



**HAL**  
open science

# Facteur Willebrand et modifications hémodynamiques associées à l'utilisation de dispositifs cardiovasculaires : mécanisme et applications cliniques

Flavien Vincent

## ► To cite this version:

Flavien Vincent. Facteur Willebrand et modifications hémodynamiques associées à l'utilisation de dispositifs cardiovasculaires : mécanisme et applications cliniques. Médecine humaine et pathologie. Université de Lille, 2018. Français. NNT : 2018LILUS039 . tel-02275814

**HAL Id: tel-02275814**

**<https://theses.hal.science/tel-02275814>**

Submitted on 2 Sep 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2  
**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**

Année : 2018

**THESE DE DOCTORAT D'UNIVERSITE**

Ecole doctorale 446 Biologie-Santé

**Facteur Willebrand et modifications hémodynamiques associées à l'utilisation  
de dispositifs cardiovasculaires : mécanisme et applications cliniques**

Thèse dirigée par le Professeur Eric Van Belle et le Docteur Antoine Rauch

Présentée et soutenue publiquement le 11 décembre 2018 à 16h30  
**Par Flavien VINCENT**

**JURY**

Monsieur le Professeur Philippe Gabriel STEG	Président du Jury
Monsieur le Professeur Guillaume CAYLA	Rapporteur
Monsieur le Professeur Patrice GUERIN	Rapporteur
Madame le Docteur Cécile DENIS	Examineur
Monsieur le Professeur Dominique LACROIX	Examineur
Monsieur le Professeur Gilles MONTALESCOT	Examineur
Monsieur le Professeur Bart STAELS	Examineur
Monsieur le Professeur Eric VAN BELLE	Directeur de thèse

---

## **Avertissement**

**La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

## Remerciements

J'adresse mes plus sincères remerciements à Madame le Professeur Sophie Susen, à Monsieur le Professeur Van Belle et à Monsieur le Docteur Antoine Rauch pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse et pour la qualité de leur encadrement.

Je remercie Madame le Docteur Cécile Denis, Monsieur le Professeur Gilles Montalescot, Monsieur le Professeur Bart Staels et Monsieur le Professeur Philippe Gabriel Steg qui me font l'honneur d'évaluer ma thèse.

Je remercie Monsieur le Professeur Guillaume Cayla, qui le premier m'a donné l'envie de choisir la cardiologie et me fait l'honneur d'être rapporteur de cette thèse.

Je remercie Monsieur le Professeur Patrice Guérin qui a accepté d'être le rapporteur de ce travail et de prolonger son séjour à Lille.

Je remercie Monsieur le Professeur Dominique Lacroix pour son soutien et sa bienveillance tout au long de mon parcours et qui ce jour me fait l'honneur d'évaluer cette thèse.

*A Cassandra, mon épouse,*

*Merci pour ta compréhension, ton soutien et ta grande patience ces dernières semaines (et ces prochaines années !). Pour ton amour et pour m'avoir offert avec Hector le plus beau des cadeaux.*

*A mes parents Nicole et Jean-Paul, mes frères Florian et François*

*Pour m'avoir donné le goût de l'effort et m'avoir permis de faire ces longues études.*

*A Marie-Claude, Tomis, César, Melchior, Gala et toute ma belle-famille*

*Pour votre soutien, votre patience et votre regard bienveillant.*

*A Cédric et Guillaume et Gilles avec lesquels j'ai la chance d'apprendre chaque jour mon métier.*

*À tous mes amis qui me font l'honneur de leur présence aujourd'hui*

## Liste des abréviations

AA	acide aminé
ACM	Assistance circulatoire mécanique
Angiopoïétine-2	Ang-2
ADP	Adénosine diphosphate
ADAMTS13	A Disintegrin And Metalloprotease with ThromboSpondin domains-13
ECMO	Extra Corporeal Membrane Oxygenation
ETO	Echographie trans-oesophagienne
ETT	Echographie trans-thoracique
FC	Flux continu
FP	Flux Pulsatile
FPV	Fuite paravalvulaire
IAo	Insuffisance aortique
IDM	Infarctus du myocarde
IM	Insuffisance mitrale
MHPM	Multimères de haut poids moléculaire
MTHPM	Multimères de très haut poids moléculaire
PFA	Platelet Function Analyser
RAo	Rétrecissement aortique
SDS	Sodium dodecyl sulfate
TAVI	Transcatheter aortic valve implantation
Tie-2	Tyrosine kinase with immunoglobulin and EGF homology domains-2
TDM	Tomodensitométrie
TO-ADP	Temps d'occlusion à cartouche ADP
VEGFR-2	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2
VPN	Valeur predictive négative
VWF	Von Willebrand Factor (facteur von Willebrand)
VWF:Ag	Antigène du facteur Willebrand
VWF:CB	Capacité de liaison du VWF au collagène
VWD	Von Willebrand Disease
VWFpp	propeptide du facteur Willebrand
aVWS	syndrome de Willebrand acquis

## Table des matières

<b>Introduction Generale.....</b>	<b>7</b>
I. Le facteur Willebrand .....	7
A. Biosynthèse .....	7
B. Sécrétion plasmatique et clairance .....	9
C. Une structure sensible aux forces de cisaillement .....	11
D. Rôles physiologiques du VWF .....	12
1. Rôle du VWF dans l'hémostase primaire .....	12
2. Rôle du VWF dans l'angiogénèse .....	13
E. Régulation mécano-enzymatique de la protéolyse du VWF en condition de flux ..	15
1. Forces de cisaillement dans le flux sanguin.....	15
2. ADAMTS13 .....	16
3. Impact des forces hydrodynamiques sur la régulation du VWF .....	17
II. La maladie de Willebrand.....	19
A. La maladie de Willebrand congénitale.....	19
B. Le syndrome de willebrand acquis .....	20
C. Méthodes diagnostiques biologiques de syndrome de willebrand acquis type-	
2A 21	
1. Analyse électrophorétique du profil multimérique du VWF .....	21
2. Test de diagnostic rapide du temps d'occlusion plaquettaire en condition de	
flux par Platelet Function Analyzer (PFA)100-200®.....	22
3. Evaluation de la sécrétion endothéliale du VWF .....	23
4. Autres méthodes d'évaluation de l'activité fonctionnelle du VWF.....	23
5. Nouvelle méthode de quantification de la protéolyse du VWF .....	24
III. Le syndrome de Willebrand acquis en conditions de forces de cisaillement	
élevées .....	25
A. Rétrécissement aortique : du syndrome de Heyde au syndrome de Willebrand	
acquis.....	25
1. Historique .....	25
2. Identification du VWD acquis associé au RAo .....	25
B. Assistance circulatoire mécanique à flux continu .....	26
1. Historique .....	26
2. Identification du VWD acquis sous ACM-FC .....	27
C. Un mécanisme de type 2A .....	28
1. Identification du mécanisme de type 2A dans le RAo .....	28
2. Identification du mécanisme de type 2A dans les ACM-FC .....	29
D. Rôle du VWD acquis type 2A dans les hémorragies digestives associées aux	
angiodysplasies .....	30
1. Au cours du RAo .....	30
2. Au cours de l'implantation d'ACM-FC .....	31
IV. Le facteur von Willebrand un marqueur quantitatif et dynamique des modifications	
de flux .....	33

A. VWF comme un marqueur de flux quantitatif de la sévérité des cardiopathies valvulaires.....	33
1. Valvulopathies sténosantes : un modèle de circuit « en série » .....	33
2. Valvulopathies régurgitantes : un modèle de circuit « en parallèle » .....	33
B. Caractérisation de la dynamique de la multimérisation du VWF selon les conditions de flux .....	35
C. VWF comme un marqueur qualitatif des modifications de flux.....	36
D. Un mécanisme de relargage du VWF endothélial sensible aux conditions de flux.....	37
<b>Objectifs .....</b>	<b>39</b>
<b>Chapitre 1 : ARTERIAL PULSATILITY AND CIRCULATING VON WILLEBRAND FACTOR IN PATIENTS ON MECHANICAL CIRCULATORY SUPPORT .....</b>	<b>43</b>
<b>Chapitre 2 : VON WILLEBRAND FACTOR MULTIMERS DURING TRANSCATHETER AORTIC-VALVE REPLACEMENT .....</b>	<b>46</b>
<b>Chapitre 3 : .....</b>	<b>48</b>
<b>POINT-OF-CARE HAEMOSTASIS TESTING OF VON WILLEBRAND FACTOR FUNCTION TO IMPROVE REAL-TIME MANAGEMENT OF PARAVALVULAR REGURGITATION DURING MINIMALLY INVASIVE TAVI : WITAVI-REAL TRIAL.....</b>	<b>48</b>
<b>Discussion générale .....</b>	<b>72</b>
<b>Perspectives .....</b>	<b>79</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>80</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>87</b>
Annexe 1 : facteur Willebrand et évaluation en temps-réel des procédures valvulaires aortiques : « from bench to bedside » (editorial) .....	87
Annexe 2 : le monitoring du facteur Willebrand en salle de cathétérisme : la ceinture de sécurité du TAVI mini-invasif ? (review) .....	88
Annexe 3 : Von Willebrand Factor and management of Heart Valve Disease : Ready for Primetime ? (review).....	89
<b>Résumé.....</b>	<b>117</b>

## INTRODUCTION GENERALE

### I. Le facteur Willebrand

#### A. Biosynthèse

Le facteur Willebrand (von Willebrand factor, abrégé VWF dans la nomenclature internationale) est une glycoprotéine multimérique synthétisée par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes (1). Le gène du VWF est situé sur le bras court du chromosome 12 (12p13.3) et code pour l'ARN messager du pré-pro VWF qui est un précurseur de 2813 acides aminés constitué d'un peptide signal de 22 acides aminés (aa), d'un propeptide de 741 AA et d'une sous-unité mature de 2050 acides aminés constituée des domaines suivants: D1-D2-D'-D3-A1-A2-A3-D4-C1-C2-C3-C4-C5-C6-CK(2).

Le pré-pro VWF subit un clivage de son peptide signal au niveau de la partie N-terminale lors de son transfert dans le réticulum endoplasmique (3). Le pro-VWF subit une N-glycosylation et s'assemble en dimères via la formation de ponts disulfures inter-chaînes entre les extrémités C-terminales (domaines CK) (4). Les dimères de pro-VWF sont le siège d'une O-glycosylation et d'une sulfatation dans l'appareil de Golgi avant de s'assembler en multimères par la formation de ponts disulfures entre les extrémités N-terminales (domaine D3) grâce à l'activité catalytique du propeptide (5)(6).

Soumis à un pH acide dans le Golgi, les dimères de pro-VWF adoptent une conformation dite « en bouquet » par l'association homolatérale des domaines D1D2 côté N-terminal, et des

domaines A2, A3, D4 et des 6 domaines C situés entre les domaines D4 et CK côté N-terminal (7)(8).

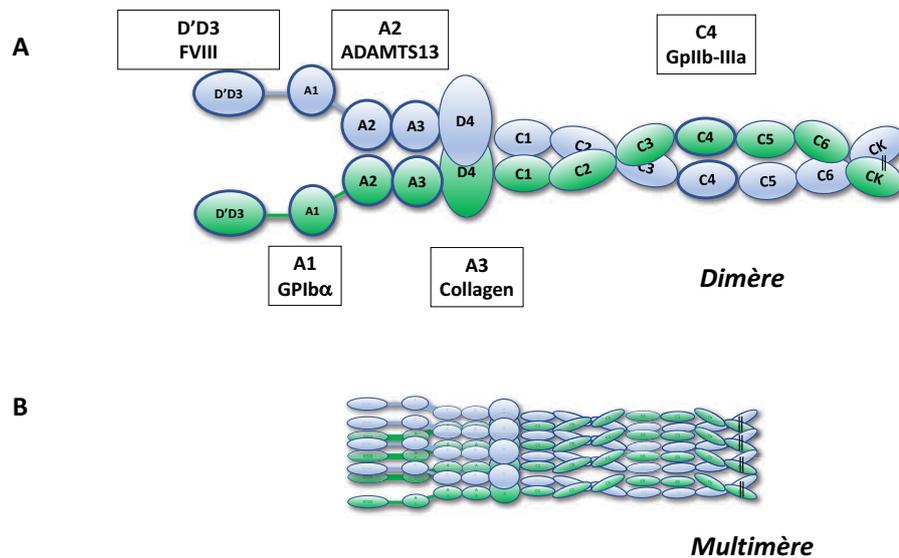


Figure 1 : représentation schématique de la structure primaire multi-domaines du monomère mature de VWF et de ses sites de liaison après dimérisation en « bouquet » (A) puis après multimérisation (B) (9)

Cette conformation en bouquet permet une compaction hélicoïdale des multimères de VWF formés au niveau du Golgi (10) conduisant à leur stockage futur dans des organelles intracellulaires: les corps de Weibel-Palade des cellules endothéliales ou les granules  $\alpha$  des plaquettes. Le clivage du propeptide (aa 23 à 763) marque la fin du processus de multimérisation au sein du Golgi.

Après clivage du peptide signal et du propeptide, la structure primaire du VWF mature comporte une organisation multi-domaines avec la succession des 5 types de domaines homologues suivants : D'-D3-A1-A2-A3-D4-C1-C2-C3-C4-C5-C6-CK (11) (Figure 1).

Le VWF mature est prêt à être libéré directement dans le plasma et le sous-endothélium ou demeure dans les organelles de stockage dans lesquelles le VWF mature et le propeptide sont liés de façon non-covalente avec un coefficient stoechiométrique de 1 (12) (Figure 2).

Dans les corps de Weibel-Palade, les multimères peuvent être de très haut poids moléculaire (MTHPM) avec des molécules pouvant comporter jusqu'à jusqu'à 60 sous-unités dimériques.

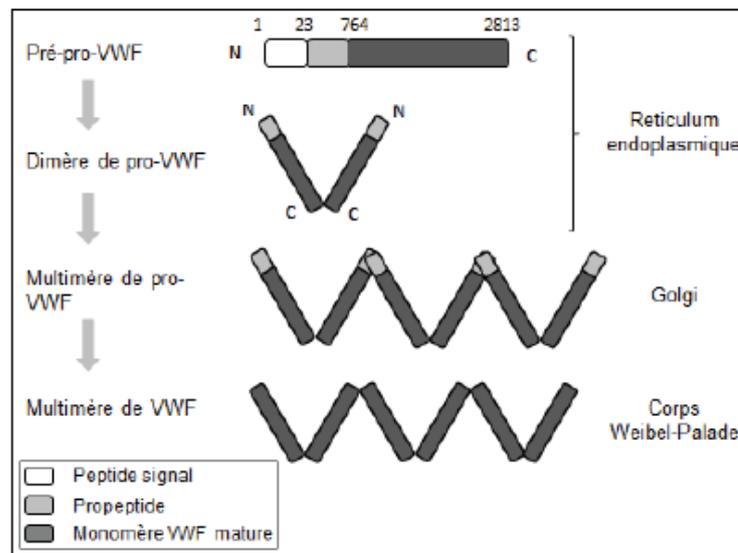


Figure 2 : représentation schématique de la biosynthèse du VWF dans la cellule endothéliale

## B. Sécrétion plasmatique et clairance

La sécrétion plaquettaire de VWF se fait à partir des granules  $\alpha$  après activation plaquettaire par la thrombine ou l'adénosine diphosphate (ADP) et représente une contribution mineure à la concentration plasmatique de VWF.

La sécrétion endothéliale de VWF se produit du côté apical de la cellule dans le plasma et du côté basal dans le sous-endothélium vasculaire selon 2 voies distinctes (13). La voie constitutive permet d'assurer un taux basal circulant physiologique de VWF via une libération continue de VWF et la voie régulée entraîne une exocytose à partir des corps de Weibel-Palade

en réponse à une stimulation endothéliale par différents facteurs comme la thrombine, l'hypoxie, la vasopressine, l'adrénaline, l'IL-1 $\beta$  ou des facteurs physiques comme les forces de cisaillement. En effet, il a été démontré *in vitro* que la sécrétion endothéliale de VWF était accrue lors de l'exposition des cellules endothéliales aux forces de cisaillement d'un fluide laminaire comparativement à l'exposition à un fluide statique. Seule la sécrétion à partir des corps de Weibel-Palade était mise en évidence et aucune synthèse de novo n'avait été identifiée avec des taux d'ARN messagers identiques entre les deux conditions (14).

La clairance du VWF plasmatique s'effectue principalement au niveau hépatique et splénique. Elle met en jeu différentes cellules (macrophages, cellules endothéliales et hépatocytes) exprimant des récepteurs membranaires dont la capacité à fixer le VWF varie selon le profil de glycosylation de ce dernier et les forces de cisaillement (15). On observe en effet des taux de VWF plasmatique significativement plus bas chez les sujets de groupe sanguin O en raison d'une clairance accélérée dont le mécanisme n'est pas établi (16).

A l'équilibre, la concentration plasmatique du VWF est de l'ordre de 10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  avec une demi-vie d'environ 12 heures (7). Les MTHPM stockés dans les corps de Weibel-Palade ne sont pas présents physiologiquement dans le plasma grâce à la régulation protéolytique effectuée par une protéase plasmatique : l'ADAMTS13 (9).

On retrouve dans la circulation le VWF sous différentes tailles : du simple dimère jusqu'au multimères de haut poids moléculaire (MHPM) constitués de l'association de 20 à 30 dimères. Ces MHPM peuvent atteindre une taille maximale de 15 $\mu\text{m}$  en conformation allongée ce qui confère au VWF le statut de plus grande protéine plasmatique circulante (17) (18).

Le VWF interagit avec de nombreux ligands via des sites de liaisons spécifiques : le facteur VIII (domaines D' et D3), la glycoprotéine plaquettaire Gplb $\alpha$  (domaine A1), le collagène sous-endothélial (domaines A1 et A3) et l'intégrine plaquettaire  $\alpha 2\text{b}\beta 3$  (domaine C4) (Figure 4). Le

site de liaison à la Gplb $\alpha$  (domaine A1) et le site de protéolyse de l'ADAMTS13 (domaine A2) ne sont pas directement accessibles à leur ligand (cryptiques) et nécessitent l'élongation préalable du VWF avant liaison. Ceci prévient la liaison spontanée du VWF aux plaquettes (domaine A1) et la dégradation spontanée du VWF par l'ADAMTS13 circulante (domaine A2).

### **C. Une structure sensible aux forces de cisaillement**

Le VWF est une protéine très riche en cystéines avec un total de 232 résidus sur les 2813 que comporte la sous-unité mature (19), qui permettent des liaisons disulfures intra- et inter-chaînes. Ils sont majoritairement localisés aux extrémités N- et C-terminales du VWF. Ainsi les résidus cystéines du domaine CK sont nécessaires à la dimérisation et ceux du domaine D3 à la multimérisation du VWF (20).

Les domaines A1, A2 et A3 sont pauvres en cystéines avec seulement 2 résidus chacun. Cette particularité confère une structure en boucle aux domaines A1 (entre cystéines 1272 et 1458) et A3 (entre cystéines 1686 et 1872). En revanche, les 2 cystéines du domaine A2 sont en position adjacentes (1669-1670) ce qui à ce domaine confère une grande sensibilité à l'élongation en présence de forces de cisaillement élevées (Figure 3).

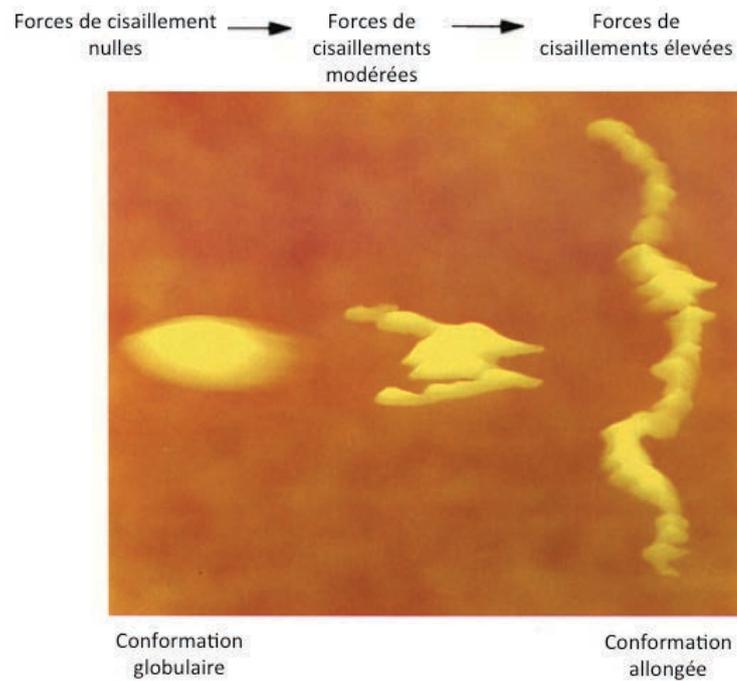


Figure 3 : Changements conformationnels du VWF sous l'influence des forces de cisaillement visualisées par microscope à force atomique (d'après Siedlecki, Blood 1996 (21))

## D. Rôles physiologiques du VWF

### 1. Rôle du VWF dans l'hémostase primaire

Le VWF joue un rôle majeur dans l'hémostase primaire. Il intervient suite à une brèche vasculaire dans l'adhésion plaquettaire au sous-endothélium vasculaire puis dans l'agrégation plaquettaire permettant la formation du thrombus plaquettaire. L'hémostase primaire est d'autant plus dépendante du VWF que les forces de cisaillement sont élevées comme dans la microcirculation car les récepteurs plaquettaires GPVI ou  $\alpha 2\beta 1$  ne résistent pas à de telles conditions rhéologiques (22) (Figure 4).

En effet, le VWF sous-endothélial et le VWF plasmatique liés au collagène sous endothélial par le domaine A3 subissent l'action de forces de cisaillement élevées qui induisent son changement de conformation globulaire vers une conformation étendue.

Ce déploiement du multimère de VWF permet l'exposition du domaine A1 à son ligand, le récepteur Gplb $\alpha$  plaquettaire, dont la liaison entraîne un ralentissement des plaquettes circulantes, leur rolling puis leur adhésion réversible au sous-endothélium.

La liaison VWF-Gplb $\alpha$  induit également une signalisation intracellulaire qui permet l'activation plaquettaire (signalisation dite « outside-in »). L'activation plaquettaire est nécessaire à l'expression membranaire de l'intégrine plaquettaire  $\alpha$ 2b $\beta$ 3 sous une conformation active (signalisation dite « inside-out »). Cette dernière lie la séquence RGD localisée dans les domaines C4 des multimères de VWF permettant ainsi l'agrégation des plaquettes.

En plus de posséder un plus grand nombre de sites de liaison pour Gplb $\alpha$ , les multimères de plus grande taille ont un seuil de sensibilité aux forces de cisaillement plus bas facilitant leur élongation et l'exposition du domaine A1. Ces caractéristiques expliquent que l'activité fonctionnelle hémostatique du VWF est corrélée à son degré de multimérisation (7).

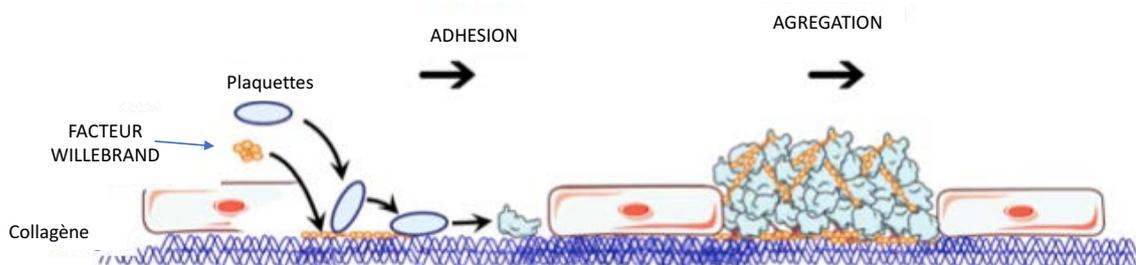


Figure 4 : Rôle du VWF dans l'hémostase primaire

## 2. Rôle du VWF dans l'angiogénèse

Les premières études rapportant l'association clinique entre la maladie congénitale de Willebrand et des malformations artério-veineuses sont anciennes(23). Désormais, il est établi que des malformations vasculaires de localisation digestive, ou angiodysplasies, sont fréquemment retrouvées chez les patients porteurs d'une maladie de Willebrand. Ces lésions, également fréquentes dans la population âgée, surviennent plus précocément chez les

patients présentant une maladie de Willebrand notamment chez ceux atteints d'un variant induisant un déficit en MHPM comme les types 3, 2A et 2B (24). Une analyse capillaroscopique sous-unguéale de 100 patients porteurs d'une maladie de Willebrand a par ailleurs démontré une fréquence élevée d'anomalies microvasculaires dans cette population comparativement à des sujets sains ou des patients atteints d'autres types de maladie hémorragiques (21).

De nombreuses données permettent désormais d'expliquer cette imputabilité probable du déficit en VWF dans la néo-angiogénèse et dans l'apparition de saignements muqueux notamment gastro-intestinaux. Différents travaux *in vitro* et *in vivo* suggèrent que le VWF intervient dans l'angiogénèse par une dérégulation de la voie du VEGFR-2 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2) par 2 mécanismes principaux : un mécanisme direct en tant que ligand extracellulaire et un mécanisme indirect par sa capacité à contrôler le stockage d'autres protéines contenues dans les corps de Weibel-Palade (26) (27).

Ainsi, la perte de l'interaction entre le VWF et l'intégrine  $\alpha\beta3$  entraîne une diminution de l'expression de cette dernière et de son rétro contrôle négatif sur la voie du VEGF-R2 (mécanisme direct). Par ailleurs, la diminution des corps de Weibel-Palade générée par la perte des MHPM provoquerait une augmentation concomitante de la sécrétion de l'angiopoïétine 2 (Ang-2), une protéine habituellement contenue dans ces organelles. L'Ang-2 favoriserait ensuite l'angiogénèse par liaison à son ligand Tie-2 (tyrosine kinase with immunoglobulin and EGF homology domains-2) et la voie du VEGFR-2 (28). De manière similaire, la concentration plasmatique de Galectin-3, protéine habituellement stockée dans les corps de Weibel-Palade est augmentée ce qui favoriserait l'activation de la voie de l'intégrine  $\alpha\beta3$  et du VEGF-R2. La dérégulation de la voie du VEGF est connue pour provoquer

une dysfonction de l'angiogénèse provoquant des vaisseaux à l'architecture dysplasique comparable à celle des angiodysplasies (29).

## **E. Régulation mécano-enzymatique de la protéolyse du VWF en condition de flux**

### **1. Forces de cisaillement dans le flux sanguin**

L'écoulement du flux sanguin dans un vaisseau rectiligne est physiologiquement laminaire et peut être modélisé comme un fluide newtonien où le débit est proportionnel à la force appliquée pour mettre en mouvement le fluide (force hydrodynamique). Dans ce modèle, le flux sanguin peut être modélisé comme une succession de couches concentriques s'écoulant à des vitesses hétérogènes progressivement croissantes de la paroi (vitesse nulle) vers le centre du vaisseau (vitesse maximale) (flux parabolique laminaire de type Poiseuille) (10).

Les forces ou contraintes de cisaillement (shear stress) qui résultent du mouvement relatif de deux couches contiguës de fluide de vitesses différentes sont d'intensité maximale le long de la paroi vasculaire.

Le shear stress est la force par unité de surface appliquée par le fluide sur les composants du sang et de la paroi vasculaire dans la direction du flux ( $\tau$  (dynes/cm<sup>2</sup>) =  $\mu \cdot \dot{\gamma}$ ). Il dépend de la viscosité du sang ( $\mu$ : viscosité du sang en poise, qui dépend du plasma et de l'hématocrite) et du taux de cisaillement ou shear rate ( $\dot{\gamma}$ ) qui dépend du diamètre du vaisseau et de son débit ( $\dot{\gamma}$  (s<sup>-1</sup>) =  $4Qr/\pi R^4$  ; r: distance radiale et Q: débit).

Ainsi, ces forces de cisaillement sont d'intensité variable dans l'arbre circulatoire : très intenses dans la microcirculation (artérioles et capillaires) et minimales dans l'aorte ascendante et la veine cave inférieure. Les forces de cisaillement permettent également de

moduler les interactions entre les éléments figurés du sang et la paroi vasculaire. L'augmentation de ces forces provoque un regroupement des érythrocytes au centre du vaisseau et repousse des plaquettes et du VWF vers la paroi vasculaire (30).

## 2. ADAMTS13

Cette protéine monomérique a une masse moléculaire de 190 kDa et a été découverte en 2001 (31). La structure primaire de l'ADAMTS13 comprend une succession de domaines caractéristiques de la famille ADAMTS : un domaine métalloprotéase N-terminal, un domaine désintégrine, un premier motif thrombospondine (TSP-1), un domaine riche en cystéines, 7 motifs TSP-1 additionnels et 2 domaines CUB (complement components C1r/C1s), Urinary EGF et Bone morphogenetic protein.

L'ADAMTS13 est synthétisée principalement par les cellules stellaires péri-sinusoïdales hépatiques (32) et les cellules endothéliales (33). Sa demi-vie est de 2 à 3 jours. Sa concentration plasmatique est d'environ 1 µg.ml<sup>-1</sup>.

Le substrat d'ADAMTS13 est le VWF. Les forces de cisaillement en conditions de flux (34) exposent le domaine A2 du VWF au niveau d'une liaison peptidique unique entre les résidus Tyrosine 1605 et Méthionine 1606 (Y1605-M1606) au clivage protéolytique d'ADAMTS13 (35). Cette protéolyse du VWF par l'ADAMTS13 est un phénomène très rapide qui surviendrait en environ 200 secondes *in vivo* (36). Elle nécessite l'interaction préalable du VWF avec l'ADAMTS13 au niveau d'exosites spécifiques localisés sur les domaines A2 et D4 du VWF (37) (Figure 5).

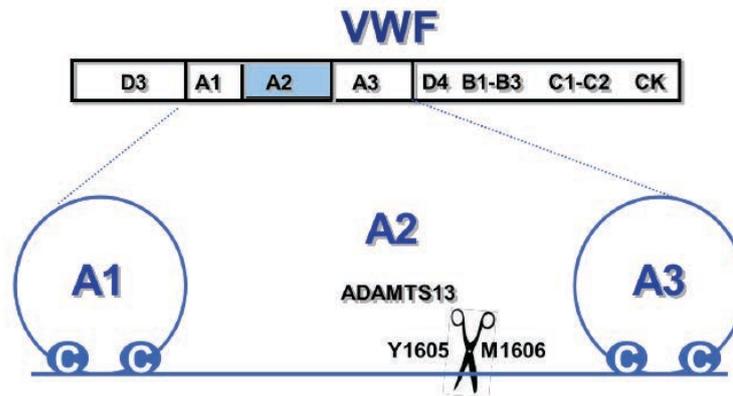


Figure 5 : Structure primaire d'un monomère de VWF et site de clivage A2 spécifique d'ADAMTS 13, d'après Tsai 1994 (38)

L'ADAMTS13 protéolyse les MTHPM en provenance des corps de Weibel-Palade, alors qu'ils sont encore liés à l'endothélium via la P-sélectine ou l'intégrine  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  et donc en conformation déployée. Ce clivage génère des multimères de taille inférieure (VWF-HPM, VWFIPM, VWF-BPM), qui dès leur libération dans le plasma adoptent une conformation globulaire les protégeant de toute dégradation enzymatique supplémentaire par l'ADAMTS13.

Le clivage du VWF par l'ADAMTS13 en circulation n'intervient ainsi que dans certaines conditions de flux particulières sous l'influence de forces hydrodynamiques modulant l'accessibilité du site de clivage à son enzyme.

### 3. Impact des forces hydrodynamiques sur la régulation du VWF

Dans le flux sanguin, les forces hydrodynamiques induisent des contraintes mécaniques proportionnelles à la taille des molécules circulantes.

Grâce à sa structure multimérique, le VWF possède une sensibilité très importante aux forces de cisaillement du flux sanguin.

En situation physiologique (flux laminaire), les multimères circulants ont leurs extrémités localisées dans des couches distinctes et donc soumises à des vitesses d'écoulement différentes. Cette différence de vitesse induit une contrainte hydrodynamique d'intensité maximale sur l'extrémité la plus proche de la paroi vasculaire provoquant la rotation des multimères. A chaque cycle de rotation, les multimères réalisent de manière concomitante deux phases d'élongation/compaction.

Un mouvement rotationnel dans le plan sagittal associé à un mouvement de type élongationnel (élongation-compression) dans le plan transversal illustre le déplacement du VWF dans le flux sanguin laminaire (7) (10). C'est lors de la phase élongationnelle que l'affinité du VWF pour ces ligands est la plus forte. Cependant, la phase d'élongation est très brève comparativement à la phase rotationnelle en condition physiologique ce qui a pour conséquence de limiter l'interaction spontanée du VWF avec les plaquettes circulantes (domaine A1) ou l'ADAMTS13 (domaine A2) et donc de protéger le VWF d'une éventuelle dégradation spontanée.

En cas de brèche vasculaire, les conditions de flux sont modifiées générant des gradients de pression, une augmentation très importante des forces de cisaillement et in fine une augmentation du mouvement élongationnel du VWF au niveau même de la rupture vasculaire et également dans la zone vasculaire où existe une vasoconstriction en amont.

Ces conditions sont responsables d'une augmentation de l'affinité du VWF pour la GPIIb/IIIa (prothrombotique) et de sa sensibilité à la protéolyse par l'ADAMTS13 (rétrocontrôle négatif qui prévient l'occlusion complète de l'artère par le thrombus. Ce rôle de l'ADAMTS13 est essentiel dans la microcirculation où l'agrégation plaquettaire est essentiellement dépendante du VWF.

D'autres facteurs physiques modulent la protéolyse du VWF :

- La taille des multimères du VWF : en effet, la sensibilité des multimères de VWF aux forces de cisaillement est corrélée à son degré de multimérisation puisque les multimères les plus longs sont soumis à des contraintes plus importantes.
- La fixation du VWF : la liaison du VWF à un récepteur cellulaire empêche le mouvement de rotation et son mouvement est alors uniquement d'élongation – compression ce qui le rend plus sensible à l'action d'ADAMTS13.

## II. La maladie de Willebrand

### A. La maladie de Willebrand congénitale

La maladie de Willebrand congénitale (Von Willebrand disease ou VWD), décrite pour la première fois en 1926 par Erik Von Willebrand comme une pseudo-hémophilie, est causée par une diminution quantitative ou qualitative du VWF. La classification physiopathologique de la VWD a été établie par Sadler en 1994 (39). Le déficit quantitatif peut être classé comme partiel (type 1) ou total (type 3) alors que le type 2 correspond à un déficit qualitatif.

Le type 2A est caractérisé par un déficit en MHPM provoquant un défaut d'interaction du VWF avec les plaquettes et le sous-endothélium. Plusieurs mécanismes peuvent expliquer ce déficit selon la mutation causale. Lorsque ce déficit est lié à une augmentation de l'affinité de la susceptibilité du VWF à sa protéolyse par ADAMTS13, on parle de type 2A variant IIA.

Le VWD se traduit cliniquement par un syndrome hémorragique affectant préférentiellement la peau (ecchymoses, saignement prolongé lors d'effraction cutanée) et les muqueuses (épistaxis, gingivorragie, hémorragies digestives, hyperménorrhées). L'intensité du syndrome hémorragique dans la VWD est variable selon la sévérité du déficit en VWF, en FVIII ou en plaquettes et dépend donc du type de VWD.

Il est à noter que les hémorragies digestives par angiodysplasies digestives surviennent essentiellement dans les formes associées à un déficit en MHPM comme dans le type 2A avec une incidence de 36% contre seulement 3% dans le type 2M (présence de MHPM) (40).

## **B. Le syndrome de willebrand acquis**

Le terme de syndrome de Willebrand acquis (VWD acquis) (41) regroupe des étiologies très variées (hypothyroïdie, hémopathies, cardiopathies,...) et différents mécanismes physiopathologiques aboutissant à une dysfonction acquise du VWF. Il a été décrit initialement dans le cadre du lupus érythémateux systémique (42) et de gammopathies monoclonales (43)(44). Le syndrome hémorragique dans le VWD acquis n'a pas de caractéristiques spécifiques et dépend du mécanisme sous-jacent comme pour le VWD constitutionnelle. Cependant, les hémorragies spontanées semblent plus rares et les hémorragies digestives plus fréquentes probablement en raison de stocks intracellulaires intacts dans la plupart des cas.

Les cardiopathies à forces de cisaillement élevées (RAo, insuffisance mitrale, cardiopathie hypertrophiques obstructives, ...) représentent actuellement la deuxième cause la plus fréquente de VWD acquis après les syndromes lymphoprolifératifs d'après les registres internationaux (45). Dans le cadre de ces cardiopathies, la dysfonction du VWF est très majoritairement liée à un déficit sélectif en MHPM d'où l'utilisation fréquente du terme de VWD acquis de type 2A.

## **C. Méthodes diagnostiques biologiques de syndrome de willebrand acquis type-2A**

Pour dépister un aVWS-type-2A, différents tests biologiques sont disponibles pour estimer l'activité fonctionnelle du VWF, c'est à dire sa capacité de liaison au collagène et aux plaquettes.

### **1. Analyse électrophorétique du profil multimérique du VWF**

Les différentes formes multimériques du VWF sont séparées via électrophorèse sur un gel contenant des concentrations variables de sodium dodecyl sulfate (SDS) et d'agarose selon la résolution souhaitée. Dans la plupart des laboratoires, les multimères sont séparés sur gel d'agarose contenant 0,1% de SDS et 1,5% d'agarose. Pour chaque analyse, deux lignes de plasma témoin normal sont utilisées comme gel de référence. Les multimères sont détectés la plupart du temps par colorimétrie après marquage immunologique du VWF (46). Cette approche permet une identification sur le gel d'électrophorèse des différentes bandes qui reflètent la distribution multimérique du VWF (multimères de petite taille, taille intermédiaire, large taille ou ultra-large taille). Puis une évaluation semi-quantitative du degré de multimérisation est possible par analyse densitométrique des gels (47). Les MHPM sont définis par la plupart des équipes comme la quantité relative de multimères de plus de 15 bandes (>15-mers) dans l'échantillon comparé à ceux du plasma témoin présent sur chaque gel (48). Avec cette méthode, les résultats sont exprimés comme un ratio de MHPM du VWF qui est le rapport entre les MHPM du plasma et ceux du plasma témoin (49)(50). Le ratio de MHPM normal est donc voisin de 1 et un déficit significatif est défini comme un ratio <0,8. Cette étape de normalisation est indispensable puisque la valeur absolue des MHPM du plasma témoin varie à chaque analyse électrophorétique et dépend également des laboratoires.

Cette analyse est longue ( $\geq 3$  jours), réalisée manuellement et requiert une expertise technique importante ne permettant pas son utilisation en routine en dehors des centres de références. Cependant, les résultats sont précis et permettent une détection de subtiles différences dans les déficit en MHPM (51)(52) (cf. supplemental figure 1, annexe 3).

## **2. Test de diagnostic rapide du temps d'occlusion plaquettaire en condition de flux par Platelet Function Analyzer (PFA)100-200®**

Une alternative à la mesure électrophorétique du profil de multimérisation du VWF est la mesure de l'activité fonctionnelle du VWF sur sang total par un test de diagnostic rapide.

Le test d'hémostase primaire PFA-100 ou plus récemment 200® (Platelet Function Analyzer, Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany) est un test qui mesure le « temps d'occlusion d'une membrane recouverte de collagène et d'adénosine-5'-diphosphate" (TO-ADP) par les plaquettes activées en présence de forces de cisaillement élevées. Ce test s'effectue rapidement à partir d'un échantillon de sang total de petit volume, en moins de 10 min, à l'aide d'un automate compact simulant les conditions de flux d'une brèche vasculaire (forces de cisaillement élevées,  $4000-5000\text{sec}^{-1}$ ). Le sang total anticoagulé par citrate est introduit par pipetage dans le réservoir de la cartouche puis est aspiré par un capillaire vers l'orifice de la membrane en conditions de forces de cisaillement élevées. Le TO-ADP est la durée avant obstruction de l'orifice de la membrane par l'agrégat plaquettaire dont l'activation a été initiée par l'ADP. Les caractéristiques rhéologiques du TO-ADP confèrent à ce test une sensibilité élevée au déficit en MHPM du VWF. Le TO-ADP augmente systématiquement en cas de déficit en MHPM du VWF. Les valeurs normales sont  $<120$  sec, le coefficient de variation est de 8,9% et les valeurs anormales comprises entre 121 et 300sec.

Ce test est intéressant pour détecter la présence d'un déficit en MHPM mais est beaucoup moins sensible que l'analyse électrophorétique pour détecter de petites différences de multimérisation. Certaines conditions comme une diminution de l'hématocrite (<25%), une thrombopénie sévère (<80G/L) sont inadéquates pour l'utilisation du test. Le TO-ADP est discrètement prolongé chez les sujets de groupe sanguin O sans altérer sa capacité à exclure un déficit en MHPM (53). Le TO-ADP n'est pas sensible à l'aspirine, à l'héparine ou aux anticoagulants oraux directs (54). L'effet du clopidogrel est modéré, inconstant et n'empêche pas son utilisation (18). Le TO-ADP n'a pas été évalué en présence du ticagrelor ou du prasugrel (56).

### **3. Evaluation de la sécrétion endothéliale du VWF**

Le propeptide et le VWF mature étant tout deux contenus dans les corps de Weibel-Palade avant sécrétion, la mesure du propeptide du VWF et son rapport avec le taux d'antigène du VWF (VWFpp/VWF:Ag) permettent une estimation quantitative de l'intensité du relargage du VWF endothélial et de la clairance du VWF (57)(51)(58). La détection d'une augmentation aiguë de VWF:Ag peut aussi servir d'indicateur du relargage endothélial si le VWFpp n'est pas disponible.

### **4. Autres méthodes d'évaluation de l'activité fonctionnelle du VWF**

Les autres tests de mesure de l'activité fonctionnelle des multimères du VWF ont une sensibilité limitée dans la détection d'un aVWS-type-2A car ils sont souvent « anormalement normaux » alors qu'un déficit est présent sur l'analyse électrophorétique. (59)(60)(61)(62).

Le gold standard actuel pour le diagnostic l'aVWS-type-2A repose donc sur l'analyse électrophorétique des multimères du VWF (61).

Le test de liaison du VWF au collagène (VWF:CB) évalue la capacité de liaison du VWF au collagène (collagène équin de type I/III) qui est dépendante de l'intégrité des MHPM.

L'activité cofacteur de la ristocétine (VWF:RCo) évalue la capacité de liaison du VWF aux plaquettes en présence de ristocétine en condition statique (absence de forces de cisaillement). Le test d'activité VWF (VWF:Act) évalue l'interaction entre le VWF et la GPIIb/IIIa en condition statique en l'absence de ristocétine et de plaquettes.

Ces tests doivent toujours être interprétés selon un rapport avec le VWF:Ag. qui évalue la concentration totale de la protéine VWF indépendamment de son degré de multimérisation ou de son activité fonctionnelle. On estime que la sensibilité diagnostique de ces différents tests à une aVWS-type-2A est la suivante par ordre décroissant : analyse électrophorétique du profil de multimérisation ; TO-ADP ; VWF:CB/VWF:Ag et VWF:RCo/VWF:Ag (61).

### **5. Nouvelle méthode de quantification de la protéolyse du VWF**

Une nouvelle méthode ELISA basée sur l'emploi d'un anticorps ciblant spécifiquement le VWF clivé a été développée. Cette méthode a été validée afin d'identifier et de discriminer différentes formes de VWD dont l'aVWS-type-2A(63). Cette technique donne des résultats rapidement comparativement à l'analyse électrophorétique ce qui pourrait faciliter son utilisation en routine dans des laboratoires non spécialisés.

### **III. Le syndrome de Willebrand acquis en conditions de forces de cisaillement élevées**

#### **A. Rétrécissement aortique : du syndrome de Heyde au syndrome de Willebrand acquis**

##### **1. Historique**

En 1958, Edward Heyde publiait ce qui allait devenir un syndrome éponyme dans le *New England Journal of Medicine* en décrivant une série de 10 patients présentant l'association de saignements gastro-intestinaux massifs à un rétrécissement aortique (RAo) (64). Cette association inexpiquée entre les deux entités a été à nouveau mise en évidence à la fin des années 70 par la publication de cas cliniques de patients avec RAo présentant des saignements gastro-intestinaux chroniques corrigés par le remplacement valvulaire chirurgical (65)(66)(67). En 1987, King *et al.* décrit sur une cohorte de 91 patients porteurs d'un RAo et de saignements gastro-intestinaux l'efficacité dans la prévention des récives de saignements pour 93% des cas après remplacement valvulaire (avec un suivi de plus de 8 ans) contre seulement 3% après résection intestinale (68).

##### **2. Identification du VWD acquis associé au RAo**

Au même moment, deux études rapportaient une association entre cardiopathies congénitales (dont des RAo congénitaux) et déficit en MHPM du VWF comparable à celui observé dans la VWD type 2A (69)(59). L'étude princeps de Weinstein *et al.* décrivait un ratio de MHPM significativement ( $p < 0,001$ ) réduit à  $0,67 \pm 0,17$  dans une cohorte de 43 patients en

pré-opératoire de chirurgie cardiaque valvulaire comparativement à 50 sujets sains (ratio de MHPM =  $0,93\pm 0,17$ ) ou à 18 patients porteurs d'une cardiopathie ischémique (ratio de MHPM= $0,91\pm 0,21$ ). Après remplacement valvulaire, le ratio de MHPM était normalisé à  $0,95\pm 0,18$  (59).

Mais ce n'est qu'en 1992 que Warkentin fut le premier à intégrer toutes ces données et à faire le rapprochement entre le phénotype hémorragique de patients atteints d'une VWD et celui des patients porteurs d'un RAO. Il proposa ainsi l'hypothèse que le Syndrome de Heyde décrit 34 ans auparavant était causé par un aVWS-type-2A secondaire au RAO (70). En 2002 le cas de 2 patients présentant un syndrome de Heyde documenté associant Rao, déficit en MHPM et hémorragies digestives par angiodysplasies relevant d'une chirurgie a été rapporté (71). Chez ces 2 patients, le remplacement valvulaire chirurgical a permis simultanément le traitement des hémorragies digestives et la correction des anomalies de multimérisation du VWF. En 2003, notre équipe a définitivement confirmé le lien évoqué par Warkentin dans une cohorte de 42 patients porteurs d'un RAO en décrivant la présence d'un déficit en MHPM chez plus de 80% des patients et une incidence de saignement cutanéomuqueux de 26%. Le remplacement valvulaire permettait la normalisation simultanée du déficit en MHPM en post-opératoire précoce (J1) et une réduction concomitante de l'incidence des saignements à 2% à 6 mois.

## **B. Assistance circulatoire mécanique à flux continu**

### **1. Historique**

L'assistance circulatoire mécanique (ACM) consiste en l'implantation d'une pompe intrathoracique permettant de suppléer la fonction ventriculaire gauche et/ou droite chez les

patients en insuffisance cardiaque dans l'attente d'une récupération, d'une transplantation cardiaque ou à demeure.

Les premiers dispositifs étaient conçus comme des pompes à flux pulsatile (FP) mimant la fonction physiologique cardiaque (ACM-FP de 1<sup>ère</sup> génération).

Pour améliorer la fiabilité, la durabilité et l'autonomie de ces pompes et permettre leur miniaturisation furent développées des ACM à flux continu (ACM-FC) dites de seconde génération (pompes rotatives axiales) puis de 3<sup>ème</sup> génération (pompes rotatives centrifuges) (72). La miniaturisation des composants a même permis de concevoir des ACM-FC temporaires d'implantation percutanée comme l'Impella® (Abiomed®). Ces dispositifs ont démontré leur supériorité en terme d'amélioration de la survie comparativement aux dispositifs de 1<sup>ère</sup> génération aussi bien dans le cadre d'une implantation avant transplantation (73) que dans le cadre d'une implantation à long terme (74). Ainsi, l'ACM repose désormais quasi-exclusivement sur des dispositifs à flux continu (99% des implantations) (75).

Cependant, la transition des ACM-FP au ACM-FC, a été marquée par une augmentation des complications hémorragiques. Les hémorragies digestives associées aux angiodysplasies intestinales sont rapidement apparues comme une complication caractéristique de l'ACM-FC (76), avec une incidence dix fois plus élevée dans les quinze jours suivant l'implantation de ces pompes (63 pour 100 patients-année) comparativement à la génération antérieure d'ACM-FP (6,8 pour 100 patients-année) (77).

## **2. Identification du VWD acquis sous ACM-FC**

Devant ce risque hémorragique accru caractéristique, le déficit des MHPM du VWF sous ACM-FC a rapidement été mis en évidence. Il est observé de façon régulière chez la plupart des patients quel que soit le type d'ACM-FC alors qu'il était très rare sous ACM-FP (78). (cf. annexe

3) (79) (80) (81). Le même phénomène a également été rapporté en association avec les ACM-FC percutanée de type Impella® (82) ou sous ECMO (extracorporeal membrane oxygenation) veino-artérielle (83). Cette perte des MHPM du VWF intervient précocement après implantation d'une ACM-FC (84) et est réversible après sevrage de l'ACM-FC ou après transplantation cardiaque (79).

### **C. Un mécanisme de type 2A**

Ce n'est qu'au début des années 2000 que les travaux sur la régulation du VWF ont permis de proposer un mécanisme physiopathologique aux observations répétées d'anomalies de multimérisation du VWF dans les pathologies cardiovasculaires à forces de cisaillement élevées.

L'excès de protéolyse par l'ADAMTS13 en présence des forces de cisaillement élevées générées par l'orifice aortique sténosé ou par l'ACM-FC rotative apparaît comme le mécanisme principal le plus probable pour expliquer le déficit en MHPM associé à ces deux conditions. Cependant, un mécanisme protéolytique faisant intervenir une autre protéase ne peut être formellement exclu.

#### **1. Identification du mécanisme de type 2A dans le RAo**

La correction parallèle du déficit en MHPM du VWF et/ou du risque hémorragique après remplacement valvulaire aortique a été décrite dans plus de 60 études ou rapports de cas pour un total de plus de 1800 patients (annexe 3).

L'augmentation des fragments de protéolyse du VWF en présence du RAo puis leur diminution après chirurgie valvulaire est un argument supplémentaire (85) en faveur d'un excès de protéolyse par l'ADAMTS13.

Enfin, notre équipe comme d'autres a démontré une corrélation inverse entre le gradient transvalvulaire aortique (reflet de l'intensité des forces de cisaillement) et l'ampleur du déficit en MHPM ( $r=0,56$ ,  $p<0,001$ ) et une corrélation positive avec le TO-ADP ( $r=0,58$ ,  $p<0,001$ ) (86) (87) (88).

## 2. Identification du mécanisme de type 2A dans les ACM-FC

Plusieurs arguments sont également en faveur d'un rôle causal des forces de cisaillement au aVWS par analogie à ce qui est reporté dans le RAO. Les dispositifs d'ACM-FC favoriseraient l'élongation puis la protéolyse des MHPM du VWF lors de leur passage au sein de la pompe. Notre équipe a confirmé expérimentalement le rôle causal des dispositifs d'ACM-FC dans la dégradation des MHPM du VWF à partir d'un modèle in-vitro. Ce modèle consistait en un circuit artificiel relié à une ACM-FC de type HearMate-II® (Thoratec®) et perfusé avec du sang humain. Il existait une dégradation rapide (dès la 5<sup>ème</sup> min) et non réversible des MHPM (14). De plus, l'ampleur du déficit de MHPM était corrélé à la vitesse de rotation de l'ACM-FC (81)(51). L'augmentation concomitante des multimères de bas poids moléculaires et des bandes satellites compatibles est également très en faveur d'un clivage protéolytique (89). Notre équipe a également montré que la dégradation du VWF in vitro dans un modèle d'ACM-FC (HeartMate-II®) ex-vivo est inhibée en présence d'un inhibiteur non-spécifique de l'ADAMTS13 comme l'EDTA, ou d'un anticorps ciblant le domaine D4 du VWF qui contient un exosite critique pour l'interaction initiale entre VWF et ADAMTS13 en conditions de flux (90). Même si nous avons confirmé en milieu purifié que cet anticorps inhibe partiellement la dégradation du VWF par l'ADAMTS13 en présence de forces de cisaillement élevées, son mécanisme d'inhibition n'a pas été caractérisé. L'intervention d'une autre protéase se liant au VWF à proximité du domaine D4 ne peut donc être formellement exclue.

Cette dégradation des MHPM du VWF a été reproduite *ex-vivo* (91) et dans des modèles animaux d'ACM-FC (92) par d'autres équipes.

## **D. Rôle du VWD acquis type 2A dans les hémorragies digestives associées aux angiodysplasies**

Les patients porteurs d'un RAo et ceux implantés d'une ACM-FC partagent une augmentation du risque d'hémorragie digestive associée aux angiodysplasies.

Le rôle du aVWD-type-2A dans l'augmentation de l'incidence de ces complications fait l'objet de nombreux travaux afin de déterminer si le trouble de l'hémostase primaire engendré par la perte des MHPM augmente le risque de saignement de lésions pré-existantes ou si le wVQS-type-2A joue un rôle causal dans l'apparition d'angiodysplasies digestives.

### **1. Au cours du RAo**

Le risque d'hémorragie digestive des porteurs d'un RAo est majoré d'un facteur 3 à 100 comparés aux patients sans valvulopathie. La prévalence exacte des hémorragies digestives par angiodysplasie est difficile à déterminer et varie selon les études et les définitions utilisées de 2,5 à 25% et représenterait 10 à 20% de toutes les complications hémorragiques de cette population (93). Il est possible que cette association entre RAo et angiodysplasie soit au moins partiellement liée au fait que ces deux pathologies partagent des facteurs de risque communs notamment l'âge. Ainsi, Veyradier *et al.* n'ont pas mis en évidence une augmentation de la prévalence des angiodysplasies chez les patients avec RAo mais une augmentation des angiodysplasies compliquées d'hémorragies (60). De même, il a déjà été décrit l'arrêt des saignements mais la persistance des lésions d'angiodysplasie après remplacement valvulaire

aortique (94). Le déficit en MHPM après remplacement valvulaire aortique a été identifié récemment comme un facteur de risque de saignement à long terme (95).

Cependant, la présence de ces lésions muqueuses à la fois chez les patients porteurs d'une VWD type A et chez les jeunes patients atteints de sténose aortique congénitale est en faveur d'un rôle causal, au moins partiel du VWD acquis type 2A dans l'apparition des angiodysplasies intestinales (96).

## **2. Au cours de l'implantation d'ACM-FC**

Les analyses de registre ont démontré que les hémorragies digestives étaient la première cause de complications sous ACM-FC avec une incidence de 0,58 à 1,14 par patient-année chez les patients implantés à demeure (97)(98) . Précisément, les saignements gastro-intestinaux sont identifiés comme la première cause de complications sous ACM-FC et les angiodysplasies digestives comme les lésions anatomiques les plus fréquemment retrouvées (99) (100) (101). Ces complications hémorragiques impactent le pronostic des patients (102). Même les ACM-FC de dernière génération de type HeartMate III se compliquent d'hémorragies digestives avec une incidence toujours élevée de complications hémorragiques atteignant 15,2% à 6 mois (103). L'anticoagulation curative indiquée sous ACM-FC ne permet pas d'expliquer à elle-seule ces manifestations hémorragiques dont la prévalence sous ACM-FC est supérieure à celle observée chez des patients traités par une antiagrégants et anti-vitamine K (77). Par ailleurs, il a été démontré que ce taux de saignement n'était pas non plus expliqué par un surdosage en AVK (79).

A partir des données sur le rôle de régulation négative du VWF sur l'angiogénèse (29), il a été proposé récemment à partir de modèles in vitro et in vivo l'hypothèse selon laquelle les fragments issus de la dégradation protéolytique du VWF puissent altérer directement l'angiogénèse, favoriser l'apparition des anomalies de vascularisation muqueuse et jouer ainsi

un rôle direct et causal dans l'apparition des angiodysplasies (104)(105). Enfin, il a été démontré que les patients avec une pulsatilité résiduelle très basse sous ACM-FC avait un risque de saignement 4 fois plus important que ceux avec une pulsatilité résiduelle élevée suggérant le rôle d'autres composants hémodynamiques dans la modulation de ce risque hémorragique (106).

Au total, alors qu'un aVWS-type-2A est toujours présent sous ACM-FC et très fréquent en cas de RAo, les complications hémorragiques ne touchent qu'une fraction de ces deux populations. Ceci suggère l'existence de mécanismes additionnels, encore non identifiés dans la survenue des manifestations hémorragiques sous ACM-FC.

## **IV. Le facteur von Willebrand un marqueur quantitatif et dynamique des modifications de flux**

### **A. VWF comme un marqueur de flux quantitatif de la sévérité des cardiopathies valvulaires**

#### **1. Valvulopathies sténosantes : un modèle de circuit « en série »**

Afin que l'altération du profil multimérique soit détectable dans le sang périphérique, le volume sanguin soumis à des forces de cisaillement élevées doit représenter une large fraction du volume sanguin global.

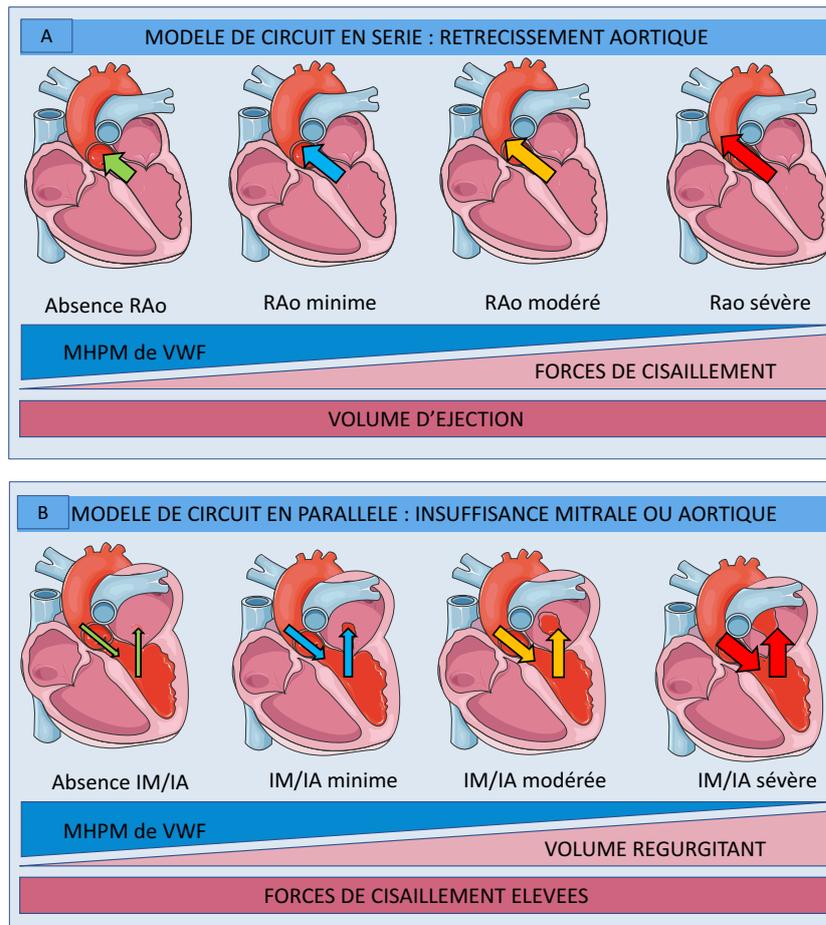
Dans le cadre des cardiopathies valvulaires sénosantes comme le RAo, le sang circule dans un modèle de circuit dit « en série » où le profil multimérique est le reflet du plus haut niveau de forces de cisaillement du circuit puisque la totalité du flux sanguin est soumis aux forces de cisaillement de la valve sténosée. Ainsi, plus le niveau de force de cisaillement est élevé au niveau de la valve (plus le gradient est élevé), plus le degré de multimérisation du VWF est bas. Ceci explique l'excellente corrélation entre l'intensité du déficit en MHPM et la sévérité échographique du RAo observée par de nombreuses équipes (86) (87) (88).

#### **2. Valvulopathies régurgitantes : un modèle de circuit « en parallèle »**

Dans un circuit « en parallèle », le profil multimérique mesuré résulte du mélange du profil multimérique issu de volumes sanguins circulants en parallèle et soumis à différents niveaux de forces de cisaillement. C'est le cas des patients avec des valvulopathies régurgitantes à forces de cisaillement élevées dans lesquelles seulement une fraction du sang, la fraction régurgitée, est soumise à des forces de cisaillement élevées. Dans ce modèle, plus la

proportion de sang soumise aux forces de cisaillement est élevée, plus le déficit en MHPM est important.

Ceci explique la corrélation entre l'intensité du déficit en MHPM et la fraction de régurgitation évaluée par échographie rapportée par l'équipe de Blackshear dans l'insuffisance mitrale et l'insuffisance aortique (107) (52) (Figure 6).



**Figure 6 : Concept du VWF comme marqueur de flux quantitatif de la sévérité dans les cardiopathies valvulaires**

- A) Modèle de circuit en série (valvulopathie sténosante) : les MHPM du VWF sont corrélés inversement au degré de sévérité du RAo par une augmentation progressive des forces de cisaillement (longueur de la flèche) appliqués à un volume sanguin fixe correspondant au volume d'éjection (largeur de la flèche)
- B) Modèle de circuit en parallèle (valvulopathies régurgitantes) : les MHPM du VWF sont inversement corrélés au degré de sévérité de l'insuffisance aortique (IA) ou de l'insuffisance mitrale (IM) par une augmentation progressive du volume régurgité (largeur de la flèche) appliqué à des forces de cisaillement fixe (longueur de la flèche).

## **B. Caractérisation de la dynamique de la multimérisation du VWF selon les conditions de flux**

Weinstein *et al.* ont démontré en 1988 par des analyses per-opératoires que la normalisation des anomalies de multimérisation du VWF d'un remplacement valvulaire se produisait rapidement, dès que la circulation extracorporelle était mise en place et détournait le flux sanguin d'un passage par l'orifice aortique sténosé (59). En 2003, notre équipe avait confirmé cette cinétique de normalisation des MHPM du VWF sur une cohorte de 42 patients atteints de RAo bénéficiant d'un prélèvement sanguin à 3h (n=1) et à J1 (n=42) d'un remplacement valvulaire aortique chirurgical (86).

Basé sur ces travaux cliniques et sur les progrès dans la compréhension de la biophysique du VWF au début des années 2000 (36), notre équipe a émis l'hypothèse que la multimérisation du VWF dans le plasma évoluait très rapidement en réponse aux variations de l'intensité des forces de cisaillement.

Nous avons étudié la cinétique des modifications du profil multimérique du VWF dans différents modèles expérimentaux animaux et humains associés à des variations aiguës des conditions de flux : Dans un modèle lapin de « banding aortique » permettant une sténose aortique réversible, nous avons observé une perte significative des MHPM, cinq et trente minutes après l'induction d'une sténose aiguë. Après réversion instantanée de la sténose, une restauration rapide des MHPM était observée dès cinq minutes et était complète à trente minutes (Figure 7) (51).

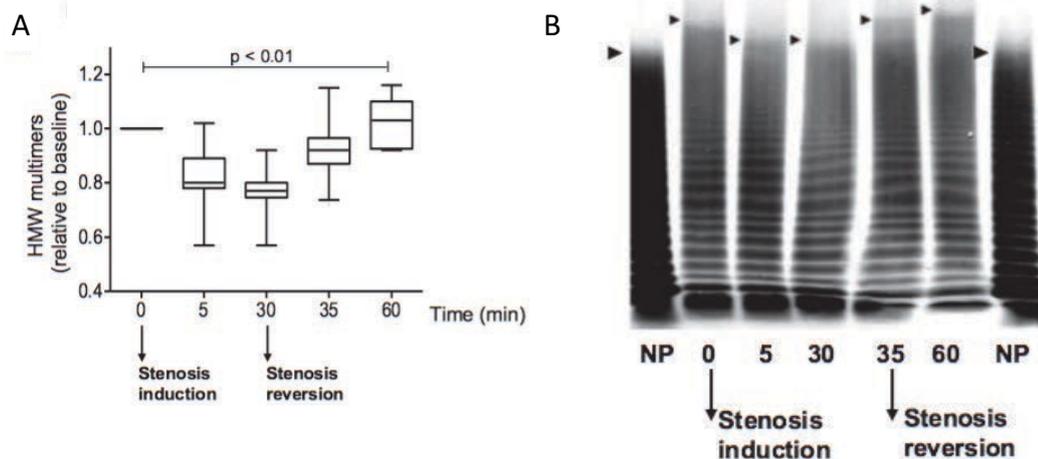


Figure 7 : Dynamique de la perte et de la restauration des MHPM du VWF dans un modèle animal lapin de sténose aortique réversible, d'après Van belle, Rauch *et al.* Circ research 2015 (51).

Chez l'homme, il a été observé des cinétiques identiques : 1) de perte des MHPM dès l'initiation d'une assistance ventriculaire gauche par ACM-FC de type HeartMate-II® chez des patients en insuffisance cardiaque terminale ; 2) et de restauration rapide dès 5 minutes lors du remplacement valvulaire aortique par voie percutanée (TAVI) chez des patients avec un Rao sévère (51).

### C. VWF comme un marqueur qualitatif des modifications de flux

Nous avons également mis en évidence que le degré de restauration du profil multimérique après intervention dépendait de la qualité du traitement correctif du RAo, c'est à dire sa capacité à diminuer les forces de cisaillement. Ainsi nous avons comparé chez 30 patients le traitement par TAVI (n=20) au traitement par valvuloplastie aortique (n=10) (51). Nous avons observé une normalisation rapide en 5 min et complète du profil multimérique chez les patients TAVI (de  $0.51 \pm 0.18$  à  $0.75 \pm 0.24$ ;  $p < 0.001$ ) avec diminution concomitante du gradient

transvalvulaire (de  $50.6 \pm 12.5$  mmHg à  $9.6 \pm 5.1$  mmHg;  $p < 0.0001$ ) contrastant avec une correction modeste du profil multimérique à 5 min ( $0.58 \pm 0.2$  à  $0.66 \pm 0.2$  ;  $p = 0,59$ ) et du gradient transvalvulaire (de  $49.6 \pm 3.8$  mmHg à  $35.6 \pm 13.4$  mmHg;  $p < 0.05$ ) chez les patients traités par valvuloplastie. On notait ainsi une excellente corrélation entre le gradient transvalvulaire post-procédure (reflet des forces de cisaillement) et les MHPM du VWF ( $r = -0.68$ ,  $p < 0.0001$ ).

Nous avons également remarqué que les 4 patients sur 16 dont le profil multimérique n'était pas normalisé en post-procédure TAVI ( $0.74 \pm 0.10$  vs  $1.02 \pm 0.25$ ,  $p = 0.04$ ) présentaient tous des fuites paravalvulaires (FPV) significatives. Une FPV survient lorsque l'apposition de la bioprothèse sur l'anneau aortique n'est pas complet avec une(des) zone(s) de fuite(s) résiduelle(s) permettant la régurgitation du sang à forces de cisaillement élevées à travers le/les orifice(s).

De façon notable, l'étude du TO-ADP montrait une cinétique superposable à celle des VWF-HPM dans les groupes TAVI et valvuloplastie ouvrant la perspective d'un monitoring per-procédure de la qualité de l'intervention de remplacement valvulaire et du diagnostic des FPV.

#### **D. Un mécanisme de relargage du VWF endothélial sensible aux conditions de flux**

Les multimères de VFW n'ont pas la capacité de se remultimériser de façon covalente dans la circulation. Par conséquent, le profil multimérique du VWF circulant dépend de l'équilibre entre le VWF protéolysé et le nouveau VWF sécrété par l'endothélium et les mégacaryocytes.

La normalisation du profil multimérique du VWF circulant après normalisation des forces de cisaillement est trop rapide pour être expliqué uniquement par l'arrêt de la protéolyse.

Nous avons constaté que la normalisation des forces de cisaillement coïncidait avec le relargage concomitant du VWFpp contenu dans les corps de Weibel-Palade attestant d'un relargage endothélial. Le mécanisme de ce relargage n'était cependant pas identifié.

La capacité de l'endothélium vasculaires à réagir à des stimuli physiques a déjà été démontrée. L'exposition de l'endothélium aux forces de cisaillement d'un flux laminaire (14) ou à un « stretch hypertensif » (108) induit un relargage endothélial de VWF par exocytose à partir des corps de Weibel-Palade.

Dans le cadre du traitement du RAO, la correction des forces de cisaillement s'accompagne également de la restauration d'un flux et d'une pulsatilité physiologique (109)

Dans le cadre de l'ACM-FC, un faible niveau de pulsatilité résiduelle est un facteur de risque indépendant de saignement (majoration du risque par 4) (106). Ces arguments indirects permettent d'envisager que la normalisation du flux et de la pulsatilité artérielle puissent participer à ce relargage endothélial de VWF.

## OBJECTIFS

L'étude de l'impact des modifications de flux sur l'hémostase notamment sur le facteur Willebrand (VWF) en pathologie cardiovasculaire ou après mise en place de dispositifs médicaux est une thématique de l'équipe 2 INSERM U1011 depuis plus de 15 ans.

Le VWF est une glycoprotéine plasmatique synthétisée et sécrétée par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes sous forme multimérique. Cette molécule a un rôle clé dans l'initiation de l'hémostase primaire grâce à sa structure multimérique. La conformation du VWF circulant est sensible aux conditions hémodynamiques notamment aux forces de cisaillement. En réponse à une augmentation des forces de cisaillement, le VWF passe d'une conformation globulaire circulante à une conformation dépliée et devient ainsi sensible à la protéolyse de l'ADAMTS13. Cette caractéristique de régulation unique est décrite comme un mécanisme mécano-enzymatique (10). De plus le VWF est une des protéines de la réponse endothéliale à l'activation et à l'agression vasculaire.

Le RAo est associé à des perturbations du flux sanguin en générant à travers l'orifice sténosé, une élévation des forces de cisaillement et une diminution de la pulsatilité artérielle. Une autre situation générant de manière caricaturale des anomalies de flux est la mise en place d'une ACM-FC. Ces dispositifs génèrent des forces de cisaillement élevées et produisent un flux continu non physiologique avec une diminution de la pulsatilité artérielle.

Les travaux précédents de l'équipe 2 INSERM U1011 ont permis de démontrer que ces 2 situations étaient associées à un aVWS, c'est à dire à une perte des MHPM favorisée par un excès de protéolyse en raison de l'élévation des forces de cisaillement (86)(79). Nous avons également observé le caractère réversible des anomalies de multimérisation du VWF après traitement du RAo.

Plus récemment, nous avons également observé la normalisation du déficit en MHPM après traitement du RAo par TAVI et diminution concomitante des forces de cisaillement (51). Cependant, nous avons également démontré que lors de deux situations associées à une persistance des forces de cisaillement élevées persistaient des anomalies de multimérisation du VWF: i) en cas de traitement partiel du RAo par valvuloplastie au ballon ; ii) en cas d'intervention TAVI compliqué d'une FPV. Cette observation ouvrait la voie à une évaluation qualitative de ce type de procédure par le VWF.

Nous avons également mis en évidence le caractère dynamique des anomalies de multimérisation du VWF. En effet, nous avons observé une cinétique de variation très rapide du profil multimérique du VWF en réponse aux modifications aiguës d'anomalies de flux et d'intensité des forces de cisaillement. Ainsi, sur un modèle lapin avec sténose aortique réversible, nous avons démontré une normalisation rapide en quelques minutes du profil multimérique du VWF après levée de l'obstacle et normalisation des forces de cisaillement. De même, en cas de traitement efficace du RAo par procédure TAVI, nous avons observé la normalisation en quelques minutes de ces anomalies en cas de correction du gradient. Cette normalisation rapide suggérait fortement que l'arrêt de la protéolyse du VWF ne pouvait être le seul mécanisme impliqué dans la normalisation rapide du profil multimérique. Un relargage endothélial de VWF a été identifié par une augmentation concomitante du propeptide du VWF.

Néanmoins, ni la causalité ni le mécanisme impliqué dans le relargage endothélial n'étaient identifiés. Plusieurs arguments indirects permettaient d'envisager que la combinaison de la normalisation du flux et de la restauration de la pulsatilité artérielle pouvaient participer à cette réponse endothéliale : i) Le RAO est associé à une diminution de la pulsatilité artérielle et sa correction à une normalisation (109); ii) un faible niveau de pulsatilité résiduelle est un facteur de risque de saignement sous ACM-FC (majoration du risque par 4) (106) ; iii) La capacité de l'endothélium vasculaire à réagir à des stimuli physiques a déjà été démontrée puisque l'exposition in vitro de l'endothélium aux forces de cisaillement d'un flux laminaire (14) ou à un « stretch hypertensif » (108) induit un relargage endothélial de VWF par exocytose à partir des corps de Weibel-Palade.

Nous avons dans un premier temps développé un nouveau modèle animal afin d'identifier par une étude expérimentale le rôle de la pulsatilité artérielle dans le mécanisme de relargage endothélial (objectif numéro 1).

La compréhension de ce mécanisme nous a permis de conceptualiser le VWF comme un outil d'évaluation de la qualité de l'utilisation de ces dispositifs cardiovasculaires comme lors d'une procédure TAVI. Nous avons donc souhaité mettre en place la preuve de ce concept chez l'homme en évaluant les capacités de l'analyse multimérique du VWF et du TO-ADP dans le diagnostic des FPV lors des procédures TAVI (objectif numéro 2).

Enfin, nous avons envisagé d'évaluer l'impact clinique de l'utilisation de ces analyses du VWF dans l'amélioration des résultats procéduraux et cliniques. Nous avons donc conçu le design d'une nouvelle étude multicentrique permettant d'évaluer l'intérêt de la mise à disposition d'un marqueur biologique de flux lors des procédures TAVI (objectif numéro 3).

### **Chapitre numéro 1 :**

Dans la première partie de ce travail nous avons développé un modèle *ex-vivo* et plusieurs modèles animaux porcins afin d'évaluer si le niveau de pulsatilité résiduelle pouvait moduler le profil multimérique du VWF dans un contexte de forces de cisaillement élevées sous ACM-FC par l'intermédiaire d'une stimulation du relargage endothélial du VWF.

### **Chapitre numéro 2 :**

Dans la deuxième partie de ce travail nous avons développé la cohorte prospective WITAVI (NCT02628509) afin d'évaluer l'utilité du VWF et du TO-ADP comme biomarqueurs d'anomalie de flux pour le diagnostic des FPV lors des procédures de traitement du RAO par TAVI.

### **Chapitre numéro 3 :**

Dans la troisième et dernière partie de ce travail nous avons conçu un essai clinique permettant d'évaluer l'impact de son utilisation dans l'amélioration des résultats procéduraux et cliniques des procédures TAVI.

**CHAPITRE 1 : ARTERIAL PULSATILITY AND CIRCULATING VON WILLEBRAND FACTOR IN  
PATIENTS ON MECHANICAL CIRCULATORY SUPPORT**

**Publication 1: Vincent F**, Rauch A, Loobuyck V, Robin E, Nix C, Vincentelli A, Smadja DM, Leprince P, Amour J, Lemesle G, Spillemaeker H, Debry N, Latremouille C, Jansen P, Capel A, Moussa M, Rousse N, Schurtz G, Delhayé C, Paris C, Jeanpierre E, Dupont A, Corseaux D, Rosa M, Sottejeau Y, Barth S, Mourran C, Gomane V, Coisne A, Richardson M, Caron C, Preda C, Ung A, Carpentier A, Hubert T, Denis C, Staels B, Lenting PJ, Belle EV, Susen S.. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018;71:2106–2118.

Le facteur willebrand (VWF) est une protéine multimérique de haut poids moléculaire circulante ayant un rôle clé dans l'hémostase primaire. La conformation de cette protéine est sensible aux forces de cisaillement auxquels elle est soumise au sein du flux sanguin. Sous l'influence de forces de cisaillement élevées, cette protéine passe d'une conformation globulaire à l'état basal à une conformation dépliée permettant son clivage par ADAMTS 13, ce qui aboutit à une diminution des multimères de hauts poids moléculaires (MHMPM) du VWF. De nombreuses pathologies et/ou dispositifs cardiovasculaire (comme les assistances circulatoires à flux continu, ACM-FC) majorent les forces de cisaillement au sein du flux sanguin et aboutissent à une perte des multimères de haut poids moléculaire (MHMPM) du VWF. Ces situations modifient également fortement la pulsatilité artérielle. Nous avons observé une cinétique de variation très rapide du profil multimérique du VWF provoqué par un relargage endothélial de VWF en réponse aux modifications aiguës d'intensité des forces de cisaillement provoquées par le traitement du rétrécissement aortique (RAo). Le rôle de la pulsatilité artérielle dans la restauration du profil multimérique du VWF était suspecté mais n'avait jamais été étudié dans un modèle expérimental in vivo(109)(14)(108).

Pour isoler le rôle de la pulsatilité artérielle en condition de forces de cisaillement élevées, nous avons développé plusieurs modèles animaux porcins en utilisant la position intra-ventriculaire gauche ou intra-aortique d'une ACM-FC transcathéter (Impella®).

Nous avons ainsi observé une sécrétion du VWF par l'endothélium vasculaire en réponse à la restauration d'une pulsatilité artérielle permettant de diminuer l'impact des forces de cisaillement sur la perte des MHMPM provoquées par les forces de cisaillement élevées.

Puis nous avons rapporté le cas clinique d'un patient implantés par différents types d'ACM-FC et ACM à flux pulsatile reproduisant différentes séquences de variation de pulsatilité. Nous

avons observé la rapide dégradation des MHPM du VWF sous ACM-FC puis leur normalisation rapide après implantation d'un ACM-FP.

Ces résultats nous ont permis d'améliorer notre compréhension du phénomène de restauration rapide des MHPM lors de l'utilisation de dispositifs cardiovasculaires modifiant à la fois les forces de cisaillement et le niveau de pulsatilité comme cela est le cas lors des procédures TAVI.

Ces résultats sont également encourageants car ils ont permis d'identifier la pulsatilité comme une potentielle voie de travail pour limiter l'impact du syndrome de Willebrand acquis chez les patients implantés par les dispositifs cardiovasculaires comme les ACM afin de diminuer leur diathèse hémorragique.

## CHAPITRE 2 :

### VON WILLEBRAND FACTOR MULTIMERS DURING TRANSCATHETER AORTIC-VALVE REPLACEMENT

**Publication 2:** Van Belle E, Rauch A, **Vincent F**, Robin E, Kibler M, Labreuche J, Jeanpierre E, Levade M, Hurt C, Rousse N, Dally J-B, Debry N, Dallongeville J, Vincentelli A, Delhaye C, Auffray J-L, Juthier F, Schurtz G, Lemesle G, Caspar T, Morel O, Dumonteil N, Duhamel A, Paris C, Dupont-Prado A, Legendre P, Mouquet F, Marchant B, Hermoire S, Corseaux D, Moussa K, Manchuelle A, Bauchart J-J, Loobuyck V, Caron C, Zawadzki C, Leroy F, Bodart J-C, Staels B, Goudemand J, Lenting PJ, Susen S. *New England Journal of Medicine*. 2016;375:335–344.

La compréhension du rôle de la pulsatilité artérielle dans la dynamique de restauration rapide des multimères de haut poids moléculaire du facteur von Willebrand (VWF) (chapitre 1) a permis de conceptualiser le VWF comme un outil d'évaluation de la qualité de l'utilisation de ces dispositifs cardiovasculaires comme lors d'une procédure TAVI.

Nous avons donc souhaité mettre en place la preuve de ce concept chez l'homme en évaluant les capacités de l'analyse multimérique du VWF et du test de diagnostic rapide sensible aux anomalies de multimérisation du VWF (TO-ADP) dans le diagnostic des fuites paravalvulaires (FPV) lors des procédures TAVI.

Nous avons développé la cohorte prospective WITAVI (NCT02628509) afin d'évaluer l'utilité du VWF et du TO-ADP pour le diagnostic des FPV lors des procédures de traitement du RAO par TAVI. Cette étude de performance diagnostique a inclus une première cohorte monocentrique de 183 patients (cohorte primaire) bénéficiant d'un TAVI et d'une échographie trans-oesophagienne pour le diagnostic de FPV significative définies de grade  $\geq$ modéré. Une analyse par courbe ROC a montré une aire sous la courbe de 0,93 (IC 95%, 0,87 – 0,98). Le seuil optimal était de 180 sec et permettait d'avoir une sensibilité de 92.3% (24/26), une spécificité de 92.4% (145/157), et une valeur prédictive négative de 98.6% (145/147) pour le

diagnostic de FPV en échographie trans-oesophagienne. Dans le même travail, nous avons intégré une deuxième cohorte multicentrique (CHU Toulouse et CHU Strasbourg) (cohorte de validation) qui a validé le seuil optimal de 180 sec. De plus le TO-ADP>180 sec post-procédure avait une forte valeur pronostique avec un risque de mortalité augmenté d'un facteur 3,5. Cette étude observationnelle a montré la capacité du VWF pour monitorer de manière fiable les procédures TAVI et offrait la possibilité d'envisager secondairement l'utilité de l'utilisation de ces outils en pratique clinique dans une étude interventionnelle

### CHAPITRE 3 :

#### POINT-OF-CARE HAEMOSTASIS TESTING OF VON WILLEBRAND FACTOR FUNCTION TO IMPROVE REAL-TIME MANAGEMENT OF PARAVALVULAR REGURGITATION DURING MINIMALLY INVASIVE TAVI : WITAVI-REAL TRIAL

##### **Publication 3 (soumis à l'american heart journal):**

**Flavien Vincent**<sup>1,2</sup>, MD; Antoine Rauch<sup>1,3</sup>, MD, PhD; Philippe Pibarot<sup>4</sup>, DVM, PhD; Julien Labreuche<sup>5</sup>, PhD; Emmanuelle Jeanpierre<sup>3</sup>, PharmD; Valentin Loobuyck<sup>6</sup>, MD; Cedric Delhay<sup>2</sup>, MD; Augustin Coisne<sup>1</sup>, MD, PhD; Mouhamed Moussa<sup>7</sup>, MD, PhD; François Pontana<sup>8</sup>, MD, PhD; PhD; Géraud Souteyrand<sup>9</sup>, MD, PhD; Florence Leclercq<sup>10</sup>, MD, PhD; Olivier Morel<sup>11</sup>, MD, PhD; Thibault Lhermusier<sup>12</sup>, MD, PhD; Hervé Le Breton<sup>13</sup>, MD, PhD; Jean-Philippe Collet<sup>14</sup>, MD, PhD; Lionel Leroux<sup>15</sup>, MD; Annabelle Dupont<sup>1,3</sup>, MD, PhD; Peter J. Lenting<sup>16</sup>, PhD; Sophie Susen<sup>1,3</sup>, MD, PhD; Eric Van Belle<sup>1,2</sup>, MD, PhD;

Le traitement du rétrécissement aortique par implantation d'une bioprothèse par voie transcathéter (TAVI) est désormais le traitement de référence pour les patients à haut risque opératoire. La fuite paravalvulaire (FPV) est une complication qui reste relativement fréquente (5-10%) en pratique clinique malgré les améliorations technologiques facilitant le positionnement des valves et l'évaluation systématique pré-implantatoire par scanner aortique des mesures de l'anneau aortique (110). La procédure TAVI s'est également simplifiée. Désormais deux tiers des interventions sont réalisées sous anesthésie locale et par voie transfémorale. Ces procédures sont appelées TAVI mini-invasives. L'évaluation de la FPV est délicate dans la salle de cathétérisme. D'une part, car l'absence d'anesthésie générale limite l'utilisation de l'échographie trans-oesophagienne qui reste la meilleure méthode à disposition dans la salle d'intervention. D'autre part, car les fuites sont paravalvulaires ce qui rend les méthodes habituelles de détection de la fuite peu performantes pour analyser et quantifier des jets de régurgitation multiples et excentrés. Notre étude WITAVI (chapitre 2) a montré l'excellente capacité de l'analyse électrophorétique de la multimérisation du VWF et du test de diagnostic rapide sensible aux anomalies de multimérisation du VWF (TO-ADP) pour le diagnostic des FPV(55). Ce test a l'avantage d'être facilement disponible, reproductible et réalisable en salle de cathétérisme avec un simple prélèvement sanguin. Il pourrait donc permettre de sécuriser les procédures TAVI mini-invasives (annexe 1 et 2)(111)(112).

Nous avons développé dans le chapitre 3 un essai clinique randomisé multicentrique afin d'évaluer l'impact procédural et clinique de l'utilisation de ce test TO-ADP en salle de cathétérisme pour diminuer les FPV et optimiser les procédures TAVI mini-invasives.

Cet essai nommé WITAVI-REAL (NCT03728049) a obtenu un financement auprès du programme hospitalier pour la recherche clinique (PHRC) 2017. Les inclusions débuteront au premier semestre 2019.

Point-of-care haemostasis testing of Von Willebrand factor function to improve  
real-time management of paravalvular regurgitation during minimally invasive  
TAVI: WITAVI-REAL Trial

Flavier Vincent<sup>1,2</sup>, MD; Antoine Rauch<sup>1,3</sup>, MD, PhD; Philippe Pibarot<sup>4</sup>, DVM, PhD; Julien Labreuche<sup>5</sup>, PhD; Emmanuelle Jeanpierre<sup>3</sup>, PharmD; Valentin Loobuyck<sup>6</sup>, MD; Cedric Delhaye<sup>2</sup>, MD; Augustin Coisne<sup>1</sup>, MD, PhD; Mouhamed Moussa<sup>7</sup>, MD, PhD; François Pontana<sup>8</sup>, MD, PhD; PhD; Géraud Souteyrand<sup>9</sup>, MD, PhD; Florence Leclercq<sup>10</sup>, MD, PhD; Olivier Morel<sup>11</sup>, MD, PhD; Thibault Lhermusier<sup>12</sup>, MD, PhD; Hervé Le Breton<sup>13</sup>, MD, PhD; Jean-Philippe Collet<sup>14</sup>, MD, PhD; Lionel Leroux<sup>15</sup>, MD; Annabelle Dupont<sup>1,3</sup>, MD, PhD, Peter J. Lenting<sup>16</sup>, PhD; Sophie Susen<sup>1,3</sup>, MD, PhD; Eric Van Belle<sup>1,2</sup>, MD, PhD

<sup>1</sup>Inserm, U1011, Univ. Lille, U1011 - EGID, Institut Pasteur de Lille, F-59000 Lille, France

<sup>2</sup>CHU Lille, Cardiology, F-59000 Lille, France

<sup>3</sup>CHU Lille, Hematology and Transfusion, F-59000 Lille

<sup>4</sup>Department of Medicine, Institut Universitaire de Cardiologie et de Pneumologie de Québec, Laval University, 2725 Chemin Ste-Foy, G1V-4G5, Québec, Canada

<sup>5</sup>Department of Biostatistics, Centre Hospitalier Universitaire, Lille, France;

<sup>6</sup>CHU Lille, Cardiac surgery, F-59000 Lille, France

<sup>7</sup>CHU Lille, Anesthesiology and intensive care unit, F-59000 Lille, France

<sup>8</sup>CHU Lille, Radiology, F-59000 Lille, France

<sup>9</sup>Cardiology Department, CHU Clermont-Ferrand, CNRS, ISIT-CAVITI, UMR 6284

<sup>10</sup>CHU Montpellier, Cardiology, F-34000 Montpellier, France

<sup>11</sup>Université de Strasbourg, Pôle d'Activité Médico-Chirurgicale Cardio-Vasculaire, Nouvel Hôpital Civil, CHU, Strasbourg, France

<sup>12</sup>Department of cardiology, Rangueil university hospital, F-31059 Toulouse, France

<sup>13</sup>Cardiology and Vascular Diseases Service, Pontchaillou University Hospital Center, Center for Clinical Investigation 804, University of Rennes 1, Signal and Image Treatment Laboratory (LTSI), National Institute of Health and Medical Research U1099, Rennes, France

<sup>14</sup>Sorbonne Université, ACTION Study Group, INSERM UMR\_S 1166, Institut de Cardiologie, Pitié-Salpêtrière Hospital (AP-HP), Paris, France

<sup>15</sup>Department of Interventional Cardiology, Cardiology Hospital of the Haut-Lévêque, University of Bordeaux, Pessac, France;

<sup>16</sup>Inserm, UMR\_S 1176, Univ. Paris-Sud, Univ. Paris-Saclay, Le Kremlin-Bicêtre, France

Word count : 5651

Keywords : Von Willebrand factor, Point-of-care testing, Biomarker, Paravalvular regurgitation; aortic stenosis; aortic regurgitation; Transcatheter aortic valve replacement

## ABSTRACT

*Rationale:* Paravalvular regurgitation (PVR) is a major complication of Transcatheter Aortic Valve Implantation (TAVI) associated with an increased risk of mortality. Transesophageal echocardiographic (TEE) is considered as the gold standard to assess PVR. However, TEE utilization is decreasing because of the strong trend towards mini-invasive TAVR in which the procedure is simplified and preclude TEE guidance. Several studies raised concerns on the safety of this approach regarding the high PVR rate that could be related to less comprehensive imaging. A recent study reported that a blood biomarker reflecting the Von Willebrand factor (VWF) activity, *i.e.* the closure time with adenosine diphosphate (CT-ADP), can be successfully applied during the TAVI procedure to detect PVR.

*Design:* WITAVI-REAL is a multicenter Open-Label Randomized controlled clinical trial including 944 patients with severe aortic stenosis undergoing TAVI with mini-invasive approach: *i.e.* transfemoral access and no TEE guidance (Clinicaltrial.gov NCT03728049). Patients will be 1:1 randomly assigned to undergo either TAVI with standard methods of PVR assessment (transthoracic echocardiography and/or angiography and/or hemodynamic, excluding TEE) (Control Group) or TAVI with CT-ADP measurement on top of standard methods (CT-ADP Group).

The primary efficacy endpoint is the composite 1-year event rate of death; PVR  $\geq$  moderate; rehospitalization; stroke; delayed valve re-intervention; mean transaortic gradient  $>20$ mmHg according to the VARC-2 definitions

*Conclusion:* WITAVI-REAL tests the superiority of the use of point-of-care CT-ADP testing on top of standard methods of PVR assessment compared to standard methods alone to improve the procedural and clinical outcomes during mini-invasive TAVI.

## INTRODUCTION

The excellent low paravalvular regurgitation (PVR) rate (approximately 4%) reported with the latest generation of transcatheter heart valves (THV) (*ie.* PARTNER II SAPIEN 3 and CoreValve Evolut R U.S. studies<sup>1,2</sup>) have been achieved mainly with transesophageal echocardiography (TEE) guidance during procedure to optimize outcomes.

However, significant PVR is not infrequent in clinical practice and remains a major issue preventing the generalization of TAVR to all-comer patients because associated with a 2.5-fold increase mortality risk<sup>13</sup>. Thus, prompt and real-time detection of PVR is of paramount importance and have to be done within minutes in the catheterization laboratory to allow its correction during the ongoing intervention.

Cine-angiography, hemodynamic, transesophageal echocardiography (TEE) and transthoracic echocardiography (TTE), used individually or in combination, are currently the standard methods to evaluate PVR during TAVR, each with their own limitations<sup>45</sup>. TEE is the gold standard to assess the presence and severity of PVR but requires generally a general anesthesia (GA)<sup>6</sup> and a strong expertise as many echocardiography criteria are not applicable in the context of PVR because of typically multiple, irregular, and/or eccentric jets<sup>7</sup>. Thus, this technique is currently underused because the TAVR procedure has been simplified and mainly performed with mini-invasive approach, *ie.* no TEE guidance and percutaneous transfemoral access<sup>8</sup>.

However, several real-life observations raised concerns on the safety of this attractive approach regarding the risk of PVR. FRANCE-2 registry<sup>9,10</sup> detected a significantly higher incidence of PVR in the conscious sedation group (without TEE) as compared to the GA group (with TEE). In a large Brazilian registry, the use of TEE was associated with a 2-fold reduction in mortality<sup>11</sup>. The recent FRANCE-TAVI registry<sup>8</sup> reported a PVR rate of 9% showing the incapacity to replicate in clinical practice the excellent outcomes of randomized controlled studies. The absence of TEE in most of the procedure may partially contribute to the poorer outcomes

combined with other factors such as higher risk patient or no MDCT core-laboratory valve sizing.

We have previously reported the capacity of von Willebrand Factor (VWF) biomarkers (VWF multimers and the closure time with adenosine diphosphate (CT-ADP)) to detect PVR and monitor its correction in real-time<sup>12</sup>. VWF is a large multimeric glycoprotein involved in hemostasis whose activity is mainly supported by high-molecular-weight multimers (HMW-multimers). The unique property of VWF to be sensitive to the increased shear-stress of the turbulent flow generated through the stenosis promotes the unfolding of the VWF and its exposure to the cleaving protease ADAMTS13 resulting in HMW-multimers loss and decrease of functional activity<sup>13</sup>. Such defect is corrected within minutes after valve replacement<sup>14,15</sup> but do not resolve when PVR occurs because of the high shear-stress generated by the regurgitant flow.

The point-of-care (POC) CT-ADP testing Platelet Function Analyzer 100/200 (PFA-100/200, Siemens Healthcare Diagnostics) reflects VWF activity because is highly sensitive to HMW-multimers defect which causes a prolongation of the CT-ADP.

The advantage of point-of-care CT-ADP testing is that it is designed as a compact instrument, automatically-calibrated, making its use by catheterization laboratory nurses after a short training possible<sup>16</sup>.

In our cohort of 183 patients undergoing TAVR (WITAVI cohort), HMW-multimers and CT-ADP>180sec discriminated respectively patients with or without moderate or severe PVR with a negative predictive value of 98.7% and 98.6% respectively. These results were replicated in a multicentric cohort of 201 patients showing a negative predictive value of 96.9% for CT-ADP<sup>12</sup>.

The normalization of CT-ADP occurred within 10 min after PVR correction by additional valve dilatation. This dynamic relationship allows a fast evaluation for PVR during the procedure and may be helpful to reveal the need for PVR corrective procedures that were not initially planned on the basis of standard methods of evaluation and also to avoid unnecessary procedures<sup>4</sup>.

### **Hypothesis**

We hypothesize that the measurement of CT-ADP during TAVI performed without TEE guidance can improve the detection and the grading of PVR as assessed by standard methods (excluding TEE) and thus the procedural and clinical outcomes (primary objective) without compromising the safety of the procedure (secondary objective).

### **Study design**

WITAVI-REAL (Clinicaltrial.gov identifier: NCT03728049) is a prospective multicenter open-label randomized (1:1) controlled clinical trial with two parallel arms involving 8 high-volume centers in France that is enrolling 944 patients followed-up for one year. Enrollment is expected to be completed by the second half of 2021. The follow-up completion of the study is expected by the second half of 2022.

### **Objectives**

The primary objective of WITAVI-REAL is to demonstrate the superiority of the use of point-of-care CT-ADP testing on top of standard methods of PVR assessment compared to standard methods alone to improve the overall rate of procedural and clinical outcomes as measured by the occurrence of any event of the composite endpoint of death, PVR  $\geq$  to moderate, rehospitalization for heart failure, stroke (transient or definite), delayed valve re-intervention, mean transaortic gradient  $>20$ mmHg over one year of follow-up according to VARC-2 definitions.

The secondary objectives of the WITAVIREAL trial are to compare between the two groups the individual procedural and clinical outcomes at 1 year; the combined and individual procedural and clinical outcomes at 30 days; the safety of the procedure.

### **Study population and methods**

All patients scheduled to undergo mini-invasive TAVI at any of the participating centers and fulfilling the inclusion criteria will be eligible for entry in the study. The decision to undertake TAVI will be made by the local heart team. TAVI must be performed via mini-invasive approach defined as: percutaneous transfemoral access route and no TEE guidance. All types of anesthesia (local, conscious sedation or general) are accepted. Inclusion and exclusion criteria are summarized in Table 1.

### **Randomization**

Randomization should only occur once subject eligibility is confirmed. Randomization is performed at the study center by the investigator once the patient has consent to participate to the study, and before the TAVI procedure. Assignment to study arm is based on the

randomization list drafted by the sponsor and implemented into the eCRF. Randomization procedure is centralized and stratified by center. The 1:1 assignment sequence (based on blocks of variable size and the use of a computer random-number generator) is produced by the statistics department at Lille University Hospital (Lille, France). The randomization lists are not disclosed to study centers, monitors, project statistician or to the project team. Randomization assigned patients to control group or CT-ADP group.

### **Assignment group**

#### *Control group*

Patients assigned to the control group have PVR assessment with standard methods only. Standard methods refer to individual or combined assessment with TTE; cine-angiography; hemodynamics according to operator preference but exclude the use of TEE. CT-ADP is not performed in the catheterization laboratory and is not provided to the operator at the time of TAVI. The decision to undertake corrective procedure is left at the discretion of the operator according to the results of the standard methods of PVR assessment.

#### *CT-ADP group*

Patients assigned to the CT-ADP group have PVR assessment with standard methods (as defined above) and CT-ADP. CT-ADP is provided to the operator in real-time during TAVI after valve implantation. The decision to undertake corrective procedure is based on the outcomes of the CT-ADP on top of the standard methods of PVR assessment (Figure 1).

### **Protocol during TAVI procedure**

All the patients undergo routine transfemoral TAVI procedure. First blood sample is drawn at the beginning of the procedure. *For all the patients*, after valve deployment, presence and severity of PVR is assessed by standard methods according operator preference and local

availability. Second blood sample (T5) is drawn following this evaluation and at least 5 minutes after valve deployment.

*In the control group*, blood is sent to the local biological laboratory of the investigating center. No measurement of CT-ADP is made in the catheterization laboratory and CT-ADP is not provided to the operator.

*In the CT-ADP group*, CT-ADP is measured with PFA-200 analyzer embedded in the catheterization laboratory and revealed immediately to the operator who is invited to take the decision concerning PVR management strategy: *i.e.* to perform or not a corrective procedure. If the CT-ADP is prolonged at T5, the operators are invited to perform additional and more comprehensive imaging including repeated TTE and/or TEE and/or angiography and/or hemodynamics to assess the presence and severity of PVR as well as the presence of residual high transaortic gradients. The operators are strongly encouraged to perform corrective procedures if significant PVR and/or high residual gradients are confirmed with additional imaging assessment post CT-ADP. The corrective procedures refers to the techniques used to treat PVR including post-dilation, second valve implantation or PVR closure according of operator's choice. The final decision to undertake or not corrective maneuver will be based on all available data including imaging data and the CT-ADP value and will be left at the discretion of the operator.

Overall, during the procedure, blood samples will be drawn for all the patients at 3 time points: *T0*: The first sampling (baseline) will be performed before the insertion of the delivery catheter and after heparin injection through the secondary access sheath; *T5*: at least 5 min after valve deployment; *Tfinal*: 5 min after removal of the delivery sheath and closure of the femoral artery. If required by the physician, the corrective procedure will be performed between T5 et Tfinal.

### **Follow-up**

On-site visits are planned at days 30 and at one year after TAVI procedure. Events are taken into account from randomization to one year follow-up. A TTE is planned at 30 days and 1 year after TAVI for the hemodynamic assessment of the valve implantation (mean gradient, PVR degree). A blood sample is planned at 30 days and 1 year (Figure 2).

### **Study endpoints**

The primary efficacy endpoint is a composite 1 year event rate of all-cause death, paravalvular regurgitation  $\geq$  moderate, rehospitalization for heart failure, all stroke (transient or definite), delayed valve re-intervention, mean transaortic gradient  $>20$ mmHg. The main secondary endpoints evaluate the individual event rate of the components of the primary efficacy endpoint at 1 year. The other secondary endpoints include the combined and individual event rate of the components of the primary efficacy endpoint at 30 days; and the combined and individual event rate of the following individual safety endpoints during TAVI procedure: aortic injury, coronary artery occlusion, tamponade, all stroke (transient or definite). All the endpoints are defined according to VARC-2 definitions.

### **Sample size calculation**

The sample size was calculated to show the superiority of the CT-ADP evaluation (on top of standard methods of PVR assessment versus standard methods only (control group)). In the recent literature, the PARTNER II S3 trial showed a composite event rate of 20,7% at 1 year of the following individual components: all-cause mortality (14,4%), All Stroke (4,3%), PVR superior or equal to moderate (2,6%)<sup>17</sup>. In this trial, the rehospitalization rate at 1 year was 17,1%. According to other recently published data of TAVI registries and studies<sup>2,8,18-22</sup> with the SAPIEN 3 or Evolut R valves, the 1-year rate of PVR is estimated at 3-10,9% for  $\geq$  moderate PVR and mean transaortic gradient  $> 20$ mmHg at 10-15%. The rate of PVR  $\geq$  moderate is known to be strongly associated with poor clinical outcomes including all-cause mortality and

rehospitalization<sup>10</sup>. Based on these data, the estimated rate of the primary end-point rate is 25% for the control Group is thus realistic and conservative. Thus, to demonstrate that the use of CT-ADP guidance decreased this rate by 30% (relative reduction) in the CT-ADP group, we calculated that 472 patients per arm will be required with a two-sided logrank test (total time= follow-up time =1 year, alpha=5%, power=80%) and assuming 5% of attrition in each arm.

### **Biological analyses**

During the study, blood samples will be drawn for all the patients at 3 time points during the procedure then once at 1 month and at 1 year. Yearly blood sample will be performed only for patients of the WITAVI-REAL Extension substudy.

**CT-ADP** measurement is performed on anticoagulated whole blood with the INNOVANCE PFA-200 system (Siemens Healthineers, Marburg, Germany) and is measured:

- For the CT-ADP group: in real-time during TAVI procedure with the analyzer embedded in the catheterization laboratory
- For the control group: at the biological laboratory of the investigating center.

PFA-200 system consists of an analyzer and a test cartridge device where the platelet adhesion and aggregation process under high shear-stress following a vascular lesion is simulated in vitro<sup>23,24</sup>. The platelet aggregation process forms a platelet thrombus at the aperture of the cartridge test, gradually reducing blood flow to complete cessation. The system monitor the time from the start of the test until the platelet obstructs the aperture and signals this time interval as closure time (CT). The closure time is an indicator of platelet function dependent on the von willebrand factor multimerization. Overall, the total time required to obtain CT-ADP measurement is the addition of the 180 secs of incubation and the CT-ADP (<10min). Catheterization laboratory teams of each investigating centers (nurses, radiology technicians,

physicians) followed prior the beginning of the study a dedicated training course and are fully skilled for the use of the analyzer in order to ensure accurate measurability and reproducibility of the CT-ADP.

### ***VWF parameters***

The biological exploration of VWF is performed on platelet poor plasma (PPP) obtained after centrifugation of whole blood (2000 g, 15 min) sampled in tubes containing 0.105 M sodium citrate (1:9 v/v). PPP is aliquoted, frozen and stored at -80°C until transfer to the biological core laboratory in Lille, France, for analyses.

*VWF activity* (Ratio of VWF collagen binding activity to VWF antigen): *VWF antigen* levels is measured by immunoturbidimetry (VWF:Ag, Siemens®). VWF activity is assessed by an ELISA collagen-binding assay (VWF: CB) with the use of equine type I/III collagen (Horm; Nycomed, Oslo, Norway) <sup>25</sup>.

*Von willebrand factor multimeric analyses*: This gold standard method to assess multimeric structure of VWF, is used as a control of the CTADP and is only performed in France in Lille laboratory. VWF is analyzed by electrophoresis with 0.1 percent sodium dodecyl sulfate and 1.5 percent agarose gel. The percentage of the HMW-multimers (more than 15 mers) is determined after densitometric scanning, as previously described <sup>14</sup>.

*VWF activated*: VWF antigen levels is quantified as described above. Microtiter wells are coated with nano body directed against VWF in its active conformation equivalent to sheared-VWF. The ratio between the slope for the different plasma samples over the slope for NPP is designated activation factor. All patient plasma is measured in at least 2 individual experiments.

### **Statistical analyses**

Statistical analyses will be independently performed by the Biostatistics Department of CHRU of Lille. Data will be analyzed using the SAS software (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) and

all statistical tests will be performed with a 2-tailed alpha risk of 0.05. All analyses will be performed in all randomized patients based on their original group of randomization, according to the intention-to-treat principle. No interim analysis will be performed. A detailed statistical analysis plan will be written and finalized prior to the database lock. Baseline characteristics will be described for each group. Quantitative variables will be expressed as mean (standard deviation), median (interquartile range) and range. Qualitative variables will be expressed as frequencies and percentages. Normality of distribution will be assessed graphically and using the Shapiro-Wilk test.

The one-year rate of primary composite endpoint will be estimated in each arm using the Kaplan Meier method. Patients with no information at one year will be treated as censoring cases on the basis of the last follow-up available. Events that occurred after the one-year follow-up period were not included in the statistical analysis. Primary efficacy analysis will be conducted using a Cox proportional hazard model stratified by centers. Proportional hazards assumptions will be checked using Schoenfeld residuals plots. Hazard ratio for CT-ADP-Guided versus control group (with 95% confidence interval) will be derived from the Cox's model as treatment effect size. We will also estimate the absolute measure (absolute risk difference and number needed to treat) using the Austin's method based on marginal probabilities calculated from the Cox's model <sup>26</sup>.

The same method employed in primary objective will be used to compare the one-year all-cause mortality between the two allocated groups. For other individual components, a Fine and Gray model will be used to take into account the death as competing risk. Cumulative incidence will be estimated using the Kalbfleisch Prentice approach.

The combined and individual procedural and clinical endpoints at 30 days, and the combined and individual safety endpoints will be compared between the two groups using a generalized linear mixed model (distribution binomial, log link function) including allocated group as fixed

effect and center as random effect; risk ratio (with 95% confidence interval) for CT-ADP-Guided versus control group will be estimated from this model as effect size.

### **Prespecified analyses and substudies**

*Cardiovascular magnetic resonance (CMR) substudy:* CMR is emerging as a new « gold standard » to assess PVR because. CMR is accurate to measure AR volume and fraction, irrespective of the number and eccentricity of regurgitant jets or the presence of other concomitant valvular diseases, has better reproducibility than TTE and is superior to predict prognosis after TAVI<sup>27</sup>. Comparative studies with CMR revealed that TTE can overestimate regurgitation in some patients leading to a risk of misclassification of the severity of the PVR<sup>5</sup>. A CMR substudy is planned in a limited number of participating centers to investigate the accuracy of CT-ADP point-of-care testing to identify PVR  $\geq$  moderate assessed by CMR at 1 month.

*The WITAVI-REAL Extension substudy:* Structural bioprosthetic valve deterioration is rare but an early diagnosis is important to avoid noxious impact on patient clinical course. The 2014 ACC/AHA guidelines recommend a TTE follow-up at 30 days, 1 year, and then annually but only after 10 years following TAVI or surgical AVR, unless the patients develop symptoms<sup>28</sup>. With such sparse imaging follow-up, there is high likelihood to miss the onset of subclinical valve hemodynamic deterioration. The CT-ADP biomarker may provide a useful point-of-care, easily measurable screening tool to detect significant hemodynamic deterioration and trigger the realization of imaging tests to corroborate the hemodynamic deterioration. One important advantage of CT-ADP is that it is sensitive to both AR and AS. The WITAVI-REAL Extension substudy is planned to investigate the accuracy of CT-ADP point-of-care testing to identify changes in valve hemodynamic performance annually during 5 years assessed by transthoracic echocardiography (TTE).

### **Funding**

The WITAVI-REAL study is led by Lille University Hospital (CHU Lille). The coordinating center being the Institut Coeur-poumon, CHU Lille. The protocol is sponsored by CHU Lille. Site monitoring of all patient medical record is to be performed. Study is funded by the French government's national hospital research program (Programme Hospitalier de Recherche Clinique National PHRC-17-0697). Siemens Healthineers fund partially the study through the support of the training course for nurses and technicians involved in the study, supply of the PFA-200 system and its installation in each center and of all the consumables (ADP cartridges) required for the completion of the study.

### **Study oversight**

An independent Clinical Event Committee (CEC) will adjudicate all components of the primary and secondary endpoints blindly from the group of randomization.

The study steering committee is composed of a multidisciplinary research team composed of lead investigators and academic experts in interventional cardiology, imaging (echocardiography, radiology), blood biomarkers and statistics. This committee will have full access to all the data of the study and will be responsible for ensuring compliance to the protocol and for validating accuracy and completeness of the data.

The independent members of the data safety monitoring board (DSMB) who are neither investigators in the study nor otherwise directly associated with the sponsor will ensure that safety conditions are fulfilled at any time during the trial and that the program is being conducted with highest scientific and ethical standards. This DSMB will review the endpoint and safety data throughout the trial. The DSMB may at any time point during the study recommend to stop the entire study, in case of an unacceptable incidence of adverse events in the CT-ADP group.

### **Conclusion and perspectives**

The accurate and immediate real-time assessment of the presence and severity of PVR during TAVI procedure is an unmet clinical need.

The latest generation of prosthetic valve have achieved a tremendous reduction of PVR in clinical trials, the real-life results in mini-invasive procedure cannot be considered completely satisfying because the combined use of angiography and/or TTE and/or hemodynamics is not optimal to identify significant PVR and thus determine the need for corrective procedure.

CT-ADP POC testing appears to be a valuable non-invasive, highly reproducible, and easy to perform alternative to TEE for real-time PVR evaluation.

WITAVI-REAL is a large-scale multicenter randomized clinical trial designed to address the incremental value of this test to the PVR assessment obtained by standard methods (TTE, cine-angiography, hemodynamics) and bring evidence strong enough to support the routine implementation of POC CT-ADP in mini-invasive TAVI.

The benefit of a better PVR detection at the time of mini-invasive TAVI is a decrease of the PVR rate and subsequently a reduction of all the components of the primary endpoint, particularly the mortality and the rehospitalisation rate (PVR is associated with tremendous outcomes of 2.5-fold increase in total mortality risk at 1 year<sup>10</sup>).

No trial to date has prospectively evaluated the use of CT-ADP in patients referred for TAVI, its impact on PVR management strategy, procedural and clinical outcomes and the safety of this approach.

From a health policy standpoint, this trial will demonstrate that CT-ADP test is helpful to secure the transition to mini-invasive approach and thus may facilitate the expanded indications of less invasive procedures to lower risk patients and facilitate the generalization of TAVI procedures among centers without TEE expertise. The reduction of TEE use and general anesthesia may

also reduce the global costs of TAVI procedures (shorter procedural time, earlier mobilization of the patient, reduced duration of the hospital stay, reduction in the personnel, increase of the availability of the catheterization laboratory).

The planned substudy of this trial will address the use of VWF biomarker to improve the follow-up of patients after TAVI. CMR ancillary trial will evaluate the correlation of CT-ADP to significant PVR quantified by the gold-standard CMR method. WITAVI-REAL Extension trial will evaluate the ability of CT-ADP to detect the deterioration of the bioprosthetic valve (and thus rationalize the decision to perform TTE during follow-up of patients (reveal the need for TTE that were not initially planned or to avoid unnecessary TTE).

Overall, the outcomes of WITAVI-real will definitively establish the role of VWF biomarkers in mini-invasive TAVI procedure.

### **Acknowledgments**

The authors thank the technicians from the biological laboratory of the National Reference Center for von Willebrand Disease, Lille, France and from all the investigating centers. They are also grateful to nurses and technicians from all the investigating center for their involvement. They wish also to thank particularly Anais Gaul as a clinical research associate deeply involved in the trial.

## REFERENCES

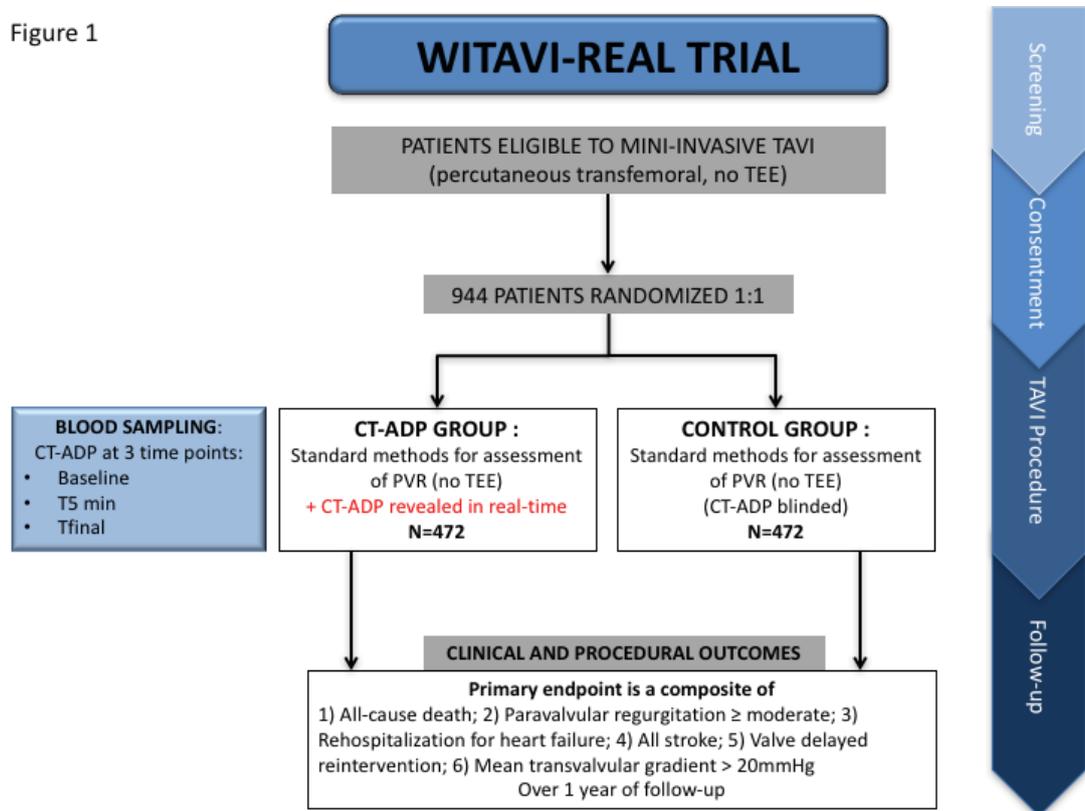
1. Pibarot P, Hahn RT, Weissman NJ, Arsenault M, Beaudoin J, Bernier M, Dahou A, Khalique OK, Asch FM, Toubal O, Leipsic J, Blanke P, Zhang F, Parvataneni R, Alu M, Herrmann H, Makkar R, Mack M, Smalling R, Leon M, Thourani VH, Kodali S. Association of Paravalvular Regurgitation With 1-Year Outcomes After Transcatheter Aortic Valve Replacement With the SAPIEN 3 Valve. *JAMA Cardiol* 2017.
2. Popma JJ, Reardon MJ, Khabbaz K, Harrison JK, Hughes GC, Kodali S, George I, Deeb GM, Chetcuti S, Kipperman R, Brown J, Qiao H, Slater J, Williams MR. Early Clinical Outcomes After Transcatheter Aortic Valve Replacement Using a Novel Self-Expanding Bioprosthesis in Patients With Severe Aortic Stenosis Who Are Suboptimal for Surgery. *JACC: Cardiovascular Interventions* 2017;10:268–275.
3. Kodali S, Pibarot P, Douglas PS, Williams M, Xu K, Thourani V, Rihal CS, Zajarias A, Doshi D, Davidson M, Tuzcu EM, Stewart W, Weissman NJ, Svensson L, Greason K, Maniar H, Mack M, Anwaruddin S, Leon MB, Hahn RT. Paravalvular regurgitation after transcatheter aortic valve replacement with the Edwards sapien valve in the PARTNER trial: characterizing patients and impact on outcomes. *European Heart Journal* 2015;36:449–456.
4. Vincent F, Rauch A, Spillemaecker H, Vincentelli A, Paris C, Rosa M, Dupont A, Delhay C, Verdier B, Robin E, Lenting PJ, Susen S, Belle EV. Real-Time Monitoring of von Willebrand Factor in the Catheterization Laboratory: The Seatbelt of Mini-Invasive Transcatheter Aortic Valve Replacement? *JACC: Cardiovascular Interventions* 2018;11:1775–1778.
5. Ribeiro HB, Ven FL, Larose É, Dahou A, Nombela-Franco L, Urena M, Allende R, Amat-Santos I, Ricapito M de la P, Thébault C, Clavel M-A, Delarochelliére R, Doyle D, Dumont É, Dumesnil JG, Pibarot P, Rodés-Cabau J. Cardiac magnetic resonance versus transthoracic echocardiography for the assessment and quantification of aortic regurgitation in patients undergoing transcatheter aortic valve implantation. *Heart* 2014;100:1924–1932.
6. Hahn RT, Nicoara A, Kapadia S, Svensson L, Martin R. Echocardiographic Imaging for Transcatheter Aortic Valve Replacement. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2017.
7. Pibarot P, Hahn RT, Weissman NJ, Monaghan MJ. Assessment of Paravalvular Regurgitation Following TAVR. *JACC: Cardiovascular Imaging* 2015;8:340–360.
8. Auffret V, Lefevre T, Belle EV, Eltchaninoff H, Iung B, Koning R, Motreff P, Leprince P, Verhoye JP, Manigold T, Souteyrand G, Boulmier D, Joly P, Pinaud F, Himbert D, Collet JP, Rioufol G, Ghostine S, Bar O, Dibie A, Champagnac D, Leroux L, Collet F, Teiger E, Darremont O, Folliguet T, Leclercq F, Lhermusier T, Olhmann P, Huret B, Lorgis L, Drogoul L, Bertrand B, Spaulding C, Quilliet L, Cuisset T, Delomez M, Beygui F, Claudel J-P, Hepp A, Jegou A, Gommeaux A, Mirode A, Christiaens L, Christophe C, Cassat C, Metz D, Mangin L, Isaaz K, Jacquemin L, et al. Temporal Trends in Transcatheter Aortic Valve Replacement in France. *Journal of the American College of Cardiology* 2017;70:42–55.
9. Oguri A, Yamamoto M, Mouillet G, Gilard M, Laskar M, Eltchaninoff H, Fajadet J, Iung B, Donzeau-Gouge P, Leprince P, Leguerrier A, Prat A, Lievre M, Chevreul K, Dubois-Rande J-L, Chopard R, Belle EV, Otsuka T, Teiger E. Clinical Outcomes and Safety of Transfemoral Aortic Valve Implantation Under General Versus Local Anesthesia Subanalysis of the French Aortic National CoreValve and Edwards 2 Registry. *Circ Cardiovasc Interv* 2014;7:602–610.
10. Van Belle E, Juthier F, Susen S, Vincentelli A, Iung B, Dallongeville J, Eltchaninoff H, Laskar M, Leprince P, Lievre M, Banfi C, Auffray J-L, Delhay C, Donzeau-Gouge P, Chevreul K, Fajadet J, Leguerrier A, Prat A, Gilard M, Teiger E. Postprocedural Aortic Regurgitation in Balloon-Expandable and Self-Expandable Transcatheter Aortic Valve

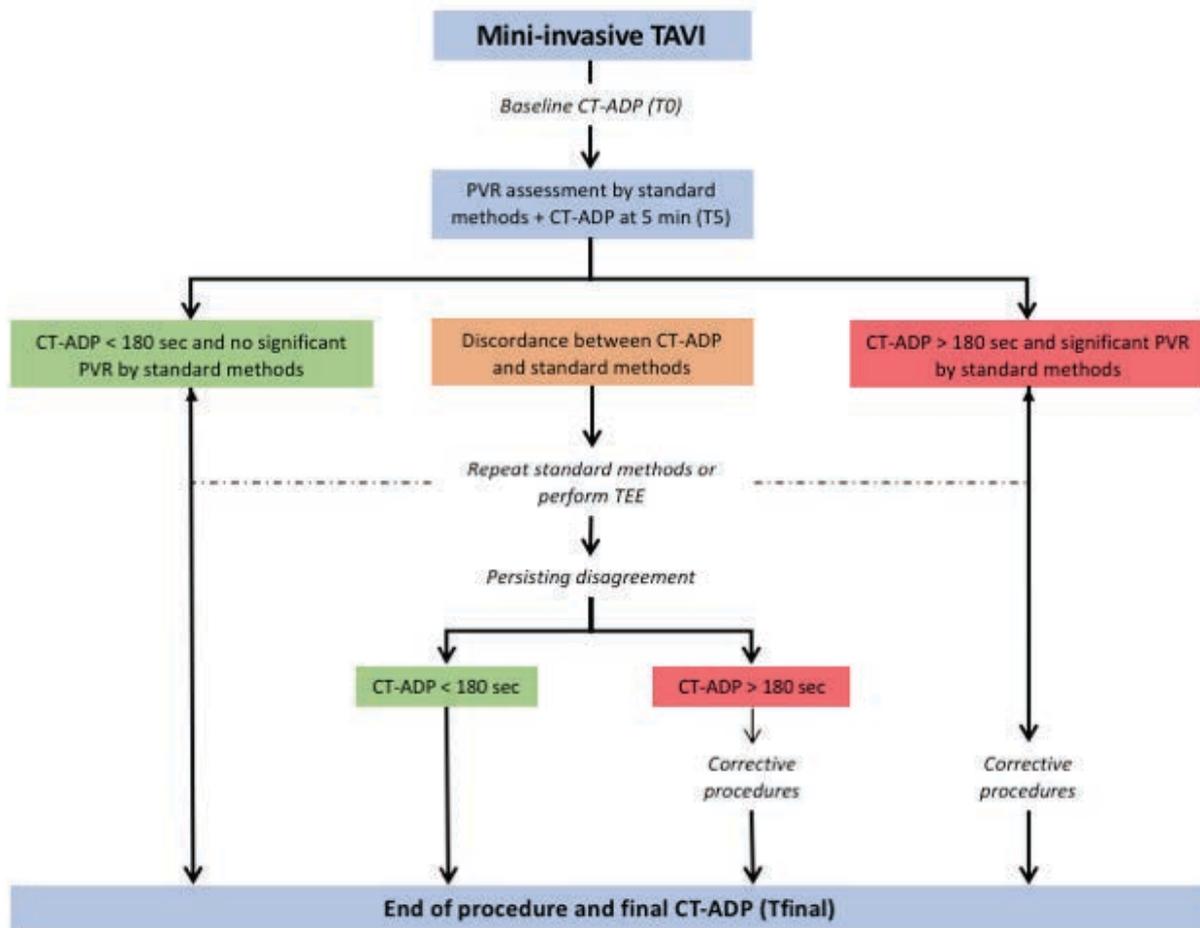
Replacement Procedures Analysis of Predictors and Impact on Long-Term Mortality: Insights From the FRANCE2 Registry. *Circulation* 2014;129:1415–1427.

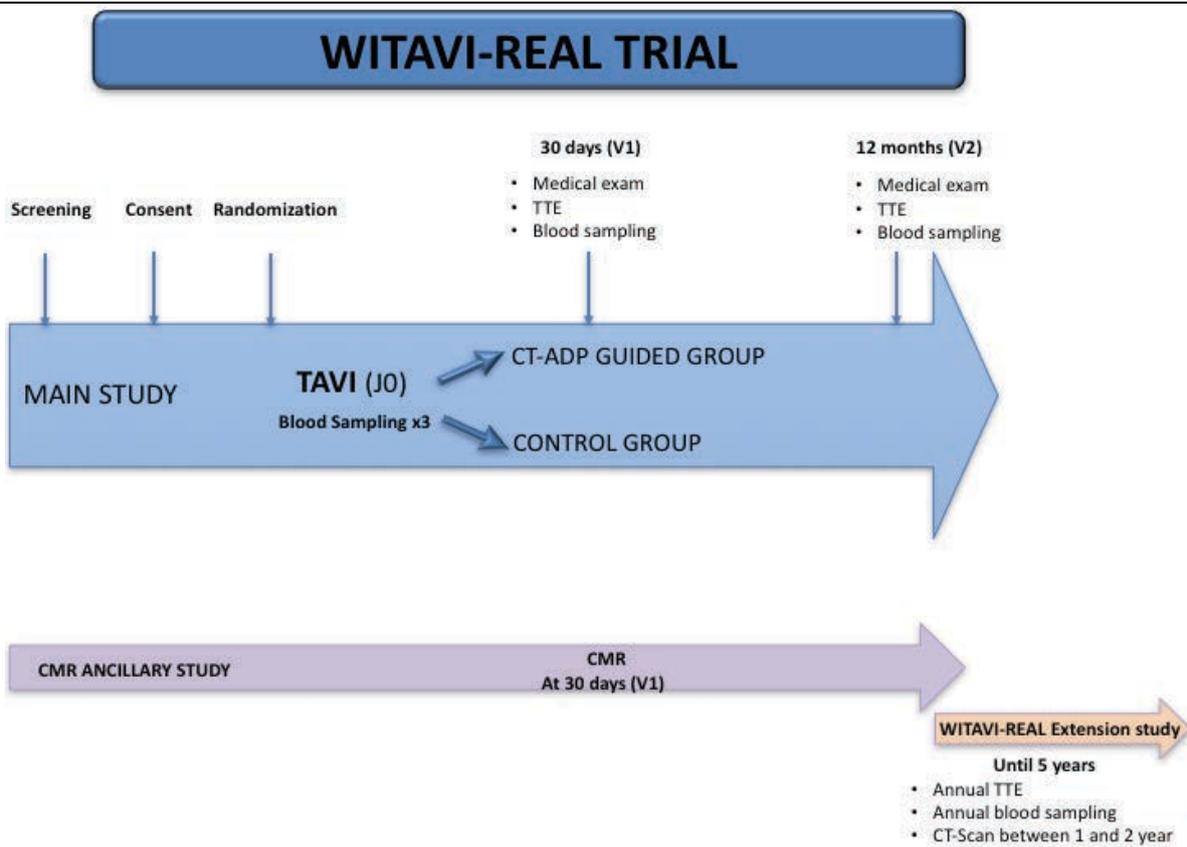
11. Brito FS de, Carvalho LA, Sarmento-Leite R, Mangione JA, Lemos P, Siciliano A, Caramori P, São Thiago L, Grube E, Abizaid A, on behalf of the Brazilian TAVI Registry investigators. Outcomes and predictors of mortality after transcatheter aortic valve implantation: Results of the Brazilian registry. *Cathet Cardiovasc Intervent* 2015;85:E153–E162.
12. Van Belle E, Rauch A, Vincent F, Robin E, Kibler M, Labreuche J, Jeanpierre E, Levade M, Hurt C, Rousse N, Dally J-B, Debry N, Dallongeville J, Vincentelli A, Delhay C, Auffray J-L, Juthier F, Schurtz G, Lemesle G, Caspar T, Morel O, Dumonteil N, Duhamel A, Paris C, Dupont-Prado A, Legendre P, Mouquet F, Marchant B, Hermoire S, Corseaux D, Moussa K, Manchuelle A, Bauchart J-J, Loobuyck V, Caron C, Zawadzki C, Leroy F, Bodart J-C, Staels B, Goudemand J, Lenting PJ, Susen S. Von Willebrand Factor Multimers during Transcatheter Aortic-Valve Replacement. *New England Journal of Medicine* 2016;375:335–344.
13. Zhang X, Halvorsen K, Zhang C-Z, Wong WP, Springer TA. Mechanoenzymatic Cleavage of the Ultralarge Vascular Protein von Willebrand Factor. *Science* 2009;324:1330–1334.
14. Vincentelli A, Susen S, Le Tourneau T, Six I, Fabre O, Juthier F, Bauters A, Decoene C, Goudemand J, Prat A. Acquired von Willebrand syndrome in aortic stenosis. *New England Journal of Medicine* 2003;349:343–349.
15. Van Belle E, Rauch A, Vincentelli A, Jeanpierre E, Legendre P, Juthier F, Hurt C, Banfi C, Rousse N, Godier A, Caron C, Elkalioubie A, Corseaux D, Dupont A, Zawadzki C, Delhay C, Mouquet F, Schurtz G, Deplanque D, Chinetti G, Staels B, Goudemand J, Jude B, Lenting PJ, Susen S. Von Willebrand factor as a biological sensor of blood flow to monitor percutaneous aortic valve interventions. *Circ Res* 2015;116:1193–1201.
16. Vincent F, Rauch A, Loobuyck V, Moussa M, Juthier F, Debry N, Jeanpierre E, Lenting PJ, Susen S, Belle EV. von Willebrand Factor for Aortic Valve Intervention: From Bench to Real-Time Bedside Assessment. *Circulation Research* 2018;122:1499–1500.
17. Herrmann HC, Thourani VH, Kodali SK, Makkar RR, Szeto WY, Anwaruddin S, Desai N, Lim S, Malaisrie SC, Kereiakes DJ, Ramee S, Greason KL, Kapadia S, Babaliaros V, Hahn RT, Pibarot P, Weissman NJ, Leipsic J, Whisenant BK, Webb JG, Mack MJ, Leon MB. One-Year Clinical Outcomes With SAPIEN 3 Transcatheter Aortic Valve Replacement in High-Risk and Inoperable Patients With Severe Aortic Stenosis Clinical Perspective. *Circulation* 2016;134:130–140.
18. Thourani VH, Kodali S, Makkar RR, Herrmann HC, Williams M, Babaliaros V, Smalling R, Lim S, Malaisrie SC, Kapadia S, others. Transcatheter aortic valve replacement versus surgical valve replacement in intermediate-risk patients: a propensity score analysis. *The Lancet* 2016;387:2218–2225.
19. Kodali S, Thourani VH, White J, Malaisrie SC, Lim S, Greason KL, Williams M, Guerrero M, Eisenhauer AC, Kapadia S, Kereiakes DJ, Herrmann HC, Babaliaros V, Szeto WY, Hahn RT, Pibarot P, Weissman NJ, Leipsic J, Blanke P, Whisenant BK, Suri RM, Makkar RR, Ayele GM, Svensson LG, Webb JG, Mack MJ, Smith CR, Leon MB. Early clinical and echocardiographic outcomes after SAPIEN 3 transcatheter aortic valve replacement in inoperable, high-risk and intermediate-risk patients with aortic stenosis. *European Heart Journal* 2016;37:2252–2262.
20. Luiz Nombela-Franco. Balloon-expandable vs. self-expanding TAVI: procedural and long-term outcome. 2017.
21. Pibarot P, Hahn R, Weissman N, Arsenaault M, Beaudoin J, Bernier M, Dahou A, Khalique O, Asch F, Toubal O, Leipsic J, Blanke P, Zhang F, Parvataneni R, Herrmann H,

- Leon M, Thourani V, Kodali S. TCT-38 Paravalvular Regurgitation Regression and Impact on 1-year Outcomes After Transcatheter Aortic Valve Replacement with the SAPIEN 3 Transcatheter Valve. *J Am Coll Cardiol* 2016;68:B16–B16.
22. Daubert MA, Weissman NJ, Hahn RT, Pibarot P, Parvataneni R, Mack MJ, Svensson LG, Gopal D, Kapadia S, Siegel RJ, Kodali SK, Szeto WY, Makkar R, Leon MB, Douglas PS. Long-Term Valve Performance of TAVR and SAVR. *JACC: Cardiovascular Imaging* 2017;10:15–25.
23. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962;194:927–929.
24. Kratzer MA, Born GV. Simulation of primary haemostasis in vitro. *Haemostasis* 1985;15:357–362.
25. Favalaro EJ. Collagen Binding Assay for von Willebrand Factor (VWF:CBA): Detection of von Willebrand Disease (VWD), and Discrimination of VWD Subtypes, Depends on Collagen Source. *Thromb Haemost* 2000;83:127–135.
26. Austin PC. Absolute risk reductions and numbers needed to treat can be obtained from adjusted survival models for time-to-event outcomes. *Journal of Clinical Epidemiology* 2010;63:46–55.
27. Ribeiro HB, Orwat S, Hayek SS, Larose É, Babaliaros V, Dahou A, Le Ven F, Pasion S, Puri R, Abdul-Jawad Altisent O, Campelo-Parada F, Clavel M-A, Pibarot P, Lerakis S, Baumgartner H, Rodés-Cabau J. Cardiovascular Magnetic Resonance to Evaluate Aortic Regurgitation After Transcatheter Aortic Valve Replacement. *Journal of the American College of Cardiology* 2016;68:577–585.
28. Zoghbi WA, Chambers JB, Dumesnil JG, Foster E, Gottdiener JS, Grayburn PA, Khandheria BK, Levine RA, Marx GR, Miller FA, Nakatani S, Quiñones MA, Rakowski H, Rodriguez LL, Swaminathan M, Waggoner AD, Weissman NJ, Zabalgoitia M. Recommendations for Evaluation of Prosthetic Valves With Echocardiography and Doppler Ultrasound. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2009;22:975–1014.

Figure 1







## DISCUSSION GENERALE

Le VWF est une protéine unique, multimérisée. Cette multimérisation lui confère une sensibilité aux forces de cisaillement et donc aux variations hémodynamiques du flux sanguin comme celles rencontrées lors d'utilisation de dispositifs cardiovasculaires comme les ACM-FC ou lors de l'implantation de valves biologiques par méthode TAVI.

Nous précédents travaux ont démontré que le profil multimérique du VWF (et la mesure de l'agrégation plaquettaire dépendante des MHPM du VWF mesurée par TO-ADP) est hautement variable lors de l'utilisation de ces dispositifs qui ont la particularité de générer à la fois des variations aiguës des forces hémodynamiques et des forces de cisaillement au sein du flux sanguin (51). Des travaux antérieurs nous ont permis de mettre en évidence une sécrétion endothéliale déclenchée par les modifications du flux liées à l'utilisation de ces dispositifs puisque nous avons observé une élévation aiguë, concomitante à celle des multimères, du propeptide du VWF contenu dans les corps de Weibel-Palade.

Cependant le mécanisme induisant ce relargage n'était pas connu même si l'implication de la pulsatilité artérielle apparaissait vraisemblable par un faisceau d'arguments.

### *Chapitre 1 :*

Dans la première partie de cette thèse nous avons étudié le mécanisme du relargage endothélial et le rôle de la pulsatilité artérielle dans un modèle d'ACM-FC

En effet, les ACM-FC induisent à la fois des forces de cisaillement supra-physiologiques induisant un déficit en MHPM du VWF mais également des anomalies du flux avec une diminution de la pulsatilité artérielle permettant d'évaluer la réponse endothéliale. La capacité de l'endothélium vasculaires à réagir à des stimuli physiques a déjà été démontré puisque l'exposition *in vitro* de l'endothélium aux forces de cisaillement d'un flux laminaire (14) ou à un « stretch hypertensif » (108) induit un relargage endothélial de VWF par exocytose à partir des corps de Weibel-Palade.

Basé sur l'ensemble de ces données, nous avons émis l'hypothèse que le déficit en MHPM pouvait être modulé par la réponse endothéliale à la pulsatilité artérielle. Nous avons donc développé un modèle animal en utilisant des ACM-FC afin d'avoir la capacité d'isoler le rôle de la pulsatilité dans un environnement de forces de cisaillement élevées et constantes. Nous avons premièrement utilisé un modèle *in vitro* d'ACM-FC pour démontrer le caractère protéolytique du déficit en MHPM en conditions de forces de cisaillement élevées et l'absence de restauration du profil multimérique normal dans ce système en l'absence d'endothélium. Puis nous avons développé deux modèles porcins sous ACM-FC, intégrant la réponse endothéliale nous permettant de démontrer *in vivo* l'existence d'une relation dose-réponse entre le niveau de pulsatilité artérielle et le ratio de MHPM avec un très bon niveau de corrélation ( $r=0,73$ ). Enfin nous avons utilisé un modèle en cross-over pour montrer le caractère dynamique du relargage endothélial en réponse à des variations aiguës de pulsatilité dans un environnement de forces de cisaillement élevées. Nous avons observé une augmentation aiguë des taux d'antigène du VWF, du Facteur VIII et d'angiopoietine-2 dès que l'endothélium est exposé à une pulsatilité élevée. Ces trois protéines étant stockées dans les corps de Weibel-Palade endothéliaux, cette observation suggère fortement une sécrétion du VWF par l'endothélium vasculaire en réponse à la normalisation du flux. Enfin nous avons

rapporté le cas clinique d'un patient implantés successivement par différents types d'ACM (ACM-FC et ACM-FP) reproduisant différentes séquences de variation de pulsatilité artérielle.

Nous avons observé la rapide dégradation des MHPM du VWF sous ACM-FC puis leur normalisation rapide après implantation d'un ACM-FP.

Ces résultats nous ont permis d'améliorer notre compréhension du phénomène de restauration rapide des MHPM lors de l'utilisation de dispositifs cardiovasculaires modifiant à la fois les forces de cisaillement et le niveau de pulsatilité comme cela est le cas lors des procédures TAVI.

Ces résultats sont également encourageants car ils ont permis d'identifier la pulsatilité comme une potentielle voie de travail pour limiter l'impact du aVWS-type-2A chez les patients implantés par les dispositifs cardiovasculaires comme les ACM. Mais ces données ont été obtenues dans un modèle animal avec un endothélium sain. Il est possible que la dysfonction endothéliale associée à l'insuffisance cardiaque sévère des patients implantés avec ce type d'ACM-FC limite le relargage ou la production de VWF et donc le bénéfice supposé d'une plus grande pulsatilité résiduelle. Le mécanisme moléculaire permettant cette sécrétion aigue du VWF en réponse au phénomène physique de pulsatilité n'est pas connu. Il est important également de souligner que nos modèles expérimentaux étaient des modèles « court terme » de quelques heures. Il est nécessaire d'observer si ce phénomène est maintenu sur de plus grandes périodes de temps avant de considérer une application potentielle en clinique.

## *Chapitre 2 :*

Nous avons utilisé notre compréhension de la dynamique du profil multimérique du VWF pour conceptualiser son utilisation dans le monitoring des procédures de type TAVI. Ces procédures peuvent en l'espace de quelques minutes exposer le flux sanguin à 3 conditions

hémodynamiques différentes et 3 niveaux de forces de cisaillement : i) avant TAVI : présence de forces de cisaillement élevées avant traitement du RAo; puis après TAVI :ii) soit persistance de forces de cisaillement élevées si apparition d'une FPV ; iii) soit normalisation aiguë des forces de cisaillement si absence de FPV après implantation ou correction secondaire d'une FPV par une dilatation valvulaire supplémentaire.

Nous avons émis l'hypothèse que l'étude de la mutimérisation du VWF par électrophorèse ou par TO-ADP permettrait de monitorer ces différents états hémodynamiques au cours de la procédure TAVI. Nous avons comparé l'étude du VWF au diagnostic par ETO (méthode diagnostique de référence) dans une première cohorte monocentrique prospective de 183 patients bénéficiant d'un TAVI par voie transfémorale. Les patients avec FPV persistante après la procédure avaient un déficit en MHPM non corrigé par la procédure TAVI. Chez les patients qui n'avaient pas de FPV ou ceux pour lesquels la FPV était corrigée par la post-dilatation de la valve, les MHPM recouvraient leur niveau normal. Le ratio de MHPM était ainsi capable de différencier les patients avec ou sans FPV en ETO avec une sensibilité, une spécificité et une valeur prédictive négative (VPN) de respectivement 92.3%, 94.9%, et 98.7% pour une valeur seuil de 0,8. Comme les MHPM ne sont pas mesurés en routine clinique en raison d'une durée d'analyse incompatible avec une utilisation per-procédure, nous avons également mesuré le TO-ADP avec le test de diagnostic rapide PFA-100®. Le TO-ADP était également un fort prédicteur du diagnostic de FPV par ETO. Une analyse par courbe ROC a permis d'établir qu'un TO-ADP supérieur à 180 sec avait une sensibilité, une spécificité et une VPN respectivement de 92,3%, 92,4% et 98,6% pour le diagnostic de FPV. Ces résultats ont été confirmés dans une deuxième cohorte pour une validation multicentrique. Ces résultats sont très importants car la FPV post-TAVI qui survient dans environ 5 à 10% des procédures impacte négativement le pronostic des patients en augmentant de plus de 2,5 fois le risque de mortalité à 1 an

(113)(114). Le dépistage et le traitement de la FPV pendant la procédure est donc d'une importance clinique majeure.

Le TO-ADP > 180 sec post-procédure était également un marqueur pronostique fort car associé à 3,5 fois plus de risque de décès à 1 an ; ce qui est supérieur à celui associé à la persistance d'une FPV (risque de mortalité majoré de 2,5). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette forte valeur pronostique. Les techniques actuelles d'imagerie notamment l'ETT ont un risque de sous ou sur-estimer la gravité d'une FPV comme déjà démontrée en comparaison à l'IRM (115). Il est également possible que le VWF soit un intégrateur du risque global du patient et de ses comorbidités mais aussi un marqueur du risque hémorragique lié à la perte des MHPM. En effet, ce déficit expose au risque des troubles de l'hémostase primaire et donc à des complications hémorragiques à court et long terme. Ce dernier point a été étudié récemment et nous avons confirmé en association avec l'équipe de Strasbourg que le TO-ADP > 180sec était un facteur prédictif indépendant de FPV mais aussi de complications hémorragiques (risque multiplié par 3) et de mortalité après TAVR (116)(95). L'association au moins en partie causale entre déficit en MHPM du VWF et risque hémorragique est ainsi envisageable d'autant plus que des travaux récents soulignent le potentiel pro-angiogénique des fragments de VWF issus du clivage des MHPM (105)(29).

La possibilité de disposer en routine d'un test de diagnostic rapide dans la salle de cathétérisme pour le monitoring du VWF per-procédure est séduisante (111) (annexe 1). Cependant, plusieurs étapes sont nécessaires avant d'envisager une telle application clinique. La population étudiée était en effet homogène avec des RAO serrés développant des forces de cisaillement élevées (fraction d'éjection normale) ce qui limite l'extrapolation de ces résultats à l'ensemble des patients atteints comme ceux avec un RAO « bas débit / bas

gradient » dont les caractéristiques hémodynamiques sont différentes. L'effet d'une dose de charge d'anti-agrégant plaquettaire anti-P2Y12 n'a pas été étudiée. L'anémie ou la thrombopénie, perturbateurs possibles du TO-ADP ne sont pas rares dans la population de patients âgés bénéficiant d'un TAVI.

### *Chapitre 3 :*

Après avoir démontré la preuve du concept d'utilisation du VWF et du TO-ADP dans le diagnostic des FPV lors des procédures TAVI, nous avons prévu d'évaluer l'impact de son utilisation dans les procédures TAVI en termes de résultat procédural et clinique.

Les méthodes actuelles d'évaluation de la FPV sont reconnues comme imparfaites et approximatives. On observe en effet un développement important des procédures TAVI mini-invasives, c'est à dire réalisées sous anesthésie locale et donc sans utilisation de l'ETO qui est la technique de référence pour diagnostiquer la FPV (112). En France, 73% des interventions sont pratiquées avec cette approche où l'évaluation de la sévérité de la FPV est réalisée par utilisation d'une ou plusieurs techniques parmi l'angiographie, les mesures hémodynamiques ou l'échographie transthoracique) (110)(112) (annexe 2). Toutes ces méthodes, dites standard, ont des limitations importantes. Il est donc envisageable que l'utilisation du TO-ADP per-procédure TAVI mini-invasives puisse améliorer la détection des FPV.

Nous avons donc conçu l'essai clinique WITAVI-REAL (NCT03728049), un essai randomisé multicentrique dont l'objectif est de comparer l'utilisation per-procédure du TO-ADP mesuré par PFA-100® dans la salle de cathétérisme en plus des méthodes d'évaluation standard de la FPV (angiographie, échographie, hémodynamique) à l'évaluation par méthodes standards seules. L'objectif principal est de démontrer la supériorité de l'utilisation du TO-ADP dans la

détection des FPV afin de permettre une correction immédiate et appropriée et diminuer l'incidence des FPV pour améliorer les résultats cliniques des patients.

## PERSPECTIVES

Nos résultats obtenus dans un modèle d'ACM-FC à forces de cisaillement élevées et à pulsatilité variable sont importants car au-delà d'améliorer notre compréhension du rôle de la pulsatilité dans le mécanisme de relargage endothélial, ils permettent d'envisager un potentiel rôle protecteur de la conservation de la pulsatilité dans l'apparition du aVWS-type-2A observé sous ACM-FC. Ce résultat ouvre une piste de recherche non pharmacologique à la prévention des saignements sous ACM-FC en corrigeant un facteur de risque de saignement. Pour atteindre cet objectif la conception d'une nouvelle génération d'ACM-FC ou le retour à des systèmes d'ACM-FP sera nécessaire. Ces résultats renforcent également l'intérêt d'évaluer la fonction du VWF dans l'évaluation de l'hémocompatibilité des ACM-FC.

Dans la deuxième partie de la thèse, nous avons appliqué le concept du VWF (et du TO-ADP) comme marqueurs de flux et démontré leur excellente capacité à monitorer la présence d'une FPV et/ou sa correction au cours des procédures TAVI. Ces résultats sont importants car ils ouvrent la possibilité d'utilisation du TO-ADP en pratique clinique qui sera évalué par l'essai clinique WITAVI-REAL que nous avons conçu en troisième partie de ce travail. Les résultats de cette étude permettront d'établir définitivement le rôle de l'utilisation du VWF au cours des procédures TAVI.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Wagner DD. Cell biology of von Willebrand factor. *Annu Rev Cell Biol.* 1990;6:217-46.
2. Zhou Y-F, Eng ET, Zhu J, Lu C, Walz T, Springer TA. Sequence and structure relationships within von Willebrand factor. *Blood.* 12 juill 2012;120(2):449-58.
3. Brehm MA. Von Willebrand factor processing. *Hämostaseologie.* 2017;37(01):59-72.
4. Katsumi A, Tuley EA, Bodó I, Sadler JE. Localization of Disulfide Bonds in the Cystine Knot Domain of Human von Willebrand Factor. *J Biol Chem.* 18 août 2000;275(33):25585-94.
5. Wagner DD, Lawrence SO, Ohlsson-Wilhelm BM, Fay PJ, Marder VJ. Topology and order of formation of interchain disulfide bonds in von Willebrand factor. *Blood.* 1 janv 1987;69(1):27-32.
6. Purvis AR, Sadler JE. A Covalent Oxidoreductase Intermediate in Propeptide-dependent von Willebrand Factor Multimerization. *J Biol Chem.* 26 nov 2004;279(48):49982-8.
7. Springer TA. Biology and Physics of von Willebrand Factor Concatamers. *J Thromb Haemost JTH.* juill 2011;9(0 1):130-43.
8. Zhou Y-F, Eng ET, Nishida N, Lu C, Walz T, Springer TA. A pH-regulated dimeric bouquet in the structure of von Willebrand factor. *EMBO J.* 19 août 2011;30(19):4098-111.
9. Lenting PJ, Casari C, Christophe OD, Denis CV. von Willebrand factor: the old, the new and the unknown. *J Thromb Haemost.* 1 déc 2012;10(12):2428-37.
10. Springer TA. von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream. *Blood.* 2014;124(9):1412-25.
11. Zhou Y-F, Eng ET, Zhu J, Lu C, Walz T, Springer TA. Sequence and structure relationships within von Willebrand factor. *Blood.* 12 juill 2012;120(2):449-58.
12. Sadler JE. von Willebrand factor assembly and secretion. *J Thromb Haemost.* 7(s1):24-7.
13. Sporn LA, Marder VJ, Wagner DD. Differing polarity of the constitutive and regulated secretory pathways for von Willebrand factor in endothelial cells. *J Cell Biol.* avr 1989;108(4):1283-9.
14. Galbusera M, Zoja C, Donadelli R, Paris S, Morigi M, Benigni A, et al. Fluid Shear Stress Modulates von Willebrand Factor Release From Human Vascular Endothelium. *Blood.* 1997;90(4):1558-64.
15. Rastegarlarlari G, Pegon JN, Casari C, Odouard S, Navarrete A-M, Saint-Lu N, et al. Macrophage LRP1 contributes to the clearance of von Willebrand factor. *Blood.* 1 mars 2012;119(9):2126-34.
16. Casari C, Lenting PJ, Wohner N, Christophe OD, Denis CV. Clearance of von Willebrand factor. *J Thromb Haemost.* 11(s1):202-11.
17. Furlan M. Von Willebrand factor: molecular size and functional activity. *Ann Hematol.* juin 1996;72(6):341-8.
18. Ruggeri ZM, Ware J. von Willebrand factor. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 1 févr 1993;7(2):308-16.
19. Titani K, Kumar S, Takio K, Ericsson LH, Wade RD, Ashida K, et al. Amino acid sequence of human von Willebrand factor. *Biochemistry.* 3 juin 1986;25(11):3171-84.
20. Marti T, Rösselet SJ, Titani K, Walsh KA. Identification of disulfide-bridged substructures within human von Willebrand factor. *Biochemistry.* 15 déc

1987;26(25):8099-109.

21. Siedlecki CA, Lestini BJ, Kottke-Marchant KK, Eppell SJ, Wilson DL, Marchant RE. Shear-dependent changes in the three-dimensional structure of human von Willebrand factor. *Blood*. 15 oct 1996;88(8):2939-50.
22. Jackson SP. The growing complexity of platelet aggregation. *Blood*. 15 juin 2007;109(12):5087-95.
23. Ahr DJ, Rickles FR, Hoyer LW, O'Leary DS, Conrad ME. von Willebrand's disease and hemorrhagic telangiectasia: association of two complex disorders of hemostasis resulting in life-threatening hemorrhage. *Am J Med*. mars 1977;62(3):452-8.
24. Fressinaud E, Meyer D. International survey of patients with von Willebrand disease and angiodysplasia. *Thromb Haemost*. 1 sept 1993;70(3):546.
25. Koscielny JK, Latza R, Mürsdorf S, Mrowietz C, Kiesewetter H, Wenzel E, et al. Capillary microscopic and rheological dimensions for the diagnosis of von Willebrand disease in comparison to other haemorrhagic diatheses. *Thromb Haemost*. déc 2000;84(6):981-8.
26. Starke RD, Ferraro F, Paschalaki KE, Dryden NH, McKinnon TAJ, Sutton RE, et al. Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. *Blood*. 20 janv 2011;117(3):1071-80.
27. Starke RD, Paschalaki KE, Dyer CEF, Harrison-Lavoie KJ, Cutler JA, McKinnon TAJ, et al. Cellular and molecular basis of von Willebrand disease: studies on blood outgrowth endothelial cells. *Blood*. 4 avr 2013;121(14):2773-84.
28. Randi AM, Laffan MA, Starke RD. Von Willebrand Factor, Angiodysplasia and Angiogenesis. *Mediterr J Hematol Infect Dis* [Internet]. 2 sept 2013 [cité 15 avr 2018];5(1). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3787682/>
29. Randi AM, Smith KE, Castaman G. von Willebrand factor regulation of blood vessel formation. *Blood*. 12 juill 2018;132(2):132-40.
30. Kroll MH, Hellums JD. Platelets and Shear Stress. :18.
31. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature*. oct 2001;413(6855):488-94.
32. Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, Fujimoto M, Matsuyama T, Ishikawa M, et al. Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood*. 1 août 2005;106(3):922-4.
33. Turner N, Nolasco L, Tao Z, Dong J-F, Moake J. Human endothelial cells synthesize and release ADAMTS-13. *J Thromb Haemost*. 1 juin 2006;4(6):1396-404.
34. Tsai HM. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood*. 15 mai 1996;87(10):4235-44.
35. Furlan M, Robles R, Lämmle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood*. 15 mai 1996;87(10):4223-34.
36. Zhang X, Halvorsen K, Zhang C-Z, Wong WP, Springer TA. Mechanoenzymatic Cleavage of the Ultralarge Vascular Protein von Willebrand Factor. *Science*. 2009;324(5932):1330-4.
37. Gao W, Anderson PJ, Majerus EM, Tuley EA, Sadler JE. Exosite interactions contribute to tension-induced cleavage of von Willebrand factor by the antithrombotic ADAMTS13 metalloprotease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 12 déc 2006;103(50):19099-104.
38. Tsai H-M, Sussman II, Nagel RL. Shear stress enhances the proteolysis of von Willebrand factor in normal plasma. *Blood*. 1994;83(8):2171-2179.
39. 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.* avr 1994;71(4):520-5.
40. Castaman G, Federici AB, Tosetto A, Marca SL, Stufano F, Mannucci PM, et al. Different bleeding risk in type 2A and 2M von Willebrand disease: a 2-year prospective study in 107 patients. *J Thromb Haemost.* 1 avr 2012;10(4):632-8.
  41. Veyradier A, Jenkins CSP, Fressinaud E, Meyer D. Acquired von Willebrand Syndrome: from Pathophysiology to Management. *Thromb Haemost.* 2000;84(2):175-82.
  42. Simone JV, Cornet JA, Abildgaard CF. Acquired von Willebrand's syndrome in systemic lupus erythematosus. *Blood.* juin 1968;31(6):806-12.
  43. Ingram GI, Kingston PJ, Leslie J, Bowie EJ. Four cases of acquired von Willebrand's syndrome. *Br J Haematol.* août 1971;21(2):189-99.
  44. Goudemand J, Samor B, Caron C, Jude B, Gosset D, Mazurier C. Acquired type II von Willebrand's disease: demonstration of a complexed inhibitor of the von Willebrand factor-platelet interaction and response to treatment. *Br J Haematol.* 1 févr 1988;68(2):227-33.
  45. Federici AB, Rand JH, Bucciarelli P, Budde U, van Genderen PJ, Mohri H, et al. Acquired von Willebrand syndrome: data from an international registry. *Thromb Haemost.* août 2000;84(2):345-9.
  46. Pikta M, Zemtsovskaja G, Bautista H, Nouadje G, Szanto T, Viigimaa M, et al. Preclinical evaluation of a semi-automated and rapid commercial electrophoresis assay for von Willebrand factor multimers. *J Clin Lab Anal.* 17 févr 2018;
  47. Studt JD, Budde U, Schneppenheim R, Eisert R, von Depka Prondzinski M, Ganser A, et al. Quantification and Facilitated Comparison of von Willebrand Factor Multimer Patterns by Densitometry. *Am J Clin Pathol.* 1 oct 2001;116(4):567-74.
  48. Blackshear JL, Wysokinska EM, Safford RE, Thomas CS, Stark ME, Shapiro BP, et al. Indexes of von Willebrand Factor as Biomarkers of Aortic Stenosis Severity (from the Biomarkers of Aortic Stenosis Severity [BASS] Study). *Am J Cardiol.* 2013;111(3):374-81.
  49. Nichols WL, Rick ME, Ortel TL, Montgomery RR, Sadler JE, Yawn BP, et al. Clinical and laboratory diagnosis of von Willebrand disease: A synopsis of the 2008 NHLBI/NIH guidelines. *Am J Hematol.* 2009;84(6):366-70.
  50. Budde U, Schneppenheim R, Eikenboom J, Goodeve A, Will K, Drewke E, et al. Detailed von Willebrand factor multimer analysis in patients with von Willebrand disease in the European study, molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 von Willebrand disease (MCMDM-1VWD). *J Thromb Haemost.* 1 mai 2008;6(5):762-71.
  51. Van Belle E, Rauch A, Vincentelli A, Jeanpierre E, Legendre P, Juthier F, et al. Von Willebrand factor as a biological sensor of blood flow to monitor percutaneous aortic valve interventions. *Circ Res.* 2015;116(7):1193-201.
  52. Blackshear JL, McRee CW, Safford RE, et al. Von willebrand factor abnormalities and heyde syndrome in dysfunctional heart valve prostheses. *JAMA Cardiol.* 2016;1(2):198-204.
  53. Ardillon L, Ternisien C, Fouassier M, Sigaud M, Lefrançois A, Pacault M, et al. Platelet function analyser (PFA-100) results and von Willebrand factor deficiency: a 16-year 'real-world' experience. *Haemophilia.* 1 sept 2015;21(5):646-52.
  54. Eller T, Busse J, Dittrich M, Flieder T, Alban S, Knabbe C, et al. Dabigatran, rivaroxaban, apixaban, argatroban and fondaparinux and their effects on coagulation POC and platelet function tests. *Clin Chem Lab Med CCLM.* 1 janv 2014;52(6).
  55. Van Belle E, Rauch A, Vincent F, Robin E, Kibler M, Labreuche J, et al. Von Willebrand Factor Multimers during Transcatheter Aortic-Valve Replacement. *N Engl J Med.* 2016;375(4):335-44.
  56. Pidcock M., Harrison P. Can the PFA-100® be modified to detect P2Y12 inhibition? *J Thromb Haemost.* 17 mai 2006;4(6):1424-6.
  57. Mourik JA van, Boertjes R, Huisveld IA, Fijnvandraat K, Pajkrt D, Genderen PJJ van,

- et al. von Willebrand Factor Propeptide in Vascular Disorders: A Tool to Distinguish Between Acute and Chronic Endothelial Cell Perturbation. *Blood*. 1 juill 1999;94(1):179-85.
58. Vincent F, Rauch A, Loobuyck V, Robin E, Nix C, Vincentelli A, et al. Arterial Pulsatility and Circulating von Willebrand Factor in Patients on Mechanical Circulatory Support. *J Am Coll Cardiol*. 7 mai 2018;71(19):2106-18.
59. Weinstein M, Ware JA, Troll J, Salzman E. Changes in von Willebrand factor during cardiac surgery: effect of desmopressin acetate. *Blood*. 1988;71(6):1648-1655.
60. Veyradier A, Balian A, Wolf M, Giraud V, Montembault S, Obert B, et al. Abnormal von Willebrand factor in bleeding angiodysplasias of the digestive tract. *Gastroenterology*. 1 févr 2001;120(2):346-53.
61. Warkentin TE, Moore JC, Anand SS, Lonn EM, Morgan DG. Gastrointestinal bleeding, angiodysplasia, cardiovascular disease, and acquired von Willebrand syndrome. *Transfus Med Rev*. 2003;17(4):272-286.
62. Pawlitschek F, Keyl C, Zieger B, Budde U, Beyersdorf F, Neumann F-J, et al. Alteration of von Willebrand Factor after Transcatheter Aortic Valve Replacement in the Absence of Paravalvular Regurgitation. *Thromb Haemost*. 2018;118(01):103-11.
63. Rauch A, Caron C, Vincent F, Jeanpierre E, Ternisien C, Boisseau P, et al. A novel ELISA-based diagnosis of acquired von Willebrand disease with increased VWF proteolysis: *Thromb Haemost*. 21 janv 2016;115(5):950-9.
64. Heyde EC. Gastrointestinal Bleeding in Aortic Stenosis. *N Engl J Med*. 24 juill 1958;259(4):196-196.
65. Bourdette D, Greenberg B. Twelve-year history of gastrointestinal bleeding in a patient with calcific aortic stenosis and hemorrhagic telangiectasia. *Dig Dis Sci*. janv 1979;24(1):77-9.
66. Love JW. The syndrome of calcific aortic stenosis and gastrointestinal bleeding: resolution following aortic valve replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg*. mai 1982;83(5):779-83.
67. Boyle JM, Rowen HE, Saito H, Vicic WJ, Ankeney JL. Severe aortic stenosis in a patient with recurrent gastrointestinal bleeding: replacement of the aortic valve with a porcine xenograft. *Am J Gastroenterol*. févr 1981;75(2):135-9.
68. King RM, Pluth JR, Giuliani ER. The Association of Unexplained Gastrointestinal Bleeding with Calcific Aortic Stenosis. *Ann Thorac Surg*. nov 1987;44(5):514-6.
69. Hahn RT, Little SH, Monaghan MJ, Kodali SK, Williams M, Leon MB, et al. Recommendations for Comprehensive Intraprocedural Echocardiographic Imaging During TAVR. *JACC Cardiovasc Imaging*. mars 2015;8(3):261-87.
70. Warkentin TE, Moore JC, Morgan DG. Aortic stenosis and bleeding gastrointestinal angiodysplasia: is acquired von Willebrand's disease the link? *Lancet Lond Engl*. 1992;340(8810):35-7.
71. Warkentin TE, Moore JC, Morgan DG. Gastrointestinal Angiodysplasia and Aortic Stenosis. *N Engl J Med*. 12 sept 2002;347(11):858-9.
72. Susen S, Rauch A, Van Belle E, Vincentelli A, Lenting PJ. Circulatory support devices: fundamental aspects and clinical management of bleeding and thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2015;13(10):1757-67.
73. Miller LW, Pagani FD, Russell SD, John R, Boyle AJ, Aaronson KD, et al. Use of a Continuous-Flow Device in Patients Awaiting Heart Transplantation. *N Engl J Med*. 30 août 2007;357(9):885-96.
74. Slaughter MS, Rogers JG, Milano CA, Russell SD, Conte JV, Feldman D, et al. Advanced Heart Failure Treated with Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device. *N Engl J Med*. 3 déc 2009;361(23):2241-51.

75. Kirklin JK, Naftel DC, Pagani FD, Kormos RL, Stevenson LW, Blume ED, et al. Sixth INTERMACS annual report: A 10,000-patient database. *J Heart Lung Transplant.* juin 2014;33(6):555-64.
76. Pagani FD, Miller LW, Russell SD, Aaronson KD, John R, Boyle AJ, et al. Extended mechanical circulatory support with a continuous-flow rotary left ventricular assist device. *J Am Coll Cardiol.* 21 juill 2009;54(4):312-21.
77. Crow S, John R, Boyle A, Shumway S, Liao K, Colvin-Adams M, et al. Gastrointestinal bleeding rates in recipients of nonpulsatile and pulsatile left ventricular assist devices. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009;137(1):208-15.
78. Crow S, Milano C, Joyce L, Chen D, Arepally G, Bowles D, et al. Comparative Analysis of von Willebrand Factor Profiles in Pulsatile and Continuous Left Ventricular Assist Device Recipients: *ASAIO J.* 2010;56(5):441-5.
79. Uriel N, Pak S-W, Jorde UP, Jude B, Susen S, Vincentelli A, et al. Acquired von Willebrand Syndrome After Continuous-Flow Mechanical Device Support Contributes to a High Prevalence of Bleeding During Long-Term Support and at the Time of Transplantation. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(15):1207-13.
80. Klovaite J, Gustafsson F, Mortensen SA, Sander K, Nielsen LB. Severely Impaired von Willebrand Factor-Dependent Platelet Aggregation in Patients With a Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device (HeartMate II). *J Am Coll Cardiol.* juin 2009;53(23):2162-7.
81. Meyer AL, Malehsa D, Budde U, Bara C, Haverich A, Strueber M. Acquired von Willebrand Syndrome in Patients With a Centrifugal or Axial Continuous Flow Left Ventricular Assist Device. *JACC Heart Fail.* 2014;2(2):141-5.
82. Davis ME, Haglund NA, Tricarico NM, Keebler ME, Maltais S. Development of acquired von Willebrand syndrome during short-term micro axial pump support: implications for bleeding in a patient bridged to a long-term continuous-flow left ventricular assist device. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. juin 2014;60(3):355-7.
83. Heilmann C, Geisen U, Beyersdorf F, Nakamura L, Benk C, Trummer G, et al. Acquired von Willebrand syndrome in patients with extracorporeal life support (ECLS). *Intensive Care Med.* janv 2012;38(1):62-8.
84. Heilmann C, Geisen U, Beyersdorf F, Nakamura L, Trummer G, Berchtold-Herz M, et al. Acquired Von Willebrand syndrome is an early-onset problem in ventricular assist device patients. *Eur J Cardiothorac Surg.* avr 2011;
85. Pareti FI, Lattuada A, Bressi C, Zanobini M, Sala A, Steffan A, et al. Proteolysis of von Willebrand Factor and Shear Stress-Induced Platelet Aggregation in Patients With Aortic Valve Stenosis. *Circulation.* 2000;102(11):1290-5.
86. Vincentelli A, Susen S, Le Tourneau T, Six I, Fabre O, Juthier F, et al. Acquired von Willebrand syndrome in aortic stenosis. *N Engl J Med.* 2003;349(4):343-349.
87. Spangenberg T, Budde U, Schewel D, Frerker C, Thielsen T, Kuck K-H, et al. Treatment of Acquired von Willebrand Syndrome in Aortic Stenosis With Transcatheter Aortic Valve Replacement. *JACC Cardiovasc Interv.* 2015;8(5):692-700.
88. Marggraf O, Schneppenheim S, Daubmann A, Budde U, Seiffert M, Reichenspurner H, et al. Correction of acquired von Willebrand syndrome by transcatheter aortic valve implantation. *J Invasive Cardiol.* déc 2014;26(12):654-8.
89. Meyer AL, Malehsa D, Bara C, Budde U, Slaughter MS, Haverich A, et al. Acquired von Willebrand Syndrome in Patients With an Axial Flow Left Ventricular Assist Device. *Circ Heart Fail.* 2010;3(6):675-81.
90. Zanardelli S, Chion ACK, Groot E, Lenting PJ, McKinnon TAJ, Laffan MA, et al. A novel binding site for ADAMTS13 constitutively exposed on the surface of globular VWF. *Blood.* 24 sept 2009;114(13):2819-28.

91. Dassanayaka S, Slaughter MS, Bartoli CR. Mechanistic Pathway(s) of Acquired Von Willebrand Syndrome with a Continuous-Flow Ventricular Assist Device: In Vitro Findings. *ASAIO J.* 2013;59(2):123-9.
92. Bartoli CR, Dassanayaka S, Brittan KR, Luckett A, Sithu S, Siess T, et al. Insights into the mechanism(s) of von Willebrand factor degradation during mechanical circulatory support. *J Thorac Cardiovasc Surg.* mai 2014;147(5):1634-43.
93. Shoenfeld Y, Eldar M, Bedazovsky B, Levy MJ, Pinkhas J. Aortic stenosis associated with gastrointestinal bleeding. A survey of 612 patients. *Am Heart J.* août 1980;100(2):179-82.
94. Weaver GA, Alpern HD, Davis JS, Ramsey WH, Reichelderfer M. Gastrointestinal angiodysplasia associated with aortic valve disease: part of a spectrum of angiodysplasia of the gut. *Gastroenterology.* juill 1979;77(1):1-11.
95. Kibler M, Marchandot B, Messas N, Labreuche J, Vincent F, Grunebaum L, et al. Primary Hemostatic Disorders and Late Major Bleeding After Transcatheter Aortic Valve Replacement. *J Am Coll Cardiol.* 30 oct 2018;72(18):2139-48.
96. Gill JC, Wilson AD, Endres-Brooks J, Montgomery RR. Loss of the largest von Willebrand factor multimers from the plasma of patients with congenital cardiac defects. *Blood.* 1986;67(3):758-761.
97. Lahpor J, Khaghani A, Hetzer R, Pavie A, Friedrich I, Sander K, et al. European results with a continuous-flow ventricular assist device for advanced heart-failure patients. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2009;
98. Starling RC, Naka Y, Boyle AJ, Gonzalez-Stawinski G, John R, Jorde U, et al. Results of the Post-U.S. Food and Drug Administration-Approval Study With a Continuous Flow Left Ventricular Assist Device as a Bridge to Heart Transplantation. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(19):1890-8.
99. Hasin T, Marmor Y, Kremers W, Topilsky Y, Severson CJ, Schirger JA, et al. Readmissions after implantation of axial flow left ventricular assist device. *J Am Coll Cardiol.* 15 janv 2013;61(2):153-63.
100. Holley CT, Harvey L, Roy SS, Cogswell R, Eckman P, Liao K, et al. Gastrointestinal Bleeding during Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device Support is Associated with Lower Rates of Cardiac Transplantation. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. déc 2015;61(6):635-9.
101. Guha A, Eshelbrenner CL, Richards DM, Monsour HP. Gastrointestinal bleeding after continuous-flow left ventricular device implantation: review of pathophysiology and management. *Methodist DeBakey Cardiovasc J.* mars 2015;11(1):24-7.
102. Bunte MC, Blackstone EH, Thuita L, Fowler J, Joseph L, Ozaki A, et al. Major Bleeding During HeartMate II Support. *J Am Coll Cardiol.* 10 déc 2013;62(23):2188-96.
103. Uriel N, Colombo PC, Cleveland JC, Long JW, Salerno C, Goldstein DJ, et al. Hemocompatibility-Related Outcomes in the MOMENTUM 3 Trial at 6 Months. *Circulation.* 2017;135(21):2003-2012.
104. Kang J, Hennessy-Strahs S, Kwiatkowski P, Bermudez CA, Acker MA, Atluri P, et al. Continuous-Flow LVAD Support Causes a Distinct Form of Intestinal Angiodysplasia. *Circ Res.* 2017;121(8):963-9.
105. Bartoli CR, Zhang DM, Hennessy-Strahs S, Kang J, Restle DJ, Bermudez C, et al. Clinical and In Vitro Evidence That Left Ventricular Assist Device-Induced von Willebrand Factor Degradation Alters Angiogenesis. *Circ Heart Fail.* sept 2018;11(9):e004638.
106. Wever-Pinzon O, Selzman CH, Drakos SG, Saidi A, Stoddard GJ, Gilbert EM, et al. Pulsatility and the Risk of Nonsurgical Bleeding in Patients Supported With the Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device HeartMate II. *Circ Heart Fail.* 2013;6(3):517-26.
107. Blackshear JL, Wysokinska EM, Safford RE, Thomas CS, Shapiro BP, Ung S, et al.

- Shear stress-associated acquired von Willebrand syndrome in patients with mitral regurgitation. *J Thromb Haemost.* 2014;12(12):1966-74.
108. Xiong Y, Hu Z, Han X, Jiang B, Zhang R, Zhang X, et al. Hypertensive stretch regulates endothelial exocytosis of Weibel-Palade bodies through VEGF receptor 2 signaling pathways. *Cell Res.* juin 2013;23(6):820-34.
109. Baliga RR. From clinical observation to mechanism--Heyde's syndrome. *N Engl J Med.* 2013;368(6):579.
110. Auffret V, Lefevre T, Van Belle E, Eltchaninoff H, Iung B, Koning R, et al. Temporal Trends in Transcatheter Aortic Valve Replacement in France. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(1):42-55.
111. Vincent F, Rauch A, Loobuyck V, Moussa M, Juthier F, Debry N, et al. von Willebrand Factor for Aortic Valve Intervention: From Bench to Real-Time Bedside Assessment. *Circ Res.* 25 mai 2018;122(11):1499-500.
112. Vincent F, Rauch A, Spillemaeker H, Vincentelli A, Paris C, Rosa M, et al. Real-Time Monitoring of von Willebrand Factor in the Catheterization Laboratory: The Seatbelt of Mini-Invasive Transcatheter Aortic Valve Replacement? *JACC Cardiovasc Interv.* 3 sept 2018;11(17):1775-8.
113. Pibarot P, Hahn RT, Weissman NJ, Arsenault M, Beaudoin J, Bernier M, et al. Association of Paravalvular Regurgitation With 1-Year Outcomes After Transcatheter Aortic Valve Replacement With the SAPIEN 3 Valve. *JAMA Cardiol.* 1 nov 2017;2(11):1208-16.
114. Van Belle E, Juthier F, Susen S, Vincentelli A, Iung B, Dallongeville J, et al. Postprocedural Aortic Regurgitation in Balloon-Expandable and Self-Expandable Transcatheter Aortic Valve Replacement Procedures Analysis of Predictors and Impact on Long-Term Mortality: Insights From the FRANCE2 Registry. *Circulation.* 2014;129(13):1415-27.
115. Ribeiro HB, Ven FL, Larose É, Dahou A, Nombela-Franco L, Urena M, et al. Cardiac magnetic resonance versus transthoracic echocardiography for the assessment and quantification of aortic regurgitation in patients undergoing transcatheter aortic valve implantation. *Heart.* 2014;100(24):1924-32.
116. Kibler M, Marchandot B, Messas N, Caspar T, Vincent F, Hunolstein J-JV, et al. CT-ADP Point-of-Care Assay Predicts 30-Day Paravalvular Aortic Regurgitation and Bleeding Events following Transcatheter Aortic Valve Replacement. *Thromb Haemost.* 2018;

## ANNEXES

### **Annexe 1 : facteur Willebrand et évaluation en temps-réel des procédures valvulaires aortiques : « from bench to bedside » (editorial)**

**Vincent F**, Rauch A, Loobuyck V, Moussa M, Juthier F, Debry N, Jeanpierre E, Lenting PJ, Susen S, Belle EV. von Willebrand Factor for Aortic Valve Intervention: From Bench to Real-Time Bedside Assessment. *Circulation Research*. 2018;122:1499–1500.

## **Annexe 2 : le monitoring du facteur Willebrand en salle de cathétérisme : la ceinture de sécurité du TAVI mini-invasif ? (review)**

**Vincent F**, Rauch A, Spillemaecker H, Vincentelli A, Paris C, Rosa M, Dupont A, Delhay C, Verdier B, Robin E, Lenting PJ, Susen S, Belle EV. Real-Time Monitoring of von Willebrand Factor in the Catheterization Laboratory: The Seatbelt of Mini-Invasive Transcatheter Aortic Valve Replacement? *JACC: Cardiovascular Interventions*. 2018;11:1775–1778

**Annexe 3 : Von Willebrand Factor and management of Heart Valve Disease :  
Ready for Primetime ? (review)**

Eric Van Belle\*, MD,PhD; **Flavien Vincent\***, MD; Antoine Rauch\*, MD, PhD; Catarina Casari, PhD; Emmanuelle Jeanpierre, PharmD; Valentin Loobuyck, MD; Cedric Delhayé, MD; Hughes Spillemaeker, MD; Camille Paris, MD; Nicolas Debry, MD; Basile Verdier MD; André Vincentelli, MD; PhD, Annabelle Dupont, MD, PhD, Peter J. Lenting, PhD\*; Sophie Susen\*, MD, PhD

2ème soumission en cours de reviewing par *Journal of american college of cardiology*

\*: These authors contributed equally to the manuscript

1 **Von Willebrand Factor and Management of Heart Valve Disease:**

2 **Ready for Prime Time ?**

3

4 Eric Van Belle\*, MD,PhD; Flavien Vincent\*, MD; Antoine Rauch\*, MD, PhD; Catarina  
5 Casari, PhD; Emmanuelle Jeanpierre, PharmD; Valentin Loobuyck, MD; Mickael Rosa, PhD;  
6 Cedric Delhaye, MD; Hughes Spillemaeker, MD; Camille Paris, MD; Nicolas Debry, MD;  
7 Basile Verdier MD; André Vincentelli, MD, PhD; Annabelle Dupont, PharmD, PhD; Peter J.  
8 Lenting\*, PhD; Sophie Susen\*, MD, PhD

9

10 From Inserm, U1011, Univ. Lille, U1011 - EGID, Institut Pasteur de Lille, F-59000 Lille,  
11 France (EVB, SS, FV, AR, EJ, VL, AV, AD, MR); CHU Lille, Hematology and Transfusion,  
12 F-59000 Lille (SS, AR, EJ); Inserm, UMR\_S 1176, Univ. Paris-Sud, Univ. Paris-Saclay, Le  
13 Kremlin-Bicêtre, France (CC, PJL); CHU Lille, Cardiology, F-59000 Lille, France (EVB, FV,  
14 CD, HS, ND, BV); France CHU Lille, Cardiac surgery, F-59000 Lille, France (VL; AV).

15

16

17 \*: These authors contributed equally to the manuscript

18

19

20

21

22

23

24

25

26 Address for correspondence:

27 Sophie Susen

28 Department of Hematology and Transfusion, Institut Cœur Poumon, Centre Hospitalier

29 Universitaire de Lille

30 59037 Lille Cedex – France

31 Phone: +33320445937; Email: sophiesusen@aol.com

32

33

34 Word count: 4992 (from introduction to figure legends)

35

36 Key words: Von Willebrand factor; Heart valve disease; Aortic stenosis; Biomarker; point-of-  
37 care test; Mitral regurgitation; Paravalvular regurgitation; Transcatheter aortic valve  
38 replacement; Bioprosthesis

39

40

1 **ABBREVIATIONS AND ACRONYMS**

2

3 ADAMTS13 = a desintegrin and metalloprotease with a thrombospondin type 1 repeats-13

4 AS = Aortic stenosis

5 aVWS = Acquired von Willebrand syndrome

6 CT-ADP = Closure time of a membrane coated with collagen and adenosine-5'-diphosphate

7 GIB = Gastro-intestinal bleeding

8 HVD = Heart valve disease

9 HMW = High molecular weight

10 PVR = Paravalvular regurgitation

11 SAVR = Surgical aortic valve replacement

12 TAVR = Transcatheter aortic valve replacement

13 VWD = Von Willebrand disease

14 VWF = Von Willebrand factor

15

1 **ABSTRACT**

2

3 For decades, numerous observations have shown an intimate relationship between Von  
4 Willebrand factor(VWF) multimer profile and heart valve diseases(HVD). Our current  
5 knowledge of the unique biophysical properties of VWF helps us to understand the  
6 longstanding observations concerning the bleeding complications in patients with severe HVD.  
7 Not only the analysis of the VWF multimer profile provides an excellent evaluation of HVD  
8 severity, it is also a strong predictor of clinical events. Also of importance, VWF responds  
9 within minutes to any significant change in hemodynamic valve status, making it an accurate  
10 marker of the quality of surgical and transcatheter therapeutic interventions.

11 We provide in this review a practical, comprehensive and evidence-based framework of the  
12 concept of VWF as biomarker in HVD, advocating for its implementation into the clinical  
13 decision-making process besides usual clinical and imaging evaluation. We also delineate  
14 critical knowledge gaps and research priorities to definitely validate this concept.

15

16

17

18

19

1 **CONDENSED ABSTRACT**

2

3 Management of HVD relies on the complex integration of clinical and imaging parameters.

4 VWF as biomarker is a valuable and readily available tool for the management of patients with

5 HVD from the diagnosis work-up to the long-term clinical follow-up of the patients.

6 We provide in this review a practical, comprehensive and evidence-based framework of the

7 concept of VWF as biomarker in HVD, advocating for its implementation into the clinical

8 decision-making process besides usual clinical and imaging evaluation. We also delineate

9 critical knowledge gaps and research priorities to definitely validate this concept.

1 **INTRODUCTION**

2

3 Besides clinical evaluation, current management of HVD relies almost exclusively on  
4 echocardiographic assessment, which is challenging or needs refinement in numerous clinical  
5 situations. Von Willebrand Factor(VWF) biology has the unique feature to mirror the  
6 hemodynamic changes applied on the blood flow in most of stenotic or regurgitant heart valve  
7 disease(HVD). Multiple studies demonstrated that VWF not only provides an excellent  
8 evaluation of HVD severity, but also serves as a marker of the quality of the therapeutic  
9 interventions and a predictor of patient's outcomes(1). Overall, this review offers an integrated  
10 framework for understanding the emerging concepts of VWF as biomarker in HVD. We also  
11 delineate critical knowledge gaps and research priorities.

## 1 **Von Willebrand Factor: Production and Regulation**

2 Von Willebrand Factor(VWF) is a large multimeric glycoprotein involved in hemostasis via  
3 several of its structural domains allowing interactions with  $\alpha$ -desintegrin and metalloprotease  
4 with a thrombospondin type-1 motif family(ADAMTS13)(A2-domain), platelets(A1-domain),  
5 Factor VIII(D'-D3-domain), collagen(A3-domain) or  $\alpha$ Ib $\beta$ 3-integrin(C4 domain)(2). It has  
6 further been suggested that VWF contributes to the regulation of angiogenesis(3). VWF is  
7 produced and stored in endothelial cells and megakaryocytes as ultra-large-multimers. Once  
8 released, they are enzymatically cleaved by ADAMTS13. Consequently, VWF circulates as a  
9 series of heterologous multimers, from single dimers to large multimers. In normal plasma, as  
10 many as 20 multimers bands can be distinguished, which thus have incorporated 40 monomeric  
11 VWF subunits. The largest multimers are hemostatically the most efficient, and generally  
12 multimers consisting of >20-30-VWF subunits(10-15 mers) are considered as high-molecular-  
13 weight(HMW)-multimers. Under low shear conditions(<1000 sec<sup>-1</sup>), multimers are circulating  
14 in a globular "quiescent" form with some of the binding domains in cryptic conformation.  
15 Under high shear conditions(>2000 sec<sup>-1</sup>), VWF multimers get "activated" switching toward  
16 an elongated form allowing interactions with platelets and collagen. In parallel, exposure of the  
17 A2-domain to the circulating ADAMTS13 induces a nearly immediate de-activation through  
18 enzymatic cleavage generating smaller and less efficient multimers(4).

19

## 20 **From inherited Von Willebrand disease(VWD) to acquired Von Willebrand** 21 **syndrome(aVWS)**

22 Inherited VWD, first described in 1926 by Erik von Willebrand is caused by congenital  
23 decrease or dysfunction of VWF(5). Quantitative defects of VWF may either be classified as  
24 partial(type-1) or total(type-3), whereas VWD-type-2 corresponds to a qualitative defect.  
25 VWD-type-2A is characterized by lack of HMW-multimers(and thus reduced platelet binding),

1 which in some cases is due to a mutation-induced increases susceptibility for ADAMTS13-  
2 mediated proteolysis(6).

3 The non-inherited development of VWF dysfunction(*i.e.* aVWS) has been reported initially in  
4 systemic-lupus-erythematosus or benign monoclonal gammopathy and subsequently in aortic  
5 stenosis(AS). As a selective deficiency of the HMW-multimers was found in >80% of the cases  
6 of aVWS, the generic term aVWS-type-2A is also frequently used(7).

7 Various assays are used to evaluate the activity of VWF multimers, *i.e.* the capacity to bind  
8 collagen and platelets and screening for aVWS-type-2A. The current gold standard for the  
9 diagnosis of aVWS-type-2A relies on the electrophoretic analysis of VWF multimers, which is  
10 done manually, is time-consuming and very demanding regarding technical expertise. The  
11 point-of-care testing PFA-100/200(Platelet Function Analyzer, Siemens, Germany) is sensitive  
12 for the presence of HMW-multimers defect and provides nearly immediate results(5-10  
13 minutes)(Supplemental material).

14

### 15 **From Heyde's syndrome to aVWS-type 2A**

16 In 1958, Heyde reported the eponym syndrome associating unexplained gastrointestinal  
17 bleedings(GIB) and AS in 10 patients. The causal link between both entities was further  
18 suggested by reports of clinical cases in which the GIB(mainly from angiodysplasia)  
19 disappeared after surgical or transcatheter aortic valve replacement(TAVR or  
20 SAVR)(Supplemental table-1&3). The most convincing evidence was provided in 1987 with  
21 the report of the long-term follow-up outcomes(>8-years) of a cohort of 87 patients suffering  
22 from AS and GIB(or anemia) according to treatment modality. While after SAVR(n=14), 93%  
23 of patients were free from recurrent bleeding, this was only the case in 3% of those who had  
24 digestive surgery(n=37) and none of those who were treated medically(n=40)(8).

1    Approximatively at the same time, two studies described a HMW-multimers defect mimicking  
2    the biological footprint of VWD-type-2A in patients with congenital cardiac defect or HVD  
3    and its correction after surgery(9)(10). In particular, Weinstein reported that HMW-multimers  
4    of patients with severe HVD(n=43, mainly AS) were significantly reduced compared to healthy  
5    subjects or to patients with coronary artery disease(Supplemental Table-2). In this series,  
6    HMW-multimers returned to normal after SAVR(10)(Supplemental Table-3).

7    Based on these findings, and also owing to the similarity between the GIB phenotype of patients  
8    with Heyde's syndrome and those with VWD-type-2A(11), Warkentin was the first to suggest  
9    that Heyde's syndrome originated from aVWS-type-2A induced by AS(12). This suggestion  
10    was further supported by the high rate of concomitant AS and HMW-multimers defect(>80%)  
11    in patients with "bleeding angiodysplasia", whereas multimers were normal in patients with  
12    "nonbleeding angiodysplasia"(13); and by the report of the simultaneous correction of HMW-  
13    multimers defect and GIB in 2 patients undergoing SAVR(14). In 2003 the link between AS  
14    and aVWS-type-2A was definitely established by our group, demonstrating that SAVR was  
15    associated with a parallel correction of the HMW-multimers defect and a disappearance of  
16    mucosal bleeding(from 26% prior to 2% after surgery) in a series of 42 patients(15).

17    Overall, the correction of the HMW-multimers defect and/or bleeding by aortic valve  
18    replacement was reported in 1801 patients across more than 60 reports(Supplemental Table-1  
19    and 3).

20

## 21    **Epidemiology and mechanisms of GIB in patients with HVD**

22    Bleeding from GI-angiodysplasia is considered a hallmark of Heyde's syndrome even if  
23    angiodysplasia accounts for "only" 10-20% of all bleeding episodes in patients with AS. The  
24    first case of angiodysplasia and autopsy proven AS was reported in 1971(16). The exact  
25    prevalence of GIB in AS-patients remains uncertain(from 2-5%, to 25%), but several studies

1 have noted an increased risk of GIB(3- to 100-fold) compared to patients without AS)(17). This  
2 wide estimate are related to the heterogeneity of HVD severity, to the methods and duration of  
3 data collection, and to the different bleeding definitions used across the studies(bleeding from  
4 angiodysplasia, all-cause GIB or the combination of GIB, mucosal bleeding and unexplained  
5 anemia altogether)(Supplemental Table-3).

6 HVD patients usually do not manifest generalized bleeding diathesis because intermediate-  
7 sized multimers remain available for primary hemostasis in vessels with physiologic shear-  
8 rate(18). Angiodysplasia consists of clusters of submucosal arteriovenous-malformations and  
9 generates pathologically-increased wall shear-rate( $>4,000s^{-1}$ ). Such environment predisposes  
10 to bleeding in patients who are lacking HMW-multimers to maintain hemostasis. It is  
11 commonly found everywhere in GI-tract, but the cecum and right colon are the most affected.  
12 Bleeding from arteriovenous-malformations in the nasal mucosae have also been reported(19).  
13 The bleeding risk seems intimately related to the VWF abnormalities.

14

### 15 **Causal relationship between aVWS and angiodysplasia?**

16 Whether the relationship between aVWS-type-2A and angiodysplasia in patients with AS is  
17 causative or coincidental is unclear, as both angiodysplasia and AS are associated with  
18 ageing(18). Veyradier found that aVWS-type-2A is not associated with a higher prevalence of  
19 angiodysplasia *per se*, but with a higher prevalence of “bleeding” among patients with  
20 angiodysplasia(13). Furthermore, angiodysplasia remains usually visible after SAVR, whereas  
21 GIB have stopped(Supplemental Table-1).

22 Recently, the implantation of mechanical circulatory support in animals induced both aVWS-  
23 type-2A and abnormal gastrointestinal vascularity, suggesting a direct causal link between  
24 VWF degradation and angiodysplasia(20). This effect may originate from the loss of the anti-  
25 angiogenic effect of HMW-multimers and/or to the “pro-angiogenic” effect of VWF-

1 degradation products. This hypothesis is supported by the observation of capillary dilatation,  
2 tortuosity, and blood extravasation in young VWD-patients(21), or the presence of  
3 angiodysplasia in young patients with aVWS-type-2A related to congenital cardiopathy(9)(22)  
4 (central illustration).

5

### 6 **VWF Multimer-structure to assess the severity of HVD**

7 Steady-state measurement of the VWF Multimer-structure (and its quantification by CT-ADP)  
8 seems a reliable index of the presence and severity of several native HVDs or prosthetic valve  
9 dysfunction.

### 10 **In native stenotic HVD**

11 The exact prevalence of HMW-multimers defect in AS is unknown. While most of the studies  
12 have reported a prevalence in the 65-85% range, much lower(33%) or higher(100%)  
13 prevalences have also been reported(Supplemental Table-3). This may originate from different  
14 methods of quantification of HMW-multimers(Supplemental Table-3) or from the investigation  
15 of populations with different AS severity. Indeed, the seminal work of Vincentelli and Susen  
16 established that the percentage of HMW-multimers inversely correlates with the increase of the  
17 echocardiographic transaortic gradient( $r=-0.56$ ,  $p<0.001$ ), while CT-ADP positively  
18 correlated( $r=0.58$ ,  $P<0.001$ )(15).

19 This initial observation was further confirmed and repeated in 16 studies that included a total  
20 of 1,548 patients(Supplemental Table-2). However, the correlation is not absolute and we and  
21 others have reported that approximately 50% of patients with moderate AS have abnormal CT-  
22 ADP and HMW-multimers(23)(24). On the other hand, at least 20% of patients with  
23 echocardiography based severe AS do not have a significant VWF defect (15). As it has been  
24 shown that a lower LVEF usually translates into a lower transaortic gradient and less  
25 degradation of HMW-multimers, part of the above heterogeneity could relate to differences in

1 ventricular function (25)(1). Nevertheless, a recent report has suggested that even in patients  
2 with a poor LV function, the analysis of HMW-multimers may be used to differentiate between  
3 patients with true or pseudo-severe AS(26).

4 No reliable data have been reported in patients with mitral or pulmonary stenosis.

5

#### 6 **In native regurgitant HVD**

7 Blackshear identified a strong correlation between the severity of the regurgitant  
8 valvulopathy(as assessed by the regurgitant volume by echocardiography) and the magnitude  
9 of the HMW-multimers defect(or the CT-ADP) in 84 patients with native mitral  
10 regurgitation( $p<0,001$ )(27) or aortic regurgitation( $r=0,74$ ;  $p<0,001$  for CT-ADP)(28). They  
11 also reported a prevalence of HMW-multimers defect for  $\approx 80\%$  in patients with severe mitral  
12 or aortic regurgitation.

13 Since the initial report of Weinstein(10), almost 500 patients with regurgitant HVD have been  
14 characterized with the analysis of VWF-related markers(Supplemental Table-2). To our  
15 knowledge, no data have been reported on patients with tricuspid regurgitation.

16

#### 17 **In structural or non-structural deterioration of bioprosthetic valve**

18 Hemodynamic prosthetic valve function and VWF-related markers have been studied in nearly  
19 1300 patients(Supplemental Table-4).

20

#### 21 *Detection of paravalvular regurgitation*

22 Several groups established that measurement of HMW-multimers or CT-ADP could accurately  
23 identify the presence of PVR(29)(Supplemental Table-2 and 4). In our cohort of 183 patients  
24 undergoing TAVR(WITAVI-cohort), HMW-multimers and CT-ADP $>180$ sec discriminated  
25 respectively patients with or without moderate or severe PVR, having a negative predictive

1 value of 98.7% and 98.6% respectively. These results were replicated in a multicentric cohort  
2 of 201 patients showing a negative predictive value of 96.9% for CT-ADP(1).

### 3 *Prosthesis-patient mismatch and residual gradient*

4 Prosthesis-patient mismatch(PPM) generates elevated gradients when the effective orifice  
5 area(EOA) of the normally functioning valve is too small in relation to body size. We observed  
6 the reappearance of a HMW-multimers defect at 6 months after SAVR only in the 10/42  
7 patients presenting PPM in our cohort(15), while the absence of recovery of the HMW-  
8 multimers defect has been reported in the only patient with PPM from another small SAVR  
9 cohort(30). Post-procedural VWF Antigen has also been shown to correlate with the indexed-  
10 EOA(31). Mirroring the previous observations made in native aortic valve stenosis, we  
11 established the correlation between residual HMW-multimers defect and the post-procedural  
12 transaortic gradient after balloon aortic valvuloplasty or TAVR( $r=-0.68$ ;  
13  $P<0.0001$ )(32)(Supplemental Table-3).

### 14 15 *Detection of structural valve deterioration*

16 Blackshear reported abnormal VWF pathway in 43 patients with a dysfunctional aortic or mitral  
17 prosthesis compared to 64 patients with normally functioning prosthesis(27). Pérez-Rodríguez  
18 further documented the HMW-multimers defect and CT-ADP prolongation in patients with  
19 dysfunctional bioprosthetic valves and their normalization after redo-  
20 surgery(33)(Supplemental Table-2 and 4).

21 These data suggested that analysis of the VWF pathway could provide a warning signal of  
22 significant alterations of the hemodynamics properties of the bioprosthesis at a given time point.  
23 However, VWF-related markers cannot help to identify the underlying mechanism of  
24 bioprosthesis dysfunction(stenosis, regurgitation or both) and dedicated larger studies are  
25 needed to further delineate its clinical utility.

26

1 **Temporal variations in VWF-multimer structure as a sensor of dynamic**  
2 **changes in heart valve function**

3 In 1988, Weinstein was the first to report that the recovery of the HMW-multimers defect during  
4 SAVR happens as soon as the cardiopulmonary bypass relieves the AS by shunting the blood  
5 from right cavities to ascending aorta(10). This milestone observation remained unnoticed until  
6 we reported in 2003 a complete normalization of VWF function at day 1 post-SAVR in a cohort  
7 of 42 patients with AS(15).

8 Around the same period, biophysical analysis confirmed that VWF physiologic mechano-  
9 enzymatic cleavage by ADAMTS13 occurs within a few seconds(4). Based on these findings,  
10 we investigated the time-course of the HMW-multimers defect recovery in 30 patients with AS  
11 undergoing TAVR or balloon aortic valvuloplasty. We noticed that VWF markers returned to  
12 normal as quickly as 5 min after successful TAVR, whereas no correction was observed after  
13 suboptimal AS correction by balloon aortic valvuloplasty(32). We further observed in the  
14 WITAVI-cohort that the lack of rapid normalization of VWF markers coincided with the  
15 presence of a significant paravalvular regurgitation(PVR) after valve deployment. Overall,  
16 sequential analysis of VWF-related markers was sensitive enough to identify for two sequential  
17 hemodynamic status for the same patient: a 1<sup>st</sup> change from AS to PVR and then a 2<sup>nd</sup> change  
18 from PVR to normal valve function, when post-dilatation was successful(1) opening the  
19 perspective of real-time monitoring of the efficacy of valves interventions(34)(see dedicated  
20 chapter below).

21

22 **Proposed physiopathology models for quantification of HVD severity and**  
23 **analysis of dynamic changes in valve function**

24

25 **Quantification of the severity of HVD**

1 For an alteration of the VWF multimeric profile to become apparent in the peripheral blood, it  
2 requires that the blood volume submitted to high shear-stress represents a large enough fraction  
3 of the overall blood volume.

4 *In stenotic HVD: a series circuit model*

5 When the blood is circulating in a “series circuit”, the multimeric profile is reflecting the higher  
6 level of shear-stress of the circuit. This is typically the case for patients with stenotic valves  
7 generating high shear-stress, where the entire bloodstream is submitted to the valve stenosis.  
8 Thus, the higher the increase in shear-stress at the level of the valve(*i.e.* “the higher is the  
9 gradient”), the lower are the HMW-multimers measured in the peripheral blood. This explains  
10 that quantification of the loss of HMW-multimers correlates so well with the transvalvular  
11 gradient(Figure-1A&Supplemental Table-2).

12

13 *In regurgitant HVD: a parallel circuit model*

14 In a “parallel circuit”, the multimeric profile measured is resulting from the mixture of the  
15 multimeric profile of different blood volumes submitted to different levels of shear-stress  
16 circulating in parallel along the bloodstream. This is the case for patients with regurgitant HVD  
17 generating high shear-stress(*i.e.* mitral or aortic regurgitation) in whom only one fraction of the  
18 blood, the regurgitant fraction, is submitted to high shear-stress, whereas the other fraction is  
19 not. In this model, the higher the proportion of blood submitted to high shear-stress is, the lower  
20 are the HMW-multimers in the peripheral blood. Thus, in regurgitant HVD, the HMW-  
21 multimers defect is correlated to the “regurgitation fraction” measured by  
22 echocardiography(Figure-1B&Supplemental Table-2).

23 These models are consistent with the absence of reports describing HMW-multimers defects in  
24 patients with mitral/tricuspid stenosis or tricuspid regurgitation, because those HVD usually  
25 generate relatively low shear-stress with gradient <10mmHg or a laminar flow. They are also

1 consistent with the observation that patients with coronary stenosis lack VWF-multimers  
2 abnormalities, because the high shear-stress generated involves only a tiny fraction of the  
3 overall blood volume(10).

4

5 **Temporal changes of valve function**

6 *role of the endothelial release*

7 Proteolyzed VWF multimers do not covalently re-multimerize in the circulation. Consequently,  
8 the multimeric profile of circulating VWF in a peripheral blood sample depends on the steady-  
9 state between proteolysis and new VWF release.

10 In “acute” experimental AS(32)(Figure-2A) or in “acute” clinical PVR during TAVR(1), it is  
11 relatively straightforward that the acute appearance of a large circulating blood volume  
12 submitted to pathological high shear-stress will almost instantaneously(within minutes)  
13 translate into a loss of HMW-multimers.

14 A less straightforward scenario arrives when there is an “acute” recovery from a pathological  
15 high shear-stress to a physiological low shear-stress. Surprisingly, this change in shear-stress is  
16 associated with an acute recovery of HMW-multimers, as is illustrated in analysis of samples  
17 taken after successful TAVR or after PVR treated by post-dilatation(32)(1). While the excessive  
18 proteolysis stops nearly instantaneously with normalization of shear-stress, this is obviously  
19 not sufficient to provide an acute recovery of the pool of large multimers.

20 In our studies, we noted that the change from pathological to physiological shear-stress  
21 coincides with a rapid release of VWF and VWF propeptide from endothelial storage pools.  
22 Since these storage pools are enriched in HMW-multimers, it seems conceivable that the  
23 correction of the HMW-multimers defect is due to this acute release of VWF from endothelial  
24 cells of the vasculature after the recovery of the physiological flow and pulse  
25 pressure(32)(35)(Figure-2B).

1

2 To summarize, the 3 key determinants of VWF multimers profile in HVD are: 1)the degree of  
3 “pathological” shear-stress generating locally the proteolysis(mainly “variable” in stenotic  
4 HVD while mainly “constant” in regurgitant HVD); 2)the fraction of the whole blood  
5 submitted to the abnormal shear-stress(mainly “variable” in regurgitant HVD while mainly  
6 “constant” as being 100% in stenotic HVD); 3)the ability of the endothelium to release VWF-  
7 multimers depending notably on the level of pulse pressure(Figure-1&2 ).

8

9 **Most advanced potential clinical applications of VWF-related markers**  
10 **before, during and after valve interventions**

11 **Towards a better recognition of the bleeding burden in HVD patients**

12 The bleeding risk seems intimately related to the VWF-pathway abnormalities. There is also  
13 ample evidence that aVWS-type-2A is a major predictor of GIB in HVD population. In  
14 particular, Blackshear have reported that prolonged CT-ADP time is indicating a greater risk of  
15 bleeding(36). They also observed that among those with an apparent similar severity of mitral  
16 regurgitation, clinically significant bleedings were manifested in those with more significant  
17 VWF abnormalities(28).

18 Dozens of reports have shown that valve replacement is the only option to cure or at least relieve  
19 this bleeding diathesis(Supplemental Table-1&3).

20 It could therefore be suggested to measure VWF-related markers in case of chronic anemia of  
21 unknown origin or documented GIB from angiodysplasia in HVD patients in order to detect  
22 aVWS-type-2A. The presence of this latter could be incorporated in the decision-making  
23 process for prompt valve interventions in patients not meeting the conventional valve  
24 replacement criteria as suggested since 1971(16)(central illustration)..

25

1 **Real-time monitoring of valve interventions**

2 Because of the noxious impact of PVR on patient's prognosis, it is critical to obtain an accurate  
3 assessment of PVR at the time of the procedure to consider immediate corrective  
4 treatments(37). Transesophageal echocardiography, mainly performed under general  
5 anesthesia, is the gold standard method to assess the severity of PVR. However, mini-invasive  
6 TAVR without general anesthesia nor transesophageal echocardiography has become the  
7 standard of care in two-third of the interventions and this trend could impair the evaluation of  
8 PVR(38)(39). We have reported the capacity of VWF-related markers to detect PVR during  
9 TAVR and monitor its correction in real-time, with an excellent negative predictive value of  
10 more than 98% as compared to transesophageal echocardiography(1). The advantage of point-  
11 of-care CT-ADP testing is that it is designed as a compact instrument, automatically-calibrated,  
12 making its use by catheterization laboratory nurses after a short training possible. Including  
13 sample handling, results are available in less than 10 min after sampling. Practically, if CT-  
14 ADP is corrected after valve implantation, it could be proposed to terminate the procedure  
15 safely without requiring further sophisticated imaging investigations. If CT-ADP is still  
16 prolonged after valve deployment, the likelihood of PVR is high and should encourage the  
17 realization of a more comprehensive imaging technique.

18 This strategy which may improve the diagnosis of PVR during mini-invasive TAVR and help  
19 to rationalize the decision to perform or not corrective treatments will be tested in the large-  
20 scale multicenter randomized clinical trial WITAVI-REAL(NCT03728049). If this trial brings  
21 evidences, CT-ADP point-of-care testing could become the "seatbelt" of mini-invasive TAVR  
22 procedures(39).

23

24 **VWF and CT-ADP as the "missing link among PVR, late bleeding events, and its**  
25 **association with increased mortality after TAVR"**

1 The above hypothetical statement made by Généreux in 2015(40) has been underscored by recent  
2 data. Indeed, significant PVR, is both one of the main risk factor of major late bleeding  
3 complications after TAVR(2 to 3-fold increase)(41) and one of the strong predictors of  
4 mortality(42). Mirroring the clinical impact of PVR, prolonged CT-ADP has recently been  
5 highlighted both as a major independent predictor of PVR, late bleeding complications(3-fold  
6 increase) and of all-cause death after TAVR(1)(25)(43). Altogether, these findings suggest that  
7 the HMW-multimers defect could partially explain the higher bleeding rate and contribute to  
8 the higher mortality risk observed in case of significant PVR. This relationship has already been  
9 established in several other cardiovascular conditions promoting HMW-multimers defect such  
10 as after implantation of mechanical circulatory support(22).

11

#### 12 **Conclusion: A call for further research**

13 Most of the data establishing VWF as a quantitative marker of HVD severity come from  
14 monocentric cohorts of homogenous patients(Figure-3). Large-scale prospective multicentric  
15 and well characterized longitudinal cohorts are needed to provide more definite estimates of the  
16 prevalence of aVWS-type-2A and Heyde's syndrome at the various stages of HVD. Additional  
17 data are also required in patients with particular hemodynamic conditions; including those with  
18 low-flow/low-gradient AS or mixed HVD. The incremental value of VWF-related markers on  
19 top of current clinical/imaging criteria and other biomarkers(e.g. BNP) in the staging  
20 reclassification of HVD needs also to be evaluated.

21

22 The mucosal bleeding burden of HVD patients is also poorly recognized. Clinical validation of  
23 a bleeding scale dedicated to this population, such as the one developed by Tosetto(44), should  
24 be considered to facilitate identification of the "bleeding pattern" by the clinician. Moreover,  
25 the association between VWF abnormalities and bleeding need to be confirmed in larger cohorts

1 allowing multivariable analyses dealing with potential confounders. Finally, the clinical impact  
2 of earlier intervention in patients with Heyde's syndrome without another indication for valve  
3 replacement will have to be validated against the current conservative strategy.

4

5 Overall, although there are numerous emerging evidences, the lack of some data leads to many  
6 uncertainties on the indications and wide application of VWF as biomarkers for all-comers  
7 HVD patients before or after intervention. We suggest that it is time to fill these research gaps.  
8 The dedicated WITAVI-REAL(NCT03728049) trial will provide thoughtful insights to better  
9 appreciate some of these issues. Many of current interrogations could be easily answered by  
10 incorporating VWF biological sub-studies in upcoming transcatheter valve interventions trials  
11 or registries(Figure-3).

12 This review must be used as a launchpad for promoting endeavors through more research in the  
13 field.

14

15

## 1 REFERENCES

- 2 1. Van Belle E, Rauch A, Vincent F, et al. Von Willebrand Factor Multimers during  
3 Transcatheter Aortic-Valve Replacement. *N. Engl. J. Med.* 2016;375:335–344.
- 4 2. Lenting PJ, Casari C, Christophe OD, Denis CV. von Willebrand factor: the old, the new  
5 and the unknown. *J. Thromb. Haemost.* 2012;10:2428–2437.
- 6 3. Randi AM. Endothelial dysfunction in von Willebrand disease: angiogenesis and  
7 angiodyplasia. *Thromb. Res.* 2016;141:S55–S58.
- 8 4. Springer TA. von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream. *Blood* 2014;124:1412–  
9 1425.
- 10 5. Leebeek FWG, Eikenboom JCJ. Von Willebrand's Disease. *N. Engl. J. Med.*  
11 2016;375:2067–2080.
- 12 6. Sadler JE. A revised classification of von Willebrand disease. For the Subcommittee on  
13 von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International  
14 Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb. Haemost.* 1994;71:520–525.
- 15 7. Veyradier A, Jenkins CSP, Fressinaud E, Meyer D. Acquired von Willebrand Syndrome:  
16 from Pathophysiology to Management. *Thromb Haemost* 2000;84:175–182.
- 17 8. King RM, Pluth JR, Giuliani ER. The Association of Unexplained Gastrointestinal  
18 Bleeding with Calcific Aortic Stenosis. *Ann. Thorac. Surg.* 1987;44:514–516.
- 19 9. Gill JC, Wilson AD, Endres-Brooks J, Montgomery RR. Loss of the largest von Willebrand  
20 factor multimers from the plasma of patients with congenital cardiac defects. *Blood*  
21 1986;67:758–761.
- 22 10. Weinstein M, Ware JA, Troll J, Salzman E. Changes in von Willebrand factor during  
23 cardiac surgery: effect of desmopressin acetate. *Blood* 1988;71:1648–1655.
- 24 11. Ramsay DM, Buist TA, Macleod DA, Heading RC. Persistent gastrointestinal bleeding  
25 due to angiodyplasia of the gut in von Willebrand's disease. *Lancet Lond. Engl.* 1976;2:275–  
26 278.
- 27 12. Warkentin TE, Moore JC, Morgan DG. Aortic stenosis and bleeding gastrointestinal  
28 angiodyplasia: is acquired von Willebrand's disease the link? *Lancet Lond. Engl.*  
29 1992;340:35–37.
- 30 13. Veyradier A, Balian A, Wolf M, et al. Abnormal von Willebrand factor in bleeding  
31 angiodyplasias of the digestive tract. *Gastroenterology* 2001;120:346–353.
- 32 14. Warkentin TE, Moore JC, Morgan DG. Gastrointestinal Angiodyplasia and Aortic  
33 Stenosis. *N. Engl. J. Med.* 2002;347:858–859.
- 34 15. Vincentelli A, Susen S, Le Tourneau T, et al. Acquired von Willebrand syndrome in aortic  
35 stenosis. *N. Engl. J. Med.* 2003;349:343–349.
- 36 16. Boss EG, Rosenbaum JM. Bleeding from the right colon associated with aortic stenosis.  
37 *Am. J. Dig. Dis.* 1971;16:269–275.
- 38 17. Shoenfeld Y, Eldar M, Bedazovsky B, Levy MJ, Pinkhas J. Aortic stenosis associated  
39 with gastrointestinal bleeding. A survey of 612 patients. *Am. Heart J.* 1980;100:179–182.
- 40 18. Warkentin TE, Moore JC, Anand SS, Lonn EM, Morgan DG. Gastrointestinal bleeding,  
41 angiodyplasia, cardiovascular disease, and acquired von Willebrand syndrome. *Transfus.*  
42 *Med. Rev.* 2003;17:272–286.
- 43 19. Schödel J, Obergfell A, Maass AH. Severe aortic valve stenosis and nosebleed. *Int. J.*  
44 *Cardiol.* 2007;120:286–287.
- 45 20. Kang J, Hennessy-Strahs S, Kwiatkowski P, et al. Continuous-Flow LVAD Support  
46 Causes a Distinct Form of Intestinal Angiodyplasia. *Circ. Res.* 2017;121:963–969.
- 47 21. Koscielny JK, Latza R, Mürsdorf S, et al. Capillary microscopic and rheological  
48 dimensions for the diagnosis of von Willebrand disease in comparison to other haemorrhagic  
49 diatheses. *Thromb. Haemost.* 2000;84:981–988.

- 1 22. Susen S, Rauch A, Van Belle E, Vincentelli A, Lenting PJ. Circulatory support devices:  
2 fundamental aspects and clinical management of bleeding and thrombosis. *J. Thromb.*  
3 *Haemost.* 2015;13:1757–1767.
- 4 23. Hollestelle MJ, Loots CM, Squizzato A, et al. Decreased active von Willebrand factor  
5 level owing to shear stress in aortic stenosis patients. *J. Thromb. Haemost.* 2011;9:953–958.
- 6 24. Binnetoğlu FK, Babaoğlu K, Filiz ŞG, et al. Acquired von Willebrand syndrome in  
7 children with aortic and pulmonary stenosis. *Cardiovasc. J. Afr.* 2016;27:222–227.
- 8 25. Kibler M, Marchandot B, Messas N, et al. CT-ADP Point-of-Care Assay Predicts 30-Day  
9 Paravalvular Aortic Regurgitation and Bleeding Events following Transcatheter Aortic Valve  
10 Replacement. *Thromb. Haemost.* 2018.
- 11 26. Kellermeier J, Ott HW, Baumgartner H, et al. High-Molecular-Weight von Willebrand  
12 Factor Multimer Ratio: A Novel Biomarker for Low-Flow, Low-Gradient Aortic Stenosis  
13 Subclassification. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018;72:1982–1984.
- 14 27. Blackshear JL, McRee CW, Safford RE, et al. Von willebrand factor abnormalities and  
15 heyde syndrome in dysfunctional heart valve prostheses. *JAMA Cardiol.* 2016;1:198–204.
- 16 28. Blackshear JL, Wysokinska EM, Safford RE, et al. Shear stress-associated acquired von  
17 Willebrand syndrome in patients with mitral regurgitation. *J. Thromb. Haemost.*  
18 2014;12:1966–1974.
- 19 29. Spangenberg T, Budde U, Schewel D, et al. Treatment of Acquired von Willebrand  
20 Syndrome in Aortic Stenosis With Transcatheter Aortic Valve Replacement. *JACC*  
21 *Cardiovasc. Interv.* 2015;8:692–700.
- 22 30. Yamashita K, Yagi H, Hayakawa M, et al. Rapid Restoration of Thrombus Formation and  
23 High-Molecular-Weight von Willebrand Factor Multimers in Patients with Severe Aortic  
24 Stenosis After Valve Replacement. *J. Atheroscler. Thromb.* 2016;23:1150–1158.
- 25 31. Yoshida K, Tobe S, Kawata M, Yamaguchi M. Acquired and Reversible von Willebrand  
26 Disease With High Shear Stress Aortic Valve Stenosis. *Ann. Thorac. Surg.* 2006;81:490–494.
- 27 32. Van Belle E, Rauch A, Vincentelli A, et al. Von Willebrand factor as a biological sensor  
28 of blood flow to monitor percutaneous aortic valve interventions. *Circ. Res.* 2015;116:1193–  
29 1201.
- 30 33. Pérez-Rodríguez A, Pinto JC, Lourés E, et al. Acquired von Willebrand syndrome and  
31 mitral valve prosthesis leakage. A pilot study. *Eur. J. Haematol.* 2011;87:448–456.
- 32 34. Vincent F, Rauch A, Loobuyck V, et al. von Willebrand Factor for Aortic Valve  
33 Intervention: From Bench to Real-Time Bedside Assessment. *Circ. Res.* 2018;122:1499–  
34 1500.
- 35 35. Vincent F, Rauch A, Loobuyck V, et al. Arterial Pulsatility and Circulating von  
36 Willebrand Factor in Patients on Mechanical Circulatory Support. *J. Am. Coll. Cardiol.*  
37 2018;71:2106–2118.
- 38 36. Blackshear JL, Wysokinska EM, Safford RE, et al. Indexes of von Willebrand Factor as  
39 Biomarkers of Aortic Stenosis Severity (from the Biomarkers of Aortic Stenosis Severity  
40 [BASS] Study). *Am. J. Cardiol.* 2013;111:374–381.
- 41 37. Van Belle E, Juthier F, Susen S, et al. Postprocedural Aortic Regurgitation in Balloon-  
42 Expandable and Self-Expandable Transcatheter Aortic Valve Replacement Procedures  
43 Analysis of Predictors and Impact on Long-Term Mortality: Insights From the FRANCE2  
44 Registry. *Circulation* 2014;129:1415–1427.
- 45 38. Auffret V, Lefevre T, Belle EV, et al. Temporal Trends in Transcatheter  
46 Aortic Valve Replacement in France. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017;70:42–55.
- 47 39. Vincent F, Rauch A, Spillemaecker H, et al. Real-Time Monitoring of von Willebrand  
48 Factor in the Catheterization Laboratory: The Seatbelt of Mini-Invasive Transcatheter Aortic  
49 Valve Replacement? *JACC Cardiovasc. Interv.* 2018;11:1775–1778.
- 50 40. Généreux P, Poulin F, Leon MB. von Willebrand Disease After TAVR: The Missing

- 1 Link? JACC Cardiovasc. Interv. 2015;8:1266.
- 2 41. Généreux P, Cohen DJ, Mack M, et al. Incidence, Predictors, and Prognostic Impact of
- 3 Late Bleeding Complications After Transcatheter Aortic Valve Replacement. J. Am. Coll.
- 4 Cardiol. 2014;64:2605–2615.
- 5 42. Pibarot P, Hahn RT, Weissman NJ, et al. Association of Paravalvular Regurgitation With
- 6 1-Year Outcomes After Transcatheter Aortic Valve Replacement With the SAPIEN 3 Valve.
- 7 JAMA Cardiol. 2017;2:1208–1216.
- 8 43. Kibler M, Marchandot B, Messas N, et al. Primary Hemostatic Disorders and Late Major
- 9 Bleeding After Transcatheter Aortic Valve Replacement. J. Am. Coll. Cardiol. 2018;72:2139–
- 10 2148.
- 11 44. Tosetto A, Castaman G, Rodeghiero F. Assessing bleeding in von Willebrand disease with
- 12 bleeding score. Blood Rev. 2007;21:89–97.
- 13
- 14

1 **LEGENDS**

2 **Figure-1: Proposed models for the quantification of HVD severity by the analysis of VWF**  
3 **multimers profile**

4 A)Series circuit: HMW-multimers correlates inversely with the degree of the AS through a  
5 progressive increase of the shear-stress(length of the arrow) which is applied to the steady  
6 stroke volume(width of the arrow).

7 B)Parallel circuit: HMW-multimers correlates inversely with the degree of AR/MR through a  
8 progressive increase of the regurgitant volume(width of the arrow) submitted to a steady  
9 shear-stress(length of the arrow).

10 AR:aortic regurgitation; AS:aortic stenosis; HMW-multimers:high-molecular-weight  
11 multimers; MR:mitral regurgitation

12

13 **Figure-2: Proposed physiopathology model for the dynamic changes of VWF multimers**  
14 **profile during the course of aortic stenosis and its repair**

15 A)Progression of AS disease generates HMW-multimers defect by increasing shear-stress-  
16 induced proteolysis and decreasing release of VWF through reduction of pulsatility.

17 B)AS treatment generates HMW-multimers recovery by stopping shear-stress-induced  
18 proteolysis and release of VWF through increasing of pulsatility.

19 ADAMTS13:a desintegrin and metalloprotesase with a thrombospondin type-1 repeats-13;

20 AS:aortic stenosis; BAV:Balloon aortic valvuloplasty

21

22 **Central illustration: Emerging roles for mucosal bleeding scores, VWF testing and early**  
23 **valve replacement in patients with HVD based on the pathophysiology of Heyde's**  
24 **syndrome**

1 **Figure-3: Evidence-based framework and research gaps in the emerging concept of VWF**  
2 **as a biomarker in HVD clinical course (with landmarks references and current/future**  
3 **trials)**

4 AS:aortic stenosis; AVR:aortic valve replacement; HVD:Heart Valve Disease; LF/LG:low-  
5 flow/low-gradient; PPM:patient-prosthesis mismatch; PVR:paravalvular regurgitation;  
6 TAVR:transcatheter aortic valve replacement; THV:transcatheter heart valve; \*:biological  
7 substudy of ATLANTIS trial(NCT02664649); \*\*:long-term follow-up of WITAVI-  
8 REAL(NCT03728049)

9

10

11

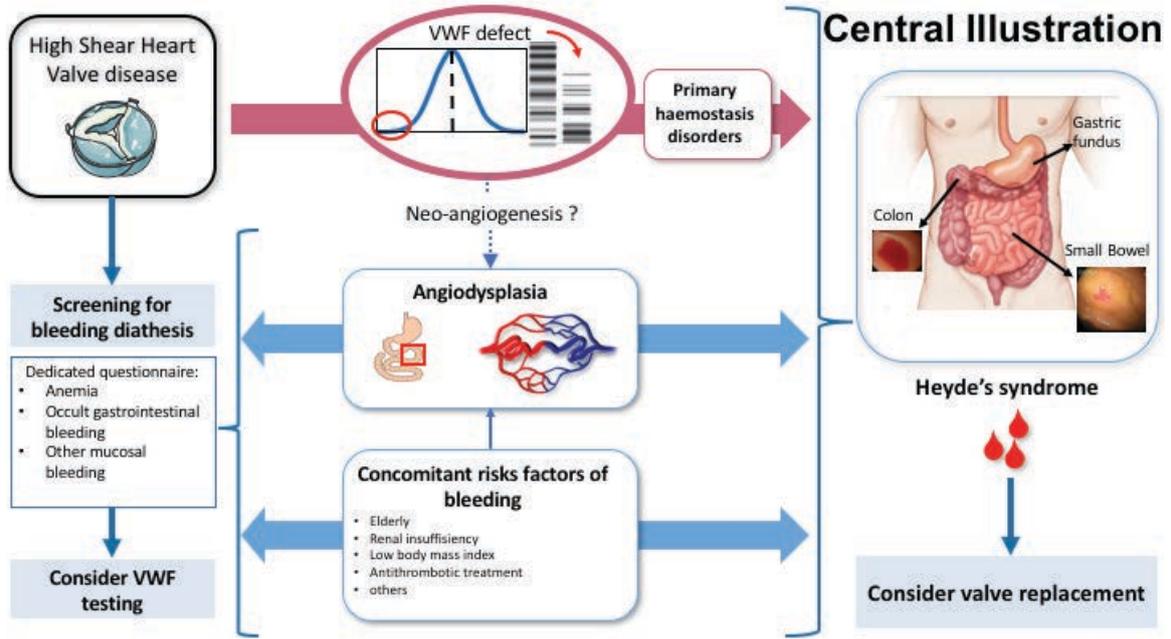
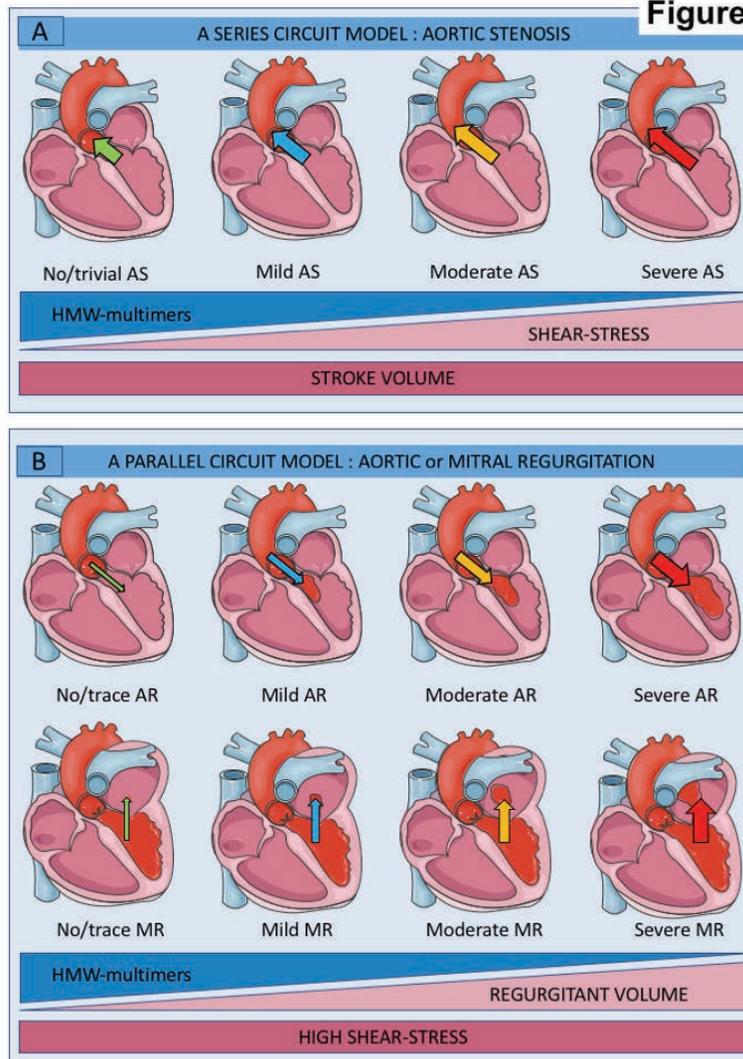


Figure 1



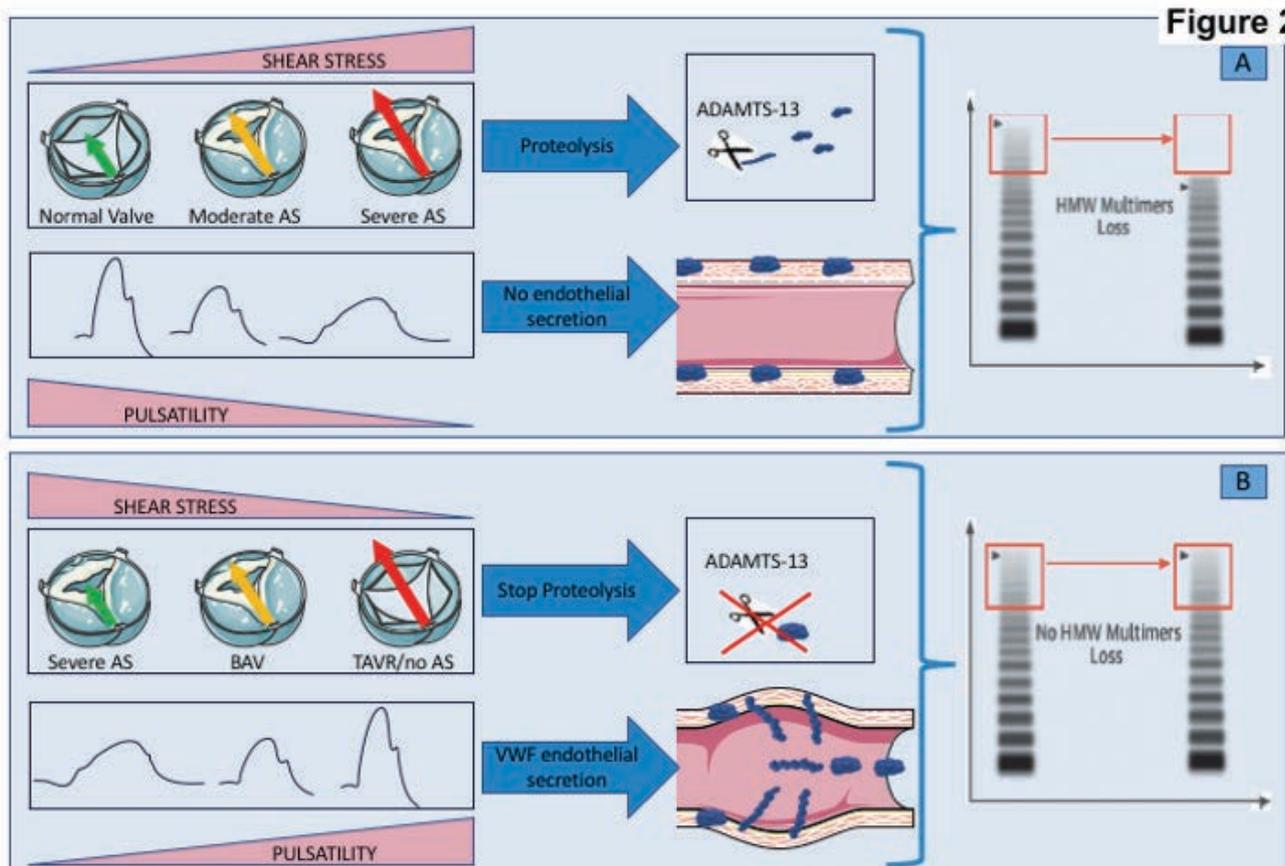
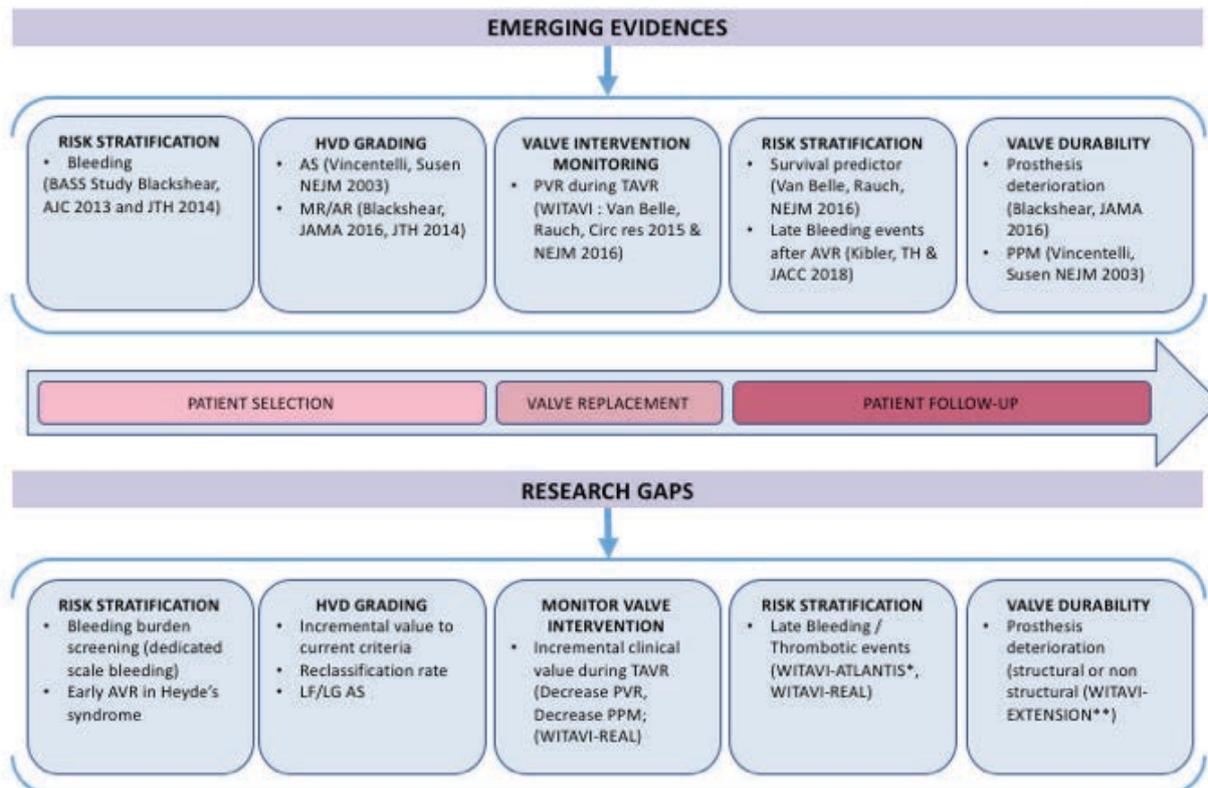


Figure 3



# RESUME

## **Facteur Willebrand et modifications hémodynamiques associées à l'utilisation de dispositifs cardiovasculaires : mécanisme et applications cliniques**

Le facteur Willebrand (VWF) est une protéine multimérique qui a une sensibilité unique aux forces de cisaillement et aux variations hémodynamiques du flux sanguin comme celles rencontrées lors d'utilisation de dispositifs cardiovasculaires tels qu'un remplacement valvulaire aortique transcathéter (TAVI) ou un assistance circulatoire mécanique à flux continu (ACM-FC). Des travaux antérieurs nous ont permis de mettre en évidence une sécrétion endothéliale déclenchée par les modifications du flux liées à l'utilisation de ces dispositifs.

**Dans la première partie** de la thèse, nous avons choisi d'étudier le rôle de la pulsatilité artérielle dans la réponse endothéliale à l'aide de plusieurs modèles animaux porcins d'ACM-FC pour isoler le rôle de la pulsatilité dans un environnement à forces de cisaillement élevées et constantes. Nous avons observé dans un modèle dose-réponse la relation entre le niveau de pulsatilité et la multimérisation du VWF et dans un modèle en cross-over le caractère dynamique du relargage endothélial en réponse à des variations aiguës de pulsatilité.

Ces résultats nous ont permis de conceptualiser dans la **deuxième partie** l'utilisation du VWF dans l'évaluation de la sévérité des fuites paravalvulaires (FPV) post-procédure TAVI. Deux cohortes de 183 et 201 patients ont permis de démontrer l'excellente capacité diagnostique de l'analyse multimérique du VWF avec une sensibilité, une spécificité et une valeur prédictive négative de respectivement 92.3%, 94.9%, et 98.7%. Le test de diagnostic rapide TO-ADP (temps d'occlusion à l'ADP) donnait des résultats équivalents pour un seuil > 180 sec.

Enfin dans la **troisième partie** de la thèse nous avons conçu le design d'un essai clinique permettant d'évaluer la valeur ajoutée de l'utilisation de ce test de diagnostic rapide TO-ADP en salle de cathétérisme pour l'amélioration des résultats procéduraux et cliniques des procédures TAVI.