

УДК 616.151.5:575.123-053.1

**Л.Я. Дубей<sup>1</sup>, Н.В. Дубей<sup>1</sup>, А.І. Маркін<sup>1</sup>, І.П. Цимбалюк-Волошин<sup>1,2</sup>,  
О.І. Дорош<sup>2</sup>, О.О. Трояновська<sup>1,2</sup>, О.І. Козлова<sup>2</sup>, О.І. Степанюк<sup>2</sup>,  
О.І. Воробель<sup>2</sup>, М.В. Сапужак<sup>2</sup>, Ю.Л. Дубей<sup>1</sup>, Н.І. Шоробура<sup>1</sup>**

## **Хвороба Віллебранда: проблеми стандартизації класифікації**

<sup>1</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

<sup>2</sup>Західноукраїнський спеціалізований дитячий медичний центр, м. Львів, Україна

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2017.2(82):122-129; doi 10.15574/SP.2017.82.122

Хвороба Віллебранда (vWD) — це генетичний розлад згортання крові, що передається за допомогою автосомних генетичних факторів і пов'язаний як з кількісним, так і з якісним дефектом фактора Віллебранда. Описано багато різних типів vWD, однак винятково на підставі фенотипової характеристики протеїну. vWD є гетерогенним захворюванням, враховуючи клінічні та лабораторні маніфестації, що є основою патогенетичних механізмів його розвитку. Проведений генетичний аналіз дозволив ідентифікувати додаткову гетерогенність серед різних типів хвороби з подібними фенотиповими характеристиками. Попри те, що класифікація vWD постійно доповнюється та переглядається, залишаються нез'ясовані питання щодо критеріїв її класифікації, що вимагає постійного наукового пошуку.

**Ключові слова:** хвороба Віллебранда, класифікація.

### **Von Willebrand disease: uncertainties of classification and standards**

*L.Ya. Dubey<sup>1</sup>, N.V. Dubey<sup>1</sup>, A.I. Markin<sup>1</sup>, I.P. Tsybaluk-Voloshyn<sup>1,2</sup>, O.I. Dorosh<sup>2</sup>, O.O. Troyanovska<sup>1,2</sup>, O.I. Kozlova<sup>2</sup>, O.I. Stepanuk<sup>2</sup>, O.I. Vorobel<sup>2</sup>, M.V. Sapuzhak<sup>2</sup>, J.L. Dubey<sup>1</sup>, N.I. Shorobura<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Danylo Halytsky National Medical University, Lviv, Ukraine

<sup>2</sup>Western Ukrainian Specialized Children's Medical Centre, Lviv, Ukraine

Von Willebrand disease (VWD) is a genetic disorder of blood clotting, which is transmitted autosomal genetic factors and is associated with both quantitative and qualitative defects of VW factor (VWF). There are many different types of VWD, classified, however, solely according to the phenotypic characteristics of the protein. VWD is a heterogeneous disease with different clinical and laboratory manifestations that are the basis of pathogenetic mechanisms of its development. The conducted genetic analysis made it possible to identify additional heterogeneity among different types of disease with similar phenotypic characteristics. Despite the fact that the VWD classification is constantly amended and augmented, the ambiguity of its classification criteria still remains unsolved and requires continuing research efforts.

**Key words:** von Willebrand disease, classification.

### **Болезнь Виллебранда: проблемы определения и стандартизация классификации**

*Л.Я. Дубей<sup>1</sup>, Н.В. Дубей<sup>1</sup>, А.І. Маркін<sup>1</sup>, І.П. Цимбалюк-Волошин<sup>1,2</sup>, О.І. Дорош<sup>2</sup>, О.О. Трояновська<sup>1,2</sup>,  
О.І. Козлова<sup>2</sup>, О.І. Степанюк<sup>2</sup>, О.І. Воробель<sup>2</sup>, М.В.Сапужак<sup>2</sup>, Ю.Л. Дубей<sup>1</sup>, Н.І. Шоробура<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина

<sup>2</sup>Западноукраинский специализированный детский медицинский центр, г. Львов, Украина

Болезнь Виллебранда (vWD) — это генетическое расстройство свертывания крови, которое передается с помощью автосомных генетических факторов и связано как с количественным, так и с качественным дефектом фактора Виллебранда. Описано много различных типов vWD, однако на основании исключительно фенотипической характеристики протеина, vWD является гетерогенным заболеванием, учитывая клинические и лабораторные манифестации, которые являются основой патогенетических механизмов его развития. Проведенный генетический анализ позволил идентифицировать дополнительную гетерогенность среди различных типов болезни с подобными фенотипическими характеристиками. Несмотря на то, что классификация vWD постоянно дополняется и пересматривается, остаются неясности в критериях ее классификации, что требует постоянных научных исследований.

**Ключевые слова:** болезнь Виллебранда, классификация.

### **Вступ**

Хвороба Віллебранда (vWD) — це генетичний розлад згортання крові з автосомним типом успадкування, пов'язаний як з кількісним, так і з якісним дефектом фактора Віллебранда (vWF). Описано багато різних типів vWD, що ґрунтуються винятково на фенотипових характеристиках протеїну. Проте vWD є гетерогенним захворюванням з огляду як на клінічні, так і на лабораторні маніфестації, що є основою патогенетичних механізмів її розвитку. Окрім того, проведений генетичний аналіз дав змогу ідентифікувати додаткову гетерогенність серед різних типів хвороби

з подібними фенотиповими характеристиками. Незважаючи на те, що класифікація vWD постійно доповнюється і переглядається, деякі питання в критеріях її класифікації залишаються досі не вирішеними і потребують постійного наукового пошуку.

### **Стара номенклатура vWD: окремі історичні аспекти**

Після першого опису хвороби, зробленого Erik Adolf von Willebrand у 1926 р., Zimmerman та співавт. у 1971 р. встановили дуже важливу імунологічну відмінність між гемофілією А та vWD [18]. Вони застосували метод

Laurell з використанням поліклональних анти-тіл проти фактора FVIII (FVIII)/vWF, які зв'язували vWF. За даними авторів, при гемофілії виявився нормальний рівень антигену vWF, в той час як у пацієнтів із vWD спостерігався знижений рівень vWF, який спочатку називався VIII:RAg (тепер vWF:Ag), оскільки на той час ще не було знань про різну молекулярну сутність vWF і FVIII. Перший крок у категоризації vWD зробили 1972 р. Holmberg та Nilsson, які продемонстрували, що у деяких пацієнтів із vWD була нормальна концентрація антигену vWF у плазмі крові. З використанням перехресного імуоелектрофорезу було показано, що антиген vWF у цих хворих має значну рухливість, що відповідає структурній аномалії [8].

При використанні більш нового методу електрофоретичного розділення мультимерів vWF, який замінив перехресний імуоелектрофорез, було показано, що маса високомолекулярних мультимерів (HMWMs) vWF в аномальних зразках була меншою порівняно з даними, отриманими методом перехресного імуоелектрофорезу [9]. Це зумовило загальноприйняте використання римської нумерології для ідентифікації та диференціації типу I vWD і типу II vWD. Тип I vWD характеризувався нормальним розподілом мультимерів, у той час як тип II vWD характеризувався відсутністю HMWMs. Для особливо важких рецесивних форм хвороби, які характеризуються віртуальною відсутністю будь-якого vWF у плазмі чи тромбоцитах, ввели назву тип III vWD [13].

У 1980 р. Ruggeri вперше здійснив диференціацію між двома варіантами типу II vWD, виділивши тип IIA vWD, за якого спостерігалася досить знижена ристоцетин-кофакторна активність (vWF:RiCo) і тип IIB vWD з підвищеною ристоцетин-індукованою агрегацією тромбоцитів (RIPA) при низькій концентрації ристоцетину. Пізніше ці варіанти vWD продемонстрували різницю у клінічному перебігу хвороби, принаймні щодо виникнення спонтанної та DDAVP (*1-deamino-8-D-arginine vasopressin (desmopressin)*)-індукованої тромбоцитопенії [12].

Через кілька років був описаний новий аномальний мультимер vWF у сім'ї з рецесивним варіантом успадкування vWD з виокремленням типу IIC vWD [4]. З того часу активне спостереження за різними аномаліями, виявлені при мультимерному аналізі, спричинило

Таблиця 1

**Класифікація vWD, що ґрунтується на структурній та функціональній аномаліях vWF (1987)**

№ з/п	Опис
1	Кількісний дефіцит vWF без наявності внутрішньої функціональної аномалії vWF
2	vWF із низькою ристоцетин-кофакторною активністю
3	Пацієнти з типом III (тяжким) vWD

внесення до класифікації багатьох додаткових субтипів типу II vWD (IID, IIE, IIC, IIF) [4]. Були описані також різні аномалії vWF серед представників типу I vWD (IB, IC, ID). Роль тромбоцитарного vWF ускладнювала діагноз vWD з новою її формою, при якій тромбоцити могли мати постійно нормальний, знижений або дискордантний рівень. Описано багато субтипів vWD з огляду на спосіб успадкування хвороби, деталі аналізу мультимерів vWF, особливості взаємозв'язку тромбоцитарного і плазматичного vWF, специфічні відхилення у біохімічних показниках. Розпізнавання таких варіацій при vWD є дуже важливим для покращення розуміння патофізіології розвитку хвороби, індивідуалізації лікування та медико-генетичного консультування [11].

**Класифікація vWD на ґрунті структурних і функціональних аномалій vWF (1987)**

До 1987 р. не було системної класифікації vWD. Кілька незалежних дослідників опублікували повідомлення, описуючи пацієнтів із ймовірно різними характеристиками, які визначали за допомогою різного лабораторного обладнання. Це призвело до створення великого комплексу номенклатури vWD, що виявилося дуже непрактичним для клініцистів. Кілька окремих аналізів було проведено у пацієнтів типу I і типу II vWD, однак у ці групи об'єднували хворих, у яких геморагічні маніфестації були спричинені різними патогенетичними механізмами. Також незалежними дослідниками були описані пацієнти з подібними особливостями під іншою назвою хвороби, що лише створювало плутанину серед багатьох визначених на той час субтипів vWD.

Щоб надати чинності більшості класифікацій, Ruggeri і Zimmerman [11] у 1987 р. запропонували спробу класифікувати vWD у категорії, ідентифіковані за принципом із добре визначеними параметрами та сумнівними поширеними патогенетичними механізмами. Вони об'єднали різні субтипи vWD, які були раніше описані, в тип I та тип II. Щоб запобігти подальшій плу-

Оновлена класифікація vWD (Sadler, 2006)

Тип	Опис
1	Парціальний кількісний дефіцит vWF
2	Якісний дефект vWF
2A	Знижена vWF-залежна адгезія тромбоцитів і селективний дефіцит високомолекулярних мультимерів vWF
2B	Підвищений афінитет vWF до тромбоцитарного глікопротеїну (GP Ib)
2M	Знижена vWF-залежна адгезія тромбоцитів без селективного дефіциту високомолекулярних мультимерів vWF
2N	Відсутня можливість vWF зв'язуватися з FVIII
3	Віртуально повний дефіцит vWF

таніні у термінології, учені зберегли номенклатуру, запропоновану авторами, які оригінально описали кожну нову форму vWD. Тип III vWD вважався окремою групою, оскільки при ньому простежувався рецесивний спосіб генетичної трансмісії. В окремих випадках були наявні сліди кількості vWF у тромбоцитах і плазмі крові у поєднанні зі структурними аномаліями протеїну. На цей час вже були охарактеризовані деякі мутації при типах I, II і III vWD (табл. 1) [7].

#### Переглянута класифікація vWD (1994)

Для досягнення консенсусу в цьому складному питанні у 1994 р. була запропонована нова класифікація vWD на основі критеріїв, розроблених підкомітетом Міжнародного товариства тромбозу і гемостазу з вивчення vWF (ISTH SCC vWF) [11].

Важливо, що попередня номенклатура мала кілька переваг. Перший розподіл vWD на категорії (тип I, II і III) мав чіткий взаємозв'язок з патофізіологією, типом генетичних аномалій і клінічним перебігом. Виділення цих великих категорій було легким з огляду на історію хвороби пацієнта, а також на лабораторні дослідження. Проте все ж було складно розпізнавати більшість субкатегорій vWD. Насправді відрізнити кількісний і якісний дефекти vWF було недостатньо, використовуючи тільки один мультимерний аналіз як основний критерій відокремлення типу I від типу II vWD. Так, зауважено, що при ідентифікації деяких якісних змін у самому типі I vWD ця велика категорія хвороби не корелює з клінічним перебігом і типом генетичної аномалії. Наприклад, при типі I vWD New York і типі I vWD Malmo спостерігається нормальний мультимерний спектр, але клінічні й лабораторні особливості дуже подібні до типу II vWD, які спричинялись *missense*-мутацією, дуже подібною до тієї, що лежала в основі розвитку II vWD. Ще один приклад, коли при різних варіантах vWD з порушенням зв'язування vWF з FVIII,

також відомі як vWD Normandy, спостерігається нормальний мультимерний спектр vWF і проявляється як дефіцит vWF. Ці приклади демонструють обмежену точність і клінічну значущість попередньої номенклатури [10].

Таким чином, було вирішено, що рекласифікація vWD дала б змогу поєднати проблеми, пов'язані з гетерозиготністю мультимерного протеїну, та побачити чітку кореляцію з патофізіологією, типом генетичної аномалії, клінічною відповіддю на лікування і генетичним консультуванням. Це мало б просто і легко розпізнаватись, не плутатись із попередніми класифікаціями і дало б змогу об'єднати низку формальних категорій. Гнучкість допомагала б точніше класифікувати окремих пацієнтів, оскільки доступним стає більший обсяг інформації, не потребуючи значних перейменувань. Це зумовлено потребою концептуальної незалежності від конкретних лабораторних досліджень, хоча більшість типів vWD можуть визначатися із використанням широко доступних тестів. Отже, ієрархічна схема, за якою була визначена vWD як захворювання, викликане мутацією в гені vWF, є найбільш прийнятною.

З урахуванням цих принципів L.E. Sadler разом із ISTH SCC vWF у 1994 р. опублікували перегляд класифікації vWD [12]. Безсумнівно, ця робота була важливим кроком уперед у вирішенні проблем з упорядкуванням vWD. Раніше описані типи і субтипи vWD були згруповані в нову та просту класифікацію. Молекулярні дефекти, що спричиняли розвиток vWD, стали частиною класифікації хвороби як окрема категорія на додаток до перших двох категорій, які мали основне значення у класифікації. Допоміжні категорії надаються тільки для певних конкретних умов. У цій класифікації більшість варіантів vWD об'єднані у тип 2A. Слід зазначити, що окрема нова класифікація була створена для типу 2B (раніше IIb). Новий тип (2M, де «M» є позначенням як «multimer») був виокре-

Таблиця 3

**Зміни в переглянутій та оновленій класифікації vWD**

Переглянута класифікація (1994)	Оновлена класифікація (2006)
vWD спричинена мутаціями в локусах vWF	vWD не обмежується мутаціями гена vWF
Тип 1 vWD включає парціальний кількісний дефіцит vWF	Тип 1 vWD включає парціальний кількісний дефіцит vWF
Розподіл мультимерів і структура плазмового vWF мало відрізняються від норми	Плазмовий vWF може містити мутантні субодиноці, проте мати нормальну функціональну активність, наближену до рівня антигену vWF  Пропорція великих мультимерів незначно зменшується

млений для того, щоби включити ті варіанти vWD, при яких спостерігалася знижена тромбоцит-залежна функція vWF (vWF:RiCo) і незначне зниження HMWM vWF (які можуть мати або не мають іншої аберантної структури). Тип 2N vWD (де «N» є позначенням «Normandy») був встановлений для включення випадків хвороби із вторинним зниженням рівня FVIII відповідно до дефекту зв'язування vWF з FVIII.

**Переглянута, оновлена і сучасна класифікація vWD (2006)**

Після отримання нових знань щодо vWF перед комітетом ISTH постало завдання оновлення класифікації vWD з метою кращого розуміння патофізіології цієї хвороби, що полегшило би діагностику, лікування і консультування пацієнтів з vWD. Таким чином, у 2006 р. було розроблено сучасну оновлену класифікацію vWD (табл. 2).

Звичайно, ця класифікація не обмежується мутаціями в гені vWF, тому що не має загальнодоступних методів, які б могли підтвердити чи виключити мутації vWF у більшості пацієнтів, а отже будь-яку потребу в ідентифікації мутації рідко можна задовольнити на практиці. Локус

гетерогенності не може виключити vWD, і мутації на інших генах можуть спричиняти подібне захворювання, яке мало чим відрізняється від vWD, викликаного інтрагенними мутаціями vWF (табл. 3).

**Утворення vWF**

Утворення vWF включає багато різних механізмів: синтез, збірка, секреція, протеоліз і кліренс. Мутації при vWD можуть зумовлювати виникнення патології одного із цих механізмів, хоча за окремих мутацій пошкодження стосується одразу кількох механізмів утворення vWF (рис. 1).

*vWD 1 типу*

vWD 1 типу є найбільш частою формою захворювання. Принципова зміна в класифікації 1 типу vWD зумовлена включенням пацієнтів, у котрих частка HMWM у плазмовому vWF знижена, але недостатньо, щоб перешкодити досягненню гемостатично ефективного рівня великих мультимерів після застосування десмопресину. Окрім того, наявність мутантних субодиноць vWF у мультимерах плазмового vWF можлива, але не обов'язкова. Використання чутливих лабораторних методів дає змогу у багатьох пацієнтів з 1 типом vWD виявити

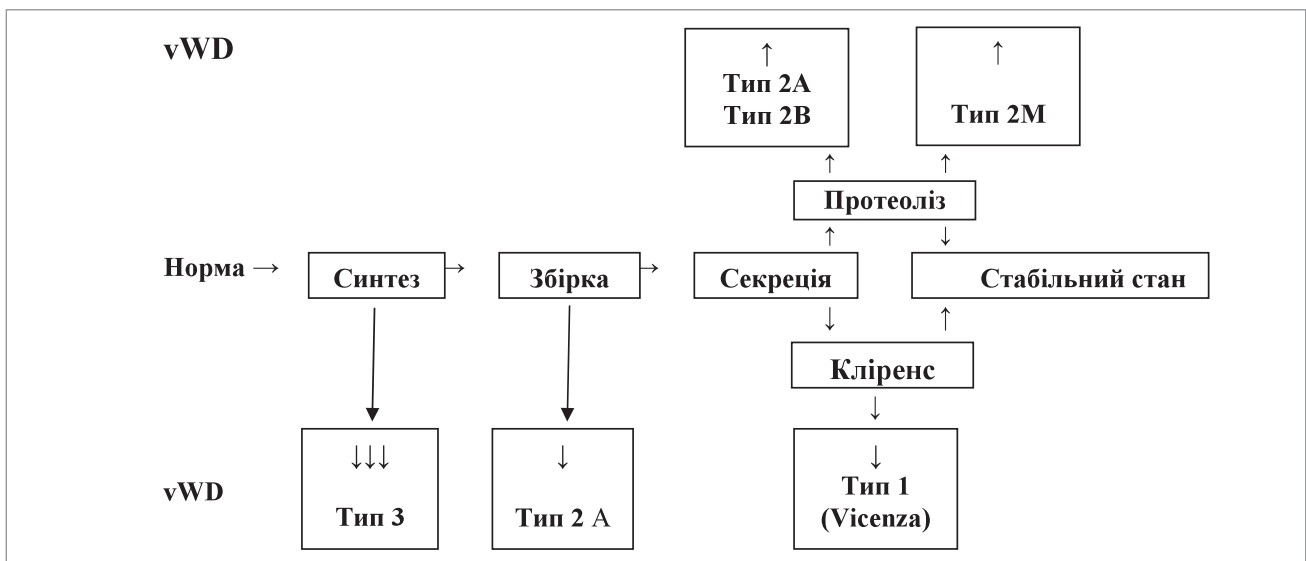
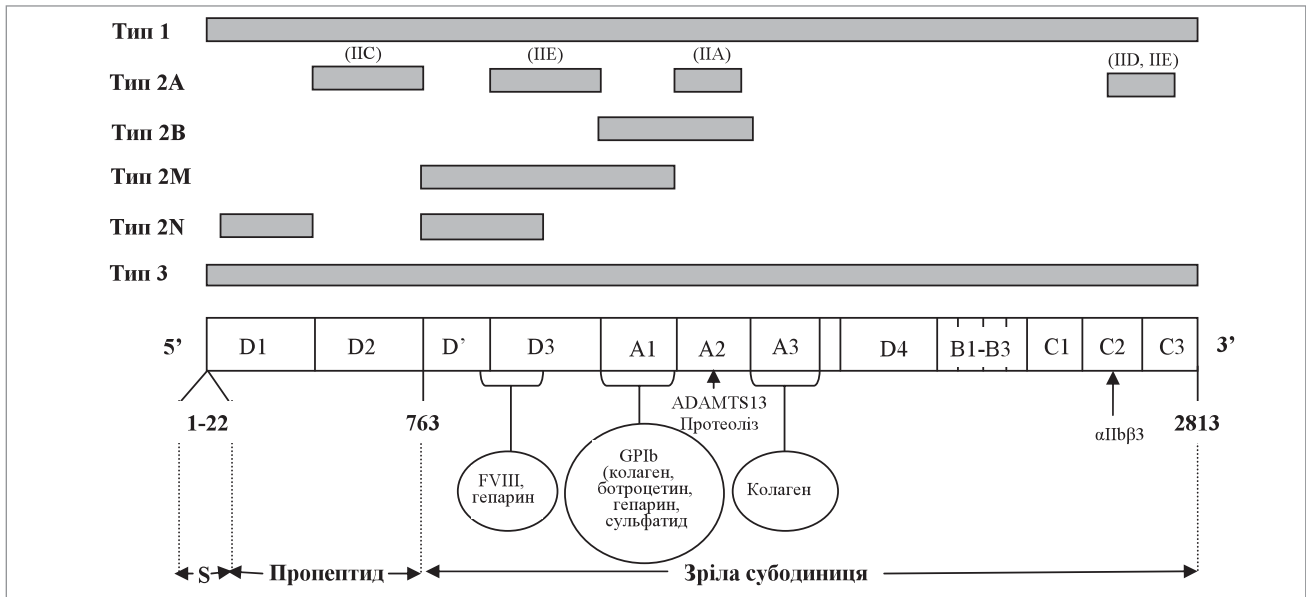


Рис. 1. Синтез і катаболізм vWF





**Примітка.** Перкурсор vWF складається із сигнального пептиду (S), пропептиду, а також зрілої субодиниці. На рисунку відмічені структурні домени (A, B, C, CK), місця зв'язування з FVIII, тромбоцитарним глікопротеїном GPIb, колагеном і тромбоцитарним інтегрином  $\alpha IIb\beta 3$ . Заштриховані прямокутники вказують на розміщення мутацій, що призводять до розвитку vWD.

**Рис. 2.** Структура попередника vWF і локалізація мутацій при vWD

помірні або мінімальні зміни у структурі мультимерів або їх розподілі.

Порушення синтезу vWF — це один із найбільш значущих механізмів при 1 типі vWD. Хоча окремі мутації також можуть спричинити зниження секреції vWF внаслідок порушення інтрацелюлярного транспорту його субодиниць. За таких умов розвивається важка, домінантна, природжена форма vWD 1 типу, хоча фенотип часто є змішаним і може мати особливості як 1 типу vWD, так і 2A типу vWD [5]. Зменшення секреції vWF може бути спричинене мутаціями, що впливають на експресію генів.

Підвищений кліренс vWF може також спричинити розвиток домінантного 1 типу vWD, такого як vWD Vicenza.

Важкий 1 тип vWD може виникати і внаслідок підвищеної схильності vWF до протеолізу [16].

Отже, зрозуміло, що 1 тип vWD різномірний, а окремі його підтипи можуть бути ідентифіковані відповідними тестами. Наприклад, варіант vWD 1 типу, пов'язаний зі швидким кліренсом, ідентифікується характерною відповіддю на дозозалежний тест із десмопресином. Клінічна значущість такої гетерогенності є поза дослідженнями, і це у свою чергу спричиняє подальші зміни у класифікації vWD.

#### vWD 2 типу

Симптоми кровотечі при 2 типі vWD є частими і можуть бути серйознішими, ніж при 1 типі vWD, хоча ця думка потребує ретельного клінічного підтвердження [5,14,16].

#### vWD 2A типу

vWD 2A типу характеризується якісним дефектом, за якого адгезія тромбоцитів, залежна від vWF, є зниженою за рахунок зниженої частки великих мультимерів vWF. Важливо, що при цьому субтипі хвороби рівень vWF:Ag і FVIII може бути в межах норми або помірно зниженим, однак активність vWF, тобто vWF:RiCo, є суттєво зниженою. Саме дефіцит великих мультимерів vWF сприяє виникненню кровотеч у пацієнтів [5,16,17].

vWD 2A типу в основному має домінантний тип успадкування, хоча в окремих випадках виявляється й рецесивний. Гомозиготні мутації пропептиду vWF ускладнюють збірку мультимера в апараті Гольджі, а відсутність сателітних зв'язків зазвичай пов'язується з протеолізом. Первинно це було класифіковано як IIС тип vWD із рецесивним характером успадкування [11]. Гетерозиготні мутації в домені, багатому цистеїном, можуть пошкоджувати димеризацію pro-vWF в ендоплазматичному ретикулумі, тим самим спричиняючи так званий раніше класифікований IID тип vWD [1]. Гетерозиготні мутації у цистеїні зменшують домен D3 і також можуть пошкоджувати збірку мультимерів, однак ці мутації часто також продукують нечіткі або «брудні» мультимери, що раніше розглядалися як IIЕ тип vWD [10] (рис. 1, 2).

З іншого боку, мутації в самому домені A2 чи біля нього асоціюються з виразним протеолі-

зом субодиниць vWF [5,14]. Розрізняють два варіанти такого протеолізу: I група мутацій — з підвищенням протеолізу за рахунок протеази ADAMTS13 і порушенням збірки мультимерів, II група мутацій — з підвищенням протеолізу без порушення збірки великих мультимерів vWF.

Хоча тип 2A vWD є гетерозиготним по своїй суті, ці молекулярні відмінності в даний час не використовуються для поділу на субтипи типу 2A vWD, оскільки вони не є клінічно значущими.

#### *vWD 2B типу*

vWD 2B типу спричиняється мутаціями всередині чи у прилеглому до vWF домені A1, які призводять до підвищеного зв'язування vWF з мембранним тромбоцитарним глікопротеїном GPIb. За таких умов виникає підвищений протеоліз vWF протеазою ADAMTS13 і, як наслідок, знижується кількість великих, потенційно функціональних мультимерів vWF (рис. 1) [11]. Діагноз vWD 2B типу встановлюють на підставі визначення патологічно підвищеної ристоцетин-індукованої агрегації тромбоцитів (RIPA) за низьких концентрацій ристоцетину. Хоча результати лабораторних досліджень для vWD 2B типу можуть бути подібними для vWD 2A типу чи vWD 2M типу, проте у пацієнтів з vWD 2B типом зазвичай виявляють тромбоцитопенію, яка посилюється при хірургічних втручаннях, вагітності чи інших стресових ситуаціях.

vWD 2B типу Malmo чи New York спричиняється мутацією Pro1266Leu й асоціюється з підвищеною RIPA за низьких концентрацій ристоцетину, хоча RIPA може бути й у межах норми у деяких пацієнтів з іншими мутаціями [16]. Слід зазначити, що при цьому типі захворювання розподіл мультимерів у плазмі є нормальним, протеоліз субодиниць vWF не є підвищеним і десмопресин не викликає тромбоцитопенії. У частини пацієнтів можуть спостерігатися помірні кровотечі, а в інших їх немає.

Отже, зниження у плазмі великих мультимерів vWF і підвищений протеоліз його субодиниць можуть корелювати з наявністю рясних кровотеч у пацієнтів із високим значенням RIPA при 2B типі vWD [17].

Диференціальний діагноз слід проводити між 2B типом vWD і тромбоцитарним типом псевдо-vWD, коли наявні так звані *gain-of-function* мутації, що посилюють функцію тромбоцитарного GPIb [17].

#### *vWD 2M типу*

vWD 2M типу належить до варіантів хвороби зі зниженою vWF-залежною адгезією тром-

боцитів, за якої не спостерігається зменшення частки великих мультимерів vWF. Мутації при 2M типі vWD знижують взаємодію vWF з тромбоцитарним GPIb або зі сполучною тканиною і, по суті, не порушують мультимерну збірку. Результати лабораторних досліджень при 2M типі vWD подібні до 2A типу vWD. Різниця полягає лише в особливостях мультимерного розподілу в агарозному гелі [5,10,14,16,19].

За 2M типу vWD ідентифіковано мутації в доменах D, D3 та A1, внаслідок яких порушується зв'язування vWF з тромбоцитарним GPIb (рис. 1). В одному повідомленні були представлені результати дослідження родини, в якій виявлено мутацію vWF у домені A3, внаслідок чого знижувалась адгезія vWF до колагену і можливість розвитку 2M типу vWD [15].

Встановлення vWD 2M типу залежить від того, які методи оцінки використовуються. Наприклад, тест vWF:CB є показовим у тих випадках, коли мутації vWF обумовлюють порушення зв'язування тромбоцитів і при цьому знижується vWF:RiCo. Навпаки, неможливо лише одним тестом vWF:RiCo виявити дефекти зв'язування колагену, внаслідок яких порушується адгезія тромбоцитів *in vivo*. Більшість випадків vWD 2M типу ідентифікується на основі оцінки vWF:RiCo, яка є диспропорційно нижчою, ніж vWF:Ag. Такі пацієнти зазвичай мають мутації всередині A1 домену vWF, внаслідок яких порушується зв'язування vWF з тромбоцитарним GPIb.

#### *vWD 2N типу*

vWD 2N типу є природженим якісним дефектом, з рецесивним типом успадкування. У гетерозиготних родичів зазвичай геморагії відсутні або помірні. При цьому типі хвороби принципово порушується зв'язування vWF з FVIII, яке максимально знижується, маскуючи цим автосомно-рецесивну форму гемофілії А. З огляду на це, диференціальний діагноз ґрунтується на визначенні афінитету vWF пацієнта до FVIII (vWF:FVIIIb).

Більшість мутацій, що спричиняють розвиток 2N тип vWD, перебувають між залишками амінокислот Ser764 і Arg1035, на межі домену D і частини домену D3, тобто саме в тих місцях, які відповідають за зв'язування FVIII з vWF (рис. 2) [5,14,16]. Важливо, що обидві алелі можуть мати мутацію vWF з порушенням зв'язування FVIII з vWF, однак частіше одна алель має дефект, у той час як інша алель мало або зовсім не експресує мутацію vWF (т.зв. «нуль-алель»).

### **vWD 3 типу**

vWD 3 типу є природженим кількісним дефектом, із рецесивним типом успадкування. У гетерозиготних родичів зазвичай спостерігаються помірні симптоми кровотечі або ж геморагічного синдрому немає [6]. Це захворювання характеризується відсутністю vWF і його активності, рівень FVIII зазвичай є дуже низьким (1–10%) і пацієнти рідко відповідають на десмопресин. Третій тип vWD спричиняють різні типи мутацій (*nonsense, frameshift, splice site, missense*). Мутації виникають у будь-якому місці гена vWF, і більшість із них є унікальними для тих сімей, де вони ідентифікуються вперше (рис. 1). У незначній частині пацієнтів із 3 типом vWD можуть виникати алоантитіла до vWF у відповідь на трансфузію продуктів плазми. Великі делеції в гені vWF можуть сприяти саме розвитку таких ускладнень. Віртуально абсолютний дефіцит vWF визначає 3 тип vWD незалежно від фенотипу гетерозиготних родичів.

Термін «важка форма vWD» іноді використовують, щоб описати 3 тип vWD і симптоматичний 1 тип vWD, які характеризуються кількісно дуже низьким рівнем vWF, хоча ці обидва стани майже завжди клінічно є різними [6]. Зазначимо, що 1 тип vWD спричиняється домінантними гетерозиготними мутаціями та рідко асоціюється з низьким (10% і нижче) рівнем vWF, і у пацієнтів з домінантним типом 1 vWD може бути хороша терапевтична відповідь на десмопресин [6,14,16].

### **1 тип vWD vs знижений рівень vWF**

Оскільки основним лабораторним критерієм vWD є низький рівень vWF у плазмі крові, встановлення 1 типу цієї хвороби може бути складним. Слід зазначити, що рівень vWF постійно змінюється і безперервно розподіляється у плазмі крові людини. Ризик кровотечі також постійно змінюється залежно від рівня vWF, і тому немає тієї межі, при якій ми змогли б виокремити пацієнтів у групи з абсолютно різними клінічними особливостями [15]. Більшість пацієнтів з vWD 1 типу не мають специфічних геморагічних ознак.

### **Проблеми лабораторного тестування**

Незначний дефект може ускладнити діагностику і, відповідно, деяких пацієнтів не просто залучити до того чи іншого типу vWD, тобто правильно класифікувати хворобу. Стандартизована інтерпретація мультимерних сканів

могла б допомогти завдяки підвищеній можливості оцінювання плазми крові, широкому впровадженню затверджених аналітичних методів і діагностичних критеріїв, а також додаткових даних щодо мультимерних зразків vWF, пов'язаних зі специфічними мутаціями при vWD. Необхідна подальша інформація для того, щоби встановити значення конкретної комбінації тестів і їх співвідношення для класифікації 2 типу vWD [15,16].

### **Нагальні питання щодо класифікації vWD** *Шкала оцінки кровотечі при vWD*

У даний час розробляються стандартизовані методи правильної оцінки симптомів кровотеч, спричинених різними дефектами vWF [2]. Існує сильна зворотна кореляція між шкалою оцінки кровотеч при vWD і рівнем vWF. Однак взаємозв'язок між рівнем vWF і шкалою оцінки кровотечі при vWD має обмежене прогностичне значення для індивідумів і у майбутньому необхідні дані, щоб уточнити, як саме ризик виникнення клінічно значущих кровотеч залежить від рівня vWF у плазмі крові [17].

### *Відповідь на терапію*

Окремі типи vWD загалом добре корелюють з терапевтичною відповіддю на десмопресин, однак ця кореляція є слабшою порівняно з проміжними типами vWD, що, відповідно, ускладнює визначення 1 чи 2 типу vWD. Деякі спостереження демонструють, що чим більше пацієнт наближений до норми, чи до 1 типу vWD, тим кращою буде відповідь на десмопресин. Таким чином, дозозалежний десмопресинний тест є більш корисним для оцінки потенційної відповіді на терапію [5,16,17]. Та незначна частина пацієнтів з 2 типом vWD, яка також відповідає на десмопресин, може бути ідентифікована цим дозозалежним десмопресинним тестом [3]. Визначення рівня vWF у плазмі крові під час десмопресинного тесту може допомогти у вирішенні спірних питань щодо базових тестів і, таким чином, сприяти залученню хворого до певного типу vWD.

### *Новітні тести для діагностики vWD*

Недавно були розроблені високочутливі та відтворювані тести на визначення здатності vWF зв'язуватися з тромбоцитами з використанням очищеного тромбоцитарного GPIb замість тромбоцитів. Презентація цих тестів демонструє істотне покращення в діагностиці та класифікації vWD [19]. Також нещодавно створено новий тест для визначення пропептиду vWF (vWFpp) і співвідношення vWFpp до vWF:Ag (vWFpp/vWF:Ag), що може допомогти в ідентифікації мутацій vWF з коротким періодом півжиття [15].

### Роль мутацій vWF

Зазвичай локалізація мутацій vWF корелює з типом vWD [3,5,16,17]. На сьогодні в деталях задокументовано взаємозв'язок між генотипом і фенотипом для 2A, 2B, 2M і 2N типів vWD, а також деяких форм 1 типу vWD. Слід зазначити, що при 2A типі vWD локалізацію деяких мутацій можна прогнозувати з урахуванням особливостей аналізу мультимерних зразків vWF. Оскільки стратегія генетичного тесту-

вання розвивається, результати інших лабораторних тестів для vWF пов'язані із секвенуванням гена, що повинно підвищити можливість прогнозувати відповідь на десмопресин чи замісну терапію vWF та сприяти оновленню і покращенню класифікації vWD. Експресія усіх мутацій, а також визначення внутрішньоклітинного і секретованого vWF допоможе дати відповідь на більшість запитань щодо класифікації vWD найближчим часом.

### ЛІТЕРАТУРА

1. A new variant of dominant type 11 von Willebrand's disease with aberrant multimeric pattern of factor VIII-related antigen (type 11D) / Kinoshita S., Harrison J., Lazerson J. [et al.] // *Blood*. — 1984. — Vol. 63. — P. 1369—71.
2. A quantitative analysis of bleeding symptoms in type 1 Willebrand disease: results from multicenter European study (MCMDM-1 vWD) / Tosetto A., Rodeghiero F., Castaman G. [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* — 2006. — Vol. 4. — P. 766—73.
3. A sensitive ristocetin cofactor assay with recombinant glycoprotein Iba for the diagnosis of patients with low Willebrand factor levels / Federici A. B., Canciani M. T., Froza I. [et al.] // *Hematologica*. — 2004. — Vol. 89. — P. 77—85.
4. Battle J. von Willebrand's disease Type IIC with different abnormalities of von Willebrand factor in the same sibship / J. Battle, M. E. Lopez Fernandez, J. Lasiera // *Am. J. Hematol.* — 1986. — Vol. 22. — P. 177—88.
5. Detailed von Willebrand factor multimer analysis in patients with von Willebrand disease in the European study, molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 von Willebrand disease (MCMDM-1vWD) / Budde U., Scheppenheim R., Eikenboom J. [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. — 2008. — Vol. 6. — P. 762—71.
6. Eikenboom J. C. Willebrand disease type 3: clinical manifestation, pathophysiology and molecular biology / J. C. Eikenboom // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* — 2001. — Vol. 14. — P. 365—79.
7. Ginsburg D. Molecular Genetics of von Willebrand disease / D. Ginsburg, E. W. Bowie // *Blood*. — 1992. — Vol. 79. — P. 2507.
8. Holmberg L. Genetic variants of von Willebrand's disease / L. Holmberg, I. M. Nilsson // *Engl. J. Med.* — 1973. — Vol. 288 (12). — P. 595—8.
9. Multimeric structure of factor VIII/von Willebrand factor in von Willebrand's disease / Meyer D., Obert B., Piétu G. [et al.] // *J. Lab. Clin. Med.* — 1980. — Vol. 95 (4). — P. 590—602.
10. New variant of von Willebrand disease with defective binding to factor VIII / Nishino M., Girma J.P., Rothschild C. [et al.] // *Blood*. — 1989. — Vol. 74. — P. 1591—99.
11. Ruggeri Z. M. Review. Von Willebrand factor and von Willebrand disease / Z. M. Ruggeri, T. S. Zimmerman // *Blood*. — 1987. — Vol. 70. — P. 895—04.
12. Ruggeri Z. M. Variant von Willebrand's Disease: characterization of two subtypes by analysis of multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor in plasma and platelets / Z. M. Ruggeri, T. S. Zimmerman // *J. Clin. Invest.* — 1980. — Vol. 65 (6). — P. 1318—25.
13. Ruggeri Z. M. von Willebrand factor and von Willebrand disease / Z. M. Ruggeri, T. S. Zimmerman // *Blood*. — 1987. — Vol. 70 (4). — P. 895—04.
14. Salder J. E. A revised classification of von Willebrand's disease / J. E. Salder // *Thrombosis and Haemostasis*. — 1994. — Vol. 71. — P. 520—5.
15. Salder J. E. Willebrand disease type: a diagnosis in search of a disease / J. E. Salder // *Blood*. — 2003. — Vol. 101. — P. 2089—93.
16. Scheppenheim R. Phenotypic and genotypic diagnosis of von Willebrand disease: a 2004 update / R. Scheppenheim, U. Budde // *Semin. Hematol.* — 2005. — Vol. 42. — P. 15—28.
17. Type 2 von Willebrand disease causing defective von Willebrand factor-dependent platelet function / Meyer D., Fressinaud E., Hilbert L. [et al.] // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* — 2001. — Vol. 14. — P. 349—64.
18. Zimmerman T. S. Immunologic differentiation of classic hemophilia (factor 8 deficiency) and von Willebrand's disease, with observations on combined deficiencies of antihemophilic factor and proaccelerin (factor V) and on an acquired circulating anticoagulant against antihemophilic factor / T. S. Zimmerman, O. D. Ratnoff, A. E. Powell // *J. Clin. Invest.* — 1971. — Vol. 50 (1). — P. 244—54.
19. Zimmerman T. S. Coagulation and Bleeding disorders. The role of factor VIII and von Willebrand factor / T. S. Zimmerman, Z. M. Ruggeri. — New York : Marcel Dekker, Inc, 1989. — P. 117—36.

### Сведения об авторах:

**Дубей Леонид Ярославович** — д.мед.н., проф. каф. педиатрии и неонатологии ФПДО Львовского национального медицинского университета имени Д. Галицкого. Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Дубей Наталья Васильевна** — к.мед.н., ассистент каф. лучевой диагностики ФПДО Львовского национального медицинского университета имени Д. Галицкого. Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Маркин Андрей Игоревич** — аспирант каф. лучевой диагностики ФПДО Львовского национального медицинского университета имени Д. Галицкого. Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Цибалюк-Волошин Ирина Петровна** — к.мед.н., зав. отделения детской гематологии и интенсивной химиотерапии КЗ ЛОР «Западноукраинский специализированный детский медицинский центр», доц. каф. гематологии и трансфузиологии ФПДО Львовского национального медицинского университета имени Д. Галицкого. Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Дорощ Ольга Игоревна** — к.мед.н., детский гематолог отделения детской гематологии и интенсивной химиотерапии КЗ ЛОР «Западноукраинский специализированный детский медицинский центр». Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Трояновская Ольга Орестовна** — к.мед.н., ассистент каф. факультетской и госпитальной педиатрии Львовского национального медицинского университета имени Д. Галицкого, детский гематолог отделения детской гематологии и интенсивной химиотерапии КЗ ЛОР «Западноукраинский специализированный детский медицинский центр». Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Козлова Елена Игоревна** — детский гематолог отделения детской гематологии и интенсивной химиотерапии КЗ ЛОР «Западноукраинский специализированный детский медицинский центр». Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Степанюк Елена Ивановна** — детский гематолог отделения детской гематологии и интенсивной химиотерапии КЗ ЛОР «Западноукраинский специализированный детский медицинский центр». Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Воробель Оксана Ивановна** — детский гематолог отделения детской гематологии и интенсивной химиотерапии КЗ ЛОР «Западноукраинский специализированный детский медицинский центр». Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Сапухак Марина Вячеславовна** — биолог клинической лаборатории КЗ ЛОР «Западноукраинский специализированный детский медицинский центр». Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Дубей Юлия Леонидовна** — студент 2-го курса стоматологического факультета Львовского национального медицинского университета имени Д. Галицкого. Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.  
**Шоробура Наталья Игоревна** — студент 5-го курса медицинского факультета Львовского национального медицинского университета имени Д. Галицкого. Адрес: г. Львов, ул. Днистерская, 27.

Статья поступила в редакцию 19.01.2017 г.