

# Nowości postępowania w chorobie von Willebranda

## Advances in the management of von Willebrand disease

Joanna Zdziarska<sup>1</sup>, Teresa Iwaniec<sup>2</sup>, Jacek Musiał<sup>2</sup>, Aleksander B. Skotnicki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika Hematologii, Szpital Uniwersytecki, Kraków

<sup>2</sup>II Katedra Chorób Wewnętrznych im. prof. Andrzeja Szczeklika, *Collegium Medicum*, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

### Streszczenie

*W ostatnich latach dokonano odkryć, które pozwalają lepiej opisać podłoże molekularne i obraz kliniczny heterogennej skazy krwotocznej, jaką jest choroba von Willebranda (vWD). W artykule przedstawiono kluczowe, opublikowane w ostatnich latach, doniesienia dotyczące tego schorzenia o największym znaczeniu — zarówno z naukowego, jak i praktycznego punktu widzenia. Dotyczą one przede wszystkim mutacji sprawczych w obrębie genu czynnika von Willebranda (vWF), patogenezy choroby typu 1, nowych możliwości oceny aktywności vWF w osoczu oraz standaryzacji wywiadu krwotocznego jako podstawowego narzędzia przesiewowego w diagnostyce vWD.*

**Słowa kluczowe:** czynnik von Willebranda, choroba von Willebranda, skaza krwotoczna, propeptyd czynnika von Willebranda

*Hematologia* 2014; 5, 3: 203–211

### Abstract

*Recent discoveries shed new insights into the molecular pathogenesis and clinical picture of von Willebrand disease (vWD), a very heterogeneous bleeding disorder. We present the newest publications, important from the clinical and scientific point of view, concerning predominantly the causative mutations within the von Willebrand factor (vWF) gene, the pathogenesis of type 1 of vWD, new methods of assessment of vWF plasma activity and the role of standardized bleeding questionnaires in the diagnostic process of vWD.*

**Key words:** von Willebrand factor, von Willebrand disease, bleeding disorder, von Willebrand factor propeptide

*Hematologia* 2014; 5, 3: 203–211

### Wprowadzenie

Choroba von Willebranda (vWD, *von Willebrand disease*) jest najczęstszą wrodzoną skazą krwotoczną. Wyróżnia się bardzo heterogenną patogenezą oraz zmiennym obrazem klinicznym. Podstawą postępowania diagnostycznego i terapeutycznego, opisanego w polskich [1] i międzynarodowych [2] zaleceniach, są w dużej mierze

doświadczenie kliniczne oraz opinie ekspertów. Znaczny stopień niedodiagnozowania vWD w populacji ogólnej wynika między innymi z małej dostępności specjalistycznych badań laboratoryjnych, jak również trudności w ich interpretacji. Podejrzanie vWD powinien wysuwać lekarz rodzinny lub inny specjalista na podstawie prawidłowo zebranego wywiadu krwotocznego, niezależnie od wyników badań przesiewowych układu hemostazy. Diagnostyka

**Adres do korespondencji:** Joanna Zdziarska, Klinika Hematologii, Szpital Uniwersytecki, ul. Kopernika 17, 31–501 Kraków, tel. 12 424 76 00, e-mail: joannaz@patio.strefa.pl

vWD powinna być prowadzona w wytypowanych ośrodkach hematologicznych specjalizujących się w opiece nad chorymi na wrodzone skazy krwotoczne.

Ostatnie doniesienia w piśmiennictwie poszerzają dotychczasową wiedzę na temat podłoża molekularnego, obrazu klinicznego oraz możliwości diagnostycznych vWD. Poniżej przedstawiono wybrane prace o największym znaczeniu z naukowego oraz klinicznego punktu widzenia.

### Patogeneza i podłoże molekularne choroby von Willebranda

Klasyfikacja vWD nie zmieniła się w ciągu ostatnich dwóch dekad, choć w ostatnich latach dokonano nowych odkryć dotyczących patogenezy niektórych podtypów choroby. Stwierdzono, że utrata dużych multimetrów czynnika von Willebranda (vWF, *von Willebrand factor*) w chorobie typu 2A może wynikać nie tylko z zaburzeń sekrecji vWF lub jego przyspieszonej proteolizy przez enzym ADAMTS13 (*a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13*). W niektórych postaciach typu 2A (zwłaszcza w przypadku koekspresji prawidłowego vWF) mechanizm choroby jest złożony i obejmuje wewnątrzkomórkową retencję lub degradację vWF, zaburzenie struktury multimerów, utratę mechanizmów wewnątrzkomórkowego przechowywania vWF i/lub wzmożoną proteolizę [3]. W badaniu z udziałem myszy wykazano, że mutacje w obrębie domeny A2, nasilające proteolizę vWF przez ADAMTS13, wpływają także na klirens vWF, stężenie vWF w osoczu, strukturę multimerów, a ponadto obniżają ryzyko zakrzepicy [4].

Trwają badania dotyczące podłoża molekularnego vWD. Znajomość mutacji sprawczej może pomóc w przewidywaniu fenotypu choroby, co ma istotne znaczenie praktyczne wobec znacznej zmienności obrazu klinicznego tej choroby. Rodzaj mutacji może również determinować odpowiedź na desmopresynę [5]. Najlepiej scharakteryzowano podłoże genetyczne vWD typu 3 — łącznie u ponad 110 pacjentów opisano liczne mutacje zatrzymujące syntezę lub sekrecję vWF, o typie rozległych delecji, *null* oraz zmiany sensu, jak również mutacje nonsensowne oraz miejsc splicingowych. Dość dobrze poznano również podłoże genetyczne podtypów typu 2 vWD; w wielu ośrodkach światowych diagnostyka molekularna odgrywa dziś istotną rolę w różnicowaniu typu 2B vWD z rzekomą vWD, jak również vWD typu 2N z łagodną hemofilią A.

W przypadku choroby typu 1 mutacje sprawcze są obecnie wykrywane u około 65% pacjentów. Wymaga to analizy całego genu vWF w celu zidentyfikowania mutacji punktowych (zwykle o charakterze zmiany sensu) [5]. Wyniki badań molekularnych należy jednak interpretować ostrożnie. Niedawno opublikowano wyniki badania z udziałem 184 zdrowych osób (w większości rasy czarnej) niewykazujących objawów krwotocznych ani odchyłeń w badaniach aktywności i stężenia vWF, u których zidentyfikowano ponad 20 polimorfizmów genu *vWF* [6]. Niektóre z tych polimorfizmów opisywano wcześniej w kontekście objawowej vWD, uznając je za mutacje sprawcze. Doniesienie to uwydatnia fakt, jak ważne jest przeprowadzenie badań zdrowej populacji w celu potwierdzenia rzeczywistego związku wykrywanych zmian genetycznych z fenotypem tej stosunkowo częstej skazy krwotocznej, jaką jest vWD [6].

U ponad 1/3 chorych na vWD typu 1 nie udaje się ustalić mutacji sprawczej. Zainteresowanie badaczy budzą więc inne czynniki genetyczne modyfikujące aktywność vWF w osoczu. Do najbardziej znanych należy grupa krwi w układzie AB0; u osób o grupie krwi 0 aktywność i stężenie vWF są o około 25% niższe niż u pozostałych, co wynika z nasilonego osoczowego klirensu dojrzałego vWF [7]. W ostatnim czasie opublikowano wyniki szerokiej analizy genomu ponad 23 000 osób pochodzenia europejskiego, która umożliwiła wykrycie sześciu nowych mutacji wpływających na aktywność vWF oraz czynnika VIII (FVIII, *factor VIII*) krzepnięcia, zlokalizowanych między innymi w obrębie genów syntaksyn (białek zaangażowanych w egzocytozę ciałek Weibela-Palada) [8]. W badaniu z udziałem niemal 500 chorych na vWF typu 1 oraz ich krewnych wykazano, że na aktywność vWF w osoczu wpływają również polimorfizmy genu receptora lektyn CLEC4M (*C-type lectin member 4 family M*) [9]. Dalsze badania mogą zaowocować odkryciem kolejnych mutacji umiejscowionych poza genem *vWF* wywołujących fenotyp typu 1 vWD.

### Propeptyd czynnika von Willebranda

Jedną z przyczyn obniżenia aktywności vWF u chorych na vWD typu 1 jest zwiększenie osoczowego klirensu vWF. W przypadku dominacji tego mechanizmu stosowanie desmopresyny może być nieskuteczne ze względu na skrócony okres półtrwania endogennego vWF. W 2006 roku opisano cztery rodziny ze skróconym czasem przeżycia vWF w osoczu i po raz pierwszy zaproponowano wyodrębnienie tak zwanego wariantu 1C choroby,

charakteryzującego się nasileniem klirensu VWF [10]. Wariant ten można rozpoznać na podstawie oznaczenia stężenia w osoczu propeptydu vWF (vWFpp), który jest wydzielanym z komórek śródbłonna produktem ubocznym potranslacyjnych modyfikacji vWF i stanowi miarę jego produkcji oraz sekrecji. Wariant 1C odznacza się zwiększeniem stosunku stężenia propeptydu do stężenia vWF w osoczu (vWFpp/vWFag) [7, 10, 11]. Według najnowszych doniesień może on stanowić około 20% wszystkich przypadków vWD typu 1 i jest szczególnie częsty wśród tak zwanych ciężkich postaci typu 1 — stanowi ponad 70% przypadków, w których VWFag mieści się w przedziale 2–10% oraz niemal 40% przypadków z VWFag w przedziale 11–20%. Stwierdzono ponadto, że patomechanizm typu 1C może być złożony, ponieważ u prawie połowy pacjentów wykryto dodatkowo obniżenie stężenia VWFpp poniżej dolnej granicy normy, co świadczy o współistniejącym zaburzeniu produkcji lub sekrecji vWF (konferencja *American Society of Hematology* 2013, streszczenia 331, 3571). Oznaczenie VWFpp jest również przydatne w różnicowaniu między vWD typu 1 przebiegającą z bardzo niską aktywnością i stężeniem vWF a chorobą typu 3 (w pierwszym przypadku VWFpp w osoczu jest wykrywalny). Jest więc prawdopodobne, że stężenie VWFpp zostanie w niedalekiej przyszłości włączone do panelu badań niezbędnych do określenia typu i podtypu vWD.

### Graniczna aktywność czynnika von Willebranda

Laboratoryjne kryteria diagnostyczne vWD nadal budzą kontrowersje. Z jednej strony w przypadku aktywności vWF bliskiej dolnej granicy normy, zwłaszcza w kontekście słabo wyrażonych objawów krwotocznych, decyzja o rozpoznaniu skazy krwotocznej może być trudna z powodu obawy przed stygmatyzacją osób zdrowych, u których ryzyko krwawienia nie jest zwiększone, a niewielkie obniżenie aktywności vWF to efekt na przykład grupy krwi 0. Z drugiej strony zmienność aktywności vWF w osoczu, zależna między innymi od sytuacji klinicznej oraz wieku pacjenta, może maskować rozpoznanie vWD i opóźnić właściwe leczenie. Nie ulega wątpliwości, że diagnoza vWD musi być oparta na obrazie klinicznym oraz wywiadzie rodzinnym, w kontekście wyników badań laboratoryjnych.

Próg aktywności i stężenia VWF równy 50% należy już uznać za historyczny, ponieważ wiąże się ze znacznym odsetkiem fałszywych rozpoznań

vWD [12, 13]. W wytycznych *National Heart, Lung, and Blood Institute* z 2008 roku sugeruje się rozpoznanie vWD przy aktywności vWF poniżej 30% ze względu na najsilniejszą korelację z obecnością mutacji w obrębie genu *vWF* oraz fenotypem skazy krwotocznej [2]. W przypadku aktywności vWF w przedziale 30–50% wielu ekspertów doradza robocze rozpoznanie „granicznej aktywności vWF” lub „prawdopodobnej vWD”. W 2013 roku ukazały się zalecenia europejskiej grupy ekspertów (*European Group on von Willebrand Disease*), którzy przyjęli próg aktywności vWF wynoszący 40% jako silnie sugerujący rozpoznanie vWD [14]. Autorzy opublikowanej niedawno analizy, w której obie wymienione wyżej wartości porównano ze sobą oraz z kryterium opartym na granicy 2,5 percentyla wartości dla danej populacji, stwierdzili, że odsetek rozpoznania vWD w tych sytuacjach różni się prawie 3-krotnie (2,8–8,3% badanej próby > 4000 osób) [15].

Autorzy pracy opublikowanej w 2011 roku retrospektywnie zweryfikowali rozpoznanie vWD typu 1 dokonane przed 2004 rokiem u 114 dzieci zarejestrowanych w Centrum Leczenia Hemofilii w Liverpoolu [13]. Zgodnie ze współczesnymi kryteriami diagnostycznymi u 34% dzieci wykluczono rozpoznanie vWD. Weryfikacja danych klinicznych wykazała, że w tej grupie w międzyczasie wykonano 25 operacji chirurgicznych, nie obserwując powikłań krwotocznych mimo braku leczenia hemostatycznego [13]. Autorzy postulują, że szeroko zakrojony projekt weryfikacji historycznych rozpoznania vWD w rejestrach światowych może dostarczyć nowych, zaskakujących danych na temat zapadalności na tę chorobę w populacji ogólnej.

### Ocena aktywności czynnika von Willebranda

Badania laboratoryjne konieczne do rozpoznania vWD to ocena prokoagulacyjnej aktywności FVIII (FVIII:C), stężenia antygeny vWF (vWF:Ag) oraz aktywności vWF [1]. Do pomiaru stężenia vWF wykorzystuje się metody immunoenzymatyczne (np. ELISA, ELFA, LIA), funkcję vWF natomiast wyraża się najczęściej jako aktywność kofaktora ristocetyny (vWF:RCo). Metoda ta, opisana przez Macfarlane w 1975 roku [16], nadal jest uważana za „złoty standard”, choć ma kilka istotnych mankamentów. Najpoważniejsze z nich to duża zmienność wewnątrz- i międzylaboratoryjna (nawet do 20–40%) oraz bardzo słaba czułość pomiarów przy niskich aktywnościach vWF (< 10–20%) [17]. Obecnie wydaje się, że alternatywą dla tego testu mogą być metody wykorzystujące przeciwciała

monoklonalne i umożliwiające bezpośrednią ocenę wiązania vWF do płytkowej glikoproteiny 1b bez udziału rystocetyny (vWF:Ac). Podobnie jak vWF:RCo są one w pełni zautomatyzowane, cechują się jednak znacznie większą czułością pomiarów przy niskich aktywnościach vWF oraz znacznie większą powtarzalnością [5]. Badania Lawrie [18] oraz Lasne [19] wskazują na dużą zgodność wyników między metodami niezależnymi od rystocetyny a testem vWF:RCo (poza pojedynczymi przypadkami), niemniej jednak autorzy nie sugerują, aby całkowicie zrezygnować z wykonywania testu z zastosowaniem rystocetyny. Lepszym rozwiązaniem wydaje się oznaczanie aktywności vWF w ramach panelu badań przesiewowych w kierunku vWD, zarówno metodą tradycyjną, jak i za pomocą testu niezależnego od rystocetyny.

W niektórych przypadkach dopiero zastosowanie jednej z nowych metod umożliwi rozpoznanie lub wykluczenie choroby. Dotyczy to na przykład osób zdrowych z niedawno opisanym polimorfizmem D1472H eksonu 28 genu *vWF*, zlokalizowanym w sąsiedztwie miejsca wiązania rystocetyny do domeny A1 cząsteczki vWF [20]. U osób tych aktywność vWF, wyrażona jako aktywność kofaktora rystocetyny, może być fałszywie obniżona mimo prawidłowej funkcji vWF oraz braku zwiększonej tendencji do krwawień. Ocena aktywności vWF wyłącznie za pomocą oznaczenia vWF:RCo może więc prowadzić do nieprawidłowego rozpoznania vWD [20].

Aktywność vWF można również oceniać za pomocą testu wiązania vWF do kolagenu (vWF:CB). Badanie to może być pomocne w różnieniu vWD typu 1 od typu 2 (zwłaszcza podtypów 2A/2B). Czułość testu w ogromnym stopniu zależy jednak od rodzaju i pochodzenia kolagenu, dlatego wyniki uzyskane z zastosowaniem testów różnych producentów mogą od siebie w istotnym stopniu odbiegać. Proponowane przez producentów punkty odcięcia dla współczynnika vWF:CB/vWF:Ag, pozwalające na rozróżnienie typu 1 od typu 2 (zwykle 0,6–0,7), także mogą się różnić [21]. Mimo tych ograniczeń autorzy badania, w którym porównywano 7 różnych testów służących do oceny wiązania vWF do kolagenu, postulują włączenie tego oznaczenia do panelu badań przesiewowych [21]. W przypadku jakichkolwiek wątpliwości interpretacyjnych badaniem rozstrzygającym powinien być rozdział multimetrów vWF [22]. Badania Favalaro [23] wskazują także na przydatność oznaczania vWF:CB w diagnostyce i terapii zakrzepowej plamicy małopłytkowej (TTP, *thrombotic thrombocytopenic purpura*), ponieważ końcowy wynik tego badania zależy od obecności dużych multimetrów vWF (to

one odpowiadają za zdolność wiązania do kolagenu). Zaobserwowano dużą zgodność wyników między vWF:CB a vWF:RCo (oba testy cechowała bardzo wysoka czułość w zakresie wykrywania dużych multimetrów w porównaniu z testem vWF:Ac) [23].

Podsumowując, w świetle najnowszych badań pozwalających lepiej zrozumieć niezwykle złożony patomechanizm vWD najlepszym rozwiązaniem wydaje się być wzbogacenie diagnostyki przesiewowej o dodatkowe testy, tj. vWF:Ac oraz vWF:CB.

## Standaryzacja wywiadu krwotocznego

Odpowiednio zebrany wywiad krwotoczny ma kluczowe znaczenie dla prawidłowego rozpoznania i oceny ciężkości skazy krwotocznej. Jest najistotniejszym narzędziem przesiewowym w procesie kwalifikacji pacjentów do specjalistycznych badań koagulologicznych w kierunku wrodzonych skaz krwotocznych, odznaczającym się dużą ujemną wartością predykcyjną. Jakościowa i ilościowa ocena zgłaszanych przez pacjenta objawów krwotocznych jest niezwykle trudna, zwłaszcza u dzieci oraz wobec faktu, że łagodne objawy krwotoczne są częste w populacji ogólnej [24]. Standaryzacja wywiadu krwotocznego jest więc bardzo ważna, zarówno w praktyce klinicznej, jak i w ramach badań naukowych.

W 2005 roku po raz pierwszy opisano zastosowanie u chorych na vWD ilościowego kwestionariusza krwawień (BAT, *bleeding assessment tool*) [25]. Zarówno ten kwestionariusz, jak i wszystkie kolejne skale, opracowane w ciągu ostatnich 10 lat, uwzględniają lokalizację, nasilenie, częstość oraz łatwość tamowania poszczególnych krwawień. Zawierają szczegółowe pytania na temat krwawień skórnych, śluzówkowych, w obrębie układu ruchu, pozabiegowych, związanych z porodem i położeniem oraz innych istotnych klinicznie, przypisując każdemu objawowi punktację, która łącznie stanowi tak zwany wskaźnik krwawień. Skale te cechują wysoka swoistość (> 95%) i zmienna czułość (40–100%) w wykrywaniu łagodnych skaz krwotocznych [24]. Wstępne dane sugerują, że na podstawie wskaźnika krwawień można prognozować ryzyko spontanicznych epizodów krwotocznych w przyszłości oraz krwawień w konkretnych sytuacjach klinicznych (i tym samym ocenić konieczność zabezpieczenia hemostatycznego) [24, 26]. Niski wskaźnik krwawień, zwłaszcza w połączeniu z prawidłową wartością czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT, *activated partial thromboplastin time*), pozwala na wykluczenie skazy krwotocznej, natomiast dodatni wskaźnik uzasadnia pogłębioną diagnostykę układu krzepnięcia [27].

Dzięki międzynarodowej współpracy ekspertów w ramach Grupy Roboczej ISTH (*International Society on Thrombosis and Haemostasis*) utworzono nowy kwestionariusz, rekomendowany obecnie przez wspomniane Towarzystwo do stosowania w praktyce klinicznej oraz w badaniach naukowych [28]. Jest on dostępny również w wersji *on-line* (<https://bh.rockefeller.edu/ISTH-BATR/>). Powstał w wyniku modyfikacji wcześniejszych skali krwawień, na podstawie wyników badań klinicznych przeprowadzonych z udziałem dużych grup chorych na vWD typu 1. W kwestionariuszu ujęto wszystkie istotne objawy krwotoczne, z uwzględnieniem ich przyczyny, nasilenia, częstości oraz leczenia. W ramach konsensusu autorzy ustalili, że epizod krwawienia należy uznać za istotny jedynie wtedy, gdy powoduje wymierne zaburzenie codziennej aktywności pacjenta albo wymaga interwencji medycznej. W celu eliminacji wpływu leczenia hemostatycznego na wynik badania do obliczania wskaźnika krwawień zalecają uwzględnianie jedynie krwawień sprzed momentu rozpoznania skazy krwotocznej. By polepszyć ocenę częstości i znaczenia klinicznego krwawień u danego pacjenta, autorzy dodali dwa pytania — o liczbę interwencji w przeliczeniu na rok życia oraz wiek pierwszej manifestacji danego objawu krwotocznego [28].

Wymienione narzędzia odznaczają się znacznie mniejszą wartością diagnostyczną w przypadku dzieci [29]. Z tego powodu opracowano osobną skalę przeznaczoną do stosowania w tej grupie chorych, uwzględniającą krwawienia swoiste dla wieku wczesnodziecięcego (np. krwawienia z kikuta pępownicy, po zabiegu obrzezania) [30]. Niedawno przedstawiono również wyniki prospektywnej oceny pediatrycznego wskaźnika krwawień (*composite score*), łączącego dwie odrębne skale krwawień z dodatkowymi informacjami klinicznymi (wywiad rodzinny, niedokrwiistość w przeszłości). Jego czułość w wykrywaniu vWD u dzieci poniżej 11. roku życia wyniosła 92,5%, przy swoistości 95% (konferencja *American Society of Hematology* 2013, streszczenie 2356).

### Inhibitory czynnika von Willebranda

W rzadkich przypadkach vWD typu 3 opisuje się wytworzenie inhibitora vWF (u 6–10% chorych) [31, 32]. Niewiele wiadomo o czynnikach ryzyka, biologii oraz leczeniu tego powikłania. Sugerowano, że całkowite lub częściowe delecje w obrębie genu *vWF* sprzyjają wytworzeniu inhibitora, jednak nowsze dane nie potwierdzają tych obserwacji [33].

Jednak w wielu przypadkach inhibitor występuje rodzinnie, co sugeruje podłoże genetyczne i skłania do dalszych badań [31, 32].

Nie ustalono do tej pory standardu laboratoryjnego wykrywania inhibitorów we wrodzonej vWD. Kluczowe znaczenie mają doświadczenie laboratorium koagulologicznego oraz interpretacja wyników w kontekście danych klinicznych. Ogólna zasada opiera się na teście korekcji osoczem prawidłowym, przy czym z powodu braku zależności aktywności inhibitora od temperatury i czasu, czas inkubacji może być skrócony nawet do 15 minut [31]. Wynik przedstawia się w jednostkach Bethesda (jB.), analogicznie do hemofilii A i B. Test powinien wykazać brak korekcji funkcji vWF, przy czym poza oceną interakcji vWF z płytkami krwi oraz stężenia vWF zaleca się również ocenę wiązania vWF do kolagenu oraz do FVIII [34]. Ujemny wynik testu mieszania nie wyklucza obecności inhibitora skierowanego przeciw niefunkcyjnym epitopom vWF, dlatego w wielu ośrodkach preferuje się zastosowanie testu ELISA (mimo obaw o zbyt duży odsetek wyników fałszywie dodatnich ze względu na niską swoistość testu) [31].

Leczenie krwawień u chorego z inhibitorem vWF polega na stosowaniu rekombinowanego FVIII lub preparatów omijających inhibitor. Stosowanie koncentratów vWF może wywołać reakcję alergiczną. Zważywszy na brak możliwości przewidywania, który z pacjentów dozna takiej reakcji, zaleca się bezwzględne unikanie preparatów zawierających nawet niewielkie ilości vWF [31]. W 2008 roku opisano przypadek 35-letniej kobiety z vWD typu 3 powikłaną obecnością inhibitora, u której doszło do reakcji alergicznej oraz wzrostu miana inhibitora po zastosowaniu preparatu rekombinowanego FVIII pierwszej generacji, zawierającego śladową ilość vWF ze względu na koekspresję genu *vWF* w linii komórek wykorzystywanych do jego produkcji [35].

Do tej pory niewiele wiadomo o możliwości indukcji tolerancji immunologicznej (ITI, *induction of immune tolerance*) u chorych na vWD powikłaną inhibitorem. W 2012 roku przedstawiono opis ITI u 9-letniego chłopca z inhibitorem vWF o maksymalnym mianie wynoszącym 6 jB. [36]. U pacjenta nie obserwowano reakcji anafilaktycznych. Eradykację inhibitora uzyskano po 3 miesiącach stosowania koncentratu *Haemate P* w dawce 100 jm./kg mc. co 2. dzień, w premedykacji hydroksyzyną oraz metylprednizolonem, w połączeniu z dożylną immunoglobuliną w dawce 0,8 g/kg mc. co miesiąc [36].

## Obraz kliniczny choroby von Willebranda

Częstość krwawień śródczaszkowych wśród chorych na vWD pozostaje nieznana. Można przypuszczać, że ryzyko tego powikłania jest najwyższe w chorobie typu 3. W 2013 roku opublikowano wyniki retrospektywnej analizy dokumentacji 153 dzieci chorych na vWD, w której stwierdzono sześć udokumentowanych krwawień śródczaszkowych — wszystkie o charakterze pourazowym [37]. Wyliczona na tej podstawie zapadalność wyniosła 1,8% w przypadku vWD typu 1, 4,2% w przypadku vWD typu 2 oraz 17,6% w przypadku choroby typu 3. Objawy neurologiczne oraz wymioty wystąpiły u każdego z sześciorga dzieci z krwotokiem, nie pojawiły się natomiast u żadnego z tych, u których na podstawie tomografii komputerowej wykluczono krwawienie. Autorzy zauważyli również, że w niektórych przypadkach może być konieczne wykonanie drugiego badania obrazowego, jeżeli pierwsze przeprowadzono wcześniej po urazie i/lub obecne są objawy kliniczne sugerujące krwotok. Analiza ta jest prawdopodobnie obciążona istotnym błędem w zakresie wyliczonych odsetków zapadalności ze względu na retrospektywny charakter, jednak dostarcza informacji istotnych w praktyce klinicznej oraz pozwala wstępnie oszacować skalę problemu, jakim jest występowanie krwawień śródczaszkowych u dzieci chorych na vWD [37].

Poważnym problemem klinicznym u chorych na vWD jest angiodyspłazja jelitowa, powodująca nawracające, jawne lub utajone krwawienia z przewodu pokarmowego. Naczynia krwionośne o zaburzonej architekturze lokalizują się najczęściej w obrębie kątnicy oraz okrężnicy wstępującej, choć bywają też opisywane na całym przebiegu jelita grubego, jak również w jelicie cienkim i żołądku [38]. Angiodyspłazję stwierdza się wyłącznie u pacjentów z deficytem dużych multimerów vWF, czyli w przebiegu typu 3 (4,5%) oraz typu 2 (2%) choroby [39]. W ostatnich latach wykazano, że cząsteczka vWF poza działaniem w obrębie układu hemostazy odgrywa również rolę w regulacji angiogenezy. Brytyjscy badacze [40] w badaniu *in vitro* dowiedli, że brak vWF w ciałkach Weibela-Palada komórek śródbłonna myszy promuje angiogenezę i neowaskularyzację. W mechanizmie tym pośredniczą między innymi angiopoetyny, stanowiące ligand dla vWF. Odgrywa w nim także rolę szlak modulacji wzrostu komórek śródbłonna za pośrednictwem receptora czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego typu 2 (VEGFR-2, *vascular endothelial growth factor receptor-2*) [38].

Wyniki badań eksperymentalnych znalazły następnie potwierdzenie w odkryciu, że u chorych na vWD zwiększają się liczba krążących komórek śródbłonna oraz stężenie cytokin uczestniczących w angiogenezie [41]. W związku z tym pojawiły się pierwsze doniesienia o skuteczności leków o działaniu antyangiogennym (talidomid, atorwastatyna w dużych dawkach) u chorych z krwawieniami w przebiegu angiodyspłazji, opornymi na leczenie substytucyjne [42, 43].

## Profilaktyka u osób z chorobą von Willebranda

W przeciwieństwie do hemofilii status leczenia profilaktycznego vWD jest mało ugruntowany. Pojawiają się jednak doniesienia świadczące o tym, że niektórzy chorzy na vWD typu 2 i typu 3 (wyjątkowo rzadko typu 1) odnoszą korzyści z długoterminowej, wtórnej profilaktyki krwawień. Wskazaniami do okresowej lub wtórnej profilaktyki są najczęściej krwawienia do stawów albo uporczywe krwawienia śluzówkowe (np. z nosa, dziąseł lub z przewodu pokarmowego na tle angiodyspłazji) prowadzące do przewlekłej niedokrwistości, konieczności częstych hospitalizacji, przetoczeń krwi lub znacznie upośledzające jakość życia pacjenta [38, 44, 45]. Dostępne dane (pochodzące z kilku badań klinicznych obejmujących grupy 11–61 chorych na vWD o ciężkim przebiegu klinicznym) świadczą o dobrej klinicznej skuteczności długofalowej profilaktyki, wyrażającej się istotną redukcją lub ustąpieniem krwawień, jak również (u dzieci) zapobieganiem jawnej klinicznie artropatii [45–47]. Koncentraty FVIII zawierające vWF stosowano w dawkach 12–50 j. FVIII/kg mc. 1–3 razy w tygodniu lub 40–60 j. vWF:RCo/kg mc 2–4 razy w tygodniu. Nie obserwowano powikłań zakrzepowych, nawet w czasie wieloletniej profilaktyki (trwającej > 10 lat). Na obecnym etapie wiedzy można więc stwierdzić, że profilaktyka u wybranych chorych na vWD jest bezpieczna i skuteczna [38, 45–47].

## Zakrzepica tętnicza w chorobie von Willebranda

Trwają dyskusje na temat związku między dużą aktywnością vWF w osoczu a ryzykiem choroby niedokrwiennej serca oraz udaru niedokrwinnego w populacji ogólnej. W ostatnim czasie opublikowano wyniki pierwszego badania, w którym oceniano ryzyko zakrzepicy tętniczej u chorych na vWD [48]. Na podstawie retrospektywnej analizy danych

medycznych ponad 600 chorych stwierdzono, że ryzyko choroby niedokrwiennej serca, zawału serca oraz udaru niedokrwiennego mózgu było u nich znacząco niższe niż w populacji ogólnej (oceniano dwie grupy kontrolne dobrane do badanej grupy pod względem płci i wieku). Ogólnie ryzyko zakrzepicy tętniczej było o 39% i 63% niższe niż w grupach kontrolnych [48]. Jest to pierwsza praca, której wyniki potwierdzają wcześniejsze przypuszczenia oparte na wynikach badań na zwierzętach, zgodnie z którymi niedobór vWF może chronić przed chorobami serca i naczyń.

### Leczenie choroby von Willebranda

W zakresie leczenia vWD najistotniejszą nowością jest rozpoczęcie fazy klinicznej badań rekombinowanego koncentratu vWF [49]. U 32 chorych na ciężkie postaci vWD, którym podawano ten preparat, nie zaobserwowano zdarzeń niepożądanych (w tym immunogenności). Skuteczność hemostatyczna terapii, w skład której poza rekombinowanym vWF wchodził także rekombinowany koncentrat FVIII, była dobra. Mimo obecności wszystkich multimerów w badanej cząsteczce (w tym multimerów o największym rozmiarze), u pacjentów nie stwierdzono żadnych cech mikroangiopatii, co świadczy o właściwej proteolizie dostarczonego vWF przez endogenny enzym ADAMTS13 [49]. Zachowanie pełnej struktury multimerów stwarza ponadto nadzieję, że nowy preparat będzie skuteczniejszy niż dostępne obecnie koncentraty w leczeniu krwawień śluzówkowych, również tych na tle angiodysplazji [38].

Pojawiły się ponadto dwa interesujące doniesienia dotyczące stosowania zmniejszonych dawek desmopresyny podawanej podskórnie. U 14 dzieci w wieku 3–16 lat chorych na vWD typu 1 desmopresyna w dawce zmniejszonej średnio o połowę (0,12–0,18  $\mu\text{g}/\text{kg}$  mc.) doprowadziła do wzrostu zarówno aktywności vWF i stężenia vWF, jak i aktywności FVIII do wartości hemostatycznych i co najmniej 3-krotnie większych od wartości wyjściowych. Oznaczenia laboratoryjne wykonywano godzinę po zakończeniu wlewu. Po 4 godzinach oceniano jedynie czas okluzji w aparacie PFA-100, który w każdym przypadku uległ normalizacji [50]. Podobnie w retrospektywnej analizie, w której oceniano skuteczność stałej dawki 15  $\mu\text{g}$  desmopresyny podawanej podskórnie, chorym na vWD typu 1 o masie ciała przekraczającej 50 kg w około 80% przypadków (u 33 z 40 osób) stwierdzono dobrą odpowiedź

hemostatyczną, definiowaną jako aktywność vWF oraz aktywność FVIII powyżej 50% po upływie 60 minut od zakończenia wlewu. Aktywność vWF zwiększyła się średnio 3-krotnie, a aktywność FVIII — średnio ponad 5-krotnie [51]. Dane te sugerują, że warto szerzej zbadać odpowiedź na mniejsze niż dotychczas stosowane dawki desmopresyny. Może to mieć istotne znaczenie zwłaszcza w krajach o ograniczonych nakładach finansowych na leczenie skaz krwotocznych.

### Podsumowanie

Wiedza dotycząca patomechanizmu, diagnostyki i obrazu klinicznego vWD w ostatnich latach znacznie się poszerzyła. Nowe odkrycia dotyczące genetyki, biologii i przebiegu klinicznego choroby przyczyniają się do optymalizacji postępowania terapeutycznego i stanowią przyczynek do dalszych badań. Trwają kolejne prace nad podłożem molekularnym choroby, optymalnymi metodami leczenia, a także terapią genową vWD [34].

### Piśmiennictwo

1. Zdziarska J., Chojnowski K., Klukowska A. i wsp. Postępowanie w chorobie von Willebranda. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów 2008. Med. Prakt. (wyd. spec.) 2008; 12.
2. Nichols W.L., Hultin M.B., James A.H. i wsp. von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). Haemophilia 2008; 14: 171–232.
3. Jacobi P.M., Gill J.C., Flood V.H. i wsp. Intersection of mechanisms of type 2A VWD through defects in VWF multimerization, secretion, ADAMTS-13 susceptibility, and regulated storage. Blood 2012; 119: 4543–4553.
4. Pruss C.M., Golder M., Bryant A. i wsp. Use of a mouse model to elucidate the phenotypic effects of the von Willebrand factor cleavage mutants, Y1605A/M1606A and R1597W. J. Thromb. Haemost. 2012; 10: 940–950.
5. Lillicrap D. von Willebrand disease: advances in pathogenetic understanding, diagnosis, and therapy. Blood 2013; 122: 3735–3740.
6. Bellissimo D.B., Christopherson P.A., Flood V.H. i wsp. von Willebrand factor mutations and new sequence variations identified in healthy controls are more frequent in the African-American population. Blood 2012; 119: 2135–2140.
7. Eikenboom J., Federici A.B., Dirven R.J. i wsp; MCMDM-1VWD Study Group. VWF propeptide and ratios between VWF, VWF propeptide, and FVIII in the characterization of type 1 von Willebrand disease. Blood 2013; 121: 2336–2339.
8. Smith N.L., Chen M.H., Dehghan A. i wsp. Novel associations of multiple genetic loci with plasma levels of factor VII, factor VIII, and von Willebrand factor: the CHARGE (Cohorts for Heart and Aging Research in Genome Epidemiology) Consortium. Circulation 2010; 121: 1382–1392.
9. Rydz N., Swystun L.L., Notley C. i wsp. The C-type lectin receptor CLEC4M binds, internalizes and clears von Willebrand factor

- and contributes to the variation in plasma von Willebrand factor levels. *Blood* 2013; 121: 5228–5237.
10. Haberichter S.L., Balistreri M., Christopherson P. i wsp. Assay of the von Willebrand factor (VWF) propeptide to identify patients with type 1 von Willebrand disease with decreased VWF survival. *Blood* 2006; 108: 3344–3351.
  11. Haberichter S.L., Castaman G., Budde U. i wsp. Identification of type 1 von Willebrand disease patients with reduced von Willebrand factor survival by assay of the VWF propeptide in the European study: molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 VWD (MCMDM-1VWD). *Blood* 2008; 111: 4979–4985.
  12. Laffan M., Brown S.A., Collins P.W. i wsp. The diagnosis of von Willebrand disease: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organization. *Haemophilia* 2004; 10: 199–217.
  13. Dutt T., Burns S., Mackett N. i wsp. Application of UKHCDO 2004 guidelines in type 1 von Willebrand disease — a single centre paediatric experience of the implications of altered or removed diagnosis. *Haemophilia* 2011; 17: 522–526.
  14. Castaman G., Goodeve A., Eikenboom J. European Group on von Willebrand disease. Principles of care for the diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Haematologica* 2013; 98: 667–674.
  15. Quiroga T., Goycoolea M., Belmont S. i wsp. Quantitative impact of using different criteria for the laboratory diagnosis of type 1 von Willebrand disease. *J. Thromb. Haemost.* 2014; 12: 1238–1243.
  16. Macfarlane D.E., Stibbe J., Kirby E.P., Zucker M.B., Grant R.A., McPherson J. Letter: a method for assaying von Willebrand factor (ristocetin cofactor). *Thromb. Diath. Haemorrh.* 1975; 34: 306–308.
  17. Favaloro E.J. Diagnosis and classification of von Willebrand disease: a review of the differential utility of various functional von Willebrand factor assay. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2011; 22: 553–564.
  18. Lawrie A.S., Stufano F., Canciani M.T. i wsp. A comparative evaluation of a new automated assay for von Willebrand factor activity. *Haemophilia* 2013; 19: 338–342.
  19. Lasne D., Dey C., Dautzenberg M.D. i wsp. Screening for von Willebrand disease: contribution of an automated assay for von Willebrand factor activity. *Haemophilia* 2012; 18: 158–163.
  20. Francis J.C., Hui S.K., Mahoney J.R. i wsp. Diagnostic challenges in patients with bleeding phenotype and von Willebrand exon 28 polymorphism p.D1472H. *Haemophilia* 2014; 20: 211–214.
  21. Flood V.H., Gill J.C., Christopherson P.A. i wsp. Comparison of type I, type III and type IV collagen binding assays in diagnosis of von Willebrand disease. *J. Thromb. Haemost.* 2012; 10: 1425–1432.
  22. Favaloro E.J. Evaluation of commercial von Willebrand factor collagen binding assays to assist the discrimination of types 1 and 2 von Willebrand disease. *Thromb. Haemost.* 2010; 104: 1009–1021.
  23. Favaloro E.J., Bonar R., Chapman K., Meiring M., Funk D. Differential sensitivity of von Willebrand factor (VWF) 'activity' assays to large and small VWF molecular weight forms: a cross-laboratory study comparing ristocetin cofactor, collagen binding and mAb-based assays. *J. Thromb. Haemost.* 2012; 10: 1043–1054.
  24. Tosetto A., Castaman G., Rodeghiero F. Bleeders, bleeding rates, and bleeding score. *J. Thromb. Haemost.* 2013; 11: 142–150.
  25. Rodeghiero F., Castaman G., Tosetto A. i wsp. The discriminant power of bleeding history for the diagnosis of type 1 von Willebrand disease: an international, multicenter study. *J. Thromb. Haemost.* 2005; 3: 2619–2626.
  26. Federici A.B., Bucciarelli P., Castaman G. i wsp. The bleeding score predicts clinical outcomes and replacement therapy in adults with von Willebrand disease. *Blood* 2014; 123: 4037–4044.
  27. Tosetto A., Castaman G., Plug I., Rodeghiero F., Eikenboom J. Prospective evaluation of the clinical utility of quantitative bleeding severity assessment in patients referred for hemostatic evaluation. *J. Thromb. Haemost.* 2011; 9: 1143–1148.
  28. Rodeghiero F., Tosetto A., Abshire T. i wsp. ISTH/SSC joint VWF and Perinatal/Pediatric Hemostasis Subcommittees Working Group. ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8: 2063–2065.
  29. Marcus P.D., Nire K.G., Grooms L., Klima J., O'Brien S.H. The power of a standardized bleeding score in diagnosing paediatric type 1 von Willebrand's disease and platelet function defects. *Haemophilia* 2011; 17: 223–227.
  30. Biss T.T., Blanchette V.S., Clark D.S. i wsp. Quantitation of bleeding symptoms in children with von Willebrand disease: use of a standardized pediatric bleeding questionnaire. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8: 950–956.
  31. James P.D., Lillicrap D., Mannucci P.M. Alloantibodies in von Willebrand disease. *Blood* 2013; 122: 636–640.
  32. Federici A.B., Bucciarelli P., Castaman G. i wsp. Management of inherited von Willebrand disease in Italy: results from the retrospective study on 1234 patients. *Semin. Thromb. Hemost.* 2011; 37: 511–21.
  33. Mohl A., Boda Z., Jager R. i wsp. Common large partial VWF gene deletion does not cause alloantibody formation in the Hungarian type 3 von Willebrand disease population. *J. Thromb. Haemost.* 2011; 9: 945–952.
  34. Berntorp E., Peake I., Budde U. i wsp. von Willebrand's disease: a report from a meeting in the Åland islands. *Haemophilia* 2012; 18: 1–13.
  35. Franchini M., Gandini G., Giuffrida A. i wsp. Treatment for patients with type 3 von Willebrand disease and alloantibodies: a case report. *Haemophilia* 2008; 14: 645–646.
  36. Pergantou H., Xafaki P., Adamtziki E. i wsp. The challenging management of a child with type 3 von Willebrand disease and antibodies to von Willebrand factor. *Haemophilia* 2012; 18: e66–e67.
  37. Labarque V., Stain A.M., Blanchette V. i wsp. Intracranial haemorrhage in von Willebrand disease: a report on six cases. *Haemophilia* 2013; 19: 602–606.
  38. Franchini M., Mannucci P.M. Gastrointestinal angiodysplasia and bleeding in von Willebrand disease. *Thromb. Haemost.* 2014; 112: 427–431.
  39. Fressinaud E., Meyer D. International survey of patients with von Willebrand disease and angiodysplasia. *Thromb. Haemost.* 1993; 70: 546.
  40. Starke R.D., Ferraro F., Paschalaki K.E. i wsp. Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. *Blood* 2011; 117: 1071–1080.
  41. Gritti G., Cortezzi A., Bucciarelli P. i wsp. Circulating and progenitor endothelial cells are abnormal in patients with different types of von Willebrand disease and correlate with markers of angiogenesis. *Am. J. Hematol.* 2011; 86: 650–656.
  42. Nomikou E., Tsevrenis V., Gafou A. i wsp. Type IIb von Willebrand disease with angiodysplasias and refractory gastrointestinal bleeding successfully treated with thalidomide. *Haemophilia* 2009; 15: 1340–1342.



43. Alikhan R., Keeling D. von Willebrand disease, angiodyplasia and atorvastatin. *Br. J. Haematol.* 2010; 149: 159–160.
44. Berntorp E. Prophylaxis in von Willebrand disease. *Haemophilia* 2008; 14: 47–53.
45. Abshire T.C., Federici A.B., Álvarez M.T. i wsp. VWD PN. Prophylaxis in severe forms of von Willebrand's disease: results from the von Willebrand Disease Prophylaxis Network (VWD PN). *Haemophilia* 2013; 19: 76–81.
46. Berntorp E., Petrini P. Long-term prophylaxis in von Willebrand disease. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2005; 16: 23–26.
47. Halimeh S., Krumpel A., Rott H. i wsp. Long-term secondary prophylaxis in children, adolescents and young adults with von Willebrand disease. Results of a cohort study. *Thromb. Haemost.* 2011; 105: 597–604.
48. Sanders Y., Eikenboom J., de Wee E.M. i wsp.; WiN Study Group. Reduced prevalence of arterial thrombosis in von Willebrand disease. *J. Thromb. Haemost.* 2013; 11: 845–854.
49. Mannucci P., Kempton C., Millar C. i wsp. Pharmacokinetics and safety of a novel recombinant human von Willebrand factor manufactured with a plasma-free method: a prospective clinical trial. *Blood* 2013; 122: 648–657.
50. Akin M. Response to low-dose desmopressin by a subcutaneous route in children with type 1 von Willebrand disease. *Hematology* 2013; 18: 115–118.
51. Siew D.A., Mangel J., Laudenschach L., Schembri S., Minuk L. Desmopressin responsiveness at a capped dose of 15  $\mu\text{g}$  in type 1 von Willebrand disease and mild hemophilia A. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2014 Jun 6 [złożone do druku].