

# Plaats van de collageen binding analyse in de VWD diagnostiek?

---

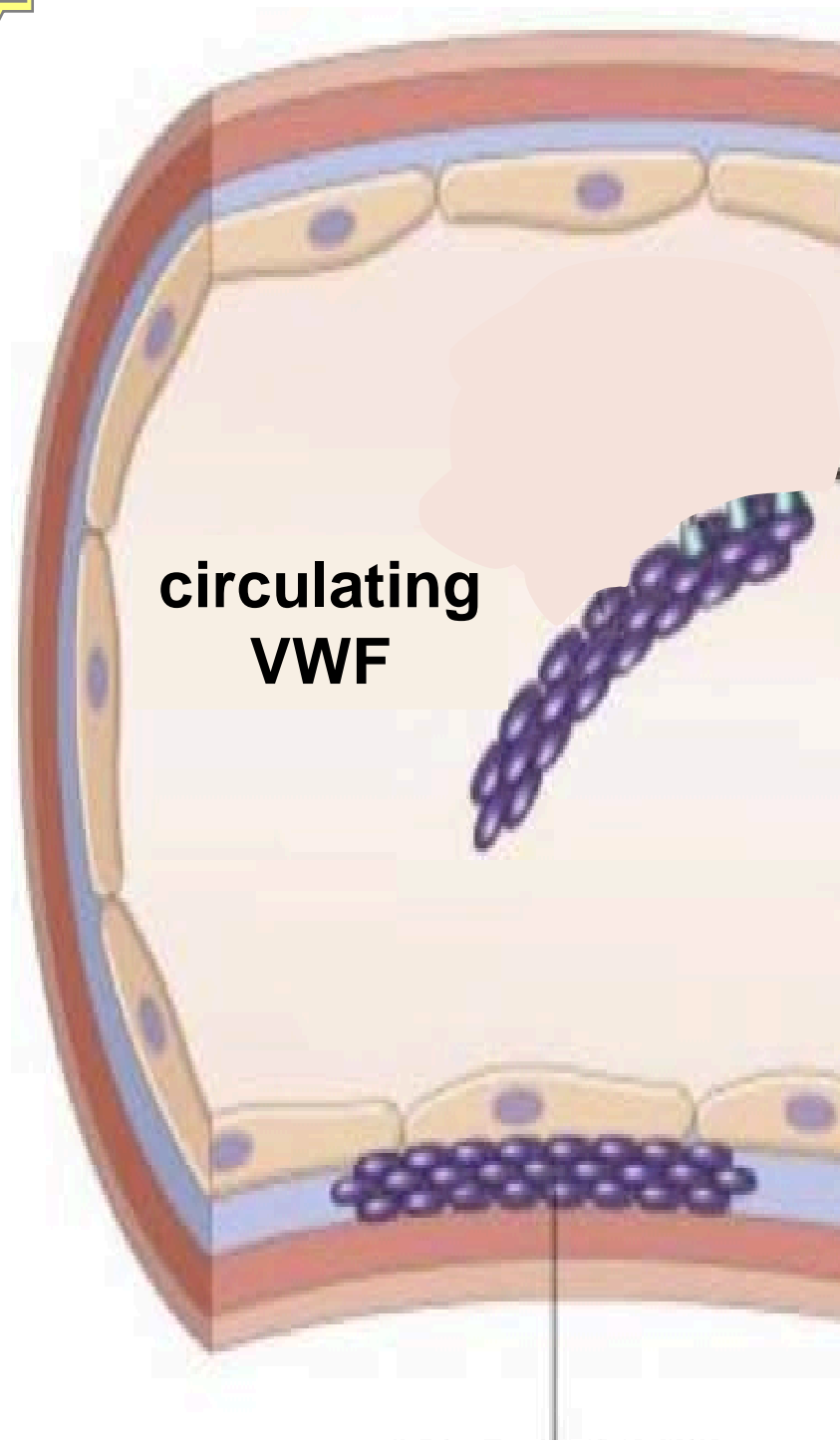
Van Aelst Sophie  
Prof. Dr. M. Jacquemin

08/03/2016



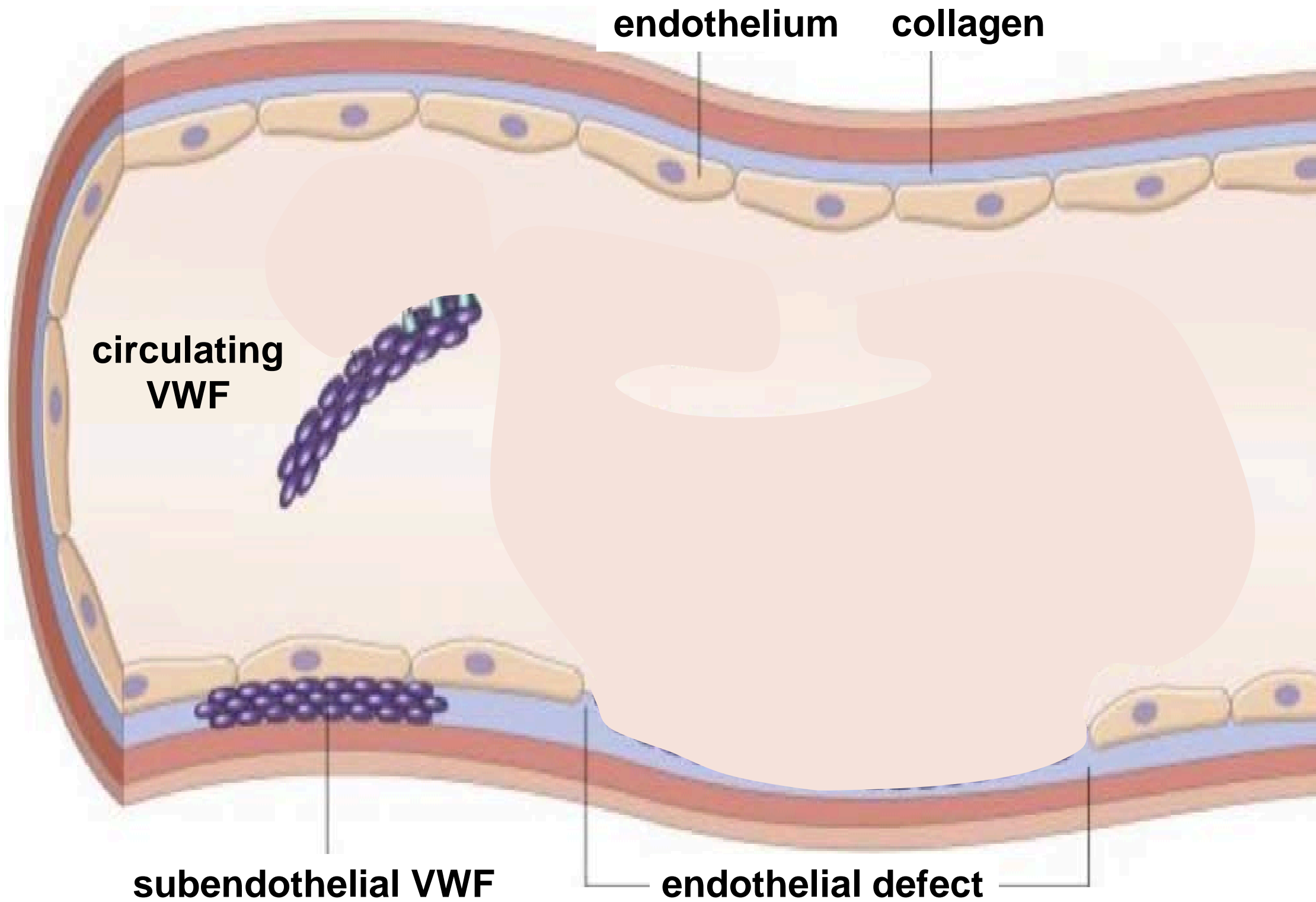
## Ziekte van Von Willebrand (VWD)

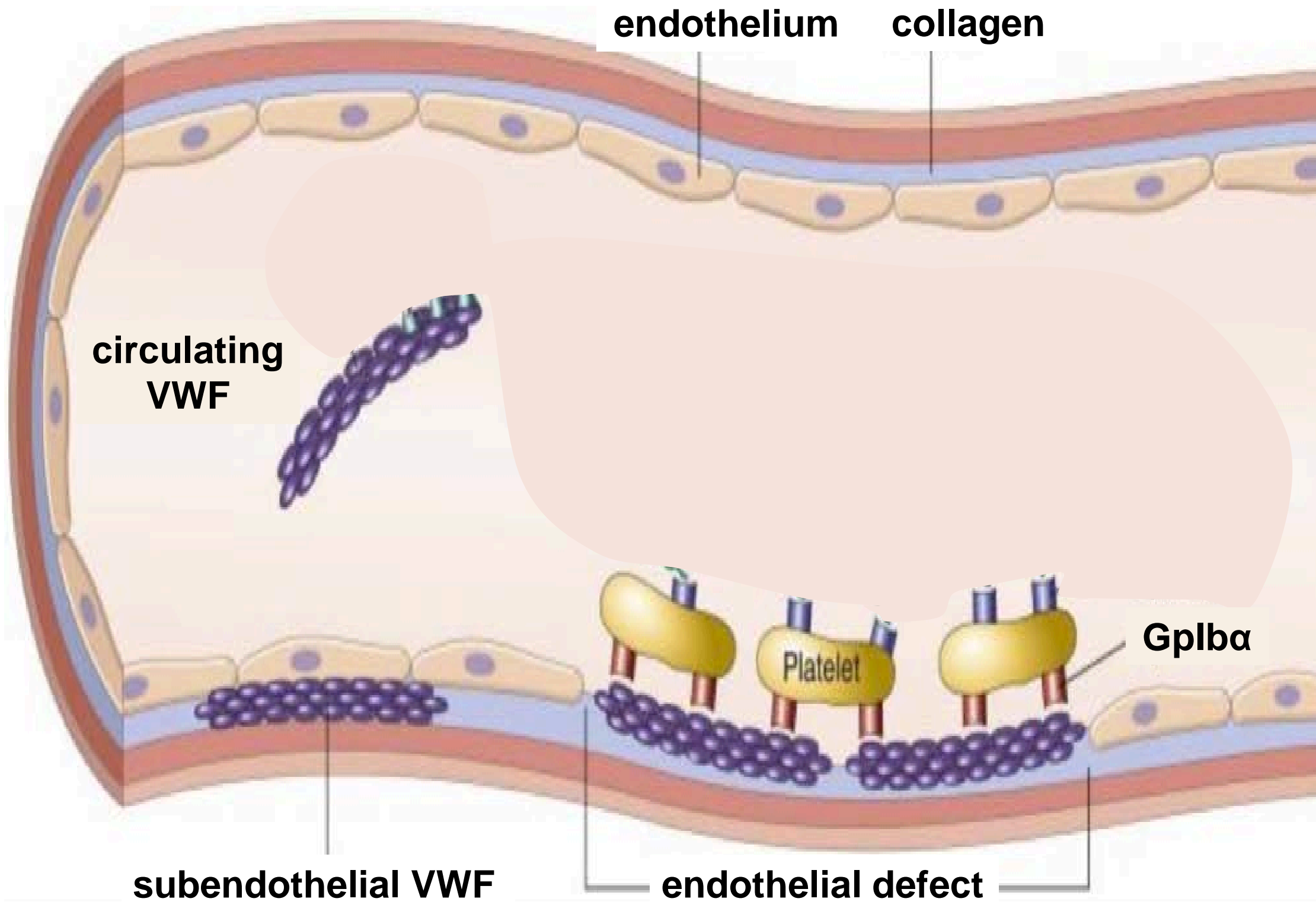
- Meest voorkomende erfelijke bloedingsziekte
- Prevalentie 0,01% (patiëntenstudies) tot 1% (populatiestudies)
- Symptomen
  - epistaxis, tandvleesbloedingen, hematomen, petechiën, overvloedige menstruatie, GI-bloedingen, nabloedingen bij operaties
- Deficiëntie van VWF of abnormaal functionerend VWF

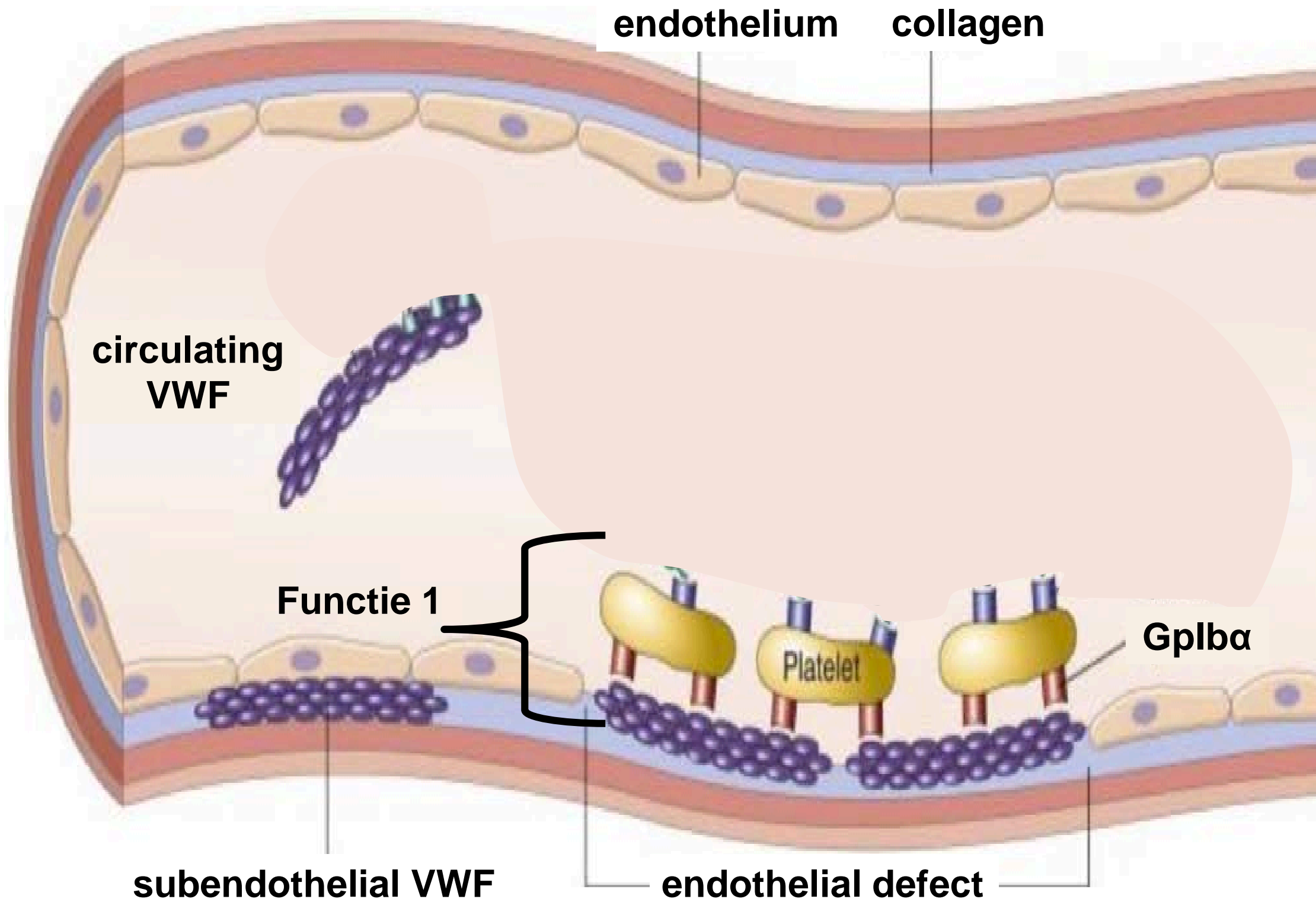


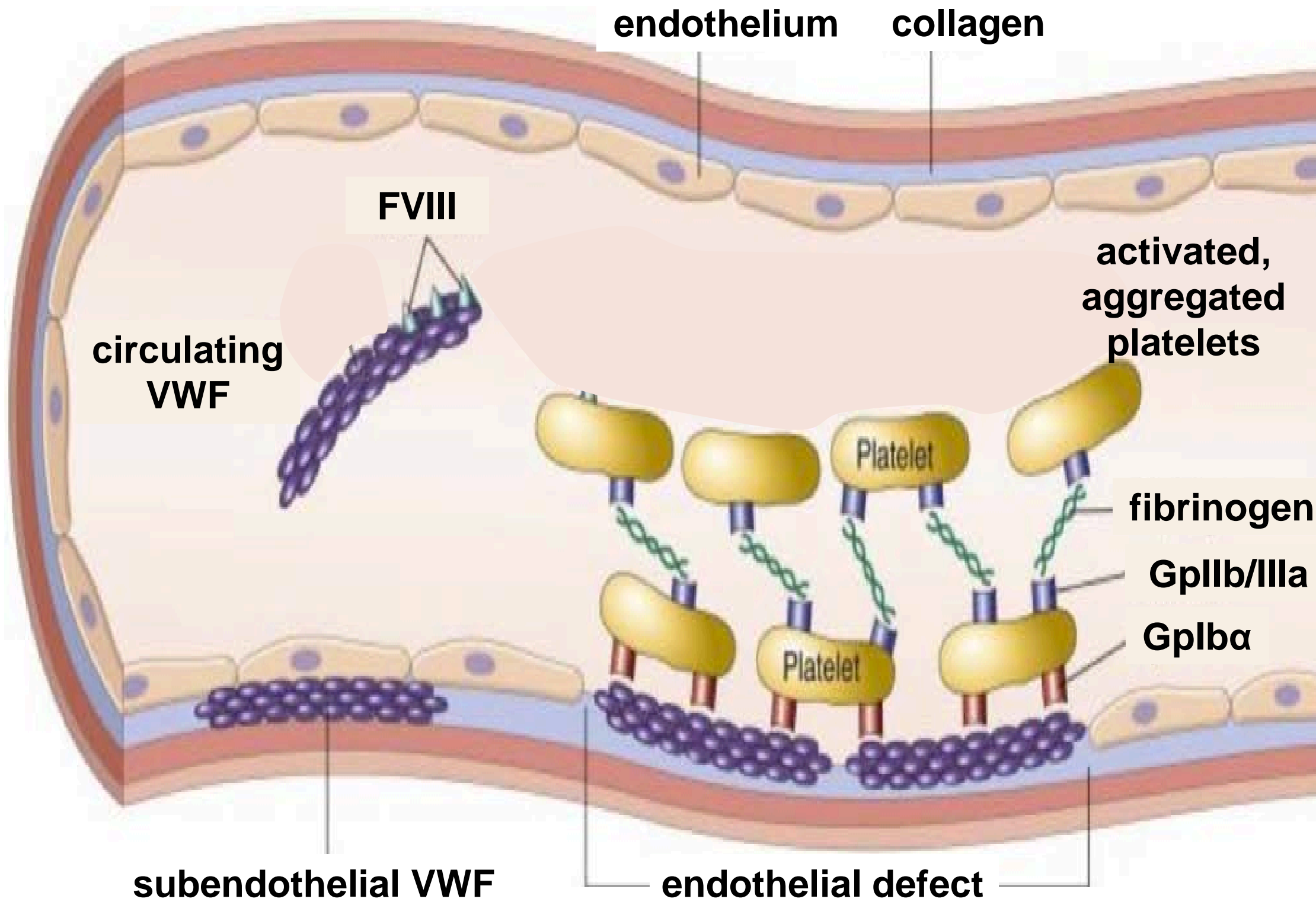
**circulating  
VWF**

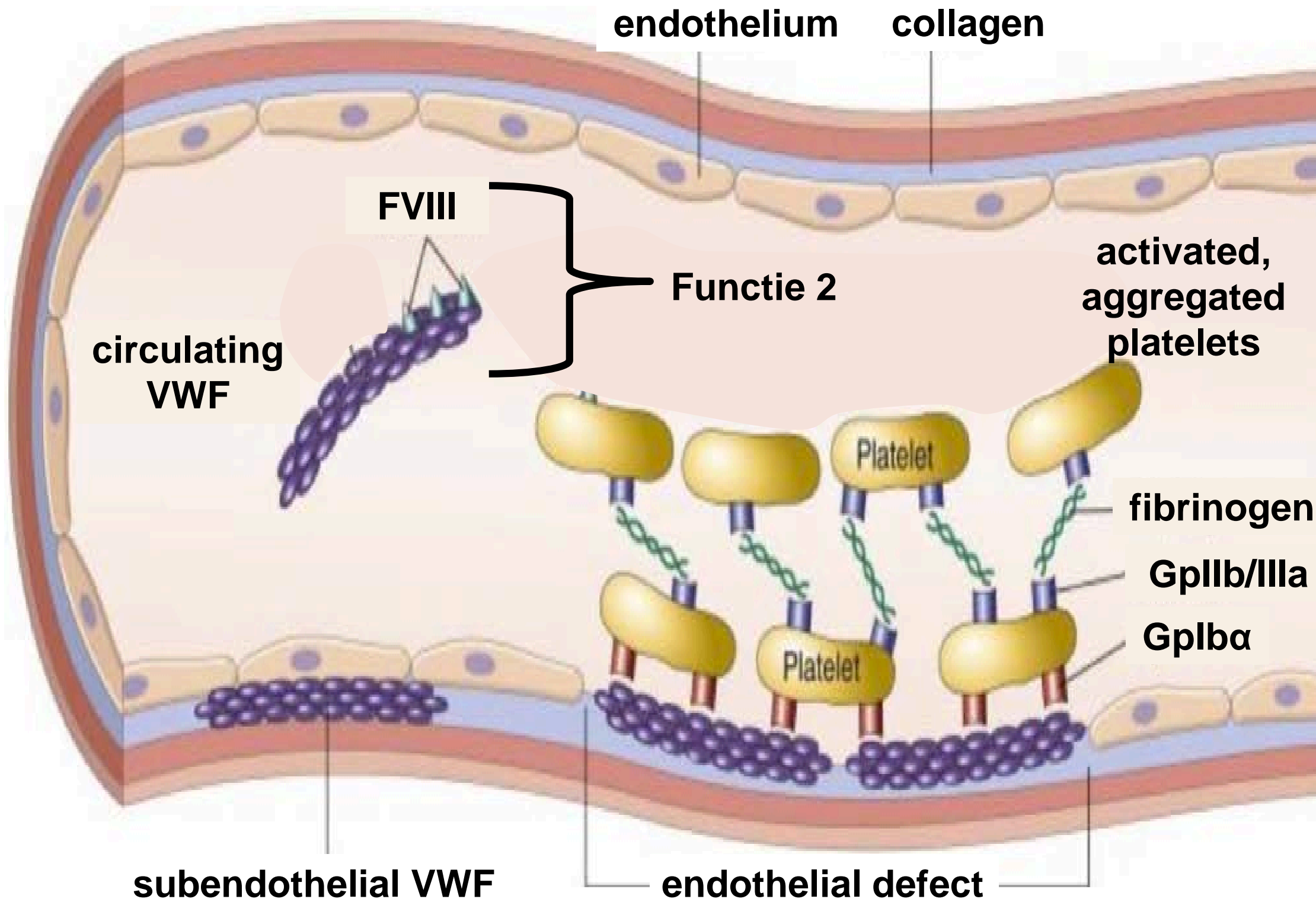
**subendothelial VWF**



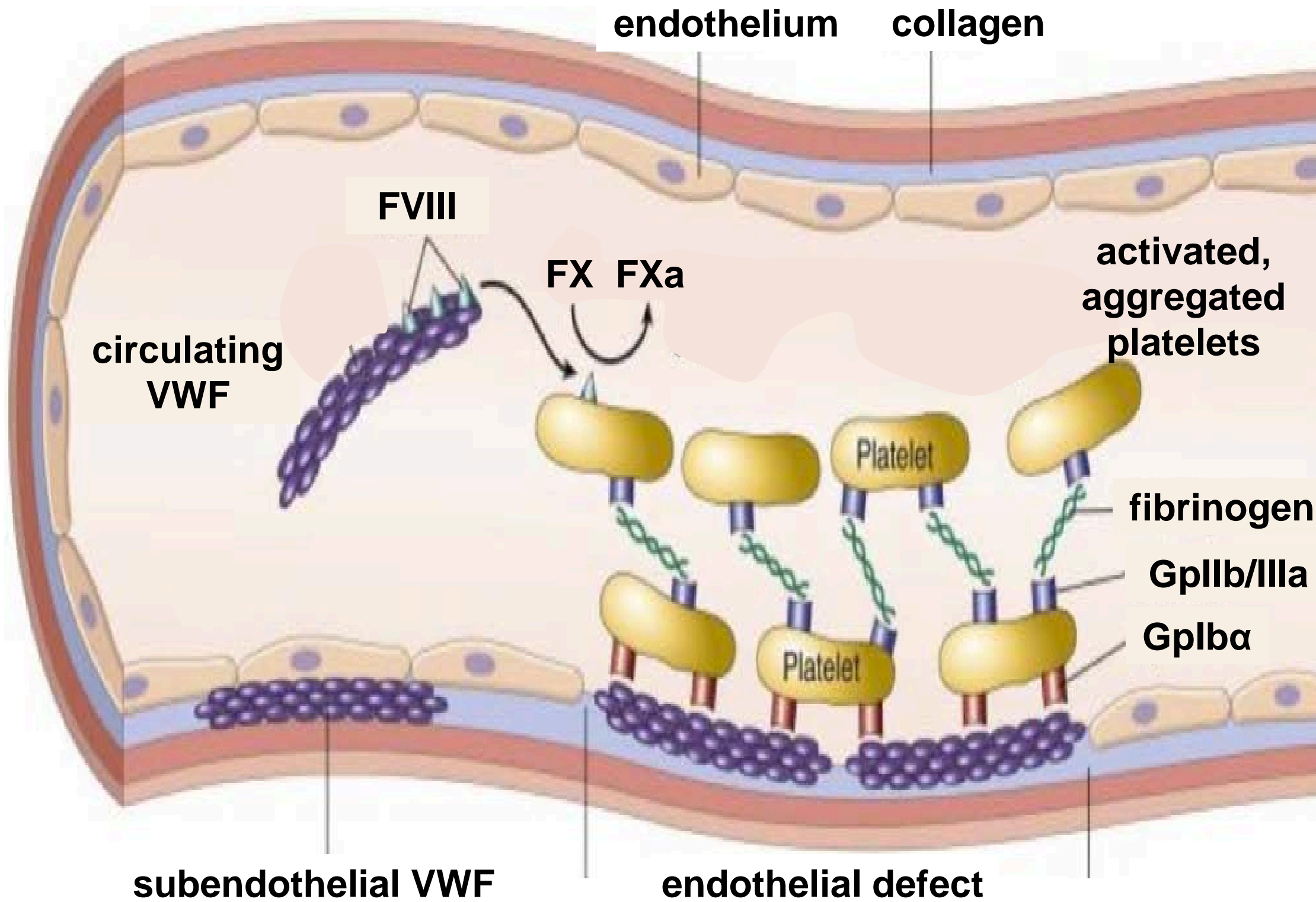












endothelium

collagen

FVIII

FX FXa

circulating  
VWF

activated,  
aggregated  
platelets

Platelet

fibrinogen

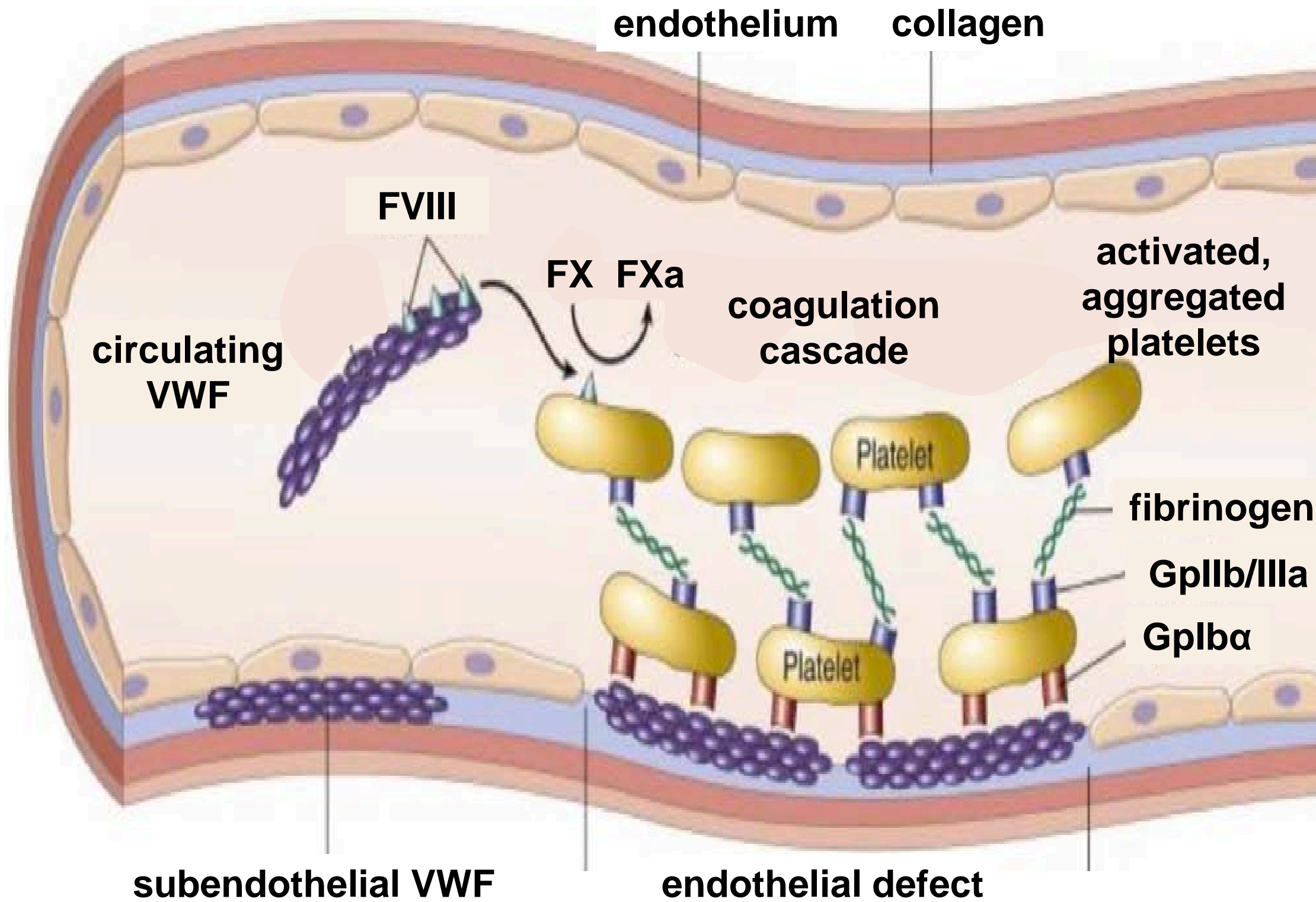
GpIIb/IIIa

GpIb $\alpha$

Platelet

subendothelial VWF

endothelial defect



endothelium

collagen

FVIII

FX FXa

coagulation  
cascade

activated,  
aggregated  
platelets

circulating  
VWF

fibrinogen

GpIIb/IIIa

GpIb $\alpha$

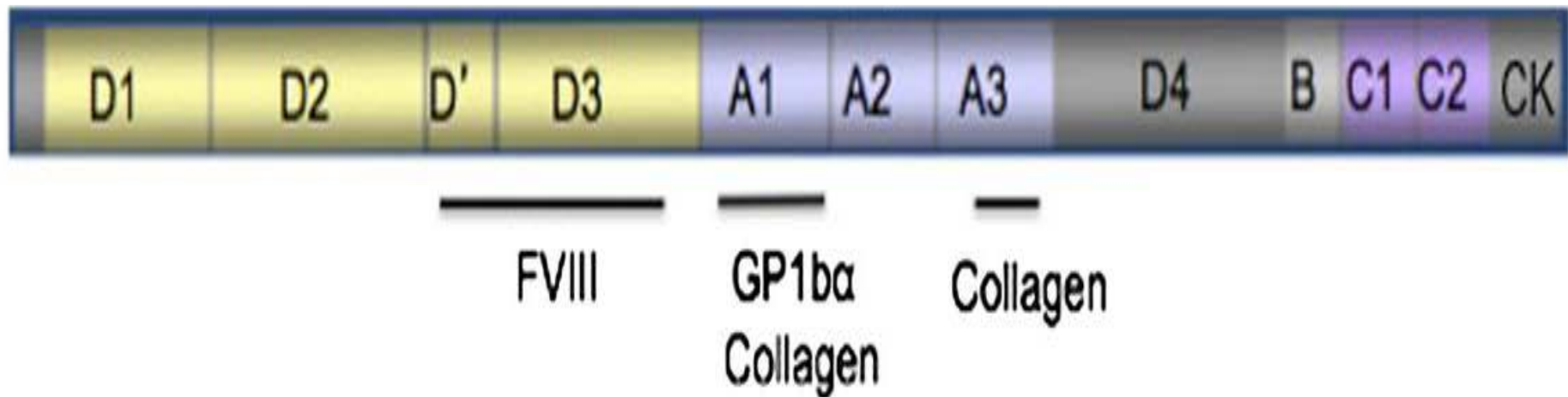
Platelet

Platelet

subendothelial VWF

endothelial defect

## Structuur van Von Willebrand factor



## Classificatie VWD

- Type 1 VWD: partiële kwantitatieve VWF deficiëntie
- Type 2 VWD: kwalitatieve VWF deficiëntie
  - 2A
  - 2B
  - 2M
  - 2N
- Type 3 VWD: totale kwantitatieve VWF deficiëntie

## Subtypering VWD type 2

- Type 2A:

HMWM <<<



## Subtypering VWD type 2

- Type 2A: HMWM <<<
- Type 2B: verhoogde affiniteit voor Gplba HMWM <<<

## Subtypering VWD type 2

- Type 2A: HMWM <<<
- Type 2B: verhoogde affiniteit voor Gplb $\alpha$  HMWM <<<
- Type 2M: verminderde binding aan Gplb $\alpha$  HMWM nl.
- verminderde binding aan collageen HMWM nl.

## Subtypering VWD type 2

- Type 2A: HMWM <<<
- Type 2B: verhoogde affiniteit voor Gplb $\alpha$  HMWM <<<
- Type 2M: verminderde binding aan Gplb $\alpha$  HMWM nl.
- verminderde binding aan collageen HMWM nl.
- Type 2N: verminderde bindingsaffiniteit voor FVIII HMWM nl.



1. Hoe wordt VWD gediagnosticeerd?

## Algemene aanpak VWD diagnostiek

1. Initiële screening bij verhoogde bloedingsneiging:
  - Compleet (met trombocytenaantal)
  - PT
  - aPTT
  - (fibrinogeen), (TT), ...

## Algemene aanpak VWD diagnostiek

1. Initiële screening bij verhoogde bloedingsneiging:
  - Compleet (met trombocytenaantal)
  - PT
  - aPTT: type 2N en 3 VWD → FVIII level ↓
  - (fibrinogeen), (TT), ...

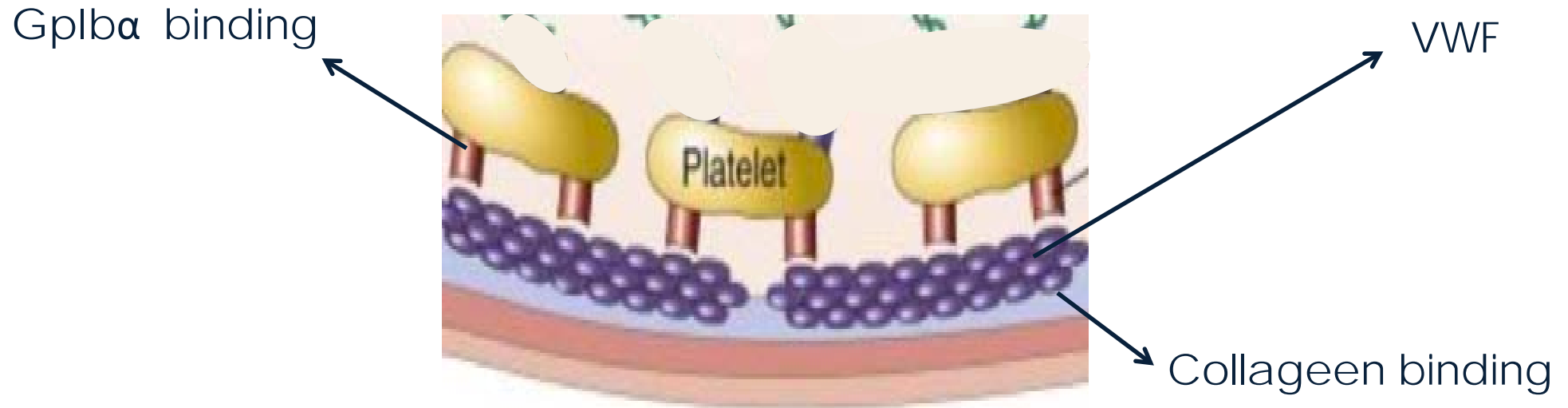
## Algemene aanpak VWD diagnostiek

1. Initiële screening bij verhoogde bloedingsneiging:
  - Compleet (met trombocytenaantal)
  - PT
  - aPTT: type 2N en 3 VWD → FVIII level ↓
  - (fibrinogeen), (TT), ...
2. Screening panel
3. Confirmatie panel

## Screening panel

1. VWF:Ag assay
2. Minimum één VWF activiteit assay
  - Ristocetine-cofactor activiteit (VWF:RCo)
  - Collageen binding (VWF:CB)
3. FVIII assay

## VWF activiteit assay



VWF:RCo

- Aanwezigheid van HMWM (actiefste vorm)
- Intacte Gplbα binding

VWF:CB

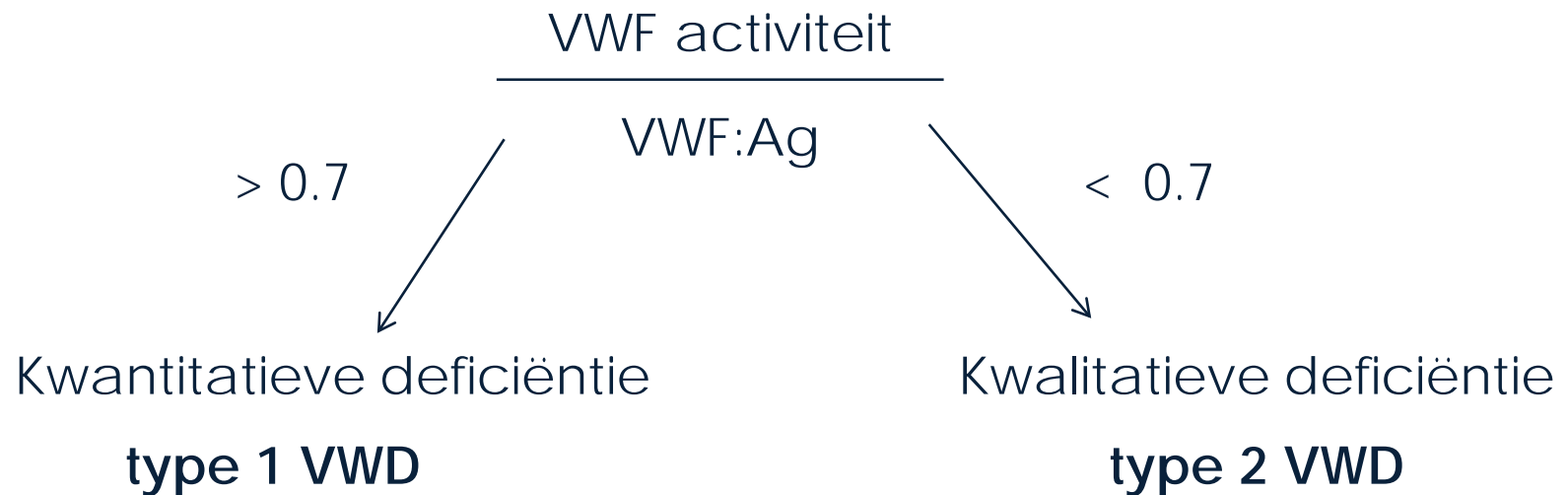
- Aanwezigheid van HMWM (actiefste vorm)
- Intacte collageen binding

## Screening panel

VWF:Ag < 5% → **VWD type 3**

## Screening panel

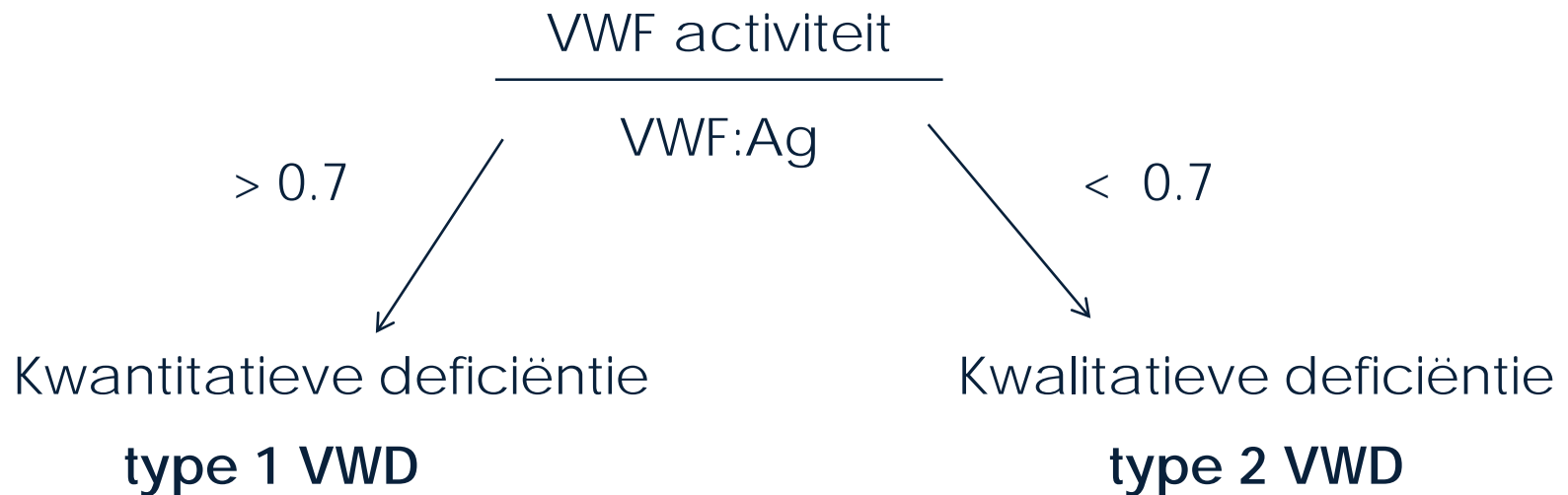
VWF:Ag < 5% → VWD type 3





## Screening panel

VWF:Ag < 5% → **VWD type 3**



FVIII level → vermoeden van **type 2N**

## Algemene aanpak VWD diagnostiek

1. Initiële screening bij verhoogde bloedingsneiging:
  - Compleet (met trombocytenaantal)
  - PT
  - aPTT: type 2N en 3 VWD → FVIII level ↓
  - (fibrinogeen), (TT), ...
2. Screening panel
3. Confirmatie panel: subtypering type 2 VWD

## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

### 1. Screening panel:

- VWF:Ag assay

- factoren die VWF:Ag level beïnvloeden

## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

### 1. Screening panel:


- VWF:Ag assay

- factoren die VWF:Ag level beïnvloeden
  - acute stress (angst, operatie, inspanning)
  - acute en chronische inflammatie
  - hormonaal (zwangerschap, menstruatie)
  - bloedgroep
  - ras

## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

<b>Acute stress</b>	10 juli	6 augustus	17 augustus
VWF:Ag	48%	100%	50%

na psychologische stress



*Wieland et al. (2008)*

## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

<b>Bloedgroep</b>	<b>O</b>	<b>AB</b>
Gemiddelde VWF:Ag	75 %	125 %

Interpretatie patiënt met 45 % VWF:Ag ?

## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

Bloedgroep	O	AB
Gemiddelde VWF:Ag	75 %	125 %
Normale range*	<b>36-157%</b>	<b>64-238%</b>


Interpretatie patiënt met 45 % VWF:Ag ?

## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

### 1. Screening panel:

- VWF:Ag assay

- factoren die VWF:Ag level beïnvloeden
  - acute stress (angst, operatie, inspanning)
  - acute en chronische inflammatie
  - hormonaal (zwangerschap, menstruatie)
  - bloedgroep
  - ras



symptomen  
persoonlijk +  
familiaal  
bloedingsrisico

herhalen  
VWF:Ag assay



## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

1. Screening panel:
  - VWF:Ag assay
  - VWF:RCo (GpIb $\alpha$  binding)
  - FVIII assay

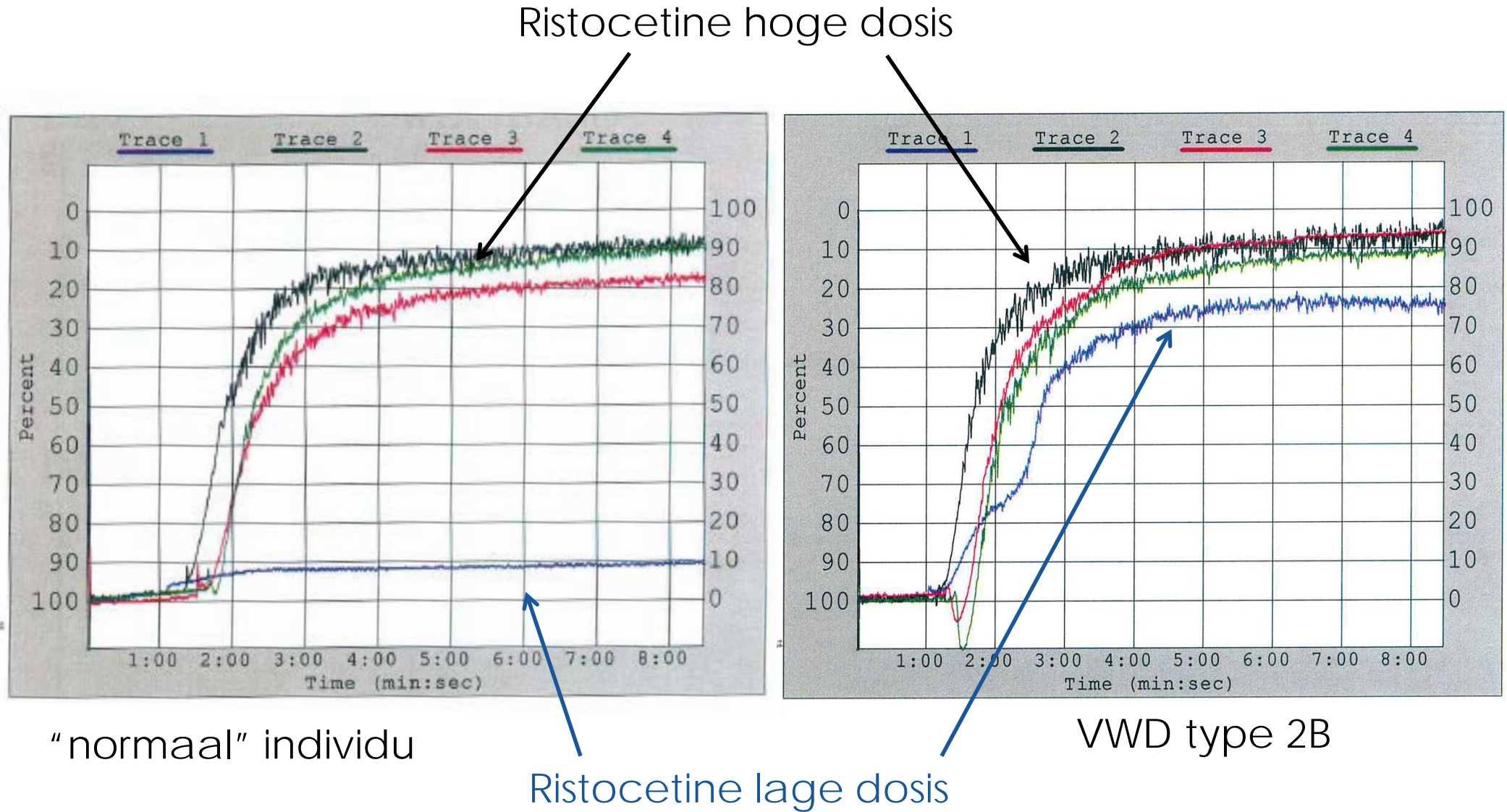
## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

1. Screening panel:
  - VWF:Ag assay
  - VWF:RCo (GpIb $\alpha$  binding)
  - FVIII assay
2. Confirmatie panel:

## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

1. Screening panel:
  - VWF:Ag assay
  - VWF:RCo (GpIb $\alpha$  binding)
  - FVIII assay
2. Confirmatie panel:
  - Trombocytenaggregatie (2B)

# VRAAG 1 Hoe wordt VWD gediagnosticeerd?



**Type 2B:** verhoogde affiniteit voor Gplba

## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

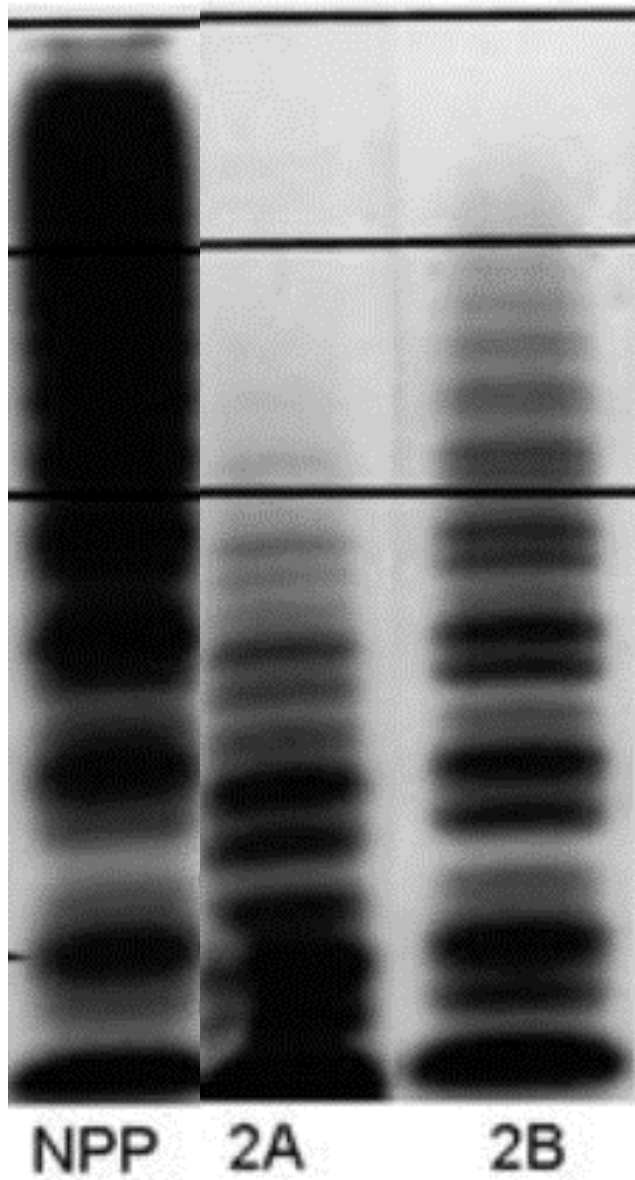
### 1. Screening panel:

- VWF:Ag assay
- VWF:RCo (GpIb $\alpha$  binding)
- FVIII assay

### 2. Confirmatie panel:

- Trombocytenaggregatie (2B)
- Multimeren analyse (2A/2B  $\leftrightarrow$  2M)

# VRAAG 1 Hoe wordt VWD gediagnosticeerd?



} HMWM  
} intermediaire MWM

Type 2A:

HMWM <<<

Type 2B:

HMWM <<<

## Aanpak VWD diagnostiek UZ Leuven

### 1. Screening panel:

- VWF:Ag assay
- VWF:RCo (GpIb $\alpha$  binding)
- FVIII assay

### 2. Confirmatie panel:

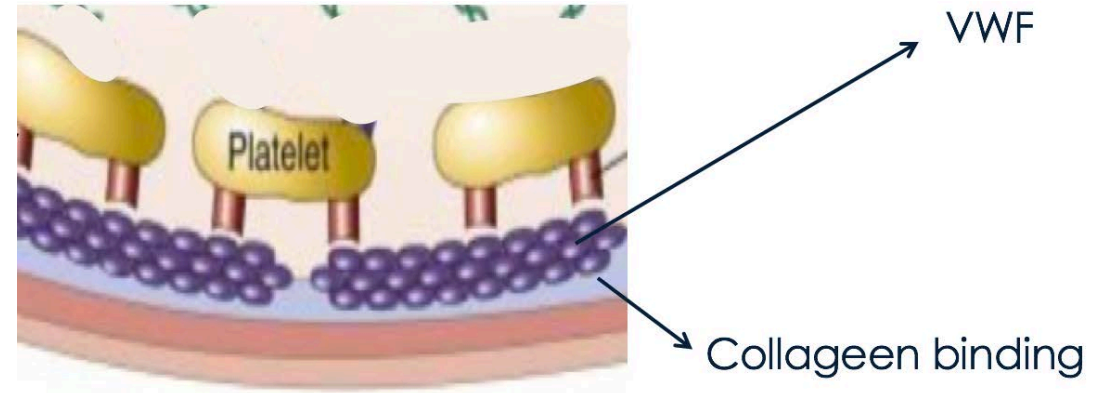
- Trombocytenaggregatie (2B)
- Multimeren analyse (2A/2B  $\leftrightarrow$  2M)
- VWF:FVIII B assay (2N)

- 
2. Toegevoegde waarde van de collageen binding analyse?

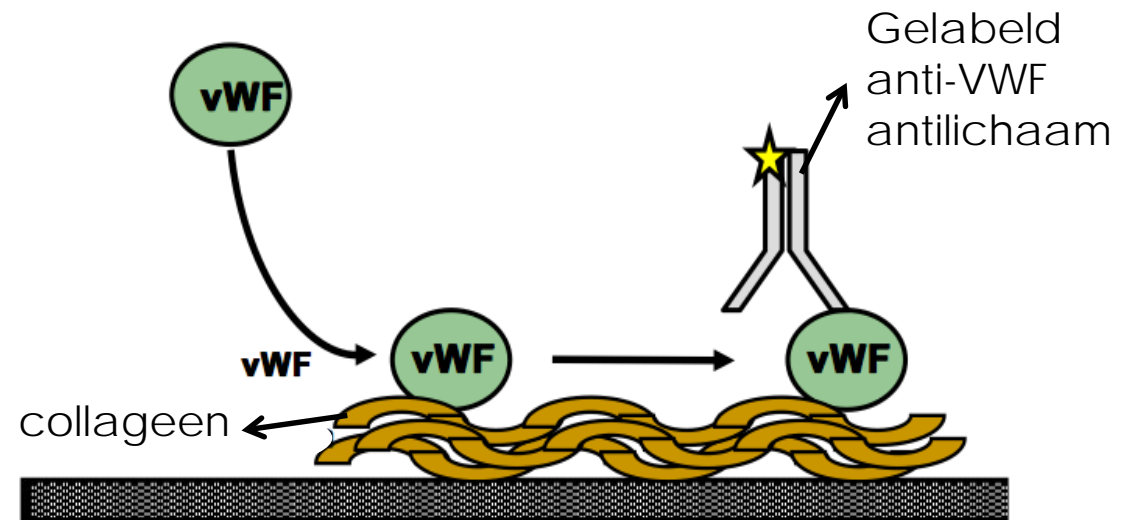


## Collageen binding analyse

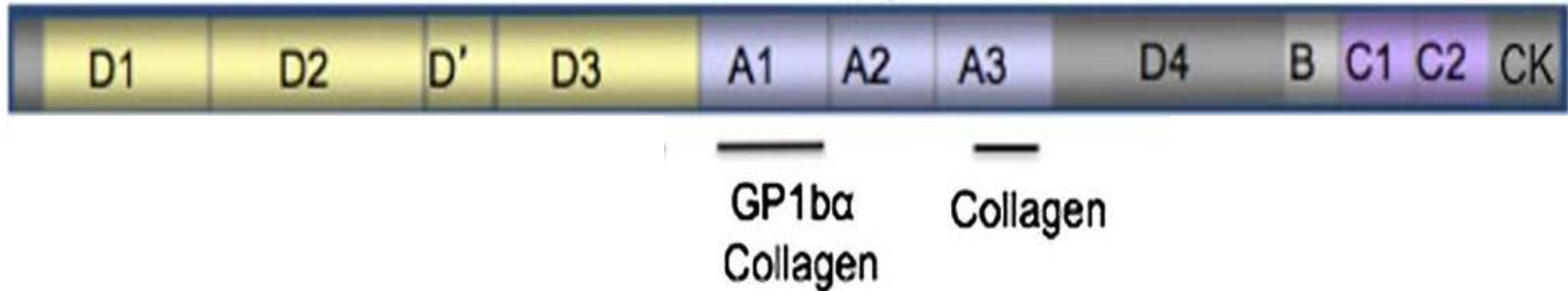
- Aanwezigheid HMWV (meest actieve vorm)
- Intacte collageen binding



- ELISA



## VWF structuur: collageenbindingsplaatsen



A1 domein:

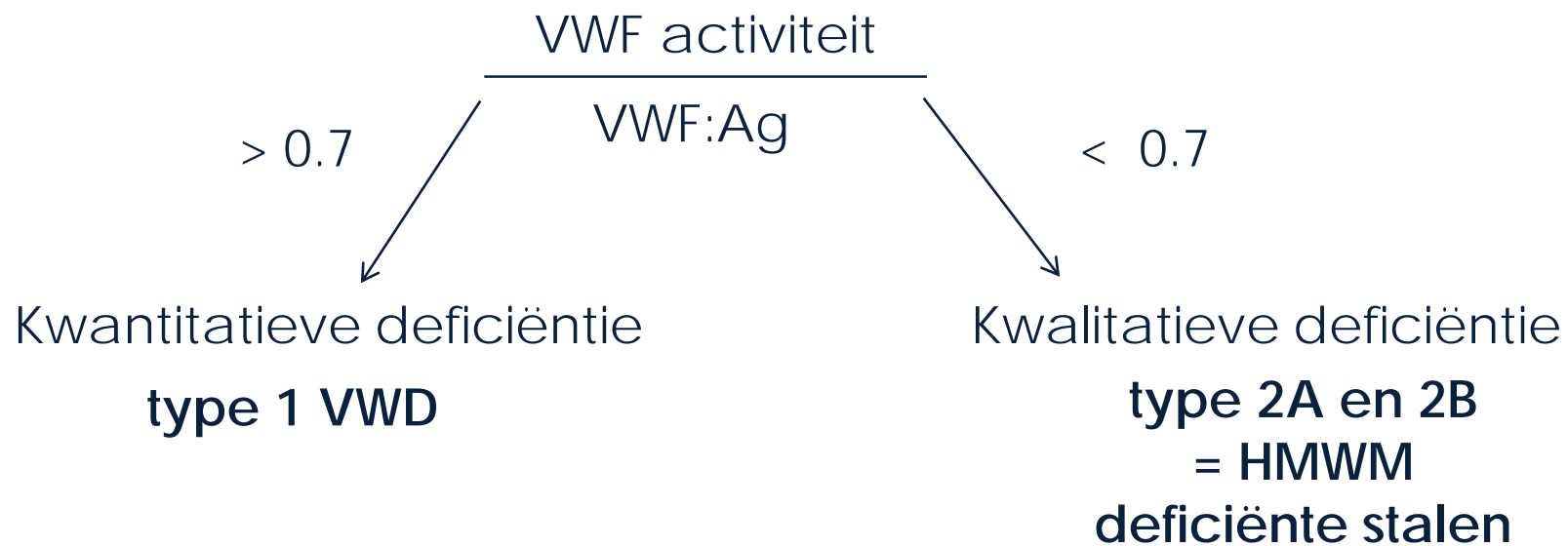
- Collageen type I
- Collageen type III
- **Collageen type VI**
  
- **GpIb $\alpha$**

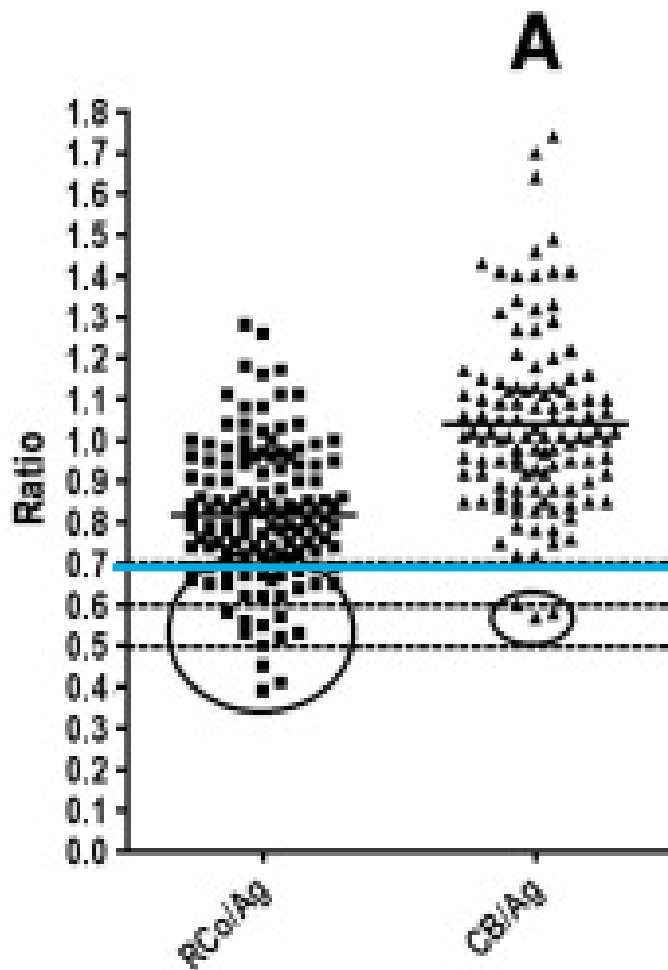
A3 domein:

- **Collageen type I**
- **Collageen type III**

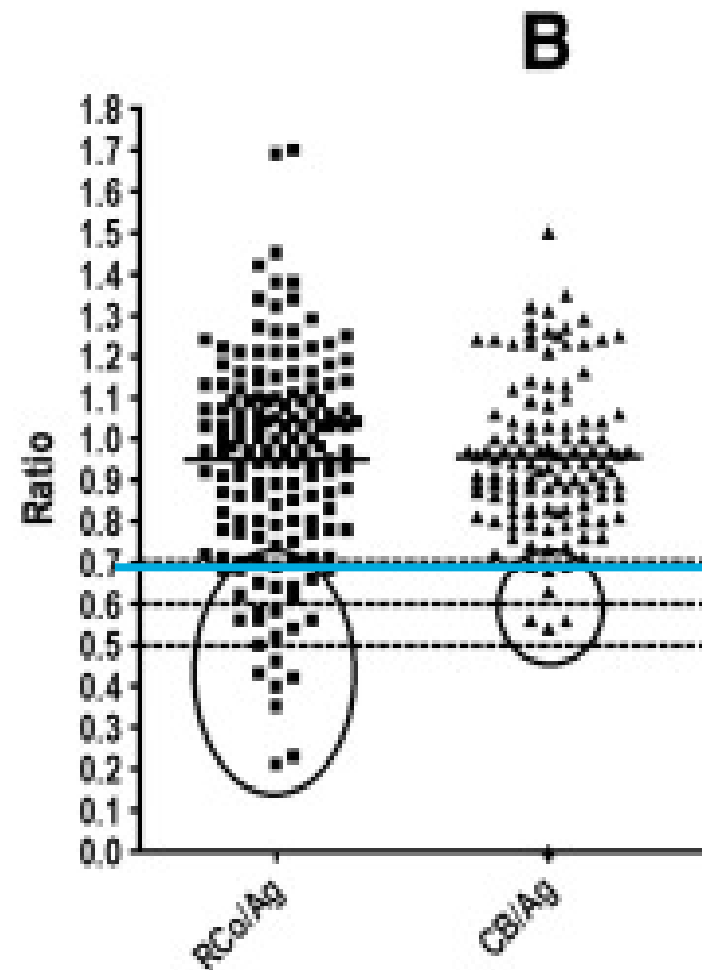


# 1. Opsporen HMWM deficiënte stalen



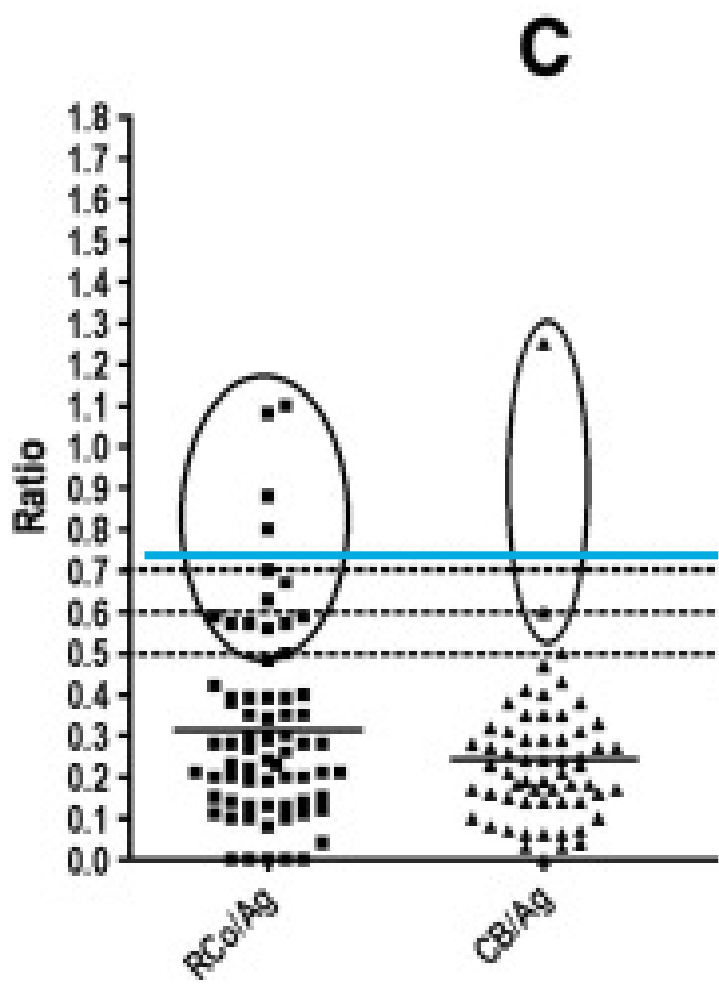


A. normale stalen (n=4)

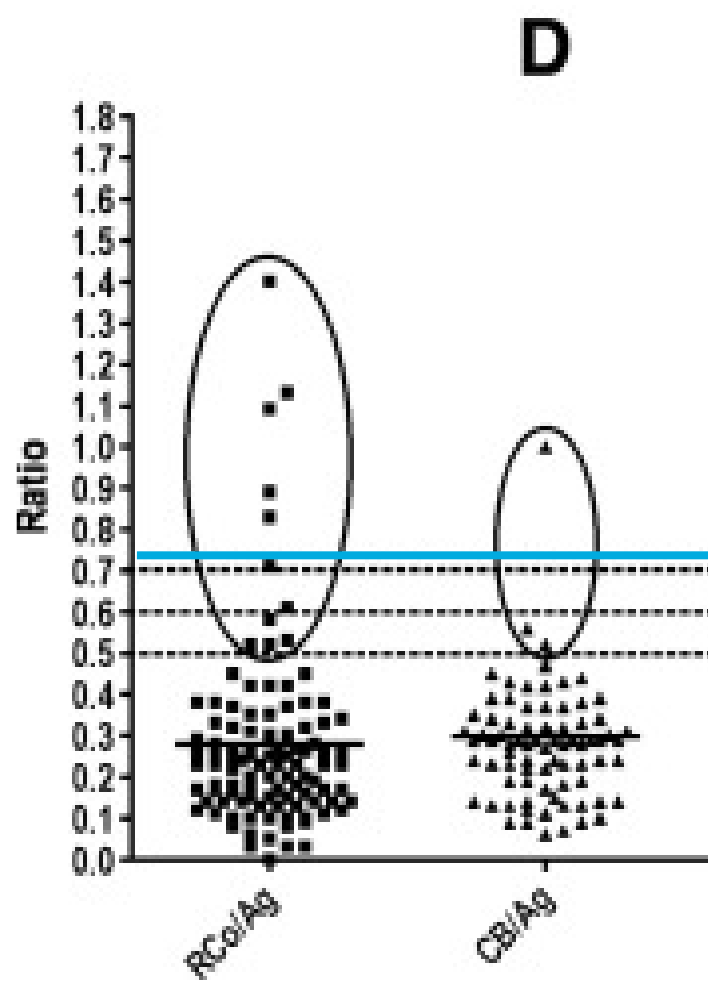


B. type 1 VWD (n=7)

Favaloro *et al.* (2014): 29 stalen tussen 2006-2013 opgestuurd naar verschillende laboratoria (n: 52-59)



C. type 2A VWD (n=2)

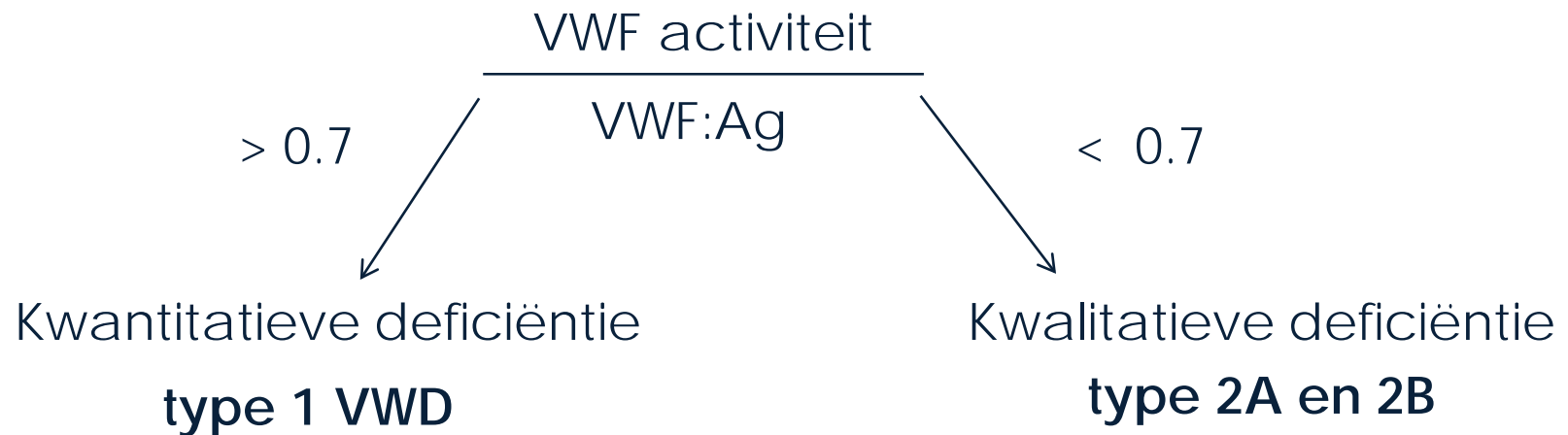


D. type 2B VWD (n=3)

Favaloro *et al.* (2014): 29 stalen tussen 2006-2013 opgestuurd naar verschillende laboratoria (n: 52-59)



## 1. Opsporen HMWM deficiënte stalen



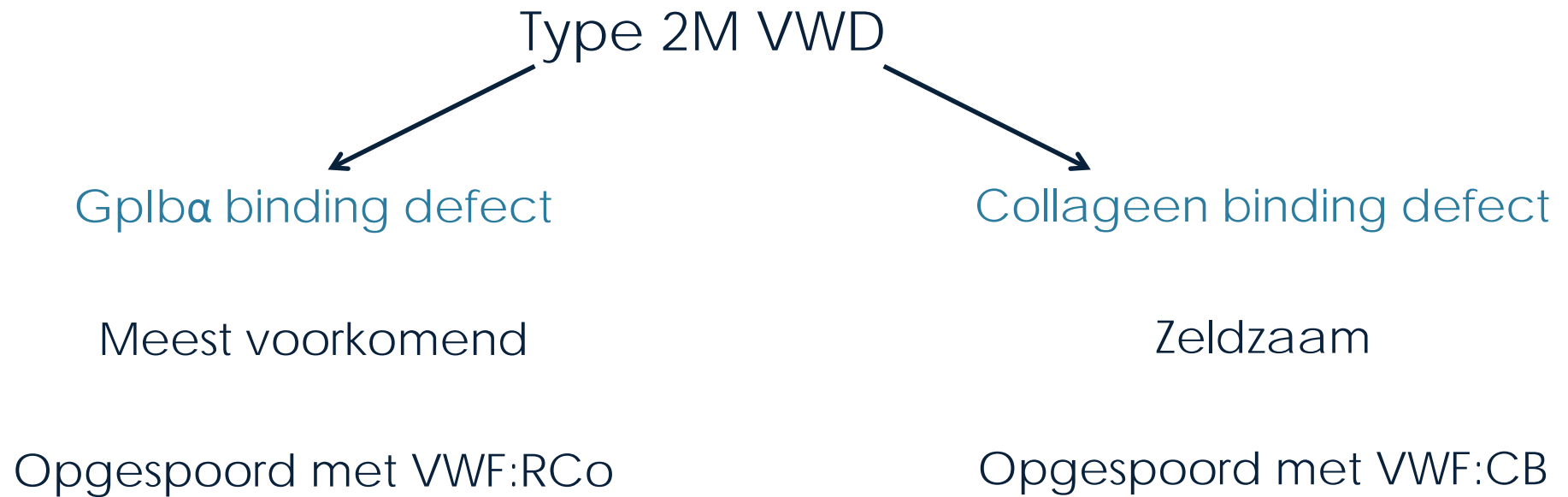
- VWF:CB beter dan VWF:RCo

*Favaloro et al. (2014), Favaloro et al. (2007), Adcock et al. (2006), Favaloro et al. (2006), Favaloro et al. (2002), Favaloro et al. (1999)*

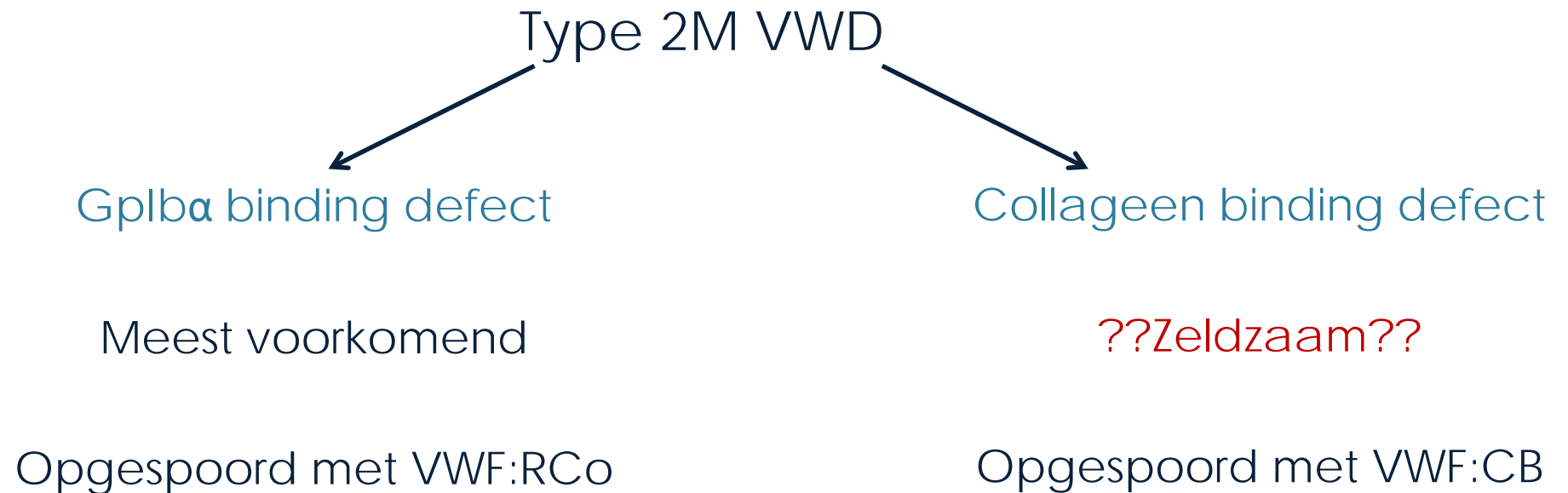
- VWF:CB met collageen type I (95%) type III (5%)

*Favaloro (2000), Baronciani et al. (2006)*

## 2. Opsporen type 2M VWD met geïsoleerd collageen binding defect

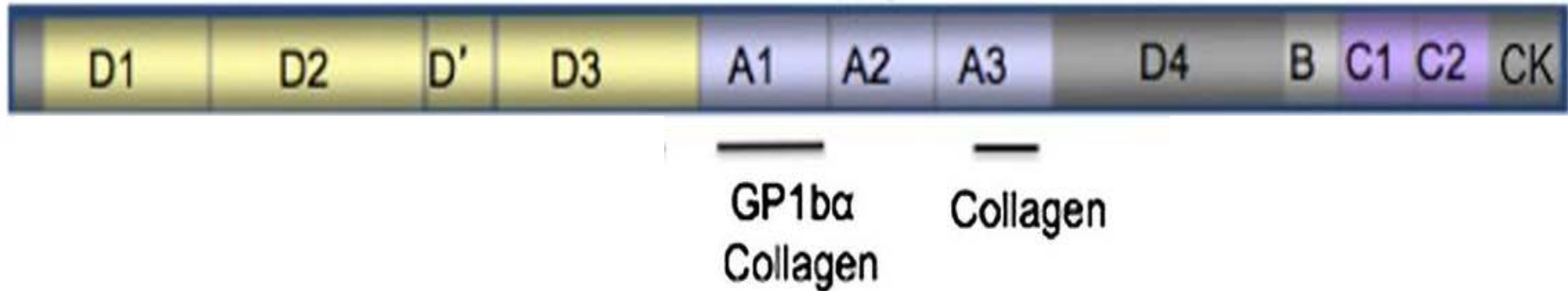


## 2. Opsporen type 2M VWD met geïsoleerd collageen binding defect





## 2. Opsporen type 2M VWD met geïsoleerd collageen binding defect



A1 domein:

- Collageen type I
- Collageen type III
- Collageen type VI
- Gplb $\alpha$

A3 domein:

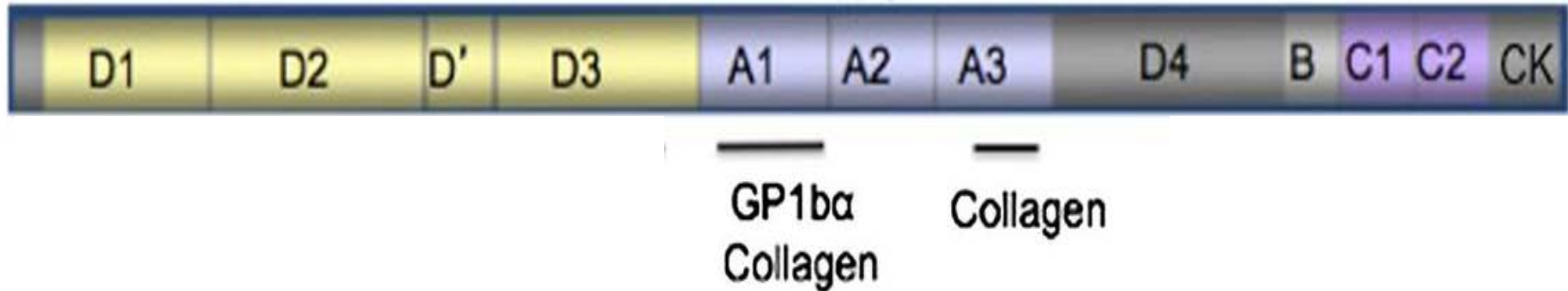
- **Collageen type I**
- **Collageen type III**
- 5 mutaties

## 2. Opsporen type 2M VWD met geïsoleerd collageen binding defect

A3 domein mutaties	Collageen type I	Collageen type III	VWF:RCo
S1731T	↓	↓ ??	nl.
W1745C	↓	↓	nl.
S1783A	↓	↓	nl.
M1761K	XXXXXXXXXXXX	↓	nl.
H1786D	↓	↓	nl.

*Riddel et al. (2016), Keeling et al. (2012), Flood et al. (2010), Ribba et al. (2001).*

## 2. Opsporen type 2M VWD met geïsoleerd collageen binding defect



A1 domein:

- Collageen type I
- Collageen type III
- Collageen type VI
- Gplb $\alpha$

A3 domein:

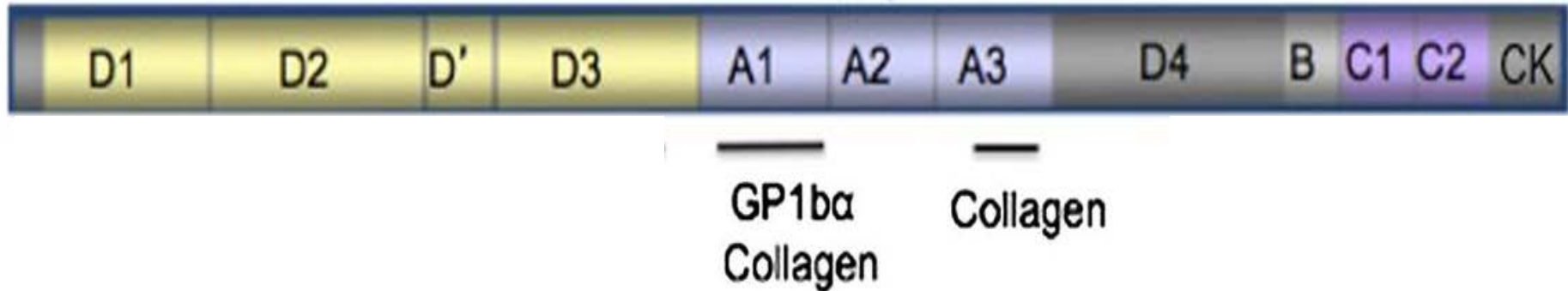
- **Collageen type I**
- **Collageen type III**



Normale VWF:Ag, normale VWF:RCo,  
normale multimeer distributie

Bewezen nut van VWF:CB met  
collageen type I of III

## 2. Opsporen type 2M VWD met geïsoleerd collageen binding defect



A1 domein:

- Collageen type I
- Collageen type III
- **Collageen type VI**

- **Gplba**

➤ 4 mutaties

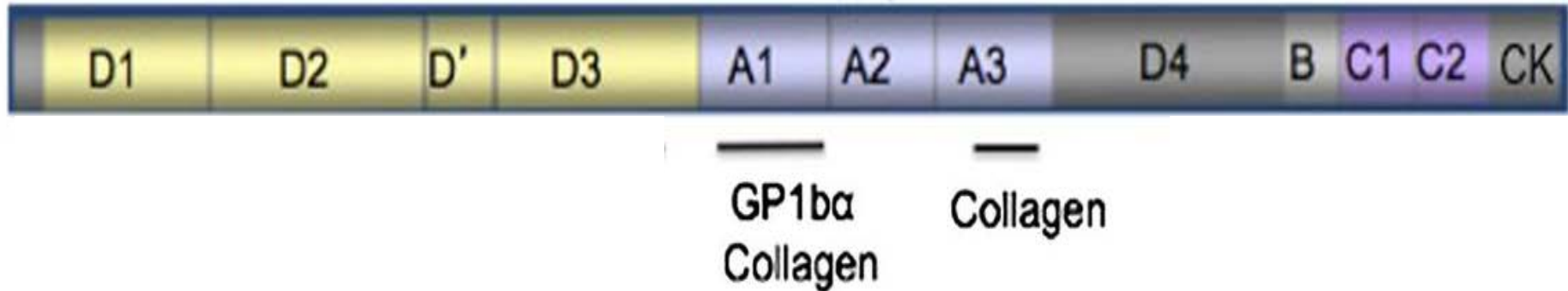
A3 domein:

- Collageen type I
- Collageen type III

## 2. Opsporen type 2M VWD met geïsoleerd collageen binding defect

A1 domein mutaties	Collageen type I	Collageen type III	Collageen type VI	VWF:RCo
S1387I	↓	nl.	↓	↓
<b>R1399H</b>	<b>nl.</b>	<b>nl.</b>	<b>↓</b>	<b>nl.</b>
Q1402P	nl.	nl.	↓	↓
11 AZ deletie 1392-1402	↓	nl.	↓	↓

## 2. Opsporen type 2M VWD met geïsoleerd collageen binding defect



A1 domein:

- Collageen type I
- Collageen type III
- **Collageen type VI**
  
- **Gplba**




Belang VWF:CB met type VI nog onduidelijk

A3 domein:

- Collageen type I
- Collageen type III

# Conclusie

1. Diagnose VWD complex
  
2. VWF:CB heeft toegevoegde waarde:
  1. Opsporen HMWM deficiëntie (type 2A en 2B)
    - VWF:CB met type I (95%)/ type III (95%)
  -  2. Opsporen subtype 2M met geïsoleerd collageen binding defect (A3 domein)
    - VWF:CB met type I of type III

## To do

1. VWF:CB met humaan collageen type I, III en VI evalueren
2. Stalen verzamelen van patiënten met verhoogde bloedingsneiging
3. HemosIL<sup>®</sup>Acustar VWF:CB assay valideren
4. Incidentie subtype 2M met geïsoleerd collageen binding defect



Bedankt voor jullie aandacht!