



## Revisión

## Características clínicas y diagnóstico genético de la Enfermedad de von Willebrand. Una revisión narrativa

### *Clinical characteristics and genetic diagnosis of von Willebrand Disease. A narrative review*

Dulce Lizbeth Ávila-Vázquez,<sup>1</sup> Guadalupe Gómez-Villalobos<sup>1</sup> y Gabriela Figueroa-González<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Pasante de la Carrera de Médico Cirujano, FES Zaragoza, UNAM

<sup>2</sup> Profesora de Tiempo Completo de la Carrera de Médico Cirujano, FES Zaragoza, UNAM

#### RESUMEN

**Introducción.** La enfermedad de von Willebrand (EvW), es un trastorno hematológico, producido por la deficiencia o disfunción del factor de von Willebrand (FvW), de patrón autosómico dominante en la mayoría de los casos, que clínicamente provoca hemorragias leves o graves, según sea el tipo de la enfermedad. **Objetivo.** Presentar el estado del arte del conocimiento de las características clínicas de la EvW y la importancia de pruebas de secuenciación masiva en el diagnóstico genético dentro del espectro clínico FvW. **Desarrollo.** Las alteraciones hematológicas que se presentan en la detección temprana de la EvW no son específicas, por lo que es indispensable la secuenciación genética, utilizando los métodos de nueva generación, que permiten reconocer variantes genéticas causantes de la enfermedad, para su clasificación de manera adecuada que permita proporcionar un tratamiento idóneo a los pacientes. Sin embargo, debido al polimorfismo del gen del factor de von Willebrand, resulta un desafío diferenciar las variantes neutras de las patológicas, principalmente en la EvW tipo 1. **Conclusión.** Las pruebas genéticas en la EvW tipo 1 son menos útiles y se realizan con menos frecuencia porque requieren un análisis de secuencia de todo el gen FvW, no se puede identificar una mutación causal en todos los casos, aunque cabe recordar que el fenotipo puede predecir el éxito del tratamiento (DDAVP o reemplazo de factor).

**Palabras clave:** Secuenciación de exoma completo, enfermedad de von Willebrand, polimorfismos, Sanger, variante patogénica.

#### ABSTRACT

**Introduction.** Von Willebrand disease (vWD), is an hematological disorder caused by deficiency or dysfunction of von Willebrand factor (vWF), with an autosomal dominant pattern in most cases, which clinically causes mild or severe bleeding, depending on the type of disease. **Aim.** This work aims to demonstrate the role of massive sequencing tests in genetic diagnosis within the clinical spectrum of FvW. **Narrative.** Within the diagnostic approach to vWD, genetic sequencing is of great importance, mainly new generation methods, which allow the recognition of genetic variants causing the disease, allowing its classification in an adequate way to provide an appropriate treatment to patients. However, due to the polymorphism of the von Willebrand factor gene, it is a challenge to differentiate the neutral variants from the pathological ones, mainly in type 1 vWD. **Conclusion.** Genetic testing in type 1 vWD is less functional and less frequently performed because it requires sequence analysis of the entire vWF gene, a causative mutation cannot be identified in all cases, and it should be recalled that the phenotype may predict the success of treatment (DDAVP or factor replacement).

**Keywords:** Whole exome sequencing, von Willebrand's Disease, polymorphisms, Sanger, pathogenic variant.

**Correspondencia:** Gabriela Figueroa-González

E.mail: gabriela.figueroa@zaragoza.unam.mx

Artículo recibido: 8 de noviembre de 2023

Artículo aceptado: 15 de diciembre de 2023

Ávila-Vázquez DL, Gómez-Villalobos G y Figueroa-González G. Características clínicas y diagnóstico genético de la Enfermedad de von Willebrand. Una revisión narrativa. *CyRS*. 2023; 5(2): 75-89 <https://doi.org/10.22201/fesz.26831422e.2023.5.2.7>



## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de von Willebrand (EvW) es considerada una enfermedad de baja prevalencia, causada por disfunción o deficiencia del factor de von Willebrand (FvW),<sup>1</sup> la cual es una glicoproteína plasmática multimérica que interviene en la agregación y adhesión de plaquetas en los sitios de lesión endotelial.<sup>2</sup>

Es considerada el trastorno hematológico hereditario más común, su prevalencia oscila del 0.6% al 1.3% a nivel mundial,<sup>3</sup> los pacientes que refieren síntomas hemorrágicos van de 30 a 100 casos por un millón, mientras que los pacientes que requieren transfusión tienen una prevalencia de 1 caso por cada 10 000 personas.<sup>4</sup> Según los datos de la CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*),<sup>4</sup> se presenta en el 1% de la población general, pero la prevalencia clínica de sangrado se presenta mayormente en mujeres durante la menstruación, embarazo y parto. Según sus estadísticas, entre 2012 y 2016, más de 14,600 hombres, mujeres y niños fueron atendidos en centros de tratamiento para enfermedades hereditarias de la coagulación, de los cuales 2/3 eran mujeres.<sup>4</sup>

En México no se tienen estadísticas exactas sobre la prevalencia de esta enfermedad, ya que está subdiagnosticada,<sup>5</sup> aunque se menciona que los síntomas clínicos pueden presentarse a cualquier edad.<sup>6</sup>

En 1926, Erik von Willebrand, médico finlandés, describió una paciente que clínicamente presentaba sangrado mucocutáneo y epistaxis, falleciendo a la edad de trece años durante la menarca. Dicha paciente tenía como antecedente, la muerte de cuatro miembros de su familia por hemorragias no controladas a temprana edad.<sup>7</sup> El Doctor Willebrand estudió a 66 miembros de la familia, descubriendo que los patrones clínicos de sangrado no eran compatibles con hemofilia, razón por la cual le llamó "Pseudohemofilia hereditaria", de igual forma, describió el patrón de herencia autosómica dominante, característica de esta enfermedad.<sup>7</sup> En 1980, se describió que el factor de von Willebrand era el responsable de esta enfermedad, y no el factor VIII.<sup>7,8</sup>

El propósito de esta revisión es presentar el estado del arte del conocimiento de las características clínicas y técnicas genéticas para el diagnóstico de la EvW, para que los estudiantes de posgrado y posgrado ten-

gan en mente la importancia de tener el conocimiento de las enfermedades de baja prevalencia, entre las que se encuentra la EvW.

## Fisiopatogenia

El gen del factor de von Willebrand (FvW) se encuentra localizado en el cromosoma 12p13.3 y se compone de 52 exones.<sup>9-11</sup> Se han descubierto más de 1200 variantes genéticas que pueden causar enfermedad de von Willebrand.<sup>2</sup> Un pseudogén en el cromosoma 22 incluye de 23-34 exones del gen del FvW que corresponde a los dominios A1, A2 y A3, mostrando una homología del 97%.<sup>2,12</sup>

La proteína de von Willebrand, una glicoproteína multimérica de gran tamaño, sintetizada en los megacariocitos, se encuentra compuesta de una serie de dominios homólogos, incluyendo tres dominios D, tres dominios A, un cuarto dominio D y seis dominios C, como se muestra en el Cuadro 1.<sup>13,14</sup> La terminación carboxilo de la proteína contiene un dominio terminal CTCK.<sup>14</sup> Durante la síntesis del FvW se forma la proteína llamada pre-pro-vWF; es un producto inicial de 300-350KDa (~2813 aa),<sup>10</sup> que contiene un péptido señal de 22aa, un propéptido de 741aa y una proteína madura de 2050aa, como se muestra en la Figura 1, en donde además se señalan sus 52 exones y dominios relacionados con la multimerización y dimerización, destacando el sitio de unión de los diferentes factores relacionados con la coagulación a sus dominios específicos.<sup>15</sup>

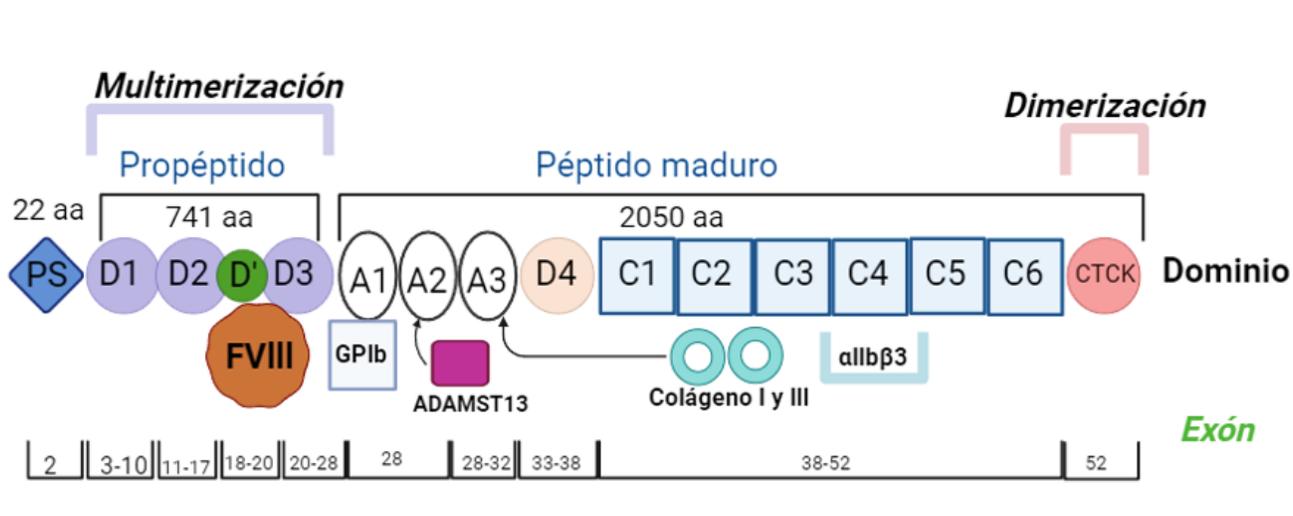
Cada dominio tiene propiedades funcionales diferentes y la secreción del factor de von Willebrand se puede producir mediante dos mecanismos:

- Sin estímulo: ocurre en la membrana basolateral dentro del lumen vascular.<sup>2</sup>
- Con estímulo: por respuesta a daño, mediante agonistas alfa adrenérgicos como la epinefrina (adrenalina), trombina, fibrina, histamina y vasopresina.<sup>2</sup>

En el plasma, su concentración media es de 500 a 1000 µg/dL, y al nacer, los niveles máximos del factor se alcanzan a los 6 meses, razón por la que esta enfermedad no se diagnostica en recién nacidos.<sup>2</sup>

**Cuadro 1. Dominios de la proteína de von Willebrand y su principal característica.<sup>15</sup>**

Dominio	Función
D'-D3	Sitio de unión para el factor VIII.
A1	Unión para las plaquetas GPIb, heparina, colágeno y ristocetina.
A2	Sitio de anclaje para ADAMST13 (modula el anclaje al colágeno). <sup>24</sup>
A3	Sitio de unión primaria para el colágeno.
C4	Sitio de unión para las integrinas $\alpha$ IIb- $\beta$ 3 (GPIIb/IIIa).
CTCK	Interfaz de dimerización.



**Figura 1. Estructura de la proteína de von Willebrand.<sup>24</sup>**

El factor de von Willebrand tiene 3 funciones principales en la hemostasia, dos de ellas en hemostasia primaria, actuando en los sitios de lesión como una molécula que une las plaquetas al subendotelio vascular, promoviendo la adhesión plaquetaria,<sup>16</sup> mientras que en sitios de gran lesión promueve la agregación plaquetaria. La tercera función es la formación de fibrina, pues actúa

como un transportador del factor VIII en la circulación,<sup>16</sup> incrementando cinco veces su vida media y manteniendo sus niveles normales, lo cual es esencial para que se produzca el tapón de fibrinógeno en la cascada de coagulación.<sup>2</sup>



La mayoría de los casos de esta enfermedad, en un 70-80%, son causados por la presencia de variantes patogénicas autosómicas dominantes en el gen del FvW.<sup>17</sup> Esto significa que solo se necesita una copia mutada del gen para causar la enfermedad, por lo tanto, se tiene un 50% de probabilidades de transmitir la variante a su descendencia.<sup>2</sup>

Alrededor del 20-30% de los casos, son causados por variantes autosómicas recesivas en el gen del FvW, lo cual quiere decir que se necesitan las dos copias mutadas del gen para causar la enfermedad. Los padres de un niño con enfermedad de von Willebrand con patrón autosómico recesivo portan una copia del gen mutada, cada uno, sin embargo, no presentan síntomas de la enfermedad.<sup>2</sup>

## CLASIFICACIÓN

La Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH), propone la siguiente clasificación para la enfermedad de von Willebrand.<sup>2,18</sup>

**Tipo 1:** Es la más común, pues se presenta en un 75% de los casos. Es caracterizada por una deficiencia cuantitativa del factor de von Willebrand, de patrón autosómico dominante, y a pesar de ser completamente genética, no en todos los individuos se encuentra una variante patogénica (VP) reconocida.<sup>2,9,18</sup>

En 2021 se agregó el tipo 1C por la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia, descrita como una deficiencia parcial del factor de von Willebrand (WFV antígeno y/o <30% de actividad o del 30-50% con historial de sangrado), en la cual la vida media del FvW se ve disminuida.<sup>2,19</sup>

El espectro mutacional de la EvW tipo 1 consta de variantes de sentido erróneo, variantes que afectan a los intrones y reducen los niveles de FvW,<sup>18</sup> mediante tres mecanismos:<sup>2</sup>

(i) Disminución de la producción. Hay afección de alelos que resultan en una variante patogénica, que produce degradación del mRNA en casos severos.

(ii) Disminución de la secreción. Caracterizada por variantes que interfieren con el transporte y retienen el FvW en el retículo endoplásmico, aparato de Golgi o en los cuerpos de Weibel-Palade.

(iii) Incremento del aclaramiento/depuración (1C). Al incrementar la depuración en la circulación, los niveles del FvW son menores, en estos casos las variantes patogénicas que afectan la depuración, por lo general afectan el dominio D3, siendo más altas en las terminales amino y carboxilo.

La vida media del FvW en la circulación es de aproximadamente 8 a 12 horas. Los mecanismos patogénicos que causan la eliminación acelerada del FvW son identificables por un aumento de la relación propéptido vWF a FvW:Ag.<sup>19,22</sup>

**Tipo 2:** Caracterizada por anomalías cualitativas, en la que se identificaron 4 subtipos: 2A, 2B, 2M y 2N, en los últimos dos hay una disfunción de proteínas y son subtipos más severos.<sup>2,5</sup>

La EvW tipo 2 es causada por variantes heterocigotas que alteran la función de la proteína del FvW. Presentan un patrón de herencia autosómica dominante, aunque la 2N puede ser autosómica recesiva.<sup>2,23</sup>

La cantidad de las proteínas puede ser normal, sin embargo, se caracterizan por una diferencia entre los niveles de proteínas (VFW: Ag) y la actividad del FvW dependiente de plaquetas, como la del cofactor de la ristocetina o vinculado a una VP de la glicoproteína Ib (GPIb).<sup>2,21</sup>

**Tipo 2A:** presente del 10 al 20% de casos.<sup>2</sup> En este subtipo hay una reducción de multímeros grandes, debido a que se reduce la dimerización/multimerización de los alelos. Esto es causado por diferentes tipos de variantes que incluyen de sentido erróneo, (90%), deleciones, inserciones y corrimiento del marco de lectura.<sup>2</sup>

Generalmente, se localizan en las regiones CK, D2 (produce los monómeros maduros) o D3.

- 2A grupo 1: ocurre una retención intracelular, biosíntesis defectuosa o almacenamiento anormal de FvW.<sup>2</sup>

- 2A grupo 2: se encuentran en el sitio de escisión de ADAMTS13, aumentando la proteólisis de esta proteína (Figura 1).<sup>2,24</sup>

**Tipo 2B:** De patrón autosómico dominante, se caracteriza por una pérdida de multímeros de alto peso molecu-

lar y mayor unión del FvW a las plaquetas, por la glicoproteína Ib (GPIb). Generalmente, se afecta el dominio A1 y en menor grado el D3, siendo el 95% variantes de sentido erróneo.<sup>2</sup> Existen dos patologías que se encuentran en este subtipo:

- Síndrome de Montreal Platelet: la cual cursa con una trombocitopenia moderada/severa, caracterizada clínicamente por sangrado mucocutáneo. Se ha demostrado que los pacientes con este síndrome tienen enfermedad de von Willebrand tipo 2B debido a la VP en el gen FvW:p.V1316M en el exón 28.<sup>2</sup>
- Tipo 2B New York/Malm: Esta variante se caracteriza por un patrón normal de multímeros de alto peso molecular al inicio del estudio, con pérdida de multímeros de alto peso molecular y desarrollo de trombocitopenia en situaciones de estrés que conducen a una mayor liberación del FvW mutante. Esto se debe a VP que afectan el dominio D3.<sup>2</sup>

**Tipo 2M:** Presenta un patrón de herencia autosómico dominante, caracterizado por la disminución de la unión a plaquetas GPIb, o en menos casos al colágeno. Las variantes génicas de este tipo de la enfermedad por lo general se encuentran en el dominio A1, mientras que las variantes del colágeno son A1 y A3.<sup>2,25</sup>

**Tipo 2N:** Comprende un patrón autosómico recesivo,<sup>23</sup> es caracterizado por una disminución de la unión al factor VIII de la coagulación.<sup>5</sup> La mayor parte de variantes se distribuyen a lo largo de la región amino-terminal en el aminoácido 91 del monómero de FvW maduro, incluyendo los dominios D' y D3. En estos casos, los pacientes pueden tener valores normales de VFW:Ag y actividad normal del cofactor de ristocetina en los estudios de laboratorio.<sup>2,26</sup>

**Tipo 3:** Es muy rara, su prevalencia se estima de 1 en 1 millón en la población general. Se particulariza por una deficiencia total de FvW, lo que clínicamente provoca un sangrado severo. Es causada por VP en homocigotos o heterocigotos compuestos del FvW, con un patrón autosómico recesivo, lo cual provoca la ausencia de producción de FvW. Las variantes génicas más comunes son de tipo delección completa, siendo la más encontrada en el exón 18.<sup>2,26,27</sup>

## ASPECTOS CLÍNICOS

La presentación clínica de la enfermedad de von Willebrand se caracteriza principalmente por sangrado de mucosas como gingivorragia, epistaxis y petequias en casos leves, mientras que en casos más graves se presenta sangrado de tubo digestivo por angiodisplasia (comúnmente en los tipos 2 y 3)<sup>28,29</sup> y hemartrosis.<sup>2</sup>

En las mujeres con esta enfermedad es importante tener en cuenta la menorragia, las hemorragias durante el embarazo y parto, así como el puerperio.<sup>30,31</sup>

El sangrado es multifactorial, pues como bien explica la fisiopatología, hay disminución de plaquetas en los sitios de lesión vascular, disminución de la agregación de plaquetas en regiones de lesión con rápido flujo sanguíneo, y reducción de la actividad de factor VIII.

Otro aspecto importante en los pacientes es la púrpura trombocitopénica, la cual está relacionada con los multímeros ultra largos del factor de von Willebrand, que se acumulan en los vasos pequeños y que causan microtrombos en ausencia de ADAMTS13.<sup>17</sup> Los pacientes con trombocitopenia generalmente presentan equimosis superficiales y pequeñas, que según el grado de trombocitopenia será la gravedad.<sup>2,8</sup> En el Cuadro 2 se muestran los tipos de EvW con sus principales características clínicas de sangrado y patrones de herencia. Cabe destacar, que, aunque la enfermedad es predominantemente autosómica dominante, los tipos 2N y 3, son autosómico recesivas.

## DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Clínicamente es importante hacer una buena anamnesis, interrogar adecuadamente el padecimiento actual, hacer énfasis en los antecedentes heredofamiliares sobre trastornos hematológicos o cuadros clínicos similares al presentado por el paciente,<sup>32</sup> asimismo, es importante recordar que el hecho de no tener antecedentes heredofamiliares compatibles no excluye al paciente de padecer esta enfermedad.<sup>33,34</sup>

El uso de las ISTH-BAT bleeding assessment tool, es un instrumento de tamizaje útil para el diagnóstico de los pacientes con dicha enfermedad.<sup>35,36</sup>

**Cuadro 2. Clasificación y características de la EvW.**

Tipo de EvW	Características clínicas.	Patrón de herencia
Tipo 1	Sangrado moderado-severo.	Autosómica dominante
Tipo 2	Sangrado moderado-severo.	Autosómica dominante
Tipo 2A	Sangrado moderado-severo.	Autosómica dominante
Tipo 2B	Trombocitopenia.	Autosómica dominante
Tipo 2M	Sangrado severo.	Autosómica dominante
Tipo 2N	Clínica similar a hemofilia A, hematuria, hemartrosis y hemorragia de tejidos blandos.	Autosómica recesiva
Tipo 3.	Clínica similar a hemofilia A, hematuria, hemartrosis y hemorragia de tejidos blandos.	Autosómica recesiva

**PRUEBAS DE LABORATORIO**

Las pruebas de laboratorio que nos ayudan como auxiliares diagnósticos en este contexto clínico son: la biometría hemática (conteo plaquetario), tiempos de sangrado, tiempo de trombina, tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo de protrombina.<sup>32</sup> Cuando estas pruebas son normales, pueden excluir algún trastorno hemostático que tenga significado clínico,<sup>15,37</sup> mientras que cuando los tiempos de coagulación son alargados, puede interpretarse como una deficiencia de algún factor o anticuerpo inhibidor de las proteínas de la coagulación.<sup>15</sup>

Dentro de las pruebas específicas tenemos la actividad del FvW como cofactor de la ristocetina (vWF:RCo), que es una de las principales pruebas diagnósticas,<sup>38</sup> además, se cuenta con el FvW antigénico (vWF:Ag), FVIII coagulante (FVIII:C), y aglutinación de plasma rico en plaquetas con ristocetina (RIPA).<sup>15,39</sup> General-

mente, en las pruebas donde se mide la respuesta a la ristocetina, esta se encuentra disminuida, ya que es un agonista del receptor de la GPIb-IX y el FvW,<sup>38</sup> además, recordemos que es importante analizar la capacidad de unión del FvW al colágeno y al FVIII (vWF: CB y vWF:VIII),<sup>40</sup> así como, la función plaquetaria (PFA-100), que es funcional para medir el tiempo de sangrado. En el Cuadro 3 se muestran dichas pruebas con sus valores de laboratorio, acorde con cada variante de la enfermedad.<sup>8,15</sup>

Al momento de medir la cantidad de FvW es importante considerar que múltiples estudios demuestran que las personas con sangre tipo O han mostrado tener niveles más bajos de FvW que la población normal,<sup>20</sup> en un 25-30% menos,<sup>13</sup> sin considerarse portadores de la enfermedad, por otro lado, las personas con hemotipo AB presentan mayor concentración del FvW<sup>13,17,34,41</sup> (Cuadro 4)

**Cuadro 3. Clasificación y características de la EvW.**

Tipo de von Willebrand	Característica	FVIII	RCo	FvW	Proporción RCo:FvW/ FvW:Ag	Multímeros	Pruebas especiales
Valores normales	-	50-150%	50-200%	50-200%	>0.6	Normales	-
Tipo 1	Deficiencia cuantitativa	↓ o normal	<30%	<30%	>0.6%	Reducidos, distribución normal.	-
Tipo 1C	Aumento del aclaramiento de FvW	↓ o normal	↓	↓	>0.6%	-	Prueba de ADN del exón 28.
Tipo 2A	Defecto de FvW cualitativo	↓ o normal	↓	↓ o normal	<0.6	Pérdida de formas. Ausencia de agregados de peso molecular medio y alto.	Prueba de ADN del exón 28.
Tipo 2B	Pérdida de multímeros de alto peso molecular	↓ o normal	↓	↓ o normal	<0.6	Pérdida de formas.	↑ RIPA (↓ conteo plaquetario)
Tipo 2M	Defecto cualitativo	↓ o normal	↓	↓ o normal	<0.6	Pérdida de formas.	↓ actividad de unión al colágeno
Tipo 2N	Defecto cualitativo en la unión al FVIII	↓↓	Normal	Normal	>0.6	Normal	-
Tipo 3	Ausencia de FvW	↓↓	<3%	<3%	Ausencia	Ausencia	-

**Cuadro 4. Características de los estudios más relevantes sobre la enfermedad de von Willebrand.**

Autor	Tipo de artículo	Objetivo	Hallazgos
Zolkova <i>et al.</i> (2020) <sup>21</sup>	Revisión	Presentar varios genes distintos del FvW o ABO que posiblemente afectan los niveles del FvW.	<p>Los métodos de secuenciación tienen un enfoque diagnóstico importante en la EvW para su correcta clasificación. El método Sanger era considerado el gold standar, sin embargo, los métodos de secuenciación de nueva generación la han ido reemplazando por su efectividad y menor costo</p> <p>La secuenciación del exoma completo (WES) y la secuenciación del genoma completo (WGS) son accesibles en un número muy limitado de laboratorios. Los resultados de estos estudios han presentado varios genes distintos del FvW o ABO que posiblemente afecten a los niveles de FvW.</p> <p>En lugar de enfoques gen por gen, los paneles genéticos de genes para factores de coagulación y proteínas relacionadas se han convertido recientemente en un centro de atención en pacientes con trastornos hemorrágicos hereditarios, especialmente porque una alta proporción de pacientes con EVW, principalmente aquellos con niveles plasmáticos bajos de FvW (tipo 1), parecen estar libres de mutaciones en el FvW.</p>
Baroncini <i>et al.</i> (2017) <sup>30</sup>	Revisión	Mostrar las técnicas utilizadas para la caracterización molecular de pacientes con sospecha de EvW.	<p>Las pruebas moleculares presentan importancia crucial en el diagnóstico de la EvW al momento de encontrar la variante patogénica que provoca esta enfermedad, complementadas con las pruebas fenotípicas, ayudan a un mejor diagnóstico y tratamiento de los pacientes. El análisis directo de secuencias de ADN (método Sanger) y el análisis secuencial de nueva generación (NGS), son dos de las técnicas principales que permiten la caracterización molecular de pacientes con EvW, identificando variantes patogénicas, principalmente en los tipos 2 y 3; sin embargo, los pacientes con EvW tipo 1, se benefician del uso de NGS con análisis de dosificación, pues un 30% de los pacientes no muestran variantes génicas en la codificación del FvW, sin embargo, tienen una disminución del FvW.</p>
Padilla <i>et al.</i> (2015) <sup>34</sup>	Revisión	Integrar las recomendaciones internacionales y la experiencia de trabajos nacionales recientes para proponer un algoritmo diagnóstico de EvW centrado en las características de la población mexicana.	<p>Se menciona la importancia diagnóstica del análisis multimérico (considerado el estándar de oro) del FvW, para diferenciar entre los tipos 2A, 2B, 2M y 2N, principalmente, aunado al análisis genético, considerando los tipos sanguíneos del sistema ABO, debido a que los niveles bajos de FvW en individuos con sangre tipo O, pueden confundirse con EvW tipo 1 leve. El diagnóstico genético, debido a su complejidad por su polimorfismo y el pseudogén del cromosoma 22 que podría causar confusión en los resultados de secuenciación, se hace hincapié en contemplar el estudio de los exones 18, 19, 20, 28, 45 y 52, por su alta probabilidad de presentar mutaciones, así como considerar la búsqueda dirigida de mutaciones por dominio específico, con antecedente del diagnóstico clínico y de laboratorio.</p>

**Cuadro 4. Características de los estudios más relevantes sobre la enfermedad de von Willebrand.**

Autor	Tipo de artículo	Objetivo	Hallazgos
Alzahrani et al. (2020) <sup>41</sup>	Artículo original	Evaluar la asociación fenotípica-genotípica del gen del factor Von Willebrand (exón 18 y 20) en sujetos sanos para establecer estrategias de diagnóstico molecular efectivas.	<p>Las personas con sangre tipo O mostraron niveles de FvW menores a lo normal del límite de comparación (48 UI/dL), concordando con los estudios que han demostrado que los niveles de FvW interactúan con los grupos sanguíneos ABO, reportando que las personas con el grupo sanguíneo O tienen alrededor de un 25 % de reducción del FvW que las personas que no tienen grupos sanguíneos O. En cuanto al estudio de exones 18 y 20, se encontró que en el exón 18 de personas sanas, se observaron tres variaciones de secuencia inusuales (1 missense y 2 sinónimas; rs775479826, rs1286572448 y rs369828268) en comparación con otras variaciones registradas de FvW (3 missense y 1 sinónimos c.2365A&gt;G, c.2385T&gt;C, c.2344C&gt;T y c.2340C&gt;G). Pero en el exón 20 solo se identificó 1 mutación sinónima (rs113240752), 1 variación del FvW registradas en sentido erróneo (c.2555G &gt; A). Lo que demuestra que estas mutaciones no registradas, pueden ser la pauta para registrar nuevas mutaciones y ampliar el campo diagnóstico mediante el análisis de exones.</p>
Fogarty et al. (2020) <sup>48</sup>	Revisión	Resumir los resultados recientes del ensayo de fase III de NCT02973087 con respecto al uso de profilaxis de rutina a largo plazo dos veces por semana con rVWF para la prevención de eventos hemorrágicos en pacientes con EvW tipo 3 grave.	<p>La EvW supone un reto diagnóstico para el personal de salud, debido a que los pacientes generalmente no presentan alteraciones en el conteo plaquetario ni en los tiempos de coagulación, sin embargo, las nuevas actualizaciones diagnósticas, muestran que el uso de cuestionarios avalados por International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), durante la anamnesis son de gran utilidad en el diagnóstico. Dentro de los dos principales están los Marcadores clínicos y moleculares condensados para el diagnóstico y manejo de la puntuación de la vWD tipo 1 (MCMDM-1, por sus siglas en inglés) y un BAT (number of standardised bleeding assessment tools) avalado por la ISTH. Dentro de las pruebas de laboratorio se han desarrollado inmunoensayos de látex automatizados para vWF:Ag, que han mostrado ser más rápidos y sus resultados se comparan a los obtenidos por ELISA estándar, sin embargo, se han reportado falsos positivos en presencia de factor reumatoide.</p> <p>Con respecto al papel del estudio genético en pacientes con EvW, no se tiene una respuesta clara, ya que el gen es muy polimórfico, y por la presencia del pseudogén en el cromosoma 22, que tiene una homología de secuencia de aproximadamente el 97 % con los exones 23–24 del FvW, además, en la EvW tipo 1, las mutaciones codificantes del FvW son más comunes en pacientes con niveles plasmáticos de vWF:Ag &lt;30 UI/dl, según algunos estudios de cohorte. Por otro lado, es clínicamente útil para confirmar el diagnóstico de la EvW tipo 2 (p. ej., en los tipos 2B y 2N) y, en particular, para discriminar entre la hemofilia A leve y la EvW de tipo plaquetario. Además, el análisis molecular también puede ser útil para el asesoramiento y el diagnóstico prenatal en familias con EvW tipo 3.<sup>23</sup></p>



Cuadro 4. Características de los estudios más relevantes sobre la enfermedad de von Willebrand.

Autor	Tipo de artículo	Objetivo	Hallazgos
Laffan <i>et al.</i> (2020) <sup>50</sup>	Revisión	Proporcionar una descripción general del diagnóstico y tratamiento de la EvW, consideraciones especiales en el tratamiento de mujeres con EvW y enfoques genómicos actuales para la EvW.	<p>El diagnóstico genético de la EvW, provee de información que permite identificar variantes genéticas causantes de la enfermedad, que posibilitan su diagnóstico, clasificación, tratamiento, asesoramiento y evitar el sobrediagnóstico mediante la identificación de variantes benignas (por ejemplo, p.D1472H) que afectan artefacticamente los ensayos basados en ristocetina. Actualmente, la secuenciación genética más utilizada por su practicidad es la Next-generation sequencing (NGS), pues puede secuenciar todo el gen, secuenciar otros genes, y además permite diferenciar al pseudogén del cromosoma 22. Se han reconocido más de 1200 variantes en el DNA, que conforman la base de datos genética de la enfermedad. Los pacientes que presentan una variante genética identificada y un genotipo relacionado se correlacionan fuertemente con el fenotipo característico de la enfermedad.</p> <p>Es importante considerar a la población estudiada, pues la mayoría de los estudios son en población europea, sin embargo, las poblaciones afroamericanas, han demostrado presentar "mutaciones" que son comunes en este grupo étnico, presentando niveles normales de FvW.</p> <p>Genes como el CLEC4M y STXBP5, han demostrado estar implicados en la modificación de la EvW, de tal forma, es importante recordar que el grupo ABO debe considerarse. El método Sanger fue el principal durante mucho tiempo, sin embargo, debido al gran tamaño del FvW, generalmente se centra en el exón 28, lo cual no es suficiente, pues las variantes pueden estar presentes en todo el gen, además, es insensible a variantes estructurales (deleciones o conversiones genéticas), lo cual es común en la EvW tipo 3 y 1.</p>

EvW: enfermedad de von Willebrand; FvW: factor de von Willebrand

## DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Las pruebas genéticas son una herramienta que nos permite confirmar el genotipo de un paciente, para brindar un asesoramiento genético con el riesgo de recurrencia familiar.<sup>9</sup> Además de brindar un diagnóstico más específico, permite identificar variantes patogénicas, las cuales ya se encuentran en bases de datos internacionales.

El método Sanger permite establecer la secuencia de nucleótidos de un fragmento de ADN, no obstante, los métodos de secuenciación masiva en paralelo (SMP) han cobrado importancia en la actualidad,<sup>42-44</sup> debido a que permite la secuenciación de gen único, panel de genes, exoma completo,<sup>45</sup> y genoma completo.<sup>21,30,37</sup>

Sin embargo, cabe recordar que la secuencia del FvW es rica en variantes polimórficas,<sup>12</sup> lo cual puede dificultar su interpretación, principalmente en el caso de la EvW tipo 1<sup>18</sup> donde se han identificado más de 250 variantes,<sup>46</sup> pero solo un cuarto de ellas son reconocidas como patogénicas,<sup>21</sup> por otro lado, es importante puntualizar que están presentes a lo largo de todo el gen, en regiones codificantes y no codificantes,<sup>21</sup> por lo tanto, considerar la secuenciación de genoma completo puede ser crucial,<sup>40</sup> aunque no es muy factible debido a su alto costo, grandes tiempos de espera de resultados y difícil interpretación.<sup>12</sup> Dentro de las variantes reportadas se encuentran pequeñas deleciones/inserciones, de sitio de corte y empalme, variantes sin sentido, en regiones intrónicas o elementos reguladores distantes cada uno representando menos del 10% de las variantes identificadas, las cuales son parecidas a las encontradas en los pacientes con EvW tipo 3,<sup>27</sup> presentando un reto diagnóstico para el personal de salud.<sup>8,21,30,34</sup>

Por otro lado, en la EvW tipo 2, las pruebas genéticas tienen mucho impacto,<sup>14</sup> ya que la mayoría de las VP se localizan en los exones 18 a 24 (tipo 2N) y en el exón 28 (tipo 2A, 2B y 2M), consecuentemente, la secuenciación masiva en paralelo se prefiere en cuanto a costo y tiempo.<sup>21</sup>

Al hablar de la EvW tipo 3, la importancia de las pruebas genéticas se relaciona con la evaluación del riesgo preconcepcional y en su caso, prenatal, mediante el estudio de vellosidades coriónicas o líquido amniótico.<sup>21</sup>

Las pruebas genéticas en la EvW tipo 1 son menos útiles y se realizan con menos frecuencia porque requieren un análisis de secuencia de todo el gen FvW, sin poder identificar una variante patogénica en todos los casos. Por lo tanto, las pruebas genéticas no deben realizarse como prueba de detección inicial en la EvW tipo 1. Es importante recordar que tampoco se recomiendan las pruebas genéticas para diferenciar a los pacientes con niveles de FvW reducidos o limítrofes de un estado normal, porque hay casos de pacientes como aquellos con hemotipo O que presentan niveles más bajos de FvW, sin tener la enfermedad. Las pruebas genéticas pueden ser útiles en formas más graves de EvW tipo 1, es decir, en pacientes con niveles plasmáticos de FvW inferiores a 15 UI/dL, donde la mayoría tiene mutaciones de FvW altamente penetrantes, con hemorragias severas.<sup>21,32</sup>

En nuestra experiencia, se realizó una secuenciación de exoma completo en 6 pacientes, de los cuales 5 fueron negativos y un paciente se reportó como significado incierto. Los pacientes clínicamente presentaron epistaxis, sangrado de tubo digestivo y coagulopatías. En el caso del paciente reportado como VP de significado incierto, se reclasificó como Trombastenia de Glanzmann; sin embargo, cabe recordar que el abordaje clínico y de laboratorio es importante, pues niveles de cofactor de la ristocetina (vWF:RCo) menores a 30 UI/dL son diagnósticos, y las pruebas genéticas son un complemento diagnóstico de la enfermedad.<sup>2,8,45</sup>

## TRATAMIENTO

El objetivo terapéutico es elevar las concentraciones endógenas de las células endoteliales, usando desmopresina (DDAVP) o aportando FvW exógeno, por concentrados de FvW.<sup>2</sup>

- Desmopresina (DDAVP).

Derivado de la vasopresina (hormona antidiurética), estimula la liberación de FvW endógeno por los cuerpos de Weibel-Palade en las células endoteliales, por los receptores V2 de vasopresina.<sup>2,47,48</sup> Se usa más en el tipo 1, y a veces en la 2A y 2M.<sup>2,47,48</sup>

Posología: 48-72 h con intervalos de 24-48 h a dosis de 0.3 µg/kg (dosis máxima de 25-30 µg/kg) IV durante 30 min.<sup>2,26</sup>



Administración ambulatoria: vía nasal, con 150 µg por fosa nasal (dosis total 300 µg para personas con >50 kg de peso corporal).<sup>2,26</sup>

Las concentraciones máximas del FvW y FVIII se alcanzan 1-2 h después de la administración.<sup>26</sup> Es importante recordar que el tratamiento debe iniciarse con seguimiento de las proporciones FvW:Ag y FvW:RCo y del FVIII, antes, alrededor de 1 h después y, de nuevo, entre 4 y 6 h después de la DDAVP.<sup>26</sup>

Efectos secundarios: hiponatremia y anafilaxia. Inmediatos: hipotensión, sofoco, náusea, cefalea.<sup>26</sup>

La reposición de factores de la coagulación se utiliza solo es en casos donde los pacientes se someterán a algún procedimiento quirúrgico.<sup>20</sup> En la EvW tipo 3 el uso de factores recombinantes se prefiere debido a que eliminan el riesgo de infecciones virales, además, es una alternativa para los pacientes que no aceptan componentes sanguíneos.<sup>26,49</sup> La transfusión de plaquetas solo está indicada en pacientes con EvW tipo 3 que presentan hemartrosis, epistaxis severa, menstruación, o angiodisplasia.<sup>1</sup> En este último caso, puede ser necesario el uso de electrocoagulación cuando las lesiones son pequeñas.<sup>28</sup>

Hemostáticos complementarios: antifibrinolíticos, ácido e-aminocaproico, ácido tranexámico.<sup>26</sup>

## CONCLUSIÓN

Como se ha destacado en esta revisión narrativa, la enfermedad de von Willebrand es una enfermedad de baja prevalencia, con dos tipos de herencia genética, en la cual, el diagnóstico clínico nos permite encaminar el diagnóstico molecular, que en la mayoría de los tipos de esta enfermedad, nos da un diagnóstico certero; sin embargo, el uso de pruebas genéticas es útil para identificar posibles variantes patogénicas causales, en especial en la EvW tipo 2, caracterizada por deficiencias cualitativas, donde las pruebas moleculares como el co-factor de ristocetina o la cuantificación del FvW, pueden no estar alteradas.

Los retos diagnósticos de la medicina actual en el ámbito de las enfermedades con baja prevalencia, abren la puerta al mundo de las pruebas de biología molecular, puesto que permiten identificar variantes patogénicas

en pacientes con un fenotipo en específico, además, son un apoyo diagnóstico a las pruebas de laboratorio comunes en estos casos, sin olvidar que un diagnóstico certero conlleva a brindar una terapéutica apropiada a los pacientes con la intención de llegar a la aplicación real de la medicina personalizada o de precisión, que nos permita conocer el riesgo de recurrencia y prevenirlo como sucede con la terapia preimplantacional.

## AGRADECIMIENTOS

El manuscrito fue revisado y editado en el Programa para la Investigación Bibliográfica Científica sobre Salud (PIBCIS) de la FES Zaragoza, UNAM.

## REFERENCIAS

1. Echahdi H, El Hasbaoui B, El Khorassani M, Agadr A, Khattab M. Von Willebrand's disease: case report and review of literature. *Pan Afr Med.* 2017; 27:147. doi: 10.11604/pamj.2017.27.147.12248
2. James P. Pathophysiology of von Willebrand disease. Up To Date. 2022. Available from: <https://medilib.ir/uptodate/show/1309>
3. Majluf-Cruz A, Velez-Ruelas MA, Gonzalez-Avila AI, Garcia-Chávez J, Berges A, Lopez-Santiago N, et al. von Willebrand's disease in Mexico: a pilot study. *Hemophilia.* 2013; 19(2): 231-235. doi:10.1111/hae.12016.
4. Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. Datos y estadísticas de Von Willebrand. Atlanta, Georgia, USA: CDC; 2023. Disponible en: <https://www.cdc.gov/ncbddd/spanish/vwd/data.html>
5. Morales-De la Vega A, Reyes-Maldonado E, Martínez-Murillo C, Quintana-González S. Enfermedad de von Willebrand tipo 2N "Normandy". *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2008; 46(1): 55-62.
6. Instituto Mexicano de Seguro Social MSS. Diagnóstico y Tratamiento enfermedad de von Willebrand hereditaria. Personas de todas las edades. Segundo y Tercer Nivel de Atención. Guía de práctica clínica. Ciudad de México: Instituto Mexicano del Seguro Social; 2017. Disponible en: <http://www.cenetec.salud.gob.mx/contenidos/gpc/catalogoMaestroGPC.html>

7. Sánchez C, Peñaloza R. Análisis molecular en el exón 28 del gen VWF en pacientes mexicanos con posible Enfermedad de von Willebrand. [Tesis]. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán; 2010, p 2-5.
8. Woods A, Blanco A, Kempfer A, Paiva J, Bermejo E, Sánchez A *et al.* Factor von Willebrand y Enfermedad de von Willebrand: nuevos enfoques diagnósticos. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2016; 50(2): 273-289.
9. Wang Y, Wang X, Lu Y, Zhang A, Yu W, Hu Q *et al.* Compound heterozygosity for novel von Willebrand factor genetic variants associated with von Willebrand disease in two Chinese patients. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2023; 34(1): 33-39. doi:10.1097/MBC.0000000000001174
10. Chen M, Shen M-C, Chang S-P, Ma G-C, Huang Y-C, Lin C-Y. Origin and timing of de novo variants implicated in type 2 von Willebrand disease. *J Cell Mol Med.* 2022; 26(21): 5403-5413. doi:10.1111/jcmm.17563.
11. Zhang ZP, Lindstedt M, Falk G, Blombäck M, Egberg N, Anvret M. Nonsense mutations of the von Willebrand factor gene in patients with von Willebrand disease type III and type I. *Am J Hum Genet.* 1992; 51(4): 850-858.
12. Corrales I, Catarino S, Ayats J, Arteta D, Altisent C, Parra R *et al.* High-throughput molecular diagnosis of von Willebrand disease by next generation sequencing methods. *Haematologica.* 2012; 97(7): 1003-1007. doi:10.3324/haematol.2011.055285
13. Márquez-Benítez Y, Lancheros-Silva AM, Díaz-Chaves E. Grupos sanguíneos y su relación con los niveles plasmáticos del Factor de von Willebrand. *Univ Salud.* 2019; 21(3): 277-287. doi:10.22267/rus.192103.165
14. Kim HJ, Kim SK, Yoo KY, Lee KO, Yun JW, Kim SH *et al.* Molecular genetics of von Willebrand disease in Korean patients: Novel variants and limited diagnostic utility of multiplex ligation-dependent probe amplification analyses. *Ann Lab Med.* 2019; 39(6): 545-551. doi:10.3343/alm.2019.39.6.545
15. Hernández-Zamora E, Zavala-Hernández C, Quintana-González S, Reyes-Maldonado E. Enfermedad de von Willebrand, biología molecular y diagnóstico. *Cir Cir.* 2015; 83(3): 255-264 doi:10.1016/j.circir.2015.05.010
16. Elsheikh E, Lavin M, Heck LA, Larkin N, Mullaney B, Doherty D *et al.* Heterogeneity in the half-life of factor VIII concentrate in patients with hemophilia A is due to variability in the clearance of endogenous von Willebrand factor. *J Thromb Haemost.* 2023; 21(5): 1123-1134. doi:10.1016/j.jtha.2023.01.013
17. Sadler B, Castaman G, O'Donnell JS. von Willebrand disease and von Willebrand factor. *Haemophilia.* 2022; 28 (4): 11-7. doi:10.1111/hae.14547
18. Flood VH, Garcia J, Haberichter SL. The role of genetics in the pathogenesis and diagnosis of type 1 Von Willebrand disease. *Curr Opin Hematol.* 2019; 26(5): 331-335. doi:10.1097/MOH.0000000000000524
19. Haberichter SL, Jakab DA, Jacobi PM. Upstream mechanisms causing type 1C Von Willebrand disease (VWD): Contribution of defective Von Willebrand factor (VWF) multimerization, regulated storage, and secretion. *Blood.* 2013; 122(21): 3571. doi:10.1182/blood.v122.21.3571.3571
20. O'Donnell JS, Baker RI. Low von Willebrand disease: A bleeding disorder of unknown cause? *Hamostaseologie.* 2023; 43(1): 44-51. doi:10.1055/a-1980-8198
21. Zolkova J, Sokol J, Simurda T, Vadelova L, Snahnicanova Z, Loderer D *et al.* Genetic background of von Willebrand disease: History, current state, and future perspectives. *Semin Thromb Hemost.* 2020; 46(4): 484-500. doi:10.1055/s-0039-3402430.
22. Seidizadeh O, Baronciani L, Pagliari MT, Cozzi G, Colpani P, Cairo A *et al.* Genetic determinants of enhanced von Willebrand factor clearance from plasma. *J Thromb Haemost.* 2023; 21(5): 1112-22. doi:10.1016/j.jtha.2023.01.012
23. Kakela JK, Friedman KD, Haberichter SL, Buchholz NP, Christopherson PA, Kroner PA *et al.* Genetic mutations in von Willebrand disease identified by DHPLC and DNA sequence analysis. *Mol Genet Metab.* 2006; 87(3): 262-71. doi:10.1016/j.ymgme.2005.09.016.
24. Kizlik-Masson C, Peyron I, Gangnard S, Le Goff G, Lenoir SM, Damodaran S *et al.* A nanobody against the VWF A3 domain detects ADAMTS13-induced proteolysis in congenital and acquired VWD. *Blood.* 2023; 141(12): 1457-1468. doi:10.1182/blood.2022017569.



25. Melo-Nava B, Peñaloza R. Biología molecular de la enfermedad de von Willebrand. *Rev Invest Clin.* 2007; 59 (5): 401-440.
26. Goldman L, Schafer A. Enfermedad de von Willebrand. En: Goldman-Cecil Tratado de Medicina Interna. New York (EUA): ELSEVIER; 2021. Disponible en: <https://www-clinicalkey-es.pbidi.unam.mx:2443/#!/topic/enfermedad>
27. Naveed MA, Abid A, Ali N, Hassan Y, Amar A, Javed A *et al.* Genetic alterations, DNA methylation, alloantibodies and phenotypic heterogeneity in type III von Willebrand disease. *Genes (Basel).* 2022; 13(6): 971. doi:10.3390/genes13060971
28. Ocran E, Chornenki NLJ, Bowman M, Sholzberg M, James P. Gastrointestinal bleeding in von Willebrand patients: special diagnostic and management considerations. *Expert Rev Hematol.* 2023; 16(8): 575-584. doi: 10.1080/17474086.2023.2221846
29. Salinas Laval J, Triantafilo N, Zúñiga P. Asociación entre enfermedad de von Willebrand y angiodisplasia: ¿casualidad o causalidad? *Rev Med Chil.* 2020; 148(10): 1475-1480. doi:10.4067/s0034-98872020001001475
30. Baronciani L, Goodeve A, Peyvandi F. Molecular diagnosis of von Willebrand disease. *Haemophilia.* 2017; 23(2): 188-97. doi:10.1111/hae.13175.
31. Aldossary NJ, Rashid AM, Waris A, Siddique N, Khan MA, Javaid SS *et al.* Bibliometric analysis of the literature on von Willebrand disease: Research status and trends. *Acta Biomed.* 2023; 94(1): e2023061. doi:10.23750/abm.v94i1.14086
32. Sivapalaratnam S, Collins J, Gomez K. Diagnosis of inherited bleeding disorders in the genomic era. *Br J Haematol.* 2017; 179(3): 363-376. doi:10.1111/bjh.14796.
33. Woods A, Paiva J, Lazzari M, Sánchez-Luceros A. Variantes genéticas frecuentes del factor von Willebrand: su influencia en el laboratorio y la clínica. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2019; 53(2): 183-192.
34. Zavelia P, Jaloma-Cruz AR. Algoritmo diagnóstico para la enfermedad de von Willebrand (EvW) en población mexicana. *Gac Med Mex.* 2015; 151: 399-402.
35. Hawke L, Bowman ML, Poon M-C, Scully M-F, Rivard G-E, James PD. Characterization of aberrant splicing of von Willebrand factor in von Willebrand disease: an underrecognized mechanism. *Blood.* 2016; 128(4): 584-593. doi:10.1182/blood-2015-10-678052
36. Elbaz C, Sholzberg M. An illustrated review of bleeding assessment tools and common coagulation tests. *Res Pract Thromb Haemost.* 2020; 4(5): 761-73. doi:10.1002/rth2.12339.
37. Meijer K, van Heerde W, Gomez K. Diagnosis of rare bleeding disorders. *Haemophilia.* 2022; 28 (4): 119-124. doi:10.1111/hae.14561
38. Christopherson PA, Haberichter SL, Flood VH, Sicking UO, Abshire TC, Montgomery RR *et al.* Ristocetin dependent cofactor activity in von Willebrand disease diagnosis: Limitations of relying on a single measure. *Res Pract Thromb Haemost.* 2022; 6(7): e12807. doi:10.1002/rth2.12807
39. Vangenechten I, Gadisseur A. Improving diagnosis of von Willebrand disease: Reference ranges for von Willebrand factor multimer distribution. *Res Pract Thromb Haemost.* 2020; 4(6): 1024-1034. doi:10.1002/rth2.12408.
40. Lapić I, Radić Antolic M, Boban A, Coen Herak D, Rogić D, Zadro R. Next-generation sequencing of von Willebrand factor and coagulation factor VIII genes: a cross-sectional study in Croatian adult patients diagnosed with von Willebrand disease. *Croat Med J.* 2022; 63(2): 166-175. doi:10.3325/cmj.2022.63.166
41. Alzahrani FM, Aldossary N, Hassan FM. Phenotypic and genotypic characterization of von Willebrand factor gene (Exon 18 and 20) in Saudi healthy individuals. *Med Arch.* 2020; 74(5): 337-341. doi:10.5455/medarh.2020.74.337-341.
42. Fels S, Boeckelmann D, Glonnegger H, Büchsel M, Zieger B. Novel likely pathogenic variant in the A3 domain of von Willebrand factor leading to a collagen-binding defect. *Hamostaseologie.* 2023; 43(2): 122-125. doi:10.1055/a-1701-2181.
43. Kandemir Alibakan Ö, Demirel N, Nizam N, Eren R. An unconventional presentation of multiple myeloma:

Bazex syndrome. *Turk J Hematol.* 2020; 37(4): 294-296. doi:10.4274/tjh.galenos.2020.2020.0308.

44. Baz B, Abouelhoda M, Owaidah T, Dasouki M, Monies D, Al Tassan N. Molecular classification of blood and bleeding disorder genes. *NPJ Genom Med.* 2021; 6(1): 62. doi:10.1038/s41525-021-00228-2.

45. Shim YJ, Park SY, Jung N, Kim HS, Ha J-S, Jang J-H. A case of inherited type 1 and type 2A von Willebrand disease confirmed by diagnostic exome sequencing. *Pediatr Blood Cancer.* 2018; 65(10): e27279. doi:10.1002/pbc.27279.

46. Borràs N, Orriols G, Batlle J, Pérez-Rodríguez A, Fidalgo T, Martinho P *et al.* Unraveling the effect of silent, intronic and missense mutations on VWF splicing: contribution of next generation sequencing in the study of mRNA. *Haematologica.* 2019; 104(3): 587–598. doi:10.3324/haematol.2018.203166.

47. Goodeve A, James P. Von Willebrand Disease. Seattle (WA): GeneReviews; 2009 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7014/>

48. Fogarty H, Doherty D, O'Donnell JS. New developments in von Willebrand disease. *Br J Haematol.* 2020; 191(3): 329–339. doi:10.1111/bjh.16681.

49. Hancock JM, Escobar MA. An evaluation of von Willebrand factor (recombinant) therapy for adult patients living with severe type 3 von Willebrand disease. *Expert Rev Hematol.* 2023; 16(3): 157–161. doi:10.1080/17474086.2023.2184339

50. Laffan M, Sathar J, Johnsen JM. von Willebrand disease: Diagnosis and treatment, treatment of women, and genomic approach to diagnosis. *Haemophilia.* 2021; 27 (3): 66–74. doi:10.1111/hae.14050