

ADAMTS13 – aktör och markör vid trombotisk mikroangiopati



JENS PETER GØTZE, med dr, afdelingsläge, klinisk biokemisk afdeling, Rigshospitalet, Köpenhamn, Danmark
ANDERS LINDBLOM, med dr, överläkare, hematologi–koagulationssektionen, medicinkliniken, Universitetssjukhuset MAS, Malmö
PETER BJÖRK, med dr, specialistläkare, hemoimmunoterapi, kliniken för njurmedicin och transplantation, Universitetssjukhuset MAS, Malmö
LARS BO NIELSEN, professor,

overlæge, klinisk biokemisk afdeling, Rigshospitalet, Köpenhamn, Danmark
KARIN STRANDBERG, med dr, specialistläkare, Klinisk kemi, Universitetssjukhuset MAS, Malmö
MINOLA MANEA, med dr, avdelning för pediatrik, Lunds universitet; Universitetssjukhuset i Lund
ANDREAS HILLARP, docent, 1:e sjukhuskemist, Klinisk kemi, Universitetssjukhuset MAS, Malmö andreas.hillarp@med.lu.se

Begreppet trombotisk mikroangiopati innefattar tillstånd med hemolytiskt uremiskt syndrom (HUS) och trombotisk trombocytopen purpura (TTP), som karakteriseras av mikrovaskulär trombotisering orsakad av trombocytrika koagler. För klassifikation, kliniska symtom och patogenes samt behandling hänvisas till en översiktsartikel på sidan 1096 i detta nummer av Läkartidningen.

Trombotisk mikroangiopati och ADAMTS13

Vid TTP bildas mikrotromboser som innehåller stora mängder av glukoproteinet von Willebrand-faktorn (VWF), som spelar en central roll för trombocytens adhesion under den primära hemostasen. VWF utsöndras från endotelceller i stora, multi-mera former sammanbundna med disulfidbryggor. Vid TTP är VWF inte enzymatiskt spjälkad till mindre former. Eftersom de stora multimererna binder trombocyter i högre grad än de mindre, leder detta till ackumulation av trombocyttaggregat och trombotisering i mikrovaskulaturen.

Att patienter med TTP ofta uppvisar onormalt stora multimerer av VWF har varit känt sedan 1980-talet, men det är först under senare år som det klarlagts att detta orsakas av bristtillstånd på ett enzym som klyver VWF [1, 2] (Figur 1). Enzymet är den 13:e medlemmen av en större familj metalloproteinaser kallad ADAMTS, vilket är en förkortning av »a disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type-1 motif«, och har därmed fått namnet ADAMTS13.

Efter denna upptäckt har olika undersökningar visat att de allra flesta patienterna med TTP har svår brist (<5 procent) av ADAMTS13 [1, 2]. Nedsatt ADAMTS13-aktivitet kan antingen orsakas av genetiska defekter (också kallat Upshaw-Schulman-syndrom) eller inaktivering av ADAMTS13 orsakad av autoantikroppar.

ADAMTS13-genen är lokaliserad till kromosom 9q34 och består av 29 exoner som kodar för ett 1 427 aminosyror stort protein med en teoretisk massa på 145 kDa. Den observerade molekylvikten är dock 190 kDa, vilket avspeglar posttranslational glykosylering av proteinet. ADAMTS13 syntetiseras som ett proprotein med multidomän struktur (Figur 1). Funktionen av de olika domänerna är inte fullständigt klarlagd, men flera

»Efter denna upptäckt har olika undersökningar visat att de allra flesta patienterna med TTP har svår brist (<5 procent) av ADAMTS13 ...«

domäner har betydelse för enzymatisk aktivitet och interaktioner med VWF och andra proteiner på endotelet och i extracellulära matrix [1, 2].

Det finns ett drygt 70-tal olika mutationer i ADAMTS13-genen beskrivna hos patienter med ärftlig form av TTP, och de flesta mutationer som har undersökts experimentellt medför nedsatt frisättning av enzymet till blodbanan [1]. Sjukdomen är recessivt nedärvd, och vid svår ADAMTS13-brist uppvisar probanden alltid mutationer i båda allelerna, antingen som en kombination av två olika mutationer (sammansatt heterozygot) eller som homozygoti för en och samma mutation [1, 2]. Heterozygota bärare är asymtomatiska. Det finns ingen tydlig korrelation mellan genotyp och fenotyp i den mån att det inte finns belägg för att vissa mutationer ger upphov till svårare klinisk bild eller tidigare symtomdebut etc.

Det är omdiskuterat om total brist på ADAMTS13 är förenlig med liv eller inte. Att patienter med deletioner i båda allelerna ännu inte beskrivits talar för att total brist på enzymet skulle vara letal. Detta motsägs dock av att en genmanipulerad musmodell som helt saknar ADAMTS13 lever utan nämnvärda sjukdomssymtom [4]. Musen har som förväntat stora VWF-multimerer i plasma men utvecklar inte spontant TTP. Detta är i överensstämmelse med att TTP uppträder intermittent och även kan debutera sent hos patienter med medfödd ADAMTS13-brist [5].

Ärftlig eller förvärvad TTP

Ärftligt betingad TTP har hittills betraktats som en mycket sällsynt sjukdom, men det finns anledning att tro att prevalensen är underskattad med tanke på att det hittills saknats biokemiska metoder för att mäta ADAMTS13. Genetiska undersökningar har visat att vissa mutationer kan ha ett gemensamt ursprung och därmed vara vanligare i vissa delar av världen. En sådan »founder« finns beskriven i norra och centrala delarna

SAMMANFATTAT

Olika former av trombotisk mikroangiopati är svåra att särskilja, men med upptäckten av enzymet ADAMTS13 som aktör i samband med trombotisk trombocytopen purpura (TTP) har nya möjligheter inom området öppnats.
ADAMTS13 reglerar storleken av von Willebrand-faktorn (VWF) i plasma. Brist på ADAMTS13 leder till ökad andel av högmolekylära former

av VWF med ökad trombocyt-aggregerande förmåga och risk för TTP.

Nya analysmetoder för ADAMTS13 medför ökade möjligheter att ställa korrekt diagnos vid misstanke om trombotiska mikroangiopatier. **Från** behandlingssynpunkt kan det vara viktigt att särskilja nedsatt aktivitet som är genetiskt orsakad från autoantikroppar mot ADAMTS13.

TABELL I. Mätprinciper för direkt eller indirekt bestämning av ADAMTS13 och autoantikroppar mot ADAMTS13. Tabellen är modifierad efter Manea och medarbetare [3]; för referenser till specifika mätmetoder som beskrivs i tabellen hänvisas till denna referens.

Metod	Mätprincip, kommentar
<i>Metoder för bestämning av ADAMTS13</i>	
Analys av VWF-multimerstruktur	Bestämning av ADAMTS13-aktivitet genom att följa nedbrytningen av högmolekylärt VWF
Immunologisk detektion av VWF-fragment	Bestämning av ADAMTS13-aktivitet genom immunologisk detektion av specifika VWF-fragment som bildas efter klyvning med ADAMTS13
<i>Immunologisk detektion av ADAMTS13</i>	
Analys i flödeskammare	Direkt detektion av ADAMTS13-antigenkoncentration med specifika antikroppar
<i>Metoder baserade på syntetiska substrat</i>	
Indirekta metoder	Direkt bestämning av enzymatisk aktivitet av ADAMTS13 genom att följa fluorescens- eller färgutveckling som bildas när ett syntetiskt substrat klyvs
	Bestämning av VWF-aktiviteten genom att mäta bildning av trombocyttaggregat (ristocetin-kofaktor-aktivitet) eller bindning till kollagen. VWF-aktiviteten är beroende av multimerstorlek och är därför lägre ju högre ADAMTS13-aktivitet det finns i provet
<i>Metoder för bestämning av ADAMTS13-autoantikroppar</i>	
Neutralisationsförsök	Patientplasma blandas med normal plasma i olika spädningar. Om aktiviteten blir lägre än förväntat indikerar det närvaro av antikroppar. Både direkta och indirekta metoder för bestämning av restaktiviteten kan användas
Immunologisk detektion	Direkt bestämning av antikroppar riktade mot ADAMTS13. Fångar även upp icke-neutraliserande antikroppar. Testen kan göras isotyps specifika

av Europa [6]. Eftersom flera familjer i samma region har hittats med samma mutation, utan tydliga tecken på närmare släktskap, är det troligt att det finns fler homozygota bärare som ännu inte blivit diagnostiserade.

En förvärvad variant av TTP ses hos patienter som utvecklat autoantikroppar mot ADAMTS13. Komplexbildning mellan ADAMTS13 och antikroppar leder ofta till neutralisering av enzymets aktivitet och ökad clearance från plasma, vilket ger samma kliniska bild som vid ärftliga bristtillstånd. Mekanismen bakom förvärvad TTP med antikropsutveckling är oklar men kan vara idiopatisk eller sekundär till annan autoimmun sjukdom eller läkemedlen tiklopidin och klopidogrel [1, 2, 7, 8].

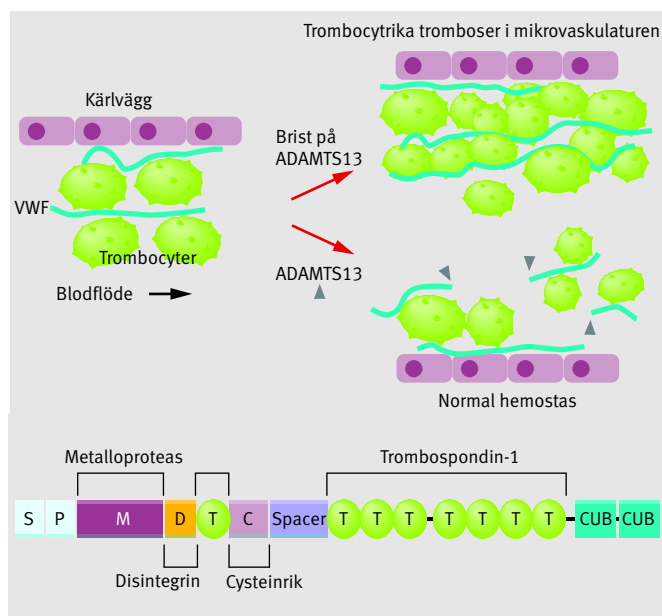
Det finns rapporter som hävdar att förvärvad TTP är betydligt vanligare än ärftlig ADAMTS13-brist. Olikheter i inklusionskriterier mellan studier gör det dock svårt att säkerställa prevalensen av autoantikroppar mot ADAMTS13. I de fall där epitopen för autoantikropparna har identifierats finns den all-

tid lokaliserad till den s k spacerdomänen, men nästan alla patienter uppvisar reaktivitet även mot andra delar av ADAMTS13-proteinet [9].

Fram till relativt nyligen har markörer saknats som kan skilja på olika typer av trombotisk mikroangiopati och fastlägga om orsaken är av ärftlig eller förvärvad natur. Bilden har nu ändrats efter observationen att ADAMTS13 saknas vid TTP. Detta har lett till en förklaringsmodell för TTP men även givit tillgång till nya laboratorietest som kan påvisa sjukdomen.

Mätmetoder för ADAMTS13

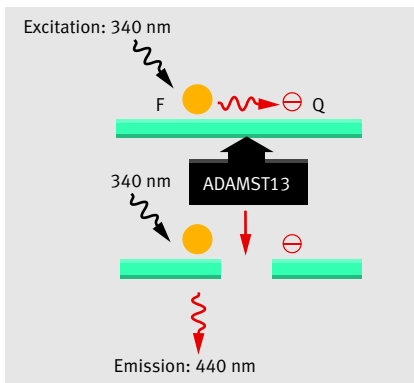
Det finns flera olika metoder för att mäta ADAMTS13 i plasma (Tabell I). Masskoncentrationen kan bestämmas immunologiskt med kommersiella testsystem, men hittills har det varit svårare att bestämma ADAMTS13-aktiviteten i plasma på ett enhetligt sätt. Många egentillverkade testsystem har beskrivits



Figur 1. Schematisk illustration av ADAMTS13 och von Willebrand-faktor i mikrocirkulationen.

Övre bilden: ADAMTS13 spjälkar högmolekylära multimerer av nybildad von Willebrand-faktor till mindre former med reducerad förmåga att binda trombocyter. Vid brist på ADAMTS13 ses ökad andel stora multimerer i cirkulationen med ökad risk för bildande av trombocyttaggregat och trombor i mikrovaskulaturen (modifierad från Sadler [7]).

Undre bilden: ADAMTS13-proteinets multidomäna struktur. Med start i den aminoterminala änden återfinns en signalpeptid (S), en propeptid (P), en metalloproteinasdomän (M), en disintegrindomän (D), totalt 8 trombospondin typ-1-domäner, en domän rik på cystein (C), en domän kallad spacer och avslutningsvis två CUB-domäner [1, 2]. Majoriteten av de mutationer som orsakar TTP och som resulterar i förändrad primärstruktur återfinns i metalloproteinas- och spacerdomänerna. I de fall man bestämt epitopen för autoantikroppar mot ADAMTS13 har alla patienter uppvisat antikropsreaktivitet mot spacerdomänen, men de flesta har också autoantikroppar mot andra regioner av proteinet.



Figur 2. Analysprincip för direkt bestämning av ADAMTS13-aktivitet med det fluorescerande substratet FRET-S-VWF73. Den 73 aminosyror långa peptiden innehåller en fluorescerande grupp (F) som vid excitation vid 340 nm våglängd kan emittera ett fluorescerande ljus av 440 nm. I det oklurna substratet finns en »quencher« (Q) som tar upp den fluorescerande energin. Vid spjälkning av substratet separeras de två grupperna från varandra, och den fluorescerande gruppen kan då emittera ljus som fångas upp med en detektor. Ju mer ljus som fångas upp, desto högre ADAMTS13-aktivitet.

vanligtvis som ristocetin-kofaktor-aktivitet eller kollagenbindande kapacitet, efter blandning med patientplasma. Eftersom ADAMTS13 bryter ned de högmolekylära formerna av VWF, reduceras också dess aktivitet.

Gemensamt för alla dessa varianter är att de är komplexa och tar lång tid att utföra, ofta upp till 2 dagar, och de passar därför dåligt i klinisk rutindiagnostik.

Det har dock nyligen utvecklats snabbare metoder som bygger på syntetiskt framställda fragment av VWF som specifikt klyvs av ADAMTS13 [12, 13]. En kommersiellt tillgänglig variant baseras på ett 73 aminosyror långt fragment av VWF som går under beteckningen »FRET-S-VWF73«. Fragmentet är kemiskt modifierat med en fluorescerande grupp och en grupp som fångar upp och släcker ut fluorescensen (Figur 2). Mellan de båda grupperna finns ett klyvningsställe för ADAMTS13, och när substratet klyvs separeras grupperna, och fluorescensen kan därmed undgå utsläckning och i stället fångas upp av en detektor. Fördelar med denna teknik är den höga specificiteten för ADAMTS13 och att testet går att utföra på en dryg timme, vilket gör det bättre anpassat för kliniskt bruk.

Metoden registrerar ADAMTS13-brist oavsett om den primärt orsakas av genetiska defekter eller förekomst av autoantikroppar. Den samlade erfarenheten av FRET-S-VWF73 är ännu så länge begränsad, men de utvärderingar som finns tyder på god samstämmighet med andra metoder [14]. Det är dock viktigt att komma ihåg att metoder som bygger på mindre, syntetiska substrat kan medföra svagheter jämfört med metoder som baseras på hela VWF-molekylen, eftersom den komplexa interaktionen mellan ADAMTS13 och VWF inte återspeglas i ett test som enbart mäter den enzymatiska funktionen. Det är teoretiskt möjligt att mutationer i ADAMTS13, som påverkar denna interaktion, skulle kunna missas med ett test som baseras på mindre substrat. Om detta verkligen är fallet får framtida undersökningar utvisa.

Testen går också att använda för att analysera neutraliseran-

de i litteraturen [3, 10, 11]. De flesta aktivitetsmetoder bygger på direkt eller indirekt analys genom spjälkning av det naturliga substratet VWF.

Vid de direkta metoderna blandas patientplasma (källa för ADAMTS13) med VWF av känd koncentration, och efter tillräckligt lång inkubationstid analyseras hur mycket VWF som brutits ned, antingen genom att elektroforetiskt studera det multimeramönstret eller genom att studera specifikt bildade fragment av VWF med hjälp av antikroppar.

För indirekta metoder analyseras i stället den resterande VWF-aktiviteten,

de antikroppar med samma metodik som används för att påvisa antikroppar mot olika koagulationsfaktorer, t ex vid förvärvad hemofili. Det innebär att patientplasma blandas med normalplasma, och efter 1 timmes inkubation mäts den hämmande effekten genom att bestämma aktiviteten i reaktionsblandningen. En hämningsgrad som resulterar i 50 procents restaktivitet motsvarar en antikroppstiter på 1 kE/l. Vid högre titrar späds patientplasma innan den blandas med normalplasma, varefter den beräknade titern multipliceras med spädningsfaktorn.

Alternativt kan man använda immunologiska test, s k ELISA-teknik (enzyme-linked immunosorbent assay), för att påvisa autoantikroppar. I sådana test binder man upp ADAMTS13 till plasten i brunnarna på mikrotiterplattor. Efter tillsats av prov kan eventuella antikroppar i brunnarna detekteras med antihumana antikroppar. Det är viktigt att komma ihåg att en immunologisk metod inte tar hänsyn till om antikropparna är neutraliserande eller inte. I allmänhet kan inte en beräknad antikroppstiter från ett testsystem jämföras med ett annat.

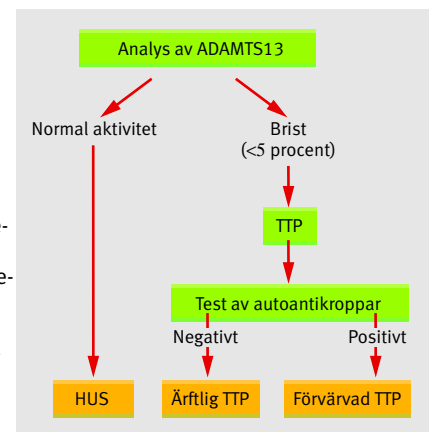
Klinisk betydelse av ADAMTS13-analys

I flera studier med patienter som drabbats av trombotisk mikroangiopati har det entydigt visats att svår ADAMTS13-brist är specifik för TTP. Sensitiviteten är dock inte fastställd. Förekomst av svår ADAMTS13-brist vid TTP varierar mellan 33 och 100 procent i olika studier [1, 2, 7]. Orsaker till variationen kan troligen hänföras till olikheter i kriterier för patienturval och metoder för att bestämma ADAMTS13.

De samlade erfarenheterna av att bestämma ADAMTS13 är dock än så länge små, och tillgängliga referensintervall bygger oftast på friska, vuxna individer. Det är dock klart att ADAMTS13-brist är sällsynt vid HUS, vilket gör det möjligt att använda testet för att differentiera TTP från HUS, enligt algoritm som föreslås i Figur 3. Testet gör det också möjligt att skilja på ärftliga och förvärvade former av TTP.

Den prognostiska betydelsen av ADAMTS13-bestämning är ännu så länge ett utforskat område, och erfarenheterna bygger på relativt få patienter. Genomgång av det mest omfattande patientregistret, med över 300 patienter med TTP (The Oklahoma TTP-HUS Registry), har dock visat att patienter med svår ADAMTS13-brist löper större risk för recidiv än patienter med högre ADAMTS13-aktivitet vid diagnostillfället [7]. Det finns också rapporter om att svår ADAMTS13-brist med närvaro av anti-ADAMTS13-autoantikroppar är en negativ prognostisk markör med ökad risk för sjukdomsrecidiv och för tidig död [7].

Sänkt ADAMTS13-aktivitet har rapporterats i samband med



Figur 3. Förslag till differentialdiagnostisk användning av ADAMTS13-analysen vid tillstånd med trombotisk mikroangiopati. För en mer detaljerad utredningsgång för patienter som debuterar med tecken på trombotisk mikroangiopati hänvisas till översiktsartikeln i ämnet på sidan 1096 i detta nummer av Läkartidningen.

flera fysiologiska och patologiska tillstånd; dock är ADAMTS13-aktiviteten vid dessa tillstånd endast lätt till måttligt sänkt jämfört med TTP som associeras med svår ADAMTS13-brist [15]. Exempelvis är ADAMTS13-aktiviteten något sänkt hos nyfödda och prematura barn, äldre (>65 år) och hos gravida i 3:e trimestern [16-18]. Sänkt ADAMTS13-aktivitet har också observerats vid flera patologiska tillstånd såsom uremi, SLE (systemisk lupus erythematosus), levercirros, DIC (disseminerad intravasal koagulation), inflammatoriska och postoperativa tillstånd samt HUS [15, 16, 19, 20].

De patofysiologiska mekanismerna bakom den sänkta ADAMTS13-aktiviteten vid dessa tillstånd är inte helt klarlagda, men troligtvis spelar flera faktorer in. VWF är en akutfasreaktant, och en ökning av dess koncentration i plasma leder till minskad ADAMTS13-aktivitet, troligtvis på grund av konsumtion [16].

Sydsvenska och östdanska erfarenheter

På den kliniska biokemiska avdelningen på Rigshospitalet i Köpenhamn och vid Klinisk kemi på Universitetssjukhuset MAS i Malmö har aktivitetsmetoden som baseras på det fluoriserande substratet FRET5-VWF73 satts upp och utprovats. Vi har funnit att analysen är väl anpassad till kliniskt rutinbruk med en låg detektionsnivå (4 procent). Reproducerbarheten, skattad genom beräkning av variationskoefficienten (CV), mellan analysserier har i våra händer beräknats till 5 procent i normalområdet och 18 procent i den lägsta delen av mätområdet.

Vid direkt jämförelse av analysresultaten mellan laboratorerna i Malmö och Köpenhamn finner vi god samstämmighet, men de samlade erfarenheterna är dock ännu begränsade. Samkörningen omfattar ett 30-tal prov från 20 patienter. För att fastställa TTP med ADAMTS13-brist har vi krävt en enzymaktivitet <5 procent, och 4 patienter har hittills konstaterats ha svår ADAMTS13-brist. Neutraliserande autoantikroppar mot

ADAMTS13 kunde påvisas hos 1 av patienterna med svår brist.

Vi har hittills analyserat prov från 20 patienter/släktingar. Totalt 8 analyser är utförda i anslutning till akut klinisk situation och 12 analyser som uppföljning efter TTP eller som del i släktutredning till patient med ADAMTS13-brist. I 1 av de 8 akuta fallen var enzymaktiviteten <5 procent, vilket var klart vägledande för diagnos då symtomatologin inte klart talade för TTP. Frånvaro av autoantikroppar kompletterat med släktutredning har sedan påvisat ärftlig ADAMTS13-brist. I de övriga 7 akuta fallen var enzymaktiviteten mellan 26 och 102 procent, vilket innebar att TTP kunde uteslutas som differentiladiagnos.

Vid uppföljning av patienter med genomgången TTP har vi kunnat konstatera enzymaktivitet <5 procent i 2 fall. I 1 av fallen har det förelegat recidiv av TTP, och med konstaterad enzymbrist har terapeutisk plasmasubstitution inletts. Vid uppföljning av 2 andra fall av TTP har normal enzymaktivitet konstaterats, vilket har gjort att terapeutisk plasmasubstitution inte har behövt övervägas. En patient som följts upp efter att ha drabbats av HELLP i samband med förlossning har visat sig ha ärftlig ADAMTS13-brist med enzymaktivitet <5 procent utan närvaro av autoantikroppar. Vid andra frågeställningar, såsom upprepade spontanaborter och upprepade djupa ventromboser med trombocytopeni, har ADAMTS13-brist som orsak kunnat uteslutas.

Uppföljning av 5 släktingar till patienter med ADAMTS 13-brist har visat enzymaktivitet kring 50 eller 100 procent, vilket indikerar förekomst av en skadad gen alternativt ingen skadad gen.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

Kommentera denna artikel på www.lakartidningen.se

REFERENSER

- Lämmle B, Kremer Hovinga JA, Alberio L. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost.* 2005;3:1663-75.
- Tsai HM. Current concepts in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Annu Rev Med.* 2006;57:419-36.
- Manea M, Kristofferson AC, Tsai HM, Zhou W, Winqvist I, Oldaeus G, et al. ADAMTS13 phenotype in plasma from individuals and patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Eur J Pediatr.* 2007;166:249-57.
- Banno F, Kokame K, Okuda T, Honda S, Miyata S, Kato H, et al. Complete deficiency in ADAMTS13 is prothrombotic, but it alone is not sufficient to cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2006;107:3161-6.
- Furlan M, Lämmle B. Aetiology and pathogenesis of thrombotic thrombocytopenic purpura and haemolytic uremic syndrome: the role of von Willebrand factor-cleaving protease. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2001;14:437-54.
- Schneppenheimer R, Kremer Hovinga JA, Becker T, Budde U, Karpman D, et al. A common origin of the 4143insA ADAMTS13 mutation. *Thromb Haemost.* 2006;96:3-6.
- Sadler JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura: a moving target. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006;415-20.
- Bennett CL, Connors JM, Carwile JM, Moake JL, Bell WR, Tarantolo SR, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with clopidogrel. *N Engl J Med.* 2000;342:1773-7.
- Luken BM, Turenhout EAM, Hulstein JJJ, Van Mourik JA, Fijnheer R, Voorberg J. The spacer domain of ADAMTS13 contains a major binding site for antibodies in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost.* 2005;93:267-74.
- Tripodi A, Chantarangkul V, Böhm M, Budde U, Dong JF, Friedman KD, et al. Measurement of von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13): results of an international collaborative study involving 11 methods testing for the same set of coded plasmas. *J Thromb Haemost.* 2004;2:1601-9.
- Miyata T, Kokame K, Banno F. Measurement of ADAMTS13 activity and inhibitors. *Curr Opin Hematol.* 2005;12:384-9.
- Kokame K, Nobe J, Kokubo Y, Okayama A, Miyata T. FRET5-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay. *Br J Haematol.* 2005;129:93-100.
- Wu JJ, Fujikawa K, Lian EC, McMullen BA, Kulman JD, Chung DW. A rapid enzyme-linked assay for ADAMTS13. *J Thromb Haemost.* 2005;3:1-8.
- Groot E, Hulstein JJJ, Rison CN, De Groot PG, Fijnheer R. FRET5-VWF73: a rapid and predictive tool for thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost.* 2006;4:698-9.
- Bianchi V, Robles R, Alberio L, Furlan M, Lämmle B. von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in thrombocytopenic disorders: a severely deficient activity is specific for thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2002;100:710-3.
- Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, Lussana F, Lattuada A, Rossi E. Changes in health and disease of the metalloprotease that cleaves von Willebrand factor. *Blood.* 2002;98:2730-5.
- Schmugge M, Dunn MS, Amankwah KS, Blanchette VS, Freedman J, Rand ML. The activity of the von Willebrand factor cleaving protease ADAMTS-13 in newborn infants. *J Thromb Haemost.* 2004;2:228-33.
- Hellström-Westas L, Ley D, Berg AC, Kristofferson AC, Holmberg L. VWF-cleaving protease (ADAMTS13) in premature infants. *Acta Paediatr.* 2005;94:205-10.
- Moore JC, Hayward CPM, Warkentin TE, Kelton JG. Decreased von Willebrand factor protease activity associated with thrombocytopenic disorders. *Blood.* 2001;98:1842-6.
- Feys HB, Canciani MT, Peyvandi F, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K, Mannucci PM. ADAMTS13 activity to antigen ratio in physiological conditions associated with an increased risk of thrombosis. *Br J Haematol.* 2007;138:534-40.