

El factor von Willebrand como intermediario entre la hemostasia y la angiogénesis de origen tumoral

I. Gil-Bazo, V. Catalán, J. Páramo¹, C. Quero, S. Escrivá de Romaní, A. Pérez-Ochoa, L. Arbea, V. Navarro, J. de la Cámara, C. Garrán, J. Espinós, E. Rocha¹, J. García-Foncillas, S. Martín-Algarra

Departamento de Oncología Médica. ¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra

Correspondencia:

Ignacio Gil-Bazo

Departamento de Oncología Médica. Clínica Universitaria

Av. Pío XII, 36

31080 Pamplona

(igil@unav.es)

Resumen

Los pacientes con cáncer presentan un desequilibrio entre el sistema de la coagulación y la fibrinólisis confiriéndoles un estado protrombótico. En él intervienen elementos sanguíneos moleculares que presentan niveles elevados en estos pacientes, como el factor von Willebrand (vWf). En la angiogénesis activada durante el crecimiento tumoral, el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-2), estimulan la proliferación del endotelio, productor junto con las plaquetas, del vWf, determinando niveles plasmáticos incrementados de éste, en pacientes oncológicos. Recientemente ha sido descrita la contribución del vWf a la adhesión entre células tumorales y plaquetas. El descubrimiento de integrinas de membrana de plaquetas, células endoteliales y tumorales y su mediación en la adhesión celular entre ellas han permitido demostrar agregación plaquetar y activación de la coagulación inducida por células tumorales unidas a plaquetas y la capacidad migratoria que adquieren las células neoplásicas en dicho proceso facilitando la generación de metástasis. Estudios clínicos demuestran elevación plasmática de vWf en enfermos con cáncer siendo mayores los niveles, a mayor estadio clínico-radiológico y en aquellos que presentan metástasis a distancia. Además, enfermos con niveles preoperatorios mayores de vWf, tienen menor supervivencia tras la resección quirúrgica tumoral. También se ha relacionado el mayor peso molecular de vWf en pacientes oncológicos con un déficit en la actividad proteasa de clivaje del vWf. Los resultados prometedores de la administración de antiagregantes/anticoagulantes a pacientes oncológicos abren la puerta de nuevas dianas terapéuticas en el cáncer.

Palabras claves: Hemostasia. Angiogénesis. Cáncer. Factor von Willebrand. Adhesión plaquetar.

Summary

Cancer patients often show an imbalance condition between coagulation system and fibrinolysis which causes a prothrombotic state. Different molecular factors like von Willebrand factor (vWf), presenting higher plasmatic rates in these patients, play an important role in this situation. During active angiogenesis taking place in tumor growth, the vascular endothelial growth factor (VEGF) and the fibroblast growth factor (FGF-2) contribute to the proliferation and differentiation of endothelial tissue, the main vWf producer, promoting increased rates of vWf in the serum of neoplastic patients. Recently vWf's contribution to tumor cells and platelet adhesion has been described. In this process, the discovery of platelet, endothelial and tumor cell membrane integrins and their implication in cellular adhesion has represented a major step in demonstrating how blood clotting and platelet aggregation are mediated by tumor cell and platelet linkage. Migration properties acquired by tumor cells as a result of this binding have been also pointed out. Clinical trials show higher rates of plasmatic vWf in cancer patients the more advanced clinical and radiological stage they present (metastatic versus localized). Moreover, higher pre-surgical serum vWf rates in patients can be used to predict poorer survival after resection surgery. vWf high molecular weight multimers have been also related to a cleavage protease deficiency in the serum of the oncologic population. The promising results of antiaggregation/anticoagulation therapies in these patients permit us to envisage new therapeutic targets.

Key words: Hemostasis. Angiogenesis. Cancer. Von Willebrand factor. Platelet adhesion.

Abreviaturas en Texto y Figuras:

Factor von Willebrand (vWf); Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF); Factor de crecimiento de fibroblastos-2 (FGF-2); Moléculas de alto peso molecular (HMWM); Glucoproteína (GP); Enzimoimmunoanálisis en fase sólida (ELISA); Factor von Willebrand antigénico (vWf: Ag); Inhibidor del activador de plasminógeno-1 (PAI-1); Cofactor de ristocetina (vWf: Rcof); Factor VIII de la coagulación (FVIII:C); Adenosil difosfato (ADP); Molécula de adhesión intercelular (IAM-I); Ácido

acetilsalicílico (AAS); Ácido desoxirribonucleico (DNA); Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR); Ácido etilendiaminotetracético (EDTA); Ácido ribonucleico (RNA); diabetes mellitus (DM); Hipertensión arterial (HTA); Cardiopatía isquémica (CPI); Insuficiencia renal (IR); Fallo hepático (FH); Artritis reumatoide (AR); Lupus eritematoso sistémico (LES); Trastornos del tejido conectivo (TTC); Molécula de adhesión de células vasculares-1 (VCAM-1); RNA mensajero de factor von Willebrand (vWf RNA-m).

Introducción

Los pacientes con cáncer presentan un desequilibrio entre el sistema de la coagulación y la fibrinólisis confiriéndoles un estado protrombótico¹⁻¹⁰. Una de las proteínas hemostáticas que se encuentran elevadas en estos pacientes, es el factor von Willebrand (vWf)¹¹⁻²⁰. El origen del aumento de vWf en pacientes con neoplasias es diverso. En la angiogénesis activada durante el crecimiento tumoral, el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-2) estimulan la proliferación del endotelio, productor junto con las plaquetas, del vWf, determinando niveles plasmáticos elevados en pacientes oncológicos^{8,14,21-23}. Recientemente ha sido descrita la contribución del vWf a la adhesión entre células tumorales y plaquetas. El descubrimiento de integrinas de membrana en plaquetas, células endoteliales y tumorales y su mediación en la adhesión celular entre ellas, ha permitido demostrar agregación plaquetar y activación de la coagulación inducida por células tumorales unidas a plaquetas. En dicho proceso las células neoplásicas adquieren capacidad migratoria facilitando la generación de metástasis^{11,13,23-26}. Estudios clínicos sugieren que la elevación plasmática de vWf en enfermos con cáncer puede tener significación fisiopatológica, siendo mayores los niveles, a mayor estadio clínico-radiológico y en aquellos que presentan metástasis a distancia. Además, enfermos con niveles preoperatorios mayores de vWf tienen menor supervivencia tras la resección quirúrgica tumoral¹⁵⁻¹⁸. También se ha relacionado el mayor peso molecular de vWf en pacientes oncológicos con un déficit en la actividad de la proteína que escinde el vWf¹². La posibilidad de modular sus niveles locales o sistémicos en pacientes oncológicos abre la puerta de nuevas dianas terapéuticas en el cáncer^{13,27}.

Fisiopatología del Factor von Willebrand

El factor von Willebrand (vWf) está constituido por una glicoproteína sintetizada de forma específica por células endoteliales y megacariocitos -en respuesta a determinados estímulos- que forma parte del complejo entramado de la coagulación²⁸.

La síntesis de esta molécula proteica se realiza inicialmente en forma de pre-pro-factor de un tamaño aproximado de 225 kDa que, posteriormente, por dimerización -formación de enlaces covalentes- constituye el pro-factor y finalmente la polimerización del pro-factor da lugar al vWf multimérico de 450 a más de 10.000 kDa de peso molecular. El tamaño de estos multímeros en plasma está determinado en gran medida por la presencia plasmática de enzimas con actividad metaloproteínasa específica sobre la cadena peptídica del vWf^{29,30}. Una vez sintetizados, los multímeros de vWf son almacenados en los gránulos- α de las plaquetas y en los cuerpos de Weibel-Palade de las células endoteliales³¹⁻³⁴.

Desde hace menos de medio siglo se conocen las propiedades contributivas del vWf -especialmente las moléculas de alto peso molecular (HMW)- a la formación del trombo en la fase inicial de la cadena procoagulante dependiente de plaquetas (hemostasia primaria).

El concurso de esta proteína soluble en sangre junto con otras moléculas -como la trombina y el fibrinógeno- es decisivo

en la adhesión de las plaquetas activadas al endotelio alterado y al subendotelio subyacente -en especial a la matriz colagénica que lo constituye- así como en la agregación de las plaquetas entre sí en el esfuerzo por tapizar la arquitectura endotelial vascular dañada^{28,35,36}.

Desde principios de la década de los setenta se conocen detalles sobre los mecanismos moleculares que median en el proceso de adhesión y agregación de las plaquetas en situaciones de daño endotelial como parte del proceso de hemostasia primaria y en los que el factor von Willebrand juega un papel destacado. De esta forma se han identificado las glicoproteínas presentes en la membrana de las plaquetas que se encargan de dicha función. La glicoproteína de membrana GPIIb -también llamada complejo GPIIb/IIIa- constituiría según recientes estudios, el factor de adhesión entre plaquetas y el dominio A1 del factor von Willebrand multimérico de alto peso molecular (Figura 1), determinando junto con otras moléculas intercurrentes la agregación plaquetar posterior al daño endotelial^{24,37-38}.

En cuanto a las situaciones que son capaces de determinar niveles basales menores de vWf en sangre (Figura 2), además de algunos subtipos de la propia enfermedad de von Willebrand por alteración genética en el brazo corto del cromosoma 12, ha sido demostrada la asociación entre aquellos y el grupo O sanguíneo³⁹. Además, el vWf contribuye de forma indirecta a la vía intrínseca de la coagulación sanguínea, como portador en sangre periférica del factor VIII, permitiendo una mayor vida media de la forma soluble de éste en plasma. Por último es de interés considerar la cualidad del vWf -entre otras moléculas proteicas- como reactante de fase aguda en situaciones infecciosas e inflamatorias en su fase más precoz^{40,41}.

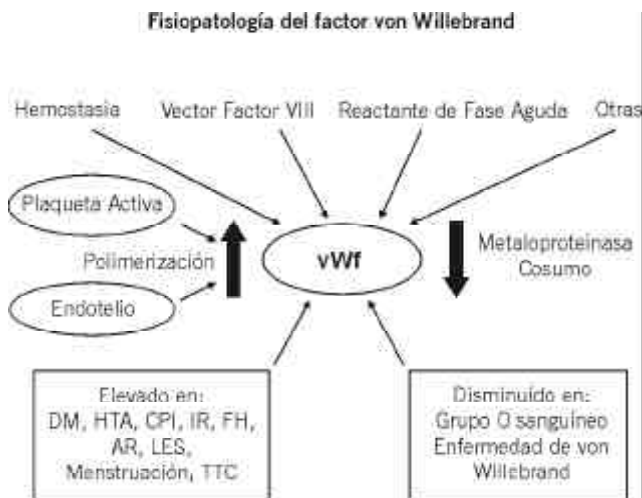
Todas estas consideraciones funcionales del portador en sangre del factor VIII de la coagulación nos permiten intuir aquellas situaciones clínicas en las que es posible cuantificar niveles plasmáticos elevados con respecto a determinaciones basales de vWf.

Se considera como rango normal la detección de 40 a 150 unidades de vWf:Ag por técnica de ELISA por cada decilitro de plasma recogido (igualmente se expresa en forma de porcentaje considerando 1 U/dL = 1%), existiendo no obstante una alta variabilidad individual fisiológica en la determinación de dichos niveles³⁴.

Todos aquellos factores de riesgo cardiovascular (Figura 2) cuya acción crónica sobre la pared arterial determina un daño del endotelio que recubre los vasos son causas bien conocidas de elevación de los niveles plasmáticos de vWf como consecuencia de la activación y proliferación que generan en ellos. Los más representativos son cardiopatía isquémica, diabetes mellitus, hipertensión arterial, fallo hepático e insuficiencia renal entre otros⁴²⁻⁴⁴.

Requiere, sin embargo, un estudio más detenido en largas series de pacientes la influencia de otros factores de riesgo como la obesidad, las dislipemias y el hábito tabáquico, sobre el endotelio vascular y los niveles plasmáticos de vWf. También las situaciones hematológicas ligadas a estados de hipercoagulabilidad y formación de trombos vasculares -trombosis venosa profunda, tromboembolismo pulmonar, coagulación intravascular diseminada, sepsis, púrpura trombótica trombocitopénica, síndrome hemolítico-urémico...-^{45,46} son susceptibles de generar elevación secundaria intensa de los niveles plasmáticos de factor von Willebrand.

Figura 1. Posible modelo de interrelaciones moleculares en la adhesión plaqueta-tumoral en la luz vascular. Intervención de integrinas de membrana



Por último, cabe mencionar todos aquellos eventos de carácter inflamatorio agudo e incluso crónico o infeccioso que estimulan la producción exacerbada de vWf por parte de endotelio y plaquetas. Dentro de este subgrupo causal figuran en primer plano la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico y las alteraciones del tejido conectivo en general⁴⁴. Existen datos preliminares que sugieren un incremento de los niveles de vWf en mujeres en tratamiento con tamoxifeno, en posible relación con la estimulación endotelial y angiogénica supuestamente atribuida al fármaco⁴⁷⁻⁵⁰.

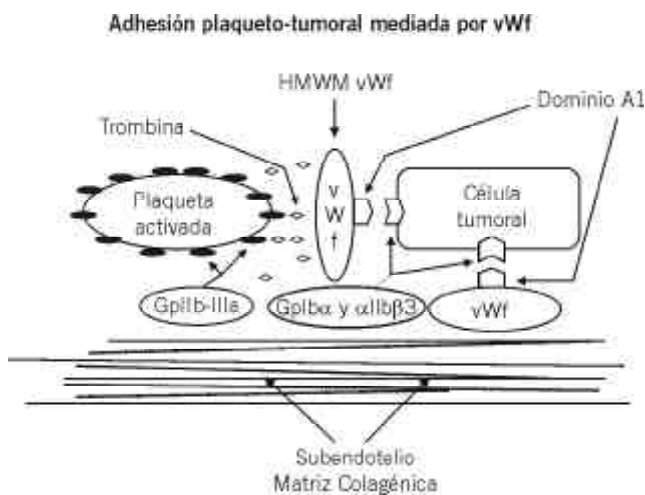
Relación entre Cáncer y Hemostasia

En los pacientes afectados por una enfermedad tumoral es conocida la alteración que presentan del equilibrio entre factores protrombóticos y fibrinolíticos a favor de los primeros. De esta forma se instaura un ambiente sistémico general procoagulante con un riesgo aumentado de padecer trombosis venosas profundas y secundariamente tromboembolismo pulmonar, produciéndose un descenso importante de la esperanza de vida de estos pacientes, así como un marcado deterioro de su calidad vital¹⁻⁵.

Quizás el exponente más claro de este estado protrombótico que presenta la mayoría de los pacientes oncológicos está representado por el síndrome de Trousseau, que con cierta frecuencia supone el debut clínico de patología tumoral previamente desconocida. Esta tendencia a las tromboflebitis de repetición en localizaciones atípicas como venas del cuello y extremidades superiores en personas sin factores de riesgo conocidos y refractaria a tratamiento anticoagulante profiláctico es más frecuente entre los individuos afectados por tumores secretores de mucina, especialmente los del tracto gastrointestinal⁶.

Los mecanismos íntimos causantes de esta propensión permanecen parcialmente ocultos. Se ha postulado la secreción de ciertas sustancias con capacidad procoagulante por parte

Figura 2. Funciones del factor von Willebrand. Lugar de síntesis y metabolismo. Situaciones en las que se encuentra incrementado y disminuido en sangre



del propio tumor. También ha sido subrayada una posible activación generalizada de la cascada de coagulación mediada por daño endotelial y trombocitosis reactiva en los pacientes portadores de neoplasias⁵¹. Por último, existen acontecimientos clínicos que acompañan a los pacientes oncológicos en la evolución de su enfermedad favoreciendo la generación de un ambiente que justifica las observaciones anteriormente descritas. Los más frecuentes son el encamamiento prolongado, la necesidad de portar un catéter venoso central, la malnutrición, la inmunodepresión con tendencia a infecciones y sepsis, el requerimiento de procedimientos quirúrgicos y los propios tratamientos citostáticos.

Recientemente han sido publicadas revisiones bibliográficas^{7,8} que repasan los artículos más relevantes y de mayor impacto relacionando cáncer y estado de hipercoagulabilidad, donde se enumeran los factores que intervienen en la coagulación que se han demostrado alterados en los pacientes con procesos oncológicos como son vWf, PAI-1, P-selectin, factor tisular y dímero-D, entre otros. De igual forma, dos estudios recientes^{9,10} relacionan de forma clara los niveles del inhibidor del activador de plasminógeno (PAI-1) y de receptores de urokinasa con el pronóstico vital de pacientes con carcinoma colorrectal, por una parte, y entre PAI-1 y crecimiento tumoral mediado por angiogénesis en ratones, por otra.

Adhesión Intercelular Mediada por Factor von Willebrand

Ha sido a principios de la década de los noventa sin embargo, cuando fruto de los avances en el conocimiento de los mecanismos mediadores de angiogénesis en el crecimiento y diseminación de los tumores^{21,22,25,52,53}, se han comenzado a establecer relaciones entre el sistema de la coagulación, el pronóstico de las enfermedades tumorales y la evolución clínica de las neoplasias en pacientes tratados con fármacos anticoagulantes. En este clima propicio para la investigación oncológica

de nuevos factores pronósticos y dianas terapéuticas y el desarrollo de marcadores moleculares de la evolución de la enfermedad, surgieron los estudios que relacionan al vWf con los procesos neoplásicos.

En este sentido son interesantes las investigaciones que permiten conocer mejor los elementos que intervienen en la adhesión de las células tumorales al endotelio vascular y las plaquetas y el papel que parece desempeñar el vWf en tal proceso. Para ello se han utilizado cultivos celulares de diversas líneas tumorales, plasma enriquecido en plaquetas y cultivos de células endoteliales. También resulta de inestimable valor el desarrollo de anticuerpos monoclonales frente a estructuras moleculares de la membrana de las plaquetas y células neoproliferativas así como frente a trombina, vWf y diversas moléculas de adhesión solubles en plasma^{11,13,23,26,28,54}.

De esta forma Nierodzick, *et al.*¹¹ sugerían en 1994, a la luz de los resultados de una serie de estudios in vivo e in vitro de células tumorales en modelos murinos, la existencia de una integrina de membrana en las células neoplásicas similar en estructura y función a la glicoproteína GPIIb-GPIIIa de la superficie plaquetar. Según ese mismo estudio, dicha glicoproteína transmembrana pudiera interceder en la adhesión de células tumorales a plaquetas y endotelio, utilizando al vWf como nexo entre ambas en un ambiente rico en trombina y fibronectina, aventurando la posible implicación de dicho proceso en la génesis ulterior de metástasis a distancia.

En 1997 Ruggeri²⁸ responsabilizaba a las glicoproteínas GPIIb α y GPIIb-IIIa (también llamada α Ib β 3) de la superficie plaquetar de mediar en la adhesión de las plaquetas a cualquier superficie reactiva -como la membrana de las células tumorales- con el concurso del vWf (Figura 1). Bajo la misma línea argumental dos años más tarde, Oleksowicz, *et al.*¹² estudiaron una serie de pacientes afectados por tumores metastásicos de diversas estirpes tumorales celulares (próstata, cabeza y cuello, colorrectal...), pacientes con enfermedad neoplásica localizada y controles sanos. En todos ellos cuantificaron previo a cualquier terapia el vWf: Ag por técnica de ELISA, la actividad del vWf por determinación de la agregación plaquetar de vWf mediada por ristocetina (vWf: Rcof) y la actividad del factor VIII de la coagulación en sangre (FVIII: C). Así mismo se propusieron determinar el tamaño de los multímeros de vWf, la agregación plaquetar inducida por tumor y, de forma indirecta, la actividad proteasa sobre el vWf en plasma. De esta forma encontraron niveles de los tres primeros parámetros medidos, significativamente elevados en el caso de los pacientes con tumores diseminados con respecto a aquellos que no presentaban enfermedad en localización distinta a la del tumor primario y a los controles sanos. Igualmente caracterizaron una mayor prevalencia de multímeros de alto peso molecular (HMWM) en sangre de individuos con enfermedad metastásica, comprobando además la capacidad in vitro de dichos multímeros de formar agregados entre células tumorales y plaquetas. En el mismo estudio fueron empleados anticuerpos monoclonales específicos contra GPIIb α y vWf, lográndose la práctica total abolición de la agregación plaquetar inducida por tumor. Por último se comprobó un descenso importante de la actividad proteasa sobre el vWf en suero de pacientes con cáncer en estadio IV -enfermedad diseminada- con respecto a los otros dos grupos estudiados, que podría ser

responsable de los mayores niveles de HMWM en estos pacientes.

Además de la implicación directa del vWf en la adhesión de células tumorales a células de la estirpe megacariocítica demostrada por los estudios ya comentados, resultan de interés los hallazgos de Morganti, *et al.*¹³. Estos autores realizaron un estudio sobre células tumorales humanas y células endoteliales del mismo origen en cultivo, en el que la adición de vWf purificado al medio fue capaz de incrementar hasta en un 33% la densidad de colonias celulares formadas por agregados de ambas estirpes celulares. Al añadir al mismo cultivo anticuerpos monoclonales frente a vWf, la absorción de luz de las colonias del cultivo -parámetro que utilizaron para estimar la adhesión intercelular- volvía al nivel basal previo al enriquecimiento del medio con vWf. El mismo parámetro medido en otro cultivo rico en ticlopidina -fármaco antiagregante por inhibición de la agregación plaquetar mediada por ADP- reveló un descenso en la agregación celular de tumor a endotelio del 35% con relación al nivel inicial. Por último, no se encontraron diferencias significativas en la agregación de células tumorales a endotelio al añadir al medio de cultivo celular anticuerpos frente a otras muchas integrinas de membrana y moléculas de adhesión (integrinas α 2b, β 1, β 3, IAM-I, IAM-II...) ni enriqueciendo el medio con otras sustancias antiagregantes ni anticoagulantes (AAS, heparina, dipiridamol...). Por otra parte, el bloqueo de vWf mediante anticuerpos monoclonales específicos, redujo de forma importante la adhesión de células tumorales LS174T a capas de plaquetas en un estudio publicado por McCarty, *et al.*⁵⁴.

Recientemente los estudios de Nierodzick, *et al.*¹¹ primero y Ruggeri²⁸ después, sobre las proteínas de membrana mediadoras de adhesión en plaquetas, se han visto complementados por otros realizados por investigadores australianos²⁶ que identifican una glicoproteína en la membrana de células tumorales de neoplasias de mama -GPIIb α - (Figura 1) distinta en peso molecular, pero idéntica en secuencia de DNA -por RT-PCR- al complejo GPIIb/VIX de la superficie de las plaquetas. Su función sería la de facilitar la unión de las células neoproliferativas al vWf como observan en cultivos en presencia de EDTA. También comprueban en el mismo estudio la aparición de prominentes extensiones citoplasmáticas filiformes en las células tumorales unidas a vWf, que relacionan con una mayor habilidad migratoria de las células estudiadas.

De la misma forma, Trikha, *et al.*²³ en estudios realizados en ratones comprueban que la utilización de anticuerpos monoclonales frente a GPIIb/IIIa y α v β 3 de las plaquetas logra inhibir la adhesión entre células tumorales y endotelio, así como la migración, invasión y colonización pulmonar por células humanas de melanoma.

Papel del Factor von Willebrand en la Cascada Angiogénica Tumoral

Al parecer, tal y como plantearon Zanetta, *et al.* en el año 2000¹⁴, el vWf constituiría un eslabón importante en el proceso de angiogénesis desarrollado durante el crecimiento, proliferación y diseminación de los tumores (Figura 3). Según sus experimentos sobre biopsias de tejidos tumorales y no tumorales de

anticoagulantes e inhibidores de la agregación plaquetar, pueden prevenir las metástasis por inhibición de la formación de fibrina alrededor de las células tumorales intravasculares así como debido a la interacción con la superficie plaquetar bloqueando así su unión a células tumorales²⁷.

La realización de estudios futuros que relacionen parámetros analíticos -marcadores de la ruta biológica entre la displasia celular y la afectación tumoral diseminada a distancia pasando por el proceso de angiogénesis- y la evolución clínica de la enfermedad en tratamiento con un enfoque multidisciplinar, puede ayudar a esclarecer los vacíos existentes en dicho recorrido y permitir diseñar nuevas dianas terapéuticas en la prevención y tratamiento del cáncer localizado y metastásico.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por una beca de investigación del Gobierno de Navarra (Nº Ref. 19/2003).

Bibliografía

- Bick RL. Alterations of hemostasis associated with malignancy. *Semin Thromb Hemostasis* 1978;5:1-25.
- Páramo JA, Campbell W, Cuesta B, et al. Fibrinolytic response in malignancy. *Fibrinolysis* 1987;1:195-9.
- Rickles FR, Edwards RL, Barb C, et al. Abnormalities of blood coagulation in patients with cancer. *Cancer* 1983;51:301-7.
- Sorensen HT, Mellemkjaer L, Steffensen HF, et al. The risk of a diagnosis of cancer after primary deep venous thrombosis or pulmonary embolism. *N Engl J Med* 1998;338:1169-73.
- Aranguren A, Pérez-Salazar M, Páramo JA, et al. Antiphospholipid antibodies, portal and mesenteric thrombosis and carcinoid tumor: a case report. *Thromb Haemostasis* 2001;86:1334.
- Rickles FR, Edwards RL. Activation of blood coagulation in cancer: Trousseau's syndrome revisited. *Blood* 1983;62:14-3.
- Lip G, Chin B, Blann AD. Cancer and the prothrombotic state. *Lancet Oncol* 2002;3:27-34.
- Gil-Bazo I, Páramo Fernández JA, García-Foncillas J. Hemostasia, angiogénesis y cáncer: papel del factor von Willebrand. *Rev Clin Esp*. En prensa.
- Nielsen HJ, Pappot H, Christensen IJ, et al. Association between plasma concentrations of plasminogen activator inhibitor-1 and survival in patients with colorectal cancer. *Br J Med* 1998;316:829-30.
- Stephens RW, Nielsen HJ, Christensen IJ, et al. Plasma urokinase receptor levels in patients with colorectal cancer: relationship to prognosis. *J Natl Cancer I* 1999;91:869-74.
- Nierodzik ML, Klepfish A, Karparkin S. Role of platelet integrin GPIIb-GPIIIa, fibronectin, von Willebrand factor, and thrombin in platelet-tumor interaction in vitro and metastasis in vivo. *Semin Hematol* 1994; 31:278-88.
- Oleksowicz L, Bhagwati N, Deleon-Fernandez M. Deficient Activity of von Willebrand's factor-cleaving protease in patients with disseminated malignancies. *Cancer Res* 1999;59:2244-50.
- Morganti M, Carpi A, Amo-Takyl B, et al. Von Willebrand's factor mediates the adherence of human tumoral cells to human endothelial cells and ticlopidine interferes with this effect. *Biomed Pharmacother* 2000;54(8-9):431-6.
- Zanetta L, Marcus SG, Vasile J, et al. Expression of von Willebrand factor, an endothelial cell marker, is up-regulated by angiogenesis factors: a potential method for objective assesment of tumor angiogenesis. *Int J Cancer* 2000;85:281-8.
- Sweeney JD, Killion KM, Pruet CF, et al. von Willebrand factor in head and neck cancer. *Cancer* 1990;11:2387-9.
- Gadducci A, Baicchi U, Marrai R, et al. Pretreatment plasma levels of fibrinopeptide-A (FpA), D-dimer (DD), and von Willebrand factor (vWF) in patients with ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 1994; 53:352-6.
- Zietek Z, Iwan-Zietek I, Paczulski R, et al. von Willebrand factor antigen in blood plasma of patients with urinary bladder carcinoma. *Thromb Res* 1996; 83:399-402.
- Paczulski R, Bialkowska A, Kotschy M, et al. von Willebrand factor in plasma of patients with advanced stages of larynx cancer. *Thromb Haemostasis* 1999; 95:197-200.
- Röhsig LM, Damin DC, Stefani SD, et al. Von Willebrand factor antigen levels in plasma of patients with malignant breast disease. *Braz J Med Biol Res* 2001;34:1125-9.
- Schwartzmann G, Damin DC, Roisemberg I. Malignant disease and von Willebrand factor. *Lancet Oncol* 2001;2(12).
- Sender DR. Molecular framework for angiogenesis: a complex web of interactions between extravasated plasma proteins and endothelial cell proteins induced by angiogenic cytokines. *Am J Pathol* 1996;149:1-7.
- Guidi AJ, Schnitt, SJ, Fisher L, et al. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) expression and angiogenesis in patients with ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer* 1997;80:1945-53.
- Trikha M, Zhou Z, Timar J, et al. Multiple roles for platelet GPIIb/IIIa and avb3 integrins in tumor growth, angiogenesis and metastasis. *Cancer Res* 2002;62:2824-33.
- Christodoulides N, Feng S, Reséndiz JC, et al. Glycoprotein Ib/IX/V binding to the membrane skeleton maintains shear-induced platelet aggregation. *Thromb Haemost* 2001;102:133-42.
- Felding-Habermann B, O'Toole TE, Smith JW, et al. Integrin activation controls metastasis in human breast cancer. *PNAS* 2001; 98:1853-8.
- Suter CM, Hogg PJ, Price JT, et al. Identification and characterisation of platelet GPIb/VIIX-like complex on human breast cancers: implications for the metastatic process. *Jpn J Cancer Res* 2001; 92(10):1082-92.
- Hejna M, Raderer M, Zielinski C. Inhibition of metastases by anticoagulants. *J Natl Cancer I* 1999;91:22-36.
- Ruggeri ZM. Perspectives Series: Cell adhesion in vascular biology. *J Clin Invest* 1997;99:559-64.
- Furlan M, Robles R, Lammle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vitro proteolysis. *Blood* 1997; 87:4223-39.
- Tsai H-M. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood* 1996;87:4235-44.
- Perutelli P, Biglino P, Mori PG. von Willebrand factor: biological function and molecular defects. *Pediatr Hemat Oncol* 1997;14: 499-512.
- Tsai H-M, Nagel RL, Hatcher VB, et al. Multimeric composition of endothelial cell-derived von Willebrand factor. *Blood* 1989;73:2074-6.
- Chow TW, Hellmus JD, Moake JL, et al. Shear stress-induced von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib initiates calcium influx associated with aggregation. *Blood* 1992;80:113-20.
- Seghatchian MJ, Savidge GF. Factor VIII-von Willebrand factor. CRC press 1989;1:45-50.
- Moake JL, Turner NA, Stathopoulos NA, et al. Involvement of large plasma von Willebrand factor (vWf) multimers and unusually large vWf forms derived from endothelial cells in shear stress-induced platelet aggregation. *J Clin Invest* 1986;78:1456-61.
- Moake JL, Turner NA, Stathopoulos NA, et al. Shear-induced platelet aggregation can be mediated by vWf released from platelets, as well as by endogenous unusually large vWf multimers, requires adenosine diphosphate, and is resistant to aspirin. *Blood* 1988; 71:1366-74.

37. Ruggeri ZM. Mechanisms initiating platelet thrombus formation. *Thromb Haemost* 1997;78:611-6.
38. Cauwenberghs N, Schlammadinger A, Vauterin S, et al. Fc-receptor dependent platelet aggregation induced by monoclonal antibodies against platelet glycoprotein Ib or von Willebrand factor. *Thromb Haemostasis* 2001;85:679-85.
39. Gill JC, Endes-Brooks J, Bauer PJ, et al. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood* 1987; 69:1691-5.
40. Pottinger BE, Read RC, Paleolog EM, et al. von Willebrand factor is an acute phase reactant in man. *Thromb Res* 1989;53:387-94.
41. Giustolise R, Musso R, Cacciola E, et al. Abnormal plasma level of factor VIII/von Willebrand factor complex in myocardial infarction: expresión of acute phase reaction or index of vascular endothelium damage? *Thromb Haemostasis* 1984;51:408.
42. Lufkin EG, Fass DN, O'Fallon WV, et al. Increased von Willebrand factor in diabetes mellitus. *Metabolism* 1979;28:63-6.
43. Castillo R, Maragall A, Rodes J, et al. Increased factor VIII complex and defective ristocetin-induced platelet aggregation in liver disease. *Thromb Res* 1977;11:899-906.
44. Gordon JL, Pottinger BE, Woo P, et al. Plasma von Willebrand factor antigen in connective tissue disease. *Ann Rheum Dis* 1987; 46:491-2.
45. Moake JL, Rudy CK, Troll JH, et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1982;307:1432-5.
46. Moake JL, Byrnes JJ, Troll JH, et al. Abnormal VIII: von Willebrand factor patterns in plasma of patients with haemolytic-uremic syndrome. *Blood* 1984;64:592-8.
47. Blann AD. Tamoxifen increases von Willebrand factor in women who underwent breast cancer surgery. *Thromb Haemostasis* 2001; 85:941-2.
48. Onundarson AM. von Willebrand factor does not vary during normal menstrual cycle. *Thromb Haemostasis* 2001;85:183-4.
49. Blombäck M, Eneerth P, Andersson O, et al. On laboratory problems in diagnosing mild von Willebrand's disease. *Am J Hematol* 1992; 40:117-20.
50. Kadir RA, Economides DL, Sabin CA, et al. Variations in coagulation factor in women: effects of age, ethnicity, menstrual cycle and combined oral contraceptive. *Thromb Haemost* 1999;82:1456-61.
51. López Y, Paloma MJ, Rifón J, et al. Measurement of prethrombotic markers in the assessment of acquired hypercoagulable states. *Thromb Res* 1999;93:71-8.
52. Weidner N, Semple JP, Weich WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis: correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
53. Dvorak HF, Nagy JA, Dvorak AM. Structure of solid tumors and their vasculature: implications for therapy with monoclonal antibodies. *Cancer Cells* 1991;3:77-85.
54. McCarty OJ, Mousa SA, Bray PF, et al. Immobilized platelets support human colon carcinoma cell tethering, rolling, and firm adhesion under dynamic flow conditions. *Blood* 2000;96:1789-97.



REVISTA DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE NAVARRA

Facultad de Medicina
Universidad de Navarra
Apartado 177 - 31080 Pamplona
Tel.: 948 425 646 - Fax: 948 425 649
Correo electrónico: revistamedicina@unav.es
www.unav.es/revistamedicina/

Deseo recibir gratuitamente los cuatro números anuales de la Revista de Medicina de la Universidad de Navarra. Para ello, indico mis datos a continuación:

Nombre:

Dos apellidos:

Especialidad médica:

Lugar de trabajo:

Calle/Avenida/Plaza: Nº: Escalera: Piso: Letra:

Código postal: Ciudad: Provincia:

Correo electrónico:

Enviar por correo postal, electrónico o fax a:

ESMON Publicidad S.A. C/ Mallorca 272-276, 2º 3ª - 08037 Barcelona
Tel.: 93 215 90 34 - Fax: 93 487 40 64 - Correo electrónico: esmon@autovia.com