

## ESTUDIO MULTIMERICO Y MOLECULAR EN PACIENTES CON ENFERMEDAD VON WILLEBRAND TIPO 2

T. Fidalgo, L. Grazina, D. Marques, C. Silva Pinto, P. Martinho, E. Gonçalves, R. Salvado, N. Martins, M.L. Ribeiro

*Centro de Hemofilia. Departamento de Hematologia. Centro Hospitalar de Coimbra E.P.E. (Portugal)*

**Introducción:** La enfermedad de von Willebrand tipo 2 (EvW2) es consecuencia de anomalías funcionales y estructurales del factor von Willebrand (FvW). El subtipo 2N, caracterizado por una disminución de la afinidad del FvW al FVIII y una razón FVIII/FvWAg baja, está asociado a mutaciones en el dominio D'-D3. Los subtipos 2A, 2B y 2M, son caracterizados por valores de FvW discrepantes entre antígeno/actividad y antígeno/colágeno. El 2A, definido por disminución o ausencia de los multímeros de alto peso molecular del FvW (MAPM) está causado, en la mayoría de los casos, por mutaciones en los dominios A1 y A2. El 2B usualmente asociado a trombocitopenia, por aumento de afinidad de la GPIIb a los MAPM, es debido a mutaciones en el dominio A1 con ganancia de función. El 2M, tiene MAPM normales y una disminución de afinidad de la GPIIb debido a mutaciones también en el dominio A1 pero con pérdida de función.

**Objetivo:** Clasificar con base en la caracterización funcional, proteica y molecular 10 pacientes con EvW2 de nuestro Centro de Hemofilia.

**Métodos:** 10 pacientes, no relacionados, con EvW2. Clasificación de los tipos y subtipos EvW en base a criterios ISTH SSC/vWD. Cuantificación FvW: FvW:Ag, FvW:RCo y FvW:CB por técnicas ELISA; RIPA. Estudio multimerico: electroforesis en agarosa-SDS con densitometría. Estudio Molecular: exones 18-25 (dominio D'-D3) y exón 28 (dominio A1-A2) del genFvW por PCR y secuenciación nucleotídica directa.

**Resultados:** Cuatro pacientes con EvW2N presentaban mutaciones en el local de unión FVIII:C: tres homocigóticos R854Q y uno heterocigótico R816W (tabla 1) En los 6 pacientes con razón FvW:RCo/FvW:Ag < 0.7 y ausencia de MAPM (tabla2) identificamos 5 mutaciones diferentes en el exón 28, en heterocigotía: 2A (n=3) S1506L, I1628T y C1272F (no descrita); 2B (n=2) R1306W; 2M (n=1) F1369I y S1378F

**Discusión:** Los 3 pacientes 2N homocigóticos tienen un fenotipo moderado, como está descrito. Uno había sido diagnosticado originalmente como hemofílico A ligero. En el 2N R816W la heterocigotía no justifica los niveles bajos de FVIII ni la ausencia de FvW:VIIIb. La ausencia de otras mutaciones en el dominio de unión al FVIII sugiere como descrito por otros autores, la existencia de un alelo nulo. Solo uno de los 2 pacientes tipo 2B tenía trombocitopenia ( $54 \pm 20 \times 10^9$ ). Es previsible que la nueva mutación 2A C1272F, localizada en la primera cisteína del loop C1272-C1458, comprometa una región importante de interacción FvW/GPIIb. Pacientes con mutaciones S1506L, I1628T en el dominio A2 tienen el patrón multimérico de acuerdo con su proximidad a la ADAMTS13 Y1605/M1606. En el paciente 2M el patrón multimérico anormal es probablemente debido a la mutación S1378F asociada al tipo 1 como descrito (ISTH SSC/vWD *database*). Este abordaje - análisis multimérico del FvW para clasificar los subtipos de EvW y direccionar los estudios moleculares - nos permite hacer un diagnóstico más preciso y entender mejor la heterogeneidad de esta patología.