

Das unerkannte von Willebrand Syndrom

Ulrich Budde

1. Einleitung

Das von Willebrand-Syndrom (VWS) ist die häufigste vererbte Bluterkrankheit, die Männer und Frauen gleichermaßen betrifft. Die Prävalenz wird mit 0,8 bis 1,3% angegeben. Klinisch relevant ist das VWS jedoch nur bei etwa 1 auf 5000. Das schwere VWS ist sehr selten, die Prävalenz wird mit 0,5-3,0 auf 1.000.000 angegeben. Das bedeutet, daß in der Bundesrepublik Deutschland mit ca. 250 Patienten mit schwerem VWS zu rechnen ist, allerdings auch mit 10.000 Personen mit leichteren Formen. Problematisch ist, dass sich ein leichtes VWS oft erst bei besonderen Ereignissen, z.B. Operationen im HNO-Bereich manifestiert und dann überraschenderweise zu schweren Blutungen führen kann. Bei Frauen wird es oft erst nach der 1. Regelblutung oder sogar erst anlässlich von Komplikationen nach Geburten diagnostiziert. Ein nicht erkanntes VWS kann Ursache einer akuten Gefährdung aber auch chronischer Morbidität der Patienten sein. Es ist für den Arzt daher wichtig, mit der klinischen Symptomatik und den Möglichkeiten von Diagnostik und Therapie dieser häufigsten hereditären Blutungsneigung vertraut zu sein.

Neben den häufigeren angeborenen Formen existieren auch erworbene Formen, meist assoziiert mit Grunderkrankungen wie lymphoproliferativen, myeloproliferativen oder kardiovaskulären Erkrankungen. Allerdings ist anzunehmen, dass die erworbenen Formen deutlich unterdiagnostiziert sind.

2. Biosynthese des von Willebrand-Faktors (VWF)

Der VWF wird in Endothelzellen und in Megakaryozyten synthetisiert. Das primäre Produkt besteht aus einem prä-pro-VWF, einem Monomer aus 2813 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 360 Kilodalton (kd). Dieses Monomer wird komplexen biochemischen und strukturellen Modifikationen unterzogen. Ergebnis sind Multimere gleicher Zusammensetzung, jedoch, in Abhängigkeit von der Anzahl der Monomere, unterschiedlicher Größe zwischen 500-20000 KD (Abb. 1). Basis der Multimerisierung sind Disulfid-Brücken mehrerer Cysteine in der D3-Domäne des VWF. Viele Mutationen in dieser Region, überwiegend Cystein-Reste betreffend, führen zu einer Störung der Multimerisierung. Der VWF wird entweder konstitutiv in das Plasma freigesetzt oder zunächst in sogenannten Weibel-Palade-Bodies gespeichert und auf ein adäquates Signal hin (z.B. Thrombin, Plasmin, Fibrin) freigesetzt.

Der VWF ist das größte lösliche Protein beim Menschen mit einer Konzentration im Plasma von ca. 10 µg/ml. Die Regulation seiner Größe und damit seiner biologischen Aktivität erfolgt durch eine spezifische „VWF cleaving protease“ (VWF-CP), eine Metalloprotease (ADAMTS13), die VWF zwischen Tyrosin 1605 und Methionin 1606 in der A2-Domäne spaltet (Abb. 2). Der VWF enthält mehrere Kopien funktioneller Domänen, die bestimmte Bindungsstellen für lösliche und zelluläre Komponenten besitzen. Hierzu gehören Bindungsstellen für FVIII, Kollagen, Heparin sowie die Thrombozytenglykoproteine GpIb und GpIIb/IIIa.

Unter Bedingungen von hohem Scherstress, also im arteriellen System und im Kapillargebiet, erleichtert VWF die Adhäsion von Plättchen an das Subendothel und fördert außerdem die Thrombozytenaggregation. Die Adhäsion der Plättchen an das verletzte oder exponierte Subendothel wird durch die Interaktion des VWF mit subendothelialen Komponenten, wie z.B. Kollagen mediiert. Dabei erfährt der VWF strukturelle Modifikationen, die seine Interaktionen mit GpIb fördern. Diese initialen Ereignisse führen zur Exposition der Thrombozyten GpIIb/IIIa-Komplexe, die wiederum Voraussetzung für Plättchenaggregation und Thrombusbildung sind. Die VWF-Multimere mit dem höchsten Molekulargewicht sind die effektivsten in der primären Hämostase. Hierauf ist die besondere Wichtigkeit eines hochmolekularen VWF, auch in Plasmakonzentraten, zurückzuführen. Selektives Fehlen dieser großen Multimere führt zu bestimmten Formen eines angeborenen oder erworbenen VWS.

3. Klassifikation

Die Hauptklassifikation des VWS in 3 Typen hat sich über die Jahre nicht geändert (Abb. 3). Die Differenzierung zwischen einem Typ 1 mit einer erniedrigten VWF-Konzentration und einem Typ 3 mit einem vollkommenen VWF-Mangel sowie einem Typ 2 mit qualitativen Defekten, unabhängig von der Menge an VWF wird allgemein akzeptiert. Darüber hinaus sind jedoch alle Versuche einer Subklassifikation wegen der fehlenden Informationen über die biochemische und molekulare Basis verschiedener Varianten oder auch häufigere Typen und Subtypen des VWS immer noch nicht befriedigend gelöst. Eine erste umfassende und differenzierende Übersicht der verschiedenen Typen und Subtypen des VWS wurde 1987 von Ruggeri publiziert. Obwohl es sich eher um eine Liste aller bekannten Varianten des VWS, integriert in eine bestimmte Struktur, handelte, wurde es doch die Basis für die Klassifikation im praktischen Umgang.

In der heute gültigen Klassifikation (Sadler et al. 2006) wird neben dem VWS Typ 1 und Typ 3, als quantitative Defekte, das VWS Typ 2 in vier Untergruppen aufgeteilt, von denen das VWS Typ 2A sich auf Varianten mit einer erniedrigten plättchenabhängigen Funktion aufgrund eines Verlustes an großen VWF-Multimeren, welche in der primären Hämostase funktionell am aktivsten sind, bezieht. Varianten mit einer erhöhten Affinität für Glykoprotein Ib (GPIb) werden VWS Typ 2B genannt und umfassen Phänotypen mit einem Verlust großer Multimere, aber auch solche mit einem normalen Multimer-Muster. Das VWS 2M beruht auf plättchenabhängigen funktionellen Defekten des VWF trotz der Präsenz großer HMWM. VWS-Patienten mit einer defekten Faktor VIII-Bindung ihres VWF werden als VWS 2N diagnostiziert (Abb. 3 und 4).

4. Phänotyp-Genotyp Relation

Die raschen methodischen Fortschritte der letzten Jahre haben zur Aufdeckung der zugrundeliegenden Mutationen bei den meisten Patienten mit dysfunktionellem von Willebrand Faktor geführt. Bei der Kartographie der unterschiedlichen Mutationen stellte es sich heraus, daß alle Mutationen bei Patienten mit einem Typ 2 in funktionellen Domänen lokalisiert waren. Dabei kann einem spezifischen Multimer-Muster fast immer einen Gendefekt zugeordnet werden. Hierbei war es hilfreich, bei Familien mit dysfunktionellem von Willebrand Faktor den Indexpatienten möglichst vollständig phänotypisch und

genotypisch zu charakterisieren, die Mutation im homozygoten und heterozygoten Zustand zu exprimieren und zu versuchen, eine Phänotyp-Genotyp-Relation herzustellen. Kompliziert wird dieses Vorhaben jedoch dadurch, daß der von Willebrand Faktor nach der Synthese im Plasma durch die von Willebrand Faktor-spaltende Protease im Plasmamilieu modifiziert wird. Durch die proteolytische Spaltung wird nicht nur die Molekülgröße modifiziert, sondern es entstehen charakteristische Spaltprodukte, die die typische Triplet-Struktur in der Darstellung der Multimere hervorrufen. Ausgehend von den funktionellen Domänen konnten wir eine inzwischen sehr genaue Phänotyp-Genotyp Relation herzustellen (Abb. 5).

5. Eigenschaften des VWF, die dazu führen, dass ein VWS nicht erkannt wird.

Die Konzentration des VWF ist blutgruppenabhängig. Der VWF von Personen der Blutgruppe 0 hat eine deutlich kürzere Halbwertszeit im Blut als der von Personen mit anderen Blutgruppen. Dadurch ist die Konzentration durchschnittlich um 0,25 U/ml niedriger (Abb. 6). Daher ist für die Blutgruppe 0 eine VWF-Konzentration von 0,35 U/ml noch normal, während sie für die übrigen Blutgruppen eindeutig erniedrigt ist. Hierdurch resultiert eine große Spannweite des Referenzbereichs von 0,35 – 1,6 U/ml. Eine Geschlechtsabhängigkeit des VWF besteht nicht. Er steigt jedoch ab dem 40. Lebensjahr um etwa 0,6 U/ml für jedes Jahrzehnt an. Außerdem reagiert der VWF wie ein Akutphasenprotein. Dies bedeutet, dass er kurzfristig (Stress) oder längerfristig (Schwangerschaft, maligne Erkrankung) erhöht sein kann. Daher sind Eigen- und Familienanamnese unerlässlich zur Einordnung in Patienten mit von Willebrand-Syndrom oder Normalpersonen mit niedrigem VWF. Gerade die Unterscheidung von Patienten mit mildem von Willebrand-Syndrom und Normalpersonen mit niedriger VWF-Konzentration ist von großer Bedeutung. Einerseits können Normalpersonen lebenslang zu "Blutern" abgestempelt werden (Notfall- oder Bluterausweis), andererseits können Patienten, die aufgrund einer Erhöhung des VWF kurzfristig normale Parameter aufweisen, fälschlich als normal eingestuft werden. Folglich sind oft mehrere Untersuchungen notwendig, um eine Verdachtsdiagnose zu erhärten oder fallen zu lassen. Wegen der im Neugeborenen- und frühen Säuglingsalter meist erhöhten und sehr variablen VWF-Parameter können verlässliche Werte erst ab dem 6. Lebensmonat erhoben werden. Ausgenommen hiervon sind Patienten mit dem schweren VWS Typ 3 und einige Patienten mit Typ 2. Milde Formen können jedoch erst ab diesem Zeitpunkt sicher diagnostiziert werden. Ausserdem ist es unerlässlich eine Batterie von Testen anzuwenden (VWF:Ag, VWF:RC₀, VWF:CB, VWF:FVIII_B, RIPA und vWF Multimere), um zu einer sicheren Diagnose zu gelangen (Lee et al. 2010).

6. Diagnostische Probleme bei Patienten mit erworbenem VWS, die dazu führen, dass ein VWS nicht erkannt wird.

Die Erstbeschreibung einer offensichtlich erworbenen Form des von Willebrand Syndroms stammt aus dem Jahr 1968. Simone und Mitarbeiter beschrieben das Auftreten einer schweren Blutungsneigung bei Patienten mit Lupus erythematosus. Damals konnte der von Willebrand-Faktor nicht bestimmt werden. Verlängerte Blutungszeit bei normalen Thrombozytenzahlen und eine

verminderte F VIII-Aktivität ähnelten jedoch sehr den Befunden, die bei Patienten mit kongenitalem VWS erhoben wurden. Auch die nächsten vier Patienten, die 1971 von Ingram und Mitarbeitern beschrieben wurden, hatten immunologische Erkrankungen. In den nächsten Jahren wurden mehr und mehr Krankheiten beschrieben, die mit einem erworbenen VWS assoziiert sein können. Bei der Mehrzahl der Patienten mit erworbenem VWS wird der VWF in normaler, nicht selten sogar erhöhter Konzentration synthetisiert und in das Plasma sekretiert. Die Verminderung oder die qualitativen Veränderungen entstehen im Plasma durch unterschiedliche Pathomechanismen, die typisch für die jeweiligen Erkrankungen sind. In einem Teil der Patienten ist es jedoch nicht möglich, den Pathomechanismus aufzuklären (Federici et al. 2000, Tiede et al. 2008).

In unserem Krankengut stellen Patienten mit **kardiovaskulären Erkrankungen** eine große Gruppe dar. Obwohl ein erworbenes VWS bei kardialen Defekten schon 1986 beschrieben wurde, wurden zunächst nur wenige Fälle publiziert. Lediglich für Patienten mit Aortenstenose und gastrointestinalen Blutungen konnte belegt werden, daß für diese Blutungen ein funktionell abnormer VWF verantwortlich ist (Abb. 7, Heyde 1958, Warkentin et al. 1994). Ein Grund für diese Nichtbeachtung eines Pathomechanismus für unerklärte Blutungskomplikationen oft älterer Patienten liegt in der hohen, manchmal exzessiv hohen Konzentration des VWF vor allem während akuter Blutungen. Da sämtliche Parameter des VWF (Antigen und funktionelle Marker) den Referenzbereich überschreiten, wird dessen funktionelle Defizienz übersehen, wenn nicht sämtliche Parameter ausgetestet werden und die Ratio aus den funktionellen Parametern und der Konzentration beachtet wird. Da der funktionelle Defekt des VWF bei kardiovaskulären Erkrankungen durch einen erworbenen Verlust der großen Multimere zustande kommt, ist die VWF:CB neben der Multimer-Analyse der derzeit empfindlichste Test zur Erfassung dieses Verlustes. Die Ratio aus VWF:RCo und VWF:Ag leistet theoretisch dieselben Dienste, hier muß jedoch die schlechte Reproduzierbarkeit des VWF:RCo vor allem bei hohen Werten bedacht werden.

Mit zunehmendem Alter kommt es zu arteriosklerotischen Prozessen, die das Gefäßlumen im arteriellen Gefäßsystem progressiv einengen. Der hierdurch erhöhte Scherstreß bedingt zwei chronische Veränderungen des VWF mit entgegengesetzten Wirkungen. Es kommt einmal zu einer erhöhten Konzentration an VWF. Sie nimmt ab dem 40. Lebensjahr alle 10 Jahre um etwa 10% zu. Im Akutstadium von Erkrankungen und bei chronischen Erkrankungen kann dieser Erhöhung exzessiv sein. Durch seine Stabilisierungsfunktion für den F VIII wird ein hoher VWF immer auch von einem hohen F VIII-Spiegel begleitet. Dieser bedeutet ein erhöhtes Risiko für venöse Thrombosen. Eine Risikoerhöhung von hohen VWF-Spiegeln für arterielle thromboembolische Komplikation ist weniger gut dokumentiert, erscheint jedoch plausibel. Zweitens bedeutet der Scherstreß-induzierte Verlust großer Multimere jedoch eine Blutungsgefährdung durch Störung der primären Hämostase. Dieser klinisch oftmals stumme Defekt der primären Hämostase manifestiert sich nicht selten wenn ein zweiter Defekt (z.B. der sekundären Hämostase) hinzukommt. So können Patienten, die nach Herzklappenersatz oder nach venösen Thrombosen einer oralen Antikoagulation bedürfen, unerwartet lebensbedrohliche Hirnblutungen kurz nach Beginn einer Antikoagulation entwickeln. Erste Versuche, sog. künstliche Herzen zu einer Überbrückung der Wartezeit bis zu einer Herztransplantation einzusetzen, scheiterten in den 80iger Jahren an massiven thromboembolischen Komplikationen. Zur Vermeidung

thromboembolischer Komplikationen werden orale Antikoagulation und Thrombozytenhemmer (meist dual mit ASS und Clopidogrel) eingesetzt. Daher wunderte es nicht, dass zwar Thromboembolien seltener wurden, jedoch die Patienten nun teilweise massiv und lebensbedrohlich bluteten. Im Jahr 2003 diagnostizierten wir erstmals ein eVWS bei einem 19-jährigen Patienten aus München, danach 2005 bei einem Patienten und erst im Jahr 2005 wurde das Problem erkannt, nachdem wir bei allen 14 untersuchten Patienten ein eVWS (Abb. 8) diagnostizieren konnten. Auch wurde klar, dass entgegen ersten Aussagen der Hersteller in diesen Geräten exzessive Scherkräfte wirken (es handelt sich nicht um Pumpen, sondern um Turbinen [Abb. 9] und Zentrifugen). Die eingesetzten Herzunterstützungssysteme wurden in den letzten Jahren deutlich kleiner und zuverlässiger (Abb. 10), mit der Folge, dass sie immer häufiger eingebaut werden und auch deutlich länger, nämlich über Jahre im Körper verbleiben. Daher ist es wichtig, die hämostaseologischen Probleme dieser Patienten zu kennen, um durch ein massgeschneidertes Regime der Antikoagulation thrombotischen und hämorrhagischen Komplikationen vorzubeugen (Geisen et al. 2008, Malehsa et al. 2010).

Bei **lymphoproliferativen Erkrankungen** (MGUS vom Typ IgG und IGM, Myelome, M.Waldenström) wird der VWF vorschnell aus dem Plasma entfernt. Obwohl der erhöhte Umsatz eindeutig messbar ist, gelingt der Nachweis zirkulierender Antikörper gegen den VWF nur sehr selten. Bei allen Patienten ist der VWF deutlich erniedrigt und bei den Patienten mit MGUS vom Typ IgG und seltener vom Typ IgM dysfunktional (erworbener Typ 2). Dagegen haben die meisten Patienten mit einem Paraprotein vom Typ IgM einen erworbenen Typ 1. Bei diesen Patienten fallen die massiven Blutungsprobleme ins Auge und selbst Suchmethoden für eine hämorrhagische Diathese sind praktisch immer auffällig. Daher wird die Diagnose fast immer gestellt und daher ist die Überrepräsentanz in der Literatur gut erklärbar. Wichtig ist zu klären, ob die Blutungsneigung tatsächlich spät im Leben eingesetzt hat. Stehen lediglich phänotypische Daten zur Verfügung, kann ein Teil der Patienten durchaus dem angeborenen Typ 2A zugeordnet werden, da die Analyse der Multimere sehr ähnliche Bilder liefert (Abb. 11). Die meisten Patienten mit einem Paraprotein vom Typ IgM bieten jedoch ein unverwechselbares Multimer-Bild (Abb. 11). Die riesigen VWF-IgM-Komplexe zerstören während der Passage durch das Gel die Agarose und lassen manchmal sogar Löcher zurück. Daher reicht eine kurze Inspektion der Gele zur korrekten Diagnose. Kürzlich zeigte es sich bei einem Patienten mit einer MGUS vom Typ IgM kappa, jedoch einem Multimer-Bild, das wir viel häufiger bei Typ IgG sehen (erworbener Typ, Abb 12), dass zwei Latex-Teste, die funktionelle Epitope erfassen, viel zu hohe Werte im Norbereich oder im Supranormalen Bereich lieferten. Bei einem VWF-Antigen, das mit 58% im unteren Referenzbereich lag, wurden 85% und 400% gemessen. Dagegen zeigten der VWF:RCo mit <10% und die VWF:CB mit 2% den massiven Verlust der großen Multimere eindeutig an. Bei akuten Blutungen haben „schnelle“ Tests (für Latex-basierte Tests etwa 15 Minuten) eindeutige Vorteile gegenüber ELISA-Testen, hätten jedoch in diesem Fall dazu geführt, dass das eVWS nicht erkannt werden kann. Glücklicherweise sind diese Fälle selten. Sie können jedoch exzessiv und lebensbedrohlich bluten.

Der schlechte Anstieg und die erheblich verkürzte Halbwertszeit nach Infusion von FVIII/VWF-Konzentraten und nach Minirin-Behandlung wurden seit 1977 in mindestens 36 repräsentativen Fällen beschrieben (Michiels et al. 2001). Ebenfalls seit vielen Jahren belegt ist die erfolgreiche Anwendung von

intravenösem hochdosierten Immunglobulin G (ivIgG). Die Multimer-Analyse konnte das Wiederauftreten großer Multimere etwa 24 Stunden nach Infusion und deren Verbleib für 2-3 Wochen belegen. Während dieser Zeit begann langsam das Verschwinden zunächst der größten, dann der mittelgroßen Multimere. Eine Heilung wurde in keinem bekannten Fall erzielt. Jedoch reichte die Dauer der Erholung für operative Eingriffe praktisch immer aus. Die Zeit von 48 Stunden bis zur Normalisierung kann durch höhere Dosen (1 g/kg KG) auf etwa 24 Stunden verkürzt werden. Sobald das ivIgG appliziert ist, ist die verkürzte Halbwertszeit in deutlich geringerem Ausmaß nachweisbar. Somit steht in der initialen ivIgG-Infusion gefolgt von FVIII/VWF-Konzentraten eine schnell wirksame Therapieoption zur Verfügung. Beim Typ IgM ist ivIgG meist wirkungslos. Daher bleibt lediglich die symptomatische Behandlung (z.B. rekombinanter F VIIa). Mit der erfolgreichen Behandlung der Grundkrankheit verschwindet das erworbene VWS bei lymphoproliferativen Erkrankungen.

7. VWF mit Strukturdefekten, die mit den üblichen Methoden nicht erkannt werden können.

Seit vielen Jahren fielen uns immer wieder Multimere auf, die eine deutlich reduzierte Proteolyse und eine deutlich verwaschene Struktur aufwiesen (Abb. 13, 14), wobei die stark verminderten Subbanden des Triplets und die persistierenden supranormalen Multimere für eine gestörte Interaktion des von Willebrand Faktors mit seinen Rezeptoren oder der ADAMTS13-Protease sprachen. Aber erst im Rahmen der europäischen Typ 1-Studie (MCMDMVWD-1) konnten wir die Genese dieses Strukturdefektes aufklären (Budde et al. 2008). Die verursachenden Mutationen liegen carboxyterminal der D4-Domäne und betreffen meist Cysteine. Selten handelt es sich um eine Mutation an der Furin-Schnittstelle (defekte Abspaltung der Prosequenz), wo aber zusätzliche feine Banden sichtbar sind, die für diese seltene Variante sprechen. Es handelt sich um eine abnorme Faltung des VWF, die verhindert, dass ADAMTS13 den VWF mit normaler Effektivität spaltet. Trotz eines sehr wahrscheinlichen Funktionsdefektes wird dieser nicht erkannt, da sämtliche funktionelle Marker unauffällig sind. Die Mehrzahl dieser Patienten hat einen erniedrigten VWF und sie werden daher als Typ 1 diagnostiziert. Dies ist unproblematisch, da Desmopressin die Therapie der Wahl bei diesen Patienten ist. Jedoch weisen 20% dieser Patienten (im Jahr 2009 bei uns 40 Patienten) konstant Konzentrationen des VWF im Referenzbereich auf, teilweise deutlich höher als 1 U/ml. Diese Patienten können ohne die Multimer-Analyse nicht erkannt werden.

8. Übersehen eines VWS durch falsche Anforderung und fehlende Kommunikation.

Von Laborseite wird versucht, die Anforderungen so einfach wie möglich zu gestalten, um nicht zusätzliche Papierarbeit den durch administrative Tätigkeiten nicht selten überforderten Kolleginnen und Kollegen aufzubürden. Bei dem sog. Order / Entry-Verfahren wird lediglich ein maschinenlesbares Formular angekreuzt oder vollständig elektronisch gesendet. Raum für spezielle Fragestellungen oder anamnestische Angaben fehlt dabei meist. So ist es nicht verwunderlich, auch bei akut und bedrohlich blutenden Patienten Anforderungen an das Labor gehen, die nicht auf das eigentliche Problem schließen lassen (Abb. 15). So wurden z.B. bei einer lebensbedrohlichen Blutung bei einer

Patienten F IX-Aktivität und eine Vollblut-Aggregation angefordert und nicht das im Notfallausweis eindeutig angegebene VWS Typ 2A erwähnt, nicht selten wird sogar ein "Thrombosescreen" bei akuten Blutungen angekreuzt. Deutlich plausibler ist eine angeforderte F VIII-Inhibitor-Messung bei einem erworbenen VWS mit sekundärem F VIII-Mangel infolge des stark erniedrigten VWF. Trotzdem kann bei negativer Inhibitormessung das erworbene VWS unerkannt bleiben. Daher ist bei speziellen Problemen eine direkte Kommunikation mit den behandelnden Ärzten jedem elektronischen Verfahren vorzuziehen.

9. Literatur

Sadler JE, Budde U, Eickenboom JC, Favaloro EJ, Hill FG, Holmberg L, Ingerslev J, Lee CA, Lillicrap D, Mannucci PM, Mazurier C, Meyer D, Nichols WL, Nishino M, Peake IR, Rodeghiero F, Schneppenheim R, Ruggeri ZM, Srivastava A, Montgomery RR, Federici AB; The 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: 2103-14.

Lee CA, Hubbard A, Sabin CA, Budde U, Castaman C, Favaloro EJ, Friedman KD, Federici AB, on behalf of the ISTH-SSC sub-committee on VWF. Laboratory diagnosis of von Willebrand disease: Results from a prospective and blind study in 32 laboratories worldwide using lyophilized plasmas. *J Thromb Haemost* 2010; 2010 Oct. 8 [Epub ahead of print].

Simone JV, Cornet JA, Abildgaard CF: Acquired von Willebrand's syndrome in systemic lupus erythematosus. *Blood* 1968;31:806-811.

Ingram GIC, Kingston PJ, Leslie J, Bowie EJW. Four cases of acquired von Willebrand's syndrome. *Br J Haematol* 1971;21:189-199.

Federici AB, Rand JH, Bucciarelli P, Budde U, van Genderen PJJ, Mohri H, Meyer D, Rodeghiero F, Sadler E. Acquired von Willebrand syndrome: Data from an international registry. *Thromb Haemost* 2000; 84: 345-349.

Tiede A, Priesack J, Werwitzke S, Bohlmann K, Oortwijn B, Lenting P, Eisert R, Ganser A, Budde U. Diagnostic workup of patients with acquired von Willebrand syndrome: a retrospective single-centre cohort study. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 569-76.

Gill JC, Wilson AD, Endres-Brooks J, Montgomery RR. Loss of the largest von Willebrand factor multimers from plasma of patients with congenital cardiac defects. *Blood* 1986;67:758-761.

Heyde EC. Gastrointestinal bleeding in aortic stenosis. *N Engl J Med* 1958; 259: 196-201

Warkentin TE, Moore JC, Morgan DG. Aortic stenosis and bleeding gastrointestinal angiodysplasia - Is acquired von Willebrand's disease the link? *Lancet* 1992;340:35-3712

Geisen U, Heilmann C, Beyersdorf F, et al. Non-surgical bleeding in patients with ventricular assist devices could be explained by acquired von Willebrand disease. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008; 33: 679-84.

Meyer AL, Malehsa D, Bara C, Budde U, Slaughter MS, Haverich A, Strueber M. Acquired von Willebrand syndrome in patients with an axial flow left ventricular assist device. *Circ Heart Fail* 2010 Aug. 25 [Epub ahead of print].

Michiels JJ, Budde U, van Genderen PJJ, van der Planken M, van Vliet HHDM, Schroyens W, Berneman Z. Acquired von Willebrand Syndromes: Clinical features, etiology, pathophysiology, classification and management. *Baillière's Clinical Haematology* 2001; 14: 401-436.

Budde U, Schneppenheim R, Eikenboom J, Goodeve A, Will K, Drewke E, Castaman G, Rodeghiero F, Federici AB, Batlle J, Pérez A, Meyer D, Mazurier C, Goudemand J, Ingerslev J, Habart D, Vorlova Z, Holmberg L, Lethagen S, Pasi J, Hill F, Peake I. Detailed von Willebrand factor multimer analysis in patients with von Willebrand disease in the European study, molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 von Willebrand disease (MCMDM-1VWD). *J Thromb Haemost* 2008; 6: 762-71.

Abbildungen:

Abb. 1: Biosynthese des von Willebrand-Faktors in der Endothelzelle. ER = Endoplasmatisches Retikulum, WP = Weibel-Palade Bodies.

Abb. 2: Proteolytische Schnittstelle des VWF für ADAMTS13 in der A2-Domäne zwischen Tyrosin 1605 und Methionin M1606.

Abb. 3: Hauptklassifikation des VWS in 3 Typen.

Abb. 4: Klassifikation und Subtypisierung des VWS (Stand 2006)

Abb. 5: Phänotyp - Genotyp Relation. Die jeweiligen Multimer-Muster Genkarte sind über dem Genort plaziert. Sp = Signalpeptid; D1, D2 usw. Domänen; CK = zysteinreicher Knoten

Abb. 6: Diagnostische Probleme aufgrund der physikalischen Eigenschaften des VWF.

Abb. 7: Pathologische Veränderungen des VWF bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen (CV). Hier: Aortenstenose. A = mittelhoch auflösendes Gel, B = niedrig auflösendes Gel, C = Densitometrische Darstellung. 1 = normales Plasma; 2 = Patientenplasma.

Abb. 8: Pathologische Veränderungen der VWF Multimere nach Implantation eines linksventrikulären Herzunterstützungssystems. 1 = 2 Stunden nach Implantation, 2 = 12 Stunden nach Implantation, 3 = Normalplasma, 4 = 24 Stunden nach Implantation. Der Verlust der großen Multimere ist eindeutig erkennbar.

Abb. 9: Ein Beispiel für ein modernes linksventrikulären Herzunterstützungssystems.

Abb. 10: Technische Entwicklung von linksventrikulären Herzunterstützungssystemen.

Abb. 11: Abb. 7: Pathologische Veränderungen des VWF bei Patienten mit lymphoproliferativen Erkrankungen. Links: MGUS Typ IgG, Normalplasma, angeborenen VWS Typ 2A. Mitte: zweimal MGUS Typ IGM und Normalplasma. Rechts: Normalplasma und ein weiteres Beispiel für ein MGUS Typ IgM. Charakteristisch für die rasche Elimination des VWF ist das Fehlen einer Triplet-Struktur, da ADAMTS13 nicht genügend Zeit zur proteolytischen Spaltung hat.

Abb. 12: Pathologische Veränderungen des VWF bei einem Patienten mit lymphoproliferativer Erkrankung. Links: Normalplasma, rechts MGUS Typ IgM. Trotz des fast vollständigen Fehlens der großen und mittelgroßen Multimere haben beide "funktionellen" Latex Teste normale oder deutlich erhöhte Werte gemessen.

Abb. 13: Bei einem typische Strukturdefekt des VWF mit C-terminalen Cystein-Mutationen werden bei dem größten Teil der Patienten zwar nicht die funktionellen Störunge erkannt, jedoch eine VWS typ 1 diagnostiziert weil der VWF erniedrigt ist. Bei etwa 20% dieser Patienten ist das VWF:Ag normal und ein VWS wird übersehen.

Abb. 14: VWF Multimere eines solchen Strukturdefektes (Spur 2 und 4). Alle Multimere sind vorhanden. Es fehlt jedoch eine Triplet-Struktur und der normalerweise "VWF-freie" Raum zwischen den Oligomeren ist mit amorphem Material ausgefüllt (verwaschene Struktur). Außerdem ist das Molekül durch die aberrante Cystein-Brücke kompakter und läuft daher schneller (Pfeile).

Abb. 15: Beispiele für diagnostische Probleme, die durch fehlende Kommunikation entstehen können.