

УДК 616-005.1+616.151.5]-074-076

А.А. Мельник

**БОЛЕЗНЬ ФОН ВИЛЛЕБРАНДА.
ПРИНЦИПЫ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ**

Специализированный медицинский центр
“Оптим-фарм”, г. Киев

В 1926 г. финский врач Эрик фон Виллебранд опубликовал свою работу о наследственной форме повышенной кровоточивости [23] (рис. 1). Исследования фон Виллебранда начались с изучения семьи, проживающей на острове Föglö в Аландском архипелаге Балтийского моря. Эрик фон Виллебранд описал тяжелый геморрагический синдром у 5-летней девочки Hjordis S. Она погибла в возрасте 13 лет от менструального кровотечения (всего лишь 4-го в ее жизни). Всего в семье кровотечениями страдали 23 из 66 человек (16 женщин и 7 мужчин). Это заболевание сейчас известно под именем его первооткрывателя. Болезнь фон Виллебранда (VWD) — генетически детерминированное нарушение свертываемости крови, проявляющееся изменением концентрации, структуры или функции фактора фон Виллебранда (VWF). Болезнь фон Виллебранда в мире страдает 0,5–1,6 % населения. Из них 70%

имеют легкую форму заболевания и около 30% среднетяжелую и тяжелую. Заболевание наследуется по аутосомно-доминантному генетическому типу. Болезнь может проявляться у обоих полов. Для болезни фон Виллебранда характерна следующая клиническая картина: микроциркуляторный или смешанный типы кровоточивости, рецидивирующие носовые кровотечения (*epistaxis*) начиная с дошкольного возраста, маточные кровотечения, геморрагии, кровотечения из сосудов слизистой полости рта, повышенная склонность к образованию синяков, кровотечения после экстракции зубов и других малоинвазивных вмешательств, массивные кровотечения после травм, хирургических операций, желудочно-кишечные кровотечения, гематурия.

Исторические аспекты изучения болезни фон Виллебранда представлены в табл. 1.

**БИОСИНТЕЗ И СТРУКТУРА
ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА**

Ген фактора фон Виллебранда расположен на коротком плече хромосомы 12 (p13.3) (рис. 2). Стоит приблизительно из 178 kb ДНК и содержит 52 экзона [9]. Описано более 500 мутаций.

Фактор фон Виллебранда представляет собой мультимерный белок с молекулярной массой 125–20 000 кДа. Синтезируется в эндотелиоцитах и мегакариоцитах с периодом полураспада



FINSKA LÄKARESÄLLSKAPETS
HANDLINGAR

REDOGÅRDE AV
PROF. RICHARD SIEVERS
BAND LXVIII

1926 FEBRUARI 1926

INNEHÅLL:

Originalartiklar.

E. A. v. Willebrand, Hereditär pseudoheмофили. (Från Diakoniskjukhusets i Helsingfors medicinska afdelning. Docent E. A. v. Willebrand). (Med 3 figurer i texten)..... 87
T. W. Tallqvist, Syfilis och njurar..... 113
Armas Grånbäck, Tvänne fall av entrecystom. (Från II Helsingiska kliniken i Helsingfors, prof. R. Peltin, och Wiborgs Hjänsjukhus, prof. P. W. Granberg). (Med 2 figurer i texten)..... 130

Deutsche Referate.

S. 111, 125, 140.

Översikter.

Arthur Cloppat, Terapeutiska årtalor..... 142

Smärre meddelanden och referat.

Esther Gustavson, Löwy's metod för bedömandet av de röda blodkropparnas storlek. (Från II Medicinska kliniken i Helsingfors). (Med 5 figurer i texten)..... 102
Gaston Parurier, Séméiologie biliaire. (Ref. av Jari Hagelstam)..... 157
Knut Faber, Tuberkulosen i Danmark. (Ref. av R. Sievers).... 164

Litteraturanmärkingar.

O. Schueman f och P. Saltmar, Die perniciöse Anämie. (Rec. av Oskar Mustelin)..... 171
Arnold Josefson, Vad betyder insöndringsorganen för vår kropp och själ? (Rec. av M. Savolin)..... 173

HELSINGFORS 1926
MERCATORS TRYCKERI AKTIEBOLAG

FINSKA LÄKARESÄLLSKAPETS HANDLINGAR. BAND LXVIII. NO 2.

ORIGINALARTIKLAR.

(Från Diakoniskjukhusets i Helsingfors medicinska afdelning. Docent E. A. v. WILLEBRAND.)

Hereditär pseudoheмофили.

Av

E. A. v. Willebrand.

(Med 3 figurer i texten.)

Sjukdomsbegrepp. Tidigare observerade fall.

I sitt nya stora arbete över de hemorragiska diateserna framhåller E. FRANK (Breslau), att den klassiska hemofili är en så exkvisit hereditär—familjär anomali, att det kan ifrågasättas, huruvida över huvudt taget sporadiska fall av sjukdomen existera. Däremot är, säger han, den klassiska tromboopeni så utpräglat sporadisk, att man kan diskutera, om en familjär form av densamma alls förekommer. Med tromboopeni avses här den sjukdom, som sedan gammalt har namnet morbus maculosus Werlhofii eller purpura haemorrhagica och som på senaste tid av FRANK och en del andra forskare betecknats såsom essentiell tromboopeni.

Hittills har man velat betrakta årtlig blodärsjukdom och hemofili såsom synonyma begrepp. Men om man genomgår hitbörande litteratur, skall man finna, om och i ett fåtal fall, beskrivningar över en familjär form av hemorragisk diates, som redan därigenom skiljer sig från äkta hemofili att den även förekommer bland kvinnor och, såsom det tyckes, t. o. m. oftare än bland män. Men även i andra avseenden kan man draga en skarp gräns mellan ifrågasvarande familjära lidande och hemofili. Däröfver mera längre fram i kap. 6 om diagenosen.

Finska Läkaresällskapets Handlingar 1926.

Рис. 1. Эрик фон Виллебранд (1870-1949) и его первая работа “Наследственная псевдогемофилия”, 1926 г.

Исторические аспекты изучения болезни фон Виллебранда

Годы	События
1926	Эрик фон Виллебранд описал больных с кровоточивостью, проживающих на Аландском архипелаге (Финляндия), определив их состояние как “Наследственная псевдогемофилия”. Доказал аутосомно-доминантный тип наследования.
1928	Профессор Джордж Майнот (американский гематолог) описал похожее заболевание у 5 пациентов с нормальным содержанием тромбоцитов.
1933	Э. Виллебранд, Юргенс — “Конституциональная тромбопатия” (10-кратное удлинение времени тромбообразования в “тромбометре” Моравица-Юргенса).
1937	Fowler — “Врожденная псевдогемофилия”.
1938	Geiger, Evans — “Врожденная гемофилиоидная пурпура”.
1938	Geiger, Evans — “Синдром фон Виллебранда”.
1941	Макферлэйн — “Атромбоцитопеническая пурпура”.
1950	Revol et. al. — “Псевдогемофилия”.
1957	Quik — “Синдром Минот-фон Виллебранда”.
1950-е гг.	Введено понятие гемофилии А. Разработан метод определения фактора VIII. Выявлено снижение уровня фактора VIII при болезни фон Виллебранда (однако степень снижения варьировала среди родственников одной семьи).
1971	Циммерман открыл гликопротеин, известный как фактор фон Виллебранда.
1972	Оурен и Вагнер разделили антигемофильный глобулин на 2 протеина.
1970-е гг.	Тесты с ристоцетином и определением ристоцетин-кофакторной активности плазмы.
1976	Выделение т.н. “антигена, связанного с фактором VIII” с помощью иммунологических методик. Введен термин “фактор фон Виллебранда”.
1977	Первый отчет об использовании DDAVP (десмопрессин) для лечения болезни фон Виллебранда.
1981	На фармакологическом рынке появился лекарственный препарат Наемате Р. Он проявляет те же свойства, что и эндогенный фактор фон Виллебранда.
1982	Изучена эпидемиология болезни фон Виллебранда в основной популяции.
1984	Первая классификация болезни фон Виллебранда на основе мультимерного фактора фон Виллебранда.
1985	Открытие гена фактора фон Виллебранда.
1992	Первое международное исследование концентрата FVIII/vWF для заместительной терапии.
1994	Вторая классификация болезни на основе патогенеза.
2002	Национальные руководства по лечению болезни фон Виллебранда.

9–15 часов (рис. 3). Хранится в тельцах Вейбеля-Палада и альфа-гранулах тромбоцитов, откуда секретируется в плазму [22].

После удаления сигнального пептида (SP) про-VWF субъединицы перемещаются в эндо-

плазматический ретикулум и образуют димеры по типу “хвост–хвост” путем образования дисульфидных связей между богатыми цистеином карбоксил-терминальными доменами СК. После этого димеры дополнительно мультимеризуются

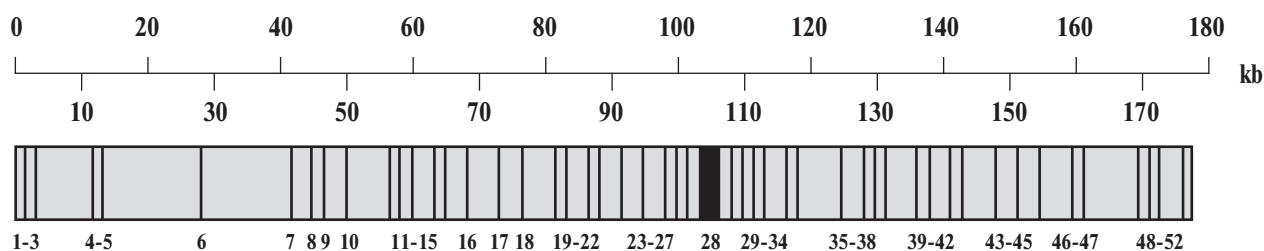


Рис. 2. Ген фактора фон Виллебранда

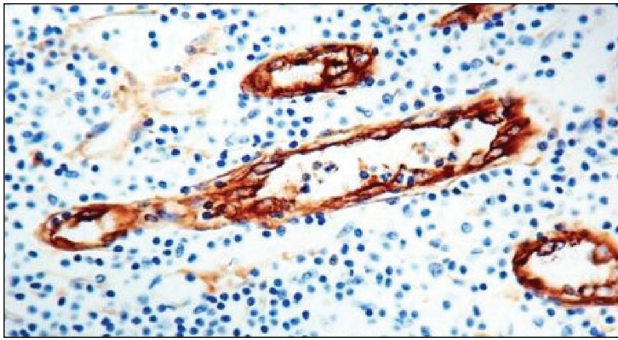


Рис. 3. Фактор фон Виллебранда в клетках эндотелия

через образование дисульфидных связей по типу “голова к голове” между аминокислотными терминальными богатыми цистеином D3 доменами в аппарате Гольджи (рис. 4).

VWF синтезируется как пре-про-VWF, который содержит сигнальный пептид с 22 аминокислотами, пропептид с 741 а/к-тами и зрелую субъединицу с 2050 а/к-тами. Первичная последовательность молекулы VWF была определена в 1986 г. Особенностью данного белка является наличие повторяющихся доменных структур D1-D2-D'-D3-A1-A2-A3-D4-C1-C2-C3-C4-C5-C6-CK, каждая из которых выполняет свою специфическую функцию [15, 18, 24] (рис. 5):

- A1 домен — связывается с GpIb и гепарином;
- A3 домен — связывается с колагеновым доменом;
- D'/D3 домен — взаимодействует с фактором VIII;
- C1 домен — взаимодействует с GpIIb/IIIa.

Мономеры VWF складываются в более сложные единицы — димеры, а затем в мультимеры, которые представляют собой огромные комплексы из более чем 80 субъединиц с молекулярным весом от 500 до более 20 000 кДа. Концентрация в плазме VWF составляет 7–10 мкг/мл (рис. 6).

В крови фермент ADAMTS13, являющийся металлопротеиназой и принадлежащий к семейству пептидазных белков “ADAM” (A Disintegrin And Metalloproteinase) расщепляет связи между аминокислотами в структуре VWF, что приводит к распаду мультимеров, а более мелкие остатки удаляются другими пептидазами. ADAMTS-13

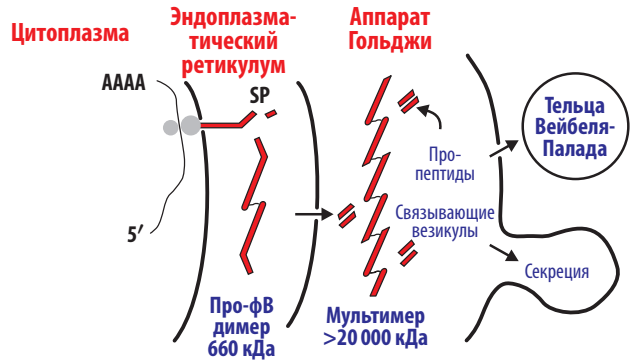


Рис. 4. Схема биосинтеза фактора фон Виллебранда

может отщеплять фрагменты VWF как от трансмембранной, так и от плазменной формы мультимера. Биологическая роль ADAMTS-13 состоит в высвобождении VWF в плазму и регулировании чрезмерной его активности.

ФУНКЦИИ ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА

1. Участие в тромбоцитарно-сосудистом гемостазе:

- инициирует адгезию тромбоцитов к поврежденной стенке сосуда через сайты связывания для коллагена и тромбоцитарного гликопротеина Ib (GPIb) посредством доменов A1 и A3 [8, 16];
- осуществляет межтромбоцитарное взаимодействие в условиях высоких сил сдвига (взаимодействие с GPIb/IIIa тромбоцитов) (рис. 7a);

2. Участие в коагуляционном гемостазе:

- стабилизирует циркулирующий фактор свертывания VIII (FVIII) через образования комплекса путем связывания VWF и FVIII доменом D'/D3 [7]. Нековалентно связывает и защищает

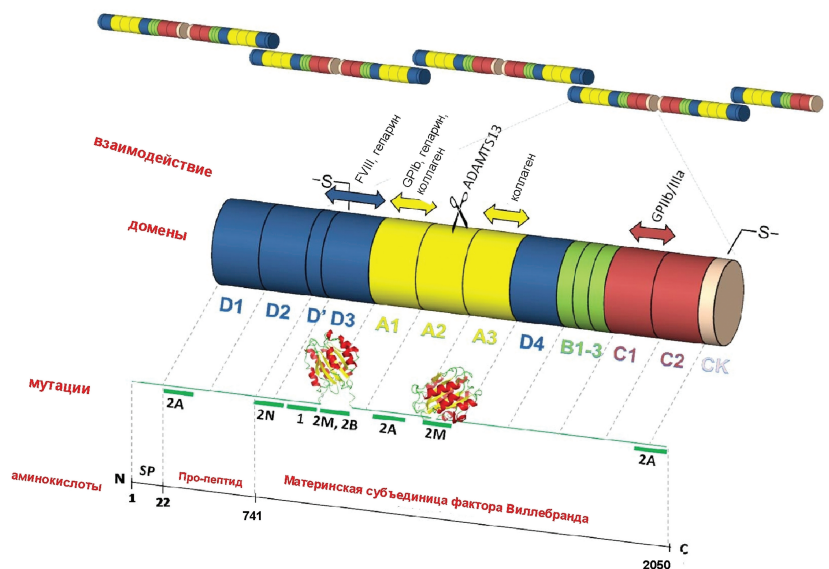


Рис. 5. Первичная структура фактора фон Виллебранда

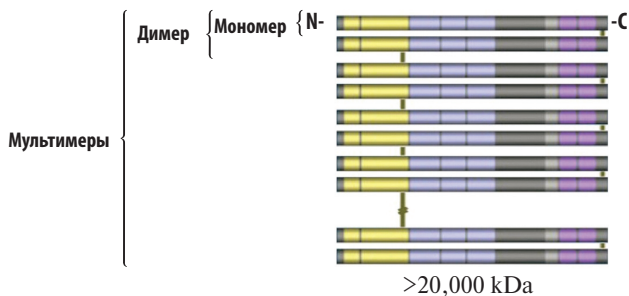


Рис. 6. Образование мультимерных комплексов VWF из мономеров

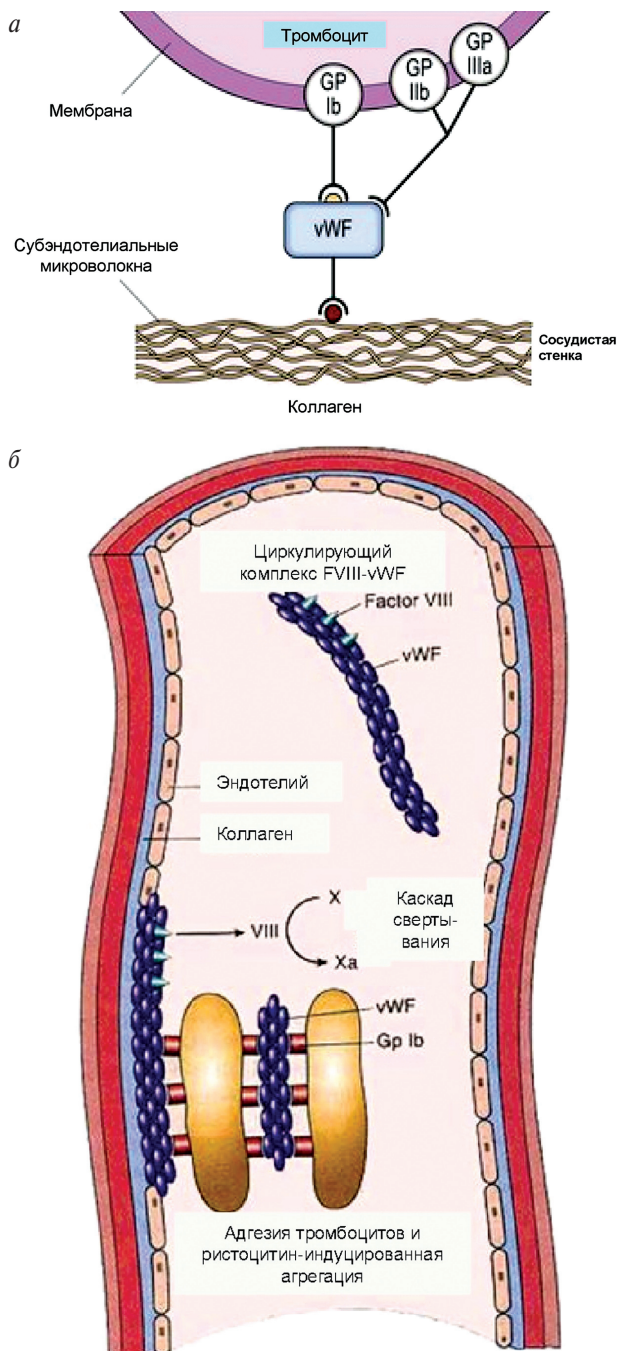


Рис. 7. Участие фактора Виллебранда в тромбоцитарно-сосудистом (а) и коагуляционном гемостазе (б)

FVIII, предотвращает его преждевременное расщепление и удаление из циркуляции (рис. 7б).

3. Взаимодействует с белками (фибриногеном и др.) для стабилизации тромба.

4. VWF является медиатором воспаления (белок острой фазы). Служит маркером дисфункции эндотелия.

В настоящее время известно, что различные дефекты синтеза VWF приводят к болезни фон Виллебранда. Выделяют следующие типы данного заболевания (табл. 2).

КЛАССИФИКАЦИЯ БОЛЕЗНИ ФОН ВИЛЛЕБРАНДА

Болезнь Виллебранда может быть вызвана количественным или качественным дефектом VWF. Количественные дефекты VWF делятся на мягкоумеренные (Тип 1) и серьезные дефекты с не определяемым VWF (Тип 3). Качественные варианты (Тип 2) болезни Виллебранда разделяют на 4 подтипа — 2А, 2В, 2М и 2N (табл. 3).

Тип 1. Частичное количественное снижение уровня VWF. Уровни VWF:RCo (ристоцетинкофакторная активность фактора фон Виллебранда) и VWF:Ag (антиген фактора фон Виллебранда) низкие. Отношение FVIII:C к VWF:Ag составляет 1,5–2,0. Мультимеры нормальные.

Тип 2А. Отсутствуют мультимеры. VWF-зависимая адгезия тромбоцитов уменьшается из-за селективного дефицита высокомолекулярных мультимеров. Не хватает промежуточных мультимеров, что связано с уменьшением сборки мультимеров или увеличением их протеолиза. Уровни VWF:Ag и FVIII:C могут быть нормальными или слегка сниженными, VWF:RCo умеренно снижен.

Мультимерный анализ показывает снижение или отсутствие высокомолекулярных и средних молекул мультимеров.

Тип 2В. Увеличение связывания тромбоцитов. Связывание VWF с тромбоцитами через рецептор GPIb приводит к уменьшению мультимеров VWF и количества тромбоцитов. Уровень VWF:Ag может быть нормальным или немного сниженным, в то время как VWF:RCo умеренно снижен. Мультимерный анализ показывает снижение больших мультимеров. Это может выражаться в виде тромбоцитопении (хирургическая операция или беременность). Лабораторные тесты аналогичны типам 2А или 2М. Анализ агрегации тромбоцитов показывает аномально повышенную ристоцетин-индуцированную агрегацию

Типы болезни фон Виллебранда

Тип	Характеристика	Частота встречаемости
Тип 1	Частично сниженный уровень VWF	60–80%
Тип 2	Уровень VWF нормальный, но нарушена активность. Качественный дефект VWF	20–30%
Тип 3	Практически полное отсутствие VWF	Меньше 5%

тромбоцитов (RIPA — Ristocetin-Induced Platelet Aggregation) при низких дозах ристоцетана.

Тип 2М. Мультимеры нормальные. VWF-зависимая адгезия тромбоцитов снижается из-за аномального связывания VWF с тромбоцитами в участке связывания GPIb. Возможно также снижение связывания VWF с коллагеном. Уровень VWF:Ag может быть нормальным или слегка сниженным, VWF:RCo умеренно снижен. Мультимерный анализ нормальный с присутствием высокомолекулярных мультимеров.

Тип 2N. Нарушено связывание VWF с FVIII:C. Уровень FVIII:C составляет менее 10% при нормальных уровнях VWF:Ag и VWF:RCo. Для дифференцирования между типом 2N и умеренной гемофилией А выполняются тесты связывания FVIII-VWF.

Тип 3. Практически полный дефицит VWF. Уровни VWF:Ag и VWF:43RCo не определяются, а уровень FVIII:C очень низкий (1-9 IU/dL). Нет мультимеров.

Базовый уровень исследований для диагностики болезни фон Виллебранда включает следующие скрининговые тесты:

1. VWF:Ag (антиген фактора фон Виллебранда).

Количественная оценка уровня антигена фактора фон Виллебранда в плазме производится с использованием теста VWF:Ag. При

этом используется метод ELISA или автоматизированный латексный иммуноанализ [2]. Тест VWF:Ag является очень надежным и хорошо воспроизводимым, однако имеет ограничения поскольку показывает только уровень VWF без оценки его функции. Необходимо учитывать группу крови пациента (концентрация VWF:Ag меньше в группе крови О). Результаты выражают в международных единицах (IU/dl или IU/ml).

Нормальная область: 50–200 IU/dl.

2. VWF:RCo (ристоцетин-кофакторной активности фактора фон Виллебранда).

VWF:RCo является широко используемым тестом для оценки способности VWF связывать GPIb. Ограничения заключаются в высоком коэффициенте вариации [12]. Кроме того, вариационные последовательности в домене A1 могут влиять на VWF:RCo [5]. При использовании новых тестов возможно непосредственно оценить взаимодействие VWF-GPIb [3, 17]. Этот надежный современный анализ может заменить определение VWF:RCo и VWF:Ag при первоначальном скрининге болезни фон Виллебранда, однако может пропустить тип 2М при коллаген-связывающих дефектах.

Нормальная область: 50–200 IU/dl (большая вариабельность).

3. FVIII:C (активность фактора VIII).

Таблица 3

Классификация болезни фон Виллебранда

Тип	ФВ:Ag	ФВ:RCo	RIPA	VIII:C	Мультимеры
1	↓ или ↓↓	↓ или ↓↓	Норма или ↓	Норма или ↓	Все типы мультимеров
2A	Норма или ↓	↓↓↓	↓↓	Норма или ↓	Отсутствуют большие и средние
2B	± ↓	↓ или ↓↓	↑ (тромбоциты ↓)	Норма или ↓	Отсутствуют большие
2М	± ↓	↓↓	↓	Норма или ↓	Все типы мультимеров
2N	Норма или ↓	Норма или ↓	Норма	↓↓↓	Все типы мультимеров
3	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют	↓↓↓	Отсутствуют

Определение активности FVIII включено в скрининговые тесты, т.к. VWF является белком-носителем для FVIII. В норме отношение FVIII : C / VWF : Ag равняется приблизительно 1. При типе 2N это соотношение уменьшается, а при типе 3 FVIII:C будет снижено (10 IU/dL). VWF при типе 2N имеет специфический дефект при связывании с FVIII и может присутствовать в плазме при нормальных уровнях VWF : Ag и VWF : RCo. Это имеет важное значение для скрининговой диагностики пациентов при подозрении на болезнь фон Виллебранда.

Нормальная область: 50–150 IU/dl (клоттинговый метод определения).

4. VWF:RCo /VWF: Ag (соотношение).

Оценка соотношения VWF : RCo / VWF : Ag определит необходимость дополнительных исследований для дифференцировки типов 2A, 2B или 2M в случае если полученный коэффициент <0,7 [13].

Лабораторные значения скрининговых тестов для диагностики болезни Виллебранда представлены в табл. 4.

Подтверждающие тесты для болезни фон Виллебранда:

1. Анализ мультимера VWF.

При снижении коэффициента VWF : RCo / VWF : Ag необходимо осуществить анализ распределения мультимеров VWF для подтверждения о наличии типов 2A, 2B или 2M. При оценке мультимеров используется метод электрофореза

в агарозном геле (рис. 8). Однако это занимает много времени и выполняется только в специализированных лабораториях [21].

2. VWF:CB (способность VWF связываться с коллагеном).

Связывание коллагена играет важную роль при исследовании VWF. Этот тест служит для определения высокомолекулярных мультимеров, но при этом необходим идеальный препарат коллагена [4]. Кроме того, некоторые варианты болезни фон Виллебранда имеют специфический коллаген-связывающий дефект и классифицируются как тип 2M.

В некоторых работах авторы сообщают о случаях, когда пациенты имеют погранично низкий VWF : Ag, VWF : RCo и значительно сниженное связыванием с коллагеном I, III и IV типов [6, 19, 20].

3. VWF:PB (способность VWF связываться с тромбоцитами).

Связывание тромбоцитов используется для подтверждения типа 2 болезни фон Виллебранда. В этом анализе используются коммерческие тромбоциты и плазма пациента. Отмечается увеличение связывания при типе 2B, но без увеличения при типе 2A. Если нет возможности применить данный тест, тогда используется другой вариант — исследование функции тромбоцитов, индуцированной низкой концентрацией к ристоцетину (низкодозовая ристоцетин-индуцированная агрегация тромбоцитов).

Таблица 4

Скрининговые тесты для диагностики болезни фон Виллебранда (уровень 30 IU/dL рекомендован как “cut-off” для определения болезни фон Виллебранда)

Состояние	Описание	VWF : RCo (IU/dL)	VWF : Ag (IU/dL)	FVIII	VWF : RCo / VWF : Ag
Норма		50–200	50–200	50–150	>0,5–0,7
Тип 1	Частичный количественный дефицит VWF.	<30	<30	Низкий или нормальный	>0,5–0,7
Тип 2A	Снижение VWF-зависимой адгезии тромбоцитов с селективным дефицитом высокомолекулярных мультимеров.	<30	<30–200	Низкий или нормальный	<0,5–0,7
Тип 2B	Увеличение аффинности для GPIb тромбоцитов. Уменьшение количества тромбоцитов.	<30	<30–200	Низкий или нормальный	Обычно <0,5–0,7
Тип 2M	Снижение VWF-зависимой адгезии тромбоцитов без селективного дефицита высокомолекулярных мультимеров.	<30	<30–200	Низкий или нормальный	<0,5–0,7
Тип 2N	Выраженное уменьшение связывающей аффинности для фактора VIII.	30–200	30–200	Очень низкий	>0,5–0,7
Тип 3	Фактически полный дефицит VWF.	<3	<3	Чрезвычайно низкий (<10 IU/dL)	Не определяется

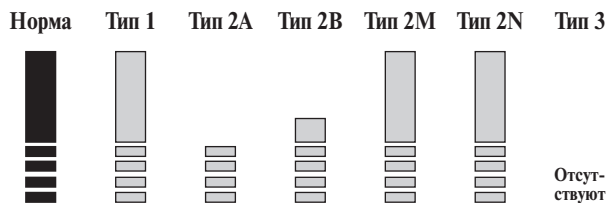


Рис. 8. Определение мультимеров фактора фон Виллебранда с использованием метода электрофореза

4. LDRIPA (низкодозовая ристоцетин-индуцированная агрегация тромбоцитов).

Спонтанная агрегация низкодозового ристоцетина (обычно $\leq 0,6$ мг/мл, в противоположность обычной дозе ≥ 1 мг/мл) наблюдается при типе 2В болезни фон Виллебранда и тромбоцитарном типе. Для дифференциации вариантов болезни фон Виллебранда используется VWF:PB или генетический анализ. Определение тромбоцитарного типа болезни фон Виллебранда важно для лечения с применением трансфузии тромбоцитов.

5. VWF: FVIIIb (способность VWF связываться с FVIII).

Тест VWF: FVIIIb анализирует способность выделенного фактора фон Виллебранда из плазмы пациента связывать рекомбинантный фактор VIII. Используется для подтверждения 2N типа, если имеется специфический дефект связывания FVIII [14].

6. VWFpp (пропептида VWF).

Соотношение VWFpp/VWF:Ag увеличено при типе 1С или некоторых вариантах типа 2 болезни Виллебранда. VWFpp обычно анализируется с использованием метода ELISA [11].

7. Секвенирование гена фактора фон Виллебранда.

Использование генетической диагностики фактора фон Виллебранда ограничено большим размером гена VWF и высокой частотой нормальных вариантов. Ранее было показано, что некоторые варианты “мутаций” были взяты под сомнение, т.к. они были обнаружены у здоровых людей [1]. Секвенирование ДНК может быть использовано для подтверждения типа 2 болезни фон Виллебранда, особенно когда другие тесты не доступны или их трудно интерпретировать. Большое количество известных вариаций последовательности были зарегистрированы для 2 типа болезни фон Виллебранда (International Society on Thrombosis and Haemostasis). В типах 2В и 2М, где дефект включает связывание тромбоцитов, мутации находятся в домене А1 фактора фон Виллебранда. В типе 2N, где дефект включает FVIII связывание, мутации обнаружены в D0 и D3 доменах. В типе 2А дефекты могут быть либо в домене А2 (рядом с сайтом ADAMTS13), либо в N- или C-терминальных мультимерных

Таблица 5

Приобретенная болезнь фон Виллебранда при различных заболеваниях

Злокачественные заболевания	<ul style="list-style-type: none"> • Моноклональная гаммапатия неопределенного значения • Множественная миелома • Неходжскинская лимфома • Хроническая лимфоцитарная лейкемия • Макроглобулинемия Вальденстрема • Эссенциальная тромбоцитемия • Истинная полицитемия • Хроническая миелоидная лейкемия • Нейробластома
Иммунологические заболевания	<ul style="list-style-type: none"> • Системная красная волчанка
Другие заболевания	<ul style="list-style-type: none"> • Гипотиреозидизм • Дефект межжелудочковой перегородки • Аортальный стеноз • Пропалс митрального клапана • Желудочно-кишечная ангиодисплазия • Уремия • Гемоглобинопатии
Лекарственные препараты	<ul style="list-style-type: none"> • Вальпроевая кислота • Griseofulvin, Ciprofloxacin

Дифференциальная диагностика болезни фон Виллебранда и гемофилии А

	Болезнь фон Виллебранда	Гемофилия А
Симптомы	Носовые, десневые, постравматические, желудочно-кишечные кровотечения, экхимозы, менорагии	Суставные, мышечные кровотечения
Распределение по полу (частота)	Мужчины (1:200), женщины (1:500)	Мужчины (1:6000)
Белок	Фактор Виллебранда	Фактор VIII
Молекулярный вес	0,6–20 000 кДа	280 кДа
Функции	Адгезия тромбоцитов, стабилизирует FVIII	Фактор свертывания
Место синтеза	Эндотелиальные клетки и мегакариоциты	Гепатоциты
Хромосома	Хромосома 12	X хромосома
Частота ингибирования	Редко	14–25% пациентов
<i>Лабораторные тесты</i>		
Время кровотечения	Часто абнормальное	Обычно нормальное
АЧТВ	Нормальное или ↑	Пролонгированное
Фактор VIII	Пограничный или ↓	↓ или отсутствует
VWF: Ag	↓ или отсутствует	Нормальный или ↑
VWF: RCo	↓ или абнормальный	Нормальный или ↑
VWF мультимеры	Нормальные или абнормальные	Нормальные

доменах [10]. Дефекты типов 1 и 3 болезни фон Виллебранда обнаружены по всему гену фактора фон Виллебранда, однако новые последовательности следует рассматривать с осторожностью поскольку не все варианты связаны с болезнью фон Виллебранда.

ПРИБРЕТЕННАЯ БОЛЕЗНЬ ФОН ВИЛЛЕБРАНДА

Этот тип заболевания не наследуется. Пациенты с приобретенной болезнью фон Виллебранда имеют подобные симптомы кровотечений, как и в случае с наследственной формой. Приобретенная болезнь фон Виллебранда развивается в зрелом возрасте в результате других заболеваний таких как моноклональные гаммапатии, лимфо-пролиферативные заболевания, миелопролиферативные расстройства (тромбоцитемия), аутоиммунные заболевания, врожденные заболевания сердца, некоторые опухоли, нарушение функции щитовидной железы, прием лекарственных препаратов (табл. 5).

Необходимо отметить, что существуют различия в клинических проявлениях и лабораторных показателях болезни фон Виллебранда и гемофилии А. Так, болезнь фон Виллебранда проявляется двойным дефектом в сосудисто-тромбоцитарном и коагуляционных звеньях гемостаза, а гемофилия

А характеризуется выраженным нарушением в плазменном коагуляционном звене гемостаза. Дифференциальная диагностика болезни фон Виллебранда и гемофилии А представлена в табл. 6.

ВЫВОДЫ

1. Для корректной диагностики болезни фон Виллебранда используются скрининговые тесты, которые включают определение VWF: Ag, VWF: RCo, FVIII: C, коэффициент VWF: RCo / VWF: Ag.
2. Подтверждающими тестами для болезни фон Виллебранда являются: анализ мультимера VWF, VWF: CB, VWF: PB, LDRIPA, VWF: FVIII B, VWFpp, секвенирование гена фактора фон Виллебранда.
3. Для диагностики приобретенной болезни фон Виллебранда используют те же лабораторные тесты, как и для наследственной формы.
4. Существуют различия в клинических проявлениях и лабораторных показателях болезни фон Виллебранда и гемофилии А.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bellissimo D., Christopherson P., Flood V. et al. VWF mutations and new sequence variations identified in healthy controls are more frequent in the African-American population // *Blood*. — 2012. — Vol. 119. — P. 2135–2140.
2. Castaman G., Tosetto A., Cappelletti A. et al. Validation of a rapid test (VWF-LIA) for the quantitative determination

- of von Willebrand factor antigen in type 1 von Willebrand disease diagnosis within the european multicenter study MCMDM-1VWD // *Thromb Res.* — 2010. — Vol. 126. — P. 227–231.
3. Favaloro E., Mohammed S. Towards improved diagnosis of von Willebrand disease: comparative evaluations of several automated von Willebrand factor antigen and activity assays // *Thromb Res.* — 2014. — Vol. 134. — P. 1292–1300.
 4. Favaloro E. Toward a new paradigm for the identification and functional characterization of von Willebrand disease // *Semin. Thromb Hemost.* — 2009. — Vol. 35. — P. 60–75.
 5. Flood V., Gill J., Morateck P. et al. Common VWF exon 28 polymorphisms in African Americans affecting the VWF activity assay by ristocetin cofactor // *Blood.* — 2010. — Vol. 116. — P. 280–286.
 6. Flood V., Gill J., Christopherson P. et al. Critical von Willebrand factor A1 domain residues influence type VI collagen binding // *J. Thromb Haemost.* — 2012. — Vol. 10. — P. 1417–1424.
 7. Foster P., Fulcher C., Marti T. et al. A major factor VIII binding domain resides within the amino-terminal 272 amino acid residues of von Willebrand factor // *J. Biol. Chem.* — 1987. — Vol. 262. — P. 8443–8446.
 8. Fujimura Y., Titani K., Holland L. et al. Von Willebrand factor. A reduced and alkylated 52/48-kDa fragment beginning at amino acid residue 449 contains the domain interacting with platelet glycoprotein Ib // *J. Biol. Chem.* — 1986. — Vol. 261. — P. 381–385.
 9. Ginsburg D., Handin R., Bonthron D. et al. Human vWF: Isolation of complementary DNA (cDNA) clones and chromosomal location // *Science.* — 1985. — Vol. 228. — P. 1401.
 10. Goodeve A. The genetic basis of von Willebrand disease // *Blood Rev.* — 2010. — Vol. 24. — P. 123–134.
 11. Haberichter S., Balistreri M., Christopherson P. et al. Assay of the von Willebrand factor (VWF) propeptide to identify patients with type 1 von Willebrand disease with decreased VWF survival // *Blood.* — 2006. — Vol. 108. — P. 3344–3351.
 12. Kitchen S., Jennings I., Woods T. et al. 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. — Vol. 32. — P. 492–498.
 13. Nichols W., Hultin M., James A. et al. Von Willebrand disease (VWD): evidence factor (VWF) propeptide to identify patients with type 1 von Willebrand disease with decreased VWF survival // *Blood.* — 2006. — Vol. 108. — P. 3344–3351.
 14. Nishino M., Girma J., Rothschild C. et al. New variant of von Willebrand disease with defective binding to factor VIII // *Blood.* — 1989. — Vol. 74. — P. 1591–1599.
 15. Pannkoek H., Voorberg J. Molecular cloning, expression and assembly of multimeric von Willebrand factor // *Baillieres Clin. Haematol.* — 1989. — Vol. 2, № 4. — P. 879–896.
 16. Pareti F., Niiya K., McPherson J. et al. Isolation and characterization of two domains of human von Willebrand factor that interact with fibrillar collagen types I and III // *J. Biol. Chem.* — 1987. — Vol. 262. — P. 13835–13841.
 17. Patzke J., Budde U., Huber A. et al. Performance evaluation and multicentre study of a von Willebrand factor activity assay based on GPIb binding in the absence of ristocetin // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* — 2014. — Vol. 25. — P. 860–870.
 18. Rauch A., Wohnner N., Christophe O. et al. On the versatility of von Willebrand factor // *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* — 2013. — Vol. 5, № 1.
 19. Ribba A., Loisel I., Lavergne J. et al. 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. — Vol. 86. — P. 848–854.
 20. Riddell A., Gomez K., Millar C. et al. Characterization of W1745C and S1783A: 2 novel mutations causing defective collagen binding in the A3 domain of von Willebrand factor // *Blood.* — 2009. — Vol. 114. — P. 3489–3496.
 21. Ruggeri Z., Zimmerman T. 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. — Vol. 65. — P. 1318–1325.
 22. Sadler J. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor // *Annu Rev Biochem.* — 1998. — Vol. 67. — P. 395–424.
 23. Von Willebrand E.A. Hereditar pseudohefemofili // *Finska Lakarsällskapets Handl.* — 1926. — Vol. 67. — P. 7–112.
 24. Zhou Y., Eng E., Zhu J. et al. Sequence and structure relationships within von Willebrand factor // *Blood.* — 2012. — Vol. 120. — № 2. — P. 449–458.

ХВОРОБА ФОН ВІЛЛЕБРАНДА. ПРИНЦИПИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ

О.О. Мельник,

канд. біол. наук, керівник проекту спеціалізованого
медичного центру «Оптима-фарм», м. Київ

Хвороба фон Віллебранда (VWD) є спадковим захворюванням, яке передається по аутосомно-домінантному типу. Хвороба виникає через дефіцит або дисфункцію фактора фон Віллебранда (VWF), що представляє собою великий мультимерний глікопротеїн плазми. При хворобі фон Віллебранда спостерігаються кількісні або якісні дефекти VWF. Для діагностики хвороби фон Віллебранда використовуються скринінгові тести, які включають визначення VWF: Ag, VWF: RCo, FVIII: C, коефіцієнт VWF: RCo / VWF: Ag, а також підтвердуючі тести, такі як аналіз мультимера VWF, VWF:CB, VWF:PB, LDRIPA, VWF:FVIIIb, VWFpp, секвенування гена фактора фон Віллебранда. Існують відмінності у клінічних проявах і лабораторних показниках хвороби фон Віллебранда та гемофілії А.

Ключові слова: хвороба фон Віллебранда, фактор фон Віллебранда, класифікація, скринінгові тести, підтвердуючі тести.

VON WILLEBRAND DISEASE. PRINCIPLES OF LABORATORY DIAGNOSTICS

A.A. Melnik,

Ph.D., project manager of specialized medical center
“Optima-Pharm”, Kyiv

Von Willebrand's disease (VWD) is a hereditary disease that is transmitted by an autosomal dominant type. The disease occurs due to deficiency or dysfunction of von Willebrand factor (VWF) which is a large multimeric plasma glycoprotein. With von Willebrand disease quantitative or qualitative VWF defects are observed. For von Willebrand disease screening tests are used that include VWF: Ag, VWF: RCo, FVIII: C, VWF: RCo / VWF: Ag and confirmatory tests such as VWF, VWF: CB, VWF: PB, LDRIPA, VWF: FVIIIb, VWFpp, von Willebrand factor gene sequencing. There are differences in the clinical manifestations and laboratory indicators of von Willebrand's disease and hemophilia A.

Key words: von Willebrand disease, von Willebrand factor, classification, screening tests, confirmatory tests.