al igual que en esos países, la enfermedad debe ser considerada un problema de salud pública y por lo tanto se deben implementar las medidas necesarias para que los pacientes reciban tratamiento y apoyo social adecuados.

INTRODUCCION

La enfermedad de von Willebrand (EvW) es una diátesis hemorrágica que se hereda con carácter autosómico dominante en la mayoría de los casos (22). La causa de la enfermedad reside en un defecto cuantitativo, cualitativo o ambos del factor von Willebrand (FvW), que es una glicoproteína de aproximadamente 12×10^6 Daltons, que circula en el plasma unida en forma no covalente al factor VIII (FVIII) de la coagulación, formando el complejo FVIII/FvW (23). Esta glicoproteína juega un papel primordial en la hemostasis primaria, al servir de puente de unión entre las plaquetas y el subendotelio de la pared vascular dañada (adhesión plaquetaria) (21), además interviene en la unión plaqueta-plaqueta (agregación plaquetaria) (10,18). Para que esta función se cumpla a cabalidad, el FvW debe estar cuantitativa y cualitativamente normal en plasma, endotelio y plaquetas, y su alteración en cualquiera de los comportamientos señalados, da lugar a manifestaciones clínicas caracterizadas principalmente por hemorragias mucocutáneas y prolongación del tiempo de sangría (19).

La prevalencia de EvW es difícil de establecer, dado que las manifestaciones clínicas suelen depender del grado de alteración del FvW y pueden ser tan leves que pasen desapercibidas, por lo tanto no se diagnostican; por otro lado, el diagnóstico preciso requiere la

aplicación de metodologías no accesibles a muchos laboratorios. Basándose en los casos diagnosticados en los centros de salud, la prevalencia de la enfermedad en Europa se ha estimado alrededor de $70/10^6$ habitantes (7), sin embargo, Rodeghiero y col, en Italia, en un estudio de 1281 niños utilizando la determinación del cofactor Ristocetina (CoFR) como método diagnóstico, encontró una incidencia del 0,82% (16). Es poco lo que se conoce en América Latina en cuanto a la frecuencia de esta enfermedad, apenas existe un reporte sobre la prevalencia en la forma severa, en el estado de Río Grande del Sur, en Brasil (6) donde diagnosticaron 11 casos en 7 genealogías. En Venezuela, aunque la enfermedad es frecuente, no se ha reportado una casuística, por lo que en el presente trabajo se intenta establecer su prevalencia, entre los pacientes que acudieron a los principales centros de salud del Estado Zulia, por presentar manifestaciones hemorrágicas, y entre sus familiares.

MATERIAL Y METODOS

Se estudió un total de 684 pacientes en un periodo de 5 años, con edades comprendidas entre 6 meses y 50 años, referidos por presentar manifestaciones hemorrágicas de variada severidad. A cada paciente se le sometió a un interrogatorio detallado sobre antecedentes hemorrágicos personales y familiares y se le practicó un examen físico. Se procedió a la extracción de sangre venosa en

ayunas, mediante técnica de doble jeringa plástica y aguja mariposa. La sangre de la primera jeringa se utilizó para estudios hematológicos de rutina y la segunda se colocó en tubos plásticos mantenidos a temperatura ambiente y destinados a la preparación del plasma rico en plaquetas (PRP). En cada tubo previamente se había colocado citrato de sodio al 3,8% para una proporción de 1 a 9 anticoagulante y sangre total. El PPP se obtuvo mediante centrifugación a 2.400 G a 5 °C durante 20 minutos y el sobrenadante se repartió en alícuotas que se utilizaron inmediatamente o se almacenaron a -70 °C hasta su procesamiento. El PRP se extrajo por centrifugación a 180 G a temperatura ambiente durante 10 minutos y fue utilizado durante las primeras 3 horas después de la extracción de la sangre.

En cada caso se realizaron los siguientes estudios: Tiempo de sangría según la técnica de Ivy modificada por Mielke (12). Conteo de plaquetas en sangre total y PRP en cámara de Neubauer y bajo microscopio de contraste de fases (4). Observación por microscopía de luz, de la morfología plaquetaria en extendido de sangre periférica teñido con Right-Giemsa. Determinación de los tiempos de protrombina y tromboplastina parcial en PPP mediante técnicas estandarizadas de rutina.

El FVIII se determinó siguiendo el método de Rapaport (15), utilizando plasma con menos de 1 U/dl de actividad de este factor. El FvW se cuantificó por

inmunolectroforesis de acuerdo al método de Laurell (8) y el CoFR se determinó midiendo el tiempo de aglutinación de plaquetas normales fijadas y lavadas, al adicionar diferentes diluciones de plasma normal o problema y ristocetina (1). La agregación plaquetaria se estudió en un agregómetro (Chrono-log, Havertown, Penn.) utilizando 0,45 ml de PRP y añadiendo ristocetina a una concentración final de 1,2 mg/ml. En algunos casos se estudió la migración del FvW mediante inmunolectroforesis cruzada (IEC) (9) y la concentración de este factor en las plaquetas según técnica de Ruggeri y col (17).

En los casos donde se diagnosticó la enfermedad de von Willebrand se realizó un estudio similar en los miembros más cercanos de la familia y en todos aquellos con manifestaciones hemorrágicas.

Se consideraron como pacientes con EvW aquellos que presentaban niveles anormales de FvW o CoFR (<50 U/dl) en plasma, acompañados o no de prolongación del tiempo de sangría y disminución de la agregación plaquetaria con ristocetina.

RESULTADOS

Incidencia de la enfermedad de von Willebrand.-

De 684 personas estudiadas provenientes del Estado Zulia con trastornos hemorrágicos, se identificaron 96 casos (14%) de enfermedad de von Willebrand. De ellos el 82% provenía del área metropolitana de la ciudad de

Maracaibo, 45% del municipio Catatumbo, 2% del municipio Perijá y 1% del municipio Colón. De los pacientes identificados en el área metropolitana de Maracaibo, 2 (2,2%) eran originarios de Colombia, con más de 5 años de residencia en el Estado Zulia.

Estos resultados, de acuerdo con el Censo Nacional de 1990 (14) equivaldrían a una prevalencia de EvW de $42,9/10^6$ habitantes en el Estado Zulia y de $73/10^6$ habitantes para la zona metropolitana de Maracaibo.

Clasificación de la enfermedad de von Willebrand.-

Basados en los estudios practicados, los pacientes afectados se clasificaron provisionalmente en: Tipo I, que comprendió el 88,5% de los pacientes, Tipo IIb 2% y Tipo III 4,1%. Cinco casos (5,2%) no fueron clasificados. La tabla I muestra los resultados de laboratorio en las diferentes variantes de la enfermedad. Las tablas II y III muestran las características individuales de los casos diagnosticados como IIb y III.

Asociación de la Enfermedad de von Willebrand con otras enfermedades.- Tabla IV.

En 3 pacientes la EvW se encontró asociada a Púrpura Trombocitopénica Autoinmune (PTA) moderada ($>100 \times 10^3$ plaquetas/ul), 2 de ellos se trataban de hermanas en cuya madre también se diagnosticó la EvW; el tercer paciente fue un hombre de 35 años quien presentaba desde su infancia, trombocitopenia y prolongación del

tiempo de tromboplastina parcial, siendo diagnosticado como EvW en algunas ocasiones y como PTA en otras, en este caso no fue posible el estudio familiar. El estudio de sangre periférica mostró frecuencia de macroplaquetas y el aspirado de médula ósea evidenció hiperplasia megacariocítica; se demostró además la presencia de anticuerpos antiplaquetarios y al emplear terapia inmunosupresora se obtuvo un aumento del número de plaquetas. La IEC del plasma de estos pacientes mostró una migración normal del FvW y la agregación plaquetaria con ristocetina era deficiente, por lo que los tres se clasificaron como EvW Tipo I asociada a PTA. Otro caso correspondiente a un joven con 5 meses de gestación, estaba asociado a hemoglobinopatía SC, pero desafortunadamente, esta paciente no regresó a la consulta, por lo que no se pudo estudiar a la familia, ni se conoce la evolución del embarazo y el parto. Una paciente cuya EvW no fue clasificada (FvW normal y defecto de FVIII, CoFR y agregación con ristocetina) presentó además prolapso de válvula mitral. Un 5º paciente no incluido en la casuística, con diagnóstico de mucopolisacaridosis Tipo II (Síndrome de Hunter), se clasificó como EvW adquirida por presentar tiempo de sangría prolongado, déficit de FVIII y FvW, déficit de FX y trombocitopenia. El paciente requirió esplenectomía y dos meses después de la intervención, su tiempo de sangría, FVIII, FvW, plaquetas y agregación plaquetaria eran normales, aunque persistía el déficit de FX.

TABLA I
ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND EN EL ESTADO ZULIA. PRUEBAS DE LABORATORIO

CLASIFICACIÓN	NO. DE CASOS	T. DE S. 8 min	F VIII <50 u/dl	FvW <50 u/dl	CoFR <50 u/dl	AG. CON RISTOCETINA < 60%	IEC**
TIPO I	85	34*	54	70	69	56	NORMAL
TIPO IIB	2	2	2	2	2	0	ANORMAL
TIPO III	4	4	4	4	4	4	-
NO							-
CLASIFICADO	5	3	5	0	5	5	
TOTAL	96	43	65	76	80	65	

* Los valores numéricos representan el número de casos más pequeños.

** Inmunoelectroforesis cruzada.

TABLA II
PACIENTES CON DIAGNOSTICO PRESUNTIVO DE ENFERMEDAD DE von WILLEBRAND TIPO IIB.

PACIENTE	T. DE SANGRIA MIN	F VIII u/dl	FvW u/dl	CoFR u/dl	AG. CON RISTOCETINA %	IEF	vW PLAQUETARIO u/dl
1	10	51	46	29	>100	ANORMAL	
2	15	53	21	25	>100	ANORMAL	110

TABLA III
PACIENTES CON ENFERMEDAD DE von WILLEBRAND TIPO III

PACIENTE	T. DE SANGRIA >15 MIN	F VIII u/dl	FvW <1 u/dl	CoFR <1 u/dl	AGREGACION CON RISTOCETINA %
1	+	1,7	+	+	0
2	+	3,5	+	+	0
3	+	3,0	+	+	0
4	+	4,8	+	+	0

TABLA IV
ENFERMEDAD DE von WILLEBRAND ASOCIADA A OTRAS ENFERMEDADES

ENFERMEDAD ASOCIADA	Nº. DE PACIENTES	T. DE SANGRIA ALARGADO	F VIII <50u/dl	FvW <50u/dl	CoFR <50u/dl	AGREGACION CON RISTOCETINA < 60%
PURPURA TROMBOCITOPENICA INMUNE	3	3	3	3	3	3
HEMOGLOBINOPATIA SC	1	1	1	1	1	1
PROLAPSO DE VALVULA MITRAL	1	1	1	0	1	1

DISCUSION

De acuerdo a los resultados del presente trabajo, y en base al estudio de la población con manifestaciones hemorrágicas, se puede calcular una prevalencia de EvW para el Estado Zulia de $42,9/10^6$ habitantes y de $73/10^6$ habitantes en el área metropolitana de Maracaibo. Mientras la incidencia encontrada en Maracaibo es posible que sea cercana a la realidad, teniendo en cuenta que en la mayoría de los casos se hizo un cuidadoso estudio familiar, es factible que la incidencia para el Estado Zulia haya resultado inferior, debido a que existen zonas sobre todo en el medio rural, donde no hay laboratorios ni centros de salud adecuados que permitan sospechar el diagnóstico y por otro lado, es también probable que los casos con manifestaciones hemorrágicas leves no hayan solicitado atención médica. Sin embargo, ambas cifras han sido reportadas en otros países, por ej. Nilsson y col en Suecia en 1984 (13), estimaron una prevalencia de $70/10^6$ (20). La frecuencia relativa de EvW Tipo I es muy superior (88,5%) a la hallada en otros países como Inglaterra (61,7%) (7), Suecia (69,2%) (13), e Israel (61,8%) (11), esta diferencia pudiera en parte obedecer a que la clasificación en el presente estudio no se realizó mediante el análisis de multímeros. La forma severa de la EvW (tipo III) se presentó con una frecuencia de $1,8/10^6$ habitantes en el Estado Zulia y de $2,5/10^6$ en la ciudad de Maracaibo, la cual resulta muy alta si se compara con los países de Europa Occidental, donde varía entre 0,11 y $0,55/10^6$ (11) pero

semejante a los países escandinavos e Israel (3). Sin embargo, la frecuencia relativa en el Estado Zulia fue mucho más baja (4,1%) comparada con 29% encontrada en Israel. Dos de los pacientes con EvW Tipo III probablemente eran doble heterocigotos, se trataba de hermanas cuya madre y hermano presentaban EvW moderada y cuyo padre presentaba menos de 50 U/dl de CoFR. La madre de la 3a paciente también presentaba EvW moderada, sin poderse estudiar el padre y en el cuarto paciente, no fue posible realizar el estudio familiar.

Es también de interés señalar los 3 casos donde la enfermedad estuvo acompañada de trombocitopenia. Aunque la asociación ya ha sido reportada con anterioridad (2,5), es importante observar que 2 de los casos corresponden a hermanas, una de las cuales fue diagnosticada como PTA desde la infancia y la segunda durante el embarazo cuando presentó trombocitopenia, prolongación del tiempo de sangría y niveles de FVIII y FvW anormales. Cabe especular que estos casos pudieran tratarse de Evw de tipo plaquetario o de una de las variantes de EvW que cursan con trombocitopenia, sin embargo, la migración normal del factor vW en la inmunoelectroforesis cruzada y la deficiente agregación plaquetaria con ristocetina estarían en contra de esta presunción.

Aunque la clasificación exacta de las variantes de EvW no se puede realizar sin el análisis de la estructura multimérica del factor, lo cual será motivo de un próximo reporte, los casos clasificados como EvW Tipo IIb y III tienen una buena

probabilidad de ser correctos, por presentar los primeros déficit plasmáticos de FVIII, FvW y CoFR, con altas concentraciones de FvW en plaquetas y agregación con ristocetina de más del 100%. Los resultados obtenidos en los pacientes clasificados como EvW Tipo III son altamente sugerentes de este tipo de variante.

Los presentes resultados permiten concluir que la enfermedad de von Willebrand en el Estado Zulia, Venezuela, presenta una prevalencia semejante a la reportada en países europeos, donde se considera un problema de salud pública y por lo tanto es atendido eficientemente, garantizando a los pacientes el tratamiento sustitutivo y el apoyo social adecuado. Sería deseable que los organismos competentes en Venezuela, ante la magnitud del problema tomaran medidas conducentes a una mejor atención de estos pacientes.

AGRADECIMIENTO

Proyecto de investigación financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) y CONICIT, Venezuela.

ABSTRACT

Epidemiology of von Willebrand's Disease in Zulia State, Venezuela. Díez-Ewald M. (Instituto Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado 1151, Maracaibo, Venezuela), Vizcaino G., Arteaga-Vizcaino M., Fernández N.,

Weir-Medina J., Gómez O. *Invest Clin* 32(4): 187 - 199, 1.991

The prevalence of von Willebrand's disease (vWd) in Zulia State, Venezuela, was studied among patients referred because of hemorrhagic symptoms. Ninety six cases out of 684 patients aged six months to fifty years, were diagnosed as vWd by measuring FvW, FVIII and Ristocetin cofactor in plasma, along with determinations of the bleeding time and platelet aggregation with ristocetin. Crossed immune electrophoresis and determination of FvW concentration in platelets were also carried out in several patients.

The prevalence of the disease in Zulia State was $42.9/10^6$ inhabitants and in the metropolitan area of Maracaibo (capital city of Zulia State) was $73/10^6$ inhabitants. Eighty eight per cent of the patients were classified as vWd Type I, 2% as vWd Type IIb and 4,1% as Type III. Five cases were not classified.

Three patients with Type I vWd also suffered from Autoimmune Thrombocytopenic Purpura, one had a SC hemoglobinopathy and in one patient the disease coexisted with mitral valve prolapse.

The need for a proper attention to the patients with vWd is emphasized, as its prevalence in the region is similar to that found in european countries, where a great effort is applied to assure the adequate therapy and social support.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ALLAIN J.P., COOPER H.A., WAGNER R.H., BRINKHOUS K.M.: Platelet fixed with paraformaldehyde: a new reagent for assay of

- von Willebrand factor and platelet aggregation factor. *J Lab Clin Med* 85:318-328, 1972.
- 2- BERGMAN F., KOSHY M., CHEDIAK J., PRESPERIN C., GALL S.A.: Quantitative and qualitative platelet abnormalities during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 164:92-98, 1991.
 - 3- BERLINER S.A., SEHLIGSOHN U., ZIVELIN A., ZWANGE E., SOFFERMAN G.: A relatively high frequency of severe (type III) von Willebrand's disease in Israel. *Brit J Haematol* 62:535-543, 1983.
 - 4- BRECHER G., CRONKYTE E.P.: Morphology and enumeration of human blood platelets. In: "Technical Hematology". Simmons A (Ed). Philadelphia: J.B. Lippincott, pag 149, 1963.
 - 5- CORDER M.P., CULP N.W., BARRET O.Jr.: Familiar occurrence of von Willebrand's disease, Thrombocytopenia and severe gastrointestinal bleeding. *Am J Med Sci* 265:219-223, 1973.
 - 6- FISCHER R.R., LERNER C., BANDINELLI E., FONSECA A.S., ROISEMBERG I.: Inheritance and prevalence of von Willebrand's disease severe form in a brazilian population. *J Inher Metab Dis* 12:239-301, 1989.
 - 7- HOYER L.W., RIZZA C.R., TUDDENHAM E.G.D., CARTA C.A., ARMITAGE H., ROTBLAT F.: von Willebrand factor multimer pattern's in von Willebrand's disease. *Br J Haematol* 55:493-507, 1983.
 - 8- LAURELL C.B.: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Anal Biochem* 15:45-52, 1966.
 - 9- LAURELL C.B.: Antigen antibody crossed electrophoresis. *Anal Biochem* 10:358-361, 1963.
 - 10- LOPEZ-FERNANDEZ M.F., GINSBERG M.H., RUGGERI Z.: Multimeric structure of platelet FVIII/von Willebrand factor. The presence of higher multimers and their reassociation with thrombin stimulated platelets. *Blood*. 60:1132-1138, 1982.
 - 11- MANNUCI P.M., BLOOM A.L., LARRIEU M.J., NILSSON I.M., WEST R.R.: Atherosclerosis and von Willebrand factor. I. Prevalence of severe von Willebrand's disease in Western Europe and Israel. *Br J Haematol* 57:163-169, 1984.
 - 12- MIELKE C.H.Jr., KANESHIRO M.M., MAKER I.A., WEIMER J.M., RAPAPORT S.I.: The standardized normal bleeding time and its prolongation by aspirin. *Blood*. 34:204-215, 1969.
 - 13- NILSSON I.M.: von Willebrand's disease from 1926-1983. *Scand J Haematol* 33(suppl 40):21-43, 1984.
 - 14- OFICINA CENTRAL DE ESTADISTICA E INFORMATICA (OCEI). XII Censo de Población de Venezuela. Cifras Preliminares no corregidas.
 - 15- RAPAPORT S.I., SCHIEFMAN S., PATH M.J., WARE A.G.: A simple specific one stage assay for plasma thromboplastin antecedent (PTA) activity. *J Lab Clin Med* 51:771-780, 1961.
 - 16- RODEGHIRO F., CASTAMAN G., DINI E.: Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood* 69:454-459, 1987.
 - 17- RUGGERI Z.M., MANNUCI P.M., BADER R., BARBUI T.: Factor VIII related properties in platelets from patients with von Willebrand's disease. *J Lab Clin Med* 91:132-140, 1978.
 - 18- RUGGERI Z.M., DE MARCO L., GATTI L.: Platelets have more than one binding site for von Willebrand factor. *J Clin Invest* 72:1-12, 1983.
 - 19- RUGGERI Z.M., ZIMMERMAN T.S.: von Willebrand factor and von Willebrand disease. *Blood*. 70:895-904, 1987.

-
- 20- SCHEIBEL E., LAURSEN B., IN: INGERSLEV J.: von Willebrand factor, factor VIII and factor VIII/von Willebrand factor complex. Laegeforeningens Forlag. Kopenhagen 1990. Dinamarca.
- 21- TSCHOPP T.B., WEISS H.J., BAUMGARTNER H.R.: Decreased adhesion of platelet to subendothelium in von Willebrand's disease. J Lab Clin Med 83:296-300, 1974.
- 22- ZIMMERMAN T.S., RUGGERI Z.M.: von Willebrand's disease. In: Progress in Hemostasis and Thrombosis, vol 6:p203. Spaet T.H.(ed). Orlando, Fl. Grune & Stratton, 1982.
- 23- ZIMMERMAN T.S., RUGGERI Z.M., FULCHER C.A.: Factor VIII/von Willebrand factor in: Progress in Hematology, vol 3:p 279-309. Brown E.B.(ed), New York, 1983.