УДК: 616.151.5-056.7

ЕТИОПАТОГЕНЕТСКИ, КЛИНИЧКИ И ГЕНЕТСКИ АСПЕКТИ НА MORBUS VON WILLEBRAND

Велеска-Стевковска Д.[1], Кочова М.[2]

[1]СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - Скопје, Клиника за орална хирургија
[2]МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ - Скопје, Оддел за ендокринологија и генетика, Клиника за детски болести

Morbus von Willebrand претставува конгенитална коагулопатија, која се карактеризира со квантитативни или квалитативни нарушувања во von Willebrand-овиот фактор, vWF. Факторот VIII всушност е комплекс од две компоненти со различна генетска контрола и биохемиска функција. Поголемиот дел на vWF синтезата се одвива во ендотелните клетки. vWD првобитно била именувана со терминот псевдохемофилија, затоа што кај vWD преовладува клиничка слика со мукокутани крвавења. Покрај тоа што се земаат предвид анамнестичките податоци и клиничките карактеристики на нарушувањата во хемостазата, за да се постави точна дијагноза треба да се комплетира наодот со фенотипски и со генетски тестови. ***Scientific & Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis*** *ја презеде задачата да ја ревидира класичната шема за класификација на vWD (1994). Наведени се најновите сознанија за типот мутации во генот за vWF. Направен е концизен осврт на претоперативната подготовка на пациентите со овој тип заболување.*

Клучни зборови: генетика, Morbus von Willebrand

Morbus von Willebrand (von Willebrand disease - vWD) претставува најчеста конгенитална коагулопатија, која се карактеризира со квантитативни или со квалитативни нарушувања во von Willebrand-овиот фактор, vWF. Опишана е од страна на Eric von Willebrand во 1926 година, кога тој рапортирал за еден случај на мало девојче од Финска со некакво нарушување во хемостазата, кое се разликувало од класична хемофилија. Преовладувала клиничка слика на мукокутани крвавења за разлика од крвавењата во зглобовите и во меките ткива карактеристични за хемофилија.

Епидемиологија

vWD се појавува како симптоматска кај еден случај во 10.000 индивидуи. Преваленцата на болеста е 1,6% при што се јавува како една од најчестите генетски заболувања кај човекот.

Структура на vWF

Факторот VIII всушност е комплекс од две компоненти со различна генетска контрола и биохемиска функција.

Факторот VIIIc - коагулационен протеин.

Факторот VIIIvW (vWF) - протеин одговорен за адхезија на тромбоцитите.

Факторот VIIIvW е голем полимерски протеин, неопходен за нормална тромбоцитна адхезија и се однесува како мост меѓу рецепторот на тромбоцитната површина (мембрански гликопротеин GPIb) и експони-

раната базална или субендотелијален колаген на повредените васкуларни ткива. FVIIIc гради комплекс со FVIIIvW во плазмата. Во отсуство на FVIIIvW, полуживотот на FVIIIc во циркулацијата е намален од 8 до 12 часа на 2-3 часа. Основната структурна единица на FVIIIvW е претставена со единечен полипептиден синџир со молекуларна тежина од 250.000 - 300.000 D. vWF мономерите од 250.000 D олигомерираат и формираат полимери од 1.000.000 до 20.000.000 D молекуларна тежина.

Мултимерите со големи молекуларни тежини од 15.000.000 до 20.000.000 D всушност се најактивни во поттикнувањето на тромбоцитната адхезија. Мултимеризацијата се случува во последните компартмени на Golgi-апаратот и во пост-Golgi секреторните везикули во услови на кисела pH.

Синтеза на vWF

Поголемиот дел од vWF синтезата се одвива во ендотелните клетки. vWF се складира во Weiber-Palade-ови тела и подоцна се секретира во циркулацијата во зависност од регулаторните механизми. Мултимерите со ниска молекуларна тежина континуирано се секретираат во циркулацијата, додека мултимерите со висока молекуларна тежина се секретираат од Weiber-Palade тела, како одговор на хемостатските механизми на регулација. Исто така, vWF се синтетизира и во мегакариоцитите. Мултимерите со голема молекуларна тежина се складираат во секреторни гранули на тромбоцитите (исто како и другите адхезивни гликопротеини-фибриноген, тромбоспондин и фактор V).

Клинички аспекти

vWD првобитно била именувана со терминот псевдохемофилија, затоа што кај vWD преовладува клиничка слика со мукокутани крвавења. Карактеристики на двете заболувања со хередитарен карактер се:

vWD

1. Спонтаното крвавење е ретко, најчесто е предизвикано од трауми или од хируршка интервенција
2. Крвавење од мукозни мембрани:
   - епистакси (назална мукоза)
   - крвавење од гингива
   - крвавење од гастроинтестинален тракт
   - крвавења од вагинална мукоза
   - крвавења од уринарен тракт
3. Пролонгирано и зголемено крвавење по хируршка интервенција или траума
4. Двата пола се застапени
5. Пролапс на митралната валвула, кој може да е присутен кај сите видови заболувања, но сè уште со сигурност не е докажано дали се работи за поврзани феномени
6. Ангиодисплазија претставува мала телеангиектаза во ѕидот на цревата кај пациенти постари од 50 години и тип 3 на vWD

Hemophilia

1. Преовладува крвавење во зглобовите и во мускулите
2. Нема пролонгирано време на крвавење

Афектиран е машкиот пол (жените се преносители)

Дијагноза

Покрај тоа што предвид се земаат анамнестичките податоци и клиничките карактеристики на нарушувањата во хемостазата, за да се постави точна дијагноза треба да се комплетира наодот со фенотипски и со генетски тестови.

Фенотипски тестови:

1. vWF активност - врзување на факторот за GPIb на тромбоцитите со помош на ристоцетин
2. vWF:Ag (antigen) - се одредува количеството на vWF

3. vWF активност
4. Време на крвавење
5. Одредување на vWF мултимерите

Генетски тестови - DNA секвенционирање

1. Скрининг и детекција на мутиран ген кај индивидуите

PCR - можно е да детектира поединечна мутација од поединечен дел на DNA, при што се користи Dideoxi методот на терминација на синџирот.

По детекција на мутацијата, треба да се идентификува со алел - специфичен олигонуклеотид (ASO) хибридизација или рестрикциона ендонуклеазна анализа.

2. Chemical mismatched cleavage - ја идентификува положбата на мутацијата во мал дел на генот и е само индикатор каде генот може да се најде.
3. Restriction mapping - може да ги потврди страните на мутацијата.

Општи принципи на новата класификација на vWD

Scientific & Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis ја презеде задачата да ја ревидира класичната шема за класификација на vWD (1994). Класификацијата се темели на неколку постулати:

1. Класификацијата треба да биде компатибилна со комплексните фенотипови и проблемите предизвикани од „сложената" хетерозиготност на мултимерските протеини. Иако специфичните молекуларни дефекти очигледно се важни, главните категории на класификационата шема треба да се базираат на патофизиолошките и на клиничките фенотипови.
2. Класификацијата треба да даде јасна корелација со типот на генетската лезија, клиничкото однесување и одговорот на терапијата.
3. Шемата на класификација треба да се базира и на фактот дека vWD е резултат на мутациите во vWF локусот. Генетските нарушувања кои доаѓаат од други генски локуси се именуваат според генскиот локус од каде доаѓаат или како вариетет на pseudo-vWD (на пр. тромбоцитниот тип на pseudo-vWD всушност е примарно нарушување на тромбоцитите каде постои генетски детерминирана нефункционалност на тромбоцитниот рецептор за vWF). Стекнатите нарушувања кои ја имитираат vWD, односно имаат иста клиничка слика, но немаат иста генетска основа, се нарекуваат "acqired vWD Syndrome" (стекнат von Willebrand синдром).

Класификација

Тип 1 - парцијален квантитативен дефицит на vWF. Ова е најчесто дијагностициран тип на vWD во просек 70%-80% од случаите. При мултимерската анализа се утврдува дека во плазмата се присутни сите мултимери и се во иста меѓусебна пропорција, но се пропорционално редуцирани.

Плазма нивото на FVIII, vWF активноста и vWF антигенот се редуцирани, времето на крвавење е нормално или пролонгирано.

Тип 2 - квалитативна абнормалност на vWF. Пациентите можат да имаат нормално ниво на vWF, но протеинот може да биде дисфункционален. Застапеноста на овој тип е кај 15%-30% од случаите.

Тип 2А - постои дефект на интеракцијата меѓу тромбоцитите и vWF, асоцирана со отсуство на високи и на средни молекуларни тежини на vWF мултимерите.

Тип 2Б - постои зголемена интеракција меѓу тромбоцитите и vWF поради зголемениот афинитет на vWF за неговиот тромбоцитен рецептор GPIb. Поради ова кај пациентите се јавува тромбоцитопенија.

Тип 2М - намалена интеракција меѓу тромбоцитите и vWF, која не е предизвикана од отсуството на високомолекуларни мултимери, туку од намаленото врзување на vWF за GPIb.

Тип 2Н - (Normandy) кај овој тип постои дефектна интеракција со FVIII. Молекуларниот дефект во vWF е во оној дел на протеинот кој е инволвиран во врзувањето за осмиот фактор, при што во овој случај се формира vWF/FVIII неадекватен комплекс, каде времето на полуживот на FVIII во циркулацијата е скратен и нивото на FVIII е редуцирано.

Тип 3 - многу ретка форма каде постои комплетно отсуство на vWF.

Тромбоцитен тип, pseudo-vWD

Претставува примарно тромбоцитна абнормалност каде постои нефункционалност на тромбоцитниот рецептор за vWF.

Acquared vWD syndrome (стекнат von Willebrand синдром)

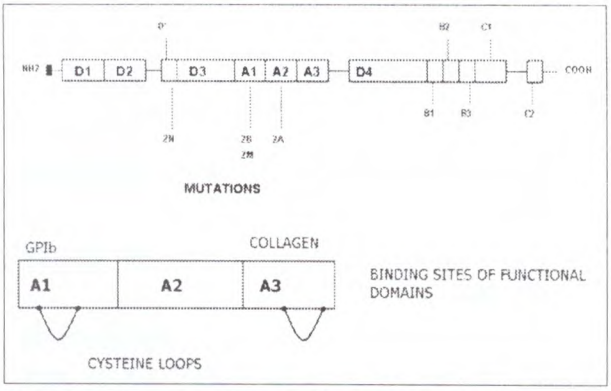
Претставува состојба предизвикана од антитела против vWF, кои ја неутрализираат неговата активност. Се работи за стекната состојба кај заболувања, како што се, лимфопролиферативни болести, бенигни моноклонални гамапатии и други заболувања кои се карактеризираат со имунолошки абнормалности.

Генетски аспекти на vWD

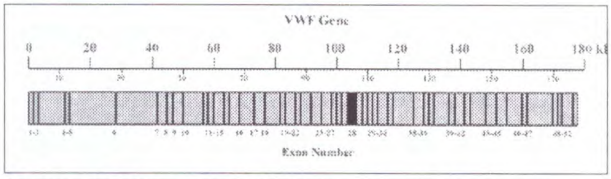
Локација на генот

Генот кој ја детерминира синтезата на vWF е лоциран на хромозомот 12 на локусот 12p.13.2. Содржи 52 егзони и апроксимативно 180 кб, кои кодираат прекурзор со 2.873 аминокиселини (9-пре-про-vWF), со големо внатрешно повторување на хомологни домеини. Егзонот кој кодира функционални домеини A1 и A2 е долг и содржи 1.379 базни парови.

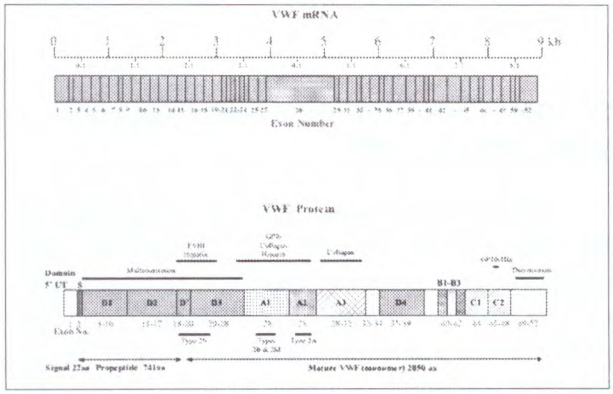
На хуманиот хромозом 22 локус 22q.11.2 пронајден е парцијален непроцесиран vWF псевдоген. Псевдогенот има 21-29кб. DNA кореспондира со егзоните и интроните на регионот, кои кодираат домеини A1-A2-A3. Познати се неколку missense, non-sense и функционални мутации, кои ја преполовуваат продукцијата на функционалниот транскрипт.



Слика 1. *Гликопротеинот Ib се врзува за A1 домеинот, а колагенот за A3 домеинот*



Слика 2. *Хуманиот vWF псевдоген кореспондира со регионот меѓу егзоните 23 и 34 и е ситуиран на хромозомот 22 (q11-13)*



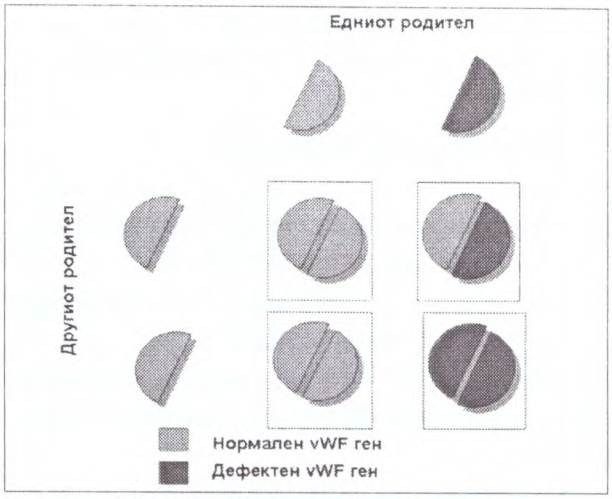
Слика 3. *Хумани vWF протеински домеини*

Дијаграмот ги покажува функционалните домеини кои досега се решени (слика 1, слика 2, слика 3).

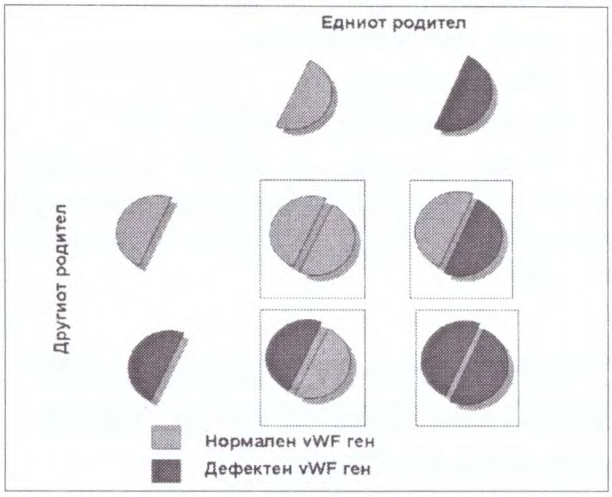
Наследување

Ако едниот родител има дефектен ген vWF;

Секој родител дава по еден ген за vWF. Како што е прикажано на сликата, постојат четири можни комбинации и тоа, 50% од потомците ќе бидат генетски нормални инди-



Слика 4. *Можни генетски комбинации кај децата*



Слика 5. *Можни генетски комбинации кај децата*

видуи, а 50% ќе го поседуваат дефектниот ген за vWF (слика 4).

Ако двата родитела имаат дефектен ген за vWF;

25% од потомците ќе бидат генетски нормални индивидуи

50% ќе бидат со дефектен vWF ген

25% ќе поседуваат два vWF дефектни гена што ќе резултира со ретка форма на vWD (слика 5).

Тип 1 и 2 vWD

Имаат „доминантна" форма на наследување. Дефектниот ген за vWD тип 1 или 2 е „посилен" и значи дека детето ќе ја има болеста.

Тип 3

Има „рецесивна" форма на наследување. Кај дете со еден нормален ген и еден ген за vWD тип 3, дефектниот ген е послаб, што значи дека детето ќе биде носител на болеста, односно кај него таа нема фенотипски да се манифестира. За детето да има vWD тип 3, треба да поседува два дефектни гена за vWD тип 3 заболувањето.

Најнови сознанија за типот на мутации во генот за vWF

Тип 1

Со генетските испитувања досега се утврдени мутации во промоторот, non-sense мутации, frameshift мутации и големи делеции кои се причина за тип 1 заболувањето.

Тип 2

Ginsburg, Sedler (1,2) презентираат концизна студија за мутациите кои го предизвикуваат тип 2 заболувањето. Мутациите настануваат во егзонот 28. Во генот кој го кодира vWF детектирани се мутациони „hot spots" како динуклеотидот CG.

Тип 3

Се карактеризира со парцијални лезии (како и non-sense мутациите) во кодоните 365, 896 и 1.772, како и енормни делеции во генот за vWF.

Тип 1

Lee'O Brien, Paula D.James(3), Department of hematology, Montreal, Canada

Врз база на нивната студија се детерминираат мутациите во егзонот 28 и тоа мутација 4751A>G во vWF-A2 домеинот, што резултира со Tyr1584>Cys варијација.

Оваа структурна промена во vWF резултира со зголемена интрацелуларна ретенција на vWF протеинот.

Тип 2A

Lyon SE, Cooney KA(4), Howard Medical Institute, University of Michigan, USA

Врз база на новооткриените мутации овој тип заболување е поделен на два поттипа и тоа: поттип 1 кај кој мутацијата довела до Leu777>Pro варијација во vWF протеинот, и поттип 2 кој се карактеризира со Ile865>Thr варијација.

Тип 2Б

Federici AB, Mannucci PM(5), University of Milano, Italy

Даваат податоци за транзиција во нуклеотидот 4175A>G, што резултира со супституција Ile546>Val.

Тип 2N (Normandy)

Tyley EA, Gausher C(6), Department of Medicine, Jewish Hospital of St. Louise, Washington, USA

Misense мутациите во vWF генот кај овој тип заболување резултираат со Thr28>Met варијација во vWF протеинот.

Тип 2M

Manusco DJ, Kroner PA (7), Blood Center of Wisconsin, USA

Информираат за in-frame делеција во егзонот 28 на vWF и тоа на нуклеотидите 4,173-4,205, што резултира со губење на аминокиселини Arg629-Gln639 во Cys509-Cys695 loop на A1 домеинот.

Hillery CA, Mancuso DJ (8) Blood Centar od Winsconsin, USA

Даваат податоци за misense мутациите во егзонот 28, и тоа во нуклеотидот 4105T>A (што резултира со супституција Phe606Ile) и missense мутација во нуклеотидот 4273A>T (што резултира со супституција Ile662Phe).

Тип 3

Shelton-Inloes BB, Chehab FF (9)

Утврдуваат должина на делеција во vWF од 3-7,4 кб vWF cDNA. Делецијата содржи 110 кб.

Терапија

Во стоматолошката оралнохируршка практика пациентите со vWD треба да се третираат како специфични случаи, кои бараат посебна опсервација и претходна подготовка пред да се изведе оралнохируршката интервенција.

Дополнителни постапки:

1. Да се одбегнува поголем степен на траума (особено при хируршки интервенции) и употреба на антикоагуланти.
2. На местата на крвавење да се употребат притисок и ладни облоги.

Употреба на локални методи на хемостаза: механички, физички, хемиски и биолошки.

Супституциона терапија:

1. криопреципитати
2. свежа замрзната плазма
3. vWF концентрати
4. Humate-P (Human plazma factor VIII)

DDAVP (1-deamino-8D arginine vasopresine) за тип 1 vWD (DDAVP е синтетски аналог на вазопресинот, тој ја зголемува активноста на vWF)

ETIOPATHOLOGY, CLINICAL AND GENETIC ASPECTS OF MORBUS VON WILLEBRAND

Veleska-Stevkovska D., Kočova M.

Summary

Morbus von Willebrand is a congenital disease with quantitative and qualitative disorders in the von Willebrand factor. It is a complex of two components with different genetic control and biochemical function. The large part of the synthesis of the vWF is in the endothelial cells. vWD in the first place was called pseudo hemophilia because mucosal and cutaneus hemorrhage dominates in the clinical studies. To complete the exact diagnose we should consider the anamnestic data, clinical characteristics, genetic and laboratory tests. **Scientific & Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis** updates the classical scheme of classification of vWD. The newest scientific research on genetic mutations is explained. Also

a concise scheme is given in the study on preoperative considerations for this type of disease.

Key words: genetics, Morbus von Willebrand

Литература

1. Ginsburg D. (1999) Molecular Genetics of von Willebrand disease. J Thromb Haemost., 82:585-591.
2. Sadler JE, Mannucci PM. (2000) Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. J Thromb Haemost .,84:160 -174.
3. Lee A O'Brien, Paula D James. (2003) A founder von Willebrand factor haplotype-associated with type 1 von Willebrand disease. Blood First Edition Paper,12:3693.
4. Lyon SE, Cooney KA. (1994) Type 2 von Willebrand disease causing defective von Willebrand factor-dependent platelet function. Best Practice & Research Clinical Haematology, Volume 14, Issue 2, pp. 349-364.
5. Federici AB, Mannucci PM. (2006) Impaired megakaryocytopoiesis in type 2B von Willebrand disease. Blood, Vol. 108, No. 8, pp. 2498-2499.
6. Tyley EA, Gausher C. (1991) www.bloodjournal.org/cgi/reprint/77/11/2305.pdf
7. Manusco DJ, Kroner PA. (1996) Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care. Volume 35, Issue 2, pp. 38-62.
8. Hillery CA, Mancuso DJ. (2004) Responsiveness of patients with VWD to DDAVP. Blood, Vol. 103, No. 6, pp. 1975-1976.
9. Shelton-Inloes, B B, Chehab F F. (1987) Gene deletions correlate with the development of alloantibodies in von Willebrand disease. J Clin Invest 79:1459-1465.