

## FAKTOR PATOGENESIS DAN DIAGNOSIS PENYAKIT *von Willebrand* (*Pathogenesis and Diagnostics Factors of von Willebrand Disease*)

R. Sindunata\*, M. Y. Probahoeso

### ABSTRACT

*von Willebrand disease (vWD) is an autosomal inherited bleeding disorder caused by a deficiency or abnormality of von Willebrand factor (vWF). vWF is a large multimeric glycoprotein that mediates platelet adhesion at the site of vessel injury. It also protects factor VIII from proteolytic degradation in the circulation. vWD has a prevalence of about 1% in the general population but less than 10% have bleeding symptoms. Bleeding symptoms are usually mucocutaneous and post surgical with varying severity. This disorder can result from either a quantitative (types 1 and 3) or qualitative (type 2) defect in vWF. Type 2 vWD has been further classified into four distinct subtypes; 2A, 2B, 2M and 2N. The diagnosis of vWD requires attention to personal and family history of excessive bleeding and confirmation by laboratory evaluation. A mild chronic thrombocytopenia is often seen in type 2B vWD. Patients with mild vWD often have both a normal bleeding time and normal APTT. Specific tests for vWD diagnosis involve vWF antigen level, vWF activity (ristocetin cofactor), and factor VIII activity. Once a diagnosis is established, additional tests that aid in classifying the type of vWD include ristocetin-induced platelet aggregation and vWF multimer analysis.*

**Key words:** *Diagnostics factor, von Willebrand disease.*

### PENDAHULUAN

Erik von Willebrand pertama kali menemukan kelainan dengan perdarahan yang diwariskan secara otosomal dominan di masyarakat kepulauan Aaland pada tahun 1926.<sup>1</sup> Penyakit von Willebrand (vWD) adalah kelainan yang diwariskan secara otosomal dengan gejala perdarahan, disebabkan mutasi gen faktor von Willebrand (vWF) sehingga terjadi defisiensi atau disfungsi vWF.<sup>2</sup> *Revised Classification of vWD* membagi vWD berdasar defek vWF kuantitatif (tipe 1 dan tipe 3) atau kualitatif (tipe 2).<sup>3</sup>

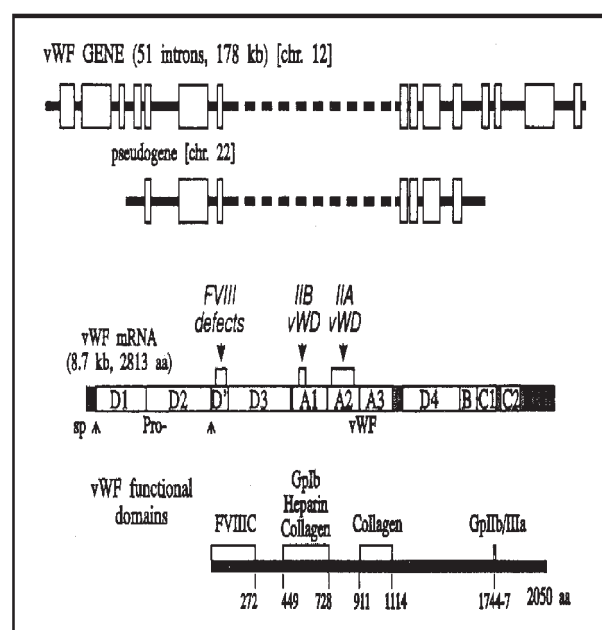
Penelitian epidemiologi vWD populasi anak menunjukkan prevalensi 0,8–1,3%. Penderita vWD yang menunjukkan gejala perdarahan kurang dari 10% karena derajat penyakit yang ringan serta korelasi yang rendah antara kadar vWF dan gejala klinik. Gejala vWD tersering adalah perdarahan mukokutaneus dan pascapembedahan.<sup>1</sup>

#### Gen vWF

Rangkaian nukleotida DNA vWF dilaporkan oleh Bronthon pada tahun 1986.<sup>1</sup> Protein vWF dikode oleh gen pada lengan pendek kromosom 12. Gen vWF diekspresikan khusus pada sel endotel pembuluh darah dan megakariosit.<sup>1</sup>

#### Biosintesis dan Struktur vWF

mRNA ditranslasikan sebagai pre-pro-poliipeptida dengan berat molekul (BM) 260 kDa. Proses sintesis dan metabolisme vWF hingga terbentuk vWF matur terjadi di organela sel endotel dan megakariosit. vWF matur dilepaskan dalam multimer besar (berisi 20 atau lebih dimer, BM mencapai 20 juta Da) dan cepat



**Gambar 1.** Skema gen, mRNA dan protein vWF<sup>4</sup>

\* Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga – RSU Dr. Soetomo Surabaya. ronny-sindu@yahoo.co.id

terbelah menjadi lebih kecil.<sup>1</sup> Struktur primer vWF terdiri beberapa domain A hingga D (Gambar 1).<sup>4</sup>

Domain D1, D2, D' dan D3 terlibat proses pembentukan multimer. D' dan D3 juga berperan dalam ikatan dengan FVIII. Domain A1 dan A3 terlibat dalam ikatan dengan kolagen. Domain A1 juga merupakan tempat ikatan dengan reseptor glikoprotein Ib trombosit dan domain C1 berinteraksi dengan reseptor glikoprotein IIb/IIIa trombosit. Tiap monomer vWF memiliki domain yang dapat berikatan dengan ligan di trombosit (GpIb dan GpIIb/IIIa), di subendotel (kolagen) dan di sirkulasi (FVIII).<sup>1</sup>

vWF tersimpan dalam granula alfa trombosit dan *Weibel-Palade bodies* sel endotel. 1-deamino-8-D-arginin vasopresin (DDAVP/desmopresin) dapat langsung menginduksi sekresi vWF sel endotel melalui aktivasi reseptor vasopresin V2.<sup>5</sup>

#### Fungsi vWF

vWF terikat pada GpIb trombosit dan kolagen subendotel membentuk jembatan trombosit-subendotel pada pembuluh darah yang rusak. vWF juga berfungsi sebagai jembatan antar trombosit membentuk agregat trombosit. GpIb dan vWF diperlukan untuk proses adesi dan kohesi antar trombosit dalam aliran darah yang cepat.<sup>6</sup> Ikatan tergantung pada ukuran multimer. Bila terjadi penurunan multimer vWF besar yang fungsional, dapat terjadi gejala perdarahan walaupun kadar vWF normal.

vWF juga berperan dalam fungsi hemostasis melalui ikatan dengan FVIII, tidak tergantung ukuran multimer, melindungi FVIII dari degradasi proteolitik disirkulasi. Waktu paruh FVIII menurun dari 8–12 jam menjadi 2 jam bila tidak didapatkan vWF. Ikatan vWF dan FVIII merupakan ikatan kuat non-kovalen. vWF menghambat interaksi FVIII dan protease sistem koagulasi seperti faktor IX, faktor X, protein C sehingga mencegah aktivasi sistem koagulasi yang dini.<sup>1</sup>

#### Klasifikasi vWD

Tabel 1 menjelaskan terminologi yang dipakai, yaitu nomenklatur FVIII dan vWF yang direkomendasi oleh *International Society of Thrombosis and Hemostasis (ISTH)*.

*Revised Classification of vWD* tahun 1994 (Tabel 2) membagi vWD menjadi dua kategori utama yaitu kelainan kuantitas (tipe 1 dan tipe 3) atau kualitas vWF (tipe 2).

vWD tipe 1 ditandai defisiensi parsial vWF di plasma dan atau trombosit. vWD tipe 3 tidak didapatkan vWF di plasma dan atau trombosit. vWD tipe 1 dan tipe 3 dibedakan menurut derajat defisiensi vWF plasma (tipe 1 derajat defisiensi lebih

ringan, antara 20–40 U/dl), pola pewarisan otosomal dominan dan gejala perdarahan lebih ringan.<sup>1,2</sup>

**Tabel 1.** Rekomendasi nomenklatur FVIII dan vWF<sup>2</sup>

FVIII	
Protein	FVIII
Antigen	FVIII:Ag
Fungsi	FVIII:C
von Willebrand factor	
Protein matur	vWF
Antigen	vWF:Ag
<i>Ristocetin cofactor activity</i>	vWF:RCO
<i>Collagen binding capacity</i>	vWF:CB
<i>Factor VIII binding capacity</i>	vWF:FVIII

**Tabel 2.** *Revised Classification of vWD* (1994)<sup>2,7</sup>

Defisiensi vWF kuantitatif
Tipe 1 : defisiensi vWF parsial
Tipe 3 : defisiensi vWF lengkap
Defisiensi vWF kualitatif
Tipe 2 : defisiensi vWF kualitatif
Tipe 2A : penurunan fungsi akibat tidak adanya multimer besar vWF
Tipe 2B : penurunan fungsi akibat peningkatan afinitas terhadap GPIb trombosit
Tipe 2M : penurunan fungsi bukan akibat tidak adanya multimer besar vWF
Tipe 2N : penurunan afinitas terhadap faktor VIII

#### Genetik vWD

vWD merupakan penyakit yang diwariskan melalui mekanisme genetik multipel.<sup>1</sup>

Tipe 1 diwariskan secara otosomal dominan. Mutasi genetik belum diketahui jelas. Ekspresi genetik bervariasi antar anggota keluarga.<sup>1</sup>

Pola pewarisan tipe 2B, 2M dan sebagian besar tipe 2A adalah otosomal dominan. Tipe 2N dan sebagian kecil tipe 2A diwariskan secara otosomal resesif. *Single missense point mutation* merupakan penyebab utama kelainan tipe 2.<sup>1</sup>

vWD tipe 3 diwariskan secara otosomal resesif, dengan penyebab delesi gen yang luas atau parsial, *truncating mutation* dan *missense mutation*.<sup>1</sup>

#### Diagnosis Laboratorium vWD

Penderita dicurigai vWD bila terdapat gejala perdarahan mukokutanus (ekimosis, epistaksis, perdarahan rongga mulut dan saluran cerna serta menorhagia) atau perdarahan pascabedah. Penelitian multisenter menunjukkan bahwa perdarahan kutaneus dan pascaekstraksi gigi merupakan prediktor yang baik dan sensitif untuk vWD tipe 1 sedangkan menorhagia dan epistaksis bukan prediktor yang baik.<sup>7</sup>

Sistem skoring perdarahan vWD dikembangkan untuk mengevaluasi riwayat perdarahan yang bersifat

**Tabel 3.** Kriteria penghitungan skoring perdarahan penderita vWD (0–3)<sup>7</sup>

Types of bleeding	0	1	2	3	Score
Epistaxis	Absent	< 10 episodes/year No therapy	> 10 episodes/year No or local therapy	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Cutaneous bleeding	Absent	< 10 episodes/year No therapy	> 10 episodes/year No or local therapy	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Bleeding from minor wounds	Absent	< 10 episodes/year No therapy	> 10 episodes/year No or local therapy	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Oral cavity bleeding	Absent	After minimal trauma only No therapy	Spontaneous No or local therapy	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Gastrointestinal bleeding	Absent	1 episode No therapy	> 1 bleeding episode No or local therapy	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Bleeding tooth extractions	Absent	Sometimes No or local therapy	Always Local therapy	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Bleeding after surgery	Absent	Minor bleeding No or local therapy	Major bleeding Local therapy	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Postpartum haemorrhage	Absent	Minor bleeding No or local therapy	Major bleeding Local therapy	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Muscle haematomas	Absent	After major trauma No or local therapy	After minor trauma No or local therapy	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Hamartrosis	Absent	After major trauma No therapy	After minor trauma Local therapy	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Menorrhagia	Absent	No or local therapy	Birth control pills	DDAVP or FVIII/VWF concentrates	
Total score					

subyektif serta dipakai untuk menilai kecenderungan perdarahan (Tabel 3).

Banyaknya macam pemeriksaan yang tersedia menggambarkan spektrum fungsi vWF yang luas dan tidak ada tes tunggal yang cukup sensitif dan spesifik untuk mendiagnosis semua penderita.<sup>1</sup> Tabel 4 menunjukkan parameter klinik dan laboratorium yang penting dalam mendiagnosis vWD.

#### Tes Penyaring

##### Bleeding time (waktu perdarahan)

Waktu perdarahan yang memanjang membantu diagnosis vWD. Pada penderita vWD yang diterapi vWF, waktu perdarahan menjadi kurang tepat sehingga monitoring dengan waktu perdarahan tidak direkomendasikan.<sup>1</sup>

Pemeriksaan waktu perdarahan juga memiliki beberapa kelemahan, antara lain: a) sensitivitas dan spesifisitas yang relatif rendah untuk vWD.<sup>1</sup> Sensitivitas waktu perdarahan untuk vWD sebesar

**Tabel 4.** Parameter klinik dan laboratorium untuk diagnosis vWD<sup>2</sup>

#### Curiga penderita vWD

Riwayat perdarahan mukokutaneus dan pascabedah berulang

Gejala bisa didapatkan pada anggota keluarga lain

Pemeriksaan penyaring: pemanjangan waktu perdarahan (mungkin normal), jumlah trombosit normal, APTT memanjang (mungkin normal)

#### Diagnosis tipe vWD

antigen vWF (vWF:Ag)

vWF:Ristocetin cofactor activity (vWF:RCo)

fungsi faktor VIII (FVIII:C)

struktur multimer vWF pada gel resolusi rendah

#### Diagnosis sub tipe vWD

ristocetin-induced platelet aggregation (RIPA)

struktur multimer vWF pada gel resolusi tinggi

kadar vWF trombosit

factor VIII binding assay (vWF:VIIIb)

65,5%,<sup>8</sup> b) efikasi yang rendah dalam memprediksi perdarahan waktu pembedahan,<sup>1</sup> c) pemeriksaan tergantung pemeriksa,<sup>1</sup> d) kurang nyaman bagi penderita,<sup>1</sup> e) waktu perdarahan dapat normal pada penderita vWD tipe 1, 2A dan 2N.<sup>8</sup>

Waktu perdarahan dapat dikerjakan dengan metode Ivy yang dimodifikasi, memakai *simplex* steril<sup>8</sup> dan metode pemeriksaan ini lebih sensitif dibandingkan metode Duke.<sup>11</sup> Waktu perdarahan memanjang bila > 8,5 menit.<sup>8</sup>

#### Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)

APTT sensitif untuk defisiensi FVIII:C. APTT dapat memanjang pada vWD jika aktivitas koagulasi faktor VIII (FVIII:C) menurun hingga kurang dari 30%.<sup>4</sup> Penderita vWD ringan dapat luput pada pemeriksaan APTT penyaring. APTT normal tidak menyingkirkan kemungkinan vWD.<sup>1</sup>

Nilai rujukan APTT normal: 21–35 detik.<sup>9</sup>

Hitung jumlah trombosit:

vWD tipe 2B dan *platelet type pseudo-vWD* sering disertai trombositopenia ringan.<sup>1</sup> Nilai rujukan jumlah trombosit normal: 140–400 × 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>.<sup>9</sup>

#### Automated Platelet Function Analyzer (PFA)

Teknik *in vitro* ini dikembangkan untuk menggantikan pemeriksaan waktu perdarahan. PFA-100 (Dade-Behring, Jerman) mengevaluasi adesi dan agregasi trombosit terhadap kolagen pada *whole blood* dalam kondisi *high shear*.<sup>8</sup> Darah sitras diaspirasi melalui kapiler, mengalir ke sebuah membran dengan lubang ditengahnya, menyerupai kondisi *high shear stress* *in vivo*. Kolagen dan agonis trombosit (epinefrin atau adenosin difosfat [ADP]) melapisi membran alat pada *cartridge* yang terpisah. Hasil *end-point* pemeriksaan adalah *closure time* yaitu waktu yang diperlukan hingga terbentuknya oklusi pada lubang membran oleh sumbat trombosit. Sensitivitas PFA-100 untuk vWD dengan agonis kolagen-epinefrin sebesar 96,5% dan kolagen-ADP sebesar 100%.<sup>8</sup> *Closure time* dapat normal pada vWD tipe 1 yang ringan dan tipe 2N.

Menurut penelitian Fressinaud, rentang nilai normal *closure time* dengan kolagen-epinefrin adalah 80–160 detik sedangkan rentang nilai normal *closure time* dengan kolagen-ADP adalah 59–120 detik.<sup>8</sup>

#### Tes Konfirmasi Laboratorium (*diagnosis dan analisis subtype vWD*)

##### Fungsi FVIII (FVIII:C)

Kadar FVIII: C plasma sangat rendah (1–5%) pada penderita vWD tipe 3. Pada penderita vWD tipe 1 atau tipe 2, FVIII dapat menurun hingga normal.<sup>10</sup> FVIII:C dapat membantu membedakan vWD tipe 2N dan hemofilia A.<sup>11</sup>

Kadar FVIII:C dapat diperiksa dengan metode FVIII:C satu tahap (*one-stage FVIII activity assay*). Pemeriksaan ini menilai kemampuan plasma penderita mengoreksi APTT yang memanjang pada plasma yang kurang FVIII. Derajat koreksi plasma penderita dibandingkan dengan plasma standar yang telah diketahui kadar FVIII sehingga kadar FVIII plasma penderita dapat dihitung.<sup>12</sup>

Rentang normal FVIII:C adalah 0,5–2,0 IU/ml.<sup>12</sup>

#### Tes vWF Non-Fungsional

##### Antigen Assay (vWF:Ag)

Kadar antigen vWF dapat ditentukan dengan metode imunoelktroforesis, imunoradiometrik maupun metode yang lebih umum yaitu ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*).<sup>4,10</sup> Kadar rerata vWF:Ag bervariasi antar laboratorium. Rentang normal 50–200 U/dl, sedangkan rasio FVIII:C terhadap vWF:Ag 0,7–2,2.<sup>1</sup> Kadar vWF:Ag plasma ditentukan oleh residu karbohidrat yang terikat protein. Kadar lebih rendah pada golongan darah O karena glikosilasi vWF relatif lebih rendah.<sup>11</sup> Rentang nilai berdasar golongan darah dijelaskan pada Tabel 5.<sup>1</sup>

**Tabel 5.** Golongan darah ABO dan vWF:Ag pada individu normal<sup>11,13</sup>

Blood group	n	VWF:Ag, mean, %	Range, ± 2 SD
O	456	74.6	35.6–157.0
A	340	105.9	48.0–233.9
B	196	116.9	56.8–241.0
AB	109	123.3	63.8–238.2

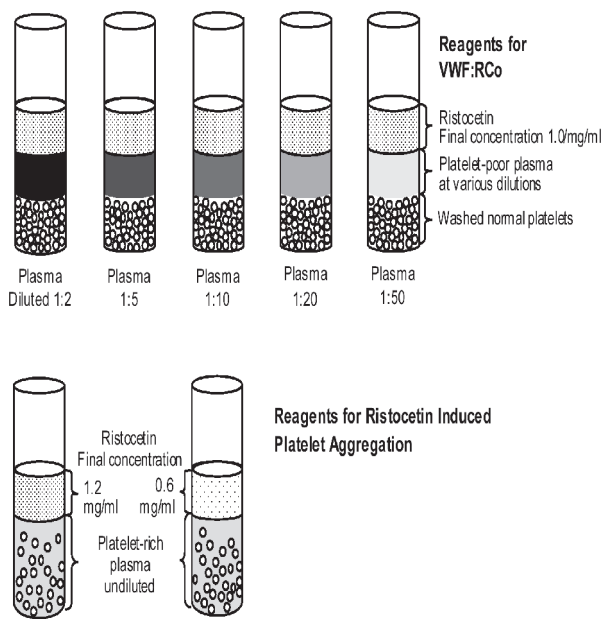
Kadar vWF:Ag yang rendah didapatkan pada vWD tipe 1. Pada vWD tipe 2, kadar vWF:Ag dapat rendah atau normal, sedangkan kadar vWF:Ag yang tidak terdeteksi didapatkan pada vWD tipe 3.<sup>10</sup>

#### Tes vWF Fungsional

##### Aktivitas Kofaktor Ristocetin (vWF:RCo)

Pertama kali ditemukan oleh MacFarlane.<sup>1</sup> Pemeriksaan ini merupakan metode standar mengukur aktivitas vWF, menggambarkan interaksi vWF dan glikoprotein Ib.<sup>2,4,10</sup> Antibiotika ristocetin mengaglutinasi *formalin fixed normal platelets* dengan bantuan vWF.<sup>2,4</sup> Gambar 2 menjelaskan prinsip pemeriksaan vWF:RCo dan perbedaan antara vWF:RCo dan *Ristocetin-induced Platelet Aggregation (RIPA)*.

Pada pemeriksaan vWF:RCo (gambar atas dengan lima tabung), kadar ristocetin tetap namun pengenceran plasma bervariasi. Pada pemeriksaan RIPA (gambar bawah dengan dua tabung), kadar *platelet rich plasma* tetap namun pengenceran ristocetin bervariasi.

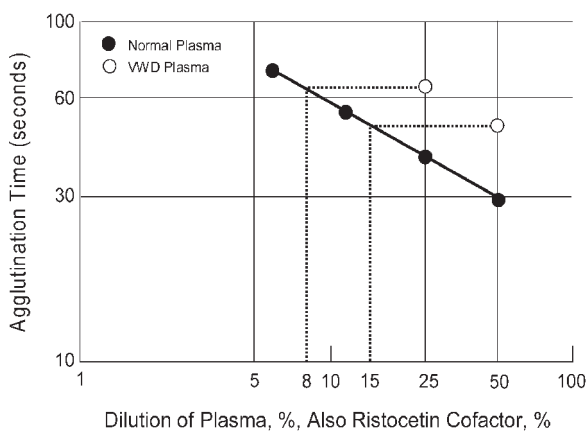


**Gambar 2.** Pemeriksaan yang melibatkan ristocetin

Pemeriksaan vWF:RCo dikerjakan dengan mencampur *formalin fixed normal platelets*<sup>4</sup> (dapat juga trombosit yang belum difiksasi)<sup>11</sup>, *platelet poor plasma* penderita yang diencerkan pada beberapa macam kadar dan ristocetin dengan kadar 1 mg/ml dalam sebuah agregometer.<sup>4</sup>

Terbentuknya aglutinat trombosit diukur berdasar peningkatan transmisi cahaya yang dibandingkan dengan *platelet poor plasma* normal.<sup>4</sup> Kurva standar diplot berdasarkan pengenceran plasma normal pada beberapa macam kadar. Pengenceran plasma dikaitkan dengan waktu terbentuknya aglutinat (Gambar 3).<sup>11,14</sup>

Pada vWD tipe 1 dengan struktur vWF normal, nilai vWF:RCo sebanding dengan vWF:Ag. Pada vWD tipe 2, nilai vWF:RCo tidak sebanding dengan



**Gambar 3.** Kurva standar pemeriksaan vWF:RCo<sup>11</sup>

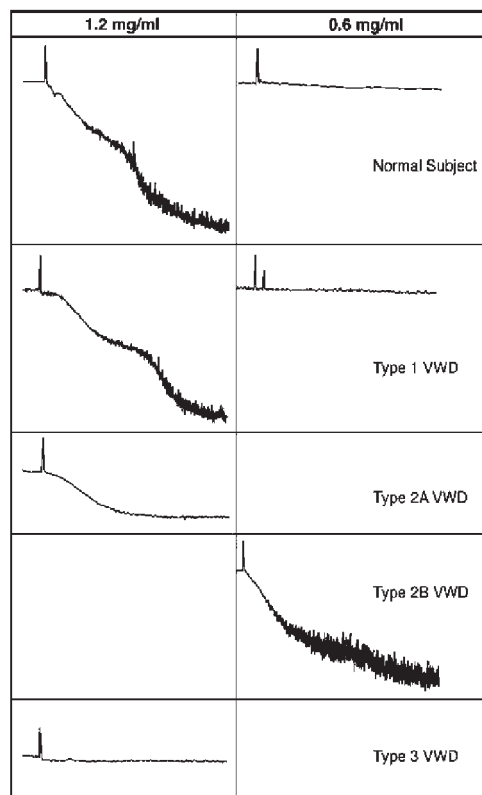
vWF:Ag.<sup>2</sup> Nilai vWF: RCo lebih rendah sehingga rasio vWF:RCo/Ag < 0,7.<sup>10</sup> Semua tipe vWD memiliki nilai vWF:RCo rendah kecuali tipe 2N, vWF:RCo dapat normal.<sup>11</sup>

Nilai vWF:RCo juga dipengaruhi golongan darah, seperti vWF:Ag.<sup>13</sup>

*Ristocetin-induced Platelet Aggregation (RIPA)*

Pemeriksaan yang memakai ristocetin selain vWF:RCo adalah RIPA. RIPA diukur dengan mencampur ristocetin pada beberapa kadar berbeda dan *fresh platelet rich plasma* penderita pada zagregometer.<sup>2,11</sup> Setidaknya dua atau tiga kadar ristocetin dipakai dengan rentang 0,5–1,5 mg/ml.<sup>1</sup> Hasil pemeriksaan dinyatakan dalam kadar ristocetin (mg/ml) yang mampu menginduksi 30% agregasi.<sup>2,4</sup> Kadar ristocetin lebih tinggi merangsang agregasi *platelet rich plasma* normal sedangkan pada kadar yang lebih rendah tidak. Penggunaan kadar lebih rendah dapat mengetahui respon yang berlebihan seperti pada vWD tipe 2B.<sup>11</sup>

Sebagian besar subtype vWD hiporesponsif terhadap ristocetin kecuali vWD tipe 2B karena afinitas vWF terhadap glikoprotein Ib trombosit lebih tinggi dari normal. Selain itu *platelet type pseudo-vWD* juga menunjukkan hiperresponsif terhadap ristocetin karena afinitas glikoprotein Ib trombosit terhadap vWF lebih tinggi dari normal.<sup>4</sup> vWD tipe



**Gambar 4.** Ristocetin induced platelet aggregation<sup>11</sup>

2B dan *platelet type pseudo-vWD* menunjukkan respon agregasi terhadap ristocetin  $\leq 0,6$  mg/ml (Gambar 4).

Gambar respon agregasi trombosit pada pemeriksaan RIPA dengan dua kadar ristocetin 1,2 dan 0,6 mg/ml. Penderita vWD tipe 1 dengan kadar FVIII dan vWF:RCo 10%.

Sampel normal menunjukkan agregasi trombosit pada kadar ristocetin  $\geq 1,0$  mg/ml.<sup>1</sup>

Derajat agregasi trombosit vWD tipe 1 dapat normal atau menurun,<sup>11</sup> tergantung kadar vWF.<sup>1</sup> vWD tipe 1 berat tidak menunjukkan agregasi pada kadar ristocetin  $\leq 1,0$  mg/ml dan mungkin terjadi agregasi ringan pada kadar ristocetin 1,5 mg/ml. vWD tipe 3 dan sindrom Bernard-Soulier (trombosit tidak mengandung reseptor GpIb) tidak menunjukkan agregasi trombosit pada semua kadar ristocetin.<sup>1</sup>

#### Factor VIII Binding Assay (vWF:VIII B)

vWF:VIII B menilai afinitas vWF terhadap FVIII dan berguna untuk diagnosis vWD tipe 2N.<sup>4</sup> Antibodi terhadap vWF yang melapisi sumuran *microtiter plate* akan mengikat vWF plasma penderita. vWF:Ag diukur dengan metode ELISA. Kemudian FVIII penderita di sumuran dicuci dengan *high ionic strength buffer* dan ditambahkan *excess* FVIII rekombinan (r-FVIII). Bagian yang tidak terikat dicuci dan jumlah r-FVIII yang terikat pada vWF residual diukur dengan pemeriksaan kromogenik. Rasio r-FVIII terhadap vWF:Ag dapat membedakan vWD tipe 2N dan hemofilia A ringan.<sup>4</sup> Penderita hemofilia A memiliki rasio normal sedangkan vWD tipe 2N memiliki rasio yang rendah ( $< 0,6$ ).<sup>1</sup>

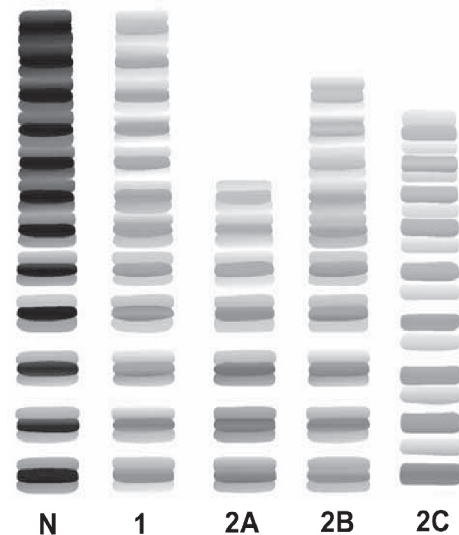
#### Analisis multimer vWF

Pemeriksaan ini bertujuan mendeteksi vWF berdasar BM dengan elektroforesis gel agarose.<sup>1</sup> vWF normal terdiri dari multimer kompleks dengan BM 800–20.000 kDa. Gel agarose resolusi rendah membagi multimer vWF menjadi multimer dengan BM tinggi (HMW), *intermediate* dan rendah (Gambar 5).<sup>2</sup>

Gel resolusi rendah dapat membedakan vWD tipe 1 dan tipe 2 berdasar ada/tidaknya multimer HMW.<sup>11</sup> Gel resolusi tinggi mengidentifikasi subtype vWD lebih baik.<sup>2</sup> Gel resolusi tinggi menunjukkan satu atau dua pita satelit pada sisi pita predomanan yang dibentuk oleh tiap ukuran multimer.<sup>11</sup> Gel resolusi tinggi dapat menunjukkan pola pita abnormal pada tipe vWD yang tidak umum seperti tipe 2C.<sup>11</sup>

Analisis multimer vWF pada individu normal didapatkan distribusi yang normal.<sup>13</sup>

Pada vWD tipe 1 didapatkan semua jenis multimer dengan kadar yang lebih rendah. Analisis multimer yang normal didapatkan pada vWD tipe 2M dan tipe 2N. Pada tipe 2A tidak didapatkan multimer HMW dan *intermediate*, sedangkan tipe 2B tidak didapatkan



**Gambar 5.** Distribusi multimer vWF pada beberapa tipe vWD. Multimer besar berada paling atas. Pita satelit yang samar berada di sekeliling tiap pita utama. vWD tipe 2C (“IIC”) sekarang diklasifikasikan dalam tipe 2A namun dipakai untuk contoh struktur pita multimer abnormal. Pita satelit muncul pada pertengahan di antara pita utama.<sup>11</sup>

multimer HMW. Untuk membedakan vWD tipe 2A dan tipe 2B dengan analisis multimer tidak selalu jelas, diperlukan pemeriksaan lanjutan yaitu RIPA.<sup>4</sup> Pada vWD tipe 3 tidak didapatkan multimer vWF.<sup>4</sup> Pemeriksaan ini dikerjakan oleh laboratorium rujukan saja karena rumit dan biaya yang besar.<sup>1</sup>

#### von Willebrand Collagen-binding Activity (vWF:CB)

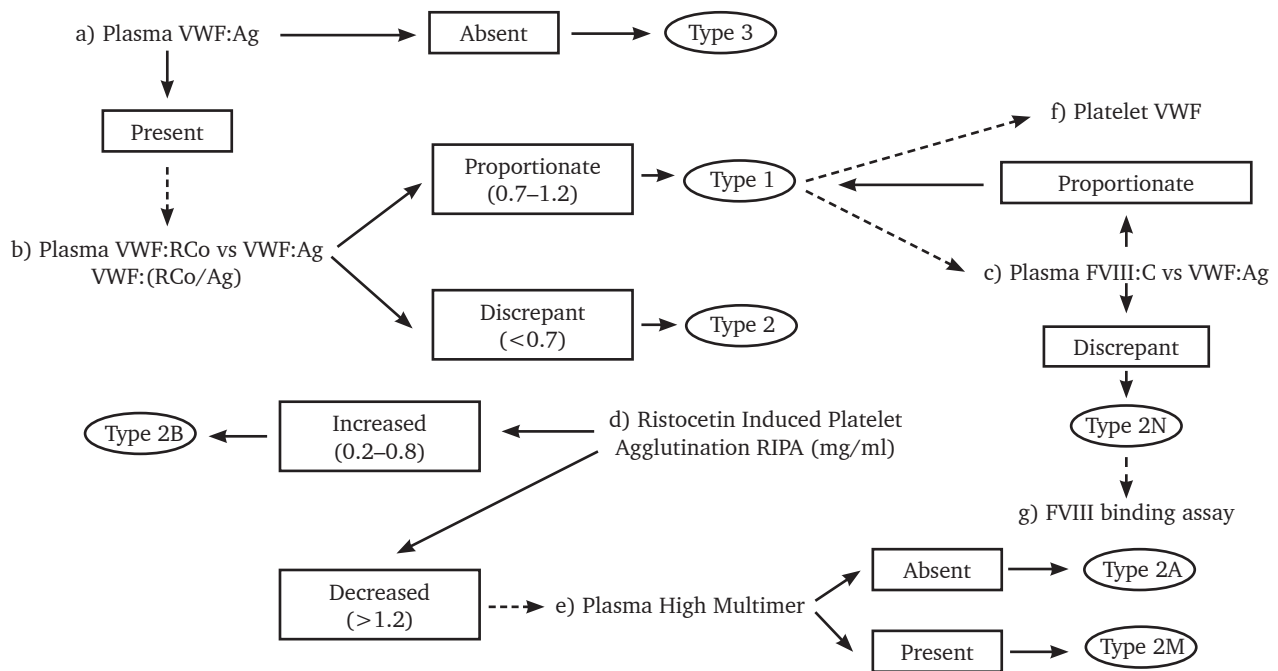
vWF:CB menggambarkan fungsi vWF yang lain yaitu kemampuan vWF terikat pada kolagen.<sup>11</sup> vWF:CB dapat dikerjakan dengan metode ELISA. Kolagen diletakkan dalam sumuran mikrotiter dan jumlah vWF yang terikat dihitung.<sup>1</sup>

Pemeriksaan ini dipakai di Australia dan Eropa, namun kurang luas dipakai di Amerika Serikat.<sup>11</sup> Pemeriksaan ini belum terstandardisasi dan belum disetujui oleh *International*.

#### Society of Thrombosis and Haemostasis.<sup>10</sup>

Pada semua tipe vWD didapatkan vWF:CB dan vWF:RCo yang rendah kecuali tipe 2M, vWF:CB tidak serendah vWF:RCo. Perbedaan ini dipakai untuk membantu diagnosis vWD subtype 2M terutama bila analisis multimer tidak tersedia.<sup>11</sup>

vWF:CB pada vWD tipe 2A dan tipe 2B sangat rendah karena tidak adanya HMW vWF sehingga vWF:CB dapat memperkirakan kadar vWF terutama bentuk HMW yang merupakan bentuk fungsional dan paling adesif.<sup>1</sup>



**Gambar 6.** Diagram alur diagnosis vWD<sup>2,10</sup>

**Tabel 6.** Klasifikasi vWD<sup>15</sup>

Subtype	Frequency	Genetic transmission	Clinical findings	FVIII:C <sup>a</sup>	VWF : Ag	VWF : Act	Multimers	DDAVP response
Type 1	70% of VWD	Autosomal dominant	Mild to moderate bleeding	Decreased	Decreased	Decreased	Normal distribution	+++ <sup>b</sup>
Type 2A	10-15% of VWD	Autosomal dominant	Mild to moderate bleeding	Decreased	Decreased	Decreased	High and intermediate multimers absent	±
Type 2B	<5% of VWD	Autosomal dominant	Mild to moderate bleeding	Variable decreased	Variable decreased	Enhanced RIPA	Absent large multimers	May be contraindicated
Type 2M	Rare	Autosomal dominant, missense mutation	Variable bleeding	Variable decreased	Variable decreased	Variable decreased	Large and intermediate multimers present	-
Type 2N	Uncommon	Autosomal dominant, missense mutation	Variable bleeding	↓↓ <sup>c</sup> VIII:C	Variable	Variable	Normal	-
Type 3	Rare	Gene deletion, nonsense mutation, autosomal recessive	Severe bleeding	Markedly decreased ↓↓↓	Markedly decreased ↓↓↓	Markedly decreased ↓↓↓	Absent	No response

a. FVIII:C, factor VIII activity; VWF:Ag, von Willebrand factor antigen; VWF:Act, von willebrand factor activity; RIPA, ristocetin-induced platelet aggregation.

b. + + +, excellent response to DDAVP; ±, unpredictable response to DDAVP; -, no response to DDAVP.

c. ↓ ↓, moderate decrease of factor VIII activity; ↓ ↓ ↓, marked decrease of factor VIII activity.

### *Pendekatan dalam Investigasi vWD*

Penilaian vWD memperhatikan tiga komponen klinik dan laboratorium:<sup>1</sup> 1) riwayat perdarahan mukokutaneus, 2) riwayat keluarga dengan perdarahan, 3) evaluasi laboratorium yang sesuai dengan kelainan vWF.

Pada penderita dengan kecenderungan perdarahan mukosa sebaiknya dinilai juga riwayat perdarahan pribadi dan keluarga, riwayat pengobatan, umur, golongan darah, jenis kelamin (pada wanita dinilai perdarahan berlebihan selama menstruasi, anemia defisiensi besi, terapi estrogen).<sup>1</sup>

Bila dicurigai kemungkinan vWD perlu pemeriksaan awal APTT, (PFA-100 opsional) dan hitung trombosit serta pemeriksaan yang penting untuk diagnosis vWD yaitu vWF:Ag, vWF:RCo dan FVIII:C.<sup>1</sup>

Bila hasil pemeriksaan normal dan gejala klinik tidak jelas, tidak perlu pemeriksaan lebih lanjut. Bila gejala klinik jelas dan atau hasil pemeriksaan awal abnormal maka perlu pemeriksaan lebih lanjut yaitu RIPA dan atau analisis multimer vWF dan atau vWF:FVIIIIB.<sup>1</sup>

Diagram alur panduan diagnosis vWD (Gambar 6) dapat dipakai untuk membantu diagnosis subtype vWD,<sup>2,10</sup> sedangkan klasifikasi tiap tipe vWD dijelaskan pada Tabel 6.

### **SIMPULAN**

vWD merupakan kelainan perdarahan yang diwariskan secara otosomal, disebabkan oleh karena defisiensi vWF (tipe 1 dan tipe 3) atau disfungsi vWF (tipe 2). vWD tipe 2 lebih lanjut diklasifikasi menjadi empat subtype yaitu 2A, 2B, 2M dan 2N.

Diagnosis vWD dibuat berdasar riwayat perdarahan pribadi atau keluarga dan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium penyaring vWD meliputi hitung trombosit, waktu perdarahan dan APTT. Pemeriksaan laboratorium spesifik untuk vWD meliputi vWF:Ag, vWF:RCo dan FVIII:C. RIPA dan analisis multimer vWF merupakan pemeriksaan tambahan untuk mengklasifikasi subtype vWD.

### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Biner B. von Willebrand factor and von Willebrand disease. *Haema* 2005; 8(3): 405–418.
2. Castaman G, Federici AB, Rodeghiero F, Mannucci PM. von Willebrand's disease in the year 2003: towards the complete identification of gene defects for correct diagnosis and treatment. *Haematologica* 2003; 88: 94–108.
3. 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: 520–525.
4. Hambleton J. Diagnosis and incidence of inherited von Willebrand disease. *Curr Opin Hematol* 2001; 8: 306–311.
5. Kaufmann JE, Oksche A, Wollheim CB. Vasopresin-induced von Willebrand factor secretion from endothelial cells involves V2 receptors and cAMP. *J Clin Invest* 2000; 106: 107–116.
6. Ruggeri ZM, Dent JA, Saldivar E. Contribution of Distinct Adhesive Interactions to Platelet Aggregation in Flowing Blood. *Blood* 1999; 94: 172–178.
7. Federici AB. Clinical diagnosis of von Willebrand disease. *Hemophilia* 2004; 10 (suppl.4):169–176.
8. Fressinaud E, Veyradier A, Truchard F. Screening for von Willebrand Disease with a New Analyzer Using High Shear Stress: a study of 60 cases. *Blood* 1998; 91: 1325–1331.
9. Fischbach F, Dunning MB. *A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004; 134,141.
10. Federici AB, Castaman G, Mannucci PM. Guidelines for The Diagnosis and Management of von Willebrand Disease in Italy. *Haemophilia*, 2002; 8: 607–621.
11. Kasper CK. von Willebrand disease: An Introductory Discussion for Young physicians; 2005. Available from: <http://www.ckasper@laoh.ucla.edu>. (accessed Oct 7, 2005)
12. Chanarin I. Investigation of a Prolonged Activated Partial Thromboplastin time. In: *Laboratory Haematology: An Account of Laboratory Techniques*. 1<sup>st</sup> ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1991; 293–6.
13. Desai SP, Pratt SI. Laboratory ranges hematology and coagulation. In: *Clinician's Guide to Laboratory Medicine: A Practical Approach*. Hudson. Lexi-Comp Inc, 2000; 672–3.
14. Dacie JV, Lewis SM. Investigation of A Bleeding Tendency. In: *Practical Haematology*. 8<sup>th</sup> ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1996; 317–350.
15. Triplett DA. Coagulation and bleeding disorders: Review and update. *Clinical Chemistry* 2000; 46: 1260–1269.