

ДЕРЖАВНИЙ ЕКСПЕРТНИЙ ЦЕНТР
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВСЕУКРАЇНСЬКЕ ГРОМАДСЬКЕ ОБ'ЄДНАННЯ ІНВАЛІДІВ
«ВСЕУКРАЇНСЬКЕ ТОВАРИСТВО ГЕМОФІЛІЇ»

ХВОРОБА ВІЛЛЕБРАНДА

КЛІНІЧНА НАСТАНОВА,
ЗАСНОВАНА НА ДОКАЗАХ

**Склад мультидисциплінарної робочої групи з підготовки
адаптованої клінічної настанови «Хвороба Віллебранда»**

Донська Світлана Борисівна	завідувач Центру онкогематології і трансплантації кісткового мозку Національної дитячої спеціалізованої лікарні «ОХМАТДИТ» МОЗ України, заслужений лікар України, к.м.н., доцент, головний позаштатний спеціаліст МОЗ України зі спеціальності «Дитяча гематологія»;
Ліщишина Олена Михайлівна	директор Департаменту стандартизації медичних послуг Державного підприємства «Державний експертний центр МОЗ України», к.м.н., ст.н.с.;
Авер'янов Євгеній Валентинович	директор Київського науково-практичного центру патології гемостазу, старший науковий співробітник Державної установи «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», к.м.н.;
Веселова Тетяна Володимирівна	асистент кафедри сімейної медицини та амбулаторно-поліклінічної допомоги Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, к.м.н.;
Вільчевська Катерина Вікторівна	завідувач відділення онкогематології для дітей Державної установи «Інститут невідкладної та відновної хірургії імені В.К. Гусака НАМН України», ст.н.с., к.м.н.;
Гембара Роман Тарасович	пацієнт, студент Львівського правного коледжу, м. Львів (гемофілія В, 18 років);
Дорош Ольга Ігорівна	дитячий гематолог відділення гематології та інтенсивної хіміотерапії Комунального закладу Львівської обласної ради «Західноукраїнський спеціалізований дитячий медичний центр», к.м.н.;
Дубей Леонід Ярославович	професор кафедри педіатрії і неонатології факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, д.м.н.;
Карбівничий Володимир Олександрович	пацієнт, бухгалтер Дошкільного навчального закладу «Солнишко», село Геронинівка, Черкаський район, Черкаська область (гемофілія А, 25 років);
Клименко Сергій Вікторович	завідувач відділу медичної генетики «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», д.м.н.;
Матюха Лариса Федорівна	завідувач кафедри сімейної медицини Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, д.м.н., професор, головний позаштатний спеціаліст МОЗ України зі спеціальності «Загальна практика-сімейна медицина»;
Парамонов Віктор Володимирович	головний лікар Комунального закладу «Черкаський обласний онкологічний диспансер»;

Семеняка Володимир Іванович	старший науковий співробітник Державної установи «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»;
Цимбалюк-Волошин Ірина Петрівна	завідувач відділення гематології та інтенсивної хіміотерапії комунального закладу Львівської обласної ради «Західноукраїнський спеціалізований дитячий медичний центр», к.м.н.;
Шміло Олександр Петрович	голова правління Всеукраїнського громадського об'єднання інвалідів «Всеукраїнське товариство гемофілії».

Методичний супровід та інформаційне забезпечення

Горох Євгеній Леонідович	начальник відділу якості медичної допомоги та інформаційних технологій Державного підприємства «Державний експертний центр МОЗ України», к.т.н.;
Мельник Євгенія Олександрівна	начальник відділу доказової медицини Державного підприємства «Державний експертний центр МОЗ України»;
Мігель Олександр Володимирович	завідувач сектору економічної оцінки медичних технологій Державного підприємства «Державний експертний центр МОЗ України»;
Шилкіна Олена Олександрівна	начальник відділу методичного забезпечення новітніх технологій у сфері охорони здоров'я Державного підприємства «Державний експертний центр МОЗ України».

Державний експертний центр МОЗ України є членом

Guidelines International Network
(Міжнародна мережа настанов)



ADAPTE (Франція)
(Міжнародний проект з адаптації клінічних настанов)



Рецензенти

Бруслова Катерина Михайлівна	завідувач відділення гематології дитячого віку Державної установи «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», д.м.н.;
Майданник Віталій Григорович	завідувач кафедри педіатрії № 4 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, академік НАМН України, д.м.н., професор.

ЗМІСТ

Ситез настанови

ВСТУП

Історія цього проекту

Завдання групи

Розподіл роботи

Літературний пошук

Клінічні рекомендації – градації та рівні доказовості

Внутрішня та зовнішня перевірка

НАУКОВИЙ ОГЛЯД

Відкриття та визначення хвороби Віллебранда/фактора Віллебранда

Протеїн фактора Віллебранда та його функції In Vivo

Генетика хвороби Віллебранда

Класифікація підтипів хвороби Віллебранда

Тип 1 хвороби Віллебранда

Тип 2 хвороби Віллебранда

Тип 3 хвороби Віллебранда

Класифікація хвороби Віллебранда, загальні питання

Тип 1 фактора Віллебранда та низький фактор Віллебранда.

Набутий синдром Віллебранда

Питання виникнення тромбозів у пацієнтів без хвороби Віллебранда

ДІАГНОСТИКА ТА ОЦІНКА

Вступ

Оцінка стану пацієнта

Лабораторна діагностика та моніторинг

Первинні тести на хворобу Віллебранда

Інші тести для вимірювання фактора Віллебранда, діагностика хвороби Віллебранда та класифікація підтипів

Тести на визначення антитіл фактора Віллебранда

Постановка діагнозу хвороби Віллебранда

Специфічні питання з огляду на лабораторну діагностику хвороби Віллебранда

Зміст лабораторної діагностики хвороби Віллебранда

Діагностичні рекомендації

ЛІКУВАННЯ ХВОРОБИ ВІЛЛЕБРАНДА

Вступ

Терапія підвищення фактора Віллебранда: незамісна терапія

Терапія підвищення фактора Віллебранда: замісна терапія

Інші види терапії хвороби Віллебранда

Інші питання медичного лікування

Лікування набутого синдрому Віллебранда

Лікування менорагій у жінок з хворобою Віллебранда

Геморагічні кисти яєчників

Вагітність

Викидень та кровотечі під час вагітності

Пологи

Післяпологова кровотеча

Рекомендації з лікування

Коментар робочої групи:

Серед спадкових коагулопатій значне місце посідає хвороба Віллебранда, зумовлена якісним і кількісним дефіцитом фактора Віллебранда. Хвороба Віллебранда зустрічається з частотою 1:100 жителів. Однак у більшості з цих осіб жодних симптомів розладу гемостазу не спостерігається. Частота клінічно значущих випадків значно нижча, і становить 1:10 000 жителів. Оскільки більшість випадків хвороби Віллебранда характеризуються легким клінічним перебігом, то частіше вона виявляється у дівчаток пубертатного віку, у яких здовжується тривалість та інтенсивність менструацій. Зазвичай тяжка форма захворювання виникає у дітей з I (0) групою крові.

За даними реєстру дітей, хворих на спадкові коагулопатії, в Україні станом на 01.01.2016 року на диспансерному обліку знаходилось 657 дітей з різними формами спадкових коагулопатій, у тому 73 дитини, хворих на хворобу Віллебранда, у тому числі 21 дитина (28,8 %) з хворобою III типу.

Найчастіше це захворювання проявляються у ранньому віці кровоточивістю, яка виникає спонтанно або внаслідок травм. Тяжкість хвороби Віллебранда залежить від рівня дефіциту фактора у крові, а також його якісного дефекту. Знання кількісних і якісних характеристик змін фактора Віллебранда у поєднанні з клінічним перебігом хвороби необхідне для розрахунку адекватних доз препаратів для забезпечення ефективного гемостазу. В Україні у практичній діяльності лікарі визначають ступінь тяжкості захворювання за частотою звертань хворих з приводу кровотечі чи крововиливу, і лабораторна діагностика у зв'язку з її складністю проведення та інтерпретації отриманих результатів вимагає її налагодження та удосконалення. Замість введення плазмових концентратів факторів зсідання крові у дітей з хворобою Віллебранда в Україні до 2009 року проводилось тільки у 5-10% хворих з крововиливами і кровотечами. Це сприяло тому, що у більшості дітей, які потребували замісної терапії шляхом застосування свіжозамороженої плазми, виникали ускладнення у вигляді розитку артропатій, в основному за рахунок ураження великих суглобів з порушенням їх функції. Потенційно такі пацієнти відносяться до групи підвищеного ризику щодо захворювання на СНІД, гепатити та інші інфекції трансфузійного генезу. У 90-98% хворих виявлено маркери гепатиту С, у 50-70% – гепатиту В, у 10-20% – гепатиту D, у 5% випадків діагностовано хронічний персистуючий вірусний гепатит. Раннє виявлення, діагностика і своєчасне лікування таких хворих є актуальним завданням, спрямованим на оздоровлення та попередження інвалідизації, перш за все дітей. Обстеження на наявність маркерів гепатитів С, В, D та профілактичні щеплення проти гепатиту В у дітей проводяться лише в окремих областях. Лікування вірусних гепатитів є проблемою сучасної медицини і надзвичайно коштовне.

Пацієнти з хворобою Віллебранда, особливо з 3 її типом, протягом усього життя повинні бути забезпечені повноцінною трансфузійною замісною терапією, об'єм та тривалість якої залежить від тяжкості захворювання. У зв'язку з розширенням кола проблем, пов'язаних з діагностикою та лікуванням самого захворювання, а також його ускладнень, особливу актуальність у теперішній час набувають питання організації надання спеціалізованої допомоги хворим дітям. На сьогоднішній день медична допомога дітям з хворобою Віллебранда надається у дитячих спеціалізованих гематологічних відділеннях, які потребують сучасного обладнання для визначення типу коагулопатії, а також достатнього забезпечення препаратами для надання спеціалізованої медичної допомоги. Високоспеціалізовану консультативну та медичну допомогу дітям з набутими і спадковими коагулопатіями в Україні надають в умовах Центру дитячої онкогематології і трансплантації кісткового мозку Національної дитячої спеціалізованої лікарні «ОХМАТДИТ» (м. Київ), а спеціалізовану – в відділеннях для гематологічних хворих обласних дитячих лікарень. Використання сучасної замісної трансфузійної терапії дозволило досягнути значних успіхів у лікуванні дітей з хворобою Віллебранда, що призвело до подовження тривалості їх життя. У зв'язку з цим перед клініцистами постало широке коло проблем, пов'язаних з профілактикою ускладнень цього захворювання.

Несприятливими ускладненнями трансфузійної терапії у дітей з хворобою Віллебранда є поява інгібіторів до фактора Віллебранда. Тактика лікування хворих залежить від рівня інгібітора. Замісна трансфузійна терапія геморагічних проявів при появі інгібітору вимагає збільшення дози препаратів в 2-3 рази або препаратів шунтуючої дії. Діагностика цього ускладнення вимагає складних лабораторних досліджень.

Хірургічне лікування порушень опорно-рухового апарату у дітей з хворобою Віллебранда – одна з недостатньо вивчених проблем сучасної хірургії та ортопедії. Операційного лікування потребують біля 5% дітей, які страждають тяжкою формою захворювання з ураженням опорно-рухового апарату. Операції у таких хворих мають свої особливості і створюють ризик виникнення післяопераційних ускладнень у віддалений період. Спеціалізована хірургічно-ортопедична допомога дітям з хворобою Віллебранда в Україні практично не надається. В спеціалізованих дитячих лікарнях та в інших дитячих лікувальних закладах гематологами проводиться консервативне гемостатичне лікування, без курації хірургами та ортопедями, спеціально підготовленими для роботи з пацієнтами з хворобою Віллебранда. За відсутності організації профілактики геморагічних ускладнень і хірургічної реабілітації в дитячому віці пацієнти з хворобою Віллебранда стають тяжкими інвалідами, у яких хірургічне та ортопедичне лікування малоперспективне.

З року в рік збільшується інвалідизація хворих на спадкові коагулопатії, що піднімає питання соціального захисту та працевлаштування даної категорії хворих у дорослому віці.

З 2009 року на теренах України розпочато профілактичне лікування дітей з 3 типом хвороби Віллебранда. Це дає можливість знизити інвалідизацію з боку опорно-рухового апарату та попередити виникнення кровотеч, що загрожують життю.

23 квітня 2012 року затверджено наказ МОЗ України № 292 «Про забезпечення дітей, хворих на гемофілію типів А або В або хворобу Віллебранда, факторами коагуляції крові та виробами медичного призначення», який регламентує розрахунок потреби в препаратах, апаратурі, устаткуванні та розхідному матеріалі, механізм організації надання спеціалізованої медичної допомоги дітям з хворобою Віллебранда.

Інформація про діагностику та лікування гемофільї міститься в Адаптованій клінічній настанові «Гемофілія».

Синтез настанови:

За прототип Адаптованої клінічної настанови «Хвороба Віллебранда» взято Клінічну настанову National Heart, Lung, and Blood Institute, USA «The diagnosis, evaluation, and management of von Willebrand disease», 2007

Додаткові докази включені з настанови «Nordic guidelines for diagnosis and management of von Willebrand disease. Guidelines of the Nordic Hemophilia Council», 2008

Коментар робочої групи:

Членами робочої групи, у зв'язку з неподільністю етіопатогенетичних, епідеміологічних, діагностичних, лікувальних та профілактичних аспектів хвороби Віллебранда у дітей, а також наявністю загальних медико-технологічних документів, періоджерел клінічних рекомендацій міжнародного рівня і важливістю системного підходу та принципу міждисциплінарності, було прийняте колегіальне рішення щодо адаптації загальних клінічних настанов, розроблених американськими експертами Національного інституту серця, легень і крові.

ВСТУП

Хвороба Віллебранда – це спадковий розлад системи згортання крові, що спричиняється недостатністю або неправильним функціонуванням фактора Віллебранда (VWF). Це протеїн, що опосередковує первинну адгезію тромбоцитів на місцях судинного пошкодження, а також зв'язує та стабілізує фактор VIII згортання крові (FVIII) в руслі циркуляції. Таким чином, дефекти VWF можуть спричинити кровотечу внаслідок порушення адгезії тромбоцитів чи зменшення концентрації FVIII.

Хвороба Віллебранда – це відносно поширена причина кровотеч, але її поширеність змінюється значним чином в залежності від визначення, яке їй дається. Поширеність хвороби Віллебранда була оцінена в декількох країнах на основі кількості пацієнтів із симптомами, що обстежувалися в центрах гемостазу, та вона складає від 23 до 110 випадків на мільйон населення (від 0,0023 до 0,01%). Поширеність хвороби Віллебранда також оцінюється шляхом скринінгу населення з метою ідентифікації людей з наявними симптомами кровотеч, низьким рівнем VWF та з членами сім'ї, у яких виникають схожі симптоми. Цей метод оцінює поширеність хвороби Віллебранда на 0,6%, 0,8% та 1,3% – більш ніж на 2 порядки значніше, ніж дані, отримані від центрів гемостазу.

Така розбіжність між результатами різноманітних методів ілюструє потребу в кращій інформованості щодо залежності між рівнем фактора Віллебранда та кровотечами. Часто симптоми кровотечі акцентуються дефектами VWF, але розмах цього впливу невідомий. Наприклад, приблизно 12% жінок, що знаходяться в менструальному періоді, переносять надмірні менструальні кровотечі. Цей відсоток значно вищий серед жінок з хворобою Віллебранда, але виявляється, що цей показник підвищений також у жінок, у яких рівень фактора Віллебранда знаходиться на нижній межі норми. Кількісні дані з приводу цих питань дали б можливість більш детально підійти до діагностики та лікування хвороби Віллебранда, що, у свою чергу, мало б великий вплив на медичну практику та здоров'я нації.

Ми маємо потребу у кращій інформованості про поширеність хвороби Віллебранда та відношення низького рівня фактора Віллебранда до ризику виникнення кровотечі. Але, крім того, існує потреба у покращенні рівня знань, практичного, клінічного та лабораторного визначення хвороби Віллебранда. Більш того, ми потребуємо кращих знань про можливості лікування хвороби Віллебранда та попередження кровотеч, пов'язаних із нею. Як сказано у цій настанові, опубліковані дані на цю тему є відносно обмеженими, але вони можуть підтримати деякі з рекомендацій, що базуються головним чином на думці Експертної групи. Настанова з діагностики та лікування хвороби Віллебранда базується на доказах з опублікованих досліджень і думках експертів і була опублікована для лікарів-практиків в Канаді, Італії та Великобританії, але не у Сполучених Штатах. Настанова з лікування хвороби Віллебранда розроблена експертною групою для США та базується як на опублікованих даних, так і на експертній думці. Користувачі цієї настанови повинні усвідомлювати, що рекомендації настанови не заперечують правильність персональної точки зору професіонала.

Ця настанова з діагностики та лікування хвороби Віллебранда розроблялася для клініцистів, а саме сімейних лікарів, лікарів, що нажають стаціонарну допомогу, акушерів-гінекологів, педіатрів та медсестер, а також гематологів та спеціалістів з лабораторних досліджень.

Історія цього проекту

Навесні 2004 року Національний інститут серця, легень та крові (NHLBI) почав планування написання клінічної настанови з лікування хвороби Віллебранда відповідно до рекомендацій комітету з відповідних питань у звіті цього комітету. До NHLBI звернулися з проханням створити клінічну настанову з хвороби Віллебранда разом з медичними асоціаціями та експертами з цієї сфери.

За погодженням Американської спілки гематологів (ASH) NHLBI зібрав Експертну групу, яку очолив доктор Вільям Ніколз з клініки Майо, Рочестер, Мінесота. Підбір членів Експертної групи проводився наступним чином: збиралися спеціалісти по базовим наукам, по клінічній та лабораторній діагностиці, по доказовій медицині та по клінічному лікуванню хвороби Віллебранда, включаючи сімейного лікаря, акушера-гінеколога та сімох гематологів з досвідом лікування хвороби Віллебранда (двоє дитячих гематологів). Додаткові члени Експертної Групи представляли управління захворювань крові NHLBI. Координація групи здійснювалася Відділом по впровадженню наукових відкриттів (BBNB), у минулому Відділом профілактики, освіти та контролю NHLBI. Будь-які фінансові конфлікти описані усно та письмово.

Завдання групи

Доктор Барбара Елвінг, тогочасний директор NHLBI дала завдання Експертній групі оцінити сучасний стан науки в області вивчення хвороби Віллебранда та прийти до консенсусу з огляду на клінічні рекомендації щодо діагностування, лікування цієї спадкової хвороби системи згортання крові. В завдання групи також входило підвести базу з сучасної науки під кожен рекомендацію та визначити рівень доказовості.

Написання цього звіту повністю фінансувалося NHLBI та Національним інститутом здоров'я (НІЗ). Члени групи приймали участь у цій праці як волонтери. Їм оплачувалися лише витрати на відрядження для зустрічі з іншими членами групи.

Розподіл роботи

Після визначення базисних рамок для настанови члени Експертної групи були поділені на три частини: 1) вступ та основні знання, 2) діагностика та оцінка, 3) лікування хвороби Віллебранда. Три члени були призначені відповідальними за кожен з секцій. Кожна з груп була відповідальною за розробку детального плану для кожної частини, перегляд відповідної літератури, написання своєї частини роботи та підготовку рекомендацій з відповідними обґрунтуваннями для оцінки всією групою.

Літературний пошук

Основи трьох частин звіту, погоджені керівництвом Експертної групи, використовувалися як основа для визначення релевантних термінів для пошуку в базі даних MEDLINE. Якщо потрібні терміни не були знайдені, тоді використовувалися подібні ключові слова. Також були затверджені критерії включення та виключення з метою встановлення меж пошуку, а саме:

- Період з 1990 по 2004 роки
- Мова англійська
- Види досліджень/публікацій: рандомізовані контрольовані дослідження; метааналіз; контрольовані клінічні дослідження; епідеміологічні дослідження; проспективні дослідження; мультицентрове дослідження; клінічні випробування; оціночні дослідження; практичні настанови; академічні та технічні огляди; валідаційні дослідження; звіти про клінічні випадки; статті з періодичних видань (за виключенням листів, редакційних статей, новин тощо).

Стратегії пошуку розроблялися та виконувалися у базі даних MEDLINE, а також у базі даних Кохран, для кожної секції було компільовано набір цитат та витягів. Первинний пошук по ключовим комбінаціям слів, даті та мові у подальшому був звужений до пошуку релевантних типів публікацій, щоб отримати результати, максимально відповідні темі кожної частини звіту. Після їх отримання результати були розподілені у пріоритетному порядку згідно з типом дослідження наступним чином:

1. Рандомізоване контрольоване дослідження
2. Метааналіз (кількісний звіт результатів незалежних досліджень)
3. Контрольоване клінічне дослідження
4. Мультицентрове дослідження
5. Клінічне випробування (включалися усі типи та фази клінічних випробувань)
6. Оціночні дослідження
7. Практичні настанови (для специфічних настанов охорони здоров'я)
8. Епідеміологічні
9. Проспективні дослідження
10. Академічний огляд (вичерпний, критичний або аналітичний огляд)
11. Огляд декількох випадків
12. Технічний звіт
13. Валідаційні дослідження
14. Огляд випадків хвороби згідно з наданими звітами
15. Звіти про випадки хвороби

Після оцінки обсягу знайденої літератури було встановлено, що важливі пункти в кожній частині звіту не знайшли відповідної інформаційної підтримки, можливо через обмеження часом. Так, члени групи ідентифікували корисні посилання з власних джерел, включаючи посилання до 1990 року та від 2005-2006 років. Таким чином був проведений додатковий пошук по базах даних, включаючи наведені вище дати. В архівах з 1990 по 2006 роки був проведений більш детальний пошук інформації з метою аналізу посилань, що використовувалися членами групи, але які не були відображені у первинних результатах пошуку.

Покращений таким чином пошук надав можливість більш повного підходу до використання баз даних. Отже, посилання, що використовуються у цій настанові, є результатом подвійного пошуку та інформації, наданої з ініціативи членів групи. Ці посилання, а також база доказовості та експертиза членів групи є інформаційною основою настанови та клінічних рекомендацій.

Клінічні рекомендації – градації та рівні доказовості

Рекомендації, надані у цьому документі, базуються на рівнях доказовості, описаних у Таблиці 1, з системою градації пріоритетів А, В, С. Ступінь А – це рекомендації, що базуються на рівнях доказовості Ia та Ib. Ступінь В надається рекомендаціям з рівнем доказовості IIa, IIb та III; ступінь С відповідає рівню доказовості IV. Жодна з рекомендацій не заслуговує на ступінь А. Таблиці відповідності надані в кінці цього документу для рекомендацій зі ступенем В та більш, ніж двома посиланнями.

Таблиця 1. Рівень доказовості

Рівень	Тип доказу
Ia	Доказ, отриманий з метааналізу рандомізованих контрольованих досліджень
Ib	Доказ, отриманий щонайменше з одного рандомізованого контрольованого дослідження
IIa	Доказ, отриманий щонайменше з одного контрольованого нерандомізованого дослідження
IIb	Доказ, отриманий щонайменше з одного іншого типу правильного квазі-експериментального дослідження
III	Доказ, отриманий з правильного не експериментального описативного дослідження, такого як порівняльне, корелятивне, контрольне дослідження
IV	Доказ, отриманий зі звітів Експертного Комітету, думок та клінічного досвіду визнаних авторитетів

Джерело: лікування гострого болю: оперативні чи медичні втручання та травми (клінічна настанова). Публікація № ANCPH 92-0032 Роквіль, Меріленд: Агенство охорони здоров'я та досліджень Управління здоров'я нації, Департамент США зі здоров'я та послуг населення, лютий 1992 року.

Внутрішня та зовнішня перевірка

NHLBI провів двоступеневий процес перевірки даної настанови. Наступні державні агенції та професійні організації були запрошені до перевірки чорнового документу та викладення коментарів: Центр контролю та попередження хвороб, Адміністрація контролю продуктів харчування та ліків (FDA), Американська академія сімейних лікарів, Американський коледж акушерів та гінекологів, Американський коледж терапевтів, Американська спілка гематології, Американська спілка дитячої гематології та онкології, Коледж американських патологів, Спілка дослідження гемофілії та тромбозу, Національний медичний та науковий наглядовий комітет з питань гемофілії, Північно-Американська спеціалізована асоціація з питань коагуляції. Додатково настанова була опублікована на сайті NHLBI для громадського обговорення на один місяць до 22 вересня 2006 року.

Коментарі, отримані під час публічного обговорення, були передані Експертній групі для опрацювання, в результаті чого були внесені деякі зміни до документу. Остаточний варіант після схвалення групою був переданий НІЗ та допущений до публікації директором NHLBI.

НАУКОВИЙ ОГЛЯД

Відкриття та визначення хвороби Віллебранда/фактора Віллебранда

Пацієнтом, лікування якого призвело до відкриття спадкового розладу коагуляції, що зараз називається хворобою Віллебранда, була п'ятирічна дівчинка, що проживала на островах Еланд та була доставлена у госпіталь Діконес в Хельсінки в 1924 році та обстежена доктором Еріком фон Віллебрандом. Він обстежив 66 членів її сім'ї та прийшов до висновку у 1926 році, що це не описаний до того часу розлад системи згортання крові, відмінний від гемофілії. Він характеризується 1) кровотечами слизових оболонок, 2) аутосомним наслідуванням, а не рецесивною х-хромосою, 3) продовженим часом кровотечі по методу Дьюка (час кровотечі з мочки вуха), 4) нормальним часом згортання. Лікар не лише визнав аутосомний тип наслідування, але і довів, що симптоми кровотечі були більш серйозними у дітей та жінок репродуктивного віку. Таким чином було доведено, що переливання крові можуть бути корисними не тільки при анемії, але і для контролю кровотеч.

У 50-х роках ХХ століття стало ясно, що «плазмовий фактор», антигемофільний фактор, був знижений у таких людей, та що фракція Кона I-0 могла зкоригувати не лише недостатність FVIII у плазмі, а й подовжений час кровотечі. У перший раз фактор, що спричиняв довгий час кровотечі, був названий VWF. Коли були створені кріопреципітат та концентрати FVIII, виявилось, що VWF та антигемофільний фактор очищувалися одночасно.

Коли були створені імунотести, виявилось, що у пацієнтів з хворобою Віллебранда (на відміну від хворих на гемофілію А) знижений рівень антигену відносно FVIII (FVIII:Ag), який зараз називається VWF. Охарактеризування протеїнів відкрило, що FVIII є недостатнім при гемофілії А, а VWF – це окремий «протеїн-переносник» FVIII. Так, обидва протеїни фракціонуються у концентратах, які є у продажу. Більше того, дефіцит VWF призводить до підвищеного кліренсу FVIII.

З 80-х років ХХ століття молекулярні та клітинні дослідження дали більш чітке визначення гемофілії А та хворобі Віллебранда. Ген FVIII на X-хромосомі був нормальним у людей із хворобою Віллебранда, а у деяких був знайдений аномальний ген VWF на 12-й хромосомі. Варіантні форми VWF були розпізнані у 70-х роках і зараз ми розглядаємо їх як результат синтезу аномального протеїну. Дослідження гена довело, що у багатьох хворих наявна мутація гену VWF. Генетичні причини легких форм низького VWF ще досліджуються, і ці форми не завжди спричинені аномальним геном VWF. На додаток до цього, існують набуті розлади, які можуть спричинити зменшення або дисфункцію VWF (див. розділ про «Набуту форму Віллебранда»). Таблиця 2 містить резюме визначень, функцій та тестів на хворобу Віллебранда. Таблиця 3 містить скорочення, що використовується у цій настанові.

Протеїн фактора Віллебранда та його функції *in vivo*

VWF синтезується у двох типах клітин. У судинному ендотелії VWF синтезується та зберігається в секреторних гранулах (тільця Вебеля-Паладе), звідки він може бути вивільнений через стрес або ліки, такі як десмопресин – синтетичний аналог вазопресину. VWF також синтезується в мегакаріocyтах кісткового мозку, де він зберігається у альфа-гранулах тромбоцитів, з яких він вивільняється після активації тромбоцитів. Десмопресин не вивільняє тромбоцитарний VWF.

VWF – це протеїн, що складається з двох ідентичних підрозділів у лінійні з'єднання змінного розміру, які називаються мультимерами. Ці мультимери можуть бути вагою більш 20 млн дальтон та більше 2 мкм довжиною. Комплексний клітинний процес складається з димерізації в ендоплазматичній сітці, глікозиляції в ендоплазматичній сітці та апараті Гольджі, мультимерізації в апараті Гольджі та зберігання у гранулах клітини. Останні два процеси підконтрольні пропептиду VWF, що від'єднується від фактора під час зберігання.

Таблиця 2. Резюме властивостей фактора Віллебранда та тести

Визначення	Властивості	Тести
VWF	Мультимерний глікопротеїн, що сприяє агрегації та адгезії тромбоцитів і переносить FVIII у плазмі	Див. специфічні тести VWF
Ристоцетин-кофакторна активність VWF	Зв'язувальна активність VWF, що спричиняє прив'язування VWF до тромбоцитів у присутності ристоцетину з наступною аглютинацією	Ристоцетин-кофакторна активність: обчислює аглютинацію тромбоцитів після додавання ристоцетину та VWF
Антиген VWF	Протеїн VWF, що вимірюється протеїновими тестами, не включає у себе функціональність	Імунологічні тести, такі як ELISA, LIA, RIA, електроімунотест Лорела
Колаген-зв'язувальна активність VWF	Здатність VWF зв'язуватися з колагеном	Колаген-зв'язувальна активність обчислює зв'язування колагена до покритих колагеном ензимів
Мультимери VWF	Різні розміри мультимерів VWF, що оцінюється електрофорезом гелю агарози	Тест на мультимери VWF: електрофорез та візуалізація моноспецифічними антитілами до VWF
FVIII	Протеїн згортання, що циркулює у плазмі, та захищається від розпаду VWF є важливим у генерації тромбіну	Активність FVIII: тест на згортання плазми, що базується на АППЧ з використанням бідного на FVIII субстрату; кількісна активність
Агрегація тромбоцитів індукована ристоцетином (АТІР)	Тест, що вимірює здатність VWF людини зв'язуватися із тромбоцитами при різних концентраціях ристоцетину	АТІР: агрегація плазми, багатої на тромбоцити, до різних концентрацій ристоцетину

Коментар робочої групи:

Станом на 01.07.2016 фактор Віллебранда зареєстрований в Україні у вигляді комплексу антигемофільного фактора VIII і фактора Віллебранда.

Вивільнення VWF у циркуляцію супроводжується паралельним підвищенням рівня FVIII, але невідомо достовірно, чи ця асоціація протеїнів відбувається у клітинах ендотелію.

У плазмі комплекс FVIII та VWF циркулює як неміцно зв'язаний протеїновий комплекс, що не взаємодіє з тромбоцитами та клітинами ендотелію у нормальних умовах. Коли трапляється судинна травма, VWF прив'язується до субендотелію. Підвищений тиск рідини у мікроциркуляторному руслі призводить до конфірмаційних змін у мультимерному VWF. Таким чином, тромбоцити зв'язуються один з одним, активуються, після чого агрегуються: вони представляють собою фосфоліпідне покриття з активованих тромбоцитів. Це полегшує згортання крові, що частково регулюється FVIII. Через специфічні характеристики гемостазу та фібринолізу на слизових поверхнях симптоми хвороби Віллебранда є більш виразними в цих тканинах.

VWF у плазмі синтезується в першу чергу в ендотелії. VWF з тромбоцитів та клітин ендотелію вивільняється локально під час активації клітин, де VWF приймає участь у створенні тромбу (див. Рис.1).

Період напіврозпаду плазмового VWF складає приблизно 12 годин (від 9 до 15 годин). VWF як дуже великий мультимер піддається фізіологічному розпаду під впливом металопротеази ADAMTS13. Дефіцит ADAMTS13 пов'язаний з патологічною мікроангеопатією тромботичної тромбо-цитопенічної пурпури (ТТП). Найбільш поширена форма хвороби Віллебранда типу 2А характеризується підвищеною реакцією VWF на ADAMTS13.

Таблиця 3. Список скорочень

Назва	Визначення
ADAMTS13	Дизинтегрин та металопротеаза (тип репролізін) з фрагментом тромбоспондину 1, металопротеаза плазми, яка розщеплює мультимер фактора Віллебранда
ASH	Американська спілка гематологів
CAP	Коледж американських патологів
C.I.	Тривала безперервна інфузійна терапія
CLSI	Інститут клінічних лабораторних стандартів (в минулому Національний комітет з клінічних лабораторних стандартів (NCCLS))
DDAVP	Десмопресин: 1-дезаміно-8-Д-аргінінувазопресин (синтетичний аналог вазопресину)
D & C	Розширення і вискоблювання порожнини матки
ELISA	Ензимзв'язаний імуносорбентний тест
FDA	Адміністрація контролю якості продуктів харчування та ліків
FVIII	Фактор VIII згортання крові
FVIII:Ag	Зв'язаний з фактором VIII антиген
FVIII:C	Коагулянт на активність фактора VIII
IgG	Імуноглобулін G
IGIV	Іуноглобулін для внутрішньовенного введення (також відомий як IVIG)
ISTH	Міжнародна спілка тромбозу та гемостазу
LIA	Латексна імунопроба (автоматична)
MeSH	Заголовки медичного суб'єкту (у MEDLINE)
MGUS	Моноклональна гамопатія непевної значимості
NCCLS	Національний комітет клінічних лабораторних стандартів
NHF, MASAC	Національна фундація гемофілії, Медичний та науково-радницький комітет
NHLBI	Національний інститут серця, легень та крові
PAI-1	Інгібітор активатора плазміногену типу 1
PFA-100®	Аналізатор функції тромбоцитів
PLT-VWD	Хвороба Віллебранда тромбоцитарного типу
PRP	Плазма, багата на тромбоцити
RIA	Радіо-імунотест
tPA	Активатор тканини плазміногену
VWD	Хвороба Віллебранда
VWF	Фактор фон Віллебранда
VWF:Ac	Активність фактора Віллебранда
VWF:Ag	Антиген фактора Віллебранда
VWF:CB	Колаген-зв'язувальна активність фактора Віллебранда
VWF:FVIII	Фактор Віллебранда: тест на зв'язування фактора VIII
VWF:PB assay	Тест на зв'язування з тромбоцитами
VWFpp	Пропептид фактора Віллебранда
VWF:RCo	Рістоцетин-кофакторна активність фактора Віллебранда
АСК	Ацетилсаліцилова кислота

АПТЧ	Активований парціальний тромбoplastиновий час
ВВНВ	Відділ по впровадженню наукових відкриттів
ВООЗ	Всесвітня організація охорони здоров'я
ГПІв	Глікопротеїн Ів (тромбоцит)
ГПІв/ІІа	Комплекс глікопротеїнів Ів/ІІа
ДВЗ	Диссеміноване внутрішньосудинне згортання
ДІ	Довірчий інтервал
ДНК	Дезоксирибонуклеїнова кислота
ЕР	Ендоплазматичний ретикулум
ЗГТ	Замісна гормональна терапія
КФЗК	Концентрат фактора згортання крові
МАТ	Моноклональне антитіло
МО/дл	Міжнародних одиниць на децилітр
НДС	Натрія додецил сульфат
НІЗ	Національний інститут здоров'я
н.з.	не звітувалося
НПЗП	Нестероїдні протизапальні препарати
НСВ	Набутий синдром Віллебранда
ПЛР	Полімеразна ланцюгова реакція
ПЧ	Протромбіновий час
РІТА	Рістоцетин-індукована агрегація тромбоцитів
СЗП	Свіжо-заморожена плазма
ТГВ	Тромбоз глибоких вен
ТТП	Тромботична тромбоцитопенічна пурпура
ТЧ	Тромбіновий час
ЦВ	Цистиновий вузол
Циклічна АМР	Аденозин 3'5' циклофосфат
ЦКПЗ	Центр контролю та попередження захворювань
ЦНС	Центральна нервова система
ЧК	Час кровотечі
ЧПЧ	Частковий тромбoplastиновий час (активований частковий тромбoplastиновий час)
ШКТ	Шлунково-кишковий тракт

Ці скорочення (для FVIII та VWF та їх властивостей) визначені Мардером, Мануччі, Фіркіном, Хойером, Мейером. Стандартна номенклатура для FVIII та VWF: рекомендації Міжнародного комітету з тромбозу та гемостазу, 1985 рік; Мазурьє, Родег'єро Рекомендовані аббревіації для VWF та його властивостей, 2001 рік.

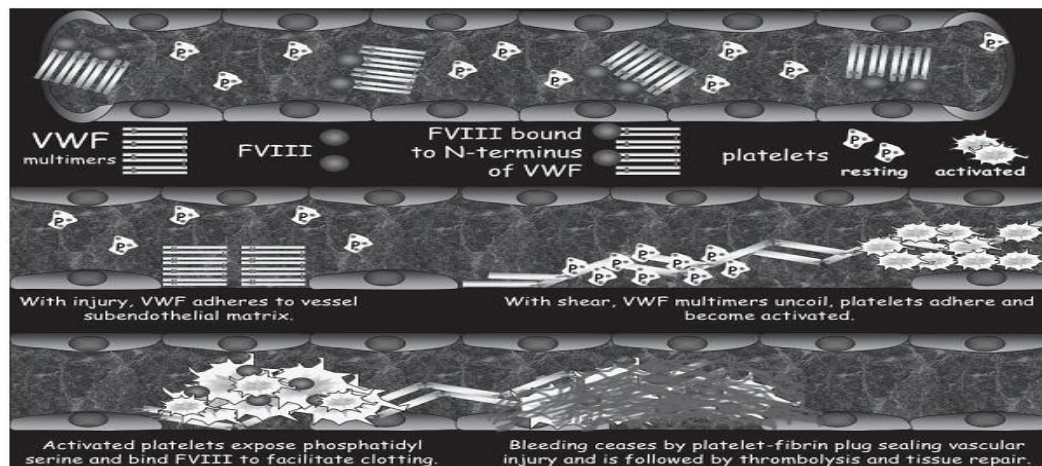
Фактори, що впливають на рівень VWF у крові, включають вік, расу, групу крові АВО та по Льюїсу, епінефрин, медіатори запалення та ендокринні гормони (особливо ті, що пов'язані з менструальним циклом та вагітністю). Рівень VWF зростає під час вагітності (від 3 до 5 разів порівняно з нормою вже до початку третього триместру), з віком та під час гострого стресу або запалення. Африканці та афроамериканці мають більш високий середній рівень, ніж кавказькі популяції. VWF знижується при гіпотироїдизмі та рідко виникають антитіла до нього. Швидкість синтезу VWF скоріше за все не залежить від групи крові; але здається, що його рівень зменшений у індивідів з групою крові 0.

Генетика хвороби Віллебранда

З 1980-х років молекулярні та клітинні дослідження дали більш чітке визначення гемофілії А та хвороби Віллебранда. У людей з тяжкою формою хвороби Віллебранда на Х-хромосомі знаходиться здоровий ген FVIII. Але у деяких на хромосомі 12 знаходимо аномальний ген VWF. Ген VWF розташований ближче до кінця короткої руки хромосоми 12, на 12p13.3. Він займає приблизно 178 кб на ДНК та має 52 екзони. Інтрон-екзоніві межі

розділяють структурні домени у протеїні, а нітрони часто знаходяться на подібних позиціях у сегментах гену, що кодують гомологічні домени. Таким чином, структура гену VWF відображає мозаїчну структуру протеїну (Рис. 2).

Частковий несформований псевдоген VWF знаходиться на хромосомі 22q11.2. Цей псевдоген займає приблизно 25 кб ДНК та відповідає ексонам з 23 по 34 і частині прилеглих нітронів гену VWF. Цей сегмент гену кодує домени A1A2A3, які містять місця з'єднання з глікопротеїном 1b тромбоцитів та колагеном, так само як на місці роз'єднання з ADAMTS13. Дивергенція між псевдогеном та геном VWF складає 3,1% у ланцюгу ДНК, що є нормальним, враховуючи походження псевдогена методом часткової дуплікації гена. Цей псевдоген знаходимо у людей та великих мавп (бонобо, шимпанзе, горила, орангутан), але не у більш віддалених приматів.



Поперечний розріз кровоносної судини показує етапи гемостазу. Зверху VWF є протеїном-переносчиком FVIII. У нормальних умовах VWF не взаємодіє з тромбоцитами, або судинною стінкою, що покрита ендотеліальними клітинами. Посередині зліва після ураження судини VWF зціпляється з субендотеліальною матрицею. Посередині справа, після того, як VWF розкривається під дією описаних процесів, тромбоцити зв'язуються зі змінним VWF, проходять активацію та притягують інші тромбоцити до місця ураження. Зліва внизу активовані та агреговані тромбоцити змінюють свою фосфоліпідну мембрану та виділяють фосфатидилсерин, і ця активована поверхня тромбоцитів зв'язує фактори згортання, виділяючи їх з циркуляторного русла та розпочинає процес згортання крові на поверхні, де локально осаджується фібрин. Справа внизу комбінація агрегованих тромбоцитів та факторів згортання формує фібриново-тромбоцитарну пробку, в результаті чого кровотеча зупиняється. Розмах згортання чітко регулюється природними антикоагулянтами. Таким чином, тромболіз ініціює відновлення тканини, і нарешті у судині відновлюється ендотелій та підтримується кровообіг.

Прим. Використано з дозволу Н.Монтгомері.

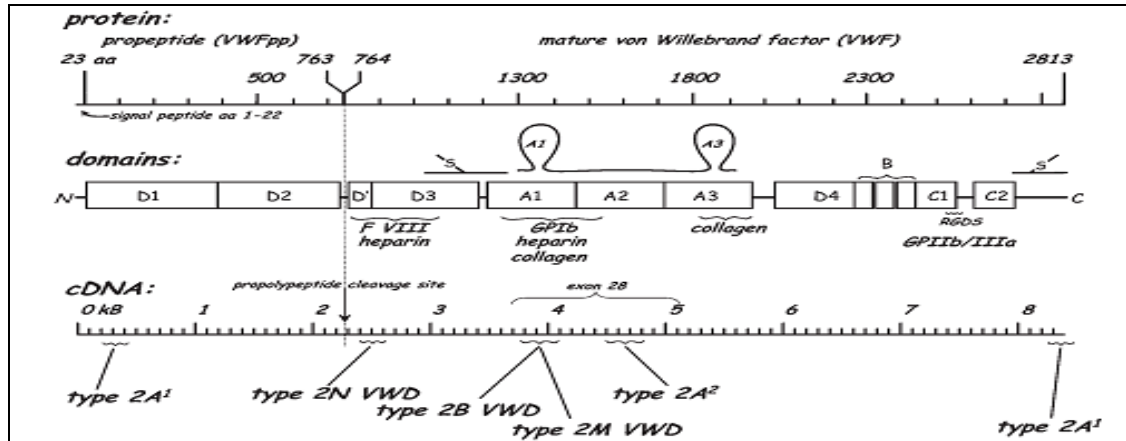
Рис. 1. Фактор Віллебранда та нормальний гемостаз

Наявність псевдогена VWF ускладнює виявлення мутації гену VWF, тому що ПЛР може ампліфікувати сегменти з одного чи двох місць, але це ускладнення може бути вирішене точною розробкою ген-специфічних ПЛР-праймерів.

Іноді псевдоген VWF може бути резервуаром мутацій, що проникатимуть у локус VWF. Наприклад, деякі потенційно патогенні, але неактивні мутації були ідентифіковані у 27 та 28 екзонах гену VWF у людей з хворобою Віллебранда. Такі самі ланцюгові варіації можуть мати місце у псевдогені та переноситись у VWF через генну конверсію. Сегменти, що приймають участь у потенційній генній конверсії, відносно короткі від 7 нуклеотидів до 385 нуклеотидів. Частота цих інтерхромосомних обмінів не відома.

Спектр мутацій гену VWF, що спричиняють захворювання, є подібним до спектру багатьох інших генетичних хвороб людини та включає в себе великі делеції, мутації здвигу рамки зчитування від малих вкрапель або делецій, мутації сайту сплайсинга, нонсенс-мутації, що спричиняють передчасне закінчення трансляції, та міссенс-мутації, які впливають на одиничні залишки амінокислот. База даних мутацій та поліморфізму VWF була

підібрана для Міжнародної спілки тромбозу та гемостазу (ISTH), та знаходиться в онлайн доступі на сайті університету Шеффілда (<http://www.shef.ac.uk/vwf/index.html>). Мутації, що спричиняють хворобу Віллебранда, були виділені у всьому гені VWF. На відміну від гемофілії А, коли єдине глобальне порушення у структурі гену спричиняє тяжку форму захворювання, така форма мутації відсутня при хворобі Віллебранда. Існує позитивна кореляція між місцезнаходженням мутацій на гені VWF та підтипом хвороби Віллебранда, що буде більш детально розглянута у «класифікації підтипів хвороби Віллебранда». У деяких сім'ях доступність цієї інформації полегшує пошук мутацій гену за допомогою секвенування ДНК.



Секвенція протеїна VWF (амінокислота 1-2813) вирівнюється з сДНК секвенцією (нуклеїнова кислота 1-8439). Сигнальний пептид VWF – перший 22аа, пропептид – аа23-763 та зрілий VWF аа764-2800. Мутації другого типу в першу чергу розташовуються у специфічних доменах вздовж протеїну. Типи 2А, 2В та 2М мутацій VWF розташовуються на екзоні 28, що кодує домени А1 та А2. Два різних типи 2А мають підвищений протеоліз та аномальний мультимерний синтез. Мутації типу 2N розташовані на доменах D' та D3. Ліганди зв'язують деякі домени VWF з FVIII, гепарином, глікопротеїном Іb, колагеном та глікопротеїном ІІb/ІІІа (глікопротеїновий комплекс тромбоциту, що зв'язується з аргінін-гліцин-аспаратною секвенцією амінокислот у VWF).

Прим. Використано з дозволу Н.Монтгомері.

Рис. 2. Структура та домени фактора Віллебранда

Класифікація підтипів хвороби Віллебранда

Хвороба Віллебранда класифікується на основі критеріїв, розроблених Підкомітетом з питань хвороби Віллебранда ISTH. Вперше вони були опубліковані у 1994 році та переглянуті у 2006 році (Табл. 4).

Класифікація клінічно релевантна для хвороби Віллебранда. Діагностичні категорії були визначені таким чином, що брали до уваги патофізіологічні процеси та корелювали з відповіддю на лікування десмопресином та продуктами крові. Ця класифікація була розроблена як концептуально незалежна від специфічних процедур лабораторного тестування, не дивлячись на те, що більша частина підтипів хвороби Віллебранда могла би бути визначена з використанням широкодоступних тестів. Класифікація 1994 року обмежує визначенням хвороби Віллебранда розлади, що спричиняються мутаціями у гені VWF, але цей критерій був опущений у класифікації 2006 року, тому що на практиці він був дієвим лише для малої частини пацієнтів.

Таблиця 4. Класифікація хвороби Віллебранда

Тип	Визначення
1	Частковий кількісний дефіцит VWF
2	Якісний дефект VWF
2А	Зменшена адгезія VWF-залежних тромбоцитів з селективним дефіцитом високомолекулярних мультимерів
2В	Підвищена афінитивність до ГІІb тромбоцитів

2M	Зменшена адгезія VWF-залежних тромбоцитів без селективного дефіциту високомолекулярних мультимерів
2N	Значно знижена зв'язувальна афінитивність до FVIII
3	Практично повна відсутність VWF

Прим. Типи хвороби Віллебранда визначені згідно з: Седлер, Будде, Айкенбом, Фавалоро, Хілл, Холмберг, Інгерслев, Лі, Лілікреп, Мануччі та інші. Патофізіологія та класифікація хвороби Віллебранда: звіт Підкомітету по хворобі Віллебранда, 2006 р.

Хвороба Віллебранда поділяється на три основні категорії: частковий кількісний дефіцит (тип 1), якісний дефіцит (тип 2) та повний дефіцит (тип 3). Тип 2 поділяється на 4 варіантні типи (2A, 2B, 2M, 2N) відповідно до фенотипу. До публікації 1994 року підтипи хвороби Віллебранда класифікувалися з використанням римських цифр (типи I, II, III), що відповідає типам 1, 2, 3 класифікації 1994 року, а в типі II були присутні декілька підтипів, що визначалися порядковими буквами алфавіту, наприклад, від II-A до II-I. Більша частина варіантних підтипів були зведені до типу 2A, за виключенням типу 2B, для якого була створена окрема класифікація. На додаток був створений новий підтип 2M з метою включення варіантів зі зниженою тромбоцит-залежною функцією, але без значного зниження високомолекулярних мультимерів, M означає мультимер. Підтип 2N: N означає Нормандія, де були ідентифіковані перші пацієнти зі зниженим рівнем FVIII через дефекти зв'язку між двома факторами.

На тип 1 хворіє приблизно 75% людей з наявними симптомами хвороби Віллебранда (Castaman, 2003 р.). Більша частина решти пацієнтів розділена між чотирма варіантами типу 2 і розподіл між ними відрізняється поміж центрами.

Таблиця 5. Наслідування, поширеність та схильність до кровотеч у пацієнтів із хворобою Віллебранда

Тип	Наслідування	Поширеність	Схильність до кровотеч
Тип 1	Аутосомно-домінантна	До 1%	Від легкої до середньої
Тип 2A	Аутосомно-домінантна (або рецесивна)	Рідко	Непостійна, зазвичай середня
Тип 2B	Аутосомно-домінантна	Рідко	Непостійна, зазвичай середня
Тип 2M	Аутосомно-домінантна (або рецесивна)	Рідко	Непостійна, зазвичай середня
Тип 2N	Аутосомно-рецесивна	Рідко	Непостійна, зазвичай середня
Тип 3 (тяжка форма)	Аутосомно-рецесивна	Від 1:250 000 до 1:1 000 000	Висока (тяжкі кровотечі)

Наприклад у Франції статистика наступна: 30% пацієнтів хворі на тип 2A, 28% – на тип 2B, 8% – на тип 2M та 34% – на тип 2N. У Бонні, Німеччина, надавався наступний розподіл: 74% типу 2A, 10% типу 2B, 13% типу 2M та 3,5% типу 2N. Таблиця 5 містить інформацію щодо наслідування, поширеності та схильності до кровотеч у пацієнтів з різними типами хвороби Віллебранда. Поширеність типу 3 хвороби Віллебранда у популяції точно не відома, але на 1 млн. населення даються наступні оцінки: 0,55 – в Італії, 1,38 – у Північній Америці, 3,12 – у Швеції, 3,2 – в Ізраїлі. Поширеність може досягати 6 у країнах, де звичним є кровозмішування.

Тип 1 хвороби Віллебранда

Тип 1 характеризується частковим кількісним дефіцитом VWF. Його рівень у плазмі низький, але він нормальним чином опосередковує адгезію тромбоцитів та зв'язує FVIII. Лабораторне дослідження показує відповідне зниження у концентрації протеїну (VWF:Ag) VWF та його функціонуванні (VWF:RCo). Рівні фактора згортання крові та VWF корелюються, тому FVIII зменшується, коли зменшується VWF. Зазвичай при типі 1 відношення FVIII до антигену VWF становить 1,5-2,0. У більшості пацієнтів, таким чином,

рівень FVIII не змінюється або не значно зменшується. Мультимер-гелі VWF не показують значного зниження кількості великих мультимерів. Лабораторний аналіз хвороби Віллебранда описується у розділі «Діагноз та оцінка». Спектр мутацій при типі 1 був описаний дуже широко у двох важливих дослідженнях. Особливо важкі високо проникні форми типу 1 можуть бути спричинені домінантними мутаціями VWF, що взаємодіють з міжклітинним переносом химерного профактора Віллебранда. Ці мутації також можуть спричинити швидкий розпад VWF у крові. Зазвичай люди з такими мутаціями мають рівень фактора менший, ніж 20 МО/дл. Встановлено, що більшість з мутацій на сьогоднішній день спричиняють заміну одиничних амінокислот у домені D3. Одна мутація, пов'язана зі швидким кліренсом, знаходилася у домені D4. Підвищений кліренс фактора в плазмі при типі 1 може стати причиною надто різкої неочікуваної відповіді на десмопресин у деяких пацієнтів. Таким чином, кращі дані про поширеність підвищеного кліренсу сприятимуть більш ефективному діагностуванню типу 1 та вибору відповідного лікування. Важче встановити діагноз типу 1, коли рівень VWF не дуже низький, але він знаходиться у нижній межі норми. При типі 1 немає якісного критерію, за яким його можна було б упізнати, та діагностика покладається лише на кількісні характеристики концентрації та функціонування. У здорового населення рівень VWF значно коливається і у 95% це становить від 50 до 200 МО/дл. Так як легкі симптоми кровотеч дуже поширені у здорового населення, зв'язок між симптомами кровотечі та помірно низьким рівнем VWF може бути випадковим. Концептуальні та практичні питання, пов'язані з оцінкою помірно низького рівня VWF, більш детально описуються нижче.

Тип 2 хвороби Віллебранда

Клінічні ознаки типу 2 хвороби Віллебранда відрізняються від ознак типу 1, тому потреба у лікуванні може суттєво різнитися. Таким чином, у медичному обслуговуванні пацієнтів із типом 2 приймає участь гематолог, досвідчений у гемостазі. Часто здається, що симптоми кровотечі при типі 2 більш важкі, ніж при типі 1; для цього потрібно проводити додаткові клінічні випробування. При типі 2А мають місце якісні зміни, а саме адгезія тромбоцитів, залежних від VWF, зменшується внаслідок зменшення пропорції великих мультимерів VWF. Рівні антигену VWF та FVIII можуть бути нормальними або трохи зменшеними, але VWF функціонує аномально, що виражається через значно знижену ристоцетин-кофакторну активність VWF. Тип 2А може спричинятися мутаціями, що втручаються у виділення великих мультимерів, або які підвищують їх схильність до протеолітичної деградації у кровотоці. Дефіцит великих мультимерів є ознакою схильності до кровотеч.

Локація мутацій типу 2А може залежати від мультимерних гелів. Наприклад, мутації, що в першу чергу заважають побудові мультимера, призводять до секреції надто малих мультимерів, які нездатні зв'язуватися з тромбоцитами і відносно резистентні до протеолізу від ADAMTS13. Гомозиготні мутації у пропептидах заважають побудові мультимерів у апараті Гольджі та породжують «чисті» секвенції малих мультимерів, у яких відсутні супроводжуючі зв'язки, що індукують протеоліз (див. Діагностика та оцінка). Спочатку це описувалося як «тип Іс». Гетерозиготні мутації в цистиновому вузлі можуть стати на заваді димеризації профактора Віллебранда в ЕР та спричинити мультимерний ряд, що спочатку називався «тип ІІД». Суміш мономерів та димерів прибуває в апарат Гольджі, де інкорпорація мономерів по краям мультимера попереджує подальшу елонгацію. В результаті маленькі мультимери містять неправильну кількість підрозділів та представляють слабкі зв'язки одні з одними. Гетерозиготні мутації в цистеїнових залишках D3 домену також можуть завадити цьому процесу. Часто вони є причиною невиразного мультимерного ряду, які називають «тип ІІЕ».

В протилежність мутаціям, які в першу чергу впливають на побудову мультимерів, мутації у домені А2 спричиняють тип 2А хвороби Віллебранда, що виражається підвищеним протеолізом VWF (див. Рис. 2). Ці мутації втручаються у згортання домену А2 та роблять зв'язок Tyr1605-Met1606 доступним для ADAMTS13 навіть при відсутності підвищеного рідинного тиску. Розрізняють дві підгрупи цього ряду: група 1 – мутації покращують протеоліз ADAMTS13 та погіршують побудову мультимерів, група 2 – покращують

протеоліз, не заважаючи побудові великих мультимерів VWF. Комп'ютерна модуляція домену A2 передбачає, що мутації групи 1 мають більш негативний ефект на домен A2, ніж мутації групи 2.

Тип 2B хвороби Віллебранда спричиняється мутаціями, що патологічно підвищують зв'язування тромбоцита з VWF, що призводить до протеолітичної деградації та розпаду великих та функціональних мультимерів. Тромбоцити, які знаходяться в циркуляції, також покриті мутованим VWF, що заважають тромбоцитам приєднуватися до місця ушкодження. Хоча лабораторні аналізи для типу 2B можуть походити на результати типу 2A чи 2M, пацієнти з типом 2B страждають на тромбоцитопенію, що підкріплюється вагітністю, хірургічним втручанням, стресом. Можливо, тромбоцитопенія спричиняється реверсивною секвестрацією агрегацій тромбоцитів та VWF в мікроциркуляції. Ці агрегації розчиняються під дією ADAMTS13, знижують кількість великих мультимерів та зв'язувальний ряд. Це є індикатором підвищеної протеолітичної деградації. Діагноз типу 2B залежить від РІТА при низьких концентраціях рістоцетину. Мутації типу 2B мають місце у або поряд з доменом A1, коли він зв'язується з тромбоцитом. Мутації покращують зв'язок шляхом стабілізації зчеплення двох поверхонь. Тип 2M включає варіанти, що знижують адгезію VWF-залежних тромбоцитів, що не спричиняється відсутністю високомолекулярних мультимерів. Навпаки, мутації типу 2M знижують взаємодію VWF з глікопротеїном тромбоциту або зі з'єднувальною тканиною, та властиво не впливає на побудову мультимера. Лабораторні тести при типі 2M та типі 2A подібні. Різниця між ними виявляється завдяки електрофорезу мультимерним гелем.

Мутація типу 2M відбуваються у домені A1, де вони запобігають зв'язуванню з глікопротеїнами тромбоцитів. В одній сім'ї було описано мутацію у домені A3, що знизило зв'язувальну властивість до колагену, а також адгезію тромбоцитів, що спричинило захворювання типу 2M.

Тип 2N спричиняється мутаціями, які запобігають зв'язуванню з FVIII, знижуючи його рівень таким чином, що тип 2N маскується під аутосомно-рецесивну форму гемофілії А. В типових випадках рівень FVIII нижчий за 10%, при нормальному VWF:Ag та VWF:RCo. Відрізнити гемофілію А та тип 2N можна за допомогою тестів на зв'язок FVIII-VWF.

Більшість мутацій при типі 2N знаходяться на місці зв'язування FVIII та VWF, що знаходиться між Ser764 та Arg1035, і займає домен D' та частину домену D3. Найбільш поширена мутація – Arg854Gln, має досить слабкий ефект на зв'язування з FVIII та спричиняє менш важкий фенотип типу 2N. Деякі мутації в С-терміналі Arg1053 D3 домену можуть знизити зв'язування FVIII, можливо через непрямий ефект на структуру чи доступність місця зв'язку.

Тип 3 хвороби Віллебранда

Тип 3 хвороби Віллебранда характеризується відсутністю FVIII та будь-якої активності з його боку, а рівень наявного FVIII зазвичай дуже низький (від 1 до 9 МО/дл). Нонсенс-мутації та мутації здвигу рамки зчитування є частою причиною типу 3, хоча великі делеції splice-site мутації та міссенс-мутації також здатні на це. Мутації розподіляються по всьому гену та є унікальними для сім'ї, де вони були вперше ідентифіковані.

Невелика кількість пацієнтів з типом 3 розвивають аллоантитіла до VWF у відповідь на переливання продуктів плазми. Від 2,6 до 9,5% відсотків пацієнтів страждають на це ускладнення згідно зі звітами лікарів. Реальний відсоток невідомий через неточність наданих даних. Ці аллоантитіла інгібують гемостатичний ефект кровозмісної терапії та можуть спричинити загрозливі для життя алергічні реакції. Великі делеції у гені VWF можуть стати основою цього ускладнення.

Класифікація хвороби Віллебранда, загальні питання

Головною проблемою при використанні даної класифікації хвороби Віллебранда є визначення меж між підтипами через лабораторне тестування. Також, деякі мутації чинять плейотропний ефект на структуру та функціонування VWF, а деякі пацієнти мають декілька причин внаслідок мутацій, що визивають хворобу Віллебранда. Різноманітність механізмів

мутацій призводить до складних фенотипів, що важко віднести до певних категорій. Клінічні випробування, що вивчають зв'язок між генотипом хвороби Віллебранда та клінічним фенотипом, можуть бути корисними у лікуванні пацієнтів з різними підтипами хвороби Віллебранда. Різниця між кількісним та якісним дефектом залежить від здатності розрізнити результати тестів VWF, що дискутується в «діагностиці та оцінці». Так само, для того, щоб розрізнити типи 2A та 2M, потрібно використовувати аналізи за допомогою мультимерного гелю. Для ефективного використання лабораторних тестів потрібні стандарти, що дозволять побачити різницю. Приклад хвороби Віллебранда-Віченца ілюструє деякі з цих питань. Хвороба Віллебранда-Віченца була вперше описана як різновид захворювання, при якому рівень VWF в плазмі менший за 15 МО/дл, а мультимери більші за нормальні мультимери тромбоцитарного VWF. Низький рівень VWF у плазмі при цьому різновиді захворювання пояснюється специфічною мутацією Arg1205His, яка підвищує швидкість кліренсу VWF з кровообігу у 5 разів. Новітні синтезовані мультимери мають меншу здатність до розчеплення під дією ADAMTS13 перед кліренсом, тож прискорений кліренс може бути єдиною причиною підвищеного розміру мультимерів при хворобі Віллебранда-Віченца. Саме інтерпретація результатів лабораторних тестів визначає, до якого типу віднести це захворювання: до типу 1 чи до типу 2N. Аномально великі мультимери та дуже низький рівень РІТА дають право деяким дослідникам зачислити це захворювання до типу 2M. Тим не менше, відношення VWF:RCo/VWF:Ag є зазвичай нормальним, а великі мультимери відносно не зменшені до менших мультимерів, таким чином, інші дослідники зараховують хворобу Віллебранда-Віченца до типу 1. Не дивлячись на класифікацію цього різновиду, помітно скорочений період півжиття плазменного VWF є ключовим фактором, що разом з клінічними умовами є основою для лікування десмопресином або концентратом FVIII або VWF.

Тип 1 хвороби Віллебранда та низький рівень фактора Віллебранда

Пацієнти, що мають низький рівень VWF, менше 20 МО/дл, страждають на мутації гену VWF, значні симптоми кровотеч та позитивну сімейну історію. Діагностування у таких пацієнтів типу 1 здається доречним, тому що воно може зменшити ризик прояву симптомів завдяки змінам у стилі життя, а також обґрунтувати рішення про лікування з метою попередження кровотеч. Ідентифікація членів сім'ї з цим захворюванням також може бути доречною у плані спрощення генетичного консультування. З іншого боку, рівень фактора 30-50 МО/дл трохи нижчий за нормальний (50-200 МО/дл) є проблемним для діагностики та лікування. Серед населення США (приблизно 300 млн.) у 7,5 млн. може бути рівень менший за 50 МО, що дасть можливість діагностики типу 1. Через сильний вплив груп крові АВО на рівень фактора, 80% населення США з низьким рівнем фактора мають групу крові О. Більше того, помірно низький рівень фактора та симптоми кровотеч не завжди успадковуються в сім'ях та не сильно пов'язані з інтрагенними мутаціями VWF. У нещодавньому канадському дослідженні 155 сімей з 1 типом хвороби пропорція із зв'язком до локуса VWF становила лише 41%. У такому ж європейському дослідженні цей показник залежав від важкості фенотипу. Якщо рівень в плазмі був менший за 30 МО/дл, спостерігався зв'язок, у протилежному випадку пропорція дорівнювала 51%.

Крім того, симптоми кровотеч не були значно пов'язаними з геном VWF у цих сім'ях. Дослідження сімей показують, що 25-32% варіантності VWF є спадковими. Дослідження близнюків показали спадковість 66-75%, хоча ці значення можуть бути переоцінені через фактори оточуючого середовища. Так, здається, що у здорової популяції значна частина варіації у рівні VWF не є спадковою.

Були ідентифіковані деякі гени, що роблять свій внесок в обмежену спадковість рівня VWF. Значний генетичний вплив має група крові – від 20 до 30% варіантності. Середній рівень для групи крові 0 – 75 МО/дл, що на 25-35 МО/дл менше, ніж для інших груп, а 95% донорів крові з групою 0 мають рівень між 36 та 157 МО/дл. Секреторний локус має менший вплив. Люди без секретора мають трохи нижчий рівень VWF, ніж з секретором.

Таблиця 6. Кровотечі та рівень фактора Віллебранда у гетерозигот з Типом 3 хвороби Віллебранда

Посилання (перший автор, рік)	Умови	Популяція	Результати
Castaman та ін., 2002 р.	Одна сім'я з типом 3 пробанд	11 гетерозигот	Без кровотеч; 6 з рівнем фактора менше 50 МО/дл
Eikenboom та ін., 1998 р.	8 сімей з типом 3 пробанд	22 гетерозиготи	Двоє з легкою кровотечею серед 9 з рівнем фактора менше 50 МО
Zhang та ін., 1995 р.	13 сімей з типом 3 пробанд	55 гетерозигот	22 з легкою кровотечею серед 38 з рівнем фактора менше 50 МО/дл; 9 з легкою кровотечею серед 17 з рівнем вище 50 МО/дл
Schneppenheim та ін., 1994 р.	28 із типом 3 пробанд	44 гетерозиготи	5 з носовою кровотечею, крововиливами або менорагією серед 24 з рівнем менше 50 МО/дл; 1 з післяопераційною кровотечею серед 20 з рівнем вищим за 50 МО/дл
Eikenboom, 1993 р.	1 сім'я з типом 3 пробанд	4 гетерозиготи	2 з легкою кровотечею серед 4 з рівнем фактора меншим за 50 МО/дл
Inbal та ін., 1992 р.	4 сім'ї з типом 3 пробанд	20 гетерозигот	Без кровотеч, 15 з рівнем фактора менше 50 МО/дл
Nichols та ін., 1991 р.	1 сім'я з типом 3 пробанд	6 гетерозигот	Без кровотеч; 2 з рівнем фактора менше 50 МО/дл
Mannucci та ін., 1989 р.	15 сімей з типом 3 пробанд	28 гетерозигот	Без кровотеч, 19 з рівнем фактора менше 50 МО/дл

Вплив локуса VWF важко оцінити аналізом зв'язку. Одне з досліджень передбачає, що 20% варіантності рівнів VWF спричиняється геном, але інше дослідження не демонструє такої залежності. Відомі генетичні фактори відповідальні за меншу частину спадкової варіантності рівнів фактора, а помірно низький рівень (30-50 МО/дл) не показує міцний зв'язок з локусом VWF. Діагностику та лікування можна полегшити кращим розумінням спадкових та оточуючих факторів на концентрацію фактора у плазмі. Залежність кровотечі від низького рівня VWF важко довести, тому що незначні симптоми кровотечі є розповсюдженими, а ризик кровотеч лише трохи підвищений у людей з помірно низьким рівнем фактора. Наприклад, у дослідженні пацієнтів з типом 3 були обстежені приблизно 190 гетерозиготних родичів (Табл. 6). Середній геометричний рівень VWF складав 47 МО/дл, від 16 до 140 МО/дл. Серед 117 людей з рівнем фактора нижчим за 50 МО/дл 31% мали кровотечі. Відносний ризик кровотечі склав 1,9 для людей з низьким VWF (тест Фішера). У людей з найнижчим рівнем фактора існує тенденція до підвищеної частоти кровотеч: серед 31 пацієнта з рівнем меншим за 30 МО/дл, 12 (39%) мали симптоми. Кровотечі були легкими: носова кровотеча, синці, менорагія, кровотеча після видалення зуба. Пацієнт з післяопераційною кровотечею мав рівень фактора вищий за 50 МО/дл. Лікування кровотеч, пов'язаних з дефіцитом VWF, можна полегшити кращим розумінням принципів наслідування низького рівня фактора (20-50 МО/дл), його зв'язком з інтрагенними мутаціями

та взаємодією з іншими факторами ризику виникнення кровотечі. Такі дані можуть стати основою для лікування хвороби Віллебранда, так само як високий тиск крові та високий холестерин є ознаками ризику кардіоваскулярної хвороби.

Набутий синдром Віллебранда

Набутий синдром Віллебранда – це дефекти у концентрації, структурі та функціях VWF, що не успадковані, а є наслідком інших медичних розладів. Лабораторні результати подібні до результатів успадкованої хвороби Віллебранда та включають знижені значення VWF:Ag, VWF:RCo, FVIII. Розповсюдження мультимерів фактора може бути нормальним, але великі мультимери показують занижене розповсюдження, подібне до типу 2A. Зазвичай набутий синдром Віллебранда спричиняється одним із трьох механізмів: автоімунний кліренс або інгібування VWF, підвищений протеоліз, або підвищене зв'язування фактора до поверхні тромбоцитів або інших клітин. Автоімунні механізми можуть спричинити набутий синдром Віллебранда в асоціації з лімфопроліферативними хворобами, моноклональними гаммопатіями, системною червоною вовчанкою, іншими автоімунними розладами, деякими видами раку. Автоантитіла до VWF спостерігаються у менш ніж 20% пацієнтів, які обстежувалися на їх присутність, що означає недостатню ефективність методів детекції антитіл, або що в даних умовах набутий синдром Віллебранда не завжди має автоімунну основу. Патологічне підвищення внутрішньосудинного тиску може спричинитися кардіоваскулярними ураженнями, такими як вентрикулярний септичний дефект та стеноз аорти або первинною гіпертензією легенів. Підвищений внутрішньосудинний тиск може прискорити протеоліз VWF ADAMTS13 достатньо для розчинення великих мультимерів та спричинення діатезів, що є аналогічними при типі 2A. Розповсюдження мультимерів покращується, якщо успішно лікується фоновий кардіоваскулярний розлад. Підвищене зв'язування з клітинними поверхнями, особливо тромбоцитарними, також поглинає великі мультимери. Існує зворотній зв'язок між кількістю тромбоцитів та розміром мультимерів, можливо тому, що збільшена контактна поверхня з тромбоцитами підвищує розпад VWF ADAMTS13. Цей механізм, можливо, відповідає за зв'язок набутого синдрому з мієлопроліферативними розладами; зменшення кількості тромбоцитів відновлює нормальне розповсюдження мультимерів. В рідких випадках VWF зв'язується з GPIIb, що експресується на поверхню пухлинних клітин.

Набутий синдром описується при гіпотероїдизмі як наслідок неімунного механізму. Деякі ліки також з ним асоціюються: ципрофлоксацин, вальпроєва кислота, гризеофульвін та гідроксіетил крохмаль.

Набутий синдром Віллебранда має місце при багатьох захворюваннях, але інші клінічні ознаки можуть відвернути увагу від цієї потенційної причини кровотечі. Потрібні дослідження для визначення впливу на ризик кровотечі при багатьох хворобах, з якими асоціюється набутий синдром Віллебранда.

Питання виникнення тромбозів у пацієнтів без хвороби Віллебранда

Питання підвищення VWF як причини тромбозів було предметом деяких досліджень. Вивчалися артеріальні та венозні тромботичні розлади.

Операція на відкритому серці. Можливо, гемостатична активація після операції на відкритому серці є механізмом підвищеного ризику післяопераційного тромбозу. Рандомізоване дослідження, що порівнює операцію на коронарній артерії з або без кардіопульмонарного шунтування, довело стабільний та еквівалентний зріст у рівні VWF:Ag у перші 4 післяопераційні дні у двох групах. Здається, що саме операція, а не шунтування стало причиною підвищення рівня VWF. Не доведено, що підвищення VWF після операції на серці впливає на ризик тромбозу.

Ішемічна хвороба серця. Три великі проспективні дослідження пацієнтів без ознак ішемічної хвороби серця на початку показали значний зв'язок між VWF:Ag на початку та наступними проявами ішемічної хвороби серця. Цей зв'язок був наявний лише у даних дослідженнях, тому міг бути випадковим. Залежність між VWF та наслідками ішемічної хвороби серця є слабкою та, можливо, непрямую.

Тромбоз, ускладнений фібриляцією передсердь. Однофакторний аналіз показав значний зв'язок між рівнем VWF:Ag та інсультом або іншими судинними захворюваннями. Багатоваріантивний аналіз підтвердив ці дані.

Тромботична тромбоцитопенічна пурпура (ТТП). Спадковий дефіцит або набуто інгібування протеази, що розщеплює VWF – ADAMTS13 – пов'язана з виживанням у плазмі ультравеликих мультимерів VWF, які є частиною процесу розвитку багатих на тромбоцити тромбів у маленьких судинах пацієнтів з ТТП.

Тромбоз глибоких вен. У контрольованому дослідженні 301 пацієнта протягом 3 місяців після закінчення терапії антикоагулянтами першого епізоду ТГВ, рівень у плазмі VWF:Ag та FVIII були пов'язані з ризиком ТГВ, згідно з однофакторним аналізом. У багатофакторному аналізі взаємопов'язаність VWF з ризиком ТГВ була менш значною після поправки на рівень FVIII.

ДІАГНОСТИКА ТА ОЦІНКА

Вступ

Діагностика у пацієнта хвороби Віллебранда або інших розладів гемостазу може бути ініційована з багатьох клінічних причин (див. Рис. 3). Ці причини та ситуації можуть включати оцінку: 1) асимптоматичного пацієнта, який має пройти хірургічне або інтервенційне втручання; 2) пацієнтів із симптомами або історією підвищеної кровоточивості, анормальної лабораторної історії або історії хвороби у сім'ї; 3) пацієнтів з попередньої діагностикою хвороби Віллебранда без відповідного лабораторного підтвердження. В усіх випадках першим кроком оцінки стане фокус на ключових аспектах клінічної історії пацієнта аби визначити, чи корисна буде подальша діагностика. Цей розділ поділений на 2 частини. Перша використовує витяги з медичної літератури: питання для первинного оцінювання людей з можливими проблемами кровносною системою або для оцінки перед проведенням процедур, що можуть підвищити ризик кровотечі. Використовуючи відповіді на ці питання, друга частина зосереджується на оптимальному лабораторному оцінюванні пацієнтів з потенційними розладами гемостазу та дає поради для інтерпретації лабораторних результатів.

Оцінка стану пацієнта

Історія, ознаки та симптоми

Первинне клінічне оцінювання людини на хворобу Віллебранда повинне зосередитись на історії надмірних кровотеч та на історії сім'ї з такими розладами. Потрібно приділити увагу спонтанності та важкості, місцям, тривалості кровотечі, типу ушкодження, що її спричинив, легкості, з якою можна зупинити кровотечу, а також лікарським засобам, які використовуватимуться у комплексі: ацетилсаліцилова кислота (АСК), інші нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), клопідогрель, варфарин або гепарин. Перед інвазивною процедурою потрібно звернути особливу увагу на таке: чи приймає пацієнт будь-які з цих медикаментів, чи має в анамнезі хворобу нирок або печінки, крові або кісткового мозку, низький або високий рівень тромбоцитів. При позитивній відповіді потрібна відповідна подальша оцінка стану пацієнта.

Клінічні прояви. Найбільш поширені симптоми у людей з хворобою Віллебранда виділені у Таблиці 7. Вони включають кровотечі (легкі або середнього ступеня важкості, що не потребують переливання крові або візиту до терапевта) слизових оболонок та поверхні шкіри у пацієнтів переважно з типом 1. Кровотечі, що загрожують життю (ЦНС, шлунково-кишкові) стаються у пацієнтів з типом 3, у деяких пацієнтів з типом 2 та рідко – з типом 1. Нечасті прояви кровотеч, такі як гемартрози проявляються у першу чергу в пацієнтів з типом 3, тобто гострою недостатністю фактора. Клінічні симптоми можуть бути змінені іншими наявними хворобами або прийомом медикаментів. Наприклад, споживання АСК або інших НПЗП підвищує тенденцію до кровотеч, тоді як пероральні контрацептиви мають зворотній ефект у жінок з хворобою Віллебранда. Клінічна оцінка симптомів кровотеч є важким випробуванням, тому що важкі симптоми часто зустрічаються у здоровій популяції (Табл. 7).

Відповіді на опитування, що використовуються при дослідженнях, вказують, що здорові люди мають специфічні прояви кровотечі так само часто, як люди з хворобою Віллебранда, особливо типом 1. Сімейна історія кровотеч наявна у 44% здорових дітей, що проходять через тонзілектомію, та у 35% або 60% людей з кровотечами. Через те, що симптоми кровотеч є превалюючим, неможливо визначити причинний зв'язок між кровотечею та низьким рівнем VWF.

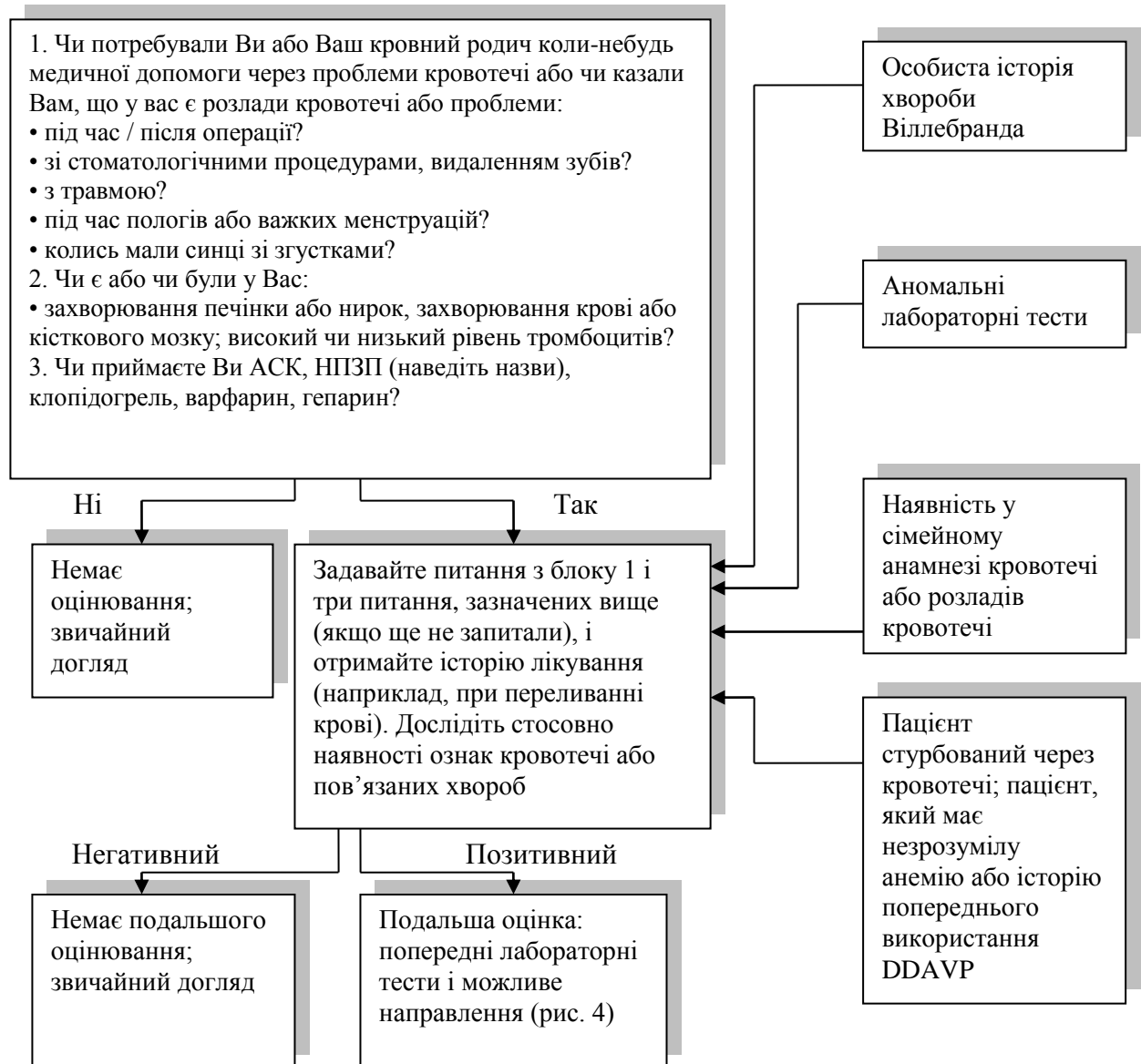
Одна з найважливіших клінічних проблем стосується лише жінок: це менорагії. Дослідження жінок з хворобою Віллебранда свідчить про часті менорагії (Табл. 7), хоча цьому симптому немає точного визначення, а критерії діагностики відрізняються від дослідження до дослідження. Чутливість менорагії як ознаки хвороби Віллебранда оцінюється від 32 до 100%. Тим не менше, менорагія – це звичайний симптом, що є досить частим у здорових жінок, тому його не можна назвати специфічним маркером хвороби Віллебранда. У дослідженні 102 жінок з хворобою Віллебранда, які знаходилися на обліку в центрах лікування гемофілії США, 95% мали менорагії в історії хвороби, порівняно з 61% у здорового населення. Превалювання хвороби Віллебранда становить 5-20% у жінок з менорагіями. Таким чином, специфічність менорагії як ознаки хвороби Віллебранда оцінюється в 5-20%.

Блок 1. Можливі питання для скринінгу розладів гемостазу у пацієнтів

<p>1. Чи маєте Ви кровного родича з розладом гемостазу, таким як хвороба Віллебранда або гемофілія?</p> <p>2. Чи мали Ви продовжувану кровотечу від простих поранень, яка тривала би більше 15 хвилин, або спонтанно проявлялася протягом 7 днів після поранення?</p> <p>3. Чи були у Вас важкі затяжні або повторювані кровотечі після хірургічних процедур, таких як тонзілектомія?</p> <p>4. Чи з'являлися у Вас синці після мінімальної або ненавної травми, особливо чи відчували Ви пухлину на місці ураження?</p> <p>5. Чи мали Ви спонтанну носову кровотечу, яка потребувала більше 10 хвилин для її зупинення та медичне втручання?</p>	<p>6. Чи мали Ви важкі затяжні або повторювані кровотечі після видалення зубів, що потребували медичного втручання?</p> <p>7. Чи спостерігали Ви кров у ступі, яку неможна було б пояснити анатомічними причинами (виразка шлунка, поліп у прямій кишці), що потребувало медичного втручання?</p> <p>8. Чи спостерігали Ви у себе анемію, яка вимагала лікування, чи отримували Ви переливання крові?</p> <p>9. Для жінок. Чи мали Ви рясні виділення зі згустками більш ніж 2,5 см у діаметрі, які потребували б зміни засобів гігієни частіше, ніж кожную годину та спричиняли б анемію або низький рівень заліза?</p>
---	--

Джерела: Dean JA, Blanchette VS, Carcao MD, Stain AM, Sparling CR, Siekmann J, Turecek PL, Lillicrap D, Rand ML. von Willebrand disease in a pediatric-based population—comparison of type 1 diagnostic criteria and use of the PFA-100® and a von Willebrand factor/collagenbinding assay. *Thromb Haemost* 2000 Sep;(3):401–409; Drews CD, Dilley AB, Lally C, Beckman MG, Evatt B. Screening questions to identify women with von Willebrand disease. *J Am Med Womens Assoc* 2002;57(4):217–218; and Laffan M, Brown SA, Collins PW, Cumming AM, Hill FG, Keeling D, Peake IR, Pasi KJ. The diagnosis of von Willebrand disease: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organization. *Haemophilia* 2004 May;10(3):199–217.

Питання до пацієнтів



Стратегія первинної оцінки з метою виявлення найбільш підходящої діагностики хвороби Віллебранда. Верхній блок зліва: пацієнту задаються 3 питання щодо індивідуальної або сімейної історії кровотеч. Якщо відповідь позитивна, то це призводить до другого блоку питань щодо специфічності хвороби Віллебранда. Якщо і на ці питання відповідь позитивна, пацієнт проходить лабораторне тестування. Блоки справа: пацієнти, що надають специфічну інформацію про кровотечі, дають відповіді на питання з блоку 1, та також проходять лабораторне оцінювання.

Рис. 3. Початкова оцінка хвороби Віллебранда або інших розладів згортання крові

Таблиця 7. Поширені симптоми кровотечі у здорових людей та пацієнтів з хворобою Віллебранда

Симптоми	Нормальний рівень (n = 500; n = 341; n = 88; n = 60) %	Усі типи хвороби Віллебранда (n = 264; n = 1,885) %	Тип 1 хвороби Віллебранда (n = 42 n = 671) %	Тип 2 хвороби Віллебранда (n = 497) %	Тип 3 хвороби Віллебранда (n = 66; n = 385) %
Носові кровотечі	4,6-22,7	38,1-62,5	53-61	63	66-77
Менорагії	23-68,4	47-60	32	32	56-69

Симптоми	Нормальний рівень (n = 500; n = 341; n = 88; n = 60) %	Усі типи хвороби Віллебранда (n = 264; n = 1,885) %	Тип 1 хвороби Віллебранда (n = 42 n = 671) %	Тип 2 хвороби Віллебранда (n = 497) %	Тип 3 хвороби Віллебранда (n = 66; n = 385) %
Кровотечі після стоматологічних процедур	4,8-41,9	28,6-51,5	17-31	39	53-70
Синці	11,8-50	49,2-50,4	50	н.з.	н.з.
Кровотечі з дрібних порізів і подряпин	0,2-33,3	36	36	40	50
Кровотечі з десен	7,4-47,1	26,1-34,8	29-31	35	56
Післяопераційне втручання	1,4-28,2	19,5-28	20-47	23	41
Гемартрози	0-14,9	6,3-8,3	2-3	4	37-45
Шлунково-кишкові кровотечі	0,6-27,7	14	5	8	20

Три ознаки аномальної втрати крові при менструації більше за 80 мл включають:

- Згустки більше 1 дюйма в діаметрі;
- Низький феритин у сироватці;
- Зміна засобів гігієни частіше, ніж 1 раз на годину.

Ідентифікація людей, що потребують подальшої оцінки спадкових розладів гемостазу.

Так як інші симптоми кровотеч, окрім менорагій, часто з'являються у людей з нормальним гемостазом, важливо задавати питання, які дозволять визначити людей із захворюваннями. Sramek та його колеги застосовували письмове опитування пацієнтів з доведеним розладом гемостазу. Коли відповіді були порівняні з відповідями групи здорових волонтерів, найбільш інформативні питання стосувалися: 1) продовженого часу кровотечі після хірургії, включаючи екстракцію зуба; 2) ідентифікації членів сім'ї, що мали встановлений розлад гемостазу (Табл. 8). Історія крововиливів у м'язи та суглоби також може бути корисною у цьому випадку.

Загальні питання, що відносяться до ізольованих випадків кровотеч, таких як кровотечі з десен, профузні менструальні кровотечі, кровотечі після пологів та носові кровотечі за відсутності інших симптомів були неінформативними. Дослідження також довело, що детальна розмова з гематологом не приносила додаткової інформації у розрізненні пацієнтів із серйозними розладами гемостазу від «підозрюваних». Це означає, що первинний відбір уже був зроблений терапевтом.

Druz та ін. зробили спробу зробити скринінговий інструмент на основі опитування для ідентифікації жінок, які б підлягали діагностуванню хвороби Віллебранда. Вони провели телефонне опитування жінок з діагнозом типу 1, що стояли на обліку в центрах лікування гемофілії, та порівняли з 88 здоровими жінками. За виключенням післяпологових переливань крові всі види симптомів більш часто зустрічалися у жінок з підтвердженим синдромом, ніж у їх подруг (Табл. 8). Також більш часто отримувалися позитивні відповіді на питання від пацієнтів зі спадковими розладами гемостазу. Важливим обмеженням цього дослідження було те, що у цих жінок спостерігалися більш виразні симптоми, ніж у більшості пацієнтів з типом 1, що є ознакою важкого фенотипу хвороби. Цей факт знижує чутливість питань з легшим типом 1 хвороби Віллебранда та меншою кількістю симптомів.

Rodeghero та колеги порівняли відповіді стандартного опитування від 42 носителів хвороби (підтверджені родини) та відповіді 215 здорових респондентів. В опитуванні йшлося

про 10 звичних симптомів кровотеч (включаючи симптоми з Табл. 7 та післяпологову кровотечу), кожен з яких отримав градацію від 0 до 3 (безсимптомно; важкі симптоми, включаючи госпіталізацію та переливання крові). Так було доведено, що чоловіки є менш чутливими при типі 1, ніж жінки. Серед обмежень можна вказати ретроспективність дослідження та попередню обізнаність опитувача про стан хвороби. Опитування знаходиться в доступі в інтернеті. Подібне ретроспективне дослідження використовувало стандартизований список питань, схожий на інструмент Rodeghero з метою оцінки симптомів кровотеч у 144 випадках типу 1 хвороби Віллебранда порівняно з 273 хворими родичами, 295 здоровими родичами та 195 здоровими волонтерами. Опитувачі знали про стан кожного пацієнта. Щонайменше один симптом мав місце у 98% випадків, 89% хворих родичів, 32% здорових родичів та 12% волонтерів. Симптоми включали в себе кровотечі після екстракції зуба, носові кровотечі, менорагії, підшкірні кровотечі, післяопераційні та кровотечі з глибоких ран. Важкість кровотечі зменшувалася з підвищенням рівня VWF у плазмі не тільки у хворих, але й у здорових людей. Середні значення шкали кровотеч були досить різноманітними, тому їх значення не дає можливості оцінити статус людини як хворої чи здорової.

Таблиця 8. Поширеність характеристик у пацієнтів з діагностованими розладами гемостазу у порівнянні з контрольною групою

Симптом	Однофакторний аналіз*		Багатофакторний аналіз*		Жінки з хворобою Віллебранда †		Родини з типом 1‡	
	Вірогідність	95% ДІ	Вірогідність	95% ДІ	Чутливість	95% ДІ	Вірогідність	95% ДІ
Члени сімей, що мають підтверджений розлад гемостазу	97,5	38,3-248	50,5	12,5-202,9	-	-	-	-
Профузні кровотечі з невеликих ран	67,2	28,4-159	30,0	8,1-111,1	-	-	16,7	2,0-137,7
Профузні кровотечі на місці тонзілектомії/а деноїдектомії	27,7	8,0-96,1	11,5	1,2-111,9	-	-	-	-
Невеликі синці	12,7	8,0-20,2	9,9	3,0-32,3	9,8	4,8-17,3	8,1	2,1-30,5
Профузні кровотечі після операцій	23,0	10,6-50,1	5,8	1,3-26,4	52,9	42,8-62,9	8,9	3,6-21,8
М'язові кровотечі	13,3	6,4-27,7	4,8	0,7-31,4	9,8	4,8-17,3	-	-
Носові кровотечі (часто)	3,5	2,0-6,2	3,8	0,9-15,7	61,8	51,6-71,2	4,9	2,4-10,0
Профузні кровотечі на місці видалення зуба	39,4	20,6-75,5	3,2	0,9-11,3	54,9	44,7-64,8	4,6	2,5-8,4
Кров у ступі	2,8	1,7-4,6	2,8	0,7-11,7	13,7	7,7-22,0	1,6	0,6-4,3
Члени родини із симптомами кровотеч	28,6	15,0-54,6	2,5	0,7-9,4	-	-	-	-
Крововиливи у	8,6	4,8-	2,5	0,6-	20,6	13,2-	-	-

Симптом	Однофакторний аналіз*		Багатофакторний аналіз*		Жінки з хворобою Віллебранда †		Родини з типом 1‡	
	Вірогідність	95% ДІ	Вірогідність	95% ДІ	Чутливість	95% ДІ	Вірогідність	95% ДІ
суглоби		15,2		10,2		29,7		
Менорагія	5,4	3,0-9,8	2,5	0,6-9,9	-	-	5,1	2,6-10,1
Кровотечі під час пологів	5,3	2,3-12,0	2,1	0,3-13,5	50,0	39,9-60,1	0,9	0,3-3,2
Часті кровотечі у деснах	2,8	1,9-4,2	0,7	0,3-2,0	76,5	67,0-84,3	1,3	0,3-6,7
Гематурія	3,2	1,8-5,6	0,5	0,1-2,3	-	-	-	-

Джерела: Sramek A, Eikenboom JC, Briet E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Usefulness of patient interview in bleeding disorders. *Arch Intern Med* 1995 Jul;155(13):1409–1415; Drews CD, Dilley AB, Lally C, Beckman MG, Evatt B. Screening questions to identify women with von Willebrand disease. *J Am Med Womens Assoc* 2002;57(4):217–218; and Tosetto A, Rodeghiero F, Castaman G, Goodeve A, Federici AB, Batlle J, Meyer D, Fressinaud E, Mazurier C, Goudemand J, et al. A quantitative analysis of bleeding symptoms in type 1 von Willebrand disease: results from a multicenter European study (MCMDM-1 VWD). *J Thrombos Haemostas* 2006;4:766–773.

* Однофакторний і багатофакторний аналіз порівняння 222 пацієнтів, які мали порушення згортання крові (43% легка форма VWD) з 341 здорови добровольцем.

† Складено на основі відповідей на опитування, розіслане 102 жінкам, які мали VWD 1 типу, в центрах лікування гемофілії

‡ Складено на основі порівняння постраждалих і не постраждалих членів сімей пацієнтів з VWD 1 типу. Індекс випадків (пацієнти з VWD) не був включений до аналіз (Tosetto і співавт. 2006, і особисте спілкування з доктором Rodeghiero від імені співавторів).

У пов'язаному дослідженні симптоми кровотеч оцінювалися за допомогою тих же питань у 70 людей – носіїв типу 3 хвороби Віллебранда, 42 людей – носіїв типу 1 та 215 здорових людей, обраних в якості контролю. Порівняння носіїв типу 3 та типу 1 повинно було визначити, чи різні типи мутацій VWF створюють схильність до різних ступенів важкості кровотеч. Приблизно 40% носіїв типу 3, 82% носіїв типу 1 та 23% здорових людей виявили щонайменше 1 симптом кровотечі. Найбільш часто у носіїв типу 3 проявлялись кровотечі під шкіру та після операцій. Можна зробити висновок, що носії типу 3 відрізняються від інших, тому що кровлять частіше, ніж здорові, але рідше носіїв типу 1. Зазвичай носії типу 1 мають нижчий рівень VWF.

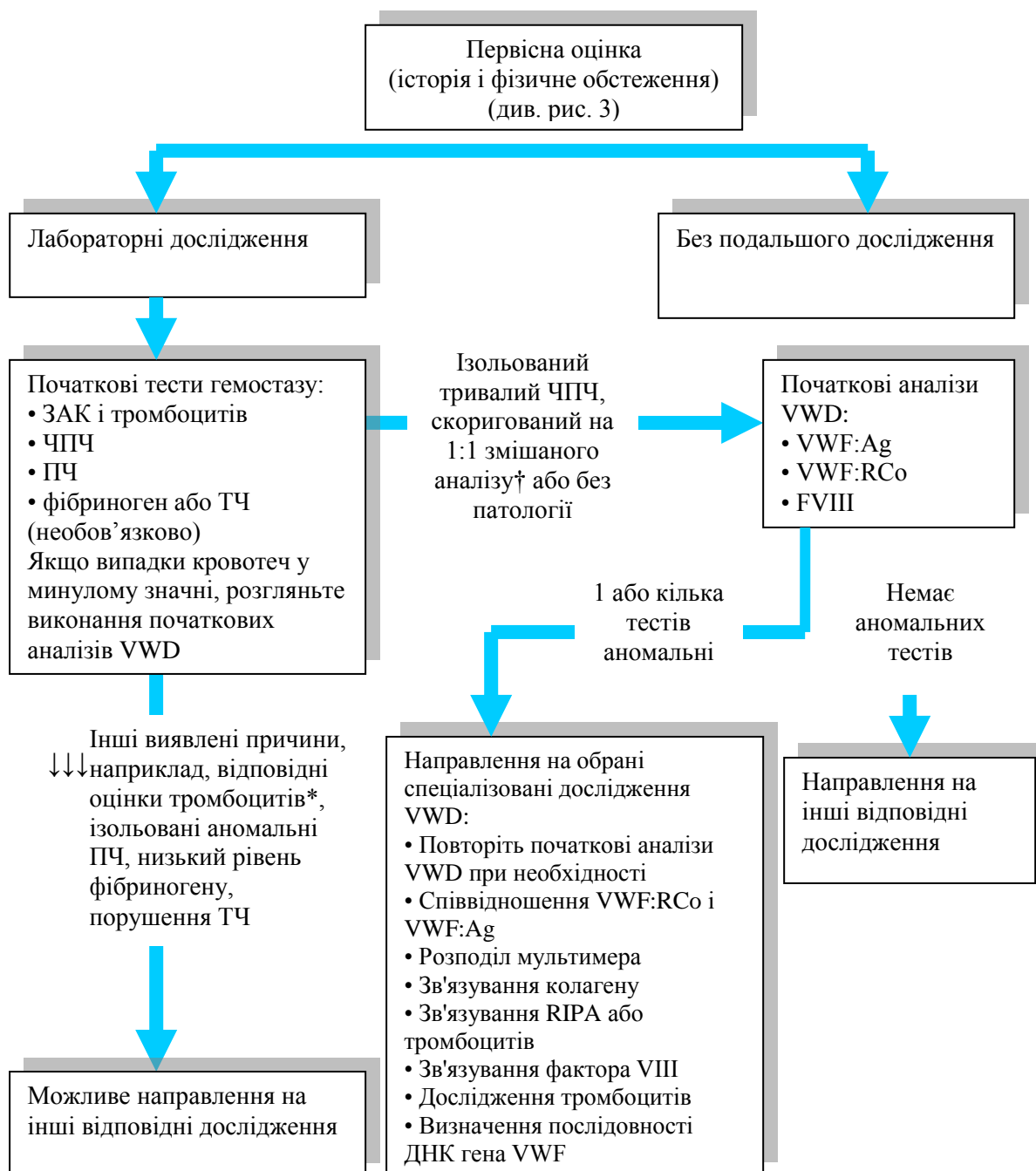
Родинна історія. Хоча родинна історія з доведеним розладом гемостазу корисна для ідентифікації людей, які можуть страждати на хворобу Віллебранда, вона часто недоступна. Це справедливо для людей з легшими формами хвороби, члени родин яких не мали виражених симптомів. Як показано в Табл. 8, наявність задокументованого розладу у члена родини допомагає у подальшій оцінці можливості захворювання. Блок 1 містить питання, які потрібно задавати для оцінки можливої хвороби Віллебранда для подальшої лабораторної діагностики.

Оцінка фізичного стану хворого. Вона повинна підтвердити наявність розладу гемостазу через такі симптоми, як розмір, локалізацій та розповсюдження синців (на тілі людини), гематоми, петехії та інші сліди нещодавньої кровотечі. Потрібно також взяти до уваги фактори, які можуть стати причинами підвищеної кровоточивості, такі як хвороба печінки (жовтуха), спленомегалія, артропатія, слабкість суглобів та шкіри (синдром Елерса-Данлоса), телеангіектазія, анемія або анатомічні ураження при гінекологічному огляді.

Набутий синдром Віллебранда. Люди з набутим синдромом Віллебранда мають подібні симптоми кровотеч, за виключенням того, що їх власна родинна історія не містить даних про кровотечі. Набутий синдром Віллебранда може розвиватися спонтанно або у зв'язку з іншими хворобами, такими як моноклональні гаммопатії, інші дискразії клітин плазми, лімфопроліферативні захворювання, мієлопроліферативні розлади (тромбоцитемія), автоімунні розлади, вальвулярні та вроджені хвороби серця, деякі пухлини та гіпотироїдизм. Потрібно проводити оцінку згідно з наявністю цих захворювань.

Лабораторна діагностика та моніторинг

Алгоритм використання клінічних лабораторних досліджень з метою проведення діагностики хвороби Віллебранда наданий в Рис. 4.



* Ізолюване зниження тромбоцитів може виникнути при VWD типу 2B.

† Корекція на ЧПЧ змішаного дослідження відразу і після 2-годинної інкубації вилучає інгібітор FVIII з розгляду. Дослідження інших внутрішніх факторів і вовчакового антикоагулянту також може бути показаний.

Якщо початкова клінічна оцінка передбачає порушення згортання крові, «початкові тести гемостазу» повинні бути показані, перед або разом з наступними тестами («початковий аналіз VWD»), зазначеними в алгоритмі. Направлення до фахівця з гемостазу слід розглядати для допомоги в інтерпретації, повторенні тестування та спеціалізованих тестах.

Рис. 4. Лабораторне визначення хвороби Віллебранда або інших розладів згортання крові

В ідеалі простий та єдиний лабораторний тест повинен виявляти хворобу Віллебранда. Такий скринінговий тест повинен бути чутливим до різних типів хвороби Віллебранда та мати низький рівень похибки. Нажаль, такого тесту не існує. У минулому в якості

діагностичних тестів використовувалися активованій частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ) та час кровотечі (ЧК). Ці тести мабуть були задовільними для визначення важкої форми хвороби Віллебранда, але коли варіантні та м'які форми хвороби були визначені, стало зрозуміло, що багато з них мають нормальні вищевказані показники.

Первинний лабораторний аналіз гемостазу (див. Блок 2) включає аналіз тромбоцитів та повний аналіз крові, АЧТЧ, протромбіновий час (ПЧ), а також рівень фібриногена або тромбіновий час (ТЧ). Це тестування допомагає визначити, чи відсутність фактора згортання або тромбоцитопенія можуть бути причиною клінічної кровотечі. Якщо в анамнезі присутня кровотеча зі слизових оболонок, потрібно провести первинні тести на хворобу Віллебранда при першому візиті до лікаря.

Блок 2. Первинний лабораторний аналіз гемостазу

- Загальний аналіз крові та тромбоцитів
- АЧТЧ
- ПЧ
- Фібриноген або ТЧ

Якщо початкова клінічна оцінка вбачає розлад системи гемостазу, потрібно провести «первинні тести гемостазу» разом з наступними тестами, що вказані в алгоритмі. Для інтерпретації результатів можна звернутися до спеціалістів з гемостазу.

Деякі центри додають ЧК або PFA-100® до своїх первинних лабораторних тестів. ЧК є неспецифічним тестом, не розрахованим на індивідуальний аналіз. Існує чимало перешкод, що можуть вплинути на результат, наприклад, неспокійна дитина, тиск крові при взятті аналізу, а також місце знаходження, направлення та глибина порізу для аналізу.

Цей тест також потенційно може спричинити телоїдні формації та появу шрамів, особливо у неєвропейців. Результат PFA-100® аномальний у більшості людей з хворобою Віллебранда, та його використання для скринінгу населення на хворобу Віллебранда не встановлене як корисне. Люди з важким типом 1 або типом 3 хвороби Віллебранда зазвичай мають аномальні показники PFA-100®. Такого не спостерігається при типі 2 та легкій і середній формі типу 1. При використанні одночасно ЧК та PFA-100® результати не завжди співпадають.

При використанні АЧТЧ в діагностиці хвороби Віллебранда результати цього тесту аномальні, тільки якщо достатньо знижений рівень FVIII. Так як ген FVIII здоровий при хворобі Віллебранда, дефіцит FVIII є вторинним до VWF, його протеїна-носія. У здорових людей рівні цих факторів приблизно нормальні: 100 МО/дл. При типі 3 рівень FVIII нижчий за 10 МО/дл та являє собою нормальний стан FVIII при відсутності його протеїна-носія. У людей з типом 1 рівень FVIII трохи вищий за рівень VWF та вписується у нормальні межі. У людей з типом 2 (за виключенням типу 2N) FVIII часто у 2-3 рази вищий за активність VWF. Таким чином, АЧТЧ знаходиться у межах норми. Якщо кліренс VWF є причиною його низького рівня, рівень FVIII знижується так само, можливо тому, що обидва протеїни розпадаються як комплекс.

Первинні тести на хворобу Віллебранда

У блоці 3 даються первинні тести для визначення хвороби Віллебранда або низького рівня VWF. Ці три тести, доступні у більшості великих лікарень, вимірюють кількість VWF у плазмі, функцію протеїна у якості ристоцетин-кофакторної активності, та можливість VWF виконувати свою роль протеїна-носія для FVIII. Якщо будь-який з цих тестів аномально низький, наступні кроки повинні бути обговорені зі спеціалістом по згортанню крові, який порекомендує звернутися до спеціалізованого центру або пройти більш специфічні тести.

VWF:Ag – це імунотест, який вимірює концентрацію протеїна FVIII у плазмі. Зазвичай використовують тест ELISA або LIA. При цьому потрібно посилатися на стандарти ВООЗ. Результати тестів вимірюються у МО/дл або МО/мл. Більшість лабораторій обирає МО/дл,

так як це є більш зручним способом звітування про вимірювання факторів згортання як відсоток від нормального.

VWF:RCo – це функціональний тест VWF, що вимірює його здатність взаємодіяти зі здоровими тромбоцитами. Антибіотик ристоцетин допомагає фактору Віллебранда зв'язуватися з тромбоцитами, які збираються в групи та виводяться з циркуляції. Використання ристоцетину у клінічних випробуваннях було зупинено, тому що він викликав тромбоцитопенію. Тим не менше, ця взаємодія використовується в лабораторних тестах та є широко прийнятою для вимірювання VWF. (In vivo, проте, вона є неристоцетинподібною молекулою, що спричиняє структурні зміни у VWF, які ведуть до зв'язування фактора та тромбоцитів.)

Блок 3. Первинні тести на хворобу Віллебранда
<ul style="list-style-type: none"> • VWF:Ag • VWF:RCo • FVIII

Декілька методів використовуються для оцінки аглютинації та агрегації тромбоцитів. Вони використовують зв'язування VWF до глікопротеїнів тромбоциту, що ініціюється ристоцетином. Ці методи включають: 1) час для видимої агрегації тромбоцитів під дією ристоцетину, вимивання нормальних тромбоцитів та делюцію плазми; 2) темп агрегації під час тромбоцитарної агрегометрії з використанням ристоцену, вимивання нормальних тромбоцитів та делюцією плазми; 3) автоматизовані турбідометричні тести, що визначають агрегацію тромбоцитів за допомогою тих самих реагентів; 4) тест ELISA, що визначає пряме зв'язування VWF з глікопротеїном при участі ристоцену; 5) зв'язування моноклонального антитіла з епітопом фракції A1 VWF. Метод 5 може виконуватися у форматі ELISA або LIA. Він не базується на зв'язуванні ристоцетином. Перші три тести використовують фрагменти мембрани тромбоцитів, що містять глікопротеїни, а не всю поверхню. Чутливість варіюється в залежності від лабораторії. Загалом методи 1 та 2, що вимірюють агрегацію тромбоцитів, дають результат приблизно до рівня 6-12 МО/дл. Метод 3 – 10-20 МО/дл. Метод 4 може виміряти VWF:RCo до менше ніж 1 МО/дл, а його варіація може виміряти підвищене зв'язування VWF до глікопротеїнів при типі 2В хвороби Віллебранда. Деякі автоматизовані методи менш чутливі та потребують модифікацій для визначення результатів менше 10 МО/дл. Кожна лабораторія визначає лінійність та обмеження своїх тестувань. Деякі з ELISAs використовують антитіла, направлені на епітоп VWF, але їх ефективність обговорюється, тому що тест не дозволяє виміряти активність найбільших мультимерів VWF. Ристоцетин-кофакторна активність не вимірює фізіологічну функцію. Коефіцієнт варіантності в лабораторних дослідженнях був вищий за 30%, але він ще вищий, коли ристоцетин-кофакторна активність менша за 12-14 МО/дл. Це важливо не тільки для первинної діагностики хвороби Віллебранда, але й для визначення типу 1 у протилежність типу 2. Не зважаючи на ці обмеження, це найбільш широко прийнятий метод вимірювання функції VWF. Згідно зі стандартами ВООЗ, результати виражаються в МО/дл.

Вимірювання FVIII. Це вимірювання кофакторної функції фактора згортання VIII у плазмі. У контексті хвороби Віллебранда активність FVIII визначає здатність VWF зв'язувати та підтримувати рівень FVIII у циркуляції. У США тест виконується на основі АЧТЧ, хоча деякі лабораторії проводять хромогенне випробування. Тест згортання з використанням автоматизованого або напіваавтоматизованого інструменту вимірює здатність FVIII скорочувати час згортання плазми, бідної на FVIII. Цей тест важливий в діагностиці гемофілії, тому він пройшов найбільш широку стандартизацію. Активність FVIII лабільна, особливо беручи до уваги низькі результати, якщо забір, перевезення або обробка зразка є субоптимальна. Результат вимірюється в МО/дл.

На рис. 5 зазначені очікувані лабораторні результати для підтипів хвороби Віллебранда, включаючи результати трьох первинних тестів та результати інших випробувань на класифікацію підтипів. Три первинних тести також використовуються для моніторингової терапії.

Інші тести для вимірювання фактора Віллебранда, діагностика хвороби Віллебранда та класифікація підтипів

Тест на мультимери VWF доступний у деяких великих центрах та комерційних лабораторіях, виконується після первинних тестів та визначає вихід за межі. Для цього використовується нерозморожена порція з одного зразка або зразок свіжої плазми для проведення всієї серії тестувань. Цей аналіз є кількісним та вимірює концентрації мультимерів різного розміру з використанням SDS-протеїну в процесі електрофорезу, після чого слідує визначення мультимерів у гелі за допомогою радіаційно-позначених поліклональних антитіл або комбінації моноклональних антитіл. Альтернативно протеїн переноситься на мембрану (згусток Вестерна), та мультимери ідентифікуються методом імуофлюоресенції та інших технік маркування.

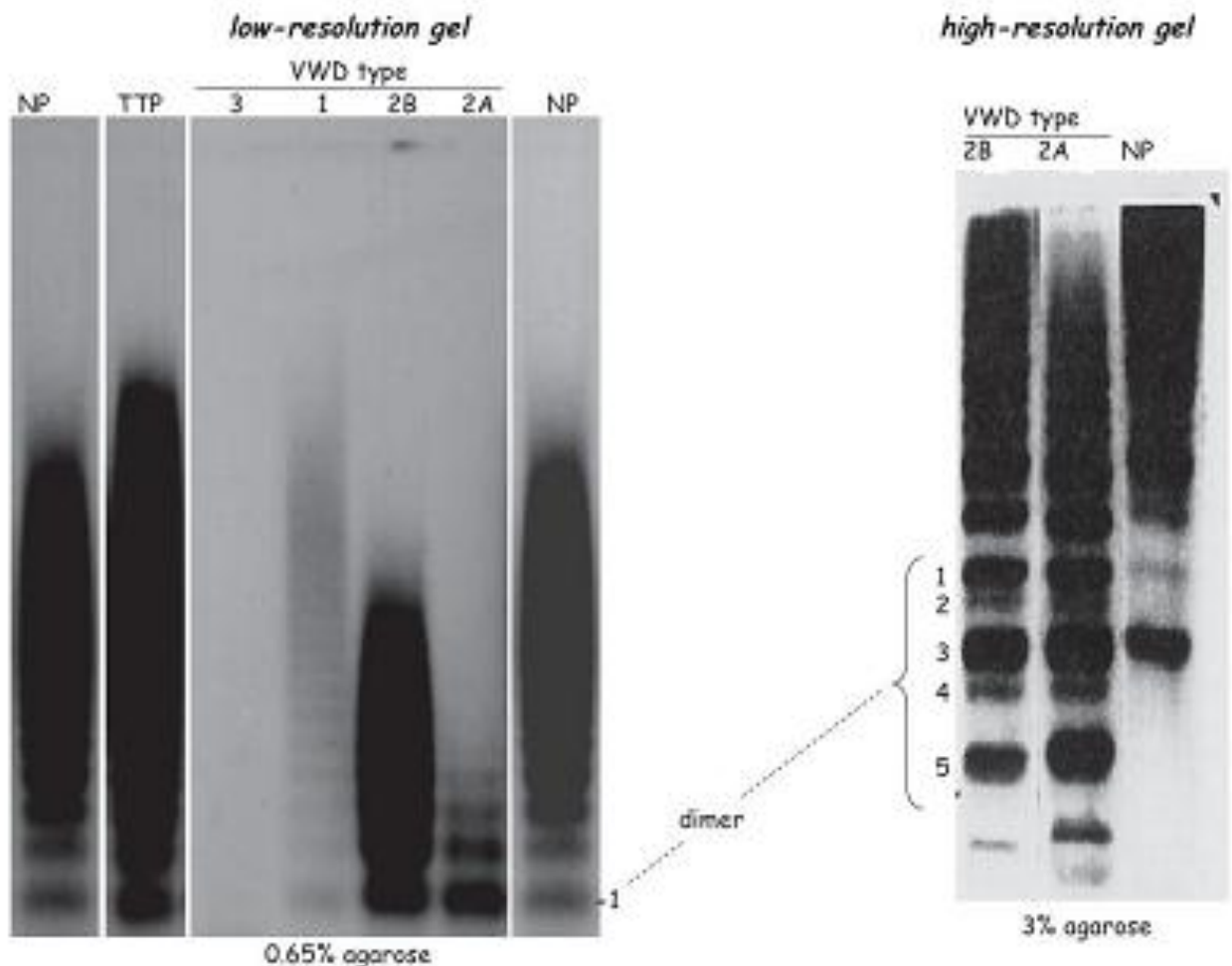
	Normal	Type 1	Type 2A	Type 2B	Type 2M	Type 2N	Type 3	PLT-VWD*
VWF:Ag	N	L, ↓ or ↓↓	↓ or L	↓ or L	↓ or L	N or L	absent	↓ or L
VWF:RCo	N	L, ↓ or ↓↓	↓↓ or ↓↓↓	↓↓	↓↓	N or L	absent	↓↓
FVIII	N	N or ↓	N or ↓	N or ↓	N or ↓	↓↓	1-9 IU/dL	N or L
RIPA	N	often N	↓	often N	↓	N	absent	often N
LD-RIPA	absent	absent	absent	↑↑↑	absent	absent	absent	↑↑↑
PFA-100® CT	N	N or ↑	↑	↑	↑	N	↑↑↑	↑
BT	N	N or ↑	↑	↑	↑	N	↑↑↑	↑
Platelet count	N	N	N	↓ or N	N	N	N	↓
VWF multimer pattern	N	N	abnormal	abnormal	N	N	absent	abnormal

Прим.: адаптовано з дозволу Р. Монтгомері
Символи та значення є прототипними. На практиці, пацієнти можуть мати інші результати.

Рис. 5 Очікувані лабораторні дані при хворобі Віллебранда

Мультимерні тести – це так звані тести «низької резолюції», що відрізняють найбільші мультимери від мультимерів, менших за розмірами, або «високої резолюції», які розрізняють смужки на різних за розмірами мультимерах. З метою діагностики в першу чергу використовуються гелі «низької резолюції» для розрізнення варіацій типу 2 від типів 1 та 3. Рис. 6 описує різницю між цими техніками з огляду на резолюцію низько- проти високомолекулярних мультимерів. Потрібно зауважити, що лише один вигляд мультимерів не визначає варіацію підтипу, та лише у типів 2А, 2В та при хворобі Віллебранда тромбоцитарного типу можна очікувати відносно анормальне розповсюдження одночасно з відносним дефіцитом найбільших мультимерів. Виключенням з цього правила можна назвати варіацію Віченца з ультра великими мультимерами VWF та низьким рівнем VWF.

Низькодозовий тест РІТА та тест на зв'язування тромбоцитів – це два тести, що використовуються в діагностиці типу 2В. РІТА може бути частиною рутинного тесту на агрегацію тромбоцитів. Цей тест виконується в багатій на тромбоцити плазмі з використанням низької концентрації ристоцетину (менше 0,6 мг/мл, хоча лоти ристоцетину відрізняються за концентрацією). Така низька концентрація ристоцетину не спричиняє зв'язування та агрегацію тромбоцитів у зразках, взятих у здорових людей, але це відбувається у пацієнтів з типом 2В або з мутаціями у рецепторі VWF на тромбоциті. Останній дефект називають псевдохворобою Віллебранда та за допомогою тесту на зв'язування тромбоцитів її можна відрізнити від типу 2В. При вищих концентраціях ристоцетину (1,1-1,3 мг/мл) РІТА використовується тільки у хворих з типом 3 хвороби Віллебранда. Проте, цей тест недостатньо чутливий для точної діагностики інших типів хвороби Віллебранда.



Розповсюдження мультимерів VWF може бути проаналізоване з використанням електрофорезу на SDS-агарі, за яким слідуватиме імунопозначення. Гелі з низькою резольуцією (0,65% агарози зліва) демонструють зміни у розповсюдженні великих мультимерів, тоді як гелі з високою резольуцією (2-3% агарози справа) може розділяти кожен мультимер на декілька стрічок. Наприклад, найнижча стрічка у 0,65% гелі (1) може бути проявлена у п'яти відрізках у середовищі 3% агарозного гелю. Проте, 3% гель не демонструє втрати високомолекулярних мультимерів як показано у гелі 0,65%. Лінії з крапочками показують резольуцію найменшого відрізка у декілька ще менших відрізків у 3% гелі. Нормальна плазма використовується як контрольний зразок. У плазмі з типом 1 хвороби Віллебранда наявні всі типи розмірів мультимерів, але їх концентрація зменшена. При типі 2А в плазмі відсутні найбільші мультимери та мультимери середнього розміру, тоді як у типі 2В відсутні лише найбільші мультимери. Мультимери не визначаються при типі 3 у плазмі. Пацієнти з ТТП можуть мати більші за нормальні мультимери, якщо їх спостерігати за допомогою гелів з низькою резольуцією.

Прим. Використано з дозволу R. Montgomery

Рис. 6 Аналіз мультимерів фактора Віллебранда

VWF:PB тест вимірює зв'язувальну активність VWF до нормальних параформальдегідно зв'язаних тромбоцитів з використанням низької концентрації ристоцетину (0,3-0,6 мг/мл). Кількість VWF зчепленого з тромбоцитами, визначається за допомогою міченого антитіла. У здорових індивідів або тих, хто має типи 1, 2A, 2M, 2N та 3 хвороби Віллебранда, спостерігається мінімальний або відсутній зв'язок з тромбоцитами при такій концентрації ристоцетину, але у пацієнтів з типом 2B результат є протилежним, що і спричиняє їх фенотип (втрата високомолекулярних мультимерів, знижена ристоцетин-кофакторна активність, тромбоцитопенія). При типі 2 та псевдохворобі Віллебранда спостерігаємо аглютинацію багатої на тромбоцити плазми до низькодозового ристоцетину, але тест VWF:PB допомагає відрізнити ці два типи захворювання. Хвороба Віллебранда у людей з типом 2 показує підвищені результати цього тесту, тоді як при псевдохворобі Віллебранда результати нормальні.

Тест зв'язування колагену (VWF:CB). Цей тест вимірює зв'язування VWF до колагену. Первинне місце зв'язування фібрилярного колагену – це домен A3 VWF. Як і ристоцетин-кофакторний тест, проба на зв'язування колагену залежить від розміру мультимерів VWF, так як найбільші мультимери більш активно зв'язуються. Чутливість VWF:CB до виявлення хвороби Віллебранда та розпізнання її підтипів значним чином залежить від джерела колагену, а також від того, чи використовується тип 1 колагену або суміш типів 1 та 3. Тільки у небагатьох пацієнтів спостерігалися дефекти, пов'язані з колагеном, які не залежали від розміру мультимерів, а також дефекти мутації VWF в домені A3. Поширеність цих дефектів невідома. Місце тесту VWF:CB в оцінці хвороби Віллебранда не встановлене. В принципі, пацієнти з дефектами зв'язування колагену можуть мати нормальну ристоцетин-кофакторну активність та не відповідати клінічному діагнозу, лише тест VWF:CB допоможе встановити наявність відхилення. Обмежені дослідження наводять на думку, що використання тестів VWF:CB, VWF:RCo та VWF:Ag в комплексі може покращити диференціацію між різними підтипами типу 2 та типом 1 хвороби Віллебранда.

Тест на зв'язування FVIII (VWF:FVIII) вимірює здатність VWF зв'язувати екзогенний FVIII та використовується при діагностиці типу 2N. Тест виконується методом прив'язки VWF на плато ELISA. При цьому усувається зв'язаний ендогенний FVIII і тоді додається деяка концентрація рекомбінантного FVIII. Кількість зв'язаного FVIII визначається хромогенним тестом. Його рівень співвідноситься з кількістю VWF. З клінічного досвіду відомо, що тип 2N є рецесивним; людина або гомозиготна, або складно-гетерозиготна (1 алель типу 2N, а друга типу 1 або 0). В обох випадках VWF при циркуляції не зв'язує FVIII нормальним чином, а концентрація останнього знижується.

Відношення VWF:RCo до VWF:Ag може допомогти при діагностиці типів 2A, 2B та 2M, та відрізнити їх від типу 1. Значення менше 0,6 або 0,7 є критерієм дисфункції VWF. З цією метою використовується відношення VWF:CB до VWF:Ag. При типі 2A цей показник низький; показник VWF:RCo до VWF:Ag низький або у межах норми. При типі 2M концентрація антигену VWF знижена або в нормі, але VWF:RCo до VWF:Ag менше 0,7. В одному дослідженні визначали відношення VWF:RCo до VWF:Ag у 600 пацієнтів з рівнем VWF менше 55 МО/дл та нормальним рівнем мультимерів. У дослідженні це відношення використовувалося для ідентифікації родин з типом 2, але у більшості центрів такої можливості немає. Також, тест VWF:RCo має коефіцієнт варіантності 30% та більше, в залежності від методології, тоді як коефіцієнт варіантності у VWF:Ag дещо нижчий. Висока варіантність VWF:RCo, особливо при низьких рівнях VWF робить відношення VWF:RCo до VWF:Ag ненадійним критерієм діагностики типу 2 (див. Рекомендації П.С.1.а., III.В.1). Важливо, що одна й та сама плазма може використовуватися у тестах VWF:RCo та VWF:Ag, та те, що нормальні межі відношення VWF:RCo до VWF:Ag та його чутливість до типів 2A та 2M визначаються у кожній лабораторії. Не проводилося великих мультицентрових досліджень, тож немає точного значення для цього відношення, але значення, менші за 0,5-0,7 повинні викликати сумніви щодо наявності типів 2A, 2B або 2M. Потрібно проводити додаткове тестування для підтвердження вищевказаного (наприклад, секвенування домену A1 гену VWF). Групи крові мають значний вплив на концентрацію VWF у плазмі. У людей з групою крові 0 концентрація факторів на 25% нижча, ніж при інших групах крові. Діагноз

типу 1 частіше встановлюється у людей з групою крові 0. Табл. 9 описує значний вплив групи крові на рівень VWF:Ag.

Таблиця 9. Вплив груп крові на VWF:Ag

Група крові	Кількість	Значення VWF:Ag (в О/дЛ)	Межі
0	456	74,8	35,6-157,0 (41-179)
A	340	105,9	48,0-223,9 (55-267)
B	196	116,9	56,8-241,0 (65-275)
AB	109	123,3	63,8-238,2 (73-271)

Джерело: Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, Marks WJ, Jr., Montgomery RR. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood* 1987 Jun;69(6):1691–1695.

У цій публікації VWF:Ag виражається в О/дЛ, але межі в МО/дл (ВООЗ) вищі для всіх груп крові, що вказується у дужках.

Не дивлячись на рекомендації стратифікації референтних меж для VWF:RCo та VWF:Ag з огляду на групи крові, існують доводи, що, незважаючи на різницю між групами крові, основною причиною виникнення кровотеч є низький рівень VWF. Тому тестування саме стосовно VWF, а не визначення відповідно до груп крові більш релевантне клінічно.

Вивчення VWF тромбоцитів проводиться в деяких лабораторіях, включаючи VWF:RCo, VWF:Ag та мультимери, методом екстракції VWF з випорожнених тромбоцитів. Проте ці методи та їх інтерпретації не є стандартизованими.

Секвенування ДНК використовувалося для молекулярного діагностування підтипів типу 2, але цей метод не є розповсюдженим. Більшість мутацій при типі 2В, 2М та 2N знаходяться на с-ДНК, що направляє синтез специфічних ділянок VWF (див. Рис. 2). У звичайних формах типу 2А хвороби Віллебранда, при яких VWF спонтанно розкладається під впливом ADAMTS13, мутації зосереджуються в домені А2. У менш частих варіаціях типу 2А, коли мультимерна формація інгібується, мутації можуть бути розкиданими по всьому гену. У більшості людей з типом 1 хвороби Віллебранда генетичні мутації точно не встановлені, хоча на сьогоднішній день було проведено декілька досліджень з метою їх опису.

Тести на визначення антитіл до фактора Віллебранда

На сьогоднішній день не існує чіткої стандартизації тестів на визначення антитіл до VWF, так само як антитіл до FVIII у пацієнтів з гемофілією А. Деякі пацієнти з набутим синдромом Віллебранда проявляють ці антитіла, що призводить до зниження періоду півжиття замісного VWF. Деякі антитіла інгібують функцію VWF, що може бути доведено у порівняльних дослідженнях з нормальною плазмою з використанням тесту VWF:RCo, але більшість антитіл не є інгібіторами. Тим не менш, наявність цих антитіл сприяє швидкому кліренсу VWF. Рівень пропептида VWF у плазмі знаходиться у прямій пропорції до рівня VWF:Ag, а рівень пропептиду вимірюється при визначенні швидкості кліренсу VWF. Пришвидшений кліренс VWF:Ag, як у деяких пацієнтів з набутим синдромом Віллебранда, з типом 1 або 3, або у тих, у кого розвиваються аллоантитіла, відбувається паралельно з підвищенням відношення пропептиду VWF до VWF:Ag. У пацієнтів з типом 3 зі значними делеціями гену VWF існує більша вірогідність розвитку аллоантитіл до замісного концентрату. Тестування на залишковий рівень VWF після введення десмопресину або концентрату фактора може проводитися у пацієнтів з набутим синдромом Віллебранда з антитілами до VWF, або з мутаціями, що впливають на кліренс VWF.

Постановка діагнозу хвороби Віллебранда

Скорингові системи та критерії оцінювання, історії кровотеч та вірогідності наявності хвороби Віллебранда, особливо 1 типу, еволюціонують, проте вони не стали предметом проспективних досліджень у визначених популяціях. Визначення діагнозу хвороби Віллебранда у людей з типом 2 та 3 є прямим, оснований на первинних тестах. Лікування залежить від специфічного підтипу, який визначається додатковими тестами, що включають мультимерний аналіз. Навпаки, діагноз типу 1 часто більш складно встановити, частково тому що не всі люди зі зниженим рівнем VWF мають молекулярний дефект гена. Наразі

обговорюється, чи пацієнти без аномалій гена VWF отримуватимуть діагноз хвороби Віллебранда або інший діагноз. Причини зниженого рівня VWF у багатьох з цих людей, що не мають дефектів у секвенції гена, не зрозумілі. Низький рівень VWF підвищує ризик кровотечі і, не дивлячись на здоровий ген, тому пацієнти з клінічною кровотечею отримують лікування з метою підвищення цього рівня. Більшість клініцистів погоджуються з тим, що пацієнти з рівнем VWF, нижчим за 30 МО/дл, можливо, страждають на це захворювання. Можливо, більшість з них мають мутацію у гені. На сьогоднішній день декілька великих центрів у Європі, Канаді та США намагаються визначити цю величину. Люди з рівнем VWF у плазмі, нижчим за лабораторні стандартні межі, але вищі за 30 МО/дл можуть мати хворобу Віллебранда та характеризуються як «можливий тип 1» або «низький VWF». Офіційно прийнятого визначення не існує. Хоча тип 3 хвороби Віллебранда є зазвичай результатом успадкування двох «нульових» алелей, гетерозиготні носії в цих родинах загалом не мають значних кровотеч в анамнезі; так тип 3 можна назвати рецесивним розладом.

Специфічні питання з огляду на лабораторну діагностику хвороби Віллебранда

Іноді необхідне повторне тестування на хворобу Віллебранда для визначення VWF. Стрес, включаючи операцію, фізичні вправи, занепокоєність, плач занепокоєної дитини, а також системне запалення, вагітність, прийом естрогену та пероральних контрацептивів може спричинити підвищення в плазмі рівня VWF та приховати нижню межу значень. Рівні VWF змінюються з менструальним циклом та є найнижчим у перші 4 дні. Важливість тестування в момент менструального циклу не визначена. Спостереження за родиною може допомогти в діагностиці спадкового зниження рівня VWF.

Проблеми, що виникають в підготовці зразків для тестування. Як зазначено, стрес може хибно підвищити VWF та FVIII, тому під час флеботомії потрібно забезпечити максимальний спокій. Важливо отримати зразок атравматичним методом забору крові, що буде змішаний з необхідною кількістю цитрату антикоагулянту. Коледж американських патологів (CAP), так само як Інститут клінічних лабораторних стандартів (CLSI), рекомендують забирати кров у 3,2% розчин цитрату, хоча деякі лабораторії використовують цитрат 3,8%. Неліпемічні зразки, взяті натще, повинні використовуватися для тестування, тоді як іктеричні та гемолізні зразки можуть знизити якість результатів тесту. При заборі крові у пацієнта з поліцитемією або важкою анемією кількість антикоагулянта потрібно дозувати на основі номограм. Кров потрібно центрифугувати вчасно, щоб отримати плазму, яка повинна зберігатися при кімнатній температурі, якщо тестування будуть виконані протягом двох годин. Цільна кров не повинна транспортуватися на мокрому льоду. Якщо зразки плазми заморожені, їм потрібно відтавати при температурі 37°C для запобігання формування кріопреципиту. Проби плазми потрібно виконувати з бідною на тромбоцити або вільною від них плазмою. Хоча невелика кількість тромбоцитів не вплине значним чином на дослідження свіжої плазми, замороження зразків може призвести до вивільнення протеаз або мембранних часток тромбоциту, що вплине на результат тесту. Так, плазму потрібно центрифугувати обережно. Деякі лабораторії виконують подвійне центрифугування з метою очищення від тромбоцитів. Цілісність зразків може постраждати від перевезення до зовнішньої лабораторії, тож потрібно прийняти міри для безпечної доставки заморожених зразків (див. Табл. 10).

Референтний стандарт надзвичайно важливий для лабораторної діагностики хвороби Віллебранда. Якщо можливо, всі лабораторні тести на VWF повинні проводитися за одним стандартом, щоб уникнути розходжень. Результати тестів повинні надаватися у МО тільки, якщо вони посилалися на стандарт ВООЗ. Якщо використовується референтний пул плазми, він звітується у % від норми, а не в МО. Для порівняння МО зазвичай виражаються як МО/дл таким чином, що звітовані цифри мають таке саме значення, як % від нормальної плазми.

Таблиця 10. Збір та обробка зразків плазми для лабораторного тестування

Умови флеботомії – атравматичний забір крові обмежує експозицію тканинного фактору на місці забору та активацію факторів згортання, тим самим мінімізуючи хибно низькі або високі

значення.

Рівень стресу пацієнта – стрес, такий як плач у дітей або занепокоєність у дорослих, може хибно підвищити рівні FVIII та VWF. Такий самий ефект матиме фізичне навантаження.

Додаткові умови – присутність гострого або хронічного запального процесу може підвищити рівні FVIII та VWF, так само як вагітність або прийом естрогену та пероральних контрацептивів.

Використання зразка – з метою запобігання кріопреципітації VWF та інших протеїнів зразки крові для тестування потрібно перевозити при кімнатній температурі. Потрібно оперативно відділити плазму від клітин крові при кімнатній температурі, а плазму центрифугувати, щоб виділити тромбоцити. Якщо зразки плазми пройдуть тестування протягом 2 годин, їх потрібно зберігати при кімнатній температурі. Заморожені зразки відтаватимуть при температурі 37°C та зберігатимуться при кімнатній температурі до 2 годин.

Зберігання зразка – зберігання та перевезення до референтної лабораторії потребує замороження при -40°C або нижче та зберігання такого стану. Контрольний зразок, що береться, обробляється, зберігається та перевозиться у таких самих умовах, як зразок для тестування, стане у пригоді при виявленні проблем в обробці важливих тестових зразків.

Лабораторні розбіжності. Коефіцієнт варіантності тесту VWF:RCo досить великий (20-30% і вище), а коефіцієнт варіантності VWF:Ag лише трохи поступається (10-20% і вище). Те саме вірно для тесту на FVIII. Коефіцієнт варіантності між лабораторіями є досить високим і якість тестування також відрізняється. Важкість тестування хвороби Віллебранда або її підтипів ускладнюється вищесказаним, а також умовами забору крові та якістю зразка. Деякі більш спеціалізовані тести, такі як аналіз мультимерів, також мають високу варіантність при виконанні тесту та його інтерпретації, та часто недоступні у місцевих лабораторіях.

Зміст лабораторної діагностики хвороби Віллебранда

Діагноз хвороби Віллебранда може бути складним, та не існує єдиного діагностичного підходу для всіх пацієнтів. Покращення якості лабораторного тестування, а також подальше вивчення частоти мутацій гену VWF, альтерацій інших протеїнів, що знижують рівень VWF, кореляція клінічних симптомів з лабораторними тестами є необхідними для постановки діагнозу хвороби Віллебранда більш чітко (див. Табл. 10)

Наступні рекомендації включають індивідуальний клінічний анамнез, фізичне обстеження, лабораторні тести та критерії діагностики, які ця Група вважає найбільш важливими для точної постановки діагнозу хвороби Віллебранда.

- Тести на час кровотечі, PFA-100® та інші автоматизовані проби тромбоцитів потрібно використовувати, хоча існує спірна думка щодо їх чутливості та специфічності у визначенні хвороби Віллебранда. Тому Група вважає, що їх рутинне використання в якості скринінгових тестів на хворобу Віллебранда не має достатньої доказової бази.
- Група вважає, що тести, основані на тромбоцитах, повинні використовуватися у ристоцетин-кофакторному методі.
- Група наголошує на важливості правильного часу проведення флеботомії з урахуванням оптимальної бази пацієнта (наприклад, рівень VWF може бути підвищений відносно оптимуму у 2 та 3 триместри вагітності або під час прийому естрогену, в період гострого запалення, наприклад, періопераційний період, інфекції та гострого стресу). Обережне зберігання та використання зразка також критичне, особливо якщо зразок передаватиметься на тестування до іншої лабораторії.

Діагностичні рекомендації

Ці рекомендації отримали градацію згідно з критеріями, вказаними у табл.1. Таблиці доказовості надаються для рекомендацій зі ступеня B, що мають 2 та більше посилань.

1. Оцінка симптомів кровотечі та ризику кровотечі по анамнезу та фізикальному огляду
Викладено у Рис. 3 та Блоці 1.

А. задайте наступні широкі питання:

1. Чи мали Ви або ваш кровний родич потребу у медичному втручанні для вирішення проблеми кровотечі, чи казали Вам, що Ви маєте проблему кровотечі? *Ступінь В, рівень ІІв.*

Якщо відповідь «так», задайте додаткові питання:

а) чи потребували Ви медичної уваги при кровотечі після операції, стоматологічної процедури, при травмі?

б) чи мали Ви синці, ускладнені пухлинами? *Ступінь В, рівень ІІв.*

2. Чи маєте або мали Ви:

а) хворобу печінки або нирок;

б) розлад крові або кісткового мозку;

в) високий чи низький рівень тромбоцитів?

Якщо відповідь «так» на будь-яке з цих питань, отримайте релевантні подробиці. *Ступінь С, рівень ІV.*

3. Чи приймаєте Ви наразі або приймали нещодавно антикоагулянтні або антитромбоцитарні лікарські засоби (варфарин, гепарин, АСК, НПЗП, клопідогрель)? Якщо відповідь «так» на будь-яке з цих питань, отримайте релевантні подробиці. *Ступінь С, рівень ІV.*

В. Якщо відповіді на питання І.А.1 позитивні, запитайте у пацієнта, чи мали його кровні родичі:

1. Розлад гемостазу, такий як хвороба Віллебранда або гемофілія?

2. Продовжену кровотечу, важку або рецидивуючу від:

а) невеликих поранень, що тривала більше 15 хвилин або повторювалася впродовж 7 днів після поранення?

б) від хірургічних процедур, таких як тонзелектомія?

3. Появу синців від мінімальної незначної травми, особливо появу пухлини?

4. Спонтанні носові кровотечі, що вимагали більше 10 хвилин для зупинення, а також медичне втручання.

5. Видалення зуба, що призвело до тяжкої, затяжної, рецидивуючої кровотечі?

6. Кров у ступі, що не можливо пояснити анатомічними ушкодженнями (виразка шлунку, полип у прямій кишці), що вимагала б медичної допомоги?

7. Анемія, що вимагала б лікування та переливання крові?

8. Для жінок – тяжкі менструації, що відзначаються присутністю згустків більших за дюйм у діаметрі та зміною засобів гігієни частіше, ніж раз на годину, що призводить до низького рівня заліза та анемії.

Якщо відповіді на питання І.В.1-8 позитивні, отримайте більш детальну інформацію. *Ступінь В, рівень ІІв. Таблиця доказовості 1.*

С. Проведіть фізикальний огляд, оцінюючи наступне:

1. Докази наявності розладу гемостазу, включаючи розмір, локалізацію та розповсюдження носових кровотеч, гематом, петехій та інших слідів недавньої кровотечі або анемії. *Ступінь С, рівень ІV.*

2. Докази, що передбачають інші причини або ризики підвищеної кровоточивості, такі як жовтуха або зіркова ангіома (хвороба печінки, спленомегалія, артропатія, слабкість суглобів та шкіри (синдром Елерса-Данлоса), телеангіектазія або докази анатомічних ушкоджень при гінекологічному огляді. *Ступінь С, рівень ІV.*

Лабораторне тестування повинно проводитися з огляду на анамнез та фізикальний огляд пацієнта (Секція І) та первинним лабораторним аналізом (Секція ІА, див. нижче). Наприклад, якщо діагностовано захворювання печінки, це може викликати необхідність інших або додаткових лабораторних аналізів замість тестування на хворобу Віллебранда (див. ІІВ нижче).

ІІ. Оцінка лабораторним тестуванням

А. Первинне лабораторне оцінювання з метою визначення етіології розладу гемостазу повинне включати:

1. Повний аналіз крові, включаючи кількість тромбоцитів, протромбінів час, АЧТЧ, вибірково тромбіновий час або рівень фібриногену.

2. Якщо наявні аномальні показники окрім АЧТЧ (кількість тромбоцитів може бути зменшена у типі 2), з огляду на анамнез та фізикальний огляд потрібно розглянути можливість інших розладів гемостазу та додаткові фонові хвороби.

3. Якщо в анамнезі є записи кровотеч зі слизових оболонок, потрібно провести первинні тести на хворобу Віллебранда при першому ж візиті (ІВ).

4. Якщо при первинному аналізі крові не виявлено відхилень крові або спостерігається ізольований продовжений АЧТТ, що можна скорегувати при перехресному аналізі, потрібно провести наступні три тести на хворобу Віллебранда. Ці дії не потрібні, якщо причину кровотечі встановили і це не хвороба Віллебранда (див. Рис. 4).

Для подальшої лабораторної оцінки терапевти можуть звернутися до центру гемостазу, тому що зразки вимагатимуть особливого тестування та використання. *Ступінь С, рівень ІV.*

В. Початкові тести на діагностику або виключення хвороби Віллебранда включають наступні три аналізи:

1. VWF:RCo

2. VWF:Ag

3. Активність FVIII. *Ступінь В, рівень ІІІ. Таблиця доказовості ІІ.*

С. Якщо результати одного з вище вказаних тестів низькі, обговорення з або без експерта з гемостазу буде доречним. На додаток до повторення трьох первинних тестів, спеціаліст може порекомендувати наступне:

1. Перший сет додаткових тестів може включати:

а) оцінка відношення активності VWF до антигена VWF (у відповідних лабораторіях). *Ступінь В, рівень ІІІ. Таблиця доказовості 3.*

б) тест мультимерів VWF. *Ступінь В, рівень ІІІ.*

в) ристоцетин-індукована агрегація тромбоцитів. *Ступінь В, рівень ІІІ.*

г) колаген-зв'язувальна активність VWF. *Ступінь В, рівень ІІв. Таблиця доказовості ІV.*

2. Дослідження у вибраних пацієнтів, особливо тих, у кого надто низький рівень активності FVIII порівняно з VWF і хто має підозру на тип 2N VWD, повинні включати тест на зв'язування FVIII. *Ступінь В, рівень ІІв. Таблиця доказовості V.*

3. Додаткові дослідження у вибраних пацієнтів можуть включати:

а) секвенування гену. *Ступінь С, рівень ІV.*

б) тести на антитіла до VWF. *Ступінь С, рівень ІV.*

в) дослідження зв'язування тромбоцитів. *Ступінь В, рівень ІІІ.*

ІІІ. Постановка діагнозу

А. Клінічні критерії. Ці критерії включають персональний анамнез та/або історію родини, а також фізичний доказ кровотеч зі слизових оболонок. До подальшої валідації скорингових систем та критеріїв оцінки анамнезу кровотеч, вірогідності хвороби Віллебранда, особливо типу 1, Експертна Група наполягає на тому, що більшість позитивних відповідей на питання про кровотечі та результати поза нормою по огляді підвищують вірогідність того, що у пацієнта наявний розлад гемостазу, включаючи хворобу Віллебранда.

ТА

В. Лабораторні критерії. Значення у наступній таблиці представляють собою прототипи, які не враховують додаткові аномалії VWF у пацієнта. На практиці є виключення, тож повторне тестування та клінічний досвід важливі та необхідні для інтерпретації лабораторних результатів.

1. Незважаючи на те, що опубліковані дані на тему визначення відношення VWF:RCo до VWF:Ag з метою розпізнання типу 1 та різновидностей типу 2 хвороби Віллебранда обмежені, Експертна група рекомендує значення менше 0,5-0,7, поки більшість лабораторій не зможуть ясно визначити референтні межі з використанням даних від здорових людей та хворих на тип 1 та тип 2 хвороби Віллебранда. *Ступінь С, рівень ІV.*

2. Група рекомендує рівень 30 МО/дл як межу, нижче якої можна поставити діагноз хвороби Віллебранда з наступних причин:

- У США спостерігається велика кількість груп крові 0 в асоціації з низьким рівнем VWF
- Симптоми кровотеч проявляються у значної частини «нормальних» людей та

• У гені VWF не було знайдено відхилень у багатьох з пацієнтів з легко або середньо низьким рівнем VWF:RCo. *Ступінь С, рівень IV.*

Ця рекомендація не виключає діагноз хвороби Віллебранда у людей з рівнем VWF:RCo 30-50 МО/дл, якщо є свідчення про випадки захворювання у родині. Ця рекомендація не виключає використання засобів підвищення рівня VWF у людей з рівнем VWF:RCo 30-50 МО/дл, що знаходяться в зоні ризику кровотечі.

Стан	VWF:RCo (МО/дл)	VWF:Ag (МО/дл)	FVIII	Співвідношення VWF:RCo/VWF:Ag
Тип 1	<30*	<30*	↓ або нормальний	>0,5-0,7
Тип 2А	<30*	<30-200*†	↓ або нормальний	<0,5-0,7
Тип 2В	<30*	<30-200*†	↓ або нормальний	Зазвичай <0,5-0,7
Тип 2М	<30*	<30-200*†	↓ або нормальний	<0,5-0,7
Тип 2N	30-200	30-200	↓↓	>0,5-0,7
Тип 3	<3	<3	↓↓↓ (<10 МО/дл)	Не застосовується
“Низький VWF”	30-50	30-50	Нормальний	>0,5-0,7
Нормальний	50-200	50-200	Нормальний	>0,5-0,7

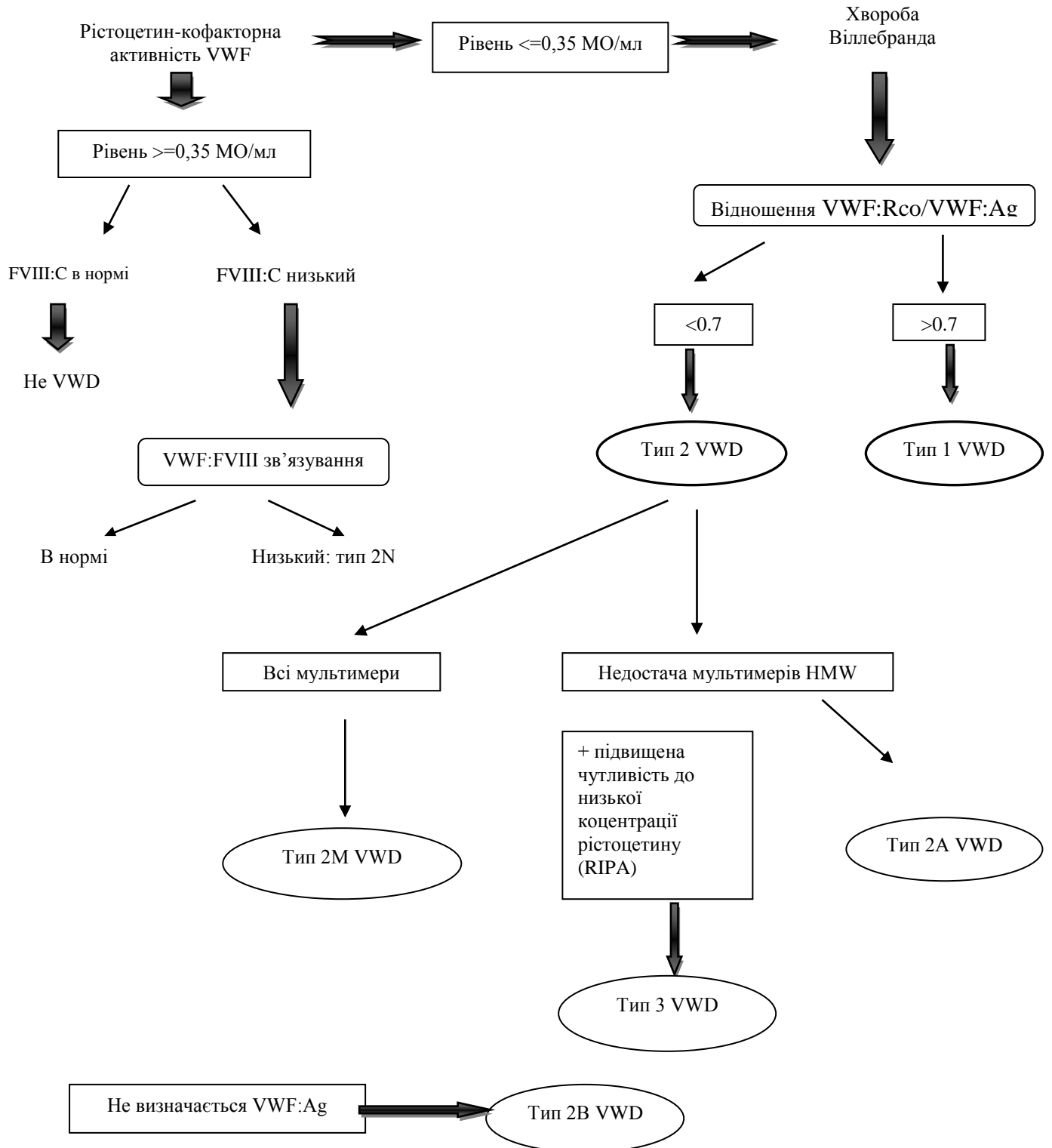
↓ – зниження у результатах тесту порівняно з референтними межами лабораторії

* <30 МО/дл описується як рівень остаточного діагнозу хвороби Віллебранда. Існують деякі пацієнти з типом 1 або 2 хвороби Віллебранда, з рівнем VWF:RCo або VWF:Ag 30-50 МО/дл

† VWF:Ag у більшості пацієнтів з типом 2А, 2В та 2N < 50 МО/дл

NORDIC GUIDELINES FOR DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF VON WILLEBRAND DISEASE (2008)

Рис. 1. Алгоритм діагностування при підозрі на хворобу Віллебранда



ЛІКУВАННЯ ХВОРОБИ ВІЛЛЕБРАНДА

Вступ

Існує три основні стратегії запобігання та контролю кровотеч у людей з хворобою Віллебранда. Перша стратегія – підвищити концентрацію VWF у плазмі, вивільняючи запаси ендogenous VWF через стимуляцію ендотеліальних клітин десмопресином. Другий підхід – заміщення VWF з використанням людського плазматичного вірусінактивованого концентрату. Третя стратегія – використовувати агенти, що сприяють гемостазу та загоєнню ран, але не змінюють значним чином концентрацію VWF у плазмі. Ці три опції лікування не виключають одна одну, та пацієнти можуть отримувати лікування одним або трьома методами одночасно. Доречність терапевтичного вибору залежить від типу та ступеня важкості хвороби Віллебранда, ступеня важкості порушень гемостатичної системи та природи наявної або потенційної кровотечі. Так як деякі пацієнти з VWF:RCo більше 30 МО/дл мають клінічні прояви кровотеч, пацієнти без остаточного діагнозу хвороби Віллебранда, але з низьким рівнем VWF та фенотипом кровотеч, заслуговують на профілактичне лікування у деяких ситуаціях. Інфузії VWF з метою попередження епізодів кровотеч, так звана профілактика, не настільки часті у пацієнтів з важкою формою хвороби Віллебранда, як у хворих на важку форму гемофілії. Сайт CDC (<http://www2f/cdc.gov/ncbddd/htcweb>) звітує про те, що 45% пацієнтів з важкою формою гемофілії А знаходяться на профілактиці, постійно або час від часу, порівняно з 10% пацієнтів з важкою формою хвороби Віллебранда. Потрібно зважити ризики та переваги профілактики при призначенні довгострокової терапії. Лікування хвороби Віллебранда у США є досить різноманітним та часто базується на місцевому досвіді та методі, якому віддає перевагу лікар. Існує кілька стандартів рекомендацій щодо проведення терапії. Ця настанова представляє собою рекомендації стосовно лікування та попередження кровотеч у людей з хворобою Віллебранда та переглядає силу доказів, що підтримують ці рекомендації.

Терапія підвищення фактора Віллебранда: незамісна терапія

Десмопресин

Механізм дії десмопресину

Десмопресин – це синтетичний дериват антидіуретичного гормону, вазопресину. Він використовувався у лікуванні хвороби Віллебранда протягом 25-ти років та його фармакологія, механізм та його показання широко відомі. Десмопресин стимулює вивільнення VWF з клітин ендотелію через його агоністичний вплив на рецептори V2 вазопресину. Механізм, за яким десмопресин підвищує концентрацію VWF у плазмі – через циклічне АМР-медитоване вивільнення фактора з тілець Вебеля-Паладе ендотеліальних клітин. Після введення десмопресину також різко зростає рівень FVIII, хоча зберігання FVIII та його вивільнення під дією десмопресину досі не зовсім зрозумілі. Десмопресин індукує вивільнення активатора тканинного плазміногену (tPA). Виділений tPA швидко інактивується відповідним інгібітором PAI-1 та не прискорює фібриноліз або кровотечу після лікування десмопресином.

Дозування та введення десмопресину. У Табл. 11 зібрані опубліковані звіти про вплив десмопресину на лабораторні аналізи VWF та FVIII у здорових та хворих людей. Коли десмопресин вводиться внутрішньовенно здоровим людям, а також пацієнтам з хворобою Віллебранда та легкою формою гемофілії, він підвищує рівень факторів від 2 до 5 разів відносно базової межі. У дітей до 2-х років відповідь значно нижча, ніж у старших дітей. Два контрольованих проспективних досліджень у здорових волонтерів є основою рекомендацій дозування десмопресину. Максимальна відповідь FVIII фіксувалася при 0,3мкг/кг в обох дослідженнях, а максимальний VWF спостерігався при 0,2 та 0,3 мкг/кг відповідно. Бауючись на цих даних стандартна доза десмопресину становить 30 мкг/кг внутрішньовенно у 30-50 мл натрієвого розчину протягом 30 хвилин. Пік FVIII та VWF приходиться на 30 та 90 хв. після введення. Назальне введення високодозного ацетату десмопресину вважається ефективним при незначних кровотечах, внутрішньовенне введення

підходить для профілактики кровотеч під час операцій, а також зупинення значних геморагій.

Таблиця 11. Вплив внутрішньовенного введення десмопресину на концентрацію FVIII та VWF у плазмі у здорових людей та людей з хворобою Віллебранда

Група/посилання	N	Середнє зростання (разів)*			Тип доказів
		VWF:RCo	VWF:Ag	FVIII	
Норма					
Mannucci та ін. 1981 ²²⁷	10	Н/д	3.3	4.5	Серія випадків
Lethagen та ін. 1987 ²²⁵	10	Н/д	2.7	3.7	Серія випадків
Хвороба Віллебранда					
Тип 1					
Mannucci та ін. 1981 ²²⁷	15	Н/д	3.6	5.5	Серія випадків
de la Fuente та ін. 1985 ²²³	13	5.0	4.5	5.7	Серія випадків
Mannucci та ін. 1988 ⁹²	7	9.5	9.0	10.3	Серія випадків
Rodeghiero та ін. 1989 ²³¹	14	Н/д	Н/д	7.8	Серія випадків
Mannucci та ін. 1992 ²²⁶	15	5.1	4.8	4.3	Серія випадків
Revel-Vilk та ін. 2003 ²³⁰ показник відповіді 91% †	56				Ретроспективний огляд
Federici та ін. 2004 ²²⁴ показник відповіді 27% †	26	3.1	Н/д	3.3	Серія випадків
Тип 1 Віченца (надзвичайно великі мультимери)					
Mannucci та ін. 1985 ⁹⁹	6	Н/д	Н/д	Н/д	Серія випадків
Rodeghiero та ін. 1988 ²³²	14	Н/д	Н/д	7.8	Серія випадків
Тип 1, Важкий					
(VWF:RCo <10 IU/dL або Час кровотечі >15 хв. або FVIII <20 IU/dL)					
Revel-Vilk та ін. 2003 ²³⁰ 36% response rate †	14	Н/д	Н/д	Н/д	Ретроспективний огляд
Federici та ін. 2004 ²²⁴ показник відповіді 27% †	26	3.1	Н/д	1.4	Серія випадків
Тип 1, Важкий з нормальним рівнем тромбоцитів VWF					
Rodeghiero та ін. 1988 ²³²	14	Н/д	Н/д	7.8	Серія випадків
Mannucci та ін. 1985 ⁹⁹ 6/6 зі зростанням FVIII, VWF:RCo і VWF:Ag	6	Н/д	Н/д	Н/д	Серія випадків
Тип 1, “Низький рівень тромбоцитів ”					
Mannucci та ін. 1985 ⁹⁹ 7/7 зі зростанням FVIII; 0/7 зі зростанням VWF:RCo або VWF:Ag	7	Н/д	Н/д	Н/д	Серія випадків
Rodeghiero та ін. 1989 ²³¹ 2/2 зі зростанням FVIII; VWF показник відповіді невідомий	2	Н/д	Н/д	2.1	Серія випадків
Тип 2А					
de la Fuente та ін. 1985 ²²³ показник відповіді 86% †	7	6.4	4.9	4.9	Серія випадків
Revel-Vilk та ін. 2003 ²³⁰ показник відповіді 40%, результати	5	4.2	Н/д	2.9	Ретроспективний огляд

Група/посилання		Середнє зростання (разів)*			Тип доказів
наведені лише для респондентів					
Federici та ін. 2004 ²²⁴ показник відповіді 7% †	15	2.6	Н/д	3.4	Серія випадків
Тип 2В					
Casonato та ін. 1990 ⁶⁴	4	2.3	3.5	3.0	Серія випадків
McKeown та ін. 1996 ²²⁹	3	3.2	3.2	3.6	Серія випадків
Castaman and Rodeghiero 1996 ²²²	33	Нормалізований у 18/33	Нормалізований у 33/33	Нормалізований у 33/33	
Тип 2М					
Federici та ін. 2004 ²²⁴ показник відповіді 14% †	21	3.3	Н/д	3.0	Серія випадків
Тип 2N					
Mazurier та ін. 1994 ²²⁸	8	1.4	2.2	9.7	Серія випадків
Federici та ін. 2004 ²²⁴ показник відповіді 75% †	4	3.8	Н/д	6.6	Серія випадків
Тип 3					
Castaman та ін. 1995 ²²¹ показник відповіді 0% †	6	1.8	8.6	2.5	Серія випадків

Ретроспективний огляд лікування десмопресином 56 дітей з неважким типом 1 хвороби Віллебранда показав 91% позитивних відповідей: підвищення активності FVIII та VWF вдвічі, щонайменше до 30 МО/дл. У невеликої кількості пацієнтів консистенція FVIII підвищується, а час кровотечі скорочується після другої дози десмопресину до 10-20% від початкового рівня. Досвід показує, що відповідь на DDAVP з часом знижується, можливо через скінчення запасів VWF у клітинах. Так, при введенні десмопресину чотири рази на день 15 пацієнтам з типом 1, після першого введення активність FVIII зростає вдвічі у 100% пацієнтів, після другого – у 80%, після третього – у 87%, та після четвертого – у 74%.

Сталість відповіді на десмопресин вивчалася при введенні препарату протягом 24 годин від 3 до 4 разів. У 15 пацієнтів з типом 1 хвороби Віллебранда було зафіксоване середнє підвищення VWF:RCo у 5 разів порівняно зі звичайним після першого введення, але відповідь була менш значною (у 4 рази) після другого введення. Після третього та четвертого введення значних змін не спостерігалось. Пропорція пацієнтів з хворобою Віллебранда, що досягли підвищення активності FVIII хоча б у 2 рази, була значно вища, ніж у пацієнтів з гемофілією: 80% проти 55% після другого введення, та 74% проти 37% після 4-го введення. Немає опублікованих даних, щодо відповіді на DDAVP, який вводиться кожні 12 годин у порівнянні зі щоденним введенням. На додачу до тахіфілаксії, гіпонатріємія може ускладнити повторне введення десмопресину, тому потрібно стежити за об'ємом рідини та натрієм сироватки.

DDAVP також можна вводити підшкірно або назально. Ефективна підшкірна доза ідентична внутрішньовенній, але такий препарат недоступний в США. DDAVP для назального введення містить 150 мкг на один вдих (0,1 мл з 1,5 мг/мл). Доза для людей з вагою менше 50 кг складає один вдих, для людей з вагою більше 50 кг – 2 вдихи. Хоча коефіцієнт варіації ефективності назального спрею хороший, назальна абсорбція варіюється, тому всі пацієнти з хворобою Віллебранда, які мають реакцію на внутрішньовенний десмопресин, повинні пройти випробування Stimite® для визначення відповіді FVIII та VWF перед використанням. При носовій кровотечі Stimite® потрібно вприскувати у некровоточиву ніздрю. Люди з неадекватною відповіддю на внутрішньовенний десмопресин не реагуватимуть на Stimite®.

Існує також назальна форма DDAVP (для енурезу), що містить 10 мкг на вдих (7% концентрації Stimite®); але вона не підходить для лікування хвороби Віллебранда. Пацієнти та батьки повинні отримати точну інструкцію по використанню обох концентратів

назального десмопресину – одного для кровотеч (1,5 мг/мл), другого – в якості антидіуретичного замісного гормону для лікування енурезу (0,1 мг/мл) для уникнення випадкового недодозування при хворобі Віллебранда.

Коментар робочої групи:

Stimate® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – десмопресин.

Моніторинг пацієнтів, що отримують десмопресин. Лікування пацієнтів з хворобою Віллебранда десмопресином повинне базуватися на результатах терапевтичного дослідження, в ідеалі проведеного у відсутності кровотечі та перед клінічним застосуванням препарату.

Хоча чутливість до DDAVP є загалом однаковою при різних підтипах, результати стосовно населення не повинні використовуватися при плануванні індивідуального лікування пацієнтів (Табл. 11). Активність VWF:RCo та FVIII потрібно виміряти на початку та через 1 годину після введення десмопресину. Через 2-4 години потрібно провести додатковий тест, особливо у пацієнтів з низькою відповіддю на лікування в анамнезі.

Згідно з консервативними визначеннями лабораторної відповіді, більшість пацієнтів з типом 1 мають адекватну реакцію на десмопресин (Табл. 11). Одиначні інфузії препарату при звичайних кровотечах, таких як носова кровотеча, менорагія, видалення зуба не вимагають лабораторного моніторингу.

Навпаки, моніторинг активності VWF:RCo та FVIII необхідний при значних хірургічних втручаннях та кровотечах. У таких випадках пацієнти мають стояти на обліку у лікарнях та щоденно здавати аналізи на VWF:RCo та FVIII. Необхідний моніторинг електролітів у сироватці, особливо після операцій або застосування численних доз DDAVP. Дорослі та пацієнти похилого віку повинні пройти обстеження на кардіоваскулярну хворобу, перш ніж використовувати десмопресин, тому що терапія десмопресином у пацієнтів з гемофілією або уремією може прискорити інфаркт міокарда.

Фармакокінетика VWF та FVIII після десмопресину. Після стимуляції десмопресином вивільнений VWF та FVIII циркулюють з нормальним часом напівжиття, що складає 8-10 годин у нормальних протеїнів. Протеїни типу 2 VWF, що вивільнюються десмопресином, збільшуються у концентрації, але зберігають свою молекулярну дисфункцію. З цієї причини десмопресин лише частково ефективний у пацієнтів з типом 2A або 2M хвороби Віллебранда. Потрібен моніторинг для запису адекватного корегування VWF:RCo. При типі 2N не вистачає стабілізації FVIII. Тож у пацієнтів з типом 2N вивільнятиметься FVIII та патологічний протеїн VWF. Його період напіврозпаду значно знизиться та може досягати 2х годин у залежності від мутації. Здається, що деякі пацієнти з типом 1 мають пришвидшений кліренс VWF у плазмі та тестування VWF:RCo через 2-4 години після введення десмопресину для них може бути корисним.

Після введення десмопресину пацієнту з типом 2B хвороби Віллебранда, мультимери великої, але меншої за нормальну молекулярної ваги спостерігаються у плазмі через 15-30 хв. та утримуються протягом 4 годин. При типі 2B немає фармакокінетичних досліджень офіційно задокументованих, але активність VWF:RCo зростає у меншій пропорції, ніж при типі 1 з періодом напіврозпаду 4 години. Відповідь ЧК на десмопресин при типі 2B не релевантна.

Клінічна відповідь на десмопресин при хворобі Віллебранда. Клінічна ефективність десмопресину в попередженні та контролі кровотеч залежить значною мірою від активності VWF:RCo та FVIII у плазмі, яка досягається після введення препарату. Це, у свою чергу, залежить від базальних рівнів VWF:RCo та FVIII у плазмі та фонового якісного дефекту VWF. Табл. 12 та таблиці доказовості 7-12 надають опубліковані дані щодо клінічної відповіді використання десмопресину при рутинних хірургічних втручаннях. Дані взяті з ретроспективних досліджень та індивідуальних випадків. Не існує рандомізованих клінічних досліджень на цю тему.

Таблиця 12. Клінічні результати лікування десмопресином у пацієнтів з хворобою Віллебранда

Хірургічна профілактика у дорослих	Кількість	Частота	Продовжуваність	Інше лікування	Результат припинення кровотечі
Стоматологічні процедури	113	1 раз	Один або 2 рази	антифібрінолітики	Прекрасний/хороший 109/113
Гінекологія	9	Щоденно	1-7 днів	Антифібрінолітики 2/7	Продовжена кровотеча у 2/9, що потребувала лікування десмопресином протягом 3 та 6 днів
Хірургія	26	Щоденно	1-5 днів		Прекрасний/хороший 25/26. Геморагія після 1 випадку ринопластики
Досвід у дітей	Кількість	Частота	Продовжуваність	Інше лікування	Результат припинення кровотечі
Тонзілектомія та аденоїдектомія	14	Один або 2 рази на день	1-7 днів	Антифібрінолітики більше 7 днів	Прекрасний/хороший 125/146
Тонзілектомія/аденоїдектомія	119	Немає даних	Немає даних	Немає даних	Прекрасний/хороший 105/119
Отоларингічна хірургія	6	Щоденно	2 дні		Прекрасний/хороший 6/6

Десмопресин – синтетичний аналог вазопресину

*для додаткової інформації див. Табл.7-11

† – немає даних

Адекватність використання десмопресину для профілактики перед операцією або лікуванням пацієнтів з 1 типом хвороби Віллебранда залежить від важкості випадку та часу, необхідного для одужання. Серйозні хірургічні втручання потребують підтримання гемостазу протягом 7-14 днів, тоді як легкі операції підтримуються протягом 1-5 днів. Якщо лікування необхідне протягом більш ніж 3 днів, необхідно провести терапію концентратом VWF на додаток до десмопресину. На сьогоднішній день експертні думки розділилися щодо ризику відстроченої геморагії на 5-10 днів після значного епізоду у пацієнтів з хворобою Віллебранда, такого як пологи або тонзілектомія. У деяких випадках пацієнти з типом 1 Віченца проявляють надмірну реакцію на десмопресин. Пацієнти з типом 2 знаходяться під ризиком різкого підвищення рівня FVIII після десмопресину, але його період напіврозпаду становить лише 3 години, так як дефектний VWF не виконує свою функцію стабілізації. Пацієнти з низьким рівнем тромбоцитів або типом 2А практично не реагують на препарат, але можуть приймати участь у випробуваннях. До недавнього часу тип 2 був протипоказанням до терапії десмопресином, тому що кількість тромбоцитів зазвичай падала після стимуляції ним. Тим не менш, тромбоцитопенія після десмопресину при типі 2 є транзиторною та не несе ризику кровотечі або тромбозу. Зниження кількості тромбоцитів деякими авторами вважалося «псевдотромбоцитопенією», тому що воно має зв'язок скоріше з аглютинацією тромбоцитів *in vitro*, ніж аглютинацією та кліренсом *in vivo*. Так, десмопресин потрібно з обережністю призначати пацієнтам з типом 2. На пацієнтів типу 3 препарат не має клінічно релевантного впливу, тому не розглядається в якості терапії.

Ускладнення та токсичність десмопресину. Незначні побічні ефекти десмопресину досить розповсюджені та включають лицьову алергію, транзиторну гіпертензію або гіпотензію, головні болі, розлад ШКТ. Але вони мають обмежений клінічний вплив. Спостерігається утримання рідини та підвищення сечової осмолярності. Пониження вмісту натрію сироватки у загалом здорових дорослих відбувається після множинних доз. У випадку повторюваного введення потрібно пояснити пацієнтам важливість обмеження

навантаження рідиною протягом 24 годин. Профілактичне використання десмопресину ускладнює роботу з рідинами та електролітами під час операції або пологів. Приступи проявлялися на фоні гіпонатремії після введення десмопресину, особливо у маленьких дітей. Більшість дитячих гематологів не використовують десмопресин у пацієнтів до 2-х років.

У пацієнтів з легкою формою гемофілії А були випадки інфаркту міокарда після лікування десмопресином. Потрібно уникати цього препарату у пацієнтів, що знаходяться в зоні ризику через ішемічну хворобу серця або цереброваскулярні розлади, особливо похилого віку. В основі цього лежить інгібування активації плазміногену вазоконстрикцією, пов'язаною з введенням десмопресину, що підвищує можливість виникнення додаткового протромботичного ризику. Зважаючи на ускладнення у інших когорт пацієнтів, десмопресин потрібно обережно використовувати при операціях на мозку, очах та коронарній артерії. У цих випадках використовується концентрат VWF. Десмопресин не підвищує значним чином міометричну контрактильність, тож вагітність не вважається абсолютним протипоказанням. Проте використання препарату при вагітності призначається рідко.

Підвищення рівня фактора Віллебранда: замісна терапія

На січень 2007 року Humate-P® та Alphanate SD/HT® – це єдині плазмові концентрати, що отримали ліцензію у США для використання у замісній терапії VWF у людей з хворобою Віллебранда. Інший плазмовий дериватив – Koate DVI® зареєстрований у США для лікування гемофілії, але використовувався оф-лейбл при хворобі Віллебранда. Ці препарати не є ідентичними, вони містять різне відношення FVIII до VWF та не є взаємозамінними. Вони виробляються на заводах, що отримали ліцензію у США з пулів плазми, отриманої від оплачуваних донорів. Препарати, що містять FVIII та не містять VWF або він є у малих кількостях, не здатні лікувати хворобу Віллебранда, але у деяких умовах їх можна використовувати для лікування набутого синдрому Віллебранда. Серед цих препаратів можемо назвати наступні: плазмові концентрати – Monoclate P®, Monarc M®, Hemofil M®, рекомбінантні препарати – Hexilate FS®, Kogenate FS®, Recombinate®, Advate® та ReFacto®. Humate-P® – це ліофілізований концентрат очищених VWF та FVIII, що містить інші протеїни плазми, включаючи фібриноген та альбумін. В Humate-P® кількість великих, гемостатично активних мультимерів знижена в порівнянні зі свіжою плазмою. При розведенні рекомендованим об'ємом рідини кожен мл препарату містить 50-100 МО/мл VWF та 20-40 МО/мл FVIII згідно з інструкцією. Середній період напіврозпаду VWF становить 10,3 год (6,4-13,3 год) в одному дослідженні та 11,3 в іншому. Препарат призначений для використання у дітей та дорослих з метою лікування спонтанних посттравматичних кровотеч, коли використання десмопресину неадекватне або протипоказане. Humate-P® отримав дозвіл FDA на використання при профілактиці кровотеч до операцій та інвазивних процедур у пацієнтів з хворобою Віллебранда.

Alphanate SD/HT® – це ліофілізований концентрат VWF та FVIII і інших протеїнів плазми. Він виробляється з людської плазми кріопреципітацією FVIII, фракціональною солубілізацією та подальшим очищенням за допомогою агарози та гепарину. Після розведення кожен мл препарату містить 40-80 МО/мл FVIII та не менше 16 МО/мл VWF (інструкція). Середній період напіврозпаду VWF становить 6,91 годин (від 3,68 до 16,22 годин), препарат призначений для використання при хірургічних та інвазивних процедурах у пацієнтів з хворобою Віллебранда, коли використання десмопресину неефективне або протипоказане. Він не показаний у пацієнтів з типом 3 хвороби Віллебранда при значному хірургічному втручанні.

Побічні реакції нечасті, але включають алергічні та анафілактичні симптоми, кропивницю, ускладнення дихання, висипи, свербіння, набряки. Якщо наявні такі реакції, інфузію слід зупинити та прийняти необхідні міри. Використовувати препарат з обережністю у пацієнтів з ризиком виникнення тромбозу, так як є випадки венної тромбоемболії, пов'язаної з високим рівнем FVIII. Фактори ризику включають похилий вік, наявні тромбози, ожиріння, хірургічні втручання, нездатність рухатися, замісну гормональну терапію, антифібрinolітичну терапію. Якщо пацієнт отримує замісну терапію VWF безперервно

протягом кількох днів, потрібно стежити за рівнем FVIII, щоб не допустити неприйнятно високих значень.

Препарати, які містять VWF:RCo, відрізняються по відношенню VWF:RCo до FVIII, тому дозування та частота введень не можуть бути однаковими для всіх. Відношення VWF:RCo до FVIII у препараті Humate-P® у різних звітах становить 2,7, 2, 1,6. У препараті Koate DVI® відповідно 1,2 та 0,8. У препараті Alphanate SD/HT® відношення – 0,5. Ці препарати також відрізняються по відносним рівням високомолекулярних мультимерів. В Koate DVI® менше великих мультимерів порівняно з Alphanate SD/HT®, який у свою чергу містить їх менше, ніж Humate-P® або плазма.

Історично кріопреципітат використовувався для лікування хвороби Віллебранда та гемофілії А. Хоча він не повинен мати специфічний рівень VWF, вимагається, щоб кінцевий продукт містив у середньому 80 одиниць FVIII на стандартну донорську одиницю. У наш час кріопреципітат рідко використовується для лікування хвороби Віллебранда, а саме коли ризик зараження вірусами можна обмежити прямою донацією сировини. NHF не рекомендує використання кріопреципітату, за виключенням життєво важливих ситуацій, коли концентрат VWF не доступний, так як кріопреципітат не проходить вірусну інактивацію. У країнах, що розвиваються, у пацієнтів з хворобою Віллебранда вибір може бути відсутнім, тому що вірусінактивовані концентрати фактора недоступні або надто дорогі. Проте, використання кріопреципітату несе в собі значний ризик трансмісивних хвороб.

Дозування концентратів VWF відбувається спершу на основі VWF, а потім FVIII. Потрібно провести випробування під лабораторним фармакокінетичним наглядом перед початком значного хірургічного втручання у пацієнтів з типом 3 або набутим синдромом Віллебранда через високий ризик появи інгібіторів. Використання концентратів для попередження та контролю кровотеч було клінічно ефективним, що показано у табл. 13. Основною метою передопераційної профілактики є досягнення терапевтичного рівня VWF:RCo 100 МО/дл та підтримання його протягом трьох днів на рівні 50 МО/дл. Такі самі цілі для FVIII. Успішне досягнення гемостазу можливе при постійній інфузії після початкової болюсної інфузії зі швидкістю 1-2 од/кг/год. VWF:RCo. Замісна терапія концентратом VWF показана при значних кровотечах або хірургічних втручаннях у пацієнтів з типом 2 та 3, а також з типом 1, які не реагують на десмопресин чи вимагають продовженого лікування, або яким протипоказаний десмопресин. Дозування та тривалість терапії залежать від стану пацієнта та очікуваної продовжуваності загоєння рани. При значних операціях – це 7-14 днів, при незначних – 1-5 днів. Деякі процедури можна супроводжувати однією інфузією 20-40 од/кг VWF:RCo перед втручанням. У табл. 14 наведені різні типи хірургічних процедур. У табл.15 перераховані первинні рекомендації щодо дозування при замісній терапії VWF. Ці рекомендації базуються на результатах табл. 13 та консенсусній експертній думці. Ефективність лікування повинна підтверджуватися лабораторним оцінюванням рівнів VWF:RCo та FVIII, хоча моніторинг одиничних інфузій може бути непотрібним. Тривалість підвищення VWF після замісної терапії залежить від зовнішніх умов. Відомі тромбоемболічні випадки у пацієнтів з хворобою Віллебранда, які знаходяться в зоні ризику та отримують замісну терапію факторами. Рекомендується уникати досягнення максимального рівня активності VWF:RCo та FVIII у всіх пацієнтів, що отримують замісну терапію. Потрібно провести відповідне оцінювання ризику тромбозу та прийняти необхідні запобіжні заходи. На тваринах випробовувався рекомбінантний фактор, але поки що він не використовується у людей. Тромбоцити містять 10-15% загальної кількості VWF у крові, тож переливання тромбоцитів можна успішно використовувати при кровотечах із хворобою Віллебранда. Ця терапія може стати додатковим джерелом VWF, особливо у пацієнтів з 3 типом, низьким рівнем тромбоцитів або псевдохворобою Віллебранда та допомогти у лікуванні кровотечі, що не зупиняється при введенні концентрату VWF.

Коментар робочої групи:

Humate-P® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор VIII/фактор Віллебранда.

Alphanate SD/HT® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор/фактор Віллебранда.

Monoclate P® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор VIII.

Monarc M® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор.

Hemofil M® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор.

Hexilate FS® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор, рекомбінантний.

Kogenate FS® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор, рекомбінантний.

Recombinate® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор, рекомбінантний.

Advate® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор, рекомбінантний.

ReFacto® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор, рекомбінантний.

Таблиця 13. Ефективність замісної терапії концентратом фактора Віллебранда при хірургічних втручаннях та значних кровотечах

Посилання	Кількість	Використання	Початкова доза	Результат
Michiels та ін., 2004р. ²⁵⁵	5	Хірургія	60-80	100% Прекрасний/хороший
Thompson та ін., 2004р. ²⁵⁶	42	Хірургія	82,3	100% Прекрасний/хороший
Gill та ін., 2003р. ²⁹¹	53	Епізоди кровотеч	67	98% Прекрасний/хороший
Lillicrap та ін., 2002р. ²⁵³	344/73	Епізоди кровотеч/ Хірургія	55,3/69,1	99% Прекрасний/хороший
Nitu-Whalley та ін., 2001р. ²⁴⁷	10	Хірургія	54	100% Прекрасний/хороший
Lubetsky та ін., 1999р. ²⁵⁴	3/9	Епізоди кровотеч/ Хірургія	39,5	92,5% Прекрасний/хороший
Dobrkovska та ін., 1998р. ²⁵¹	73	Хірургія	80*	99% Прекрасний/хороший
Hanna та ін., 1994р. ²⁵²	5	Хірургія	25-100*	100% Прекрасний/хороший
Kreuz та ін., 1994р. ²⁴⁴	26/41	Епізоди кровотеч/ Хірургія	10-50	100% Прекрасний/хороший
Scharrer та ін., 1994р. ²⁹⁰	66/70	Епізоди кровотеч/ Хірургія	20-80	100% Прекрасний/хороший

*постійна інфузія

Таблиця 14. Поради щодо тривалості замісної терапії фактором Віллебранда при різних типах хірургічних процедур

Значні хірургічні втручання 7-14 днів*	Незначні кровотечі 1-5 днів*	Інші процедури, якщо не ускладнені, єдине введення VWF
Торакальна хірургія	Біопсія: грудна, цервікальна	Катетеризація серця
Кесарів розтин	Ускладнення видалення зубів	Катаракта
Трепанация черепа	Гінгівальна хірургія	Ендоскопія без біопсії

Гістеректомія	Постановка центрального катетера	Біопсія печінки
Відкрита холецистектомія	Лапароскопія	Лацерації
Простатектомія		Просте видалення зубів
*в індивідуальних випадках лікування може бути більш або менш довгим, в залежності від ступеня важкості хвороби Віллебранда та типу втручання		

Таблиця 15. Рекомендації щодо початкових доз при замісній терапії концентратом фактора Віллебранда для попередження або лікування кровотечі

Значні хірургічні втручання або кровотечі	
Початкова доза	40-60 од/кг
Підтримуюча доза	20-40 од/кг кожні 8-24 години
Спостереження	VWF:RCo та FVIII нижній та піковий рівні щоденно
Терапевтична мета	Нижній VWF:RCo та FVIII більше 50 МО/дл протягом 7-14 днів
Параметри безпеки	Не перевищувати VWF:RCo 200 МО/дл та FVIII 250-300 МО/дл
Можна чергувати з десмопресином на останніх стадіях лікування	
Незначні хірургічні втручання або кровотечі	
Початкова доза	30-60 од/кг
Підтримуюча доза	20-40 од/кг кожні 12-48 години
Спостереження	VWF:RCo та FVIII нижній та піковий рівні хоча б 1 раз
Терапевтична мета	Нижній VWF:RCo та FVIII більше 50 МО/дл протягом 3-5 днів
Параметри безпеки	Не перевищувати VWF:RCo 200 МО/дл та FVIII 250-300 МО/дл
Можна чергувати з десмопресином на останніх стадіях лікування	
Початкова доза в VWF:RCo МО/дл	

Коментар робочої групи:

З метою інформування про наявність в Україні засобів замісної терапії при гемофілії в Адаптовану клінічну настанову включено матеріали World Federation of Hemophilia «Registry of Clotting factor Concentrates» Ninth Edition, 2012 (Реєстр концентратів факторів згортання крові).

Концентрати фактора VIII для лікування хвороби Віллебранда

Назва	Виробник	Реєстрація в Україні*
Alphanate	Grifols (US)	Не зареєстрований
Biostate	CSL Biotherapies	Не зареєстрований
Factor 8Y	Bio Products Laboratory	Не зареєстрований
Fanhdi	Grifols (Sp)	Реєстраційне посвідчення UA/13087/01/01, UA/13087/01/02, UA/13087/01/03, термін дії з 20.08.2015 по 20.08.2020
Haemate-P/Humate-P	CSL Behring	Не зареєстрований
Immunate	Baxter BioScience	Сертифікат про державну реєстрацію № 331/12-300200000, термін дії з 27.12.2012 по 27.12.2017
Wilate	Octapharma	Реєстраційне посвідчення № UA/13081/01/01, UA/13081/01/02, термін дії з 22.08.2014 по 22.08.2019
Wilfactin	LFB (Lille)	Не зареєстрований

* Станом на 18.07.2016 за даними Державного реєстру лікарських засобів України

Інші види терапії хвороби Віллебранда

Антифібринолітики. Антифібринолітичні засоби – амінокапронова та транексамова кислоти – інгібують конверсію плазміногену в плазмін, інгібуючи фібриноліз та допомагаючи стабілізації бляшок, що сформувалися. Дослідження гемофілії та простатектомії надали основу для первинних випробувань антифібринолітичних засобів при хворобі Віллебранда. Їх можна застосовувати перорально або внутрішньовенно для лікування легких кровотеч слизових оболонок. При легкому та середньому ступені хвороби Віллебранда транексамову кислоту вводять у ротову порожнину кожні 6 годин для профілактики кровотеч при стоматологічних втручаннях у комбінації з натисканням іншими засобами та накладанням швів. Доведено ефективність використання цих засобів, але такий шлях введення не схвалений FDA США. Коли показано використання десмопресину та концентратів VWF/FVIII, антифібринолітичні засоби допомагають у контролюванні кровотеч, особливо у ротовій поронині, ШКТ та сечо-статевих шляхах.

Звичайна доза амінокапронової кислоти для дорослого складає 4-5 г початково перорально або внутрішньовенно (за годину перед втручанням), 1 г на годину після втручання перорально або внутрішньовенно, або 4-6 г кожні 4-6 годин перорально; або ж протягом 5-7 днів. Загальна доза амінокапронової кислоти не повинна перевищувати 24 г протягом 24 годин, щоб мінімізувати побічні ефекти. У дітей застосовуються дозування відповідно до ваги, але це можливо і у дорослих (50-60 мг/кг). Нижчі дози (25 мг/кг) можуть бути ефективними та використовуватися, коли з'являються побічні ефекти з боку ШКТ. Транексамова кислота вводиться внутрішньовенно в дозі 10 мг/кг кожні 8 годин. Пероральна форма не доступна в США, а внутрішньовенна форма та ротовий ополіскувач не отримали дозволу FDA. Потрібно уважно вивчити інструкцію до кожного засобу для отримання інформації щодо точних показань, ризиків та протипоказань. Обидва препарати можуть викликати нудоту та блювоту; рідше – тромботичні ускладнення. Виводяться через нирки, тож потрібно узгоджувати дозу, якщо існує ниркова недостатність. ДВЗ та кровотеча з ниркової паренхіми або верхньої частини сечового каналу є відносними протипоказаннями використання антифібринолітиків. Риноvasкулярні тромби є наслідком вживання антифібринолітичних засобів у пацієнтів з ДВЗ та спричиняють ниркову недостатність. У пацієнтів також виявилася обструкція сечових шляхів та відкрилася кровотеча у верхній частині сечового каналу через великі бляшки в нирковій мисці та нижній частині сечового каналу. Якщо при терапії транексамовою кислотою відбуваються зміни у сприйнятті кольорів, потрібно припинити лікування та пройти офтальмологічне обстеження.

Засоби для місцевого застосування. Топічний бичачий тромбін доступний у США як допоміжна речовина для місцевого застосування для лікування незначних кровотеч з капілярів та маленьких вен. Фібриновий скріплювач (Tisseel VH®), що складається з тромбіну людини, концентрату фібриногену та бичачого апротиніну) використовується як допоміжна речовина у деяких хірургічних втручаннях, але він неефективний при лікуванні несподіваних та масивних артеріальних кровотеч. Фібриновий скріплювач з успіхом використовується у пацієнтів з гемофілією або хворобою Віллебранда при стоматологічних процедурах. Місцеві колагенові губки також показані для контролювання кровотеч. Серед інших затверджених засобів потрібно відзначити Coseal®, Bioglue®, Quickclot®, хоча показань до застосування при хворобі Віллебранда вони не мають. Quickclot®, що містить мінеральний зеоліт, був недавно затверджений для використання у комбінації з компресією для зупинки зовнішніх травматичних кровотеч у догоспітальних умовах (напр., на полі битви). Додаткова вигода від використання засобів для місцевого застосування – окремо або в комбінації з іншими препаратами (десмопресин, антифібринолітики, концентрати VWF/FVIII) – недоведена. Місцеве застосування плазмових людських або бичачих протеїнів несе теоретичний ризик трансмісії хвороб і потенційні алергічні та імунні реакції. Використання фібринового скріплювача додатково до лікарських засобів та концентратів факторів можна розглядати в якості вибіркової ад'юнктивної терапії в стоматології та у випадках, коли поверхня рани продовжує кровоточити, незважаючи на комбіновану терапію концентратами та лікарськими засобами. Безпечність засобів місцевого застосування недоведена.

Коментар робочої групи:

Tisseel VH® – це торгова назва. Даний виріб медичного призначення – фібриновий герметик.

Coseal® – це торгова назва. Даний виріб медичного призначення – хірургічний герметик.

Bioglue® – це торгова назва. Даний виріб медичного призначення – альбумін / глютаральдегід герметик.

Quickclot® – це торгова назва. Даний виріб медичного призначення – гемостатичний бинт.

Інші питання медичного лікування

Пацієнти зі значними симптомами кровотеч, пов'язаними з хворобою Віллебранда, потребують отримання препаратів людської крові та повинні бути вакциновані проти гепатиту А та В, як і хворі на гемофілію. Їм потрібно уникати прийому АСК, інших НПЗП та тромбоцит-інгібуючих препаратів.

Лікування набутого синдрому Віллебранда

Серед 189 осіб з набутим синдромом Віллебранда, що знаходяться на міжнародному обліку, третина відчули клінічне та лабораторне покращення від лікування десмопресином, хоча ефект був короткочасним. Якщо активність FVIII та АЧТЧ виходили за межі норми, позитивна відповідь на десмопресин була менш поширеною, ніж при вродженій хворобі Віллебранда. У міжнародному реєстрі зазначено, що більшість з пацієнтів отримували також концентрати VWF/FVIII; відповідь варіюється. Таким чином рівні VWF:RCo та FVIII потрібно вимірювати до та після введення препаратів, щоб визначити ступінь та продовжуваність відповіді, а також регулювати наступні дози та інтервали введення. У пацієнтів, що мали попередню неадекватну відповідь на десмопресин та концентрати факторів, введення внутрішньовенного імуноглобуліну (1 г/кг щоденно протягом 2-х днів) було ефективним у контролі кровотечі та підвищенні активності VWF:RCo протягом трьох тижнів у восьми пацієнтів з надмірними кровотечами та IgG-моноклональною гаммапатією незначної важкості. Згідно з міжнародним реєстром у 1/3 з 63 пацієнтів, які лікувалися високодозним IGIV, відповідь була позитивною. Фонові діагнози у цих пацієнтів були наступними: лімфопроліферативні розлади, пухлини та аутоімунні захворювання. У 2/3 діагностувалися антитіла до VWF. Використання високодозної IGIV-терапії при набутому синдромі Віллебранда – це терапія оф-лейбл (не за призначенням), але її потрібно розглядати у якості альтернативи, якщо десмопресин та концентрати факторів не зупиняють кровотечу. Деякі пацієнти реагували на плазмаферез, кортикостероїди та імуносупресанти. Оскільки пацієнти отримували різноманітні види лікування, неможливо визначити абсолютну ефективність кожної. Якщо усі інші можливості зупинки кровотечі вичерпані, то потрібно використовувати рекомбінантний FVIIa, але з обережністю. Немає достатньо досвіду його використання в лікуванні хвороби Віллебранда. Є випадок гострого інфаркту міокарда, що слідував одразу за другим введенням 90 мкг/кг у чоловіка 50-ти років з успадкованим типом 2А хвороби Віллебранда, кишково-шлунковою кровотечею, деякими факторами ризику, але відсутністю в анамнезі ішемічної хвороби серця.

Хвороби серцевих клапанів. Вроджена чи набута ішемічна хвороба часто асоціюється з набутим синдромом Віллебранда. Підвищений тиск в стенозованому клапані або септичний дефект може пришвидшити протеоліз та розпад високомолекулярних мультимерів. Пацієнти зі стенозом аорти або іншими розладами клапанів серця рідко реагували на терапевтичні підходи, описані вище. Після хірургічної корекції серцевого дефекту мультимерна секвенція покращувалась транзиторно у більшості пацієнтів, що вивчалися. Введення концентратів VWF/FVIII одразу перед операцією є можливим у пацієнтів з транзиторним покращенням активності VWF при тестуванні.

Ангіодисплазія. Кровотеча, що спричиняється шлунково-кишковою дисплазією, спостерігалася у пацієнтів з набутим синдромом Віллебранда та у людей з вродженою хворобою Віллебранда. Часто при набутому синдромі вона асоціюється зі стенозами аорти та виявляє резистентність до терапії медикаментами, вимагаючи хірургічної корекції

клапанного дефекту для зупинки кровотечі. При відсутності фонові етіології ангіодисплазії, що піддається корекції, та кровотечі, пов'язаної з хворобою Віллебранда або набутим синдромом Віллебранда, лікування захворювання може бути важким та єдиного методу не існує.

Тромбоцитоз. Тромбоцитоз у людей з тромбоцитопенією пов'язаний з відносним зменшенням у пропорції високомолекулярних мультимерів. Хоча зв'язок цієї аномалії з кровотечею не пов'язаний, лікування направлене на зменшення кількості тромбоцитів.

Гіпотироїдизм. На протигагу вищеписаним синдромам набутий синдром Віллебранда, що з'являється при гіпотироїдизмі, спричиняється зниженим синтезом, але не дефектною структурою мультимерів. У меншій частини пацієнтів, хворих на гіпотироїдизм, спостерігається рівень VWF, нижчий за норму, але не у всіх випадках проявляються симптоми кровотеч. Зниження рівня VWF коригується заміщенням тироїдного гормону.

Коментар робочої групи:

Станом на 01.07.2016 рекомбінантний фактор VIIa не зареєстрований в Україні.

Лікування менорагій у жінок із хворобою Віллебранда

Менорагії у жінок часто є першим проявом кровотеч при хворобі Віллебранда. Тим не менш, менорагія також може бути ознакою гінекологічного розладу, а не хвороби Віллебранда. Тому потрібно провести повний гінекологічний огляд. Методи лікування менорагії у жінок з хворобою Віллебранда включають пероральні контрацептиви, транексамову кислоту, десмопресин та внутрішньоматкову систему з левоноргестрелом (Табл. 16). Дані щодо ефективності цих методів обмежені. Єдине клінічне рандомізоване дослідження використання десмопресину при менорагія мало малий обсяг та не змогло продемонструвати ефективність порівняно з плацебо. Немає доказів, що десмопресин більш ефективний, ніж інші види терапії для лікування менорагій. Залежно від віку жінки, стану її репродуктивної системи та планів щодо народження дітей, лікування, ефективність якого була доведена у жінок без хвороби Віллебранда, може підходити, за виключенням НПЗП, що знижують активність тромбоцитів та системний гемостаз. У ретроспективному огляді 36 дівчаток-підлітків з хворобою Віллебранда та менорагією, лікування пероральними контрацептивами та назальним десмопресином були однаково ефективними.

Таблиця 16. Ефективність терапії менорагій у жінок з хворобою Віллебранда

Посилання	Популяція	Лікування	Здорові волонтери	Результати	Умови
Kouides та ін., 2000р. ³²¹	41 жінка з типом I	Пероральні контрацептиви	Ні	76% «неефективно»	Обстеження пацієнтів
Foster, 1995р. ³²²	25 жінок з VWD	Пероральні контрацептиви	Ні	88% «ефективно»	Обстеження в центрах лікування гемофілії
Greer та ін., 1991р. ³²³	7 жінок з VWD	Пероральні контрацептиви	Ні	3 – «хороший ефект» 3 – «незначні покращення» 1 – «безрезультатно»	Ретроспективний огляд у єдиному центрі лікування гемофілії
Kingman та ін., 2004р. ³²⁴	13 жінок з VWD	Левоноргестрел внутрішньоматкова система	Ні	Періоди «значного покращення» у 100% У 50% – розвиток аменореї Підвищення концентрації гемоглобіну	Проспективний відкритий
Kadir та ін., 2002р. ³¹⁷	39 жінок з VWD	Десмопресин	Плацебо	Ніяких значних змін	Проспективний, подвійний,

					рандомізований
Leissinger та ін., 2001р. ³²⁵	90 жінок з різноманітними розладами гемостазу	Десмопресин	Ні	92% з результатом «відмінно» або «добре»	Проспективний, відкритий
Rodeghiero та ін., 1996р. ³²⁶	43 жінки з VWD	Десмопресин	Ні	65% – «дуже ефективно» 21% – «ефективно» 14% – «неефективно»	Проспективний, відкритий
Mohri, 2002р. ³²⁷	3 жінки з VWD	Транексамова кислота	Ні	3 «добре-контрольовані»	Серія випадків
Greer та ін., 1991р. ³²³	2 жінки з VWD	Транексамова кислота	Ні	2 «неефективно»	Ретроспективний огляд у єдиному центрі лікування гемофілії

Підлітки або дорослі жінки, які не бажають вагітніти, але не виключають можливості мати дітей у майбутньому, повинні вибрати терапію комбінованими пероральними контрацептивами. Вони містять синтетичний естроген (етинілестрадіол) та прогестин. Прогестин попереджує овуляцію, а синтетичний естроген – кровотечу. Більшість досліджень показують, що комбіновані пероральні контрацептиви підвищують рівень фібриногену, протромбіну, факторів згортання VII, VIII та VWF та гемостаз загалом. Невідомо, чи підвищення рівня факторів згортання разом з пероральними контрацептивами підкріплює клінічну відповідь, але пероральні контрацептиви зменшують інтенсивність менструальних кровотеч та підвищують рівень гемоглобіну у жінок з анемією. Пероральні контрацептиви використовуються протягом багатьох років мільйонами жінок та визнані безпечними при довгостроковому вживанні, за виключенням жінок з тромбофілією. Не існує формальних досліджень щодо впливу контрацептивних пластирів, але у них скоріше за все такий же ефект, як і у комбінованих пероральних контрацептивів.

Для жінки з хворобою Віллебранда, яка є кандидатом на встановлення внутрішньоматкового пристрою, другочерговим терапевтичним вибором стане левоноргестрел-вивільнююча внутрішньоматкова система. Вона містить прогестин, який зменшує втрату крові, вповільнюючи естроген-індукований ріст ендометрію або слизової оболонки матки.

Жінки, що не реагують на гормональну терапію, можуть розглянути лікування десмопресином або факторами згортання крові. Їм потрібно звернутися у центри гемофілії або до гематолога з відповідною кваліфікацією. Специфічне лікування при хворобі Віллебранда або антифібринолітична терапія можуть стати у пригоді, хоча їх ефективність при менорагії не доведена. Окрім лікування медикаментами можливо провести хірургічне втручання при менорагії. Розширення і вискоблювання порожнини матки не ефективно при зупиненні тяжкої менструальної кровотечі, хоча може допомогти при діагностиці інших патологій. У двох випадках, про які звітували Greer та Kadir, розширення і вискоблювання порожнини матки призвело до ще більшої втрати крові.

Ендометріальна абляція, з іншої сторони, зменшила втрату крові у 7/7 жінок, що страждали на хворобу Віллебранда. Трьом з них знадобилася гістеректомія, порівняно з 12-34% жінок, не хворих на хворобу Віллебранда, які пройшли через цю процедуру. Жінки з хворобою Віллебранда, що переносять гістеректомію, знаходяться у зоні більшого ризику періопераційних ускладнень та кровотечі, ніж інші жінки, а кровотеча може статися незважаючи на профілактику. Гістеректомія несе в собі ризик ускладнення кровотечею, але жінки, яким потрібна ця операція, не повинні бути позбавлені її переваг. Так як менорагія – це перший симптом кровотечі у жінок з хворобою Віллебранда, гістеректомія надає можливість елімінації цих симптомів та покращення якості життя.

Геморагічні кисти яєчників

Існує велика кількість випадків жінок, у яких розвинулися геморагічні кисти яєчників. У Silwer є звіт про 9 зі 136 жінок (6,8%), які зіткнулися з цією проблемою. Овуляція зазвичай не супроводжується значною кровотечею, але при хворобі Віллебранда існує потенційний ризик розвитку кровотечі у перитонеальній порожнині або у фолікулах, що стає причиною розвитку геморагічної кисти яєчника або ретроперитонеальної гематоми. Лікування цього ускладнення в гострому періоді за допомогою хірургічного втручання, транексамінової кислоти та заміщення факторами є частиною клінічного досвіду. Пероральні контрацептиви використовуються для попередження рецидивів.

Вагітність

Існує мало варіантів вибору для лікування менорагій або менорагічних кист яєчників у жінок з хворобою Віллебранда, які бажають завагітніти. Дані обмежені, але є випадки використання десмопресину, антифібринолітиків та концентрату VWF. В ідеалі планування вагітності потрібно почати до зачаття. Жінки, які планують вагітність, повинні розуміти, що вони знаходяться у зоні підвищеного ризику виникнення кровотеч, а після пологів вірогідність кровотечі є дуже великою. Перед зачаттям або під час вагітності жінці потрібно надати можливість консультації з генетиком щодо наслідування хвороби Віллебранда, та з дитячим гематологом щодо огляду дитини після пологів. Жінкам з трьома типами хвороби Віллебранда та рівнями FVIII та VWF:RCo менше 50 МО/дл, а також з важкими кровотечами в анамнезі потрібно забезпечити дородовий нагляд та увагу під час пологів у центрі, який може надати послуги не тільки спеціалістів з акушерства, але й гематологів зі знанням гемостазу. Лабораторія, аптека та банк крові є необхідними. Перед будь-якою інвазивною процедурою, такою як біопсія хоріона, амніоцентез та трахеопластика, жінці потрібно пройти лабораторне тестування на FVIII та VWF:RCo для отримання відповідної профілактики. Рівні FVIII та VWF:RCo потрібно отримати у третьому триместрі вагітності для полегшення планування пологів. Перед пологами потрібно зустрітися з анестезіологом для планування можливої потреби у гемостатичних засобах, а також у місцевій анестезії під час пологів. Вагітна жінка, яка носить дитину з ризиком наслідування типу 3 або важкої форми типу 1 або 2 хвороби Віллебранда, повинна звернутися до дитячого гематолога з метою тестування новонародженого та потенційної кровотечі у дитини. Існують обмежені дані щодо використання десмопресину при вагітності. Mannucci використовував десмопресин для профілактики перед процедурами у 31 вагітній жінки (без ексцесів), але деталей не надав. Десмопресин, що використовується у низьких дозах для лікування енурезу, вважається безпечним для матері та плоду. В огляді 53 випадків вагітних жінок, що використовували десмопресин у дозах 7,5-100 мкг в день при енурезі, не було зафіксовано негативного впливу на матір або новонародженого. В моделі плаценти *in vitro* десмопресин не проходить через плаценту в значній кількості.

Транексамова кислота здатна проходити через плаценту, але вона використовувалася для зупинки кровотечі під час вагітності у обмеженій кількості випадків без побічного впливу на плід. Дані щодо впливу амінокапронової кислоти на перебіг вагітності обмежені, та було доведено у випробуваннях на тваринах, що вона не тератогенна. При вагітності побічного впливу на плід не спостерігалось.

Викидень та кровотечі під час вагітності

У загальній популяції викидень є частим явищем, та 12-13,5% вагітностей закінчуються спонтанним викиднем. Хоча детальних даних не було наведено, у дослідженні 182 жінок з важкою формою хвороби Віллебранда Lak та учні показали, що викидень був не більш частим, ніж серед загального населення. Інші дослідження, навпаки, доводять більший відсоток викиднів серед жінок з хворобою Віллебранда порівняно зі здоровою частиною населення.

Окрім викидня, під час вагітності можуть виникнути інші ускладнення, пов'язані з кровотечею. Згідно з даними Kadig та ін., це стається у 33% жінок з хворобою Віллебранда протягом першого триместру.

Пологи

Табл. 17 демонструє 9 прикладів випадків викиднів у жінок з хворобою Віллебранда, включаючи процент викиднів, передпологову профілактику, післяпологову кровотечу та перитонеальну гематому. Профілактика включала кріопреципітат, СЗП, десмопресин та заміщення факторами.

Не існує великих проспективних досліджень на тему кореляції рівнів FVIII та VWF:RCo з ризиком кровотечі під час пологів. Але на думку експертів потрібно досягти рівня FVIII та VWF:RCo в 50 МО/дл до початку пологів та підтримувати його протягом 3-5 днів. Немає консенсусу щодо рівнів FVIII та VWF:RCo, безпечних для місцевої анестезії, але якщо вони більші за 50 МО/дл та коагуляційний фон нормальний, місцеву анестезію можна вважати безпечною.

Можна використовувати десмопресин для підвищення рівнів фактора, але з обережністю під час пологів. Зазвичай жінки отримують 1-2 л або більше рідини під час вагінальних пологів, та 2-3 л або більше під час кесаревого розтину. Рідини, що містять окситоцин, який також спричиняє утримання рідини у комбінації з десмопресином, може спричинити загрозу для життя гіпонатріємію. Chediak та колеги звітували про ускладнення утримання рідини у двох жінок, які отримували десмопресин під час пологів. У першій жінки, яка отримала 3 дози через 18 годин, розвилася гостра гіпонатріємію (рівень натрію 108 мЕк/л) та м'язові спазми.

Таблиця 17. Вагітність у жінок із хворобою Віллебранда

Дослідження	Популяція	Викидень	Профілактика	Післяпологова кровотеча	Перитонеальна гематома
Burlingame та ін., 2001р. ³⁶⁹	5 вагітностей у 2 жінок	Жодного	Концентрати FVIII у 1/5	1/5	Жодної
Lak та ін., 2000р. ⁸⁵	100 жінок з 3 типом VWD та щонайменше 1 народженою дитиною	Рівень «не вищий, ніж загальний рівень населення Ірану»	СЗП Кріопреципітат Концентрати FVIII	15/100 (15%)	н.з.
Caliezi та ін., 1998р. ³⁷⁰	2 вагітності у 1 жінки з типом 3 VWD	Жодного	Концентрати FVIII у 2/2	1/2 на 15й день після епізіотомії	Жодної
Kadir та ін., 1998р. ³⁵⁴	84 вагітності у 31 жінки	18/72 вагітностей невдалі	10/54 без ускладнення кровотечами	10/54 (18%) первинна* 6/54 (11%) потребували переливання 11/54 (20%) вторинна†	3/54
Foster, 1995р. ³²²	69 вагітностей у 31 жінки з VWD без реакції на десмопресин	15/68 невдалі	25/55 (46%) з тих, про кого наявні дані Концентрати FVIII (9) Кріопреципітат (8) СЗП (1)	У жінок з типами 2А, 2В, 3 VWD, 6/18 хто лікувався, 3/4 хто не лікувався	н.з.

Дослідження	Популяція	Викидень	Профілактика	Післяпологова кровотеча	Перітонеальна гематома
Ramsahoye та ін., 1995р. ³⁷⁶	24 вагітності у 13 жінок	Жодного (передліг плоду на 38 тижні)	5 кесаревих пологів <ul style="list-style-type: none"> • Кріопреципіта т 2/5 • FVIII для 2/5 Neamate-P® • Десмопресин для 1/5 19 вагінальних пологів • Кріопреципіта т 3/19 FVIII для 2/19 Neamate-P® 	3/24 (12,5%) первинна* 6/24 (25%) вторинна† 2/6 вторинна† лікувалися	Жодної
Greer та ін., 1991р. ³²³	14 пологів у 7 жінок з VWD	н.з.	Кріопреципітат (9)	5/9 лікувалися (1 первинна*, 3 вторинні†, 1 обидві); 2/5 не лікувалися (2 первинні*)	1/14
Chediak та ін., 1986р. ³⁷¹	10 вагітностей у 6 жінок з VWD	3/10 вагітностей	Кріопреципітат для 5/7 пологів Десмопресин для 2/7 пологів	4/5 масивні	1 з люмбарною гематомою
Conti та ін., 1986р. ³⁷⁷	5 пологів у 5 жінок з VWD	Жодного	Жодної	2/5 пізні	Жодної
*первинна післяпологова кровотеча протягом перших 24 годин † вторинна післяпологова кровотеча після 24 годин після пологів					

Коментар робочої групи:

Neamate-P® – це торгова назва. Міжнародна непатентована назва – Антигемофільний фактор/фактор Віллебранда.

Через те, що НПЗП, що прописуються від болю після пологів, можуть знизити активність тромбоцитів та системний гемостаз, потрібно розглянути використання альтернативних анальгетиків.

Післяпологова кровотеча

Післяпологова кровотеча – це очікувана проблема при хворобі Віллебранда. До кінця гестації приблизно 10-20% об'єму крові жінки або не менше 750 мл/хв. проходить через матку. Після пологів матка та маточна мускулатура повинні скоротитися, щоб запобігти кровотечі. Нездатність матки зробити це є першою причиною післяпологової кровотечі. Тим не менш, порівняно зі здоровими жінками, жінки з хворобою Віллебранда піддаються підвищеному ризику розвитку післяпологової кровотечі, що доводиться багатьма дослідженнями.

Перинеальна гематома – це важке ускладнення вагінальних пологів, яке може спіткати жінку з хворобою Віллебранда. Greer та учні звітували про 1 випадок з 13 пологів, Kadir та колеги – про 3 з 49. Це відносно велика частота у порівнянні з рівнем 2,2/1000 в когорті 26187 природних або оперативних вагінальних пологів.

У жінок з хворобою Віллебранда вагінальна кровотеча часто розпочинається більше, ніж через 2-3 тижні після пологів. Тривалість кровотечі після пологів у звичайної пацієнтки складає у середньому 21-27 днів. Рівень VWF, підвищений під час вагітності, повертається протягом 7-21 дня, тож жінки з хворобою Віллебранда можуть страждати на пізню

післяпологову кровотечу. При відсутності розладу гемостазу пізні або вторинні післяпологові кровотечі зустрічаються досить рідко – у менше ніж 1% пологів. Навпаки, пізні або вторинні післяпологові кровотечі ставалися у 20-25% жінок з хворобою Віллебранда, що робило їх у 15-20 разів частішими серед цієї верстви населення порівняно зі здоровими індивідами.

Серед опублікованого досвіду вагітних жінок з хворобою Віллебранда (табл. 17) є дані про те, що у багатьох випадках післяпологова кровотеча виникала, незважаючи на профілактику. Середній час появи післяпологової кровотечі у жінок з хворобою Віллебранда складав $15,7 \pm 5,2$ днів після пологів. Жінкам з хворобою Віллебранда потрібно більш ретельне обстеження та профілактика протягом 2 тижнів або більше після пологів. Контакт здійснювати щотижня протягом цього часу.

Діагностичні рекомендації

Ці рекомендації отримали градацію згідно з критеріями, вказаними у табл. 1. Таблиці доказовості надаються для рекомендацій зі ступенем В, що мають 2 та більше посилань.

IV. Тестування перед лікуванням

А. Перед лікуванням пацієнти з підозрою на хворобу Віллебранда повинні отримати лабораторно підтверджений діагноз типу та ступеня важкості хвороби Віллебранда. Ця рекомендація не виключає лікування, яке може бути показане при невідкладних ситуаціях, незважаючи на відсутність підтверджуючих лабораторних даних. *Ступінь С, рівень IV.*

В. Пацієнти без остаточного діагнозу хвороби Віллебранда, з рівнем VWF:RCo 30-50 МО/дл та відповідним фенотипом у деяких клінічних ситуаціях можуть отримати лікування або профілактику кровотеч. *Ступінь В, рівень III.*

С. Пацієнти з рівнем VWF:RCo більше 10 МО/дл та FVIII більше 20 МО/дл повинні пройти тестування на реакцію на десмопресин при відсутності кровотечі. Якщо ці три показники нижчі за порогові значення, пацієнти будуть менш чутливими до десмопресину, але тестування все одно потрібно провести. *Ступінь В, рівень Іа. Таблиця доказовості 6.*

V. Загальне лікування

А. Лікування людей з хворобою Віллебранда націлене на зупинку кровотечі або її профілактику для проведення хірургічних втручань. *Ступінь С, рівень IV.*

В. Продовжувана кровотеча, незважаючи на адекватну замісну терапію факторами згортання, потребує огляду для визначення іншої етіології кровотечі, включаючи анатомічні. *Ступінь С, рівень IV.*

С. Довгострокова профілактика на разі вивчається у міжнародному спільному дослідженні, з метою оцінки її довгострокових ризиків та переваг. *Ступінь С, рівень IV.*

Д. У дітей, старших за 2 роки, потрібно проводити вакцинацію проти гепатиту А та В. *Ступінь С, рівень IV.*

Е. Люди з хворобою Віллебранда повинні мати доступ до досвідченого радника з питань генетики. *Ступінь С, рівень IV.*

Ф. При встановленні діагнозу люди з хворобою Віллебранда повинні отримати рекомендацію уникати АСК, інших НПЗП та препаратів, що інгібують функцію тромбоцитів. *Ступінь С, рівень IV.*

Г. Потрібно контролювати кількість рідини на адекватному рівні у людей, що отримують десмопресин з метою уникнення гіпонатріємії та судом. *Ступінь С, рівень IV.*

VI. Лікування незначних кровотеч та профілактика при незначних хірургічних втручаннях

А. Носова, ротоглоткова кровотечі, кровотечі у м'якій тканині та інші незначні кровотечі потрібно лікувати внутрішньовенним або назальним введенням десмопресину, базуючись на проведеному тестуванні. *Ступінь В, рівень Іа. Таблиця доказовості 7*

В. Якщо необхідне підвищення рівня VWF, а відповідь на десмопресин неадекватна, необхідне застосування концентрату VWF, дозування якого розраховуватиметься відповідно до одиниць VWF:RCo та вторинно до одиниць FVIII. *Ступінь С, рівень IV.*

С. Для профілактики проведення незначних хірургічних втручань, метою первинного лікування повинно стати досягнення рівнів активності VWF:RCo та FVIII не менше 30 МО/дл та бажано ≥ 50 МО/дл. *Ступінь В, рівень III. Таблиця доказовості 8.*

Д. При незначних оперативних втручаннях рівні активності VWF:RCo та FVIII повинні підтримуватися на позначках не менше 30 МО/дл та бажано ≥ 50 МО/дл протягом 1-5 днів. *Ступінь В, рівень III. Таблиця доказовості 9*

Е. У людей з хворобою Віллебранда можливо зупинити незначну кровотечу (носова кровотеча, видалення зуба, менорагія) за допомогою десмопресину, а контроль за навантаженням об'ємом рідини можливо виконати без лабораторного устаткування, за виключенням ситуації використання Stimate® або десмопресину більше ніж три рази протягом 72 годин. *Ступінь С, рівень IV.*

Ф. У людей з легким та середнім типом важкості хвороби Віллебранда антифібінолітики у комбінації з десмопресином ефективні при операціях на обличчі. Для тих, хто не може отримувати вищевказану терапію або кровить незважаючи на неї, потрібно забезпечити концентрат VWF. *Ступінь В, рівень IIb. Таблиця доказовості 10.*

Г. Засоби для місцевого застосування, такі як фібриновий клей та бичачий тромбін, можуть стати у пригоді при операціях на обличчі у людей з хворобою Віллебранда. Потрібно звернути особливу увагу на гемостаз місця видалення зуба та на накладення швів. *Ступінь С, рівень IV.*

VII. Зупинка значних кровотеч та профілактика при значних операційних втручаннях

А. Всі плани лікування повинні базуватись на об'єктивному лабораторному визначенні відповіді рівня активності VWF:RCo та FVIII на введення десмопресину та концентрату VWF. *Ступінь В, рівень IIb. Таблиця доказовості 11 та 12.*

В. Якщо можливо, всі значні операції повинні виконуватися у лікарнях з лабораторією, доступною 24 год/добу та командою спеціалістів для проведення нагляду, яка включатиме гематолога та хірурга, які мають досвід у лікуванні розладів гемостазу. *Ступінь С, рівень IV.*

С. При тяжких кровотечах (внутрішньочерепні, ретроперитонеальні) або для профілактики перед значною операцією, потрібно поставити за мету досягнення початкових рівнів активності VWF:RCo та FVIII не менше 100 МО/дл. Наступні введення препаратів підтримуватимуть рівні активності VWF:RCo та FVIII на позначці 50 МО/дл протягом щонайменше 7-10 днів. *Ступінь В, рівень III Таблиця доказовості 12.*

Д. Щоб зменшити ризик виникнення тромбозів після операції, рівень VWF:RCo не повинен перевищувати 200 МО/дл, а FVIII – 250 МО/дл. *Ступінь С, рівень IV.*

Е. Перед проведенням значних хірургічних втручань у пацієнтів з типом 3 хвороби Віллебранда або набутим синдромом Віллебранда, у яких відновлення VWF низьке через наявність інгібіторів, потрібно провести випробування введення концентрату VWF з оцінюванням фармакокінетики. *Ступінь С, рівень IV*

VIII. Лікування геморагій та геморагічних кист яєчників у жінок з хворобою Віллебранда

А. Жінкам з менорагіями та аномальними вагінальними кровотечами потрібно пройти повне гінекологічне обстеження перед початком лікування. *Ступінь С, рівень IV*

В. Для підлітків та дорослих жінок, які не бажають завагітніти, але не виключають можливості материнства в майбутньому, першим вибором лікування менорагій стане прийом комбінованих пероральних контрацептивів. *Ступінь В, рівень III*

С. Для підлітків та дорослих жінок, які не бажають завагітніти, але не виключають можливості материнства в майбутньому, першим вибором лікування геморагічних кист яєчників стане прийом комбінованих пероральних контрацептивів. *Ступінь С, рівень IV*

Д. Якщо жінці підходить використання внутрішньоматкових засобів, то другим вибором лікування менорагій стане левоноргестрельна внутрішньоматкова система. *Ступінь В, рівень IIb*

Е. Для жінки, що бажає завагітніти, потрібно спробувати десмопресин, антифібринолітики, або концентрат VWF для зупинки менорагії. *Ступінь С, рівень IV*

Ф. Розширення і вискоблювання порожнини матки зазвичай неефективні у жінок з надмірними матковими кровотечами при хворобі Віллебранда. *Ступінь С, рівень IV*

IX. Ведення вагітності та пологів у жінок з хворобою Віллебранда

А. Перед зачаттям жінки, які планують вагітність, повинні пройти огляд у гематолога та акушера, які мають досвід лікування хвороби Віллебранда. *Ступінь С, рівень IV*

В. Жінки з типом 1, 2, 3 хвороби Віллебранда, рівнем VWF:RCo та FVIII < 50 МО/дл або важкою кровотечею в анамнезі:

1. Повинні звернутися у центр, що надає послуги акушера з досвідом та знанням гемостазу для передпологового догляду, пологів, припинення вагітності або контролю стану жінки після викидня. *Ступінь С, рівень IV*

2. Повинні отримати профілактику десмопресином або концентратом VWF перед інвазивними процедурами. *Ступінь С, рівень IV*

3. Повинні досягти рівнів активності VWF:RCo та FVIII не менше 50 МО/дл перед пологами та підтримувати цей показник протягом наступних 3-5 днів. *Ступінь С, рівень IV*

С. Якщо рівні активності VWF:RCo та FVIII можна оцінити та підтримати вище 50 МО/дл під час пологів, а інших дефектів коагуляції не визначено, можливо застосувати місцеву анестезію. *Ступінь С, рівень IV*

Д. Так як фактори згортання повертаються до своїх нормальних рівнів через 14-21 день після пологів, медичний персонал зобов'язаний підтримувати зв'язок з пацієнткою у післяпологовий період. *Ступінь С, рівень IV*

Х. Набутий синдром Віллебранда

А. Люди з набутим синдромом Віллебранда, які потребують оперативного втручання, повинні пройти фармакокінетичне тестування на десмопресин та концентрати VWF, а саме рівні активності VWF:RCo та FVIII – для оцінки можливо пришвидшеного кліренсу VWF. *Ступінь С, рівень IV*

В. Люди з набутим синдромом Віллебранда, які страждають від кровотеч, незважаючи на лікування десмопресином та концентратами VWF, можуть розглянути лікування високими дозами IGIV, особливо при ізотипі IgG хвороби MGUS. *Ступінь В, рівень ІІа Таблиця доказовості 13.*

Можливості та потреби у дослідженні, навчанні та практиці лікування хвороби Віллебранда

Багато рекомендацій, викладених у цій настанові, засновані на відносно обмеженій доказовій базі та тим самим підкреслюють потребу у подальших дослідженнях. Деякі з можливостей розглянуті нижче.

Патофізіологія та класифікація хвороби Віллебранда

Детермінанти рівня VWF та класифікація хвороби Віллебранда. Ризик виникнення кровотечі у людей з хворобою Віллебранда залежить від функціонального рівня VWF та багатьох інших факторів, що мало зрозумілі. Рівень VWF у плазмі може залежати від мутацій в або поряд з геном VWF. Також, рівень VWF залежить від групи крові, можливо від секреторного локусу, а також гормонального та емоційного стану, що дискутується у розділі «Протеїн VWF та його функції in vivo». Лише небагато генетичних та негенетичних детермінант було охарактеризовано, але принцип їх взаємодії невідомий. Також, нам доступна невелика частка кількісних даних щодо залежності ризику специфічних симптомів кровотечі від рівня VWF у плазмі. Ця інформація особливо важлива для лікування пацієнтів з рівнем VWF в межах 30-50 МО/дл, у кого ризик медично значимої кровотечі не визначений.

Рівень VWF у плазмі не пояснює варіантність симптомів кровотечі, а недавні дослідження починають висвітлювати деякі причини, що лежать в основі варіантності симптомів кровотечі. Наприклад, пацієнти з низьким рівнем VWF та дефектами агрегації тромбоцитів страждають від більш важких кровотеч. Підвищений ризик кровотеч також пов'язаний зі специфічними ДНК-маркерами у протеїнів тромбоцитарної мембрани. Можливо, що множинні гемостатичні фактори ризику взаємодіють з рівнем VWF у плазмі та визначають ймовірність тромбозу або кровотечі. Розуміння цих взаємозв'язків та включення їх у клінічну практику вимагає додаткових базових, клінічних та епідеміологічних досліджень.

Гетерогенність типу 1 хвороби Віллебранда. Часткова кількісна нестача VWF може спричинитися декількома механізмами, що викладалося у розділі «Класифікація підтипів хвороби Віллебранда». У деяких людей наявні домінантні мутації VWF, що або знижують секрецію мультимерів VWF або прискорюють їх кліренс з циркуляції. Переважання підвищеного кліренсу як причини типу 1 хвороби Віллебранда невідоме. Також невідомо, чи ці різноманітні механізми хвороби корелюють з клінічними ознаками, включаючи відповідь на специфічне лікування. Так як тип 1 хвороби Віллебранда – це найбільш поширена форма хвороби Віллебранда, відповіді на ці питання мають велике значення для медичної практики.

Гетерогенність типу 2 хвороби Віллебранда. Концентрація гемостатично ефективних великих мультимерів VWF може бути вибірково знижена пришвидшеним протеолізом або різноманітними дефектами побудови мультимерів. Ці варіанти зараз зібрані як тип 2A хвороби Віллебранда, але подальше розрізнення у цій категорії могло би бути виправданим, якщо можна було б зв'язати специфічні механізми хвороби з різноманітними клінічними симптомами або відповідями на лікування.

Більшість людей з типом 2M хвороби Віллебранда страждають на глибокий дефект ристоцетин-індукованого зв'язування з тромбоцитами, що асоціюється при цьому з нормальною картиною мультимерів VWF. Дефекти зв'язування з колагеном або іншими елементами сполучної тканини можуть спричинити подібний фенотип, проте тестування VWF:RCo нечутливе до таких ефектів. Дефекти зв'язування колагену можна визначити за допомогою тестів VWF:CB, але вони не використовуються широко у США. Поширеність та медична значимість дефектів зв'язування колагену при типі 2M хвороби Віллебранда заслуговують на подальше вивчення.

Діагностика та оцінювання

Оцінка симптомів та ознак кровотечі. Початкове обстеження пацієнтів з метою визначення медично значимого розладу гемостазу може бути нелегким, тому що легка ступінь кровотечі є досить розповсюдженою серед здорового населення. У ретроспективних дослідженнях оцінювалася клінічна релевантність специфічних симптомів, та деякі з них відрізняються у здорових «зразків» та людей з діагностованими розладами гемостазу (Блок 1). Користь цих питань потрібно проспективно встановити у деяких людей.

Якість та доступність лабораторного тестування. Якісне тестування на VWF:Ag та FVIII широкодоступне, але аналіз VWF:RCo, РІТА та мультимерів VWF більш варіабельний у характеристиках виконання та не завжди його легко отримати. Також тести на зв'язування VWF: FVIIIb пропонуються деякими лабораторіями. Потрібно створити більш надійні методи оцінки функції VWF та мультимерної структури для рутинного використання в діагностиці хвороби Віллебранда. Також потрібно визначити чутливість та специфічність відношень, таких як VWF:RCo до VWF:Ag для ідентифікації якісних дефектів, характерних для типу 2A та 2M хвороби Віллебранда. Потрібно встановити критерії аналізу мультимерів VWF для розрізнення значимого зниження великих мультимерів (в типах 2A та 2B) від нормальної величини розповсюдження мультимерів (у типах 1, 2M та 2N хвороби Віллебранда).

Секвенування гену VWF. Секвенування гену VWF у зразках ДНК пацієнтів допомагає визначити мутації, що спричиняють різноманітні типи хвороби Віллебранда. Місцезнаходження мутацій корелює з деякими фенотипами хвороби, що передбачає, що секвенування ДНК може бути ефективним діагностичним методом при цьому розладі. З відповідним досвідом та дослідженнями секвенування ДНК може стати економним та легким до виконання у рутинній діяльності. Також поширення практики секвенування гену VWF надасть цінну інформацію щодо поширеності мутацій VWF в залежності від рівня VWF, сили зв'язку між генотипом VWF та фенотипом VWD, пенетрантності специфічних мутацій та біохімічних механізмів, що спричиняють хворобу Віллебранда. Ці знання могли б стати відмінним джерелом ідентифікації та характеризувати інших факторів, що впливають на симптоматику хвороби Віллебранда.

Лікування хвороби Віллебранда

Стандартне лікування хвороби Віллебранда має обмежену експериментальну підтримку. Наприклад, інтенсивність та продовжуваність терапії, необхідної для зупинки кровотечі, не встановлено у багатьох клінічних ситуаціях, та часто використовується досвід, екстрапольований з гемофілії. Показання для профілактики кровотеч також визначені нечітко. На ці теми потрібно провести відповідні клінічні дослідження.

Десмопресин. У багатьох людей з хворобою Віллебранда є клінічно значима відповідь на десмопресин, але вірогідність позитивного результату залежить від типу та базового біохімічного механізму хвороби Віллебранда. При типі 1 пацієнти з пришвидшеним кліренсом VWF у плазмі можуть дати транзиторну відповідь на десмопресин. Використання десмопресину у пацієнтів з типом 2B є спірним. При типі 2N базовий рівень FVIII може дати позитивну підказку щодо розмаху та продовжуваності відповіді FVIII на десмопресин. Препарат здається безпечним для використання при вагітності, але опублікований досвід використання у цих умовах обмежений. Після десмопресину відомі випадки гіпонатріємії та тромбозів, але фактори виникнення цих ускладнень не визначені до кінця. Для вирішення цих питань потрібно вивчати дію десмопресина при різних типах хвороби Віллебранда. Доступність десмопресину для підшкірного введення може покращити лікування хвороби Віллебранда.

Концентрати факторів. Доступні плазмові препарати, що містять VWF, а також містять FVIII як частину комплексу, та лише 2 таких препарати наразі продаються в США для лікування хвороби Віллебранда: Humate-P® та Alphanate SD/HT®. При введенні пацієнтам з хворобою Віллебранда FVIII з препарату додається до ендogenous FVIII та спричиняє значно підвищений рівень FVIII, більший за рівень VWF, який досягається лікуванням; це може призвести до тромбозів. Уникнути цього можна точним дозуванням препарату, але у цьому випадку кількість VWF може бути недостатньою. Невідомо, чи потрібно в першу чергу оцінювати рівень FVIII або VWF, або ж обох одразу. Використання чистого препарату VWF замість комплексних концентратів допомогло б уникнути непропорційного підвищення рівня FVIII. Чистий концентрат VWF раніше використовувався у Європі, але наразі недоступний у США. Потрібно проводити додаткові дослідження для визначення відповідного лікування та режимів нагляду з використанням цих препаратів. Також потрібно провести передреєстраційні випробування рекомбінантного VWF, щоб оцінити його безпечність, ефективність та роль у лікуванні хвороби Віллебранда. Ліцензування інших препаратів з комплексом інших факторів покращили б терапевтичний вибір.

Тромбоцити. Приблизно 15% загальної кількості VWF у крові знаходиться у тромбоцитах, тож тромбоцитарний VWF відіграє значну роль у гемостазі. Хоча описувалися пацієнти з аномальною хворобою Віллебранда або з низьким тромбоцитарним рівнем, через обмеженість практичних методологій існує лише невеликий досвід користі такого тестування. Клінічно трансфузії тромбоцитів були корисними при зупинці кровотечі у пацієнтів, яким не допомагало введення концентратів факторів згортання. Ефективність та правильне використання переливання тромбоцитів у людей з хворобою Віллебранда та набутим синдромом Віллебранда не встановлено.

Антифібринолітики. Транексамова та амінокапронова кислоти використовувалися самостійно або в якості ад'юнктивної терапії для лікування хвороби Віллебранда. Безпечність, ефективність та оптимальне дозування цих препаратів потрібно довести подальшими клінічними дослідженнями. Доступність транексамової кислоти для перорального введення розширила б терапевтичний вибір для антифібринолітичної терапії.

Генна терапія хвороби Віллебранда

Важкий ступінь типу 3 хвороби Віллебранда може лікуватися генною терапією. Ген VWF більший за такий, який можна було б легко ввести у вектори, але «безбарвні» аденовіральні вектори можуть легко вмістити ген розміру VWF (8,5 кб). Поширеність типу 3 хвороби Віллебранда та його клінічних симптомів не поміщає його у категорію високої пріоритетності для проведення досліджень генної терапії. Виправлення мутацій спочатку було цікавим підходом до хвороби Віллебранда, але подальші вивчення не мали успіху *in vitro*.

Специфічні тести для жінок

VWF є важливим для гемостазу під час менструацій та пологів. Таким чином, жінки ще більше страждають від хвороби Віллебранда, особливо під час дітородного періоду.

Менорагія. Поширеність менорагії знаходиться у зворотній залежності від рівня VWF та не залежить від наявності хвороби Віллебранда у жінки. Так як менорагії досить поширені, навіть незначне зменшення їх важкості може мати значний вплив на здоров'я жінки. Як вказувалося у розділі про менорагію, деякі види лікування використовувалися при менорагіях, пов'язаних з хворобою Віллебранда, але їх ефективність не була доведена. Таким чином, клінічні дослідження будуть корисними у визначенні впливу рівня VWF на менорагії, а також для узгодження специфічних видів лікування у жінок з хворобою Віллебранда або низькими рівнями у плазмі VWF.

Пологи. Деякі дослідження показують, що жінки з хворобою Віллебранда або рівнем VWF нижче 50 МО/дл знаходяться в зоні ризику розвитку негайної або відстроченої післяпологової кровотечі. Ці ускладнення можна попередити замісною терапією концентратів факторів згортання крові перед пологами, та концентратами або десмопресином у післяпологовий період. Кореляція між ризиком кровотечі та рівнями VWF та FVIII невідома, тож необхідна продовжуваність та інтенсивність терапії не встановлені.

Навчання спеціалістів з гемостазу

У США, незважаючи на науковий прогрес у фундаментальних та клінічних дослідженнях розладів гемостазу та тромбозів, включаючи хворобу Віллебранда, існує дефіцит досвідчених клініцистів та лаборантів зі знанням гемостазу. Для цього спеціалістам потрібно надавати можливості навчання. Серед них можна назвати ініціативу NHLBI підвищення кваліфікації у незлоякісній гематології, а також ініціативу Національної фундації гемофілії США. Визнання важливості гемостазу як клінічної та лабораторної спеціальності у США могло б покращити привабливість цього поля діяльності.

Список літератури

1. Sadler JE, Mannucci PM, Berntorp E, Bochkov N, Boulyjenkov V, Ginsburg D, Meyer D, Peake I, Rodeghiero F, Srivastava A. Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2000 Aug;84(2):160–174.
2. Biron C, Mahieu B, Rochette A, Capdevila X, Castex A, Amiral J, D'Athis F, Schved JF. Preoperative screening for von Willebrand disease type 1: low yield and limited ability to predict bleeding. *J Lab Clin Med* 1999 Dec;134(6):605–609.
3. Rodeghiero F, Castaman G, Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood* 1987 Feb;69(2):454–459.
4. Werner EJ, Broxson EH, Tucker EL, Giroux DS, Shults J, Abshire TC. Prevalence of von Willebrand disease in children: a multiethnic study. *J Pediatr* 1993 Dec;123(6):893–898.
5. Hallberg L, Hogdahl AM, Nilsson L, Rybo G. Menstrual blood loss—a population study. Variation at different ages and attempts to define normality. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1966; 45(3):320–351.
6. Association of Hemophilia Clinic Directors of Canada. Hemophilia and von Willebrand's disease: 1. Diagnosis, comprehensive care and assessment. *Can Med Assoc J* 1995 Jul;153(1): 19–25.
7. Federici AB, Castaman G, Mannucci PM, for the Italian Association of Hemophilia Centers (AICE). Guidelines for the diagnosis and management of von Willebrand disease in Italy. *Haemophilia* 2002 Sep;8(5):607–621.
8. Laffan M, Brown SA, Collins PW, Cumming AM, Hill FG, Keeling D, Peake IR, Pasi KJ. The diagnosis of von Willebrand disease: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organization. *Haemophilia* 2004 May;10(3): 199–217.
9. Pasi KJ, Collins PW, Keeling DM, Brown SA, Cumming AM, Dolan GC, Hay CR, Hill FG, Laffan M, Peake IR. Management of von Willebrand disease: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organization. *Haemophilia* 2004 May;10(3):218–231.
10. Von Willebrand EA. Hereditary pseudohaemophilia [English translation]. *Haemophilia* 1999 May;5(3):223–231.
11. Montgomery RR, Gill JC. Interactions between von Willebrand factor and factor VIII: where did they first meet. *J Pediatr Hematol Oncol* 2000 May;22(3):269–275.
12. Rosenberg JB, Greengard JS, Montgomery RR. Genetic induction of a releasable pool of factor VIII in human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000 Dec;20(12):2689–2695.
13. Miller CH, Haff E, Platt SJ, Rawlins P, Drews CD, Dilley AB, Evatt B. Measurement of von Willebrand factor activity: relative effects of ABO blood type and race. *J Thromb Haemost* 2003 Oct;1(10):2191–2197.
14. Sukhu K, Poovalingam V, Mahomed R, Giangrande PL. Ethnic variation in von Willebrand factor levels can influence the diagnosis of von Willebrand disease. *Clin Lab Haematol* 2003 Aug;25(4):247–249.
15. Ginsburg D, Handin RI, Bonthron DT, Donlon TA, Bruns GA, Latt SA, Orkin SH. Human von Willebrand factor (vWF): isolation of complementary DNA (cDNA) clones and chromosomal localization. *Science* 1985 Jun;228(4706):1401–1406.
16. Mancuso DJ, Tuley EA, Westfield LA, Worrall NK, Shelton-Inloes BB, Sorace JM, Alevy YG, Sadler JE. Structure of the gene for human von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1989 Nov;264(33):19514–19527.
17. Patracchini P, Calzolari E, Aiello V, Palazzi P, Banin P, Marchetti G, Bernardi F. Sublocalization of von Willebrand factor pseudogene to 22q11.22-q11.23 by in situ hybridization in a 46,X, t(X;22)(pter;q11.21) translocation. *Hum Genet* 1989 Oct;83(3):264–266.
18. Mancuso DJ, Tuley EA, Westfield LA, Lester- Mancuso TL, Le Beau MM, Sorace JM, Sadler JE. Human von Willebrand factor gene and pseudogene: structural analysis and differentiation by polymerase chain reaction. *Biochemistry* 1991 Jan;30(1):253–269.
19. Sadler JE. von Willebrand factor. *J Biol Chem* 1991 Dec;266(34):22777–22780.
20. Eikenboom JC, Vink T, Briet E, Sixma JJ, Reitsma PH. Multiple substitutions in the von Willebrand factor gene that mimic the pseudogene sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 Mar;91(6):2221–2224.
21. Eikenboom JC, Castaman G, Vos HL, Bertina RM, Rodeghiero F. Characterization of the genetic defects in recessive type 1 and type 3 von Willebrand disease patients of Italian origin. *Thromb Haemost* 1998 Apr;79(4):709–717.
22. Surdhar GK, Enayat MS, Lawson S, Williams MD, Hill FG. Homozygous gene conversion in von Willebrand factor gene as a cause of type 3 von Willebrand disease and predisposition to inhibitor development. *Blood* 2001 Jul;98(1): 248–250.
23. Ginsburg D, Sadler JE. von Willebrand disease: a database of point mutations, insertions, and deletions. For the Consortium on von Willebrand Factor Mutations and Polymorphisms, and the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 1993 Feb;69(2):177–184.
24. Sadler JE, Ginsburg D. A database of polymorphisms in the von Willebrand factor gene and pseudogene. For the Consortium on von Willebrand Factor Mutations and Polymorphisms and the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 1993 Feb;69(2):185–191.
25. Sadler JE. A revised classification of von Willebrand disease. For the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 1994 Apr;71(4):520–525.
26. Sadler JE, Budde U, Eikenboom JC, Favaloro EJ, Hill FG, Holmberg L, Ingerslev J, Lee CA, Lillicrap D, Mannucci PM, et al. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. *J Thromb Haemost* 2006 Oct;4(10):2103–2114.
27. Castaman G, Federici AB, Rodeghiero F, Mannucci PM. Von Willebrand's disease in the year 2003: towards the complete identification of gene defects for correct diagnosis and treatment. *Haematologica* 2003 Jan;88(1): 94–108.

28. Meyer D, Fressinaud E, Gaucher C, Lavergne JM, Hilbert L, Ribba AS, Jorieux S, Mazurier C. Gene defects in 150 unrelated French cases with type 2 von Willebrand disease: from the patient to the gene. *INSERM Network on Molecular Abnormalities in von Willebrand Disease. Thromb Haemost* 1997 Jul;78(1):451–456.
29. Budde U, Drewke E, Mainusch K, Schneppenheim R. Laboratory diagnosis of congenital von Willebrand disease. *Semin Thromb Hemost* 2002 Apr;28(2):173–189.
30. Mannucci PM, Bloom AL, Larrieu MJ, Nilsson IM, West RR. Atherosclerosis and von Willebrand factor I. Prevalence of severe von Willebrand's disease in western Europe and Israel. *Br J Haematol* 1984 May;57(1):163–169.
31. Weiss HJ, Ball AP, Mannucci PM. Incidence of severe von Willebrand's disease. *N Engl J Med* 1982 Jul;307(2):127.
32. Berliner SA, Seligsohn U, Zivelin A, Zwang E, Soffer G. A relatively high frequency of severe (type III) von Willebrand's disease in Israel. *Br J Haematol* 1986 Mar;62(3):535–543.
33. Goodeve A, Eikenboom J, Castaman G, Rodeghiero F, Federici AB, Battle J, Meyer D, Mazurier C, Goudemand J, Schneppenheim R, et al. Phenotype and genotype of a cohort of families historically diagnosed with type 1 von Willebrand disease in the European study, Molecular and Clinical Markers for the Diagnosis and Management of Type 1 von Willebrand Disease (MCMDM-1VWD). *Blood* 2007 Jan; 109(1): 112–121.
34. James PD, Notley C, Hegadorn C, Leggo J, Tuttle A, Tinlin S, Brown C, Andrews C, Labelle A, Chirinian Y, et al. The mutational spectrum of type 1 von Willebrand disease: results from a Canadian cohort study. *Blood* 2007 Jan; 109(1): 145–154.
35. Bodó I, Katsumi A, Tuley EA, Eikenboom JC, Dong Z, Sadler JE. Type 1 von Willebrand disease mutation Cys1149Arg causes intracellular retention and degradation of heterodimers: a possible general mechanism for dominant mutations of oligomeric proteins. *Blood* 2001 Nov;98(10):2973–2979.
36. Casaña P, Martínez F, Haya S, Espinos C, Aznar JA. Association of the 3467C>T mutation (T1156M) in the von Willebrand's factor gene with dominant type 1 von Willebrand's disease. *Ann Hematol* 2001 Jul;80(7):381–383.
37. Eikenboom JC, Matsushita T, Reitsma PH, Tuley EA, Castaman G, Briet E, Sadler JE. Dominant type 1 von Willebrand disease caused by mutated cysteine residues in the D3 domain of von Willebrand factor. *Blood* 1996 Oct;88(7): 2433–2441.
38. Gavazova S, Gill JC, Scott JP, Hillery CA, Friedman KD, Wetzel N, Jozwiak M, Haberichter SL, Christopherson P, Montgomery RR. A mutation in the D4 domain of von Willebrand factor (VWF) results in a variant of type 1 von Willebrand disease with accelerated in vivo VWF clearance. *Blood* 2002;100 (Suppl 1) 476:128a.
39. Lethagen S, Isaksson C, Schaedel C, Holmberg L. Von Willebrand's disease caused by compound heterozygosity for a substitution mutation (T1156M) in the D3 domain of the von Willebrand factor and a stop mutation (Q2470X). *Thromb Haemost* 2002 Sep;88(3): 421–426.
40. Brown SA, Eldridge A, Collins PW, Bowen DJ. Increased clearance of von Willebrand factor antigen post-DDAVP in type 1 von Willebrand disease: is it a potential pathogenic process? *J Thromb Haemost* 2003 Aug;1(8):1714–1717.
41. Casonato A, Pontara E, Sartorello F, Cattini MG, Sartori MT, Padrini R, Girolami A. Reduced von Willebrand factor survival in type Vicenza von Willebrand disease. *Blood* 2002 Jan;99(1): 180–184.
42. Schneppenheim R, Federici AB, Budde U, Castaman G, Drewke E, Krey S, Mannucci PM, Riesen G, Rodeghiero F, Zieger B, et al. Von Willebrand disease type 2M “Vicenza” in Italian and German patients: identification of the first candidate mutation (G3864A; R1205H) in 8 families. *Thromb Haemost* 2000 Jan;82(1): 136–140.
43. Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, Marks WJ Jr, Montgomery RR. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood* 1987 Jun;69(6):1691–1695.
44. Mannucci PM, Lattuada A, Castaman G, Lombardi R, Colibretti ML, Ciavarella N, Rodeghiero F. Heterogeneous phenotypes of platelet and plasma von Willebrand factor in obligatory heterozygotes for severe von Willebrand disease. *Blood* 1989 Nov;74(7): 2433–2436.
45. Sadler JE. Von Willebrand disease type 1: a diagnosis in search of a disease. *Blood* 2003 Mar;101(6):2089–2093.
46. Ruggeri ZM, Pareti FI, Mannucci PM, Ciavarella N, Zimmerman TS. Heightened interaction between platelets and factor VIII/von Willebrand factor in a new subtype of von Willebrand's disease. *N Engl J Med* 1980 May;302(19):1047–1051.
47. Dent JA, Galbusera M, Ruggeri ZM. Heterogeneity of plasma von Willebrand factor multimers resulting from proteolysis of the constituent subunit. *J Clin Invest* 1991 Sep;88(3): 774–782.
48. Ginsburg D, Konkle BA, Gill JC, Montgomery RR, Bockenstedt PL, Johnson TA, Yang AY. Molecular basis of human von Willebrand disease: analysis of platelet von Willebrand factor mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989 May;86(10):3723–3727.
49. Lyons SE, Bruck ME, Bowie EJ, Ginsburg D. Impaired intracellular transport produced by a subset of type IIA von Willebrand disease mutations. *J Biol Chem* 1992 Mar;267(7): 4424–4430.
50. Gaucher C, Diéval J, Mazurier C. Characterization of von Willebrand factor gene defects in two unrelated patients with type IIC von Willebrand disease. *Blood* 1994 Aug;84(4): 1024–1030.
51. Ruggeri ZM, Nilsson IM, Lombardi R, Holmberg L, Zimmerman TS. Aberrant multimeric structure of von Willebrand factor in a new variant of von Willebrand's disease (type IIC). *J Clin Invest* 1982 Nov;70(5): 1124–1127.
52. Schneppenheim R, Thomas KB, Krey S, Budde U, Jessat U, Sutor AH, Zieger B. Identification of a candidate missense mutation in a family with von Willebrand disease type IIC. *Hum Genet* 1995 Jun;95(6):681–686.
53. Kinoshita S, Harrison J, Lazerson J, Abildgaard CF. A new variant of dominant type II von Willebrand's disease with aberrant multimeric pattern of factor VIII-related antigen (type IID). *Blood* 1984 Jun;63(6):1369–1371.
54. Schneppenheim R, Brassard J, Krey S, Budde U, Kunicki TJ, Holmberg L, Ware J, Ruggeri ZM. Defective dimerization of von Willebrand factor subunits due to a Cys→ Arg mutation in type IID von Willebrand disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996 Apr;93(8):3581–3586.

55. Schneppenheim R, Budde U, Ruggeri ZM. A molecular approach to the classification of von Willebrand disease. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001 Jun;14(2):281–298.
56. Zimmerman TS, Dent JA, Ruggeri ZM, Nannini LH. Subunit composition of plasma von Willebrand factor. Cleavage is present in normal individuals, increased in IIA and IIB von Willebrand disease, but minimal in variants with aberrant structure of individual oligomers (types IIC, IID, and IIE). *J Clin Invest* 1986 Mar;77(3):947–951.
57. Sutherland JJ, O'Brien LA, Lillicrap D, Weaver DF. Molecular modeling of the von Willebrand factor A2 domain and the effects of associated type 2A von Willebrand disease mutations. *J Mol Model (Online)* 2004 Aug;10(4):259–270.
58. Ruggeri ZM, Zimmerman TS. Variant von Willebrand's disease: characterization of two subtypes by analysis of multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor in plasma and platelets. *J Clin Invest* 1980 Jun;65(6): 1318–1325.
59. Lankhof H, Damas C, Schiphorst ME, IJsseldijk MJ, Bracke M, Sixma JJ, Vink T, de Groot PG. Functional studies on platelet adhesion with recombinant von Willebrand factor type 2B mutants R543Q and R543W under conditions of flow. *Blood* 1997 Apr;89(8):2766–2772.
60. Giles AR, Hoogendoorn H, Benford K. Type IIB von Willebrand's disease presenting as thrombocytopenia during pregnancy. *Br J Haematol* 1987 Nov;67(3):349–353.
61. Hultin MB, Sussman II. Postoperative thrombocytopenia in type IIB von Willebrand disease. *Am J Hematol* 1990 Jan;33(1):64–68.
62. Rick ME, Williams SB, Sacher RA, McKeown LP. Thrombocytopenia associated with pregnancy in a patient with type IIB von Willebrand's disease. *Blood* 1987 Mar;69(3):786–789.
63. Casonato A, Fabris F, Girolami A. Platelet aggregation and pseudothrombocytopenia induced by 1-desamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) in type IIB von Willebrand's disease patient. *Eur J Haematol* 1990 Jul;45(1): 36–42.
64. Casonato A, Sartori MT, de Marco L, Girolami A. 1-Desamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) infusion in type IIB von Willebrand's disease: shortening of bleeding time and induction of a variable pseudothrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1990 Aug;64(1): 117–120.
65. Cooney KA, Nichols WC, Bruck ME, Bahou WF, Shapiro AD, Bowie EJ, Gralnick HR, Ginsburg D. The molecular defect in type IIB von Willebrand disease. Identification of four potential missense mutations within the putative GpIb binding domain. *J Clin Invest* 1991 Apr;87(4):1227– 1233.
66. Kroner PA, Kluessendorf ML, Scott JP, Montgomery RR. Expressed full-length von Willebrand factor containing missense mutations linked to type IIB von Willebrand disease shows enhanced binding to platelets. *Blood* 1992 Apr;79(8):2048–2055.
67. Meyer D, Fressinaud E, Hilbert L, Ribba AS, Lavergne JM, Mazurier C. Type 2 von Willebrand disease causing defective von Willebrand factor-dependent platelet function. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001 Jun;14(2): 349–364.
68. Randi AM, Rabinowitz I, Mancuso DJ, Mannucci PM, Sadler JE. Molecular basis of von Willebrand disease type IIB. Candidate mutations cluster in one disulfide loop between proposed platelet glycoprotein Ib binding sequences. *J Clin Invest* 1991 Apr;87(4): 1220–1226.
69. Huizinga EG, Tsuji S, Romijn RA, Schiphorst ME, de Groot PG, Sixma JJ, Gros P. Structures of glycoprotein Ib alpha and its complex with von Willebrand factor A1 domain. *Science* 2002 Aug;297(5584):1176–1179.
70. Hillery CA, Mancuso DJ, Sadler JE, Ponder JW, Jozwiak MA, Christopherson PA, Cox Gill J, Scott JP, Montgomery RR. Type 2M von Willebrand disease: F606I and I662F mutations in the glycoprotein Ib binding domain selectively impair ristocetin—but not botrocetin-mediated binding of von Willebrand factor to platelets. *Blood* 1998 Mar;91(5):1572–1581.
71. Mancuso DJ, Kroner PA, Christopherson PA, Vokac EA, Cox Gill J, Montgomery RR. Type 2M:Milwaukee-1 von Willebrand disease: an in-frame deletion in the Cys509-Cys695 loop of the von Willebrand factor A1 domain causes deficient binding of von Willebrand factor to platelets. *Blood* 1996 Oct;88(7):2559–2568.
72. Rabinowitz I, Tuley EA, Mancuso DJ, Randi AM, Firkin BG, Howard MA, Sadler JE. von Willebrand disease type B: a missense mutation selectively abolishes ristocetin-induced von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992 Oct;89(20):9846–9849.
73. Ribba AS, Loisel I, Lavergne JM, Juhan-Vague I, Obert B, Cherel G, Meyer D, Girma JP. Ser968Thr mutation within the A3 domain of von Willebrand factor (VWF) in two related patients leads to a defective binding of VWF to collagen. *Thromb Haemost* 2001 Sep;86(3): 848–854.
74. Mazurier C, Dieval J, Jorieux S, Delobel J, Goudemand M. A new von Willebrand factor (vWF) defect in a patient with factor VIII (FVIII) deficiency but with normal levels and multimeric patterns of both plasma and platelet vWF. Characterization of abnormal vWF/FVIII interaction. *Blood* 1990 Jan;75(1):20–26.
75. Montgomery RR, Hathaway WE, Johnson J, Jacobson L, Muntean W. A variant of von Willebrand's disease with abnormal expression of factor VIII procoagulant activity. *Blood* 1982 Jul;60(1):201–207.
76. Nishino M, Girma JP, Rothschild C, Fressinaud E, Meyer D. New variant of von Willebrand disease with defective binding to factor VIII. *Blood* 1989 Oct;74(5):1591–1599.
77. Mazurier C, Meyer D. Factor VIII binding assay of von Willebrand factor and the diagnosis of type 2N von Willebrand disease—results of an international survey. On behalf of the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. *Thromb Haemost* 1996 Aug;76(2): 270–274.
78. Schneppenheim R, Budde U, Krey S, Drewke E, Bergmann F, Lechler E, Oldenburg J, Schwaab R. Results of a screening for von Willebrand disease type 2N in patients with suspected haemophilia A or von Willebrand disease type 1. *Thromb Haemost* 1996 Oct;76(4):598–602.
79. Kroner PA, Friedman KD, Fahs SA, Scott JP, Montgomery RR. Abnormal binding of factor VIII is linked with the substitution of glutamine for arginine 91 in von Willebrand factor in a variant form of von Willebrand disease. *J Biol Chem* 1991 Oct;266(29):19146–19149.

80. Mazurier C, Goudemand J, Hilbert L, Caron C, Fressinaud E, Meyer D. Type 2N von Willebrand disease: clinical manifestations, pathophysiology, laboratory diagnosis and molecular biology. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001 Jun;14(2):337–347.
81. Allen S, Abuzenadah AM, Blagg JL, Hinks J, Nesbitt IM, Goodeve AC, Gursel T, Ingerslev J, Peake IR, Daly ME. Two novel type 2N von Willebrand disease-causing mutations that result in defective factor VIII binding, multimerization, and secretion of von Willebrand factor. *Blood* 2000 Mar;95(6):2000–2007.
82. Hilbert L, d'Oiron R, Fressinaud E, Meyer D, Mazurier C. INSERM Network on Molecular Abnormalities in von Willebrand Disease. First identification and expression of a type 2N von Willebrand disease mutation (E1078K) located in exon 25 of von Willebrand factor gene. *J Thromb Haemost* 2004 Dec;2(12):2271–2273.
83. Hilbert L, Jorieux S, Proulle V, Favier R, Goudemand J, Parquet A, Meyer D, Fressinaud E, Mazurier C. INSERM Network on Molecular Abnormalities in von Willebrand Disease. Two novel mutations, Q1053H and C1060R, located in the D3 domain of von Willebrand factor, are responsible for decreased FVIII-binding capacity. *Br J Haematol* 2003 Feb;120(4):627–632.
84. Italian Working Group. Spectrum of von Willebrand's disease: a study of 100 cases. *Br J Haematol* 1977 Jan;35(1):101–112.
85. Lak M, Peyvandi F, Mannucci PM. Clinical manifestations and complications of childbirth and replacement therapy in 385 Iranian patients with type 3 von Willebrand disease. *Br J Haematol* 2000 Dec;111(4):1236–1239.
86. Zhang ZP, Lindstedt M, Falk G, Blombäck M, Egberg N, Anvret M. Nonsense mutations of the von Willebrand factor gene in patients with von Willebrand disease type III and type I. *Am J Hum Genet* 1992 Oct;51(4):850–858.
87. Baronciani L, Cozzi G, Canciani MT, Peyvandi F, Srivastava A, Federici AB, Mannucci PM. Molecular defects in type 3 von Willebrand disease: updated results from 40 multiethnic patients. *Blood Cells Mol Dis* 2003 May;30(3): 264–270.
88. Eikenboom JC. Congenital von Willebrand disease type 3: clinical manifestations, pathophysiology and molecular biology. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001 Jun;14(2):365–379.
89. Mannucci PM, Federici AB. Antibodies to von Willebrand factor in von Willebrand disease. *Adv Exp Med Biol* 1995;386:87–92.
90. Mannucci PM, Ruggeri ZM, Ciavarella N, Kazatchkine MD, Mowbray JF. Precipitating antibodies to factor VIII/von Willebrand factor in von Willebrand's disease: effects on replacement therapy. *Blood* 1981 Jan;57(1): 25–31.
91. Nitu-Whalley IC, Riddell A, Lee CA, Pasi KJ, Owens D, Enayat MS, Perkins SJ, Jenkins PV. Identification of type 2 von Willebrand disease in previously diagnosed type 1 patients: a reappraisal using phenotypes, genotypes and molecular modelling. *Thromb Haemost* 2000 Dec;84(6):998–1004.
92. Mannucci PM, Lombardi R, Castaman G, Dent JA, Lattuada A, Rodeghiero F, Zimmerman TS. Von Willebrand disease "Vicenza" with larger-than-normal (supranormal) von Willebrand factor multimers. *Blood* 1988 Jan;71(1):65–70.
93. Sadler JE. New concepts in von Willebrand disease. *Annu Rev Med* 2005;56:173–191.
94. Castaman G, Rodeghiero F, Mannucci PM. The elusive pathogenesis of von Willebrand disease Vicenza. *Blood* 2002 Jun;99(11):4243–4244.
95. Bodó I, Katsumi A, Tuley EA, Schlammadinger A, Boda Z, Sadler JE. Mutations causing dominant type 1 von Willebrand disease with high penetrance. *Blood* 1999;94 (Suppl 1) 1661:373a.
96. Castaman G, Eikenboom JC, Missiaglia E, Rodeghiero F. Autosomal dominant type 1 von Willebrand disease due to G3639T mutation (C1130F) in exon 26 of von Willebrand factor gene: description of five Italian families and evidence for a founder effect. *Br J Haematol* 2000 Mar;108(4):876–879.
97. Eikenboom J, Van Marion V, Putter H, Goodeve A, Rodeghiero F, Castaman G, Federici AB, Battlé J, Meyer D, Mazurier C, et al. Linkage analysis in families diagnosed with type 1 von Willebrand disease in the European study, molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 VWD. *J Thromb Haemost* 2006 Apr;4(4):774–782.
98. James PD, Paterson AD, Notley C, Cameron C, Hegadorn C, Tinlin S, Brown C, O'Brien L, Leggo J, Lillicrap D. Genetic linkage and association analysis in type 1 von Willebrand disease: results from the Canadian type 1 VWD study. *J Thromb Haemost* 2006 Apr;4(4): 783–792.
99. Mannucci PM, Lombardi R, Bader R, Vianello L, Federici AB, Solinas S, Mazzucconi MG, Mariani G. Heterogeneity of type I von Willebrand disease: evidence for a subgroup with an abnormal von Willebrand factor. *Blood* 1985 Oct;66(4):796–802.
100. Casaña P, Martínez F, Haya S, Espinos C, Aznar JA. Significant linkage and non-linkage of type 1 von Willebrand disease to the von Willebrand factor gene. *Br J Haematol* 2001 Dec;115(3): 692–700.
101. Castaman G, Eikenboom JC, Bertina RM, Rodeghiero F. Inconsistency of association between type 1 von Willebrand disease phenotype and genotype in families identified in an epidemiological investigation. *Thromb Haemost* 1999 Sep;82(3):1065–1070.
102. Miller CH, Graham JB, Goldin LR, Elston RC. Genetics of classic von Willebrand's disease. I. Phenotypic variation within families. *Blood* 1979 Jul;54(1):117–136.
103. Souto JC, Almasy L, Borrell M, Garí M, Martínez E, Mateo J, Stone WH, Blangero J, Fontcuberta J. Genetic determinants of hemostasis phenotypes in Spanish families. *Circulation* 2000 Apr;101 (13):1546–1551.
104. Vossen CY, Hasstedt SJ, Rosendaal FR, Callas PW, Bauer KA, Broze GJ, Hoogendoorn H, Long GL, Scott BT, Bovill EG. Heritability of plasma concentrations of clotting factors and measures of a prethrombotic state in a protein C-deficient family. *J Thromb Haemost* 2004 Feb;2(2): 242–247.
105. de Lange M, Snieder H, Ariens RA, Spector TD, Grant PJ. The genetics of haemostasis: a twin study. *Lancet* 2001 Jan;357(9250):101–105.
106. Ørstavik KH, Magnus P, Reisner H, Berg K, Graham JB, Nance W. Factor VIII and factor IX in a twin population. Evidence for a major effect of ABO locus on factor VIII level. *Am J Hum Genet* 1985 Jan;37(1):89–101.

107. Harrap SB, Hopper JL. Genetics of haemostasis. *Lancet* 2001 Jan;357(9250):83–84.
108. de Visser MC, Sandkuijl LA, Lensen RP, Vos HL, Rosendaal FR, Bertina RM. Linkage analysis of factor VIII and von Willebrand factor loci as quantitative trait loci. *J Thromb Haemost* 2003 Aug;1(8):1771–1776.
109. O'Donnell J, Boulton FE, Manning RA, Laffan MA. Genotype at the secretor blood group locus is a determinant of plasma von Willebrand factor level. *Br J Haematol* 2002 Feb;116(2): 350–356.
110. Souto JC, Almasy L, Soria JM, Buil A, Stone W, Lathrop M, Blangero J, Fontcuberta J. Genomewide linkage analysis of von Willebrand factor plasma levels: results from the GAIT project. *Thromb Haemost* 2003 Mar;89(3):468–474.
111. Castaman G, Novella E, Castiglia E, Eikenboom JC, Rodeghiero F. A novel family with recessive von Willebrand disease due to compound heterozygosity for a splice site mutation and a missense mutation in the von Willebrand factor gene. *Thromb Res* 2002 Jan;105(2):135–138.
112. Zhang Z, Lindstedt M, Blomback M, Anvret M. Effects of the mutant von Willebrand factor gene in von Willebrand disease. *Hum Genet* 1995 Oct;96(4):388–394.
113. Schneppenheim R, Krey S, Bergmann F, Bock D, Budde U, Lange M, Linde R, Mittler U, Meili E, Mertes G, et al. Genetic heterogeneity of severe von Willebrand disease type III in the German population. *Hum Genet* 1994 Dec;94(6): 640–652.
114. Eikenboom JC, Reitsma PH, Peerlinck KM, Briet E. Recessive inheritance of von Willebrand's disease type I. *Lancet* 1993 Apr;341(8851):982–986.
115. Inbal A, Kornbrot N, Zivelin A, Shaklai M, Seligsohn U. The inheritance of type I and type III von Willebrand's disease in Israel: linkage analysis, carrier detection and prenatal diagnosis using three intragenic restriction fragment length polymorphisms. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1992 Apr;3(2):167–177.
116. Nichols WC, Lyons SE, Harrison JS, Cody RL, Ginsburg D. Severe von Willebrand disease due to a defect at the level of von Willebrand factor mRNA expression: detection by exonic PCRrestriction fragment length polymorphism analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 May;88(9):3857–3861.
117. Federici AB, Rand JH, Bucciarelli P, Budde U, van Genderen PJ, Mohri H, Meyer D, Rodeghiero F, Sadler JE, Subcommittee on von Willebrand Factor. Acquired von Willebrand syndrome: data from an international registry. *Thromb Haemost* 2000 Aug;84(2):345–349.
118. Veyradier A, Jenkins CS, Fressinaud E, Meyer D. Acquired von Willebrand syndrome: from pathophysiology to management. *Thromb Haemost* 2000 Aug;84(2):175–182.
119. 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 Mar;67(3):758–761.
120. Rauch R, Budde U, Koch A, Girisch M, Hofbeck M. Acquired von Willebrand syndrome in children with patent ductus arteriosus. *Heart* 2002 Jul;88(1):87–88.
121. Veyradier A, Nishikubo T, Humbert M, Wolf M, Sitbon O, Simonneau G, Girma JP, Meyer D. Improvement of von Willebrand factor proteolysis after prostacyclin infusion in severe pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2000 Nov;102(20):2460–2462.
122. Vincentelli A, Susen S, Le Tourneau T, Six I, Fabre O, Juthier F, Bauters A, Decoene C, Goudemand J, Prat A, et al. Acquired von Willebrand syndrome in aortic stenosis. *N Engl J Med* 2003 Jul;349(4):343–349.
123. Budde U, Scharf RE, Franke P, Hartmann-Budde K, Dent J, Ruggeri ZM. Elevated platelet count as a cause of abnormal von Willebrand factor multimer distribution in plasma. *Blood* 1993 Sep;82(6):1749–1757.
124. Mazzucconi MG, Ferrari A, Solinas S, Vitale A, Chistolini A, Federici AB, Mandelli F. Studies of von Willebrand factor in essential thrombocythemia patients treated with alpha-2b recombinant interferon. *Haemostasis* 1991; 21(3):135–140.
125. van Genderen PJ, Budde U, Michiels JJ, van Strik R, van Vliet HH. The reduction of large von Willebrand factor multimers in plasma in essential thrombocythaemia is related to the platelet count. *Br J Haematol* 1996 Jun;93(4):962–965.
126. Tefferi A, Nichols WL. Acquired von Willebrand disease: concise review of occurrence, diagnosis, pathogenesis, and treatment. *Am J Med* 1997 Dec;103(6):536–540.
127. Dalton RG, Dewar MS, Savidge GF, Kernoff PB, Matthews KB, Greaves M, Preston FE. Hypothyroidism as a cause of acquired von Willebrand's disease. *Lancet* 1987 May;1(8540): 1007–1009.
128. Lo B, Fijnheer R, Castiglione D, Borst C, Kalkman CJ, Nierich AP. Activation of hemostasis after coronary artery bypass grafting with or without cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 2004 Sep;99(3):634–40, table.
129. Cortellaro M, Boschetti C, Cofrancesco E, Zanussi C, Catalano M, de Gaetano G, Gabrielli L, Lombardi B, Specchia G, Tavazzi L, et al. The PLAT Study: hemostatic function in relation to atherothrombotic ischemic events in vascular disease patients. Principal results. Progetto Lombardo Atero-Trombosi (PLAT) Study Group. *Arterioscler Thromb* 1992 Sep;12(9):1063–1070.
130. Folsom AR, Wu KK, Rosamond WD, Sharrett AR, Chambless LE. Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 1997 Aug;96(4):1102–1108.
131. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med* 1995 Mar;332(10):635–641.
132. Conway DS, Pearce LA, Chin BS, Hart RG, Lip GY. Prognostic value of plasma von Willebrand factor and soluble P-selectin as indices of endothelial damage and platelet activation in 994 patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Circulation* 2003 Jul;107(25):3141–3145.
133. Moake JL. von Willebrand factor, ADAMTS-13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 2004 Jan;41(1):4–14.
134. Tsai HM. Shear stress and von Willebrand factor in health and disease. *Semin Thromb Hemost* 2003 Oct;29(5):479–488.

135. Koster T, Blann AD, Briët E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet* 1995 Jan;345(8943):152–155.
136. Federici AB. Clinical diagnosis of von Willebrand disease. *Haemophilia* 2004 Oct;10 (Suppl 4):169–176.
137. Silwer J. Von Willebrand's disease in Sweden. *Acta Paediatr Scand* 1973;(Suppl 238):1–159.
138. Sramek A, Eikenboom JC, Briet E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Usefulness of patient interview in bleeding disorders. *Arch Intern Med* 1995 Jul;155(13):1409–1415.
139. Drews CD, Dilley AB, Lally C, Beckman MG, Evatt B. Screening questions to identify women with von Willebrand disease. *J Am Med Womens Assoc* 2002;Fall;57(4):217–218.
140. Mauser Bunschoten EP, van Houwelingen JC, Sjamsoedin Visser EJ, van Dijken PJ, Kok AJ, Sixma JJ. Bleeding symptoms in carriers of hemophilia A and B. *Thromb Haemost* 1988 Jun;59(3):349–352.
141. Woods AI, Meschengieser SS, Blanco AN, Salviu MJ, Farias CE, Kempfer AC, Lazzari MA. Clinical features and laboratory patterns in a cohort of consecutive Argentinian patients with von Willebrand's disease. *Haematologica* 2001 Apr;86(4):420–427.
142. Ziv O, Ragni MV. Bleeding manifestations in males with von Willebrand disease. *Haemophilia* 2004 March;10(2):162–168.
143. Nosek-Cenkowska B, Cheang MS, Pizzi NJ, Israels ED, Gerrard JM. Bleeding/bruising symptomatology in children with and without bleeding disorders. *Thromb Haemost* 1991 Mar;65(3):237–241.
144. Wahlberg T, Blomback M, Hall P, Axelsson G. Application of indicators, predictors and diagnostic indices in coagulation disorders. II. Evaluation of laboratory variables with continuous test results. *Methods Inf Med* 1980 Oct;19(4):201–205.
145. Kirtava A, Drews C, Lally C, Dilley A, Evatt B. Medical, reproductive and psychosocial experiences of women diagnosed with von Willebrand's disease receiving care in haemophilia treatment centres: a case-control study. *Haemophilia* 2003 May;9(3):292–297.
146. Dilley A, Drews C, Miller C, Lally C, Austin H, Ramaswamy D, Lurye D, Evatt B. von Willebrand disease and other inherited bleeding disorders in women with diagnosed menorrhagia. *Obstet Gynecol* 2001 Apr;97(4): 630–636.
147. Edlund M, Blomback M, von Schoultz B, Andersson O. On the value of menorrhagia as a predictor for coagulation disorders. *Am J Hematol* 1996 Dec;53(4):234–238.
148. Goodman-Gruen D, Hollenbach K. The prevalence of von Willebrand disease in women with abnormal uterine bleeding. *J Womens Health Gen Based Med* 2001 Sep;10(7): 677–680.
149. James AH, Lukes AS, Brancazio LR, Thames E, Ortel TL. Use of a new platelet function analyzer to detect von Willebrand disease in women with menorrhagia. *Am J Obstet Gynecol* 2004 Aug;191(2):449–455.
150. Kadir RA, Economides DL, Sabin CA, Owens D, Lee CA. Frequency of inherited bleeding disorders in women with menorrhagia. *Lancet* 1998 Feb;(9101):485–489.
151. Philipp CS, Dilley A, Miller CH, Evatt B, Baranwal A, Schwartz R, Bachmann G, Saidi P. Platelet functional defects in women with unexplained menorrhagia. *J Thromb Haemost* 2003 Mar;1(3):477–484.
152. Woo YL, White B, Corbally R, Byrne M, O'Connell N, O'Shea E, Sheppard BL, Bonnar J, Smith OP. von Willebrand's disease: an important cause of dysfunctional uterine bleeding. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002 Mar;13(2):89–93.
153. Warner PE, Critchley HO, Lumsden MA, Campbell-Brown M, Douglas A, Murray GD. Menorrhagia I: measured blood loss, clinical features, and outcome in women with heavy periods: a survey with follow-up data. *Am J Obstet Gynecol* 2004 May;190(5):1216–1223.
154. Tosetto A, Rodeghiero F, Castaman G, Goodeve A, Federici AB, Batlle J, Meyer D, Fressinaud E, Mazurier C, Goudemand J, et al. A quantitative analysis of bleeding symptoms in type 1 von Willebrand disease: results from a multicenter European study (MCMDM-1 VWD). *J Thromb Haemost* 2006 Apr;4(4): 766–773.
155. Rodeghiero F, Castaman G, Tosetto A, Batlle J, Baudo F, Cappelletti A, Casana P, De Bosch N, Eikenboom JC, Federici AB, et al. The discriminant power of bleeding history for the diagnosis of type 1 von Willebrand disease: an international, multicenter study. *J Thromb Haemost* 2005 Dec;3(12):2619–2626.
156. Castaman G, Rodeghiero F, Tosetto A, Cappelletti A, Baudo F, Eikenboom JC, Federici AB, Lethagen S, Linari S, Lusher J, et al. Hemorrhagic symptoms and bleeding risk in obligatory carriers of type 3 von Willebrand disease: an international, multicenter study. *J Thromb Haemost* 2006 Oct;4(10):2164–2169.
157. Kumar S, Pruthi RK, Nichols WL. Acquired von Willebrand's syndrome: a single institution experience. *Am J Hematol* 2003 Apr;72(4): 243–247.
158. Rodgers RP, Levin J. A critical reappraisal of the bleeding time. *Semin Thromb Hemost* 1990 Jan;16(1):1–20.
159. Cattaneo M, Federici AB, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Stabile F, Bucciarelli P. Evaluation of the PFA-100 system in the diagnosis and therapeutic monitoring of patients with von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1999 Jul;82(1):35–39.
160. Cattaneo M, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Zighetti ML. Evaluation of platelet function with the PFA-100 system in patients with congenital defects of platelet secretion. *Thromb Res* 1999 Nov;96(3):213–217.
161. Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F, Martin I, Boyer-Neumann C, Trossaert M, Meyer D. Screening for von Willebrand disease with a new analyzer using high shear stress: a study of 60 cases. *Blood* 1998 Feb;91(4):1325–1331.
162. Quiroga T, Goycoolea M, Munoz B, Morales M, Aranda E, Panes O, Pereira J, Mezzano D. Template bleeding time and PFA-100 have low sensitivity to screen patients with hereditary mucocutaneous hemorrhages: comparative study in 148 patients. *J Thromb Haemost* 2004 Jun;2(6):892–898.
163. Dean JA, Blanchette VS, Carcao MD, Stain AM, Sparling CR, Siekmann J, Turecek PL, Lillicrap D, Rand ML. von Willebrand disease in a pediatric-based population—comparison of type 1 diagnostic criteria and use of the PFA-100® and a von Willebrand factor/ collagen-binding assay. *Thromb Haemost* 2000 Sep;84(3):401–409.

164. Posan E, McBane RD, Grill DE, Motsko CL, Nichols WL. Comparison of PFA-100 testing and bleeding time for detecting platelet hypofunction and von Willebrand disease in clinical practice. *Thromb Haemost* 2003 Sep;90(3):483–490.
165. Schlammadinger A, Kerenyi A, Muszbek L, Boda Z. Comparison of the O'Brien filter test and the PFA-100 platelet analyzer in the laboratory diagnosis of von Willebrand's disease. *Thromb Haemost* 2000 Jul;84(1):88–92.
166. Cariappa R, Wilhite TR, Parvin CA, Luchtman- Jones L. Comparison of PFA-100 and bleeding time testing in pediatric patients with suspected hemorrhagic problems. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003 Jun;25(6):474–479.
167. Kunicki TJ, Baronciani L, Canciani MT, Giannello F, Head SR, Mondala TS, Salomon DR, Federici AB. An association of candidate gene haplotypes and bleeding severity in von Willebrand disease type 2A, 2B, and 2M pedigrees. *J Thromb Haemost* 2006 Jan;4(1): 137–147.
168. Michiels JJ, van de Velde A, van Vliet HH, van der Planken M, Schroyens W, Berneman Z. Response of von Willebrand factor parameters to desmopressin in patients with type 1 and type 2 congenital von Willebrand disease: diagnostic and therapeutic implications. *Semin Thromb Hemost* 2002 Apr;28(2):111–132.
169. Federici AB, Canciani MT, Forza I, Mannucci PM, Marchese P, Ware J, Ruggeri ZM. A sensitive ristocetin co-factor activity assay with recombinant glycoprotein Ib alpha for the diagnosis of patients with low von Willebrand factor levels. *Haematologica* 2004 Jan;89(1): 77–85.
170. Vanhoorelbeke K, Cauwenberghs N, Vauterin S, Schlammadinger A, Mazurier C, Deckmyn H. A reliable and reproducible ELISA method to measure ristocetin cofactor activity of von Willebrand factor. *Thromb Haemost* 2000 Jan;83(1):107–113.
171. Vanhoorelbeke K, Pareyn I, Schlammadinger A, Vauterin S, Hoylaerts MF, Arnout J, Deckmyn H. Plasma glycolalicin as a source of GPIb-alpha in the von Willebrand factor ristocetin cofactor ELISA. *Thromb Haemost* 2005 Jan;93(1): 165–171.
172. Murdock PJ, Woodhams BJ, Matthews KB, Pasi KJ, Goodall AH. von Willebrand factor activity detected in a monoclonal antibodybased ELISA: an alternative to the ristocetin cofactor platelet agglutination assay for diagnostic use. *Thromb Haemost* 1997 Oct; 78(4):1272–1277.
173. Caron C, Hilbert L, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H, Goudemand J, Mazurier C. Measurement of von Willebrand factor binding to a recombinant fragment of glycoprotein Ib α in an enzyme-linked immunosorbent assaybased method: performances in patients with type 2B von Willebrand disease. *Br J Haematol* 2006; 133(6):655.
174. Fischer BE, Thomas KB, Dorner F. von Willebrand factor: measuring its antigen or function? Correlation between the level of antigen, activity, and multimer size using various detection systems. *Thromb Res* 1998 Jul;91(1):39–43.
175. Favaloro EJ, Bonar R, Kershaw G, Sioufi J, Hertzberg M, Street A, Lloyd J, Marsden K. Laboratory diagnosis of von Willebrand's disorder: quality and diagnostic improvements driven by peer review in a multilaboratory test process. *Haemophilia* 2004 May;10(3):232–242.
176. Favaloro EJ, Thom J, Baker R, Australasian Society for Thrombosis and Haemostasis (ASTH) Emerging Technology Group. Assessment of current diagnostic practice and efficacy in testing for von Willebrand's disorder: results from the second Australasian multilaboratory survey. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000 Dec;11(8):729–737.
177. Hayes TE, Brandt JT, Chandler WL, Eby CS, Kottke-Marchant K, Krishnan J, Lefkowitz JB, Olson JD, Rund CR, Van Cott EM, et al. External peer review quality assurance testing in von Willebrand disease: the recent experience of the United States College of American Pathologists proficiency testing program. *Semin Thromb Hemost* 2006 Jul;32(5):499–504.
178. Kitchen S, Jennings I, Woods TA, Kitchen DP, Walker ID, Preston FE. Laboratory tests for measurement of von Willebrand factor show poor agreement among different centers: results from the United Kingdom National External Quality Assessment Scheme for Blood Coagulation. *Semin Thromb Hemost* 2006 Jul;32(5):492–498.
179. Meijer P, Haverkate F. An external quality assessment program for von Willebrand factor laboratory analysis: an overview from the European concerted action on thrombosis and disabilities foundation. *Semin Thromb Hemost* 2006 Jul;32(5):485–491.
180. Budde U, Pieconka A, Will K, Schneppenheim R. Laboratory testing for von Willebrand disease: contribution of multimer analysis to diagnosis and classification. *Semin Thromb Hemost* 2006 Jul;32(5):514–521.
181. Studt JD, Budde U, Schneppenheim R, Eisert R, von Depka Prondzinski M, Ganser A, Barthels M. Quantification and facilitated comparison of von Willebrand factor multimer patterns by densitometry. *Am J Clin Pathol* 2001 Oct;116(4):567–574.
182. Scott JP, Montgomery RR. The rapid differentiation of type IIb von Willebrand's disease from platelet-type (pseudo-) von Willebrand's disease by the "neutral" monoclonal antibody binding assay. *Am J Clin Pathol* 1991 Dec;96(6): 723–728.
183. Favaloro EJ. Detection of von Willebrand disorder and identification of qualitative von Willebrand factor defects: Direct comparison of commercial ELISA-based von Willebrand factor activity options. *Am J Clin Pathol* 2000 Oct;114(4):608–618.
184. Neugebauer BM, Goy C, Budek I, Seitz R. Comparison of two von Willebrand factor collagen-binding assays with different binding affinities for low, medium, and high multimers of von Willebrand factor. *Semin Thromb Hemost* 2002 Apr;28(2):139–148.
185. Favaloro EJ. Collagen binding assay for von Willebrand factor (VWF:CBA): detection of von Willebrand's disease (VWD), and discrimination of VWD subtypes, depends on collagen source. *Thromb Haemost* 2000 Jan;83(1):127–135.
186. Favaloro EJ, Henniker A, Facey D, Hertzberg M. Discrimination of von Willebrand's disease (VWD) subtypes: direct comparison of von Willebrand factor:collagen binding assay (VWF:CBA) with monoclonal antibody (MAB) based VWF-capture systems. *Thromb Haemost* 2000 Oct;84(4):541–547.
187. Kroner PA, Foster PA, Fahs SA, Montgomery RR. The defective interaction between von Willebrand factor and factor VIII in a patient with type 1 von Willebrand disease is caused by substitution of Arg19 and His54 in mature von Willebrand factor. *Blood* 1996 Feb;87(3): 1013–1021.

188. Rodgers SE, Lerda NV, Favaloro EJ, Duncan EM, Casey GJ, Quinn DM, Hertzberg M, Lloyd JV. Identification of von Willebrand disease type 2N (Normandy) in Australia: a cross-laboratory investigation using different methods. *Am J Clin Pathol* 2002 Aug;118(2):269–276.
189. Favaloro EJ, Lillicrap D, Lazzari MA, Cattaneo M, Mazurier C, Woods A, Meschengieser S, Blanco A, Kempfer AC, Hubbard A, et al. von Willebrand disease: laboratory aspects of diagnosis and treatment. *Haemophilia* 2004 Oct;10 Suppl 4:164–168.
190. Federici AB, Canciani MT, Forza I, Cozzi G. Ristocetin cofactor and collagen binding activities normalized to antigen levels for a rapid diagnosis of type 2 von Willebrand disease—single center comparison of four different assays. *Thromb Haemost* 2000 Dec;84(6):1127–1128.
191. Veyradier A, Fressinaud E, Meyer D. Laboratory diagnosis of von Willebrand disease. *Int J Clin Lab Res* 1998;28(4):201–210.
192. Tomasulo PA, Richards W, Bailey M, Gajewski M, Aster RJ, Lazerson J. Preselection of donors to improve the quality of cryoprecipitate. *Am J Hematol* 1980 Apr;8(2):191–196.
193. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Assays of von Willebrand factor antigen and ristocetin cofactor activity: approved guideline. Wayne, PA: NCCLS; 2002. H51-A.
194. Sadler JE, Rodeghiero F, ISTH SSC Subcommittee on von Willebrand Factor. Provisional criteria for the diagnosis of VWD type 1. *J Thromb Haemost* 2005 Apr;3(4):775–777.
195. Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L, Favaloro JW. Reassessment of ABO blood group, sex, and age on laboratory parameters used to diagnose von Willebrand disorder: potential influence on the diagnosis vs the potential association with risk of thrombosis. *Am J Clin Pathol* 2005 Dec;124(6):910–917.
196. Nitu-Whalley IC, Lee CA, Griffioen A, Jenkins PV, Pasi KJ. Type 1 von Willebrand disease— a clinical retrospective study of the diagnosis, the influence of the ABO blood group and the role of the bleeding history. *Br J Haematol* 2000 Feb;108(2):259–264.
197. Ginsburg D. Molecular genetics of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1999 Aug;82(2):585–591.
198. Montgomery RR, Kroner PA. Von Willebrand disease: a common pediatric disorder. *Pediatr Ann* 2001 Sep;30(9):534–540.
199. Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem* 1998;67: 395–424.
200. Montgomery RR. Structure and function of von Willebrand factor. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN, eds. *Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. 249–274.
201. Montgomery RR, Collier BS. von Willebrand disease. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, eds. *Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice*. 3rd ed. Philadelphia: JB Lippincott Company; 1994. 134–168.
202. van Genderen PJ, Boertjes RC, van Mourik JA. Quantitative analysis of von Willebrand factor and its propeptide in plasma in acquired von Willebrand syndrome. *Thromb Haemost* 1998 Sep;80(3):495–498.
203. Shelton-Inloes BB, Chehab FF, Mannucci PM, Federici AB, Sadler JE. Gene deletions correlate with the development of alloantibodies in von Willebrand disease. *J Clin Invest* 1987 May; 79(5):1459–1465.
204. Sadler JE. Slippery criteria for von Willebrand disease type 1. *J Thromb Haemost* 2004 Oct; 2(10):1720–1723.
205. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays; approved guideline. Wayne, PA: NCCLS; 2003. H21-A4.
206. Favaloro EJ, Nair SC, Forsyth CJ. Collection and transport of samples for laboratory testing in von Willebrand's disease (VWD): time for a reappraisal? *Thromb Haemost* 2001 Dec;86(6): 1589–1590.
207. Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J. Potential laboratory misdiagnosis of hemophilia and von Willebrand disorder owing to cold activation of blood samples for testing. *Am J Clin Pathol* 2004 Nov;122(5):686–692.
208. Preston FE, Kitchen S. Quality control and factor VIII assays. *Haemophilia* 1998 Jul;4(4): 651–653.
209. Preston FE, Kitchen S, Jennings I, Woods TA, Makris M. SSC/ISTH classification of hemophilia A: can hemophilia center laboratories achieve the new criteria? *J Thromb Haemost* 2004 Feb;2(2):271–274.
210. van den Besselaar AM, Haas FJ, Kuypers AW. Harmonisation of factor VIII:C assay results: study within the framework of the Dutch project 'Calibration 2000'. *Br J Haematol* 2006 Jan;132(1):75–79.
211. Berntorp E, Petrini P. Long-term prophylaxis in von Willebrand disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005 Apr;16 (Suppl 1):S23–S26.
212. Sumner M, Williams J. Type 3 von Willebrand disease: assessment of complications and approaches to treatment— results of a patient and Hemophilia Treatment Center Survey in the United States. *Haemophilia* 2004 Jul;10(4): 360–366.
213. Kaufmann JE, Vischer UM. Cellular mechanisms of the hemostatic effects of desmopressin (DDAVP). *J Thromb Haemost* 2003 Apr;1(4):682–689.
214. Mannucci PM. Desmopressin (DDAVP) in the treatment of bleeding disorders: the first 20 years. *Blood* 1997 Oct;90(7):2515–2521.
215. Mannucci PM. Treatment of von Willebrand's disease. *N Engl J Med* 2004 Aug;351(7): 683–694.
216. Kobrinsky NL, Doyle JJ, Israels ED, Winter JS, Cheang MS, Walker RD, Bishop AJ. Absent factor VIII response to synthetic vasopressin analogue (DDAVP) in nephrogenic diabetes insipidus. *Lancet* 1985 Jun;1(8441):1293–1294.
217. Kaufmann JE, Oksche A, Wollheim CB, Gunther G, Rosenthal W, Vischer UM. Vasopressin-induced von Willebrand factor secretion from endothelial cells involves V2 receptors and cAMP. *J Clin Invest* 2000 Jul;106(1):107–116.
218. Mannucci PM, Ruggeri ZM, Pareti FI, Capitanio A. 1-Deamino-8-d-arginine vasopressin: a new pharmacological approach to the management of haemophilia and von Willebrand's disease. *Lancet* 1977 Apr;1(8017):869–872.
219. Cash JD, Gader AM, da Costa J. Proceedings: the release of plasminogen activator and factor VIII to lysine vasopressin, arginine vasopressin, 1-desamino-8-d-arginine vasopressin, angiotensin and oxytocin in man. *Br J Haematol* 1974 Jun;27(2):363–364.

220. Mannucci PM, Åberg M, Nilsson IM, Robertson B. Mechanism of plasminogen activator and factor VIII increase after vasoactive drugs. *Br J Haematol* 1975 May;30(1):81–93.
221. Castaman G, Lattuada A, Mannucci PM, Rodeghiero F. Factor VIII:C increases after desmopressin in a subgroup of patients with autosomal recessive severe von Willebrand disease. *Br J Haematol* 1995 Jan;89(1):147–151.
222. Castaman G, Rodeghiero F. Desmopressin and type II B von Willebrand disease. *Haemophilia* 1996 Apr;2(2):73–77.
223. de la Fuente B, Kasper CK, Rickles FR, Hoyer LW. Response of patients with mild and moderate hemophilia A and von Willebrand's disease to treatment with desmopressin. *Ann Intern Med* 1985 Jul;103(1):6–14.
224. Federici AB, Mazurier C, Berntorp E, Lee CA, Scharrer I, Goudemand J, Lethagen S, Nitu I, Ludwig G, Hilbert L, et al. Biologic response to desmopressin in patients with severe type 1 and type 2 von Willebrand disease: results of a multicenter European study. *Blood* 2004 Mar;103(6):2032–2038.
225. Lethagen S, Harris AS, Sjörin E, Nilsson IM. Intranasal and intravenous administration of desmopressin: effect on FVIII/vWF, pharmacokinetics and reproducibility. *Thromb Haemost* 1987 Dec;58(4):1033–1036.
226. Mannucci PM, Bettega D, Cattaneo M. Patterns of development of tachyphylaxis in patients with haemophilia and von Willebrand disease after repeated doses of desmopressin (DDAVP). *Br J Haematol* 1992 Sep;82(1):87–93.
227. Mannucci PM, Canciani MT, Rota L, Donovan BS. Response of factor VIII/von Willebrand factor to DDAVP in healthy subjects and patients with haemophilia A and von Willebrand's disease. *Br J Haematol* 1981 Feb;47(2):283–293.
228. Mazurier C, Gaucher C, Jorieux S, Goudemand M. Biological effect of desmopressin in eight patients with type 2N ('Normandy') von Willebrand disease. Collaborative Group. *Br J Haematol* 1994 Dec;88(4):849–854.
229. McKeown LP, Connaghan G, Wilson O, Hansmann K, Merryman P, Gralnick HR. 1-Desamino-8-arginine-vasopressin corrects the hemostatic defects in type 2B von Willebrand's disease. *Am J Hematol* 1996 Feb;51(2):158–163.
230. Revel-Vilk S, Schmutz M, Carcao MD, Blanchette P, Rand ML, Blanchette VS. Desmopressin (DDAVP) responsiveness in children with von Willebrand disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003 Nov;25(11):874–879.
231. Rodeghiero F, Castaman G, Di Bona E, Ruggeri M. Consistency of responses to repeated DDAVP infusions in patients with von Willebrand's disease and hemophilia A. *Blood* 1989 Nov;74(6):1997–2000.
232. Rodeghiero F, Castaman G, Di Bona E, Ruggeri M, Lombardi R, Mannucci PM. Hyper-responsiveness to DDAVP for patients with type I von Willebrand's disease and normal intra-platelet von Willebrand factor. *Eur J Haematol* 1988 Feb;40(2):163–167.
233. Mannucci PM, Vicente V, Alberca I, Sacchi E, Longo G, Harris AS, Lindquist A. Intravenous and subcutaneous administration of desmopressin (DDAVP) to hemophiliacs: pharmacokinetics and factor VIII responses. *Thromb Haemost* 1987 Dec;58(4):1037–1039.
234. Bond L, Bevan D. Myocardial infarction in a patient with hemophilia treated with DDAVP. *N Engl J Med* 1988 Jan;318(2):121.
235. Byrnes JJ, Larcada A, Moake JL. Thrombosis following desmopressin for uremic bleeding. *Am J Hematol* 1988 May;28(1):63–65.
236. Virtanen R, Kauppila M, Itälä M. Percutaneous coronary intervention with stenting in a patient with haemophilia A and an acute myocardial infarction following a single dose of desmopressin. *Thromb Haemost* 2004 Nov; 92(5):1154–1156.
237. Ruggeri ZM, Mannucci PM, Lombardi R, Federici AB, Zimmerman TS. Multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor following administration of DDAVP: implications for pathophysiology and therapy of von Willebrand's disease subtypes. *Blood* 1982 Jun;59(6):1272–1278.
238. van Schooten CJ, Tjernberg P, Westein E, Terraube V, Castaman G, van Mourik JA, Hollestelle MJ, Vos HL, Bertina RM, van den Berg HM, et al. Cysteine-mutations in von Willebrand factor associated with increased clearance. *J Thromb Haemost* 2005 Oct;3(10): 2228–2237.
239. Casonato A, Steffan A, Pontara E, Zucchetto A, Rossi C, De Marco L, Girolami A. Post-DDAVP thrombocytopenia in type 2B von Willebrand disease is not associated with platelet consumption: failure to demonstrate glycoconjugate increase or platelet activation. *Thromb Haemost* 1999 Feb;81(2):224–228.
240. Allen GC, Armfield DR, Bontempo FA, Kingsley LA, Goldstein NA, Post JC. Adenotonsillectomy in children with von Willebrand disease. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999 May; 125(5):547–551.
241. Derkay CS, Werner E, Plotnick E. Management of children with von Willebrand disease undergoing adenotonsillectomy. *Am J Otolaryngol* 1996 May;17(3):172–177.
242. Federici AB, Sacco R, Stabile F, Carpenedo M, Zingaro E, Mannucci PM. Optimising local therapy during oral surgery in patients with von Willebrand disease: effective results from a retrospective analysis of 63 cases. *Haemophilia* 2000 Mar;6(2):71–77.
243. Jimenez-Yuste V, Prim MP, De Diego JI, Villar A, Quintana M, Rabanal I, Sastre N, Hernandez-Navarro F. Otolaryngologic surgery in children with von Willebrand disease. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002 Dec;128(12):1365–1368.
244. Kreuz W, Mentzer D, Becker S, Scharrer I, Kornhuber B. Haemate-P® in children with von Willebrand's disease. *Haemostasis* 1994 Sep; 24(5):304–310.
245. Manno CS, Butler RB, Farace L, Cohen AR. Successful management of patients with type 1 von Willebrand's disease with desmopressin acetate for tonsillectomy (abstract). *Haemophilia* 1998;4:288.
246. Mariana G, Ciavarella N, Mazzucconi MG, Antoncicchi S, Solinas S, Ranieri P, Pettini P, Agrestini F, Mandelli F. Evaluation of the effectiveness of DDAVP in surgery and in bleeding episodes in haemophilia and von Willebrand's disease. A study on 43 patients. *Clin Lab Haematol* 1984;6(3):229–238.
247. Nitu-Whalley IC, Griffioen A, Harrington C, Lee CA. Retrospective review of the management of elective surgery with desmopressin and clotting factor concentrates in patients with von Willebrand disease. *Am J Hematol* 2001 Apr; 66(4):280–284.

248. Saulnier J, Marey A, Horellou MH, Goudemand J, Lepoutre F, Donazzan M, Gazengel C, Torchet M, Letang C, Schuhmann C, et al. Evaluation of desmopressin for dental extractions in patients with hemostatic disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994 Jan;77(1):6–12.
249. Shah SB, Lalwani AK, Koerper MA. Perioperative management of von Willebrand's disease in otolaryngologic surgery. *Laryngoscope* 1998 Jan;108(1 Pt 1):32–36.
250. Theiss W, Schmidt G. DDAVP in von Willebrand's disease: repeated administration and the behaviour of the bleeding time. *Thromb Res* 1978 Dec;13(6):1119–1123.
251. Dobrkowska A, Krzenski U, Chediak JR. Pharmacokinetics, efficacy and safety of Humate-P® in von Willebrand disease. *Haemophilia* 1998;(4 Suppl 3):33–39.
252. Hanna WT, Bona RD, Zimmerman CE, Carta CA, Hebert GZ, Rickles FR. The use of intermediate and high purity factor VIII products in the treatment of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1994 Feb;71(2):173–179.
253. Lillicrap D, Poon MC, Walker I, Xie F, Schwartz BA. Efficacy and safety of the factor VIII/ von Willebrand factor concentrate, Haemate- P/Humate-P: ristocetin cofactor unit dosing in patients with von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2002 Feb;87(2):224–230.
254. Lubetsky A, Schulman S, Varon D, Martinowitz U, Kenet G, Gitel S, Inbal A. Safety and efficacy of continuous infusion of a combined factor VIII-von Willebrand factor (vWF) concentrate (Haemate-P®) in patients with von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1999 Feb;81(2): 229–233.
255. Michiels JJ, Berneman ZN, van der Planken M, Schroyens W, Budde U, van Vliet HH. Bleeding prophylaxis for major surgery in patients with type 2 von Willebrand disease with an intermediate purity factor VIII-von Willebrand factor concentrate (Haemate-P). *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004 Jun;15(4):323–330.
256. Thompson AR, Gill JC, Ewenstein BM, Mueller- Velten G, Schwartz BA, Humate-P® Study Group. Successful treatment for patients with von Willebrand disease undergoing urgent surgery using factor VIII/VWF concentrate (Humate-P®). *Haemophilia* 2004 Jan;10(1):42–51.
257. Holmberg L, Nilsson IM, Borge L, Gunnarsson M, Sjorin E. Platelet aggregation induced by 1-desamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) in type IIB von Willebrand's disease. *N Engl J Med* 1983 Oct;309(14):816–821.
258. Fowler WE, Berkowitz LR, Roberts HR. DDAVP for type IIB von Willebrand disease. *Blood* 1989 Oct;74(5):1859–1860.
259. Casonato A, Pontara E, Dannhaeuser D, Bertomoro A, Sartori MT, Zerbinati P, Girolami A. Re-evaluation of the therapeutic efficacy of DDAVP in type IIB von Willebrand's disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1994 Dec;5(6):959–964.
260. Piot B, Sigaud-Fix M, Huet P, Fressinaud E, Trossaert M, Mercier J. Management of dental extractions in patients with bleeding disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002 Mar;93(3):247–250.
261. Sutor AH. DDAVP is not a panacea for children with bleeding disorders. *Br J Haematol* 2000 Feb;108(2):217–227.
262. Dunn AL, Powers JR, Ribeiro MJ, Rickles FR, Abshire TC. Adverse events during use of intranasal desmopressin acetate for haemophilia A and von Willebrand disease: a case report and review of 40 patients. *Haemophilia* 2000 Jan;6(1):11–14.
263. Lethagen S, Frick K, Sterner G. Antidiuretic effect of desmopressin given in hemostatic dosages to healthy volunteers. *Am J Hematol* 1998 Feb;57(2):153–159.
264. Bertholini DM, Butler CS. Severe hyponatraemia secondary to desmopressin therapy in von Willebrand's disease. *Anaesth Intensive Care* 2000 Apr;28(2):199–201.
265. Das P, Carcao M, Hitzler J. DDAVP-induced hyponatremia in young children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005 Jun;27(6):330–332.
266. Smith TJ, Gill JC, Ambruso DR, Hathaway WE. Hyponatremia and seizures in young children given DDAVP. *Am J Hematol* 1989 Jul;31(3): 199–202.
267. McLeod BC. Myocardial infarction in a blood donor after administration of desmopressin. *Lancet* 1990 Nov;336(8723):1137–1138.
268. Lowe GD. Desmopressin and myocardial infarction. *Lancet* 1989 Apr;1(8643):895–896.
269. Grunwald Z, Sather SD. Intraoperative cerebral infarction after desmopressin administration in infant with end-stage renal disease. *Lancet* 1995 May;345(8961):1364–1365.
270. Levi M, Cromheecke ME, de Jonge E, Prins MH, de Mol BJ, Briët E, Büller HR. Pharmacological strategies to decrease excessive blood loss in cardiac surgery: a meta-analysis of clinically relevant endpoints. *Lancet* 1999 Dec;354(9194): 1940–1947.
271. Kouides PA. Females with von Willebrand disease: 72 years as the silent majority. *Haemophilia* 1998 Jul;4(4):665–676.
272. Kujovich JL. von Willebrand disease and pregnancy. *J Thromb Haemost* 2005 Feb;3(2): 246–253.
273. Mannucci PM. Use of desmopressin (DDAVP) during early pregnancy in factor VIII-deficient women. *Blood* 2005 Apr;105(8):3382.
274. Ray JG. DDAVP use during pregnancy: an analysis of its safety for mother and child. *Obstet Gynecol Surv* 1998 Jul;53(7):450–455.
275. Agrawal YP, Dzik W. The vWF content of factor VIII concentrates. *Transfusion* 2001 Jan;41(1): 153–154.
276. Chang AC, Rick ME, Ross PL, Weinstein MJ. Summary of a workshop on potency and dosage of von Willebrand factor concentrates. *Haemophilia* 1998;4 (Suppl 3):1–6.
277. Mannucci PM, Lattuada A, Ruggeri ZM. Proteolysis of von Willebrand factor in therapeutic plasma concentrates. *Blood* 1994;83(10):3018–3027.
278. Morfini M, Mannucci PM, Tenconi PM, Longo G, Mazzucconi MG, Rodeghiero F, Ciavarella N, De Rosa V, Arter A. Pharmacokinetics of monoclonally-purified and recombinant factor VIII in patients with severe von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1993 Aug;70(2):270–272.

279. Metzner HJ, Hermentin P, Cuesta-Linker T, Langner S, Muller HG, Friedebold J. Characterization of factor VIII/von Willebrand factor concentrates using a modified method of von Willebrand factor multimer analysis. *Haemophilia* 1998;4 (Suppl 3):25–32.
280. Makris M, Colvin B, Gupta V, Shields ML, Smith MP. Venous thrombosis following the use of intermediate purity FVIII concentrate to treat patients with von Willebrand's disease. *Thromb Haemost* 2002 Sep;88(3):387–388.
281. Mannucci PM. Venous thromboembolism in von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2002 Sep;88(3):378–379.
282. Mannucci PM, Chediak J, Hanna W, Byrnes J, Ledford M, Ewenstein BM, Retzios AD, Kapelan BA, Schwartz RS, Kessler C, et al. Treatment of von Willebrand disease with a high-purity factor VIII/von Willebrand factor concentrate: a prospective, multicenter study. *Blood* 2002 Jan;99(2):450–456.
283. Srivastava A. von Willebrand disease in the developing world. *Semin Hematol* 2005 Jan;42(1):36–41.
284. Budde U, Metzner HJ, Muller HG. Comparative analysis and classification of von Willebrand factor/factor VIII concentrates: impact on treatment of patients with von Willebrand disease. *Semin Thromb Hemost* 2006 Sep;32(6): 626–635.
285. Lethagen S, Carlson M, Hillarp A. A comparative in vitro evaluation of six von Willebrand factor concentrates. *Haemophilia* 2004 May;10(3):243–249.
286. FDA Additional Standards for Human Blood and Blood Products, 21 C.F.R. §640.54(b)(1) (2006).
287. Pomper GJ, Wu Y, Snyder EL. Risks of transfusion-transmitted infections: 2003. *Curr Opin Hematol* 2003 Nov;10(6):412–418.
288. National Hemophilia Foundation (NHF). 2003. MASAC Bulletin 151. MASAC recommendations concerning the treatment of hemophilia and other bleeding disorders. Available at: <http://www.hemophilia.org/NHFWeb/MainPgs/MainNHF.aspx?menuid=57&contentid=203>.
289. Evatt BL, Austin H, Leon G, Ruiz-Saez A, De Bosch N. Haemophilia therapy: assessing the cumulative risk of HIV exposure by cryoprecipitate. *Haemophilia* 1999 Sep;5(5):295–300.
290. Scharrer I, Vigh T, Aygoren-Pürsün E. Experience with Haemate-P in von Willebrand's disease in adults. *Haemostasis* 1994 Sep;24(5):298–303.
291. Gill JC, Ewenstein BM, Thompson AR, Mueller- Velten G, Schwartz BA, Humate-P® Study Group. Successful treatment of urgent bleeding in von Willebrand disease with factor VIII/VWF concentrate (Humate-P®): use of the ristocetin cofactor assay (VWF:RCo) to measure potency and to guide therapy. *Haemophilia* 2003 Nov;9(6):688–695.
292. Turecek PL, Gritsch H, Richter G, Auer W, Pichler L, Schwarz HP. Assessment of bleeding for the evaluation of therapeutic preparations in small animal models of antibody-induced hemophilia and von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1997 Mar;77(3):591–599.
293. Castillo R, Escolar G, Monteagudo J, Aznar- Salatti J, Reverter JC, Ordinas A. Hemostasis in patients with severe von Willebrand disease improves after normal platelet transfusion and normalizes with further correction of the plasma defect. *Transfusion* 1997 Aug;37(8):785–790.
294. Castillo R, Monteagudo J, Escolar G, Ordinas A, Magallon M, Martin Villar J. Hemostatic effect of normal platelet transfusion in severe von Willebrand disease patients. *Blood* 1991 May;77(9):1901–1905.
295. Miller RA, May MW, Hendry WF, Whitfield HN, Wickham JE. The prevention of secondary haemorrhage after prostatectomy: the value of antifibrinolytic therapy. *Br J Urol* 1980 Feb;52(1):26–28.
296. Mannucci PM. Hemostatic drugs. *N Engl J Med* 1998 Jul;339(4):245–253.
297. Rakocz M, Mazar A, Varon D, Spierer S, Blinder D, Martinowitz U. Dental extractions in patients with bleeding disorders. The use of fibrin glue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993 Mar;75(3):280–282.
298. Zwischenberger JB, Brunston RL Jr, Swann JR, Conti VR. Comparison of two topical collagenbased hemostatic sponges during cardiothoracic procedures. *J Invest Surg* 1999 Mar;12(2):101–106.
299. National Hemophilia Foundation (NHF). 2001. MASAC Recommendation 128. Recommendations for hepatitis A and B immunization of individuals with bleeding disorders. Available at: <http://www.hemophilia.org/NHFWeb/MainPgs/MainNHF.aspx?menuid=57&contentid=240>.
300. Barbui T, Rodeghiero F, Dini E. The aspirin tolerance test in von Willebrand's disease. *Thromb Haemost* 1977 Aug;38(2): 510–513.
301. Rosenstein R, Zacharski LR. The diagnostic value of the aspirin tolerance test. *Thromb Res* 1979;16(1-2):219–230.
302. Stuart MJ, Miller ML, Davey FR, Wolk JA. The post-aspirin bleeding time: a screening test for evaluating haemostatic disorders. *Br J Haematol* 1979 Dec;43(4):649–659.
303. Federici AB, Stabile F, Castaman G, Canciani MT, Mannucci PM. Treatment of acquired von Willebrand syndrome in patients with monoclonal gammopathy of uncertain significance: comparison of three different therapeutic approaches. *Blood* 1998 Oct;92(8):2707–2711.
304. Arkel YS, Lynch J, Kamiyama M. Treatment of acquired von Willebrand syndrome with intravenous immunoglobulin. *Thromb Haemost* 1994 Oct;72(4):643–644.
305. Macik BG, Gabriel DA, White GC 2nd, High K, Roberts H. The use of high-dose intravenous gamma-globulin in acquired von Willebrand syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 1988 Feb;112(2):143–146.
306. van Genderen PJ, Terpstra W, Michiels JJ, Kapteijn L, van Vliet HH. High-dose intravenous immunoglobulin delays clearance of von Willebrand factor in acquired von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1995 May;73(5):891–892.
307. Basso IN, Keeling D. Myocardial infarction following recombinant activated factor VII in a patient with type 2A von Willebrand disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004 Sep;15(6): 503–504.
308. Weinstein M, Ware JA, Troll J, Salzman E. Changes in von Willebrand factor during cardiac surgery: effect of desmopressin acetate. *Blood* 1988 Jun;71(6):1648–1655.
309. Rahmani R, Rozen P, Papo J, Iellin A, Seligsohn U. Association of von Willebrand's disease with plasma cell dyscrasia and gastrointestinal angiodysplasia. *Isr J Med Sci* 1990 Sep;26(9):504–509.

310. Veyradier A, Balian A, Wolf M, Giraud V, Montembault S, Obert B, Dagher I, Chaput JC, Meyer D, Naveau S. Abnormal von Willebrand factor in bleeding angiodysplasias of the digestive tract. *Gastroenterology* 2001 Feb;120(2):346–353.
311. Morris ES, Hampton KK, Nesbitt IM, Preston FE, Thomas EG, Makris M. The management of von Willebrand's disease-associated gastrointestinal angiodysplasia. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001 Mar;12(2): 143–148.
312. Baumgartner-Parzer SM, Wagner L, Reining G, Sexl V, Nowotny P, Muller M, Brunner M, Waldhausl W. Increase by tri-iodothyronine of endothelin-1, fibronectin and von Willebrand factor in cultured endothelial cells. *J Endocrinol* 1997 Aug;154(2):231–239.
313. Michiels JJ, Schroyens W, Berneman Z, van der Planken M. Acquired von Willebrand syndrome type 1 in hypothyroidism: reversal after treatment with thyroxine. *Clin Appl Thromb Hemost* 2001 Apr;7(2):113–115.
314. Kirtava A, Crudder S, Dilley A, Lally C, Evatt B. Trends in clinical management of women with von Willebrand disease: a survey of 75 women enrolled in haemophilia treatment centres in the United States. *Haemophilia* 2004 Mar;10(2): 158–161.
315. Ragni MV, Bontempo FA, Hassett AC. von Willebrand disease and bleeding in women. *Haemophilia* 1999 Sep;5(5):313–317.
316. Chuong CJ, Brenner PF. Management of abnormal uterine bleeding. *Am J Obstet Gynecol* 1996 Sep;175(3 Pt 2):787–792.
317. Kadir RA, Lee CA, Sabin CA, Pollard D, Economides DL. DDAVP nasal spray for treatment of menorrhagia in women with inherited bleeding disorders: a randomized placebo-controlled crossover study. *Haemophilia* 2002 Nov;8(6):787–793.
318. James A, Matchar DB, Myers ER. Testing for von Willebrand disease in women with menorrhagia: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2004 Aug;104(2):381–388.
319. Schafer AI. Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on platelet function and systemic hemostasis. *J Clin Pharmacol* 1995 Mar;35(3): 209–219.
320. Amesse LS, Pfaff-Amesse T, Leonardi R, Uddin D, French JA 2nd. Oral contraceptives and DDAVP nasal spray: patterns of use in managing vWD-associated menorrhagia: a single-institution study. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005 Jul;27(7):357–363.
321. Kouides PA, Phatak PD, Burkart P, Braggins C, Cox C, Bernstein Z, Belling L, Holmberg P, MacLaughlin W, Howard F. Gynaecological and obstetrical morbidity in women with type I von Willebrand disease: results of a patient survey. *Haemophilia* 2000 Nov;6(6):643–648.
322. Foster PA. The reproductive health of women with von Willebrand Disease unresponsive to DDAVP: results of an international survey. On behalf of the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. *Thromb Haemost* 1995 Aug;74(2):784–790.
323. Greer IA, Lowe GD, Walker JJ, Forbes CD. Haemorrhagic problems in obstetrics and gynaecology in patients with congenital coagulopathies. *Br J Obstet Gynaecol* 1991 Sep;98(9):909–918.
324. Kingman CE, Kadir RA, Lee CA, Economides DL. The use of levonorgestrel-releasing intrauterine system for treatment of menorrhagia in women with inherited bleeding disorders. *BJOG* 2004 Dec;111(12):1425–1428.
325. Leissinger C, Becton D, Cornell C, Jr., Cox Gill J. High-dose DDAVP intranasal spray (Stimate) for the prevention and treatment of bleeding in patients with mild haemophilia A, mild or moderate type 1 von Willebrand disease and symptomatic carriers of haemophilia A. *Haemophilia* 2001 May;7(3):258–266.
326. Rodeghiero F, Castaman G, Mannucci PM. Prospective multicenter study on subcutaneous concentrated desmopressin for home treatment of patients with von Willebrand disease and mild or moderate hemophilia A. *Thromb Haemost* 1996 Nov;76(5):692–696.
327. Mohri H. High dose of tranexamic acid for treatment of severe menorrhagia in patients with von Willebrand disease. *J Thromb Thrombolysis* 2002 Dec;14(3):255–257.
328. Petitti DB. Clinical practice. Combination estrogen-progestin oral contraceptives. *N Engl J Med* 2003 Oct;349(15):1443–1450.
329. Rosendaal FR, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP. Female hormones and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002 Feb;22(2): 201–210.
330. Beller FK, Ebert C. Effects of oral contraceptives on blood coagulation. A review. *Obstet Gynecol Surv* 1985 Jul;40(7):425–436.
331. Kadir RA, Economides DL, Sabin CA, Owens D, Lee CA. Variations in coagulation factors in women: effects of age, ethnicity, menstrual cycle and combined oral contraceptive. *Thromb Haemost* 1999 Nov;82(5):1456–1461.
332. Middeldorp S, Meijers JC, van den Ende AE, van Enk A, Bouma BN, Tans G, Rosing J, Prins MH, Büller HR. Effects on coagulation of levonorgestrel- and desogestrel-containing low dose oral contraceptives: a cross-over study. *Thromb Haemost* 2000 Jul;84(1):4–8.
333. Nilsson L, Rybo G. Treatment of menorrhagia. *Am J Obstet Gynecol* 1971 Jul;110(5):713–720.
334. Milman N, Clausen J, Byg KE. Iron status in 268 Danish women aged 18–30 years: influence of menstruation, contraceptive method, and iron supplementation. *Ann Hematol* 1998 Jul; 77(1–2):13–19.
335. Rivera R, Almonte H, Arreola M, Lopez F, Monarrez G, Navarro C, Ortiz E, Perkin GW, Ruiz R. The effects of three different regimens of oral contraceptives and three different intrauterine devices on the levels of hemoglobin, serum iron and iron binding capacity in anemic women. *Contraception* 1983 Mar;27(3): 311–327.
336. WHO Task Force. Effects of contraceptives on hemoglobin and ferritin. *Contraception* 1998 Nov;58(5):262–273.
337. Grimes DA. The safety of oral contraceptives: epidemiologic insights from the first 30 years. *Am J Obstet Gynecol* 1992 Jun;166(6 Pt 2): 1950–1954.
338. Sicat BL. Ortho Evra, a new contraceptive patch. *Pharmacotherapy* 2003 Apr;23(4): 472–480.

339. Davis A, Godwin A, Lippman J, Olson W, Kafrisen M. Triphasic norgestimate-ethinyl estradiol for treating dysfunctional uterine bleeding. *Obstet Gynecol* 2000 Dec;96(6): 913–920.
340. Kadir RA, Economides DL, Sabin CA, Pollard D, Lee CA. Assessment of menstrual blood loss and gynaecological problems in patients with inherited bleeding disorders. *Haemophilia* 1999 Jan;5(1):40–48.
341. Rubin G, Wortman M, Kouides PA. Endometrial ablation for von Willebrand disease-related menorrhagia—experience with seven cases. *Haemophilia* 2004 Sep;10(5):477–482.
342. Bain C, Cooper KG, Parkin DE. Microwave endometrial ablation versus endometrial resection: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2002 Jun;99(6):983–987.
343. Boujida VH, Philipsen T, Pelle J, Joergensen JC. Five-year follow-up of endometrial ablation: endometrial coagulation versus endometrial resection. *Obstet Gynecol* 2002 Jun;99(6): 988–992.
344. Comino R, Torrejon R. Hysterectomy after endometrial ablation-resection. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2004 Nov;11(4):495–499.
345. Dutton C, Ackerson L, Phelps-Sandall B. Outcomes after rollerball endometrial ablation for menorrhagia. *Obstet Gynecol* 2001 Jul; 98(1):35–39.
346. Phillips G, Chien PF, Garry R. Risk of hysterectomy after 1000 consecutive endometrial laser ablations. *Br J Obstet Gynaecol* 1998 Aug;105(8):897–903.
347. Kuppermann M, Varner RE, Summitt RL Jr, Learman LA, Ireland C, Vittinghoff E, Stewart AL, Lin F, Richter HE, Showstack J, et al. Effect of hysterectomy vs medical treatment on health-related quality of life and sexual functioning: the medicine or surgery (Ms) randomized trial. *JAMA* 2004 Mar;291(12): 1447–1455.
348. Unger JB, Meeks GR. Hysterectomy after endometrial ablation. *Am J Obstet Gynecol* 1996 Dec;175(6):1432–1436.
349. Bottini E, Pareti FI, Mari D, Mannucci PM, Muggiasca ML, Conti M. Prevention of hemoperitoneum during ovulation by oral contraceptives in women with type III von Willebrand disease and afibrinogenemia. Case reports. *Haematologica* 1991 Sep;76(5): 431–433.
350. Ghosh K, Mohanty D, Pathare AV, Jijina F. Recurrent haemoperitoneum in a female patient with type III von Willebrand's disease responded to administration of oral contraceptive. *Haemophilia* 1998 Sep;4(5):767–768.
351. Gomez A, Lucia JF, Perella M, Aguilar C. Haemoperitoneum caused by haemorrhagic corpus luteum in a patient with type 3 von Willebrand's disease. *Haemophilia* 1998 Jan;4(1):60–62.
352. Jarvis RR, Olsen ME. Type I von Willebrand's disease presenting as recurrent corpus hemorrhagicum. *Obstet Gynecol* 2002 May;99(5 Pt 2):887–888.
353. Meschengieser SS, Alberto MF, Salviu J, Bermejo E, Lazzari MA. Recurrent haemoperitoneum in a mild von Willebrand's disease combined with a storage pool deficit. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001 Apr;12(4): 207–209.
354. Kadir RA, Lee CA, Sabin CA, Pollard D, Economides DL. Pregnancy in women with von Willebrand's disease or factor XI deficiency. *Br J Obstet Gynaecol* 1998 Mar;105(3):314–321.
355. Kadir RA. Women and inherited bleeding disorders: pregnancy and delivery. *Semin Hematol* 1999 Jul;36(3 Suppl 4):28–35.
356. Kouides PA. Obstetric and gynaecological aspects of von Willebrand disease. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001 Jun;14(2):381–399.
357. Mannucci PM. How I treat patients with von Willebrand disease. *Blood* 2001 Apr;97(7): 1915–1919.
358. Kullander S, Nilsson IM. Human placental transfer of an antifibrinolytic agent (AMCA). *Acta Obstet Gynecol Scand* 1970;49(3):241–242.
359. Astedt B, Nilsson IM. Recurrent abruptio placentae treated with the fibrinolytic inhibitor tranexamic acid. *Br Med J* 1978 Mar;1(6115): 756–757.
360. Lindoff C, Rybo G, Astedt B. Treatment with tranexamic acid during pregnancy, and the risk of thrombo-embolic complications. *Thromb Haemost* 1993 Aug;70(2):238–240.
361. Storm O, Weber J. Prolonged treatment with tranexamic acid (Cyclocapron) during pregnancy. *Ugeskr Laeger* 1976 Jul;138(29): 1781–1782. (Dan).
362. Sundqvist SB, Nilsson IM, Svanberg L, Cronberg S. Pregnancy and parturition in a patient with severe Glanzmann's thrombasthenia. *Scand J Haematol* 1981 Sep;27(3):159–164.
363. Svanberg L, Astedt B, Nilsson IM. Abruptio placentae—treatment with the fibrinolytic inhibitor tranexamic acid. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1980;59(2):127–130.
364. Walzman M, Bonnar J. Effects of tranexamic acid on the coagulation and fibrinolytic systems in pregnancy complicated by placental bleeding. *Arch Toxicol* 1982;(Suppl 5):214–220.
365. Howorka E, Olasinski R, Wyrzykiewicz T. Effect of EACA administered to female rabbits during pregnancy on the fetuses. *Patol Pol* 1970 Jul; 21(3):311–314. (Pol).
366. Kassam SH, Hadi HA, Fadel HE, Sanchez-Ramos L, Milner PF. Sickle-cell-induced hematuria in pregnancy. The current diagnostic and therapeutic approach. *J Reprod Med* 1984 Feb; 29(2):117–121.
367. Everett C. Incidence and outcome of bleeding before the 20th week of pregnancy: prospective study from general practice. *BMJ* 1997 Jul;315(7099):32–34.
368. Nybo Andersen AM, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ* 2000 Jun;320(7251):1708–1712.
369. Burlingame J, McGaraghan A, Kilpatrick S, Hambleton J, Main E, Laros RK. Maternal and fetal outcomes in pregnancies affected by von Willebrand disease type 2. *Am J Obstet Gynecol* 2001 Jan;184(2):229–230.
370. Caliezi C, Tsakiris DA, Behringer H, Kuhne T, Marbet GA. Two consecutive pregnancies and deliveries in a patient with von Willebrand's disease type 3. *Haemophilia* 1998 Nov;4(6): 845–849.
371. Chediak JR, Alban GM, Maxey B. von Willebrand's disease and pregnancy: management during delivery and outcome of offspring. *Am J Obstet Gynecol* 1986 Sep;155(3):618–624.

372. Stedeford JC, Pittman JA. Von Willebrand's disease and neuroaxial anaesthesia. *Anaesthesia* 2000 Dec;55(12):1228–1229.
373. Ross MG, Ervin MG, Novak D. Placental and fetal physiology. In: Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, eds. *Obstetrics: normal and problem pregnancies*. 4th ed. New York: Churchill Livingstone; 2002. 37–62.
374. Benedetti TJ. Obstetric hemorrhage. In: Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, eds. *Obstetrics: normal and problem pregnancies*. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2005. 503–538.
375. Lee CA, Chi C, Pavord SR, Bolton-Maggs PHB, Pollard D, Hinchcliffe-Wood A, Kadir RA. The obstetric and gynaecological management of women with inherited bleeding disorders—review with guidelines produced by a taskforce of UK Haemophilia Doctors' Organization. *Haemophilia* 2006 Jul;12(4):301–336.
376. Ramsahoye BH, Davies SV, Dasani H, Pearson JF. Obstetric management in von Willebrand's disease: a report of 24 pregnancies and a review of the literature. *Haemophilia* 1995 Apr;1(2):140–144.
377. Conti M, Mari D, Conti E, Muggiasca ML, Mannucci PM. Pregnancy in women with different types of von Willebrand disease. *Obstet Gynecol* 1986 Aug;68(2):282–285.
378. Gardella C, Taylor M, Benedetti T, Hitti J, Critchlow C. The effect of sequential use of vacuum and forceps for assisted vaginal delivery on neonatal and maternal outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2001 Oct;185(4):896–902.
379. Edwards A, Ellwood DA. Ultrasonographic evaluation of the postpartum uterus. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000 Dec;16(7): 640–643.
380. Marchant S, Alexander J, Garcia J, Ashurst H, Alderdice F, Keene J. A survey of women's experiences of vaginal loss from 24 hours to three months after childbirth (the BLiPP study). *Midwifery* 1999 Jun;15(2):72–81.
381. Visness CM, Kennedy KI, Ramos R. The duration and character of postpartum bleeding among breast-feeding women. *Obstet Gynecol* 1997 Feb;89(2):159–163.
382. Dahlman T, Hellgren M, Blomback M. Changes in blood coagulation and fibrinolysis in the normal puerperium. *Gynecol Obstet Invest* 1985;20(1):37–44.
383. Sánchez-Luceros A, Meschengieser SS, Marchese C, Votta R, Casais P, Woods AI, Nadal MV, Salviú MJ, Lazzari MA. Factor VIII and von Willebrand factor changes during normal pregnancy and puerperium. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2003 Oct;14(7):647–651.
384. Hoveyda F, MacKenzie IZ. Secondary postpartum haemorrhage: incidence, morbidity and current management. *BJOG* 2001 Sep;108(9):927–930.
385. Lee CY, Madrazo B, Drukker BH. Ultrasonic evaluation of the postpartum uterus in the management of postpartum bleeding. *Obstet Gynecol* 1981 Aug;58(2):227–232.
386. Roqué H, Funai E, Lockwood CJ. von Willebrand disease and pregnancy. *J Matern Fetal Med* 2000 Sep;9(5):257–266.
387. Weiss HJ. The bleeding tendency in patients with low von Willebrand factor and type 1 phenotype is greater in the presence of impaired collagen-induced platelet aggregation. *J Thromb Haemost* 2004 Jan;2(1):198–199.
388. Kunicki TJ, Federici AB, Salomon DR, Koziol JA, Head SR, Mondala TS, Chismar JD, Baronciani L, Canciani MT, Peake IR. An association of candidate gene haplotypes and bleeding severity in von Willebrand disease (VWD) type 1 pedigrees. *Blood* 2004 Oct;104(8):2359–2367.
389. Kyrle PA, Niessner H, Dent J, Panzer S, Brenner B, Zimmerman TS, Lechner K. IIB von Willebrand's disease: pathogenetic and therapeutic studies. *Br J Haematol* 1988 May;69(1):55–59.
390. Mauz-Körholz C, Budde U, Kruck H, Korholz D, Gobel U. Management of severe chronic thrombocytopenia in von Willebrand's disease type 2B. *Arch Dis Child* 1998 Mar;78(3): 257–260.
391. Ruggeri ZM, Lombardi R, Gatti L, Bader R, Valsecchi C, Zimmerman TS. Type IIB von Willebrand's disease: differential clearance of endogenous versus transfused large multimer von Willebrand factor. *Blood* 1982 Dec;60(6): 1453–1456.
392. Lopez-Fernandez MF, Blanco-Lopez MJ, Castineira MP, Batlle J. Further evidence for recessive inheritance of von Willebrand disease with abnormal binding of von Willebrand factor to factor VIII. *Am J Hematol* 1992 May;40(1): 20–27.
393. Goudemand J, Negrier C, Ounnoughene N, Sultan Y. Clinical management of patients with von Willebrand's disease with a VHP vWF concentrate: the French experience. *Haemophilia* 1998;4 (Suppl 3):48–52.
394. Bunnell BA, Muul LM, Donahue RE, Blaese RM, Morgan RA. High-efficiency retroviral-mediated gene transfer into human and nonhuman primate peripheral blood lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995 Aug;92(17): 7739–7743.
395. Blaese RM. Optimism regarding the use of RNA/DNA hybrids to repair genes at high efficiency. *J Gene Med* 1999 Mar;1(2):144–147.
396. Taubes G. Gene therapy. The strange case of chimeraplasty. *Science* 2002 Dec;298(5601): 2116–2120.
397. Zhang Z, Eriksson M, Falk G, Graff C, Presnell SC, Read MS, Nichols TC, Blomback M, Anvret M. Failure to achieve gene conversion with chimeric circular oligonucleotides: potentially misleading PCR artifacts observed. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 1998 Dec;8(6):531–536.
398. Todd RF 3rd, Gitlin SD, Burns LJ, Committee on Training Programs. Subspecialty training in hematology and oncology, 2003: results of a survey of training program directors conducted by the American Society of Hematology. *Blood* 2004 Jun;103(12):4383–4388.

