

ARTÍCULO ORIGINAL

Utilidad de la medición de actividad de ADAMTS13 a propósito de un caso de púrpura trombocitopénica trombótica en pediatría

Usefulness of the measurement of ADAMTS13 activity regarding a case of thrombotic thrombocytopenic purpura in a pediatric patient

Marcone, María Inés^{1*}; Colitto, Laura¹; Ottobre, Macarena¹; Nosetti, Agustina¹; Osta Viviana¹

¹División Laboratorio Central, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Marcone, María Inés. Sección Hemocitología, División Laboratorio Central, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez; inesmarcoone2016@gmail.com

Resumen

Introducción: La púrpura trombocitopénica trombótica está relacionada con la deficiencia de la metaloproteasa ADAMTS13. Si bien su incidencia en pediatría es baja, constituye una urgencia hematológica. Se encuentra incluida dentro de las microangiopatías trombóticas, síndromes caracterizados por la presencia de anemia hemolítica microangiopática con presencia de esquistocitos, trombocitopenia por consumo y daño orgánico. La deficiencia funcional severa de ADAMTS13 resulta en la acumulación de multímeros ultralargos del factor von Willebrand, de características protrombóticas. **Paciente y métodos:** Se presenta el caso de una paciente de 15 años de edad, previamente sana, que consulta por síntomas neurológicos, vómitos y cansancio. Sus antecedentes clínicos no incluían desórdenes hematológicos. Se detectó una marcada anemia con presencia de esquistocitos, compatible con una anemia hemolítica microangiopática. Las pruebas de coagulación fueron normales. Los estudios serológicos virales y cultivos bacteriológicos fueron negativos. Debido a la presencia de síntomas neurológicos, función renal conservada, plaquetopenia y presencia de esquistocitos, se sospechó una púrpura trombocitopénica trombótica. Se solicitó dosaje de ADAMTS13 y luego, comenzó el tratamiento. La actividad de ADAMTS13 resultó menor de 10 UI/dl, y el estudio de la presencia de inhibidor, positivo para anticuerpos de isotipo IgG. Esto permitió confirmar el diagnóstico de púrpura trombocitopénica trombótica inmune. **Conclusión:** La sospecha clínica de una púrpura trombocitopénica trombótica en pacientes pediátricos y la medida de actividad de ADAMTS13 son fundamentales para intentar establecer la etiología de las microangiopatías trombóticas e instaurar un tratamiento eficaz y oportuno. El retraso en el tratamiento podría resultar en un mayor daño orgánico y aumento de la mortalidad.

Palabras clave: ADAMTS13, púrpura trombocitopénica trombótica, microangiopatía trombótica, multímeros ultralargos de factor von Willebrand.

Abstract

Introduction: Thrombotic thrombocytopenic purpura is related to ADAMTS13 metalloprotease deficiency. Although its incidence in pediatric patients is low, it constitutes a hematological emergency. Thrombotic microangiopathies include syndromes characterized by the presence of microangiopathic hemolytic anemia with the presence of schistocytes, thrombocytopenia from consumption, and organ damage. Severe functional deficiency of ADAMTS13 results in the accumulation of ultra-large multimers of von Willebrand factor with prothrombotic features. **Patient and methods:** The case of a previously healthy 15-year-old patient who consulted for neurological symptoms, vomiting, and fatigue is presented. Her clinical history did not show hematological abnormalities. Marked anemia with the presence of schistocytes compatible with microangiopathic hemolytic anemia was detected. Coagulation tests were normal. Viral serological studies and bacteriological cultures were negative. Due to the presence of neurological symptoms, preserved renal function, thrombocytopenia, and the presence of schistocytes, thrombotic thrombocytopenic purpura was suspected. ADAMTS13 dosage was requested and treatment was started. ADAMTS13 activity was less than 10% and the study of the presence of inhibitor was positive for IgG antibodies. This allowed confirming the diagnosis of immune thrombotic thrombocytopenic purpura. **Conclusion:** Clinical suspicion of thrombotic thrombocytopenic purpura in pediatric patients and measurement of ADAMTS13 activity are essential to establish the etiology of thrombotic microangiopathies and an effective and timely treatment. A delay in the treatment could result in further organ damage and increased mortality.

Keywords: ADAMTS13, thrombotic thrombocytopenic purpura, thrombotic microangiopathy, ultralarge multimers of von Willebrand factor.

Introducción

La metaloproteasa ADAMTS13 está directamente relacionada con la fisiopatogenia de la púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), enfermedad rara y potencialmente fatal, con una incidencia que varía de 2 a 6 casos por millón de individuos, según la región¹. Si bien su incidencia en la población pediátrica es muy baja -menos de 1 caso por millón de niños por año²- constituye una urgencia hematológica. Por este motivo, la sospecha clínica en pacientes pediátricos resulta fundamental para el correcto abordaje diagnóstico.

La PTT es una de las microangiopatías trombóticas (MAT), que se definen como síndromes que incluyen la presencia de anemia hemolítica microangiopática no inmune, generalmente con presencia de esquistocitos en el frotis de sangre periférica, trombocitopenia por consumo y daño orgánico de afectación e intensidad variable relacionado con la presencia de trombos en la microcirculación.³ Las entidades que cursan con MAT son diversas: en la población pediátrica, se incluyen el síndrome urémico hemolítico (SUH) asociado a infección por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga, con afección predominantemente renal; el SUH asociado a alteraciones genéticas o adquiridas en la vía alterna del sistema de complemento (SUH atípico) y la PTT como causas primarias.⁴ La PTT en la población pediátrica representa menos del 10 % de todos los casos de PTT reportados.⁵ La fisiopatología de esta enfermedad se basa en la deficiencia funcional severa de la metaloproteasa ADAMTS13 (*a disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif, member 13*). Esta desintegrina y metaloproteasa plasmática participa en la regulación del factor de von Willebrand (FVW), su sustrato principal. Su síntesis es principalmente hepática y su vida media, de 2 a 3 días.⁶ Un 3-5 % de esta metaloproteasa circula unida al FVW.⁷ La actividad enzimática de ADAMTS13 implica su interacción con los multímeros ultralargos del FVW (ULFVW, *ultra large von Willebrand factor*) del endotelio vascular, que produce un clivaje entre Tyr1605-Met1606.^{8,9} En condiciones de alto flujo o luego de la formación de un trombo, los ULFVW exponen este sitio de clivaje, denominado A2, que se vuelve accesible al ataque de ADAMTS13. Como resultado, se obtienen fragmentos cada vez más pequeños del FVW, y se modula la longitud de los multímeros de FVW en la circulación.¹⁰

La deficiencia de ADAMTS13 resulta en la acumulación de multímeros ULFVW de características protrombóticas. En ausencia de la enzima, la sola presencia de ULFVW, en condiciones de flujo normal, no debería causar trombosis microvascular, sin embargo, en condiciones de alto flujo, aumenta la adhesividad plaquetaria sobre los multímeros, lo que resulta en la formación de microtrombos que causan patología micro/macrovacular oclusiva e isquemia tisular con fragmentación de glóbulos rojos, aumento de LDH y consumo de plaquetas.^{5,11,12} Esto es especialmente importante en neonatos con PTT congénita, en los cuales

el inicio bidireccional de la circulación a través del conducto arterioso causa condiciones de turbulencia extrema y puede originar hemólisis severa.^{13,14}

La deficiencia de la metaloproteasa puede ser de origen genético (síndrome de Upshaw - Schulman, cPTT) o inmunomediada (adquirida, iPTT), en la que típicamente se encuentran presentes anticuerpos dirigidos contra ADAMTS13.¹⁵ La cPTT, de penetrancia variable y con más de 200 mutaciones descritas¹⁶, se manifiesta más frecuentemente en bebés y niños pequeños, mientras que la iPTT prevalece en niños mayores (preadolescentes y adolescentes).¹⁷ Para el diagnóstico de cPTT, se requiere confirmación con estudios genéticos (mutaciones bialélicas, en su mayoría).³ En cuanto a la iPTT en niños, existen características compartidas con la población adulta como la coexistencia de otros desórdenes autoinmunes y la mayor prevalencia en el sexo femenino. De acuerdo con lo reportado, el 75 % de las iPTT se da en mujeres; el 21 % de todos los pacientes con iPTT tiene uno o más desórdenes autoinmunes y el 11 % presenta lupus eritematoso sistémico.¹⁸

La medida de actividad de ADAMTS13 es el primer test que debería realizarse en pacientes con sospecha o diagnóstico de MAT.¹⁹ La deficiencia severa de la actividad de la metaloproteasa, definida generalmente como una actividad menor del 10 % con respecto a un pool de plasma normal, confirma el diagnóstico de PTT.²⁰ Sin embargo, una actividad de ADAMTS13 mayor del 10 % no debería excluir el diagnóstico de PTT, sobre todo con valores de actividad enzimática entre 10 y 20 %. El diagnóstico de PTT requiere tanto de la medida de actividad de ADAMTS13 como de su interpretación en el contexto clínico del paciente realizadas por equipo multidisciplinario.^{1,21} Por otra parte, la medida de actividad de la metaloproteasa juega un rol importante en el seguimiento de esta patología.

El tratamiento de la iPTT suele incluir recambio plasmático intensivo combinado con inmunosupresores, corticoides y rituximab o caplacizumab.^{22,23}

Estructura de la ADAMTS13

Al igual que otros miembros de la familia ADAMTS, ADAMTS13 está compuesta por 14 dominios: metaloproteasa, desintegrina, primera repetición de trombospondina (TSP1), dominio rico en cisteína y dominios espaciadores. La porción distal de la proteasa contiene 7 repeticiones de TSP1 adicionales y 2 dominios CUB (*complement subcomponents C1r/C1s, embryonic sea urchin protein EGF, bone morphogenic protein-1*). Cada dominio tiene un rol específico en relación con la actividad enzimática²⁴. Si bien ADAMTS13 es secretada como enzima activa, circula en una conformación cerrada debido a la interacción entre los dominios CUB y espaciadores.² Cuando el ULFVW se une a ADAMTS13, la enzima experimenta un cambio conformacional y se vuelve activa. Estos cambios en la conformación resultan fundamentales para sostener el FVW en estricto control de sus diferentes formas moleculares a fin de mantener la homeostasis microvascular.^{26,27}

Métodos de medición de la actividad de ADAMTS13

Se encuentran disponibles en el mercado una variedad de ensayos para la medida de actividad enzimática, la detección antigénica y la determinación del inhibidor o de los anticuerpos anti-ADAMTS13. Estos ensayos pueden ser del tipo *in house*, comerciales y, más recientemente, automatizados.

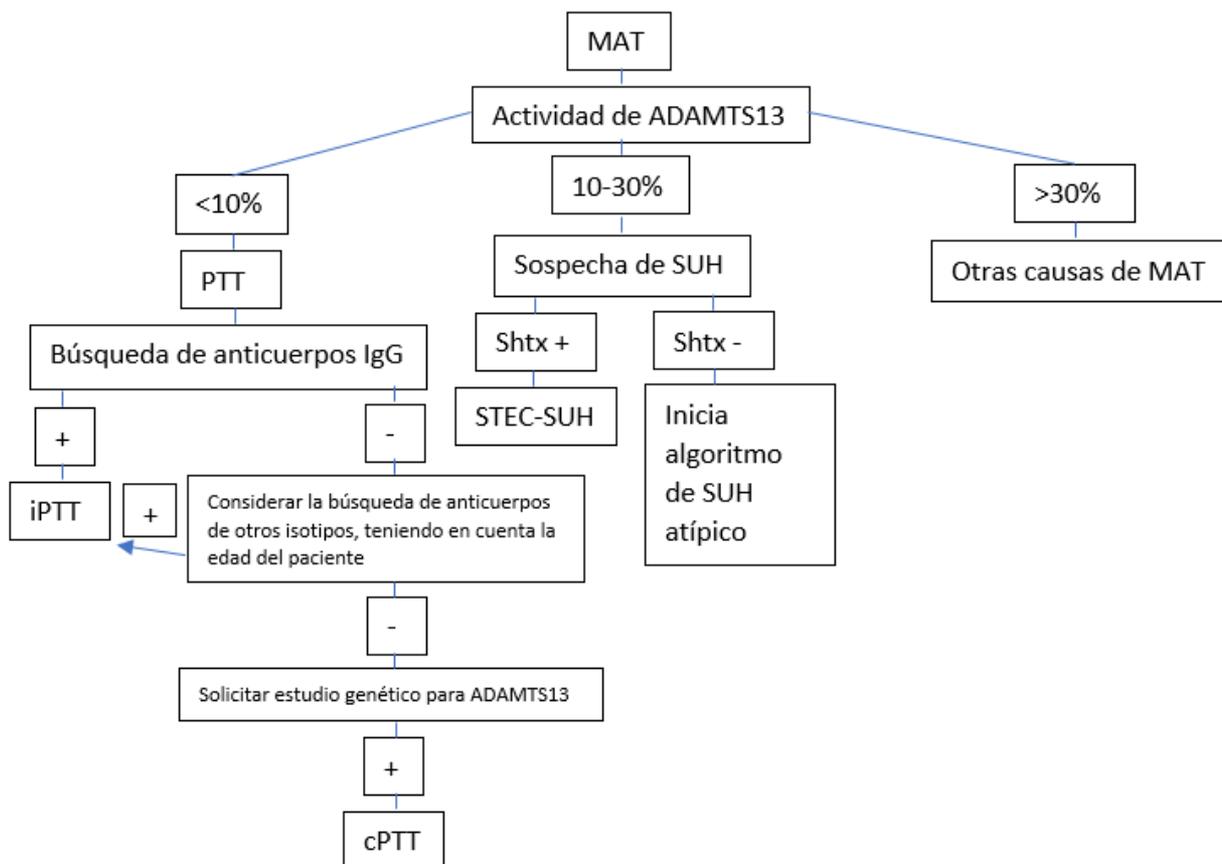
La muestra de elección es el plasma citratado. Luego del proceso de doble centrifugación, las muestras de plasma que no sean procesadas en el día deben congelarse a -40°C y mantenerse congeladas hasta el momento de la determinación. Ante la sospecha de PTT, se recomienda tomar una muestra previa al inicio del tratamiento.^{28,29}

Los ensayos más utilizados son del tipo de transferencia de energía fluorescente por resonancia (TEFR) y ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) cromogénico con detección de punto final. Se basan en la determinación de la actividad enzimática a través del uso de fragmentos peptídicos recombinantes de 73 aminoácidos del FVW que contienen el sitio de clivaje A2 (FVW73).³⁰⁻³³ Si los controles y calibradores poseen valores establecidos utilizando el calibrador aprobado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [estándar internacional ADAMTS13 PLASMA 12/252],

los resultados pueden informarse en UI/dl, unidades que son equivalentes al porcentaje de actividad de ADAMTS13³⁴. Pese a las discrepancias observadas entre los métodos basados en TEFR y los ELISA cromogénicos, existe buena correlación entre ensayos y alta concordancia en la clasificación de muestras con actividad menor de 10 UI/dl.¹⁵ Recientemente, se han desarrollado métodos totalmente automatizados que permiten obtener resultados en 30 minutos. Uno de ellos, el HemosIL® AcuStar ADAMTS13 Activity³⁵, ya disponible en Argentina, utiliza la tecnología de quimioluminiscencia para la determinación de la actividad enzimática. Por otra parte, el Technofluor ADAMTS13 Act. *Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln GmbH*, aún no disponible en el país, utiliza la tecnología TEFR.^{36,37}

Cada método posee intervalos de referencia establecidos, que generalmente son obtenidos en población adulta, por lo que su uso en pediatría es limitado.¹⁵ En estos casos, se recomienda establecer intervalos de referencia propios, ajustados por edad. Sin embargo, las recomendaciones internacionales en cuanto al valor crítico de actividad por debajo del 10 % no establecen diferencias entre población adulta y pediátrica para realizar el diagnóstico de PTT.

Figura 1. Algoritmo diagnóstico propuesto para el diagnóstico de las microangiopatías trombóticas (MAT).



► MAT, microangiopatías trombóticas; PTT, púrpura trombocitopénica trombótica; SUH, síndrome urémico hemolítico; Shtx, shigatoxina; iPTT, PTT inmune; cPTT, PTT congénita, STEC, Escherichia coli productora de toxina Shiga.

Se encuentran desarrollados dispositivos del tipo *point of care* que permiten la obtención de la medida de actividad enzimática en un corto plazo (30 minutos), aunque su utilidad es limitada debido a que, si bien muestran buen desempeño general, una disminución en la actividad requiere confirmación por el método tradicional utilizado en el laboratorio de referencia.³⁸

Determinación antigénica de ADAMTS13

Este tipo de ensayo cuantifica la cantidad de proteína presente en plasma y utiliza la metodología de tipo ELISA sándwich, en la que se emplea un anticuerpo de captura para la metaloproteasa y luego, un segundo anticuerpo marcado que participa en una reacción colorimétrica. El determinante de las diferencias entre los distintos métodos es el uso de anticuerpos monoclonales versus policlonales tanto en los anticuerpos de captura como en los de detección.³⁹

En la cPTT, tanto la actividad como los niveles antigénicos de ADAMTS13 suelen encontrarse disminuidos, mientras que en la iPTT puede no haber concordancia entre ambos ensayos debido a la naturaleza de los anticuerpos presentes: neutralizantes (mayoritarios: inhiben la actividad enzimática) y no neutralizantes (minoritarios: aceleran la eliminación de ADAMTS13, pero no inhiben su actividad).^{4,41} Por este motivo, se considera que la determinación antigénica brinda menor sensibilidad que la medida de actividad enzimática para el diagnóstico de iPTT y no debe ser usada como única prueba.⁴¹

Determinación de inhibidor y anticuerpos anti-ADAMTS13

En la mayoría de las iPTT pediátricas se encuentran presentes autoanticuerpos, de los cuales los de isotipo IgG son los predominantes. El principal blanco de estos anticuerpos es el dominio espaciador de la metaloproteasa. Ante un resultado de actividad enzimática menor de 10 UI/dL [o menor del 10 %], se debería proceder a la búsqueda de autoanticuerpos. Si estos se encuentran presentes, se confirma el diagnóstico de iPTT, mientras que, si no se detectan, no se

podría descartar el diagnóstico y deberían realizarse otras determinaciones como el ensayo tipo Bethesda, ensayo de mezclas para búsqueda de inhibidores [ambas técnicas detectan anticuerpos neutralizantes], búsqueda de otros isotipos como IgM e IgA y/o evaluar respuesta al tratamiento mediante la determinación de actividad de ADAMTS13 durante el seguimiento⁵. Se recomienda la determinación de autoanticuerpos frente a los ensayos tipo Bethesda y mezclas. El ensayo más utilizado es ELISA IgG. El calibrador, las unidades en las que se reporta el resultado y los puntos de corte varían entre los diferentes ensayos disponibles. No se dispone de un estándar internacional de referencia para los ensayos de autoanticuerpos ni ensayos de inhibidor, lo que dificulta la comparación de resultados entre los distintos métodos.²⁹

Es mandatorio establecer algoritmos diagnósticos apropiados que permitan establecer las causas de las MAT, en los cuales la medida de ADAMTS13 tiene un rol fundamental a la hora de intentar establecer la patología de origen. En el Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, se propone el abordaje diagnóstico que se muestra en la Figura 1.

Caso clínico

En diciembre del 2021, se presenta a la guardia una paciente de 15 años de edad, previamente sana, derivada de otra institución, con síntomas neurológicos (episodio de parestesias en hemicuerpo derecho), vómitos y cansancio. En días previos a la consulta inicial, presentó una metrorragia de 10 días de evolución. Sus antecedentes clínicos no incluían desórdenes hematológicos personales ni familiares. La paciente es internada en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos debido a la gravedad del cuadro y para la realización de estudios de imagen y de laboratorio. La angiografía magnética de sistema nervioso central no mostró particularidades. Los resultados de laboratorio al ingreso se muestran en la Tabla I. Se observa una marcada anemia de características regenerativas, con elevación

Tabla I. Parámetros de laboratorio de la paciente al ingreso

Parámetro	Valor	Rango de referencia
Leucocitos	9,0x10 ³ /ul	4,5 - 13,0 /ul
Hemoglobina	8,2 g/dL	12,0 - 16,0 g/dl
Hematocrito	23,7 %	31,0 - 47,0 %
Plaquetas	10 x10 ³ /ul	150 - 450 x10 ³ ul
Reticulocitos	24,2 %	0,5 - 2,5 %
Lactato deshidrogenasa	1615 UI/L	≤ 250 UI/L
Urea	38 mg/dL	8 - 41 mg/dl
Creatinina	0,85 mg/dL	0,51 - 0,95 mg/dl
Bilirrubina total	5,44 mg/dL	≤ 1,20 mg/dl
Bilirrubina directa	1,36 mg/dL	≤ 0,30 mg/dl
Prueba de Coombs directa	Negativa	Negativa

del recuento de reticulocitos. En la revisión del extendido de sangre periférica, se observaron eritroblastos, policromatofilia y presencia de esquistocitos (>1 %) compatibles con una anemia hemolítica microangiopática. Las pruebas de coagulación fueron normales. Los estudios serológicos virales y cultivos bacteriológicos fueron negativos.

Debido a la presencia de síntomas neurológicos, la función renal conservada y la plaquetopenia severa, la sospecha diagnóstica fue PTT. Se solicitó el dosaje de ADAMTS13 y comenzó el tratamiento con corticoides y recambio plasmático intensivo incorporando rituximab luego de la confirmación diagnóstica.

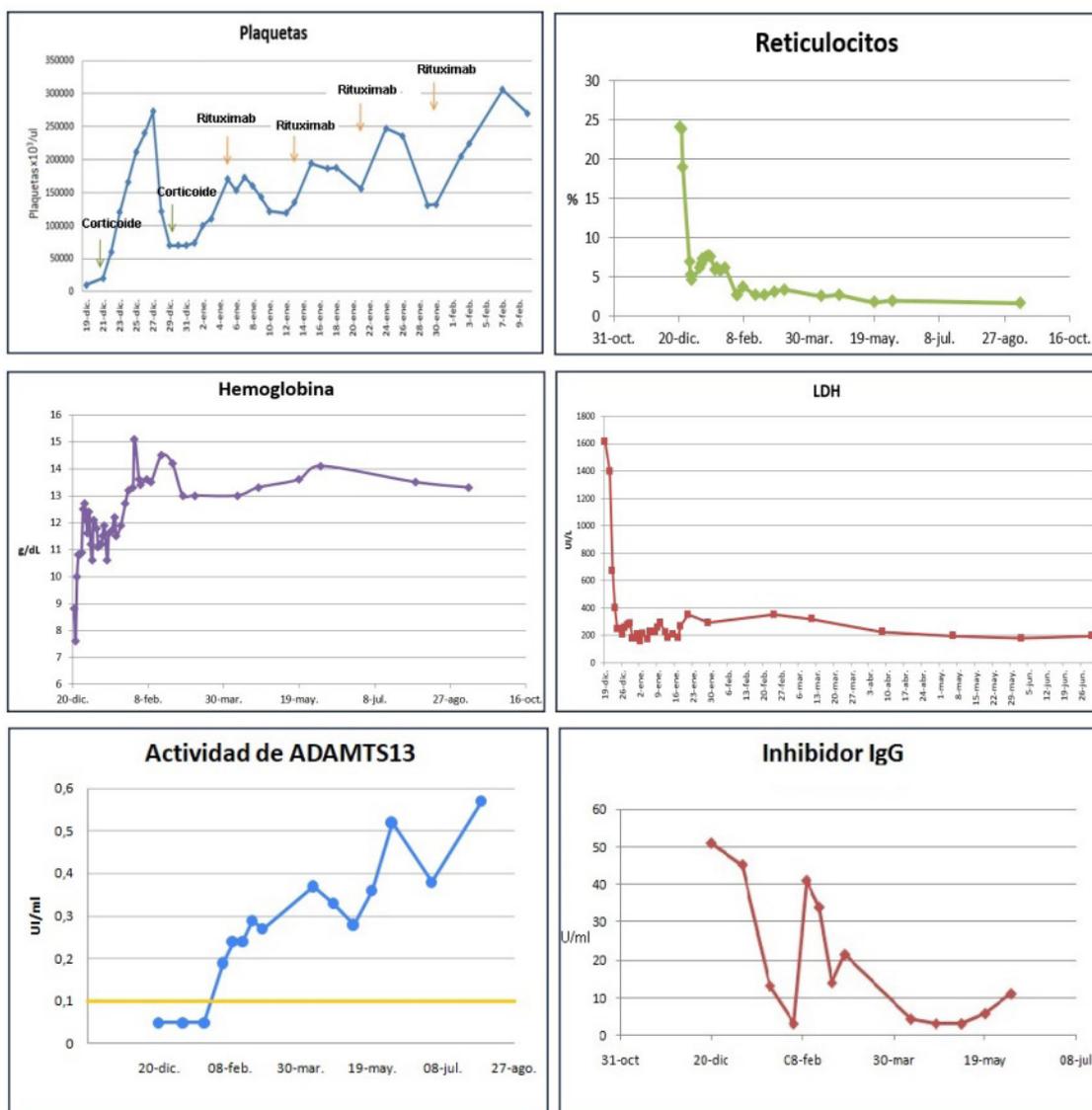
La actividad de ADAMTS13 medida por ELISA resultó menor de 10 UI/dl (VR: 40-130 UI/dl), por lo que se procedió a estudiar la presencia de su inhibidor y se obtuvo un resultado positivo de anticuerpos de isotipo IgG. Esto permitió

confirmar el diagnóstico de iPTT y, no pudiéndose establecer la causa desencadenante, se realizó el diagnóstico de iPTT idiopática.

La paciente tuvo una evolución favorable y se observó un aumento en la actividad de ADAMTS13 con negativización de su inhibidor y una mejoría de los síntomas y de los parámetros de laboratorio (Figura 2). En la figura 2, se muestran, además, los valores del recuento de plaquetas durante el seguimiento, se puede observar la respuesta al tratamiento y se evidencia cómo, a pesar del curso inestable y de las infecciones que presentó a lo largo del tratamiento, luego de comenzada la terapia con rituximab, las plaquetas comienzan a aumentar, a la vez que se ve una notable disminución del recuento de reticulocitos, con normalización de la hemoglobina y disminución de la LDH.

A los 6 meses del diagnóstico, se encontraba bajo trata-

Figura 2. Evolución de los valores de plaquetas ($\times 10^3/\text{ul}$), reticulocitos (%), hemoglobina (g/dl), LDH (UI/l), actividad de ADAMTS13 (UI/ml) e inhibidor de ADAMTS13 tipo IgG (UI/ml) durante la internación y el seguimiento.



miento ambulatorio con corticoides en descenso y monitoreo de sus parámetros clínicos y de laboratorio, incluida la medida mensual de actividad de ADAMTS13.

En iPTT, las recidivas son frecuentes, por lo que el seguimiento debería ser de por vida. Es un desafío para el equipo de salud consensuar la frecuencia del monitoreo, así como también establecer el rol de la medición de ADAMTS13 como predictor de recaídas.

Con base en la sospecha clínica al ingreso y el uso del algoritmo diagnóstico, se logró diagnosticar iPTT en una paciente de 15 años de edad. Contar con la medida de actividad de ADAMTS13 y el estudio de su inhibidor (IgG) dentro de los tiempos requeridos (menos de 72 horas) resulta de suma importancia para mantener o cambiar el tratamiento iniciado al confirmarse la MAT.

Discusión

La medida de actividad de ADAMTS13 está directamente relacionada con el diagnóstico de PTT, que constituye una urgencia hematológica. Existen diferentes métodos comerciales para realizar la medición de actividad enzimática, con diferente sensibilidad, límite de cuantificación e intervalos de referencia reportados. Se debe conocer el desempeño del método empleado, teniendo en cuenta que, si se utiliza un kit comercial, se requiere la verificación del desempeño mediante la comparación con otro laboratorio y el uso de un programa de control de calidad externo.²⁹

El punto de corte para establecer una deficiencia severa de la metaloproteasa es por debajo de 10 UI/dL en la población adulta y en pediatría. Si el método se encuentra contrastado contra el calibrador aprobado por la OMS, el informe de la actividad enzimática puede realizarse en UI/dL. El resultado de la medida de actividad de ADAMTS13 debería estar disponible, idealmente, en un lapso de 72 horas, mientras que se considera aceptable si el informe se realiza dentro de los 7 días de ingresada la muestra al laboratorio.¹

Si bien existen modelos como el PLASMIC⁴² o el *score* francés⁴³ que evalúan el riesgo de PTT utilizando puntajes en los que intervienen parámetros como el recuento de plaquetas, los niveles de creatinina, la RIN (razón internacional normatizada), el VCM y otros, estos modelos requieren su validación en la población pediátrica.^{1,44}

Los ensayos recomendados para el diagnóstico de PTT deberían incluir la actividad de ADAMTS13 y la búsqueda de autoanticuerpos o, en su defecto, ensayo de mezclas para búsqueda de inhibidor.³ Actualmente, existen definiciones relacionadas con la PTT en las que la medida de actividad de ADAMTS13 cobra un rol fundamental, donde se define como *recaída de laboratorio* una actividad de ADAMTS13 por debajo de 20 UI/dl, sin trombocitopenia, que precede por lo general a la recaída clínica (trombocitopenia). También se definen *respuesta al tratamiento* cuando la actividad de la metaloproteasa es mayor de 30 UI/dL y *respuesta completa al tratamiento*, si la actividad es mayor de 60 UI/dL.⁴⁵

La medida de ADAMTS13 en la iPTT, en forma regular, du-

rante el tratamiento (por ejemplo, semanalmente) y en la fase de remisión (cada mes y luego cada 3 meses, pudiendo extenderse a 6-12 meses luego de 3 años) podría proveer datos importantes con respecto al riesgo de recaída y la persistencia de enfermedad activa subclínica.⁴⁶

La sospecha clínica de una púrpura trombocitopénica trombótica en pacientes pediátricos y la medida de actividad de ADAMTS13 son fundamentales para intentar establecer la etiología de las microangiopatías trombóticas¹ e instaurar un tratamiento eficaz y oportuno. Por el contrario, un retraso en el tratamiento podría resultar en un mayor daño orgánico con el consiguiente aumento de la mortalidad.

Referencias bibliográficas

- Zheng XL, Vesely SK, Cataland SR, Coppo P, Geldziler B, Iorio A et al. ISTH guidelines for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2020;18:2486-95.
- Joly BS, Stepanian A, Leblanc T, Hajage D, Chambost H, Harambat J et al. Child-onset and adolescent-onset acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with severe ADAMTS13 deficiency: a cohort study of the French national registry for thrombotic microangiopathy. *Lancet Haematol* 2016; 3:e537 e546.
- Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman K, Kremer Hovinga J et al. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost* 2017; 15:312-322.
- Fakhouri F, Zuber J, Frémeaux-Bacchi V, Loirat C. Haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* 2017;390(10095):681-696.
- Joly BS, Coppo P, Veyradier A. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2017; 129:2836-2846.
- Furlan M, Robles R, Morselli B, Sandoz P, Lämmle B. Recovery and half-life of von Willebrand factor-cleaving protease after plasma therapy in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* 1999; 81(1):8-13.
- Feys HB, Anderson PJ, Vanhoorelbeke K, Majerus E, Sadler J. Multi-step binding of ADAMTS-13 to von Willebrand factor. *J Thromb Haemost* 2009; 7(12):2088-2095.
- Dong JF, Moake JL, Nolasco L, Bernardo A, Arceneaux W, Shrimpton CN et al. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. *Blood* 2002; 100(12):4033-4039.
- Dong JF. Cleavage of ultra-large von Willebrand factor by ADAMTS-13 under flow conditions. *J Thromb Haemost*. 2005; 3(8):1710-1716.
- Ercig B, Wichapong K, Reutelingsperger CPM, Vanhoorelbeke K, Voorberg J, Nicolaes G et al. Insights into 3D Structure of ADAMTS13: A Stepping Stone towards Novel Therapeutic Treatment of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Thromb Haemost* 2018; 118(1):28-41.
- Kremer Hovinga J, Coppo P, Lämmle B, Moake J, Miyata T, Vanhoorelbeke K et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nat. Rev. Dis. Prim* 2017; 3(1):1-17.
- Tersteeg C, Fijnheer R, Pasterkamp G, de Groot P, Vanhoorelbeke K, de Maaty S et al. Keeping von Willebrand Factor under Control: Alternatives for ADAMTS13. *Semin Thromb Hemost* 2016; 42(1):9-17.
- Fujimura Y, Lämmle B, Tanabe S, Sakai K, Kimura T, Kokame K et al. Patent ductus arteriosus generates neonatal hemolytic jaundice with thrombocytopenia in Upshaw-Schulman syndrome. *Blood Adv* 2019; 3(21):3191-3195.
- Jain A, Mohamed A, Kavanagh B, Shah P, Kuipers B, EL-Khuffash A et al. Cardiopulmonary adaptation during the first day of life in human neonates. *J Pediatr* 2018; 200(1):50-57.
- Favaloro EJ, Mohammed S, Chapman K, Swanepoel P, Zebeljan D, Sefhore O et al. A multicenter laboratory assessment of a new automated chemiluminescent assay for ADAMTS13 activity. *J Thromb Haemost* 2021;

- 19(2):417-428.
16. Kremer Hovinga JA, George JN. Hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 2019; 381(17):1653-1662.
 17. Siddiqui A, Journeycake JM, Borogovac A, George J. Recognizing and managing hereditary and acquired thrombotic thrombocytopenic purpura in infants and children. *Pediatr Blood Cancer* 2021; 68:e28949.
 18. Hassan A, Iqbal M, George JN. Additional autoimmune disorders in patients with acquired autoimmune thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 2019; 94(6):E172–E173.
 19. Sukumar S, Lämmle B, Cataland SR. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *J Clin Med* 2021;10(3):536.
 20. George J, Nester C. Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* 2014; 371: 1847-1848.
 21. Ayanambakkam A, Kremer Hovinga JA, Vesely SK, George J. Diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura among patients with ADAMTS13 activity 10–20%. *Am J Hematol* 2017; 92(11):e644-e646.
 22. Blennerhassett R, Curnow J, Pasalic L. Immune-Mediated Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: A Narrative Review of Diagnosis and Treatment in Adults. *Semin Thromb Hemost* 2020; 46(3):289-301.
 23. Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, Blanchette VS, Kelton JG, Nair RC, Spasoff RA. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* 1991; 325: 393-397.
 24. Masias C, Cataland SR. The role of ADAMTS13 testing in the diagnosis and management of thrombotic microangiopathies and thrombosis. *Blood* 2018; 132(9):903-910.
 25. Roose E, Schelpe AS, Joly BS, Peetermans M, Verhamme P, Voorberg J et al. An open conformation of ADAMTS-13 is a hallmark of acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2018; 16(02): 378–388.
 26. South K, Luken BM, Crawley JT, Lane D. Conformational activation of ADAMTS13. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111:18578-18583.
 27. Muia J, Zhu J, Gupta G, Sadler E. Allosteric activation of ADAMTS13 by von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111:18584-18589.
 28. CLSI. Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline-fifth edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
 29. Mackie I, Mancini I, Muia J, Kremer Hovinga J, Nair S, Machin S, Baker R. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of ADAMTS13. *Int J Lab Hematol* 2020; 42:685–696.
 30. Peyvandi F, Palla R, Lotta LA, Mackie L, Scully M, Machin S. ADAMTS-13 assays in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2010; 8:631-640.
 31. Zhang L, Lawson HL, Harish VC, Huff JD, Knovich MA, Owen J. Creation of a recombinant peptide substrate for fluorescence resonance energy transfer-based protease assays. *Anal Biochem* 2006; 358:298-300.
 32. Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, Isonishi A, Hiura H, Fujimura Y. Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion* 2006; 46:1444-1452.
 33. Valsecchi C, Mirabet M, Mancini I, Biganzoli M, Schiavone L, Faraudo S, et al. Evaluation of a new, rapid, fully automated assay for the measurement of ADAMTS13 activity. *Thromb Haemost* 2019; 119:1767-1772.
 34. Hubbard AR, Heath AB, Kremer Hovinga JA. Subcommittee on von Willebrand Factor. Establishment of the WHO 1st International Standard ADAMTS13, plasma {12/252}: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2015; 13(6):1151-3.
 35. Pascual C, Nieto JM, Fidalgo T, Seguí IG, Díaz-Ricart M, Docampo MF, et al. Multicentric evaluation of the new HemosIL Acustar® chemiluminescence ADAMTS13 activity assay. *Int J Lab Hematol* 2021;43(3):485-493.
 36. Ling G, Brannan B, Foxton E. Real-World Variability in ADAMTS13 Assay Methods May Impact upon Follow up for Patients with Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP). *Blood* 2021;138(Supplement 1):2085.
 37. Geiter S, Wagner L, Binder N, Budde U. Evaluation of a New Fully Automated ADAMTS13 Activity Assay [abstract]. *Res Pract Thromb Haemost* 2021; 5 (Suppl 2). <https://abstracts.isth.org/abstract/evaluation-of-a-new-fully-automated-adamts13-activity-assay/>. Accessed February 14, 2023.
 38. Moore GW, Meijer D, Griffiths M, Rushen L, Brown A, Budde U, et al. A multi-centre evaluation of technoscreen ADAMTS13 Activity ELISA as a screening tool for detecting deficiency of ADAMTS-13. *J Thromb Haemost* 2020; 18:1686-1694.
 39. Tripodi A, Peyvandi F, Chantarangkul V, Palla R, Afrasiabi A, Canciani MT, et al. Second international collaborative study evaluating performance characteristics of methods measuring the von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13). *J Thromb Haemost* 2008; 6(9):1534-41.
 40. Rieger M, Ferrari S, Kremer Hovinga JA, Konetschny C, Herzog A, Koller L, et al. Relation between ADAMTS13 activity and ADAMTS13 antigen levels in healthy donors and patients with thrombotic microangiopathies (TMA). *Thromb Haemost* 2006; 95(2):212-20.
 41. Starke R, Machin S, Scully M, Purdy G, Mackie I. The clinical utility of ADAMTS13 activity, antigen and autoantibody assays in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2007; 136(4):649-55.
 42. Bandapudi PK, Hurwitz S, Fry A, Marques MB, Waldo SW, Li A, et al. Derivation and external validation of the PLASMIC score for rapid assessment of adults with thrombotic microangiopathies: a cohort study. *Lancet Haematol* 2017; 4:e157-e164.
 43. Coppo P, Schwarzinger M, Buffet M, Wynckel A, Clabault K, Presne C, et al. Predictive features of severe acquired ADAMTS13 deficiency in idiopathic thrombotic microangiopathies: the French TMA reference center experience. *PLoS One* 2010; 5:e10208.
 44. Upadhyay VA, Geisler BP, Sun L, Uhl L, Kaufman RM, Stowell C, et al. Utilizing a PLASMIC score-based approach in the management of suspected immune thrombotic thrombocytopenic purpura: a cost minimization analysis within the Harvard TMA Research Collaborative. *Br J Haematol* 2019; 186(3):490-498.
 45. Cuker A, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, George JN, et al. Redefining outcomes in immune TTP: an international working group consensus report. *International Working Group for Thrombotic Thrombocytopenic Purpura*. *Blood* 2021; 137(14):1855-1861.
 46. Jin M, Casper TC, Cataland SR, Kennedy MS, Lin S, Li YJ, Wu HM. Relationship between ADAMTS-13 activity in clinical remission and the risk of TTP relapse. *Br J Haematol* 2008; 141: 651-8.