

Propeptyd czynnika von Willebranda (VWFpp) — potencjalny biomarker we wrodzonej i nabytej chorobie von Willebranda

Ksenia Bykowska¹, Bernadeta Ceglarek², Adela Gwozdowska²,
Dariusz Zakrzewski³, Beata Baran¹, Ewa Mendek-Czajkowska⁴

¹Zakład Hemostazy i Chorób Metabolicznych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

²Klinika Zaburzeń Hemostazy i Chorób Wewnętrznych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii
w Warszawie

³Klinika Wad Zastawkowych Serca, Narodowy Instytut Kardiologii w Warszawie

⁴Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Bykowska K, Ceglarek B, Gwozdowska A et al. Von Willebrand factor propeptide (VWFpp) — potential biomarker in inherited von Willebrand disease and acquired von Willebrand syndrome. *J Transf Med* 2019; 12 (4): 176–190. DOI: 10.5603/JTM.2019.0009

Należy cytować wersję pierwotną.

Streszczenie

Propeptyd czynnika von Willebranda (VWFpp) jest to fragment nowo syntetyzowanej cząsteczki VWF odgrywający ważną rolę w biosyntezie tego białka. Po zakończonej multimeryzacji dime-rów czynnika von Willebranda (VWF) w aparacie Golgiego, na skutek proteolizy przez furynę, zostaje on odłączony od macierzystej cząsteczki VWF i tworzy z nią niekowalencyjny kompleks. Kompleks VWFpp–VWF jest magazynowany w ziarnistościach komórek śródbłonna i płytek krwi i uwalniany do krwioobiegu, gdzie dysocjuje na VWFpp i VWF.

Stężenie VWFpp w osoczu i iloraz VWFpp/VWF:Ag są ważnymi biomarkerami syntezy/ /uwalniania/klirensu VWF i mają istotne znaczenie zarówno terapeutyczne — umożliwiają identyfikowanie pacjentów z chorobą von Willebranda (VWD), u których leczenie DDAVP jest nieskuteczne z powodu szybkiego klirensu VWF, jak i diagnostyczne — pomagają różnicować warianty we wrodzonej VWD oraz różnicować wrodzoną VWD z nabytą (AVWS).

Celem prezentowanej pracy było oznaczenie stężenia VWFpp i ilorazu VWFpp/VWF:Ag u pa-cjentów z VWD i AVWS oraz ocena znaczenia tych biomarkerów w rozpoznawaniu i leczeniu VWD i AVWS.

Badania wykonano u 120 chorych z VWD oraz u 21 z AVWS i u 111 osób grupy kontrolnej. Wyniki badań autorów potwierdzają, że stężenie VWFpp i wartość ilorazu VWFpp/VWF:Ag mają istotne znaczenie w różnicowaniu ciężkiego typu 1 VWD z typem 3 VWD, w różnicowaniu nabytej i wrodzonej VWD, a także pozwalają na wyłonienie chorych, u których leczenie DDAVP może być nieskuteczne. W typie 1 VWD (< 30%) iloraz VWFpp/VWF:Ag był podwyższony u 57% chorych, natomiast w grupie chorych z granicznymi wartościami VWF (low VWF — 30–50%) był prawidłowy, co może sugerować inne podłoże niedoboru VWF. W badaniach wy-konanych u pacjentów z nieneutralizującymi przeciwciałami anty-VWF (AVWS) wykazano, że

Adres do korespondencji: prof. dr hab. n. med. Ksenia Bykowska, Pracownia Choroby von Willebranda, Zakład Hemostazy i Chorób Metabolicznych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel.: 22 349 61 60, e-mail: kbykowska@ihit.waw.pl

iloraz VWFpp/VWF:Ag może mieć istotne znaczenie w monitorowaniu leczenia i ocenie remisji u pacjentów z przeciwciałami anti-VWF.

Słowa kluczowe: propeptyd czynnika von Willebranda, biomarker, choroba von Willebranda, nabyta choroba von Willebranda

Wstęp

Choroba von Willebranda (VWD, *von Willebrand disease*) jest najczęściej występującą skazą krwotoczną. Jest ona bardzo heterogenna zarówno pod względem klinicznym, jak i diagnostycznym. Może mieć postać wrodzoną lub nabytą.

Przyczyną krwawień zarówno we wrodzonej, jak i nabytej chorobie von Willebranda (AVWS, *acquired von Willebrand syndrome*) jest niedobór czynnika von Willebranda (VWF, *von Willebrand factor*), białka biorącego udział zarówno w procesie krzepnięcia krwi, jak i w adhezji i agregacji płytek krwi, choć patogenezę tych niedoborów jest różna.

Wrodzona choroba von Willebranda (VWD)

Wrodzona VWD została po raz pierwszy opisana i zróżnicowana z hemofilią w roku 1926 przez fińskiego lekarza Erica von Willebranda [1]. Jak wykazano w badaniach epidemiologicznych, niedobór VWF odpowiedzialnego za wystąpienie tej skazy krwotocznej wykrywa się u około 1% ogólnej populacji [2]. Wrodzona VWD dziedziczona jest autosomalnie dominująco, rzadziej recesywnie [3]. Jest ona bardzo zróżnicowana zarówno fenotypowo, jak i genotypowo o czym świadczy chociażby fakt, że do roku 1994 opisano ponad 20 wariantów tej choroby. W 1994 roku wprowadzono nową, uproszczoną klasyfikację VWD, która po niewielkiej modyfikacji w 2006 roku, obowiązuje do dnia dzisiejszego [4, 5]. Wyróżniono w niej 3 typy i 4 podtypy VWD. W typie 1 i 3 występuje defekt ilościowy, spowodowany upośledzeniem lub brakiem syntezy VWF, natomiast w typie 2 (2A, 2B, 2M, 2N) — defekt jakościowy, spowodowany najczęściej mutacjami genu *VWF*. Około 70% chorych z VWD ma rozpoznawany typ 1 VWD, z czego u około 50% czas przeżycia VWF jest skrócony, co oznacza, że leczenie DDAVP (*deamino-8-D-arginino vasopresyna*) może być u tych chorych mało skuteczne lub nieskuteczne [6]. W typie 1 VWD skrócony czas przeżycia VWF jest charakterystyczny dla wariantu 1C VWD [7]. Po raz pierwszy typ 1C VWD (*Clearance*) wyodrębniono w 2006 roku, kiedy to opisano cztery rodziny ze skróconym czasem przeżycia

VWF w osoczu [8]. Wykazano, że typ 1C VWD charakteryzuje się skróconym czasem przeżycia VWF (4,4 x krótszy niż u ludzi zdrowych), wyższym niż normalnie wzrostem i szybkim spadkiem stężenia VWF po podaniu DDAVP, wysokim ilorazem propeptydu czynnika von Willebranda (VWFpp) do antygeny VWF (VWF:Ag), a także prawidłową liczbą płytek krwi i prawidłowym stężeniem VWF w płytkach krwi. W badaniach laboratoryjnych stwierdza się ponadto obniżone stężenie kofaktor ristocetyny VWF (VWF:RC) i VWF:Ag w osoczu. W typie 1C VWD synteza, multimeryzacja i uwalnianie VWF są prawidłowe. Multimetry VWF są najczęściej większe niż w osoczu prawidłowym, a obraz tripletów VWF (analiza multimerów) jest nieprawidłowy. Obecność multimerów o większej masie cząsteczkowej niż w osoczu prawidłowym jest paradoksalnie wynikiem upośledzonej degradacji VWF przez ADAMTS13 (*A Disintegrin And Metalloprotease with Thrombospondin-1 motif*) spowodowanej bardzo szybkim klirensiem VWF z osocza [6, 7, 9–11].

Ponieważ stężenie VWF w typie 1C VWD może być obniżone nawet poniżej 5% [12], niekiedy trudno jest prawidłowo zróżnicować typ 1C VWD z typem ciężkim 3 VWD.

Nabyta choroba von Willebranda (AVWS)

Nabyta choroba von Willebranda jest to skaza krwotoczna o objawach przypominających wrodzoną VWD [13–16]. Występuje rzadko, bo u 0,04–0,13% ogólnej populacji [17]. W przeciwieństwie do VWD AVWS może pojawić się u osób w każdym wieku, jednak najczęściej występuje u osób starszych, bez wywiadu rodzinnego i chorobowego skazy krwotocznej, w przebiegu innych chorób [17]. Pierwszy przypadek AVWS opisano w 1968 roku u 7-letniego chłopca z toczniem rumieniowatym układowym [18]. W 2000 roku Federici i wsp. [19] opublikowali wyniki badań przeprowadzonych u 186 chorych z AVWS z 50 ośrodków hematologicznych. Wykazali oni, że AVWS pojawia się łącznie w 63% nowotworów hematologicznych, najczęściej w chorobach limfoproliferacyjnych (48%), mieloproliferacyjnych (15%), układu sercowo-naczyniowego (21%), guzach litych (5%),

w chorobach autoimmunologicznych (2%) i innych (9%), Spośród chorób limfo- i mieloproliferacyjnych AVWS występuje najczęściej w gammapatii monoklonalnej o nieustalonej etiologii (MGUS, *monoclonal gammopathy of undetermined significance*), szpiczaku plazmocytowym i w nadpłytkowości samoistnej (ET, *essential thrombocythemia*).

U części pacjentów z AVWS objawy skazy krwotocznej są pierwszym symptomem choroby podstawowej. Nawracające krwawienia od łagodnych do ciężkich występują u około 20–33% chorych. Szczególnie groźne są krwawienia pojawiające się nagle podczas inwazyjnych procedur lub zabiegów chirurgicznych u osób, u których nigdy wcześniej skaza krwotoczna nie występowała [17, 19, 20].

Do najważniejszych mechanizmów powodujących AVWS należą:

- pojawienie się przeciwciał skracających okres półtrwania VWF w osoczu;
- adsorpcja VWF na komórkach nowotworowych, płytkach i innych powierzchniach;
- utrata dużych multimetrów (HMW, *high molecular weight*) w warunkach wysokiej siły jonowej;
- zwiększona proteoliza (plazmina, kalpajny, elastaza, ADAMTS13) [21, 22].

Prawidłowe rozpoznanie niedoboru VWF, ustalenie jego podłoża i właściwe zakwalifikowanie ma ogromne znaczenie dla procesu leczenia. Choć panel badań wykonywanych w diagnostyce VWD jest bardzo szeroki, to jednak w dalszym ciągu jest on niewystarczający szczególnie w przypadku wariantów typów i podtypów VWD. Dlatego też w wielu laboratoriach na świecie w dalszym ciągu trwają prace nad modyfikacją starych i wprowadzeniem nowych, wysokospecjalistycznych metod diagnostycznych, które pozwoliłyby na bardziej precyzyjną ocenę niedoboru [23–28]. Jedną z takich metod jest dostępna w wysokospecjalistycznych laboratoriach metoda oznaczania propeptydu czynnika von Willebranda (VWFpp) [11, 29–33].

Propeptyd VWF

Propeptyd czynnika von Willebranda został po raz pierwszy opisany przez Montgomery'ego i Zimmermana w 1978 roku [34]. Jest to fragment cząsteczki prekursorowej czynnika von Willebranda (pre-pro-VWF) powstający w przebiegu biosyntezy tego białka w komórkach śródbłonna i megakariocytach [12, 35, 36]. Prekursorowa cząsteczka VWF (2813 aminokwasów) jest zbudowana z peptydu sygnałowego (22 aminokwasów), propeptydu (741 aminokwasów) i monomeru

VWF (2050 reszt aminokwasowych). W przebiegu biosyntezy pre-pro-VWF ulega wewnątrzkomórkowym modyfikacjom. Odłączony zostaje peptyd sygnałowy (pre), poprzez wiązania dwusiarczkowe w C-końcach monomerów (reszty 1908–2050) w retikulum endoplazmatycznym powstają pro-dimery, które w kolejnych etapach biosyntezy ulegają glikozylacji i sulfonowaniu. Pro-dimery są transportowane do aparatu Golgiego, gdzie syntetyzowane są wiązania dwusiarczkowe pomiędzy N-końcami domeny D3 pro-dimerów, tworzą się multimery VWF [37–39]. W procesie multimeryzacji biorą udział domeny D1, D2 VWFpp oraz D' i D3 od N-końca monomeru VWF [40–45]. W wyniku proteolizy VWF przez furynę, związaną z błonami endoprotezę zależną od jonów Ca, do środowiska zostaje uwolniony VWFpp. Proteoliza zachodzi w pozycji 763 VWF, pomiędzy końcem VWFpp i domeną D' VWF [44, 46].

Dotychczas uważano, że magazynowany w komórkach śródbłonna i ziarnistościach alfa płytek krwi VWFpp tworzy niekowalencyjny kompleks z VWF, który po uwolnieniu do krwioobiegu pod wpływem fizjologicznych i patologicznych bodźców, dysocjuje na VWFpp i VWF [23, 47]. W 2012 roku Madabhushi i wsp. [48] wykazali, że VWF i VWFpp również w krążeniu tworzą niekowalencyjny kompleks (VWFpp-D-D3-VWF), a interakcja VWFpp i domeny D'D3 VWF jest ważnym mechanizmem regulującym proces hemostazy. Redukuje ona dostępność domeny A1 VWF dla płytkowej GPIIb α , ogranicza proteolizę VWF przez ADAMTS13, hamuje stabilizację i wiązanie czynnika VIII:C [49, 50].

W krążeniu VWFpp pojawia się jako homodimer o stężeniu około 1 μ g/ml natomiast stężenie VWF wynosi około 10 μ g/ml, przy czym czas półtrwania jest dla obu białek różny i wynosi 2–3 godziny dla VWFpp i 12–24 godzin dla VWF [24, 47, 51]. Przyjmując, że u osób zdrowych stężenie zarówno VWFpp, jak i VWF wynosi 100% — 1 ml osocza prawidłowego zawiera 1 jednostkę VWF i 1 jednostkę VWFpp, a iloraz VWFpp/VWF:Ag jest równy 1, niezależnie od ich rzeczywistego stężenia. Stosunek obu molekuł uwalnianych do krążenia wynosi 1:1.

Różnice w czasie półtrwania VWFpp i VWF świadczące o szybkości klirensu VWF z osocza zostały wykorzystane w diagnostyce VWD [24–27, 30, 51] i AVWS [52–55]. Stężenie VWFpp, iloraz VWFpp/VWF:Ag, a także iloraz czynnika VIII (VIII:C) do VWF:Ag są już uznanymi biomarkerami syntezy, uwalniania i klirensu VWF [47, 56]. U osób z nabytym inhibitorem VWF (AVWS) VWF jest gwałtownie usuwany z krążenia, natomiast stęże-

nie VWFpp pozostaje prawidłowe przy znacznie podwyższonym ilorazie VWFpp/VWF:Ag. Uważa się, że ponieważ stężenie VWFpp nie jest zależne od grupy krwi [57], to jego stężenie w osoczu jest czulszym markerem aktywacji/uszkodzenia komórek śródbłonna niż stężenie VWF. Podwyższone stężenia VWFpp występują u chorych z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą, twardziną układową, po zawale serca, a także w zakrzepowej plamicy małopłytkowej i zespole hemolityczno-mocznicowym [57–60].

Biomarkery syntezy i klirensu VWF

Choroba von Willebranda jest bardzo zróżnicowana i postawienie właściwej diagnozy wymaga przeprowadzenia szczegółowych badań, z których część jest wykonywana jedynie w wysokospecjalistycznych laboratoriach. Jednym z takich badań jest oznaczenie VWFpp oraz wyznaczenie współczynnika VWFpp/VWF:Ag i współczynnika VIII:C/VWF:Ag. Dyskusja nad zasadnością wprowadzenia tego oznaczania do rutynowej diagnostyki VWD [9, 13] trwa już od wielu lat. Test VWFpp wykonywany w różnych laboratoriach opiera się na założeniu, że jedna jednostka odpowiada stężeniu VWFpp w 1 ml prawidłowego osocza. Coraz częściej ukazują się prace wskazujące na znaczenie VWFpp w diagnostyce zarówno wrodzonej, jak i nabytej VWD. Uważa się, że VWFpp jest ważnym biomarkerem syntezy, uwalniania i klirensu VWF w krążeniu i obniżenie stężenia lub brak VWFpp może wskazywać nie tylko na upośledzenie tych procesów, ale także sugerować rodzaj mutacji sprawczej [8–10, 25, 40, 41, 61]. Zaletą oznaczeń VWFpp jest to, że są one niezależne od grupy krwi, ponieważ na cząsteczce VWFpp nie ma antygenów ABO, podczas gdy są one na cząsteczce VWF [24]. W ocenie syntezy, uwalniania i klirensu VWF posługujemy się przede wszystkim nie wartością stężenia VWFpp, ale ilorazami VWFpp/VWF:Ag i VIII:C/VWF:Ag [11, 61]. Podwyższony iloraz VWFpp/VWF:Ag występuje u chorych ze zwiększonym klirensiem VWF (VWD 1C), natomiast prawidłowy może występować u osób z prawidłowym klirensiem, lecz defektem uwalniania i wewnątrzkomórkowej retencji.

Innym obok ilorazu VWFpp/VWF:Ag ważnym biomarkerem syntezy i klirensu VWF jest iloraz VIII:C/VWF:Ag. W przeciwieństwie do VWF i VWFpp, które występują w krążeniu niezależnie, VIII:C tworzy niekowalencyjny kompleks z VWF (1 cząsteczka VIII do 50 monomerów VWF). Utworzenie kompleksu z VWF chroni VIII:C przed

proteolityczną degradacją [62]. Każdy monomer VWF zawiera 1 miejsce wiążące VIII:C, co oznacza, że wiele miejsc mogących wiązać VIII:C jest wolnych. Ponieważ stężenie czynników krzepnięcia wyraża się w jednostkach na 1 ml osocza, to iloraz VIII:C/VWF:Ag w osoczu prawidłowym wynosi 1. Uważa się, że obniżenie stężenia/brak VWF powoduje automatycznie niedobór VIII:C (typ 2N VWD). Podwyższony iloraz VIII:C/VWF:Ag jest wtedy, gdy występuje defekt syntezy lub uwalniania; prawidłowy — gdy za niedobór VWF odpowiedzialny jest przyspieszony klirens VWF [61]. Wzrost ilorazu VIII:C/VWF:Ag przy upośledzonej syntezie/uwalnianiu VWF tłumaczy się tym, że ponieważ VWF posiada wiele niezajętych miejsc wiązania VIII:C, cały syntetyzowany VIII:C może się związać z VWF. W konsekwencji redukcja stężenia VWF o 50% (heterozygoty allelu *null*) powoduje dwukrotny wzrost ilorazu VIII:C/VWF:Ag. Jest to taki sam mechanizm jak ten, który tłumaczy dlaczego u heterozygot typu 2N VWD iloraz VIII:C/VWF:Ag jest równy 1, chociaż zdolność wiązania VIII:C jest upośledzona. Heterozygoty 2N mają 50% prawidłowych podjednostek i 50% podjednostek z obniżonym wiązaniem/brakiem wiązania VIII:C. Te 50% prawidłowych monomerów wiąże cały VIII:C, w wyniku czego iloraz VIII:C/VWF:Ag nie jest zredukowany. U homozygot 2N, gdzie wszystkie podjednostki VWF nie wiążą VIII:C, iloraz VIII:C/VWF:Ag jest silnie zredukowany.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono łącznie u 252 osób:

1. w liczącej 111 grupie kontrolnej (stężenie VWF 50–100%);
2. w grupie 120 chorych z VWD, ze stężeniem VWF:RCo między poniżej 5% a 50% VWF:RCo;
3. u 21 chorych z AVWS, w tym:
 - u 3 chorych (P-1, P-2, P-3) z MGUS,
 - u pacjenta P-1 oznaczenia wykonano w okresie regresji choroby po zastosowanym leczeniu skojarzonym (cyklofosfamid + deksametazon, immunoglobuliny),
 - u pacjenta P-2 wykonano trzy badania:
 - P-2A — na początku leczenia obejmującego 2 kursy: bortezomib + doksorubicyna + deksametazon (program PAD),
 - P-2B — w trakcie leczenia, po 6 kursach PAD z następowym przeszczepieniem komórek macierzystych szpiku wystymulowanych z krwi obwodowej (PBSCT, *peripheral blood stem cell transplantation*),

Tabela 1. Charakterystyka grupy kontrolnej (n = 111)

Badanie	Zakres	Wartość średnia ± SD	Mediana
VIII:C [%]	57,1–162,1	114,3 ± 21,11	113
VWF:Ag [%]	58,3–158,42	98,4 ± 24,6	96
VWF:RCo [%]	51,5–139,4	88,3 ± 23,5	83,4
VWFpp [%]	40–136	78,7 ± 23,2	74
VIII:C/VWF:Ag	0,55–1,68	1,20 ± 0,29	1,2
VWF:RCo/VWF:Ag	0,58–1,34	0,89 ± 0,16	0,88
VWFpp/VWF:Ag	0,49–1,98	0,82 ± 0,23	0,79

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen czynnika von Willebranda (VWF, von Willebrand factor); VWF:RCo — kofaktor rystocetyny VWF; VWFpp — propeptyd VWF

Tabela 2. Wyniki badań u pacjentów z chorobą von Willebranda (VWD, von Willebrand disease) ze stężeniem VWF:Ag < 5% (n = 7)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWF:RCo/VWF:Ag	VWFpp [%]	VWFpp/VWF:Ag
1.	2,37	2,37	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*
2.	2,36	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*
3.	2,0	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*
4.	15,0	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*
5.	16,81	4,6	1,79	0,38	72	15,6
6.	19,25	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*
7.	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*	< PD*

*PD — wyniki poniżej progu detekcji; VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

- P-2C — po zakończeniu leczenia, w okresie pełnej remisji trwającej 292 dni;
- u pacjentki P-3 badanie wykonano po podaniu pulsu deksametazonu;
- u 11 z nadpłytkowością samoistną (ET, *essential thrombocythemia*) i u 7 ze stenozą aortalną (AS, *aortic stenosis*). Wszyscy chorzy z wyjątkiem osób z AS byli pacjentami Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Chorzy z AS byli leczeni w Instytucie Kardiologii w Aninie.

Badania aktywności koagulacyjnej VIII:C, VWF:Ag, VWF:RCo wykonano na odczynnikach firmy Siemens przy użyciu aparatu BCS XP firmy Siemens; multimery VWF według Krizka i wsp. [63] i VWFpp oznaczano metodą ELISA przy użyciu odczynników firmy Sanquin, Amsterdam.

Wyniki

Badania wykonano u 252 osób, w tym u 111 grupy kontrolnej, u 120 osób z VWD i u 21 z AVWS w wieku 17–70 lat.

Grupa kontrolna

W grupie kontrolnej VWF:RCo wynosiła od 114,3 ± 21,1%; VWF:Ag — 98,4 ± 24,67; współczynnik VWF:RCo/VWF:Ag — 0,89 ± 0,16; stężenie VWFpp — 78,72 ± 23,26; współczynnik VWFpp/VWF:Ag — 0,81 ± 0,22 (tab. 1). Na podstawie wykonanych badań przyjęto, że wartości prawidłowe VWFpp wynoszą 40–136%, współczynnik VWFpp/VWF:Ag — 0,49–1,98, natomiast współczynnik VIII:C/VWF:Ag — 0,55–1,68. Jako wartość graniczną w opisywanych badaniach przyjęto iloraz VWFpp/VWF:Ag równy 2,0.

Wrodzona choroba von Willebranda

Pacjenci z VWD i stężeniem VWF:Ag < 5% i VWF:RCo < 5% (n = 7) (tab. 2)

U 6 osób VWFpp i iloraz VWFpp/VWF:Ag były poniżej progu detekcji (typ 3 VWD). U 1 chorego stężenie VWFpp było prawidłowe (72%), natomiast iloraz VWFpp/VWF:Ag znacząco podwyższony i wynosił 15,6 (n = 2,0), co wskazywałoby na znacznie zwiększony klirens VWF i sugerowało typ 1C VWD.

Tabela 3. Wyniki badań u pacjentów z typem 1 choroby von Willebranda (VWD) i stężeniem VWF:RCo 10–20% (n = 15)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VIII:C/ /VWF:Ag	VWF:RCo/ /VWF:Ag	VWFpp/ /VWF:Ag
1.	26,99	16,32	11,77	24	1,65	0,72	1,47
2.	23,71	12,16	11,61	32,8	1,94	0,95	2,69
3.	31,02	17,51	13,36	152	1,77	0,76	8,68
4.	51,89	19,85	17,98	22	2,6	0,9	21,1
5.	42,49	13,67	10,38	24	3,1	0,75	1,75
6.	67	22	16	7,2	3,04	0,72	0,32
7.	55	16	13	6	3,43	0,81	0,375
8.	71	27	20	18	2,62	0,74	0,66
9.	42	15,8	15	30	2,65	0,94	1,89
10.	27	12,9	12	96	2,09	0,93	7,44
11.	41,19	13,34	11,32	6	3,06	0,84	0,44
12.	32,6	18,34	14,47	60	1,77	0,78	3,27
13.	67,9	15,45	11,25	36	4,39	0,72	2,33
14.	55,45	19,42	16,41	24	2,85	0,84	1,23
15.	40,85	20,02	16,52	20	1,64	0,82	0,99
Zakres	27–67,9	12,16–27	11,25–20	6–152	1,64–3,43	0,72–0,94	0,99–8,68
Średnia ± SD	45,07 ± 15,67	17,31 ± 3,95	14,07 ± 2,84	2,30 ± 2,49	2,74 ± 1,11	0,81 ± 0,08	2,30 ± 2,49
Mediana	42	16,32	13,36	1,47	2,85	0,81	1,47

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

Tabela 4. Wyniki badań u pacjentów z typem 1 choroby von Willebranda (VWD) i stężeniem VWF:RCo 20–30% (n = 5)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VIII:C/ /VWF:Ag	VWF:RCo/ /VWF:Ag	VWFpp/ /VWF:Ag
1.	67,29	33,69	29,98	68	1,99	0,88	2,01
2.	64,1	27,61	25,27	32	2,32	0,91	1,15
3.	65,33	29,16	21,67	68	2,24	0,74	2,33
4.	65,23	31,52	27,45	52	2,06	0,87	1,64
5.	56,71	37,26	27,07	56	1,52	0,72	1,5
Zakres	56,71–67,29	27,61–37,26	21,67–29,98	32–68	1,52–2,32	0,72–0,91	1,15–2,33
Średnia	63,73 ± 4,08	31,84 ± 3,8	26,28 ± 3,08	55,2 ± 14,8	2,06 ± 0,31	0,82 ± 0,08	1,72 ± 0,45
Mediana	65,23	31,52	27,07	56	2,06	0,87	1,64

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

Pacjenci z typem 1 VWD i VWF:RCo 10–20% (n = 15) (tab. 3)

Stężenie VWFpp było obniżone (n = 40–136%) u 12 osób (80%) natomiast współczynnik VWFpp/VWF:Ag był podwyższony (> 2,0) u 6 osób (40%). Współczynnik VIII:C/VWF:Ag był podwyższony w stosunku do grupy kontrolnej u 13 chorych (86,6%).

Pacjenci z typem 1 i z aktywnością VWF:RCo 20–30% (n = 5) (tab. 4)

Stężenie VWFpp było obniżone u 1 chorego (20%), a iloraz VWFpp/VWF:Ag był podwyższony

u 2 osób (40%). Współczynnik VIII:C/VWF:Ag był podwyższony u 4 chorych (80%).

Pacjenci z typem 1 VWD i aktywnością VWF:RCo 30–40% (n = 16) (tab. 5)

Stężenie VWFpp było obniżone u 6 chorych (37,5%), współczynnik VWFpp/VWF:Ag był obniżony u 1 (6,25%). U 1 chorego (6,25%) stężenie VIII:C było nieco obniżone, zaś współczynnik VIII:C/VWF:Ag był podwyższony u 8 osób (50%).

Tabela 5. Wyniki badań u pacjentów z typem 1 choroby von Willebranda (VWD) i stężeniem VWF:RCo 30–40% (n = 16)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VIII:C/ /VWF:Ag	VWF:RCo/ /VWF:Ag	VWFpp/ /VWF:Ag
1.	72,44	35,03	39,51	32,8	2,06	1,12	0,93
2.	72,59	45,28	36,6	60,8	1,6	0,8	1,34
3.	101,38	82,61	34,25	152	0,81	0,7	1,83
4.	67,31	48,67	35,04	60,8	1,38	0,71	1,24
5.	73,19	40,03	40,52	46	1,82	1,01	1,14
6.	68,81	38,78	34,16	10	1,77	0,88	0,25
7.	73,32	39,48	34,6	26,8	1,85	0,87	0,67
8.	32	35,08	36	20	0,91	1,02	0,57
9.	62	41	33	72	1,51	0,80	1,75
10.	76,6	38,7	39,11	76	1,97	1,01	1,96
11.	91,5	38,67	39,89	24	2,36	1,03	0,62
12.	76,1	36,90	31,78	28	2,09	0,87	0,77
13.	61,38	42,94	39,55	60	1,42	0,92	1,39
14.	73,14	37,62	34,82	52	1,42	0,92	1,38
15.	60,89	44,14	39,7	60	1,37	0,89	1,51
16.	96,39	37,92	39,38	72	2,54	1,03	1,82
Zakres	32–101,38	35,03–82,61	33–40,52	10–152	0,81–2,54	0,7–1,12	0,25–1,96
Średnia ± SD	72,44 ± 16,01	42,64 ± 11,28	36,74 ± 2,87	53,32 ± 33,48	1,68 ± 0,47	0,91 ± 0,12	1,19 ± 0,51
Mediana	72,86	39,13	36,3	56	1,68	0,9	1,29

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

Pacjenci z typem 1 VWD i z aktywnością VWF:RCo 40–50% (n = 26) (tab. 6)

Wszyscy pacjenci z aktywnością VWF:RCo 40–50% charakteryzowali się współczynnikiem VWF:RCo/VWF:Ag większym lub równym 0,7. U 8 z 26 chorych (30,7%) stężenie VWFpp było obniżone, iloraz VIII:C/VWF:Ag był podwyższony u 9/26 chorych (34,61%) (norma 0,55–1,68), współczynnik VWFpp/VWF:Ag był w zakresie wartości prawidłowych u 26/26 badanych, u 3/26 chorych (11,5%) obniżenie stężenia VWFpp korelowało z ilorazem VIII:C/VWF:Ag.

Pacjenci z typem 2A VWD; VWF:RCo < 10% i VWF:Ag > 10% (n = 11) (tab. 7)

U 10 pacjentów (90,9%) stężenie VWFpp było prawidłowe. Współczynniki VWFpp/VWF:Ag i VIII:C/VWF:Ag były podwyższone (> 2,0) u 10 badanych (90,9%).

Pacjenci z typem 2A VWD i aktywnością VWF:RCo 10–20% (n = 19) (tab. 8)

W tej grupie chorych stężenie VWFpp było obniżone u 3 osób (15,7%), podwyższone u 1 osoby, u pozostałych prawidłowe.

Współczynnik VWFpp/VWF:Ag był podwyższony u 6 osób (31,57%), współczynnik VIII:C/VWF:Ag był podwyższony u 15 chorych (78,9%).

Pacjenci z typem 2A VWD i aktywnością VWF:RCo 20–30% (n = 8) (tab. 9)

Stężenie VWFpp było obniżone u 2 chorych (25%), a współczynnik VWFpp/VWF:Ag był podwyższony u 1 osoby (12,5%). Czynnik VIII w całej grupie był prawidłowy, a współczynnik VIII:C/VWF:Ag podwyższony u 5 osób (62,5%).

Pacjenci z typem 2A VWD, aktywnością VWF:RCo 30–40% i częściowym niedoborem frakcji HMW VWF multimetrów (n = 13) (tab. 10)

Stężenie VWFpp było obniżone u 5 osób (38%), a u 2 (15%) podwyższone. Współczynnik VWFpp/VWF:Ag był podwyższony u 2 osób (15,38%), zaś współczynnik VIII:C/VWF:Ag podwyższony u 4 osób (30,7%).

Tabela 6. Wyniki badań u pacjentów z typem 1 choroby von Willebranda (VWD) i ze stężeniem VWF:RCo 40–50% (n = 26)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VIII:C/ /VWF:Ag	VWF:RCo/ /VWF:Ag	VWFpp/ /VWF:Ag
1.	77,43	46,35	47,09	36	1,67	1,01	0,77
2.	88,14	57,29	46,47	60	1,53	0,81	1,04
3.	94,96	50,29	46,13	36	1,88	0,91	0,71
4.	98,55	59,37	43,3	48	1,65	0,72	0,80
5.	116,46	57,18	47,73	80	2,03	0,83	1,39
6.	97,69	57,18	47,73	44	1,7	0,83	0,76
7.	108,86	62,23	41,18	68	1,74	0,7	1,09
8.	100,52	54,66	46,73	40	1,83	0,85	0,73
9.	73,19	40,03	40,52	46	1,82	1,01	1,14
10.	55,35	41,89	45,95	44	1,32	1,09	1,05
11.	88,96	51,18	45,49	48	1,73	0,89	0,93
12.	96,67	64,45	47,94	40	1,49	0,74	0,62
13.	108,41	64,39	40,95	76	1,68	0,73	1,18
14.	92,89	47,92	43,54	38	1,93	0,90	0,79
15.	92,51	41,95	40,83	26	2,2	0,97	0,61
16.	81	54	41	44	1,5	0,75	0,81
17.	93	57	43	30	1,63	0,75	0,52
18.	64	58,85	48,22	34	1,08	0,81	0,57
19.	89,98	54,92	44,97	52	1,63	0,82	0,94
20.	90,53	56,26	43,28	36	1,6	0,76	0,63
21.	57,75	53,73	48,14	36	1,07	0,89	0,67
22.	75,95	56,81	48,3	48	1,33	0,85	0,84
23.	80,4	51,76	44,81	52	1,55	0,86	1,0
24.	73,63	51,23	48,6	44	1,43	0,94	0,85
25.	86,38	62	44,35	68	1,39	0,71	1,09
26.	94,14	66,1	49,3	72	1,42	0,74	1,08
Zakres	55,35–116,46	40,03–66,1	41–49,3	26–72	1,07–2,2	0,7–1,09	0,52–1,39
Średnia ± SD	87,59 ± 14,9	54,57 ± 6,95	45,21 ± 2,78	47,92 ± 14,47	1,60 ± 0,26	0,84 ± 0,10	0,86 ± 0,21
Mediana	90,25	55,59	45,72	44	1,63	0,83	0,82

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

Nabyta choroba von Willebranda**Pacjenci z AVWS spowodowanym pojawieniem się przeciwciał w przebiegu gammopatii monoklonalnej (n = 3) (tab. 11)**

U pacjentów z przeciwciałami anty-VWF (P-1-A, P-2-A, P-3-A) przy obniżonym stężeniu VIII:C (< 10%; 28,37%; 22%), aktywności VWF:RCo wynoszącej odpowiednio poniżej 10%, 9,89% i 10% oraz stężeniu VWF:Ag 47%; 14,67%; 21% — stężenie VWFpp było prawidłowe lub nieznacznie podwyższone, natomiast znamienne

podwyższony był iloraz VWFpp/VWF:Ag, który wynosił odpowiednio 3,57; 5,7 i 4,57 (n = 0,49–1,98). U chorego P-1-A przy obniżonym stężeniu VIII:C poniżej progu detekcji współczynnik VIII:C/VWF:Ag był obniżony natomiast podwyższony u pozostałych chorych (P-2-A i P-3-A).

Badania przeprowadzone u pacjenta P-2 na różnych etapach leczenia wykazały obniżenie wartości ilorazu VWFpp/VWF:Ag z 5,7 na 3,14 i ilorazu VIII:C/VWF:Ag z 1,93 do 1,78 podczas kontynuacji leczenia i następnie powrót do wartości prawidłowych po osiągnięciu remisji.

Tabela 7. Wyniki badań u pacjentów z typem 2A choroby von Willebranda (VWD) (VWF:RCo < 10% i VWF:Ag > 10%) (n = 11)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VIII:C/ /VWF:Ag	VWF:RCo/ /VWF:Ag	VWFpp/ /VWF:Ag
1.	95,5	44,72	7,01	120	2,1	0,15	2,68
2.	109,99	41,27	3,12	108	2,6	0,075	2,61
3.	110,74	50,5	9,23	128	2,1	0,18	2,53
4.	44,46	13,82	1,67	44	3,2	0,12	3,18
5.	41,73	20,45	5,14	46	2,04	0,25	2,24
6.	32,28	10,4	1,4	76	3,1	0,13	7,3
7.	38,4	16,78	7,2	96	2,2	0,42	5,72
8.	37,38	16,41	8,31	72	0,43	0,50	4,38
9.	19,89	10,16	2,82	68	1,95	0,27	6,69
10.	49,93	23,94	9,55	36	2,08	0,39	1,5
11.	33,81	17,96	8,33	104	1,88	0,46	5,79
Zakres	19,69–110,74	10,16–50,5	1,4–9,55	36–120	0,43–2,6	0,075–0,5	1,5–6,69
Średnia	55,81 ± 32,97	24,21 ± 14,38	5,79 ± 3,08	81,63 ± 31,78	2,15 ± 0,72	0,26 ± 0,15	4,05 ± 2,0
Mediana	41,73	17,96	7,01	76	2,1	0,25	3,18

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

Tabela 8. Pacjenci z typem 2A choroby von Willebranda (VWD) i stężeniem VWF:RCo 10–20% (n = 19)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VIII:C/ /VWF:Ag	VWF:RCo/ /VWF:Ag	VWFpp/ /VWF:Ag
1.	107,9	56,61	14,56	44	1,9	0,25	0,77
2.	79,53	45,57	17,52	44	1,74	0,38	0,9
3.	61,15	29,71	17,13	64	2,05	0,57	2,15
4.	99,5	44,72	10,1	132	2,2	0,22	2,95
5.	52,15	23,05	12,27	26	2,22	0,53	1,12
6.	75,7	109,68	11,8	260	0,69	0,1	2,37
7.	65,23	29,03	12,85	40	2,24	0,44	1,37
8.	54,01	18,01	11,05	106	2,99	0,61	5,88
9.	98	56,93	19	62	1,72	0,33	1,08
10.	66	33	14	50	2,0	0,42	1,51
11.	84	51	13	44	1,64	0,25	0,86
12.	53	26	13	64	2,03	0,5	2,46
13.	87,92	45,43	10,71	140	1,93	0,23	3,08
14.	67,82	21,55	14,35	40	3,14	0,66	1,85
15.	54,14	37,3	13,94	64	1,45	0,37	1,71
16.	49,93	23,94	10,55	28	2,08	0,44	1,16
17.	61,01	24,88	13,78	48	2,45	0,55	1,92
18.	79,2	47,58	11,69	72	1,66	0,24	1,51
19.	61	24,8	13,78	36	2,45	0,55	1,45
Zakres	49,9–260	23–109,6	10–17,52	26–260	1,4–5,88	0,1–0,66	0,86–5,88
1,9 ± Średnia ± SD	71,7 ± 55,6	39,4 ± 21	13,42 ± 2,4	71,7 ± 55,6	2,0 ± 0,53	0,5 ± 0,1	1,9 ± 1,1
Mediana	50	33	13	50	2,03	0,42	1,51

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

Tabela 9. Wyniki badań u pacjentów z typem 2A choroby von Willebranda (VWD) i stężeniem VWF:RCo 20–30% (n = 8)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VIII:C/ /VWF:Ag	VWF:RCo/ /VWF:Ag	VWFpp/ /VWF:Ag
1.	91,29	42,63	26,46	66	2,14	0,62	1,54
2.	116,84	76,91	26,1	60	1,51	0,33	0,78
3.	62	64	26	68	0,96	0,4	1,06
4.	92,05	50,6	26,43	48	1,81	0,52	0,94
5.	85,45	40,02	24,19	32,8	2,13	0,6	0,82
6.	90,85	43,95	29,86	48	2,06	0,67	1,09
7.	66,13	33,4	22,21	18	1,97	0,66	0,54
8.	62,95	47,34	27,5	68	1,32	0,58	2,47
Zakres	62–116,84	33,4–76,91	22,21–29,86	32–68	1,52–2,32	0,33–0,67	0,54–2,47
Średnia	83,44 ± 18,85	49,85 ± 14,1	26,09 ± 2,24	55,2 ± 14,8	2,06 ± 0,31	0,54 ± 0,12	1,15 ± 0,6
Mediana	88,15	45,64	26,26	56	2,06	0,59	1,0

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

Tabela 10. Wyniki badań u pacjentów z typem 2A choroby von Willebranda (VWD), stężeniem VWF:RCo 30–40% i częściowym niedoborem frakcji HMW VWF multimetrów (n = 13)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VIII:C/ /VWF:Ag	VWF:RCo/ /VWF:Ag	VWFpp/ /VWF:Ag
1.	87,71	56,46	36,09	28	1,55	0,63	0,92
2.	61,87	35,47	39,42	36	1,74	0,55	1,01
3.	57,77	126,45	37,62	352	0,45	0,29	2,78
4.	101,38	82,61	34,25	144	1,22	0,41	1,74
5.	75,08	49,82	33,37	38	1,5	0,66	0,76
6.	115,58	51,57	33,74	32	2,24	0,64	0,62
7.	117,2	55,44	32,53	24	2,1	0,58	0,43
8.	87,86	47,44	32,34	42	1,84	0,68	0,88
9.	86,44	57,02	39,64	42	1,51	0,69	0,73
10.	75,08	49,82	33,37	48	1,5	0,67	0,96
11.	61,87	61,87	36,78	44	1,0	0,59	1,19
12.	80,87	63,15	38,09	84	1,28	0,6	2,2
13.	85,7	59,3	31,5	80	1,44	0,53	1,34
Zakres	57,77– 115,58	35,47– 126,45	31,5–39,64	28–352	1,2–2,28	0,29–0,69	0,73–2,78
Średnia ± SD	84,18 ± 18,87	61,26 ± 22,36	35,28 ± 2,79	76,46 ± 88,96	1,49 ± 0,46	0,5784 ± 0,1153	1,19 ± 0,67
Mediana	85,7	56,46	34,25	42	1,5	0,6	0,96

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

Pacjenci z AVWS w przebiegu nadpłytkowości samoistnej (n = 11) (tab. 12)

U wszystkich chorych aktywność VIII:C była prawidłowa, iloraz VWF:RCo/VWF:Ag poniżej 0,7, stężenie VWFpp prawidłowe lub podwyższone, a współczynniki VWFpp/VWF:Ag i VIII:C/VWF:Ag prawidłowe.

Pacjenci z niedoborem wysokocząsteczkowych multimerów VWF w przebiegu AS (n = 11) (tab. 13)

U 7 osób z AS, u których przed zabiegiem przeszczepienia zastawki aortalnej (TAVI, *transcatheter aortic valve implantation*) stwierdzono całkowity brak wysokocząsteczkowych

Tabela 11. Pacjenci z nabytą chorobą von Willebranda (AVWS, *acquired von Willebrand Syndrome*) spowodowaną obecnością przeciwciał anty-VWF w przebiegu gammapatii monoklonalnej (MGUS) (n = 3)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VWFpp/Ag	RCo/VWF:Ag	VIII:C/ /VWF:Ag
P-1-A	< 10	47	< 10%	168	3,57	ND	ND
P-2-A	28,37	14,67	< 9,89	84	5,7	ND	1,93
P-2-B	59	33,03	15,85	104	3,14	0,47	1,78
P-2-C	145,69	137,92	149,2	88	0,63	1,08	1,05
P-3-A	22	21	< 10	96	4,57	ND	

P-1; P-2; P-3 — pacjenci; A — przed leczeniem; B — w trakcie leczenia; C — po leczeniu; ND — dane niedostępne; VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

Tabela 12. Pacjenci z nabytą chorobą von Willebranda (AVWS) w przebiegu nadpłytkowości samoistnej (n = 11)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VIII:C/ /VWF:Ag	VWF:RCo/ /VWF:Ag	VWFpp/ /VWF:Ag
1.	59	76	42	68	0,77	0,55	0,89
2.	55	97	43	104	0,56	0,44	1,072
3.	58	49	35	48	1,18	0,71	0,97
4.	46	61	22	56	0,75	0,36	0,91
5.	58	60	31	64	0,96	0,51	1,06
6.	61	159	25	160	0,38	0,15	1,0
7.	59	75	38	80	0,78	0,50	1,06
8.	78	49	31	60	1,59	0,63	1,22
9.	57	75	37	60	0,76	0,49	0,8
10.	69	113	29	108	0,55	0,25	0,95
11.	81	107	33	88	0,75	0,30	0,82
Zakres	55–81	49–159	22–43	56–160	0,38–1,59	0,15–0,71	0,8–1,22
Średnia	61,90 ± 10,23	83,72 ± 33,08	33,27 ± 6,58	81,45 ± 32,55	0,82 ± 0,33	0,44 ± 0,16	0,97 ± 0,12
Mediana	59	75	33	68	0,76	0,49	0,97

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

Tabela 13. Pacjenci z niedoborem HMWM VWF (wysokocząsteczkowych multimerów VWF, *high molecular weight multimer VWF*) w przebiegu stenozy aortalnej (n = 11)

Nr	VIII:C [%]	VWF:Ag [%]	VWF:RCo [%]	VWFpp [%]	VWFpp/ /VWF:Ag	Multimery HMW
1.	312	331	228	1,06	0,73	Brak
2.	165	141	72	0,85	0,43	Brak
3.	210	166	102	0,79	0,48	Brak
4.	162	99	92	0,61	0,61	Brak
5.	215	129	160	0,6	0,74	Brak
6.	153	131	120	0,85	0,78	Brak
7.	600	203	144	0,33	0,24	Brak
Zakres	153–600	99–331	72–228	0,33–1,06	0,24–0,78	
Średnia ± SD	259,57 ± 159,63	171,42 ± 77,5	131,14 ± 52,25	0,72 ± 0,23	0,57 ± 0,19	
Mediana	210	141	120	0,79	0,61	

VIII:C — czynnik VIII; VWF:Ag — antygen VWF; VWF:RCo — kofaktor rystocetyny; VWFpp — propeptyd VWF

multimetrów przy wysokich stężeniach VWF:RCo, współczynnik VWFpp/VWF:Ag był prawidłowy lub nieznacznie obniżony.

Dyskusja

Przeprowadzone przez nas badania potwierdziły wyniki innych autorów mówiące, że stężenie propeptydu VWFpp i wartość współczynnika VWFpp/VWF:Ag, a także iloraz VIII:C/VWF:Ag są ważnymi biomarkerami prawidłowej syntezy i klirensu VWF i mają istotne znaczenie w różnicowaniu typów VWD, a także w różnicowaniu VWD z AVWS. Oznaczenie VWFpp i VWFpp/VWF:Ag ma ważne znaczenie terapeutyczne, ponieważ jak wiadomo przyspieszony klirens może powodować małą skuteczność/nieskuteczność leczenia z DDAVP [64].

Badania wykonano u 120 pacjentów z wrodzoną VWD (typ 1, 2, 3) i 21 z AVWS. Otrzymane wyniki odniesiono do wyników grupy kontrolnej (111 osób), w której stężenie VWFpp wynosiło 40–136%, wartości ilorazu VWFpp/VWF:Ag — 0,49–1,98, a VIII:C/VWF:Ag 0,55–1,68 (tab. 1).

W pierwszej części pracy analizowano znaczenie VWFpp w różnicowaniu typów i podtypów VWD. Prezentowane wyniki okazały się zgodne z wynikami innych autorów [8–11].

Analiza wyników uzyskanych u pacjentów z typem 1 VWD (tab. 2–6) wykazała, że częstość występowania podwyższonego klirensu, upośledzenia syntezy/uwalniania VWF zależy od stopnia niedoboru VWF. Iloraz VWFpp/VWF:Ag był podwyższony u 60% chorych z VWF:RCo 10–20% i u 40% chorych z VWF:RCo 20–30%, łącznie u 57% chorych z VWD1 (< 30%), natomiast był prawidłowy u wszystkich chorych z granicznymi wartościami VWF (*low VWF* 30–50%), co może wskazywać na inne niż w VWD1 (< 30%) podłoże niedoboru VWF w tej grupie chorych.

U pacjentów z typem 2 VWD (tab. 7–10) podwyższone współczynniki VWFpp/VWF:Ag i VIII:C/VWF:Ag — a co za tym idzie upośledzenie syntezy i zwiększenie klirensu VWF — występowały częściej, bo odpowiednio u 90 i 91% chorych z VWF:RCo poniżej 10% i VWF:Ag powyżej 10%, natomiast znacznie rzadziej u pozostałych chorych: w grupie chorych z VWF:RCo 10–20% — odpowiednio u 32 i 79% chorych; u chorych z VWF:RCo 20–30% — u 12 i 62% chorych i najrzadziej, bo u 15 i 31% chorych z vVWF 30–40%.

Przeprowadzone przez autorów niniejszej pracy badania u pacjentów z podejrzeniem typu 3 VWD potwierdziły, że VWFpp i iloraz VWFpp/VWF:Ag są ważnymi markerami różnicującymi typ 1 (ciężki)

z typem 3 VWD. Na podstawie badań wykonanych u 6 pacjentów (tab. 2) z podejrzeniem typu ciężkiego VWD (VWF < 5%) rozpoznanie potwierdzono u 5 chorych (VWFpp < 1%), natomiast u 1 chorego z VWF:Ag 4,6%, VWFpp 72% i ilorazem VWFpp/VWF:Ag 15,6 (n < 2) rozpoznano typ 1C VWD charakteryzujący się wysokim klirensiem VWF.

Ponieważ wrodzona choroba VWD jest bardzo zróżnicowana i postawienie właściwej diagnozy wymaga często przeprowadzenia szczegółowych badań, z których część jest wykonywana jedynie w wysokospecjalistycznych laboratoriach, w coraz większej liczbie prac zwraca się uwagę na potrzebę wprowadzenia do rutynowej diagnostyki VWD oznaczenia VWFpp i ilorazu VWFpp/VWF:Ag.

Dyskusja nad zasadnością wprowadzenia tego oznaczenia do rutynowej diagnostyki VWD [9, 13] trwa już od wielu lat. Coraz częściej ukazują się prace wskazujące na znaczenie VWFpp w diagnostyce zarówno wrodzonej VWD, jak i AVWS. Uważa się, że VWFpp jest ważnym biomarkerem syntezy, uwalniania i klirensu VWF w krążeniu — prawidłowe stężenie VWFpp oznacza prawidłową syntezę, uwalnianie i klirens VWF, natomiast obniżone stężenie/brak VWFpp może wskazywać nie tylko na upośledzenie tych procesów, ale także sugerować rodzaj mutacji sprawczej [8–10, 25, 40, 41, 61]. Zaletą oznaczeń VWFpp jest to, że są one niezależne od grupy krwi, ponieważ na cząsteczce VWFpp nie ma antygenów ABO, podczas gdy są one na cząsteczce VWF [24]. W ocenie syntezy, uwalniania i klirensu VWF posługuje się przede wszystkim nie wartością stężenia VWFpp, ale ilorazów VWFpp/VWF:Ag i VIII:C/VWF:Ag [56, 61]. Podwyższony iloraz VWFpp/VWF:Ag występuje u chorych ze zwiększonym klirensiem VWF (VWD 1C), natomiast prawidłowy może występować u osób z prawidłowym klirensiem, lecz z defektem uwalniania i wewnątrzkomórkowej retencji.

Wielkość ilorazu VWFpp/VWF:Ag i VIII:C/VWF:Ag pozwala na zróżnicowanie typu 1 (ciężkiego) VWD z typem 3 VWD oraz zidentyfikowanie typu 1C VWD.

Uważa się, że chorzy [25, 65] z całkowitym brakiem VWFpp, rozpoznawani jako typ 3 VWD, są albo homozygotami albo heterozygotami allelu *null*, podczas gdy pacjenci z oznaczalnym VWFpp mogą być heterozygotami mutacji missense połączonej z przyspieszonym klirensiem VWF. Te dwie grupy chorych różnią się klinicznie nasileniem skazy krwotocznej. Uważa się, że ponieważ *bleeding score* w grupie chorych z podejrzeniem typu 3 i oznaczalnym VWFpp jest wyraźnie niższy niż u chorych

z całkowitym brakiem VWFpp, to pacjenci z oznaczalnym VWFpp powinni być reklasyfikowani jako ciężki typ 1 VWD (VWD 1C) [25, 65].

Identyfikacja chorych z 1C VWD ma duże znaczenie terapeutyczne, gdyż jest to liczna grupa chorych, u których leczenie DDAVP będzie nieskuteczne. Jak podają Zdziarska i wsp., [66] typ 1C VWD stanowi około 20% wszystkich przypadków typu VWD 1 i ponad 70% chorych, u których stężenie VWF wynosi 2–10%, i niemal 40% przypadków z VWF:Ag wynoszącym 11–20%.

Wysokość ilorazu VWFpp/VWF:Ag nie tylko wskazuje na czas przeżycia VWF, ale także może wskazywać na podłoże molekularne defektu [25, 61, 65].

Eikenboom i wsp. [61] wykazali, że iloraz VWFpp/VWF:Ag podobnie jak iloraz VIII:C/VWF:Ag jest wyższy u chorych z VWD typu 1 niż u zdrowych członków ich rodzin i jego wysokość koreluje z rodzajem mutacji sprawczej. Współczynnik VWFpp/VWF:Ag jest wyższy u heterozygot mutacji typu missense niż u heterozygot mutacji *null*, natomiast FVIII:C/VWF:Ag jest wyższy wśród heterozygot VWF *null*.

Oznaczenie VWFpp może mieć także znaczenie w różnicowaniu VWD typu 2B i płytkowej choroby von Willebranda (PT-VWD, *platelet-type* VWD). Autorzy prezentowanej pracy nie mają niestety własnych doświadczeń, ale Woods i wsp. [67] oraz Casonato i wsp. [24] opisali pacjentów z typem 2B charakteryzujących się zwiększonym klirensiem VWF i podwyższonym ilorazem VWFpp/VWF:Ag spowodowanym najprawdopodobniej zwiększonym usuwaniem kompleksów VWF–płytki przez makrofagi (zwiększone wiązaniem receptora 1 lipoproteiny). Ponieważ wartość ilorazu VWFpp/VWF:Ag w PT-VWD jest prawidłowa, natomiast w VWD 2B najczęściej podwyższona, to na podstawie VWFpp/VWF:Ag według tych autorów można wnioskować o charakterze skazy krwotocznej [66].

W drugiej części niniejszej pracy oceniano znaczenie VWFpp i ilorazu VWFpp/VWF:Ag w różnicowaniu wrodzonej i nabytej VWD.

Badania przeprowadzono u chorych z AVWS spowodowanym pojawieniem się przeciwciał anti-VWF (pacjenci z MGUS, tab. 11), adsorpcją VWF na płytkach (pacjenci z samoistną nadpłytkowością, tab. 12) oraz niedoborem wysokocząsteczkowych multimerów VWF (u pacjentów ze stenozą aortalną, tab. 13). U 3 chorych z MGUS oznaczenia VWFpp i VWFpp/VWF:Ag wykonano na początku leczenia (P-1, P-2, P-3), a u pacjenta P-2 w trakcie i po zakończeniu leczenia (tab. 11).

Jak wykazały wyniki badań, u wszystkich trzech chorych przyczyną AVWS były przeciwciała nieneutralizujące anti-VWF, które *in vitro*, w mieszaninie osocza prawidłowego z osoczem pacjentów nie hamowały aktywności VWF:RCo.

U wszystkich trzech chorych na początku leczenia VWF:RCo wynosiło poniżej 10, stężenie VWFpp było prawidłowe, natomiast iloraz VWFpp/VWF:Ag był znacznie podwyższony, co sugerowało prawidłową syntezę VWF i znacznie przyspieszony klirens VWF. U jednego z tych chorych z rozpoznaniem szpiczaka plazmocytozowego IgG typu lambda-IA prześladowano zmiany VWFpp na początku leczenia, podczas leczenia i po jego zakończeniu. Okazało się, że proporcjonalnie do wzrostu ilorazu VWF:RCo i poprawy stanu klinicznego pacjenta, przy utrzymującym się stężeniu VWFpp w granicach prawidłowych wartość ilorazu stopniowo spadała. Po dwóch cyklach leczenia według programu PAD, po których uzyskano regresję choroby (w ocenie PAD — remisję częściową), iloraz VWFpp/VWF:Ag wynosił 5,7; po 6 cyklach według programu PAD iloraz obniżył się do 3,14, a chory uzyskał częściową remisję. W badaniu wykonanym po przeszczepieniu komórek macierzystych szpiku wystymulowanych z krwi obwodowej i przy utrzymującej się nadal remisji wykazano prawidłowe stężenie VWFpp i prawidłowy iloraz VWFpp/VWF:Ag (0,63; n = 0,49–1,98).

Zmiany w ilorazie VWFpp/VWF:Ag podczas leczenia u pacjenta z przeciwciałami nieneutralizującymi opisali w 2014 roku Lee i wsp. [53]. U tego pacjenta w momencie pierwszej diagnozy współczynniki VWF:RCo, VWF:Ag i FVIII były nieoznaczalne, iloraz VWFpp/VWF:Ag znacznie podwyższony; po leczeniu immunosupresyjnym prednizonem i azatiopryną normalizowały się iloraz VWF/FVIII oraz wzór multimetrów VWF, natomiast wartości ilorazu VWFpp/VWF:Ag wciąż dwukrotnie przekraczały przyjętą normę, co zdaniem autorów było związane z resztkową aktywnością przeciwciał i wciąż zwiększonym klirensiem VWF. W ocenie autorów pełną remisję i niewykrywanie przeciwciał osiągnięto dopiero wtedy, gdy iloraz VWFpp/VWF:Ag był prawidłowy.

Ocena skazy krwotocznej u pacjentów z przeciwciałami anti-VWF jest zawsze bardzo trudna. Przeciwciała anti-VWF dzielą się na przeciwciała neutralizujące aktywność VWF — które są wykrywane podczas oznaczania aktywności resztkowej VWF w mieszaninie osocza prawidłowego z osoczem pacjenta — i na występujące znacznie częściej przeciwciała nieneutralizujące, które, nie zmieniając funkcji VWF, zwiększają jego usuwanie z krążenia.

W przypadku przeciwciał nieneutralizujących aktywność VWF *in vitro* w mieszaninie osocza prawidłowego z osoczem badanym będzie miała aktywność osocza prawidłowego, uwzględniając rozcieńczenie osoczem badanym (z inhibitorem), natomiast *in vivo* będzie można obserwować gwałtowne zanikanie aktywności VWF, na przykład po podaniu koncentratu VWF. Obecność przeciwciał nieneutralizujących anty-VWF można potwierdzić oznaczając VWFpp, jak i iloraz VWFpp/VWF:Ag [53].

Podsumowanie

Oznaczenie VWFpp i ilorazu VWFpp/VWF:Ag ma duże znaczenie terapeutyczne i diagnostyczne. U pacjentów z wrodzoną VWD pomaga w różnicowaniu typów i podtypów VWD, umożliwia identyfikowanie chorych z typem ze skróconym czasem przeżycia VWF, u których leczenie DDAVP może być nieskuteczne [8–11, 61]. U pacjentów z AVWS spowodowanym obecnością nieneutralizujących przeciwciał wartość ilorazu VWFpp/VWF:Ag może być cennym badaniem w ocenie skuteczności leczenia i momentu osiągnięcia pełnej remisji [53].

Piśmiennictwo

- Von Willebrand EA. Hereditar pseudoheemophili. Finska Lakarselskapets Handlingar. 1926; 57: 87-112.
- Rodeghiero F, Castaman G, Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood*. 1987; 69(2): 454-459, indexed in Pubmed: 3492222.
- Goodeve AC. The genetic basis of von Willebrand disease. *Blood Rev*. 2010; 24(3): 123-134, doi: 10.1016/j.blre.2010.03.003, indexed in Pubmed: 20409624.
- Sadler JE, Sadler JE. A revised classification of von Willebrand disease. For the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost*. 1994; 71(4): 520-525, indexed in Pubmed: 8052974.
- Sadler JE, Budde U, Eikenboom JCJ, et al. Working Party on von Willebrand Disease Classification. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. *J Thromb Haemost*. 2006; 4(10): 2103-2114, doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.02146.x, indexed in Pubmed: 16889557.
- Sadler JE. von Willebrand factor: two sides of a coin. *J Thromb Haemost*. 2005; 3(8): 1702-1709, doi: 10.1111/j.1538-7836.2005.01369.x, indexed in Pubmed: 16102036.
- Mannucci PM, Lombardi R, Castaman G, et al. von Willebrand disease „Vicenza” with larger-than-normal (supranormal) von Willebrand factor multimers. *Blood*. 1988; 71(1): 65-70, indexed in Pubmed: 3257148.
- Haberichter SL, Balistreri M, Christopherson P, et al. Assay of the von Willebrand factor (VWF) propeptide to identify patients with type 1 von Willebrand disease with decreased VWF survival. *Blood*. 2006; 108(10): 3344-3351, doi: 10.1182/blood-2006-04-015065, indexed in Pubmed: 16835381.
- Sztukowska M, Gallinaro L, Cattini MG, et al. Von Willebrand factor propeptide makes it easy to identify the shorter Von Willebrand factor survival in patients with type 1 and type Vicenza von Willebrand disease. *Br J Haematol*. 2008; 143(1): 107-114, doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07311.x, indexed in Pubmed: 18691167.
- Haberichter SL, Castaman G, Budde U, et al. 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(10): 4979-4985, doi: 10.1182/blood-2007-09-110940, indexed in Pubmed: 18344424.
- Stufano F, Boscarino M, Bucciarelli P, et al. Evaluation of the Utility of von Willebrand Factor Propeptide in the Differential Diagnosis of von Willebrand Disease and Acquired von Willebrand Syndrome. *Semin Thromb Hemost*. 2019; 45(1): 36-42, doi: 10.1055/s-0038-1660481, indexed in Pubmed: 29913537.
- Haberichter SL. von Willebrand factor propeptide: biology and clinical utility. *Blood*. 2015; 126(15): 1753-1761, doi: 10.1182/blood-2015-04-512731, indexed in Pubmed: 26215113.
- Mital A. Acquired von Willebrand Syndrome. *Adv Clin Exp Med*. 2016; 25(6): 1337-1344, doi: 10.17219/acem/64942, indexed in Pubmed: 28028990.
- Mohri H. Acquired von Willebrand syndrome: features and management. *Am J Hematol*. 2006; 81(8): 616-623, doi: 10.1002/ajh.20455, indexed in Pubmed: 16823821.
- Eikenboom JCJ, Tjernberg P, Van Marion V, et al. Acquired von Willebrand syndrome: diagnostic problems and therapeutic options. *Am J Hematol*. 2007; 82(1): 55-58, doi: 10.1002/ajh.20760, indexed in Pubmed: 16986130.
- Nitu-Whalley IC, Lee CA. Acquired von Willebrand syndrome--report of 10 cases and review of the literature. *Haemophilia*. 1999; 5(5): 318-326, doi: 10.1046/j.1365-2516.1999.00340.x, indexed in Pubmed: 10583513.
- Lison S, Dietrich W, Spannagl M. Review article: unexpected bleeding in the operating room: the role of acquired von Willebrand disease. *Anesth Analg*. 2012; 114(1): 73-81, doi: 10.1213/ANE.0b013e318236b16a, indexed in Pubmed: 22025497.
- Simone JV, Cornet JA, Abildgaard CF. Acquired von Willebrand's syndrome in systemic lupus erythematosus. *Blood*. 1968; 31(6): 806-812, indexed in Pubmed: 4172730.
- Federici AB, Budde U, Rand JH, et al. Subcommittee on von Willebrand Factor. Acquired von Willebrand syndrome: data from an international registry. *Thromb Haemost*. 2000; 84(2): 345-349, indexed in Pubmed: 10959711.
- Franchini M. [Acquired von Willebrand syndrome]. *Recenti Prog Med*. 2006; 97(7-8): 417-21; quiz 440, indexed in Pubmed: 16913181.
- Kasatkar P, Ghosh K, Shetty S. Acquired von Willebrand syndrome: a rare disorder of heterogeneous etiology. *J Postgrad Med*. 2013; 59(2): 98-101, doi: 10.4103/0022-3859.113816, indexed in Pubmed: 23793308.
- Shetty S, Kasatkar P, Ghosh K. Pathophysiology of acquired von Willebrand disease: a concise review. *Eur J Haematol*. 2011; 87(2): 99-106, doi: 10.1111/j.1600-0609.2011.01636.x, indexed in Pubmed: 21535159.
- Federici A. VWF propeptide: a useful marker in VWD. *Blood*. 2006; 108(10): 3229-3230, doi: 10.1182/blood-2006-09-043117.
- Casonato A, Daidone V, Padrini R. Assessment of von Willebrand factor propeptide improves the diagnosis of von Wille-

- brand disease. *Semin Thromb Hemost.* 2011; 37(5): 456–463, doi: 10.1055/s-0031-1281029, indexed in Pubmed: 22102187.
25. Sanders YV, Groeneveld D, Meijer K, et al. WiN study group. von Willebrand factor propeptide and the phenotypic classification of von Willebrand disease. *Blood.* 2015; 125(19): 3006–3013, doi: 10.1182/blood-2014-09-603241, indexed in Pubmed: 25673639.
 26. Haberichter SL. VWF propeptide in defining VWD subtypes. *Blood.* 2015; 125(19): 2882–2883, doi: 10.1182/blood-2015-03-629832, indexed in Pubmed: 25953977.
 27. Marianor M, Zaidah AW, Maraina ChC. von Willebrand Factor Propeptide: A Potential Disease Biomarker Not Affected by ABO Blood Groups. *Biomark Insights.* 2015; 10: 75–79, doi: 10.4137/BMI.S24353, indexed in Pubmed: 26339184.
 28. Federici AB. Current and emerging approaches for assessing von Willebrand disease in 2016. *Int J Lab Hematol.* 2016; 38 Suppl 1: 41–49, doi: 10.1111/ijlh.12540, indexed in Pubmed: 27426859.
 29. Federici AB, Canciani MT. Clinical and laboratory versus molecular markers for a correct classification of von Willebrand disease. *Haematologica.* 2009; 94(5): 610–615, doi: 10.3324/haematol.2009.005751, indexed in Pubmed: 19407316.
 30. Gadisseur A, Hermans C, Berneman Z, et al. Laboratory diagnosis and molecular classification of von Willebrand disease. *Acta Haematol.* 2009; 121(2-3): 71–84, doi: 10.1159/000214846, indexed in Pubmed: 19506352.
 31. Gadisseur A, Berneman Z, Schroyens W, et al. Laboratory diagnosis of von Willebrand disease type 1/2E (2A subtype IIE), type 1 Vicenza and mild type 1 caused by mutations in the D3, D4, B1-B3 and C1-C2 domains of the von Willebrand factor gene. Role of von Willebrand factor multimers and the von Willebrand factor propeptide/antigen ratio. *Acta Haematol.* 2009; 121(2-3): 128–138, doi: 10.1159/000214853, indexed in Pubmed: 19506359.
 32. Castaman G, Montgomery RR, Meschengieser SS, et al. von Willebrand's disease diagnosis and laboratory issues. *Haemophilia.* 2010; 16 Suppl 5: 67–73, doi: 10.1111/j.1365-2516.2010.02296.x, indexed in Pubmed: 20590859.
 33. Federici AB. Clinical and laboratory diagnosis of VWD. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2014; 2014(1): 524–530, doi: 10.1182/asheducation-2014.1.524, indexed in Pubmed: 25696905.
 34. Montgomery RR, Zimmerman TS. von Willebrand's disease antigen II. A new plasma and platelet antigen deficient in severe von Willebrand's disease. *J Clin Invest.* 1978; 61(6): 1498–1507, doi: 10.1172/JCI109070, indexed in Pubmed: 307007.
 35. Wagner DD, Marder VJ. Biosynthesis of von Willebrand protein by human endothelial cells: processing steps and their intracellular localization. *J Cell Biol.* 1984; 99(6): 2123–2130, doi: 10.1083/jcb.99.6.2123, indexed in Pubmed: 6334089.
 36. Sporn LA, Chavin SI, Marder VJ, et al. Biosynthesis of von Willebrand protein by human megakaryocytes. *J Clin Invest.* 1985; 76(3): 1102–1106, doi: 10.1172/JCI112064, indexed in Pubmed: 2413071.
 37. Lenting PJ, Casari C, Christophe OD, et al. von Willebrand factor: the old, the new and the unknown. *J Thromb Haemost.* 2012; 10(12): 2428–2437, doi: 10.1111/jth.12008, indexed in Pubmed: 23020315.
 38. Sadler J. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annual Review of Biochemistry.* 1998; 67(1): 395–424, doi: 10.1146/annurev.biochem.67.1.395.
 39. Yee A, Kretz CA. Von Willebrand factor: form for function. *Semin Thromb Hemost.* 2014; 40(1): 17–27, doi: 10.1055/s-0033-1363155, indexed in Pubmed: 24338608.
 40. Haberichter SL, Jozwiak MA, Rosenberg JB, et al. The von Willebrand factor propeptide (VWFpp) traffics an unrelated protein to storage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22(6): 921–926, doi: 10.1161/01.atv.0000017063.36768.87, indexed in Pubmed: 12067899.
 41. Haberichter SL, Jacobi P, Montgomery RR. Critical independent regions in the VWF propeptide and mature VWF that enable normal VWF storage. *Blood.* 2003; 101(4): 1384–1391, doi: 10.1182/blood-2002-07-2281, indexed in Pubmed: 12393513.
 42. Haberichter SL, Allmann AM, Jozwiak MA, et al. Genetic alteration of the D2 domain abolishes von Willebrand factor multimerization and trafficking into storage. *J Thromb Haemost.* 2009; 7(4): 641–650, doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03290.x, indexed in Pubmed: 19192112.
 43. Haberichter SL, Budde U, Obser T, et al. The mutation N528S in the von Willebrand factor (VWF) propeptide causes defective multimerization and storage of VWF. *Blood.* 2010; 115(22): 4580–4587, doi: 10.1182/blood-2009-09-244327, indexed in Pubmed: 20335223.
 44. Yin J, Ma Z, Su J, et al. Mutations in the D1 domain of von Willebrand factor impair their propeptide-dependent multimerization, intracellular trafficking and secretion. *J Hematol Oncol.* 2015; 8: 73, doi: 10.1186/s13045-015-0166-9, indexed in Pubmed: 26088471.
 45. Rosenberg JB, Haberichter SL, Jozwiak MA, et al. The role of the D1 domain of the von Willebrand factor propeptide in multimerization of VWF. *Blood.* 2002; 100(5): 1699–1706, doi: 10.1182/blood-2002-03-0789, indexed in Pubmed: 12176890.
 46. McCarroll DR, Ruggeri ZM, Montgomery RR. The effect of DDAVP on plasma levels of von Willebrand antigen II in normal individuals and patients with von Willebrand's disease. *Blood.* 1984; 63(3): 532–535, indexed in Pubmed: 6607754.
 47. Borchiellini A, Fijnvandraat K, ten Cate JW, et al. Quantitative analysis of von Willebrand factor propeptide release in vivo: effect of experimental endotoxemia and administration of 1-deamino-8-D-arginine vasopressin in humans. *Blood.* 1996; 88(8): 2951–2958, indexed in Pubmed: 8874191.
 48. Madabhushi SR, Shang C, Dayananda KM, et al. von Willebrand factor (VWF) propeptide binding to VWF D'D3 domain attenuates platelet activation and adhesion. *Blood.* 2012; 119(20): 4769–4778, doi: 10.1182/blood-2011-10-387548, indexed in Pubmed: 22452980.
 49. Wise RJ, Dorner AJ, Krane M, et al. The role of von Willebrand factor multimers and propeptide cleavage in binding and stabilization of factor VIII. *J Biol Chem.* 1991; 266(32): 21948–21955, indexed in Pubmed: 1939217.
 50. Casonato A, Sartorello F, Cattini MG, et al. An Arg760Cys mutation in the consensus sequence of the von Willebrand factor propeptide cleavage site is responsible for a new von Willebrand disease variant. *Blood.* 2003; 101(1): 151–156, doi: 10.1182/blood-2002-04-1046, indexed in Pubmed: 12393698.
 51. Wagner DD, Fay PJ, Sporn LA, et al. Divergent fates of von Willebrand factor and its propolypeptide (von Willebrand antigen II) after secretion from endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987; 84(7): 1955–1959, doi: 10.1073/pnas.84.7.1955, indexed in Pubmed: 3494248.
 52. van Genderen PJ, Boertjes RC, van Mourik JA. Quantitative analysis of von Willebrand factor and its propeptide in plasma in acquired von Willebrand syndrome. *Thromb Haemost.* 1998; 80(3): 495–498, indexed in Pubmed: 9759633.
 53. Lee A, Sinclair G, Valentine K, et al. Acquired von Willebrand syndrome: von Willebrand factor propeptide to von Willebrand factor

- antigen ratio predicts remission status. *Blood*. 2014; 124(5): e1–e3, doi: 10.1182/blood-2014-02-557132, indexed in Pubmed: 24951428.
54. Federici AB, Budde U, Castaman G, et al. Current diagnostic and therapeutic approaches to patients with acquired von Willebrand syndrome: a 2013 update. *Semin Thromb Hemost*. 2013; 39(2): 191–201, doi: 10.1055/s-0033-1334867, indexed in Pubmed: 23397553.
 55. Kumar S, Pruthi RK, Nichols WL. Acquired von Willebrand disease. *Mayo Clin Proc*. 2002; 77(2): 181–187, doi: 10.4065/77.2.181, indexed in Pubmed: 11838652.
 56. Eikenboom JCJ, Castaman G, Kamphuisen PW, et al. The factor VIII/von Willebrand factor ratio discriminates between reduced synthesis and increased clearance of von Willebrand factor. *Thromb Haemost*. 2002; 87(2): 252–257, indexed in Pubmed: 11859851.
 57. Frankel DS, Meigs JB, Massaro JM, et al. Von Willebrand factor, type 2 diabetes mellitus, and risk of cardiovascular disease: the framingham offspring study. *Circulation*. 2008; 118(24): 2533–2539, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.792986, indexed in Pubmed: 19029465.
 58. Scheja A, et al. Akesson A, Geborek P. Von Willebrand factor propeptide as a marker of disease activity in systemic sclerosis (scleroderma) *Arthritis Research and Therapy*. 2001; 3: 178–182.
 59. Tobin WO, Kinsella JA, Kavanagh GF, et al. Profile of von Willebrand factor antigen and von Willebrand factor propeptide in an overall TIA and ischaemic stroke population and amongst subtypes. *J Neurol Sci*. 2017; 375: 404–410, doi: 10.1016/j.jns.2017.02.045, indexed in Pubmed: 28320178.
 60. Habe K, Wada H, Higashiyama A, et al. The Plasma Levels of ADAMTS-13, von Willebrand Factor, VWFpp, and Fibrin-Related Markers in Patients With Systemic Sclerosis Having Thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2018; 24(6): 920–927, doi: 10.1177/1076029617736382, indexed in Pubmed: 29130325.
 61. Eikenboom J, Federici AB, Dirven RJ, et al. 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(12): 2336–2339, doi: 10.1182/blood-2012-09-455089, indexed in Pubmed: 23349392.
 62. Weiss HJ, Sussman II, Hoyer LW. Stabilization of factor VIII in plasma by the von Willebrand factor. Studies on posttransfusion and dissociated factor VIII and in patients with von Willebrand's disease. *J Clin Invest*. 1977; 60(2): 390–404, doi: 10.1172/JCI108788, indexed in Pubmed: 17621.
 63. Krizek DR, Rick ME. A rapid method to visualize von willebrand factor multimers by using agarose gel electrophoresis, immunolocalization and luminographic detection. *Thromb Res*. 2000; 97(6): 457–462, doi: 10.1016/s0049-3848(99)00196-6, indexed in Pubmed: 10704655.
 64. Federici AB, Mazurier C, Berntorp E, et al. Biologic response to desmopressin in patients with severe type 1 and type 2 von Willebrand disease: results of a multicenter European study. *Blood*. 2004; 103(6): 2032–2038, doi: 10.1182/blood-2003-06-2072, indexed in Pubmed: 14630825.
 65. De Jong A, Eikenboom J. Developments in the diagnostic procedures for von Willebrand disease. *J Thromb Haemost*. 2016; 14(3): 449–460, doi: 10.1111/jth.13243, indexed in Pubmed: 26714181.
 66. Zdziarska J, Iwaniec T, Musiał J, et al. Nowości postępowania w chorobie von Willebranda. *Hematologia*. 2014; 5: 203–211.
 67. Woods AI, Sanchez-Luceros A, Bermejo E, et al. Identification of p.W246L as a novel mutation in the GP1BA gene responsible for platelet-type von Willebrand disease. *Semin Thromb Hemost*. 2014; 40(2): 151–160, doi: 10.1055/s-0033-1364183, indexed in Pubmed: 24474090.