

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ERİŞKİN YAŞTAKİ VON WILLEBRAND  
HASTALARININ ALT TIPLENDİRİLMESİ,  
KLİNİK VE LABORATUVAR  
ÖZELLİKLERİNİN, TEDAVİ  
YÖNTEMLERİNİN SAPTANMASI

Dr. Zelal Adıbelli

UZMANLIK TEZİ

ANKARA

2005



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ERİŞKİN YAŞTAKİ VON WILLEBRAND  
HASTALARININ ALT TIPLENDİRİLMESİ,  
KLİNİK VE LABORATUVAR  
ÖZELLİKLERİNİN, TEDAVİ  
YÖNTEMLERİNİN SAPTANMASI

Dr. Zelal Adıbelli

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Semra Dünder\*

Prof. Dr. Nilgün Sayınalp

ANKARA

2005

\*Bu tezin basılması aşmasında hocamız ebediyete  
intikal etmiştir.

## TEŞEKKÜR



## ÖZET

**Adıbelli Z. , Erişkin Yaştaki von Willebrand Hastalığı Olgularının Alt Tiplendirilmesi, Klinik ve Laboratuvar Özelliklerinin, Tedavi Yöntemlerinin Saptanması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Ankara, 2005.** Von Willebrand Hastalığı (vWH) en sık görülen kalıtsal kanama bozukluğudur. Kalitatif (tip 2) ve kantitatif (tip 1,3) bozukluklar olmak üzere üç alt tipe ayrılmıştır. Hastalığın klinik spektrumunun geniş olması ve tanı için kullanılan laboratuvar testlerinin çeşitliliği tanısını güçleştirmektedir. Bu tez çalışmasında daha önce vWH tanısı almış erişkin yaştaki olguların alt tiplendirilmesinin yapılması, klinik özelliklerinin ve uygulanan tedavilerin saptanması ve tarama için kullanılan laboratuvar testlerinin sensitivitesini değerlendirilmesi amaçlandı. Ayrıca mukokütanöz kanama ile Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Erişkin Hematoloji bölümüne başvuran veya refere edilen hastalarda trombosit aggregasyon testleri sonucu saptanan vWH ve konjenital trombosit fonksiyon bozukluğu sıklığı araştırıldı. 617 hastanın trombosit aggregasyon testleri değerlendirildiğinde 378 hastada trombosit aggregasyon testi normal olarak bulunmuş, 63'ünde (% 10,2) VWH ile uyumlu, 5 hastada ( % 0,8 ) Bernard Soulier hastalığı ile uyumlu, 6 hastada (% 0,9) Depo-Havuz hastalığı ile uyumlu, 45 hastada (% 7,2) Glanzmann Trombasteni ile uyumlu sonuç elde edildi. Bu çalışmada VWH tanısı olan toplam 33 hastanın dosya kayıtları değerlendirildi. Hastaların tanı alma yaşları 1-60 yaş arasında değişmekte idi. Ortalama tanı yaşları 17,6 ve median tanı yaşı 19 idi. Çalışmaya dahil edilen 33 VWH olan hastanın yapılan alt tiplendirmesi sonucu 11 hasta (%33,3) tip 3 VWH, 8 hasta ( %24,2 ) tip 1 VWH , 5 hasta tip 2 VWH, 3 hasta tip 2B VWH olarak değerlendirildi. Altı hastaya veri eksikliği nedeni ile alt tanı konulamadı. İlk başvuru şikayeti olarak 33 hastanın 10'unda (% 30,3) dişeti kanaması ilk sırada yer almaktaydı. Kadın hastaların %83,3'ünde menoreji vardı. Bir hastada derin doku kanaması (eklem içi kanama) vardı ve bu hasta tip 3 vWH tanısı ile izlenmekte idi. Toplam 17 hastada PFA-100 cihazı ile invitro kanama zamanı çalışılmıştı. CADP'nin sensitivitesi % 94,1, CEPİ'nin sensitivitesinin %100 olduğu saptandı. Template yöntemi ile 19 hastada cilt kanama zamanı değerlendirilmişti ve sensitivitesi

%84,2 olarak saptandı. VWH alt tiplerinin kanama şiddeti açısından yapılan değerlendirilmesinde ciddi kanama epizod sayısı iki ve üzerinde olan tip 3 vWH olgularının oranı % 54,5 iken, tip 1 VWH olanlarda %12,5 ve tip 2 VWH olanlarda %20 idi. Desmopressin testi yapılan 9 hastanın teste olan yanıtları incelendiğinde tip1 vWH olan 5 hastanın hepsinde ve tip 2 vWH tanısı olan 1 hastada pozitif yanıt alınırken tip 3 VWH tanısı olan 3 hastada olumlu yanıt alınmadığı izlendi. Tip 3 vWH olan hastalarının %81,8'ine (9/11) kan transfüzyonu ve %63.6'ine faktör replasmanı yapılmıştır. Bu oranlar diğer alt tiplere nazaran daha yüksek olarak tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Von Willebrand Hastalığı, Menoraji, Von Willebrand faktör, Desmopressin

## ABSTRACT

**Adıbelli Z. Classification of Adult Von Willebrand Disease Patients, Determination of Their Clinical, Laboratory Characteristics and Management Hacettepe University School of Medicine, Department of Internal Medicine, Thesis in Internal Medicine, Ankara 2005.** Von Willebrand disease ( vWD ) is the most common bleeding disorder. It is divided into three subtypes as qualitative (Type 2) and quantitative (Types 1,3) disorders. Wide range of the disease's clinical spectrum and variety of diagnostic laboratory tests make the diagnosis difficult. The aim of this thesis is making the subtyping of adult patients who were diagnosed as vWD, determination of their clinical characteristics and treatments and evaluating the sensitivity of scanning laboratory tests . Prevalence of vWD and congenital platelet dysfunction detected by platelet aggregation tests done to patients submitted or referred to Hacettepe University Department of Hematology with mucocutaneous bleeding was also determined. Platelet aggregation tests were found normal in 378 patients, compatible with VWD in 63 (10.2 %) patients, Bernard Soulier disease in 6 (0,9%) patients, storage-pool disease in 6 (0,9%) patients and Glanzmann Thrombastenia in 45 (7,2 %) patients among 617 patients. 33 patients' files diagnosed as vWD were analysed. No diagnosis were made to 6 patients because of missing datas. Age of diagnosis was changed between 1-60. Mean age of diagnosis was 17,6 and median 19. After analysis of these 33 vWD patients, 11 patients were classified as Type 3 VWD, 8 patients as Type 1 VWD, 5 patients as Type 2 VWD and 3 patients as Type 2B VWD. Gum bleeding was the most common (30,3 %) complaint in first admission. 83,3% of female patients had menorrhage . One patient with type 3 vWD had deep tissue bleeding (intra articular). In vitro bleeding time were studied by PFA-100 machine in 17 patients. The sensitivity of CADP was 94,1% and CEPI was 100%. Skin bleeding time was measured with template method in 19 patients and sensitivity was 84,2 %. Desmopressin test was applied to 9 patients and positive in 5 patients with Type 1 vWD, 1 patient with Type 2 vWD and negative in 3 patients with Type 3 vWD. Blood transfusions were made to 81,8 % and factor replacements were made to 63,6 % of type 3 vWD patients. These rates were higher than other subtypes.

**Keywords:** von Willebrand disease, Menorrhagia, von Willebrand factor, Desmopressin

## İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET

ABSTRACT

İÇİNDEKİLER

SİMGELER ve KISALTMALAR

ŞEKİLLER

TABLolar

GİRİŞ ve AMAÇ

GENEL BİLGİLER

2.1. Hemostaz ve Normal Kan Akışı

2.2. Pıhtılaşma Fizyolojisi

2.2.1. Primer hemostaz

2.2.2. Sekonder hemostaz

2.3. Kanamalı Hastaya Genel Klinik Yaklaşım

2.4. Kanama Eğiliminde Öykü ve Fizik Bulgular

- 2.5. Kanama Eğilimi Nedenleri
- 2.6. Kanama Eğiliminde Kullanılan Laboratuvar Tarama Testleri
- 2.7. Herediter Trombosit Fonksiyon Bozuklukları
  - 2.7.1. Platelet Adezyon Bozukluğu
  - 2.7.2. Platelet Agregasyon Bozukluğu
  - 2.7.3. Sekresyon Bozuklukları
    - 2.7.3.1.  $\alpha$ -Granül Eksikliği: Gri Platelet Sendromu
    - 2.7.3.2.  $\delta$ -Granül Eksikliği: Yoğun Cisim Eksikliği
- 2.8. Von Willebrand Hastalığı
  - 2.8.1. Tarihçesi
  - 2.8.2. İnsidans
  - 2.8.3. vWF Yapısı ve Fonksiyonları
  - 2.8.4. Primer Hemostazdaki Bozukluklar
  - 2.8.5. Sekonder Hemostaz Bozuklukları
  - 2.8.6. VWF Anomalileri
  - 2.8.7. Faktör VIII Bozuklukları
  - 2.8.8. Sınıflandırılması
  - 2.8.9. Klinik Özellikler
  - 2.8.10. Laboratuvar Özellikleri
    - 2.8.10.1. Kanama Zamanı
    - 2.8.10.2. Platelet Fonksiyon Analizi (PFA)
    - 2.8.10.3. Parsiyel Tromboplastin Zamanı ve F VIII Düzeyi
    - 2.8.10.4. vWF Düzey Ölçümü ( vWF: Ag)
    - 2.8.10.5. vWF İşlevsel Değerlendirilmesi
    - 2.8.10.6. Ristosetin Kofaktör Analizi ve Ristosetin Aracılı Platelet Agregasyonu
    - 2.8.10.7. Von Willebrand Faktör-Kollajen Bağlanma Aktivitesi (vWF:CB)
    - 2.8.10.8. vWF'ün F VIII'e Bağlanma Özelliğinin Ölçümü
    - 2.8.10.9. vWF Multimerik Analizi
    - 2.8.10.10. Genetik Çalışmalar
  - 2.8.11. Kantitatif Von Willebrand Faktör Bozuklukları
    - 2.8.11.1. Tip 1 von Willebrand Hastalığı

- 2.8.11.2. Tip 3 von Willebrand Hastalığı
- 2.8.12 Von Willebrand Faktörün Kalitatif Bozuklukları
  - 2.8.12.1. tip 2A
  - 2.8.12.2 Tip 2B
  - 2.8.12.3. Tip 2M
  - 2.8.12.4. Tip 2N
- 2.8.13. Platelet-Tip(Psödo) von Willebrand Hastalığı
- 2.8.14. Tedavi
  - 2.8.14.1. Genel Tedavi Prensipleri
  - 2.8.14.2. Otolog Replasman Tedavisi
  - 2.8.14.3. Allojenik Replasman Tedavisi
  - 2.8.14.4. Antifibrinolitik Amino Asitler
  - 2.8.14.5. Üreme Sağlığı ve vWH
  - 2.8.14.6. Menoraji
  - 2.8.14.7. Doğum Esnasında Tedavi
  - 2.8.14.8. Alloantikorlar
  - 2.8.14.9. Gelecekteki Tedavi Modaliteleri

## BİREYLER ve YÖNTEMLER

## BULGULAR

## TARTIŞMA

## SONUÇLAR

## KAYNAKLAR



## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

<p>% &lt; &gt;</p>	<p>yüzde küçüktür büyüktür</p>
----------------------------	--

**ŞEKİLLER**

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 2.1.</b> Pıhtılaşma sistemi	9
<b>Şekil 2.2.</b> vWF yapısı. FVIII, heparin, kollajen, GP1b ve GP IIb/IIIa bağlanma bölgeleri ve vWH alt tiplerinde görülen farklı gen mutasyon bölgeleri	20

## TABLOLAR

Tablo	Sayfa
<b>Tablo 2.1.</b> Kanama eğilimi nedenleri	
<b>Tablo 2.2.</b> Von Willebrand Hastalığının Sınıflandırılması	9
<b>Tablo 2.3.</b> Ciddi vWH olan hastalarda (faktör düzeyleri normalin %10'u ve daha düşük olanlar) önerilen ortalama F VIII ve vWF dozları	18
<b>Tablo 2.4.</b> vWH alt tiplerinin tedavi seçenekleri.	19
<b>Tablo 4.1.</b> Hastaların cinsiyet dağılımı	
<b>Tablo 4.2.</b> Hastaların tanı yaşlarının dağılımı	
<b>Tablo 4.3.</b> Von Willebrand hastalarının alt tiplerine göre dağılımı	
<b>Tablo 4.4.</b> Hastaların aile öykülerinin dağılımı	
<b>Tablo 4.5.</b> Hastaların başvuru şikayetlerinin alt tanılarına göre dağılımı	
<b>Tablo 4.6.</b> VWH alt tiplerinde anemi görülme sıklığı	
<b>Tablo 4.7.</b> Hastalarda kanama semptomlarının görülme sıklıkları	
<b>Tablo 4.8.</b> Hastaların cilt kanama zamanlarının ve invitro kanma zamanlarının alt tiplerine göre değerlendirilmesi	
<b>Tablo 4.9.</b> vWH alt tiplerinin Desmopressin tedavisine yanıtlarının değerlendirilmesi	
<b>Tablo 4.10.</b> Uygulanan tedavi yöntemlerinin von willebrand hastalarının alt tiplerine göre dağılımı	

<b>Tablo 4.11.</b> Hastaların ciddi kanama epizodlarının alt tiplerine göre dağılımı	
--	--



## I. GİRİŞ VE AMAÇ

Normal hemostaz, damar duvarındaki yaralanmayı takiben pıhtı oluşumu ve doku tamiri ile sonuçlanan süreçleri içerir. Damar endotel hücreleri, trombositler, von Willebrand faktör (vWF), doku faktörü, serin-proteaz yapısında pıhtılaşma proteinleri, fibrinolitik sistem, antikoagülan proteinler hemostaz sisteminin elemanlarını oluştururlar (1). Bir damar hasarı olduğunda çözünür olmayan trombosit ve fibrin tıkaçı oluşarak kan kaybı önlenir ve ardından da damar bütünlüğü tekrar sağlanır.

Edinsel ve konjenital nedenler hemostaz sapmalarına (tromboz ve/veya kanama) neden olabilirler. Kanama eğilimine neden olan hemostaz bozuklukları trombosit hastalıkları, kan pıhtılaşma faktörlerinin bozuklukları ve vasküler purpuralar olarak gruplara ayrılırlar. Trombosit fonksiyon bozuklukları akkiz ve konjenital olarak ayrılır. Konjenital trombosit fonksiyon bozuklukları; trombosit adezyon bozuklukları (Bernard Soulier sendromu), trombosit aggregasyon bozuklukları (Glanzmann trombasteni) ve konjenital sekresyon bozuklukları olarak sınıflandırılır (1).

VWF adı verilen multimerik plazma faktörünün eksikliğine veya fonksiyon bozukluklarına bağlı olarak gelişen von Willebrand hastalığı (vWH) en sık görülen kalıtsal kanama diyatezidir (1-4). Epidemiyolojik taramalar toplum genelindeki sıklığın % 1-2 arasında olduğuna işaret etmektedir. vWH heterojen bir hastalık olup hafif mukozal kanamalardan hemofiliye benzer ciddi kanamalara kadar farklı kliniklerle gelebilir veya asemptomatik kalabilir. Hafif kanama şikayeti ile başvuran hastada, özellikle kanama semptomları çocukluk çağında başlıyorsa ve aile öyküsü varsa vWH akla gelmelidir. vWH tip 1, 2, 3 olmak üzere üç alt tipe ayrılmaktadır. Tip 2 vWH ayrıca 2A, 2B, 2M, 2N olmak üzere alt tiplere ayrılmaktadır. Hastalığın farklı tiplerinin laboratuvar bulgularının birbirinden farklı olması ve hafif formlarının normalden ayırt edilmesinin güç olması nedeni ile hastalığın tanısı zordur. Tedavi yaklaşımlarının farklı olması ve genetik danışma yönünden alt tiplerinin ayırt edilmesi önemlidir.

vWH çoğunlukla hafif veya orta şiddette mukozal kanamalarla karakterizedir. En sık görülen semptomlar burun kanaması ve kadınlarda menorajidir (1-4). Menoraji, vWH olan kadınlarda yaşam kalitesini etkilemektedir ve anemi gelişimine neden olmaktadır (5;6). Diş çekimi sonrası kanama, dişeti kanaması, kolay morarma, yüzeysel kesilerden sonra uzun süren kanama, gastrointestinal sistem(GİS) kanaması hastalığın tipik belirtileridir. Tip 3 vWH olgularında şiddetli mukozal kanamalar ve hemofiliye benzer derin doku kanamaları da görülmektedir (1-3).

vWH tanısı için mukokütanöz kanama öyküsünün olması, aile öyküsünün pozitifliği ve vWF'ün kalitatif ve/veya kantitatif defektinin laboratuvar testleri ile gösterilmesi gerekmektedir (7). Hastalığın tanısını koymakta önceki yıllarda kullanılan tarama testlerinden cilt kanama zamanının ölçümü eski önemini kaybetmekte, yerine yeni geliştirilen cihazlar ile invitro kanama zamanının ölçülmesinin vWH tanısında kullanılabilirliği ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (8-11). Hastaya anemi ve trombositopeni (tip 2B vWH'da kronik hafif trombositopeni görülmektedir) açısından kan sayımı yapılmalıdır. Tarama amaçlı basit pıhtılaşma testleri ve kanama zamanı ölçümü dışında hastalığın tanısı için von Willebrand antijen düzeyi (vWF:Ag), ristosetin kofaktör aktivitesi (RiCof) ve faktör VIII (FVIII) düzeylerinin ölçümü gerekmektedir. Hastalığın alt tiplendirmesinin yapılabilmesi için vWF multimer analizi ve genetik çalışmalar uygulanmalıdır. VWF ve FVIII düzeylerindeki değişkenlik nedeni ile vWH tanısının konması veya ekartasyonu için testlerin en az iki kez tekrarlanması gerekmektedir (12,13).

vWH'da tedavi yaklaşımı hastalığın alt tipine ve kanama yerine göre farklılık göstermektedir. Ağır vWH olgularındaki ciddi kanama epizodlarının tedavisi için FVIII/ vWF veya saf vWF konsantrelerinin verilmesi gerekir. Hafif vWH olgularında cerrahi öncesi profilakside ve kanamaların kontrol altına alınması için vWF ve FVIII düzeylerini arttıran desmopressin (DDAVP) tercih edilmektedir (1-3,5). vWH tedavisinde ayrıca antifibrinolitikler, oral kontraseptifler (özellikle menorajisi olan kadın hastalarda) ve lokal hemostatik ilaçlar gibi yardımcı tedavi

ajanlarının kullanımı da sözkonusudur. Gelecekte, rekombinan DNA teknolojisi ile üretilen vWF kullanımı ile özellikle ağır vWH olgularında plazma ürünlerinin kullanımının azaltılması planlanmaktadır ve gen terapisi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (5). Bu çalışmada:

1. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Ünitesine mukokütanöz kanama nedeni ile başvuran veya refere edilen hastalarda yapılan trombosit agregasyon testleri sonucu vWH ve diğer konjenital trombosit fonksiyon bozuklukları tanısı konulan hastaların sıklığının belirlenmesi,
2. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Ünitesinde takip edilen ve hastane arşivlerinde kayıtlı olan erişkin yaştaki vWH olgularının alt tiplendirilmesinin yapılması ve klinik, laboratuvar özelliklerinin, tedavi yöntemlerinin saptanması,
3. vWH tanısında kullanılan cilt kanama zamanı ve PFA-100 cihazı ile ölçülen in vitro kanama zamanı testlerinin sensitivitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.
4. Erişkin yaşta tanı konulan vWH oranını belirleyerek, toplumda sık görülen bu kalıtsal hastalığın daha erken tanı alması için hastalıkla ilgili hekimlerin bilgi düzeylerinin artırılması için konuya dikkat çekilmesi amaçlanmaktadır.
5. Ayrıca bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Ünitesinde takip edilen erişkin yaştaki vWH olgularının klinik ve laboratuvar özelliklerinin saptandığı tanımlayıcı bir çalışma olması nedeni ile ilerideki analitik çalışmalar için gözlem sağlamaktadır.

## II. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hemostaz ve Normal Kan Akışı

Normal kan akışı; koagülan, antikoagülan ve fibrinolitik sistemler arasındaki hassas dengenin korunmasıyla sağlanmaktadır. Bu hemostatik denge, hem kanamayı hem de uygun olmayan pıhtı oluşumunu önlemektedir. Normal hemostaz, damar duvarındaki

yaralanmayı takiben pıhtı oluşumu ve doku tamiri ile sonuçlanan süreçleri içerir. Damar endotel hücreleri, trombositler, von Willebrand faktör (vWF), doku faktörü, serin-proteaz yapısında pıhtılaşma proteinleri, fibrinolitik sistem proteinleri, antikoagülan proteinler hemostaz sisteminin elemanlarını oluştururlar (14). Normal laminer kan akımı, sağlıklı bir hemoreolojik sistem de normal hemostaz için mutlaka gereklidir. Bir damar hasarı olduğunda çözünür olmayan trombosit ve fibrin tıkaçı oluşarak kan kaybı önlenir ve ardından da damar bütünlüğü tekrar sağlanır.

Edinsel ve konjenital nedenler hemostaz sapmalarına (tromboz ve/veya kanama) neden olabilirler. Kanama eğilimine neden olan hemostaz bozuklukları trombosit hastalıkları, kan pıhtılaşma faktörlerinin eksiklikleri ve vasküler purpuralar olarak gruplara ayrılırlar. Kanama, bir hemostaz sapmasıdır. Fiziyojik hemostaz, ihtiyaç duyulan vasküler lokalizasyonda gereken miktarda pıhtı oluşumu ile kanamayı kontrol altına alır. Hemostatik süreç aslında bir bütün olmasına rağmen, klinik pratikte primer ve sekonder hemostaz olarak alt aşamalarda incelenebilir. Bu ayırım öğrenim kolaylığı sağlamakta ve klinik pratikte hemostatik hastalıkların ayırıcı tanı ve tedavisinde kolaylıklar sağlamaktadır. Damar hasarının olduğu bölgede trombositlerin tıkaç oluşturmasına primer, bunu takiben koagülasyon sisteminin aktif hale gelerek fibrin pıhtısını oluşturmasına sekonder hemostaz adı verilir.

Primer ve sekonder hemostaz bozukluklarında kanamalar ortaya çıkmaktadır. Her iki hemostaz bozukluğunun da kendine has klinikopatolojik tabloları vardır. Kalıtsal ya da kazanılmış nedenlerle hemostazın bozulması kanamalı klinik tabloların ortaya çıkmasına neden olur. Kalıtsal olarak kanamaya eğilim doğuran

hastalıklar/ hemostaz bozuklukları toplumda değişen sıklıklarda ortaya çıkar. En sık görülen kalıtsal hemorajik diyatez nedenleri, von Willebrand hastalığı, hemofili-A, ve hemofili-B'dir (2). Von Willebrand hastalığı, primer ve sekonder hemostaz bozukluğuna yol açarken hemofililerde sekonder hemostaz bozuktur (1-5).

## **2.2. Pıhtılaşma Fizyolojisi**

Trombositler, koagülasyon proteinleri ve fibrinolitik sistem elemanları hemostazın sağlanmasında esas rolü oynarlar. Hemostaz sürecinde damar hasarının olduğu bölgede trombositlerin tıkaç oluşturmaya primer, bunu takiben koagülasyon sisteminin aktif hale gelerek fibrin pıhtısını oluşturmaya sekonder hemostaz adı verilir.

### **2.2.1. Primer hemostaz**

Primer hemostaz sisteminin bileşenleri başlıca vasküler endotel hücresi, ve trombositlerdir. Primer hemostaz, trombositlerin ve endotel hücrelerinin aktivasyonu ile gerçekleşir. Trombositler hasarlı bölgeye gelerek, yapışma (adezyon), granül içeriklerini ortama salgılama (sekresyon) ve kümeleşme (aggregasyon) fonksiyonlarını yerine getirirler (15).

Trombositler, kemik iliğindeki megakaryosit fragmanlarından oluşan ve nükleus içermeyen periferik kan elemanlarıdır. Periferik kanda normal trombosit sayısı 140000-450000/mm<sup>3</sup> olarak belirtilir. Normal hemostazın sağlanması için trombositlerin sayısal olarak yeterli olması yanısıra fonksiyonları da normal olmalıdır. Trombosit adezyon ve aggregasyonu, hemostazın başlangıç olaylarından biridir. Koagülasyon reaksiyonları, meydana gelen trombosit tıkaçının üzerine 'fibrin pıhtı' oluşumu ile sonuçlanır. Trombositler, subendotelial kollajene bağlanmak için gereken glikoprotein (GP) reseptörler GP Ia/IIa, GP VI ile ve GP Ib-V-IX reseptörleriyle vWF'e bağlanarak adezyon sürecini gerçekleştirirler [16]). Trombosit fibrinojen reseptörü GP IIb-IIIa sonraki aggregasyon için gereklidir. Trombosit reseptörlerine bağlanan ligandlar, subendotelial matrix proteinleri, plazma proteinleri, ve salınım sonrasında bizzat active trombosit-içi proteinlerdir. Trombosit granülleri (alfa granüller ve yoğun granüller) trombosit fonksiyonları için gereken pek çok molekülün (ADP ve P-selektin gibi) salındığı kritik hücre yapılıdır. Alfa-granül proteinleri, başlıca vWF, platelet factor 4,

fibrinojen, faktör V'dir (17). Yoğun granüller; kalsiyum, ADP, ATP, ve serotonin içerir. Başlıca anyonik fosfolipid yapısında olan trombosit membranı kanalikülleriyle birlikte, hemostatik reaksiyonlar (özellikle trombin oluşumu) için kritik bir yüzey teşkil eder. Diğer trombosit bileşenleri (lizozomlar) ve platelet metabolizması (başlıca prostaglandin ve tromboksan deriveleri ile) direk veya indirek olarak hemostaz sürecinde rol alır. ADP ve tromboksan A2 trombosit aktivasyon molekülüdür. Trombosit prokoagulan aktivitesi, membran, reseptör, granül, protein, ligand, mediatör molekül işbirliğinin en üst düzeyde karmaşık etkileşimiyle gerçekleştirilir. Trombositler ve trombosit yüzeyinden salınan mikropartiküller, sekonder hemostazın gelişim sürecinde 'ekstrinsik ve intrinsik Tenaz kompleksleri'nin oluşumunu ve etkilerini hızlandırarak da pıhtı oluşumuna katkıda bulunurlar (16).

Trombosit hücre membran glikoproteinleri, tüm karmaşık platelet yapıları arasında kritik rolleriyle ön plana çıkarlar. GP IIB-IIIa (trombosit fibrinojen reseptörü) integrin ailesinden bir adezyon molekülüdür (18). Hücre temasları ve hareketinde rol alması yanı sıra başta trombosit alfa granüllerinden salınan fibrinojen olmak üzere değişik agonist ligandlarla aktive olduğunda agregasyon sürecinin vazgeçilemez bir ögesi durumundadır. Agonistler, GP IIB-IIIa reseptöründe yapısal bir değişiklik doğurarak sonraki trombositin yapışmasını sağlarlar ve agregasyon gerçekleşir. Konjenital GP IIB-IIIa eksikliği, Glanzman trombastenisi hastalığına neden olur. GP Ib-IX-V, vWF reseptörüdür ve adezyonda rol alır (15,16). vWF multimerik yapısı olan bir glikoproteindir. Temel yapıtaşları birbirlerine disülfid bağları ile bağlı iki proteindir; yani bir dimerdir. Dimerlerin disülfid bağları ile birbirlerine bağlanmaları sonucunda en çok 50 ile 100 dimerden oluşan yüksek molekül ağırlıklı multimerler oluşur. vWF dimerik formdan, geniş multimerik forma kadar değişik büyüklüklerde bulunabilir. Yüksek molekül ağırlıklı multimerler daha fazla fonksiyonel alt üniteler içerdiğinden daha yüksek affinite ile ve daha fazla miktarda trombosit ve subendotelial matriks proteini bağlayabilirler. Düşük molekül ağırlıklı multimerlerin daha çok F VIII stabilizasyonunda görev yaptıkları düşünülmektedir. Subendotelial matriks yapısında ve endotelde Wiebel-Palade cisimcikleri içinde (yaralanma durumunda subendotel içine salınır) depolanmış durumda bulunan vWF molekülleri,

plazmadakiler ve trombosit içinekilere nazaran daha yüksek molekül ağırlıklı olup, arteriyel dolaşımında trombosit adezyonu için hızlı kan akımına rezistan sağlayan esas yapı da bunlardır. Dolaşan vWF normalde GP Ib-IX-V'e bağlanmaz. Kan akım hızının yüksek olduğu arteriyel sistemde, trombositlerin subendotelde bulunan vWF'ne adezyonunun iki aşamada gerçekleştiği kabul edilmektedir. İlk aşamada GP Ib-IX-V ile vWF yüksek affinite ile kuvvetli bir bağ oluştururlar ve böylece trombosit subendotele yapışır. Ancak bu bağın yarıömrü kısadır. Bu nedenle trombosit immobilize olmayıp damar duvarı üzerinde sürüklenmeye devam eder. GP Ib-IX-V ile vWF bağlanması sonucunda aktifleşen GP IIb-IIIa'nın devreye girip vWF bağlamaya başlaması ile trombositler tam olarak immobilize olurlar. Bu aşamadan sonra sekresyon ve agregasyon aşamaları gerçekleşir. Düşük gerilimli venöz sistemde ise agregasyonu sağlayan GP IIb-IIIa ligandı vWF'den çok fibrinojendir. Konjenital GP Ib-IX-V eksikliği, Bernard-Soulier hastalığına neden olur (16). Tüm bu reseptörlerin değişik polimorfizmlerinin trombotik hastalıklar ile birlikte olabileceği belirtilmiştir. Trombosit tıkaçının meydana gelmesi ile birlikte sekonder hemostaz bileşenleri olan koagülasyon sistemi ve fibrinolitik sistemler devreye girer.

### 2.2.2. Sekonder hemostaz

Sekonder hemostaz sisteminin bileşenleri başlıca koagülasyon ve fibrinolitik sistemlerdir. Eski yıllarda koagülasyonun FXII'den başlayarak intrinsik yoldan veya FVII'den başlayarak ekstrinsik yoldan aktive olduğu kabul ediliyordu. Günümüzde pıhtılaşma sisteminin in vivo şartlarda, sadece doku faktörü üzerinden aktive olduğu anlaşılmıştır. Damar yaralanmasını takiben, açığa çıkan doku faktörü (Tissue factor-TF), dolaşımında az miktarda bulunan FVIIa'ya bağlanarak fibrin pıhtısı oluşturmak üzere bir dizi reaksiyonu başlatır (19,20).

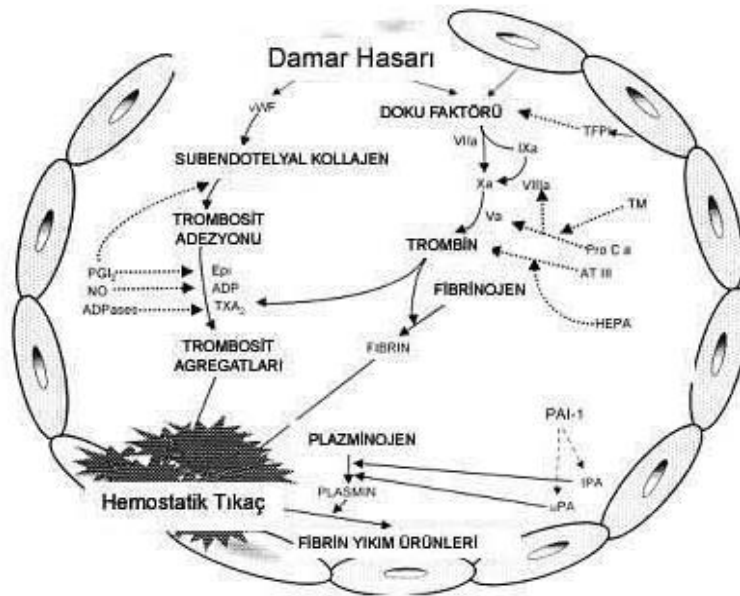
Koagülasyon sisteminin in vivo fizyolojik başlatıcısı olan TF, faktör VIIa ile birlikte görev yapan bir 45 kDa membran reseptörüdür (21). Damar hasarı, endotoksinler, infeksiyon, inflamasyon, kanser TF salınımını uyarabilir ve sekonder hemostazı başlatabilirler. TF-VIIa kompleksi (ekstrinsik Tenaz), faktör X ve faktör IX'u aktive eder (22). Faktör X'un sürekli aktivasyonu için faktör IXa-faktör VIIIa kompleks (intrinsik Tenaz) aktivitesine de gereksinim vardır. Her iki

Tenaz kompleks aktivitesi de fosfolipid bağımlıdır ve ayrıca ortamda kalsiyum bulunması gereklidir. Faktör II, VII, IX, ve X, vitamin K bağımlı olarak karaciğerde sentezlenir (23). Trombin tarafından aktive edilen faktör V (karaciğer ve trombosit alfa granül kökenli) ve faktör VIII, bu prokoagülan süreçlerde aktif kritik kofaktörlerdir. Eksikliklerinde kanamalı hastalıklar oluşur. VWF, FVIII stabilitesi ve taşınması için yaşamsal önemi olan bir moleküldür. VWF, kalitatif ya da kantitatif eksikliklerinde FVIII, plazmadan hızlıca temizlenir. Protrombinaz kompleksi (Faktör Xa, faktör Va, membran fosfolipidleri, kalsiyum), protrombin (faktör II)'i trombin (faktör IIa)'e çevirir. Trombin, koagülasyon sisteminin başlıca etkin molekülüdür. Trombin, koagülasyon kaskadını retrograd olarak aktive ederek Tenaz komplekslerini uyarır (24). Fibrinojeni fibrine çevirir. Faktör XIII'ü aktive ederek stabil fibrin oluşmasını sağlar. Trombin, ayrıca potent bir trombosit agonistidir. Düz kas kontraksiyonu ve proliferasyonu uyararak vasküler endotel üzerinden de primer hemostazı uyarır.

Trombin, koagülasyon sürecinde bu sayılan görevleri yerine getirirken eş zamanlı olarak endoteldeki reseptörü, trombomoduline bağlanarak vücuttaki en güçlü antikoagülan süreçlerden birisi olan protein C antikoagülan yolunu başlatır. Trombin-trombomodulin kompleksinin protein C'yi aktive etme sürecinde endotelial protein C reseptörü (EPCR) de kolaylaştırıcı bir rol üstlenir (25). İnflamasyon ve endotoksinler de bu süreci uyarabilirler. Aktifleşmiş protein C, protein S varlığında faktör Va ve faktör VIIIa'nın inaktivasyonunda görev alır (26). İnfeksiyon, inflamasyon, kanser gibi akut faz yanıtını uyararak patolojik durumlarda serbest protein S düzeyi azalabilir. Diğer doğal koagülasyon inhibitörleri, Anti-Xa ve anti-IIa özelliklerine sahip antitrombin ve TF-VIIa kompleksini inaktive TFPI'dır (27,28). TFPI, bu inaktivasyonu 2 basamakta gerçekleştirir. Öncelikle; TFPI, faktör Xa'ya bağlanarak kalsiyum bağımlı olarak faktör X inhibisyonunu gerçekleştirir. Ardından TFPI- faktör X kompleksi VIIa inhibisyonu yapar. Heparin ve düşük molekül ağırlıklı heparin endotel havuzunda bulunan TFPI'nın salınımını potent biçimde uyarır. Böylece heparinler hem antitrombin üzerinden hem de TFPI üzerinden antitrombotik-antikoagülan özelliklerini gösterirler. TFPI molekülleri, ayrıca trombositlerin alfa granüllerinde bulunur ve platelet aktivasyonu sırasında salınırlar.

Koagülasyon süreci, doğal koagülasyon inhibitörleri yanısıra fibrinolitik sistem ile de dengelenir. Fibrinolitik sistemin amacı, fibrin parçalamaktır. Bu süreci aktif enzim plazmin ile yapar. Plazminojen ön-enziminin aktivasyonu ile plazmin oluşur. Bu süreci katalizleyen t-PA (tissue plasminogen activator, doku plazminojen aktivatörü) ile onu inaktive eden PAI-1 ( plazminojen aktivatör inhibitör 1) arasındaki dinamik denge endojen fibrinolitik yanıtı belirler.

Hemostaz elemanları, hastalıkta ve sağlıkta normal vasküler biyoloji ile yakından ilgilidir. Hemostaz sapmaları olan tromboz ve kanama yüksek morbidite ve mortalite olasılıklarıyla yaşamı tehdit edici niteliktedirler.



Şekil 2.1. Pıhtılaşma sistemi

### 2.3. Kanamalı Hastaya Genel Klinik Yaklaşım

Klinik tıbbın her alanında olduğu gibi patolojik kanamaya eğilimi olan hastada da öykü ve fizik muayene bulguları çok önemlidir. Öykü ile primer hemostaz bozuklukları (damar duvarı ve trombositler) ve sekonder hemostaz (koagülasyon sistemi ve fibrinolitik sistem) anormallikleri arasında ayırıcı tanı yapılabilir. Primer hemostaz bozukluklarında peteşi, purpura, yüzeysel muköktanöz kanamalar (epistaksis, diş eti kanaması, menoraji) olabilir.

Kanama, minör travmayı takiben kısa süre içinde olur. Sekonder hemostaz bozukluklarında ise derin doku kanamaları, hematoma, ve hemartrozlar olur. Kanama, travma sonrası erken dönemde trombosit tıkaçı ile maskelenebileceğinden göreceli olarak daha geç meydana gelir ve fibrin, tıkaçı sağlamlaştırmadığı için kalıcı olmamaktadır. Öykü, kanamanın kalıtsal ya da kazanılmış nedenlerle oluşması hakkında da fikir verebilir. Özellikle daha önce geçirilmiş cerrahi girişimler bu açıdan aydınlatıcıdır. Aile öyküsü de sorulmalıdır (29). Ancak hafif koagülasyon defektleri, örneğin hafif hemofililer, erişkin çağa kadar tanınamayabilirler. Kadınlarda kanama diyatezinin değerlendirmesinde menstruasyon öyküsü önemli bir kriterdir. Faktör XII eksikliği, kontakt sistem bozuklukları gibi bazı koagülasyon sistem anormalliklerinde kanama olmaz. Kanamalı her hastada ilaç öyküsü, son derece dikkatle alınmalıdır. Öykü alınır ve fizik muayene yapılırken kanama açısından risk oluşturabilecek diğer medikal sorunlar, karaciğer, böbrek, kollajen doku hastalıkları, vaskülit ve neoplazi yönünden dikkatli olunmalıdır.

#### **2.4. Kanama Eğiliminde Öykü ve Fizik Bulgular**

Hemostaz bozukluklarının irdelenmesinde kullanılacak en duyarlı test hastanın öyküsüdür. Pıhtılaşma testlerinin doğru yorumlanabilmesi için hastanın klinik bilgilerinin iyi bilinmesi gerekir. Hastanın yakınmaları, kanamaların başlangıcı ve süresi, kanamanın görüldüğü bölgeler, travma veya operasyon sonrası kanamanın şiddeti ve süresi, eşlik eden hastalıkları, kullandığı ilaçlar, kadınlarda adet öyküsü, ailede kanamalı hastalık öyküsü sorgulanmalıdır. Kanama diyatezi olan hastalarda öyküden kanama eğiliminin etiyolojisinin, kalıtsal mı, edinilmiş mi olduğu hakkında fikir edinilebilir. İyi bir kişisel ve aile öyküsü, dikkatli bir fizik inceleme sonunda gerekli laboratuvar testleri yapılarak tanıya gidilebilir.

Trombositler, küçük damarda zedelenme olan yerleri tıkayan pıhtıyı oluşturarak primer hemostazı sağladıkları için, trombosit ve damar duvarı anormalliklerine bağlı kanama eğiliminde klinikte kolay morarma, burun ve dişeti kanamaları, menoraji ve postoperatif kanamalar görülür. Pıhtılaşma bozukluklarında ise yüzeysel ekimozlardan çok derin dokularda yerleşim gösteren

hematomlar klinik tabloya hakimdir. Eklem içi kanama, retroperitoneal ve psoas içi kanama görülebilir. Trombosit hastalıkları ve damar duvarı bozukluklarında hemartroz çok nadirdir.

Hastanın özgeçmişindeki travmalar ve ameliyatlar hakkında ayrıntılı bilgi edinilmelidir. Özellikle diş çekimi sonrası kanama öyküsü önemlidir. Pıhtılaşma bozukluklarında diş çekiminden hemen sonra kanama kontrolü sağlanabilir, ama saatler sonra kanama başlayabilir.

Kanamalı hastalıkların değerlendirilmesinde aile öyküsünün büyük önemi vardır. vWH'nın bazı alt tiplerinde olduğu gibi, otozomal dominant durumlarda ailede fazla sayıda bireyin etkilendiği görülürken, hemofili A ve B gibi X'e bağlı resesif geçişli hastalıklarda erkek kardeşler ve annenin erkek kardeşlerinde kanama öyküsü vardır. Aile öyküsünün negatif olması, her zaman pıhtılaşma bozukluğunun kalıtsal kökenli olmadığını göstermez.

Kanamalı hastalarda ilaç öyküsü de çok önemlidir. Trombositopeniye neden olan ilaçlar çok sayıdadır. Oral antikoagulan veya heparin kullanımı sorgulanmalı ve laboratuvar testleri buna göre yorumlanmalıdır. Aspirin ve steroid dışı antiinflamatuvar ilaçlar, trombosit fonksiyon bozukluklarına yol açtığından yanlış yanı ve gereksiz tetkik yapılmasına yol açabilirler.

### **2.5. Kanama Eğilimi Nedenleri**

Kanama eğilimine neden olan hemostaz bozuklukları trombosit hastalıkları, kan pıhtılaşma faktörlerinin bozuklukları ve vasküler purpuralar olarak gruplara ayrılırlar. Ayrıca edinsel ve konjenital nedenler olarak da sınıflamak mümkündür. Kanama eğilimi nedenleri Tablo 1.1'de gösterilmiştir.

### **2.6. Kanama Eğiliminde Kullanılan Laboratuvar Tarama Testleri**

Kanamalı hataya uygulanacak başlangıç tarama testine hastanın öyküsüne göre karar verilmeli. Ancak rutin tarama testi paketi kullanılması, zaman kazandırması ve yapılacak ileri testler için yol gösterici olması açısından faydalı olacaktır. Başlangıç testleri olarak trombosit sayısı, aPTT ve PT tayini uygundur.

**Tablo 2.1.** Kanama eğilimi nedenleri

Edinsel	<p>Trombositopeniler</p> <p>Vasküler(HSP, Vaskülitler gibi)</p> <p>Karaciğer hastalıkları</p> <p>Böbrek hastalıkları</p> <p>Vitamin K eksikliği</p> <p>Koagülasyon faktörlerine karşı antikor gelişimi</p> <p>İlaçlar</p>
Konjenital	<p>Pıhtılaşma faktör eksiklikleri</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-vWH</li> <li>- Hemofili A ve B</li> <li>-F XIII eksikliği</li> </ul> <p>Trombosit hastalıkları</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Glanzmann Trombasteni</li> <li>-Bernard Soulier sendromu</li> <li>-Sekresyon Bozuklukları</li> </ul> <p>Vasküler (HHT gibi)</p> <p>Bağ dokusu hastalıkları</p>

---

HSP: Henock Shönlein purpura

HHT: Herediter hemorajik telenjektazi

Cilt kanama zamanı nonspesifik olduğundan kullanılmamaktadır. Bu çalışmada da bahsedildiği üzere invitro kanama zamanı testinin uygulanması ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Bu testlerin normal olması durumunda klinik şüphe yüksek ise ileri tetkik yapılması gerekmektedir.

### **2.7. Herediter Trombosit Fonksiyon Bozuklukları**

Konjenital trombosit fonksiyon bozuklukları şunlardır; adezyon bozukluğu (Bernard Soulier sendromu), aggregasyon bozukluğu (Glanzmann trombasteni),

sekresyon bozuklukları (Gri platelet sendromu, Yoğun cisim eksikliği). Bu hastalara çoğunlukla çocukluk çağında tanı konulur ve çoğu erişkin yaşa kadar ulaşırlar. VWF eksikliğine bağlı olarak gelişen vWH ise hem primer hem de sekonder hemostaz bozukluğuna neden olur. Hafif formlarında erişkin yaşa kadar tanı konmamış olabilir.

### **2.7.1. Platelet Adezyon Bozukluğu: Bernard Soulier Sendromu**

Bernard Soulier sendromu ilk kez 1948 yılında tanımlanmış nadir görülen bir bozukluktur. Bernard Soulier Sendromu olan hastalarının plateletlerin biyokimyasal analizi sonucu plateletlerde ve megakaryositlerde membran GP Ib/IX/V kompleksinde kantitatif ve kalitatif anomali saptanmıştır. Bu glikoptoteinlerin hepsi lösinden zengin glikoprotein ailesindedir ve erken hemostaz esnasında platelet adezyonu için gerekli olan vWF ve platelet membran etkileşimini sağlarlar. Erken yaşlarda başlayan orta ve ciddi düzeyde purpurik kanamalar; kolay morarma, burun kanaması, dişeti kanaması ve menoraji ile seyredir. Peteşi nadirdir ve hastalarda spontan kanama genellikle görülmez ancak travma veya cerrahi sonrası ciddi kanama görülebilir, hemoraji nedeni ile ölümler izlenmiştir. Hastalık otozomal resesif geçişlidir. Hafif trombositopeni, dev plateletler, adezyon bozukluğu ve platelet sayısındaki azalma ile orantısız olarak artmış kanama zamanı ile karakterizedir. Platelet yapısındaki bozukluk en sık görülen ve en belirgin özelliğidir. Plateletlerin çapı 10 µm ve üzerindedir, bu bulgu plateletlerin aktivasyonu sonucu, aberran şekil değişikliğinin geliştiğini desteklemektedir (30). Ristosetin ile platelet agregasyonu bozuktur ve ortama vWF eklenmesi ile düzelmez. GP Ib/IX/V düzeylerinin platelet membran analizi ve/veya immünolojik teknikler ile ölçümü hastalığın tanısının konmasında kesin bir yöntemdir (31,32). Bernard Soulier sendromu için etkili bir tedavi yöntemi bulunamamıştır. Platelet transfüzyonunun etkinliği sistematik olarak araştırılmamıştır. Platelet bozukluğu olan hastalarda platelet transfüzyonu sonucu alloimmünizasyon gelişebilir ve HLA uyumlu plateletlerin kullanılması gerekir. Desmopressin uygulanması geçici olarak kanama zamanını ve işlem sonrası hemostazı düzeltebilir (33).

Antifibrinolitik ajanların kullanımı ile değişik sonuçlar elde edilmektedir, adrenokortikosteroidler ve splenektomi genellikle yararlıdır.

### **2.7.2. Platelet Agregasyon Bozukluğu: Glanzmann Trombastenisi**

Glanzmann trombastenisi platelet agregasyon bozukluğudur ve platelet membran GP IIb-IIIa'nın kalitatif ve kantitatif anomalileri sonucu yaşam boyu kanama eğilimi ile karakterizedir. Otozomal resesif geçişlidir. GP IIb-IIIa integrin ailesine ait kalsiyum bağımlı heterodimer bir komplekstir ve fibrinojen, fibronektin, vitronektin ve vWF'ü bağlar. Hasar gören vasküler segmentte trombastenik plateletler subendotele yapışır, şekil değiştirir ve normal olarak degranüle olur, ancak GP IIb-IIIa (platelet ve fibrinojen bağlanma sahası) yokluğu nedeni ile platelet-platelet etkileşimi olmamaktadır. Glanzmann trombastenisinde missens mutasyonlar, nonsens mutasyonlar, delesyonlar ve nokta mutasyonları içeren elliden fazla genetik anomali tanımlanmıştır. Çoğu hasta 5 yaşından önce tanı alır. Sık olarak epistaksis, menoraji ve dişeti kanaması gibi purpurik kanamalar görülür (34,35,36). Çoğu hastada adet kanamaları transfüzyon gerektirecek kadar ağırdır. Spontan kanama sık görülmez, hematoma veya hemartroz nadirdir, travma veya cerrahi sonrası ciddi kanamalar olabilir. Gebelik ve doğum kanamaları açısından risklidir ve platelet transfüzyonu ile önlemek her zaman için mümkün olmayabilir. Trombasteni ciddi bir kanama bozukluğu olarak sınıflandırılmaktadır. Uzamış kanama zamanı, bozuk pıhtı retraksiyonu, platelet agregasyon bozukluğu ve ADP, epinefrin, trombin ve kollajen ile bozuk platelet agregasyonu bu hastalık için karakteristik ve sabit özelliklerdir. Periferik yaymada trombositler yuvarlak ve agregasyon yokluğu nedeni ile tekli olarak izlenirler. Trombastenin spesifik tedavisi yoktur. İşlem öncesi kanama riskini göz önüne alarak, hastanın kanama öyküsü olmazsa da, profilaktik trombosit transfüzyonu uygulanmalıdır. Kanamalara ayrıca kompresyon, lokal ajanlar ve antifibrinolitik ajanlar gibi lokal tedaviler uygulanabilir. Allojenik kemik iliği transplantasyonu ve gen tedavisi ile ilgili umut verici sonuçlar mevcut (37,38).

### 2.7.3. Sekresyon Bozuklukları

Anormal platelet sekresyonu platelet granüllerindeki ( $\alpha$ ,  $\delta$  veya ikisi) bozukluk veya eksiklik ya da reseptör aracılı sinyal iletimindeki bozukluklardan kaynaklanmaktadır. Hastalar bu defektlerin tipine göre tanımlanmakta ve plateletleri bu bozuklukların tipi açısından ayrıntılı incelenmektedir.

#### **$\alpha$ -Granül Eksikliği: Gri Platelet Sendromu**

Gri platelet sendromu platelet  $\alpha$ -granüllerinin sayısında ve içeriğindeki spesifik bir eksiklik ile karakterize nadir görülen bir hastalıktır. Megakaryositlerde erken  $\alpha$ -granül formasyonu gösterilmiştir ancak olgun megakaryositlerde granüller azalmaktadır ve küçük anormal granüller oluşmaktadır.  $\alpha$ -Granüllerdeki proteinlerden platelet faktör 4,  $\beta$ -tromboglobulin, fibrinojen, fibronektin, vWF, platelet kaynaklı büyüme faktörü ve trombospondin eksikliği mevcuttur. Bu proteinler normal olarak sentezlenmekte ancak depo edilememektedir.  $\alpha$ -Granül eksikliği plateletlerde bazı morfolojik değişikliklere neden olur. Periferik yaymada plateletler gri-mavi renkte, vakuollü ve hayalet benzeri bir görünümdedirler. ADP, epinefrin, kollajen ve trombin ile agregasyon değişkendir. Otozomal dominant geçişlidir. Hafif-orta düzeyde trombositopeni ve boyutları orta derecede artmış plateletler ile seyredir. Kanama zamanı genellikle uzamıştır, kollajen ve trombin ile bozuk agregasyon mevcuttur. Kanama diyatezi hafiftir ve nadiren tedavi gerektirir. Desmopressin tüm hastalarda olmasa da bazılarında kanama zamanını kısaltmaktadır. Platelet transfüzyonu ile ilgili yeterli sistematik çalışma bulunmamaktadır.

#### **2.7.3.2. $\delta$ -Granül Eksikliği: Yoğun Cisim Eksikliği**

Bazı hastalarda sadece dens cisim eksikliği varken bir kısmında ise eşlik eden diğer defektler örneğin okülokutanöz albinizm (Hermansky Pudlak sendromu ) veya immün bozukluklar bulunmaktadır.

### **Depo Havuz Hastalığı**

Bu hastalıkta görülen salınım reaksiyon anomalisi, megakaryosit ve plateletlerde adenin nükleotidleri ve serotonin içeren yoğun cisimlerin ( $\delta$ -granül) eksikliği sonucu ortaya çıkmaktadır. Periferik yaymada trombosit morfolojisi normal ama elektron mikroskopisinde dens cisim eksikliği izlenir. Platelet ADP ve ATP'nin toplam miktarı azalmış ve ATP'nin ADP'ye oranı nükleotidlerin metabolik ve granüllerin depo dağılımlarının değişimi sonucu artmaktadır. Salınım için gerekli olan ATP'yi sağlama mekanizmaları korunmuştur. Plateletlerde serotonin, kalsiyum ve pirofosfat eksikliği bulunmaktadır. Platelet adezyon bozuklukları saptanmıştır, özellikle de hematokritin %30 ve %40 arasında olduğu durumlarda belirgindir. Bu anomali eritrosit transfüzyonu ile düzeltilebilir, bu da plateletlerin subendotele yapışmak için ADP'ye gereksinimi olduğunu düşündürmektedir. Bazı depo havuz bozukluklarında salınım fonksiyonu da etkilenmiştir (39). Depo havuz hastalığı olanlarda hafif orta düzeyde bir kanama diyatezi vardır. Sıklıkla görülen semptomlar; epistaksis, purpura, menoraji ve cerrahi ve travma sonrası kanamalardır. Otozomal dominant geçişli olduğu düşünülmektedir. Kanama zamanı uzamıştır, platelet sayısı ve morfolojisi normaldir. Agregasyon testleri anormaldir; bozuk kollajen cevabı, ADP, epinefrin ve düşük trombin konsantrasyonu ile sekonder dalga eksikliği vardır. Ristosetin ile agregasyon normaldir. Dens cisim depo havuz hastalığının tanısını koymak için, kanama zamanı ve agregasyon testlerinin kombine edilmesi gereklidir. Son zamanlarda depo havuz hastalığının tanısını koymak için, mepakrin ve akım sitometri yöntemleri geliştirilmiştir (40,41). Hastaların yaklaşık %75'inde desmopressin infüzyonundan 1 saat sonra kanama zamanında azalma izlenmiştir (42). Hemostazdaki bu düzelme işlem sonrası kanamayı düzeltmekte ve bir antifibrinolitik ajan ile kombine edildiğinde tedavi etkinliği daha da artmaktadır. Platelet transfüzyonu antikor oluşumu nedeni ile hayat tehdit eden kanamalarda kullanılmalıdır.

### **Diğer Depo Havuz Anomalileri**

Okülükutanöz albinizm ve retiküloendotelial hücrelerde seroid pigment birikimi ile birlikte olan depo havuz hastalığı Hermansky-Pudlak sendromu olarak adlandırılmaktadır. Bu hastalık otozomal resesif geçişlidir. Tüm dünyada yayılmakla birlikte en yüksek prevalans Porto Riko'dadır. Hermansky-Pudlak sendromuna neden olan üç farklı gen bulunmaktadır. Hastalarda hayat boyu kolay morarma, minör kanama epizodları ve uzamış kanama zamanı mevcuttur.

Depo havuz hastalığı ayrıca Chediak-Higashi sendromu, Wiskott-Aldrich Sendromu ve TAR sendromu ile birlikte görülebilir.

### **2.8. Von Willebrand Hastalığı**

vWH en sık görülen kalıtsal kanama diyatezidir. Çoğunlukla otozomal dominant geçen bu hastalık vWF adı verilen multimerik plazma faktörünün eksikliği veya fonksiyon bozukluğuna bağlıdır(1). Tarama çalışmalarında genel popülasyondaki prevalansı %1-2 olarak izlenmiştir. vWH klinik olarak son derece heterojen olup hafif mukozal kanamalardan hemofiliye benzer ağır ölümcül kanama eğilimine kadar farklı şiddette kanama semptomları ile kendini gösterebilir veya asemptomatik kalabilir. Hastalığın pek çok alt tipi tanımlanmış olup, değişik tiplerinin laboratuvar bulgularının birbirinden farklı olması ve hafif formlarının normalden ayırt edilmesindeki güçlük hastalık tanısını karmaşık hale getirmektedir (1,2). Gerek tedavi yaklaşımlarının farklı olması, gerekse genetik danışma yönünden vWH'nın tiplerinin ayırdedilmesi önemlidir. vWH ender olarak vWF'ne karşı antikor oluşumu ile karakterize akkiz bir hastalık olarak da ortaya çıkabilir.

#### **2.8.1. Tarihçesi**

Erik von Willebrand tarafından ilk kez 1925 yılında Finlandiya'daki Aaland adaları yerlileri ile ilgili yaptığı araştırma esnasında tanımlanmıştır(2). İlk tanımlanan hasta Hjördis; 5 yaşında bir kız çocuğu imiş ve 4 kızkardeşi 2-4 yaşları arasında ölmüştür. Hjördis 13 yaşında dördüncü menstruel siklusu esnasında menoraji nedeni ile hayatını kaybetmiştir. Bu hastalarda platelet sayısı ve pıhtı retraksiyonu normal olmasına rağmen kanama zamanının uzamış

olduğu izlenmiştir. Erik von Willebrand hastalığındaki hemostatik defektin platelet fonksiyonu ve vasküler endotel bozukluğundan kaynaklandığını düşünmüştür. Erik von Willebrand bu hastalığa psödohemofili adını vermiş ve hastalık daha çok kadınlarda gözleendiği için genetik geçişin X-bağılı dominant olduğunu belirtmiştir. 1971 yılında ilk kez Zimmerman, Ratnoff ve Powell tarafından vWH ve hemofili A tanısı olan hastalardan alınan kan örnekleri incelendiğinde von Willebrand hastalığına FVIII dışında bir plazma faktörünün eksikliğinin neden olduğu saptanmıştır(2). Howard ve Firkin ilk kez vWH olan bazı kişilerde ristosetin aracılı platelet agregasyonunun bozuk olduğunu saptamışlardır. Weiss ve arkadaşları bu bulgudan faydalanarak vWF fonksiyonunu değerlendirmek için bir kantitatif ölçüm yöntemi geliştirilmişlerdir ve bu yöntem günümüzde de kullanılmaktadır. 1984 ve 1985 yıllarında ise FVIII ve vWF'ün farklı genler tarafından klonlandığı keşfedilmiştir (43).

### **2.8.2. İnsidans**

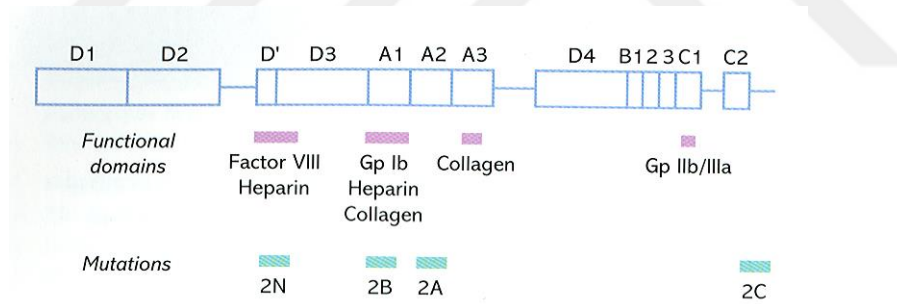
Epidemiyolojik çalışmalar göstermektedir ki vWH en sık görülen kanama bozukluğudur ve yaklaşık olarak nüfusun %1'ini etkilemektedir. Ancak klinik olarak anlamlı hastalığın oranı 1:1000 olduğu tahmin edilmektedir (2). İnsidans açısından ırklar arasında herhangi bir fark izlenmemiş. Hastaların çok az bir kısmı kanama nedeni ile doktora başvurmaktadır. Bu durumun, hastalığın çoğu hastada göreceli olarak hafif seyretmesi veya fazla kanamanın fark edilememesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

### **2.8.3. vWF Yapısı ve Fonksiyonları**

vWH, vWF'ün kantitatif eksikliği ve fonksiyon bozukluğundan kaynaklanır. VWF 178 kb genomik DNA içeren 12. kromozom üzerindeki bir gen tarafından kodlanan multimerik bir glikoproteindir (Şekil 2.2.). Gen ürünü 2813 amino asit içeren bir polipeptittir. 22 amino asitten oluşan bir sinyal peptidi ve 741 amino asitten oluşan propeptidden oluşmaktadır. Bunlar intraselüler proses esnasında kesilir ve 2050 amino asitten oluşan olgun subünit oluşur (1-3). VWF vasküler endotelial hücrelerde ve megakaryositlerde sentez edilir. Büyük VWF multimerleri endotelial hücrelerdeki Wiebel Palade cisimciğinde ve platelet  $\alpha$ -

granüllerinde depolanır. Dolaşımdaki vWF'ün çoğunluğu plazmada, %15'i ise plateletlerin içerisinde bulunmaktadır. Plazmaya salınan çok büyük vWF multimerleri vWF proteaz tarafından daha küçük multimerlere parçalanır. Bu proteinin cDNA sıralaması bulunmuş ve ADAMTS ailesinden bir metalloproteinaz olduğu gösterilmiş. Endotelial hücrelerde depolanan VWF desmopresin uygulanması sonucu salınır (1-3,5).

Trombositler, subendotelial kollajene bağlanmak için gereken glikoprotein reseptörler (GP Ia/IIa, GP VI) ve vWF reseptörleriyle (GP Ib-V-IX) adezyon sürecini gerçekleştirirler. GP Ia-IIa ve GP VI, kollajene bağlanan trombosit membran integrin reseptörleridir. Kollajen ile trombosit subendotelial bölgeye temas ettiğinde ise bu bağlanma gerçekleşir. vWF normal platelet adezyonunu sağlar ve FVIII'in plazmadaki taşıyıcısı olarak çalışır. VWF eksikliğinde veya fonksiyon bozukluğunda hem primer hemostaz bozulur hem de FVIII eksikliği oluşur. Bu nedenle vWH hibrid bir kanama diyatezidir. Her iki bozukluk farklı ve karakteristik laboratuvar bulguları ve kanama eğilimine neden olur.



**Şekil 2.2.** vWF yapısı. FVIII, heparin, kollajen, GP1b ve GP IIb/IIIa bağlanma bölgeleri ve vWH alt tiplerinde görülen farklı gen mutasyon bölgeleri

#### 2.8.4. Primer Hemostazdaki Bozukluklar

Bindokuzyüzelli yılına kadar vWH'daki hemostaz bozukluğunun primer vasküler defekte veya plateletlerin intrinsek bir anomalisine bağlı olduğu düşünülmekteydi. Ancak sonradan yapılan çalışmalar göstermiştir ki plateletler intrinsek olarak normal olmalarına rağmen bozuk veya eksik VWF nedeniyle subendotelial yapıya yapışamamaktadırlar. Deneysel yöntemlerle trombositlerin

subendotelial dokuya yapışmasındaki bozukluk gösterilmiştir. Hızlı kan akımının olduğu durumlarda platelet kollajen bağının oluşması için çok kısa bir süre olduğundan, trombositin kollajene adezyonunda kısmi eksiklik olduğu gözlenmiş ve platelet pıhtı oluşumunda defekt olduğu gösterilmiştir (44).

### **2.8.5. Sekonder Hemostaz Bozuklukları**

VWF'ün diğer bir rolü FVIII'in taşıyıcı proteini olmasıdır. Böylece FVIII'in plazma yarı ömrü 5 kat artmaktadır. Bu etki FVIII'in aktive protein C aracılı degradasyondan korunması sonucu oluşur. Ayrıca vWF'ün vasküler hasar sonucu subendoteliuma bağlanması ile FVIII de bölgeye taşınmış olur ve burada hemostazın sağlanmasında katkıda bulunur. vWF, FVIII'in taşınmasında ve fonksiyon görmesinde katkı sağladığı için eksikliğinde veya fonksiyon bozukluğunda sekonder hemostaz etkilenmektedir.

### **2.8.6. VWF Anomalileri**

VWF'ün kalitatif ve kantitatif bozuklukları primer hemostaz bozukluklarına yol açmaktadır. VWF içeren maddelerin platelet adezyonunu sağladığı Baumgartner metodu ile gösterilmiştir (45). Von Willebrand hastalarına vWF içeren konsantreler verildiğinde kanama zamanının belli bir süre için kısaldığı izlenmiştir.

vWH olan çoğu kişide immunoassay yöntemi ile subnormal vWF aktivitesi saptanmıştır. Tip 1 vWH olan kişilerin çoğunda vWF kalitatif olarak normal ve vWF aktivitesinin, vWF antijen düzeyine göre daha düşük olduğu izlenmiştir. Ayrıca vWF taşıyıcısı olması nedeniyle hem vWF hem de FVIII düzeyi tip 1 vWH'ında azalmıştır. Ancak FVIII düzeyindeki düşüklük daha azdır. Ağır vWH'da (tip 3) vWF ve onun propeptiti (vWFpp) hiç yoktur. Tip3 vWH'ında FVIII düzeyleri hafif –orta hemofili düzeyindedir. Hemofili A hastalığında ise FVIII düzeyleri selektif olarak düşük iken vWF düzeyi normal veya artmıştır.

Yapılan bazı araştırmalarda tip 1 vWH'nın heterojen bir hastalık olduğu gösterilmiş ve kanama zamanının, trombosit vWF içeriği ile plazma ristosetin kofaktör aktivitesinden daha korele olduğu izlenmiştir (46).

vWF ile platelet interaksyonun fonksiyonel ölçümü ristosetin kofaktör aktivitesi ile gösterilmiştir. Ristosetin trombosit aglütinasyonunu indükleyen bir antibiyotiktir. Bu prosesinin ilacın olduğu bir ortamda yapılması , trombositin metabolik aktivitesini ve vasküler zedelenme esnasındaki vWF'ün fizyolojik aktivitesini tam olarak yansıtamayabileceği düşünülmektedir. Ristosetin vWH'ı olan kişilerin çoğunluğunda platelet aglütinasyonunu önlemesi bu yöntemin hastalığın tanısı koymakta tek yöntem olduğunu düşündürmektedir. Ristosetin kofaktör aktivitesi vWF'ün fonksiyonel bir özelliğini göstermektedir.

### **2.8.7. Faktör VIII Bozuklukları**

Faktör VIII nonkovalent olarak vWF'e bağlanır ve vWH olanların çoğunluğunda miktarı azalmıştır. Faktör VIII eksikliği vWF'ün FVIII'e bağlanma, koruma ve stabilize etme görevini yerine getirememesi ile oluşur (47). Plazma vWF düzeyi ile F VIIIc düzeyi sağlıklı kişilerde orantılıdır, ancak kantitatif vWF bozukluğunda F VIIIc'nin vWF'e oranı artmıştır (48). Tip 1 vWH'ında faktör VIII düzeyi normal veya normale yakın olarak izlenir. Benzer durum vWH'ında transfüzyon sonrası da görülmektedir.

### **2.8.8. Sınıflandırılması**

vWH'nın değişik varyantlarının tespit edilmesi hastalığın sınıflamasının basitleştirilmesi için çalışmaların yapılmasına yol açmıştır. Tablo 2.2'de hastalığın sınıflandırılması özetlenmiştir. Kantitatif defektler, kısmi eksiklik; tip 1 ve vWF'ün yokluğu veya çok az miktarda olması ile birlikte olan ciddi eksiklik; tip 3 olarak sınıflanmıştır (49). Kalitatif defektler ise tip 2 vWH; farklı patofizyolojik mekanizmalara göre 4 alt gruba ayrılmıştır. Tip 2A orta ve yüksek molekül ağırlıklı multimerlerin eksikliğine bağlı platelet ve vWF arasındaki etkileşimin olmayışı ile karakterizedir. Tip 2B'de ise vWF'ün kendi reseptörü olan platelet GP Ib'ye karşı artmış affinitesi söz konusudur. Bu hastalarda kanama, büyük vWF multimerlerinin ve trombositlerin klerensi nedeniyle olmaktadır. Tip 2M'de ise vWF ve platelet GP Ib reseptörü arasındaki etkileşim bozulmuştur. Son olarak vWF'ün FVIII'e olan affinitesinin azalması sonucu FVIII düzey düşüklüğü olması tip 2N olarak sınıflandırılmıştır.

**Tablo 2.2.** Von Willebrand Hastalığının Sınıflandırılması (3)

Tip	Hastalık mekanizması	Genetik geçiş
1	Parsiyel kantitatif vWF (ve FVIII ) eksikliği	Otozomal dominant
2	Kalitatif vWF defekti	Otozomal dominant
A	Büyük multimerlerin eksikliğine bağlı GP Ib'ye bağlanma azalmış	
B	Büyük multimerlerin eksikliğine bağlı GP Ib'ye bağlanma artmış	
M	Multimer defekti olmaksızın GP Ib'ye bağlanma azalmış	
N	vWF'ün FVIII'e bağlanmasında bozukluk	
3	vWF'ün ciddi veya tamamen eksikliği ve orta şiddette FVIII eksikliği	Otozomal resesif

### 2.8.9. Klinik Özellikler

vWH'ında kanamanın ortaya çıkış şekli vWF'ün primer ve sekonder hemostazda rol oynaması nedeniyle çeşitlilik göstermektedir. Tip 1 vWH'nda klinik çoğunlukla hafif seyrederek. Tip 2 ve 3 vWH'ı klinik olarak daha ağır seyretmektedir. Genellikle kanamanın ciddiyeti ile RiCof (vWF Ristosetin kokaftör Aktivitesi) ve FVIII:C aktivitelerindeki düşüklük koreledir, hastanın kan grubu veya kanama zamanının uzunluğu ile korelasyon bulunmamaktadır (6). Mukokütanöz kanamalar (epistaksis, menoraji) hastalığın tipik klinik belirtileridir ve hayat kalitesini etkileyebilirler. vWH izole menorajisi olan kadınlarda sık olarak bulunmaktadır (50,51). Ciddi menstruel kanamaları olan vWH hastalarının antifibrinolitikler, demir replasmanı ve oral kontraseptif ilaçlarla tedavisi gerekmektedir. Cerrahi işlem sonrası kanama en sık diş çekimi sonrası izlenmektedir. Tip 1 vWH'nda FVIII:C düzeyleri minimal azaldığı için hemartrozlar ve hematomlar gibi ciddi kanama diyatezi bulguları nadir görülmekte ve çoğunlukla trauma sonrası ortaya çıkmaktadır. Tip 1 vWH'ında

doğum sonrası kanama seyrekdir çünkü gebeliğin sonunda, FVIII/vWF düzeyleri normale gelmektedir.

Tip 1 vWH'nda kanama semptomları hafiftir, çoğu hasta asemptomatiktir. Hastalık herhangi bir yaşta semptom verebilir, ama her zaman tanı konulamayabilir. Mukozal kanamalar sıklıkla görülür. Çocukluk çağındaki burun kanamaları, hayat boyu devam eden kolay morarma, diş çekimi sonrası kanama, ağır menstrüel kanama nedeniyle oluşan anemi veya postpartum kanama vWH semptomları arasındadır. Sistemik kanama bozuklukları menorajisi olan kadınlarda pek düşünülmez, ancak çalışmalar göstermiştir ki bu semptomla gelen hastada vWH prevalansı belirgin olarak fazladır (6). Farklı vasküler yataklarda görülen anjiodisplaziler, özellikle de gastrointestinal sistemde olanlar vWH olan bazı kişilerde gösterilmiştir ve kronik gastrointestinal kanama için önemli bir etken olabileceği düşünülmektedir (52). Hastalığın ciddiyeti yaşla birlikte azalabilir. Tip 1 vWH'ında gebelikte ve östrojen tedavisi esnasında vWF ve F VIII düzeyleri arttığından semptomlar hafifler (53). Kanama bulguları ciddi kantitatif ve kalitatif bozukluğu olan hastalarda daha ağırdır. Post-operatif kanama, ağır tip 1 vWH olan kişilerde bile görülmeyebilir ancak tip 3 vWH'nda profilaksi gereklidir (5,54,55).

Kanamaya yönelik öykü alınırken, kadınların menstrüel kanamalarının normal ya da çok olduğu konusunda sıklıkla net bilgi veremedikleri akılda tutulmalıdır. Hastaların menstruasyon esnasında pet değiştirme sıklığının ve demir eksikliği anemisi öyküsünün sorgulanması yardımcı olabilir. Aile hikayesi de hastalığın tanısının konmasında önemli ipuçları verir. Ayrıca hastanın özgeçmişindeki diş çekimi sonrası kanama, tonsillektomi, cerrahi işlem, menstruasyon ve peripartum dönemdeki kanamalar da sorgulanmalıdır. Aspirin alımı sonrası ortaya çıkan kanama da kanama diyatezini düşündürür ancak vWH için spesifik değildir.

Tip 3 vWH en ağır seyreden formudur, genellikle çocukluk çağında tanı alırlar. Ciddi mukokütanöz kanamalar görülebildiği gibi eklem içi kanamalar, kas içi kanamalar gibi derin doku kanamaları da görülmektedir. Bir çalışmada tip 3 vWH olan 79 hastada ilk başvuru şikayetleri sırasıyla burun kanaması,

eklem içine kanama, dişeti kanaması ve ağır menstruel kanama olduğu rapor edilmiştir (54). Cerrahi öncesi profilaksi yapılması gerekir.

### **2.8.10. Laboratuvar Özellikleri**

vWH'nın laboratuvar tanısı tam olarak tanımlanamamıştır (55). Çok sayıda test yöntemi uygulanması vWH'nın fonksiyon spektrumunun genişliğini yansıtmakta ancak hiçbir test tek başına hastalık tanısını koymakta yeterli değildir. Ayrıca bu testlerin hemorajik bulguların şiddeti ile korelasyonu tam olarak ortaya konulamamıştır. Hem vWF hem de FVIII akut faz reaktanları olduklarından stres, trauma, gebelik ve östrojen tedavisi ile düzeyleri artmakta ve düzeyleri bu nedenle zaman içinde fluktuasyon göstermektedir. Bir çalışmada hastaların yarısında F VIII düzeyleri azalmış, % 20'sinde ise kanama zamanı ve FVIII düzeyleri normal sınırlarda bulunmuş (56). Günümüzde uygulanabilen daha ayrıntılı testlere rağmen bu hastalığın tanısını koymak zordur ve belli bir süre sonra testlerin tekrarlanması gerekmektedir. Ancak ciddi kantitatif bozukluğu veya kalitatif bozukluğu olanlarda, gebelik veya akut faz cevabı tabloyu gizleyemez.

vWF fonksiyonlarının fazla olması ve vWH'ını oluşturan bozuklukların geniş spektrumu nedeni ile vWH'nın tanısı koymak oldukça zordur. Bir hastayı vWH açısından evaluate etmek için bir takım testlerin yapılması gerekmektedir. Kanama zamanı ve APTT gibi tarama testlerine ek olarak vWF antijen, vWF aktivitesi ve F VIII düzeyleri çalışılmalıdır. Bu kantitatif testlerin değerlerinin birbirleri ile korelasyonu ve kalitatif testler ile, örneğin vWF multimer analizi ve düşük doz ristosetin aracılı agregasyon testleri ile tip 2 vWH'nın tanısı için önemli ipuçları elde edilebilir.

### **Kanama Zamanı**

Template kanama zamanı, Ivy kanama zamanı veya bu testlerin teknik modifikasyonları ile vWH için karakteristik olan anomali saptanabilir. Küçük ve yüzeysel kesilerde pıhtılaşmanın sağlanması bir trombosit tıkaçının oluşmasına bağlıdır, bu nedenle bu tür kesilerde kanamanın durma zamanı pıhtılaşmanın vasküler ve trombositlerle ilgili aşamalarının değerlendirilmesinde yardımcı olur.

Kanama zamanı ölçülürken ön kolda 0.5 cm uzunluğunda ve 1 mm derinliğinde standart iki kesi yapılır ve bu esnada sfingomonometre ile koldaki venöz basınç 40 mmHg'ye kadar çıkarılır. İnsizyonlar 30 saniye aralarla kurutma kağıdı ile hafifçe silinir ve kanamanın durduğu ana kadar geçen zaman ölçülür. Normal kanama zamanı 8 dakikanın altındadır. Trombosit sayısı normal olup, kolay morarma, burun ve dişeti kanaması, cerrahi veya travma sonrası kanama öyküsü olan kişilerde trombosit fonksiyon bozukluğu olma ihtimali yüksektir. Bu hastalarda kanama zamanı ölçümü yapılmalıdır. Ön koldan kanama zamanı bakılmasına dayanan Ivy yöntemi ile trombosit sayısı 100000/mm<sup>3</sup>'den az olduğunda, trombosit fonksiyon bozukluklarında ve von Willebrand hastalığında kanama zamanı uzun olarak bulunur. Ancak bu testin tecrübeli kişiler tarafından, standart yöntem kullanılarak yapılması gereklidir. Test öncesi hastanın yakın zamanda trombosit fonksiyonlarının bozacak ilaç, örneğin aspirin kullanmamış olması gerekir.

Kanaması olan, trombosit sayısı normal fakat kanama zamanı uzun olan bir kişide ristosetin kofaktör aktivitesi ölçülerek von Willebrand hastalığı ekarte edilmelidir. Von Willebrand hastalığı ekarte edildikten sonra edinsel ve konjenital trombosit fonksiyon bozukluklarının ayırıcı tanısı için trombosit agregasyon testleri yapılmalıdır.

Ancak kanama zamanı, vWH olan pek çok kişide normal olabilir. Kanama zamanının uzun olması vWH tanısını destekler ancak normal olmasının hastalığın tanısında veya tedavisinde kliniğe katkısı oldukça azdır. Kanama zamanı vWF transfüzyonundan sonra düzelmeyebilir ve cerrahi kanama replasman ile önlenemediği için takibi genellikle önerilmemektedir (57).

### **Platelet Fonksiyon Analizi (PFA)**

Standardizasyon çalışmaları, uygulama güçlüğü, hastalarda rezidüel skar oluşumu gibi nedenler kanama zamanının yerini alacak, yeni in vitro ölçüm tekniklerinin geliştirilmesine yol açtı. PFA-100, tam kanda plateletin kollajene adezyonunu ve agregasyonunu ölçen yeni bir platelet fonksiyon analiz yöntemidir. Sitrat ile antikoagüle edilmiş kan kollajen kaplanmış bir membran

içindeki bir açıklıktan aspire edilir ve alet ilk akım ile akımın durduğu an arasındaki zamanı ölçer ve buna 'kapanma zamanı = closure time=CT' denir. PFA-100 kapanma zamanları; vWF fonksiyonu, platelet sayısı, platelet fonksiyonu ve hematokrit gibi pek çok etkene karşı hassastır(1,11). vWH, trombositopeni, trombosit fonksiyon bozukluklarında, hematokrit düşüklüğünde ve aspirin kullanımında kapanma zamanları uzar. Ancak akkiz vWH'ında plazma vWF seviyesi düşmesine rağmen kapanma zamanı normaldir, çünkü plazma vWF azalmasına rağmen platelet vWF normaldir ve tip 2N vWH'nda da esas defekt F VIII düzeylerindeki düşüklük olduğundan kapanma zamanı normaldir. Sadece plazma vWF düzeylerinin düzeltilmesi kapanma zamanını düzeltmeye yetmez ve bu nedenle replasman yapılan hastaların perioperatif takiplerinde önerilmemektedir (58,59).

### **Parsiyel Tromboplastin Zamanı ve F VIII Düzeyi**

Basit tarama testlerinden olan aPTT, FVIIIc düzeyinin düşük olmasına bağlı olarak anormal olabilir. Plazma F VIII düzeyleri çeşitlilik gösterir; tip 3 vWH olanlarda 3 U/dl'ye kadar azalmakla birlikte, hafif tip 1 vWH olanlarda normal sınırlarda olabilir. vWH olanlarda F VIII eksikliği hafif düzeyde olduğundan vWH tanısı, özellikle hafif hastalığı olanlarda, rutin aPTT taraması ile gözden kaçabilir. Bu hastalıkta F VIII düzeylerini daha güvenilir bir şekilde çalışacak özgün bir yöntem ihtiyacı duyulmaktadır.

### **vWF Düzey Ölçümü ( vWF: Ag)**

vWF ölçümü, vWF proteininin kantitatif ölçüm yöntemidir ve vWH tanısının konulmasında kullanılan en güvenilir metottur. Birçok yöntem vardır ancak hepsinde vWF'e spesifik antikor kullanılmaktadır. Daha önceden Laurel'in elektroimmünodifüzyon metodu yaygın olarak kullanılırken artık çoğunlukla ELİSA ve otomatik ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır. Ortalama vWF antijen düzeyleri farklı laboratuvarlardaki ölçümlerde çeşitlilik göstermekte ancak yaklaşık 45 -50 U/dl pek çok laboratuvar tarafından alt limit olarak kabul edilmektedir. F VIII:C'nin vWF'e oranı laboratuvara göre farklılık göstermekle birlikte yaklaşık 0.7 ile 2.2 arasındaki değerler normal olarak kabul

edilmektedir. Plazma vWF antijen düzeyleri proteine bağlı karbonhidrat rezidülerinden etkilenmektedir. 'O' kan grubu olanlarda diğer kan gruplarına kıyasla daha düşük vWF antijen düzeyleri saptanmıştır (60). Bu kişilerin zaten tip 1 vWH olup olmadıkları tartışma konusudur ve bazı laboratuarlarda kan gruplarına göre değişik referans düzeyleri belirtilmektedir (4). Tip 2 vWH'nda vWF düzeylerinin normal olması nedeni ile hastalığın tanısını koymak için vWF düzeyi dışında ek yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

### **vWF İşlevsel Değerlendirilmesi**

vWF'ün pek çok işlevi bulunmaktadır ve bunların değerlendirilmesi için pek çok yöntem geliştirilmiştir. En çok değerlendirilen işlev patelelet ile olan etkileşimdir. Ayrıca vWF'ün kollajen ile etkileşimini ölçen pek çok yöntemde bulunmakla birlikte, bu değerlendirmenin rutin taramada kullanılıp kullanılmayacağı konusu tartışmalıdır. Özel durumlarda, örneğin hafif F VIII eksikliği olduğunda, bunun vWF'ün taşıyıcı fonksiyonunun bozukluğuna bağlı olup olmadığı vWF'ün FVIII'e bağlanması ile değerlendirilmesi gerekebilir. Kantitatif vWH olanlarda vWF:Ag ile vWF fonksiyonel değerlendirilmesi korelasyon göstermektedir. vWF fonksiyonu ile vWF:Ag arasında uyumsuzluk olması kantitatif vWH için önemli bir kanıt olarak kabul edilmektedir. Tip 2 vWH'da vWF:Ag düzeyi ile RiCof arasındaki uyumsuzluk olması nedeni ile vWF:Ag/ RiCof oranının artmış olması tanıda yardımcıdır.

### **Ristosetin Kofaktör Analizi ve Ristosetin Aracılı Platelet Agregasyonu**

Ristosetin kofaktör (RiCof) ölçümü, vWF'ün test için fiske edilmiş platelete bağlanma yeteneğini ölçen kantitatif bir yöntemdir. Ristosetin, vWF aktivasyonunu sağlayarak platelete GPIb aracılığı ile bağlanmasını indükler, bu durum in vivo olarak subendotelyal doku ve platelet ile bağlanmış vWF arasındaki etkileşime benzemektedir. RiCof çoğu otoriteler tarafından vWH tanısını koymakta en sensitif ve spesifik test olarak kabul edilmektedir (4,61-63). RiCof düşük molekül ağırlıklı vWF yokluğundan ters yönde etkilenir. RiCof ve vWF arasındaki uyumsuzluk durumunda orta ve yüksek molekül

ağırlıklı vWF multimerlerinin kaybı ile giden kalitatif bozukluklar akla gelmelidir. Ristosetin kofaktör aktivitesi ayrıca tedavi uygulanan hastaların takibinde de kullanılmaktadır. Ancak tipik RiCof analizi zaman gerektiren bir yöntemdir ve ölçümün standardizasyonu ile ilgili sorunlar olabilmektedir. ELİSA yöntemi ile ölçüm metodu geliştirilmekle birlikte henüz optik yöntemle RiCof ölçümünün yerini alacak kadar yaygınlaşmamıştır.

Ristosetin aracılı platelet agregasyonu RiCof yönteminden farklıdır. Kalitatif bir testtir. Trombosit kümeleşmesi in vitro olarak aggregometre adı verilen cihazla çalışılır. Antikoagüle edilmiş kandan elde edilen trombosit zengin plazmada ADP, kollajen, epinefrin, ristosetin gibi trombosit agregasyonu uyaran ajanların kullanımı ile trombositlerin agregasyon fonksiyonuna ait bozukluklar saptanabilir. Ayrıca trombositlerin bazı salınım fonksiyonları da değerlendirilebilir. Bu testin yapılabilmesi için trombosit sayısının yeterli miktarda olması gerekir.

Hastadan alınan plateletten zengin plazmaya antibiyotik ristosetin eklenmesi sonrası, platelet aglütinasyonun hızı ve miktarını ölçen bir yöntemdir. Plazmada bulunan platelet ve vWF miktarının yanı sıra eklenen ristosetin miktarı da ristosetin aracılı agregasyonu etkiler. Yöntem hafif vWF eksikliğinde sensitif değildir ancak ciddi eksiklik ve Bernard Soulier sendromunda anormaldir. Ristosetin miktarının titrasyonu ile bazı spesifik vWH tiplerinin; örneğin fonksiyon kazanma mutasyonu olan tip 2B ve platelet tipi psödo-vWH'nda ristosetin miktarı arttıkça, vWF ve plateletin ristosetine sensitivitesi artmaktadır.

### **Von Willebrand Faktör-Kollajen Bağlanma Aktivitesi (vWF:CB)**

vWF A1 ve A3 parçaları kollajene bağlanma kısımları içermektedir. Kollajene bağlanma aktivitesi vWF'ün vasküler hasar olan bölgede plateletleri bir araya getirmesini sağlayan önemli bir fonksiyondur. Ölçüm yöntemi ELİSA formatında düzenlenmiş olup, tip 1 ve tip 3 kollajen ile kaplanmış mikrotitre çukurlarda bağlanan vWF miktarının ölçümü yapılmaktadır. Sağlıklı kişilerde ve kantitatif bozukluğu olanlarda vWF:CB ve vWF:Ag arasında korelasyon bulunmaktadır. Uyumsuz sonuçlar büyük vWF multimerlerinin eksikliği ile giden vWH alt tiplerinde görülmektedir.

### **vWF'ün F VIII'e Bağlanma Özelliğinin Ölçümü**

vWF tarafından bağlanan FVIII (vWF:FVIII) az sayıda koagülasyon ile ilgili referans laboratuvarında çalışılmaktadır. vWF'ün taşıyıcı fonksiyonunun eksikliğine bağlı FVIII eksikliği ile giden vWH alt tiplerinin (tip 2N vWH) tanısını koymakta kullanılmaktadır. ELİSA yöntemi kullanılarak ölçüm yapılmaktadır. vWF antikoru ile kaplanmış çukurlarda vWF bağlanması sağlandıktan sonra, ortama rekombinan FVIII eklenmekte ve vWF'ün FVIII'i bağlaması sonucu FVIII için kromojenik bir ölçüm ile yapılmakta ve ELİSA tekniği ile ortamdaki vWF:Ag düzeyi belirlenmektedir. Rekombinan FVIII'in vWF:Ag'e oranı hemofili A hastalarında normal olarak ölçülmekte ancak tip 2N vWH'nda düşük olarak saptanmaktadır (63,64).

### **vWF Multimerik Analizi**

VWF plazmada boyutları 800 kd ile 20000 kd arasında değişen kompleks multimer serileri halinde bulunmaktadır. Öncelikle anormal F VIII; vWF antijen ve Ristosetin kofaktör aktivitesi ile tanı konulan vWH'nın daha ileri tanımlanması için multimer analizinin yapılması önerilmektedir. Bu yöntemle hastanın vWF agaroz jel elektroforezi ile boyutlarına göre ayrılır ve vWF multimerleri otoradyografi ve immunoperoksidaz gibi immunolojik yöntemlerle görüntülenir. Bu yöntemle vWF'ün tüm multimerlerinin sağlıklı kişilerde ve tip 1 vWH olanlarda bulunduğu gösterilebilir. Tip 2A ve 2B gibi kalitatif bozukluklarda orta ve yüksek molekül ağırlıklı vWF multimerlerinin yokluğu sözkonusudur (65). Ancak tip 2A ile 2B arasında ayırım yapmak için yeterli değildir ve ek testlere ihtiyaç duyulur. Multimer analizi ile DDAVP tedavisine yanıt olup olmayacağı kestirilebilir. Multimerik analiz sadece koagülasyon referans laboratuvarlarında çalışılmaktadır.

### **Genetik Çalışmalar**

vWF gen sekansının direkt mutasyonel analizi, alel spesifik polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon enzim analizi ile tip 2 vWH varyantlarının tanısını

koymak mümkündür (65,66). vWF geninin fonksiyonel alanlar halinde yapılanması, tip 2 vWH'nın çeşitli alt tiplerinin vWF gen sekansının kısıtlı alanlarına toplanmasına yol açmaktadır (65-67). vWF exon 28 vWF'ün A1 halkasını kodlar ve bu kısım vWF'ün platelet GP Ib ile interaksiyonunu sağlar. tip 2B ve 2M vWH bu exondaki genetik mutasyonlar sonucu oluşmaktadır (68). Ayrıca exon 28 mutasyonları tip 2A bozukluklarının çoğunluğunda altta yatan nedendir, çünkü bu exon aynı zamanda A2 kısmını da kodlamaktadır (Bkz Sekil 2.2). A2 kısmı intraselüler vWF transportunu yönetir ve proteaz sensitif bir bölge içermektedir. Bazı nadir vakalarda, tip 2A vWH multimerizasyon bozukluğu sonucu oluşmaktadır. vWF'ün karboksi terminali exon 51 - 52 tarafından kodlanmakta ve dimer oluşumunda görev almaktadır, amino terminali ise exon 1- 17 tarafından kodlanmakta ve takiben multimer oluşumunda rol almaktadır. vWF ve FVIII interaksiyonunda bozukluk exon 18- 20 bölgesindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Nadir olgularda exon 24 bölgesindeki mutasyonlar nedeni ile oluşmaktadır.

### **2.8.11. Kantitatif Von Willebrand Faktör Bozuklukları**

Azalmış normal fonksiyonlu vWF protein sentezi tip 1 vWH'na neden olmakta iken vWF'ün yokluğu daha ciddi bir hastalık olan tip 3 vWH'na yol açmaktadır.

#### **Tip 1 von Willebrand Hastalığı**

Fonksiyonel olarak normal olan vWF proteinin üretiminin azalması sonucu oluşur. vWH olan hastaların çoğunluğu bu gruptadır(%70-80). Tip 1 vWH hafif semptomatik seyreder ancak trauma, mensturasyon ve cerrahi sonucu fazla kanama görülebilir. vWF düzeyleri 30-50 U/dl düzeyindedir ve vWF:Ag ve vWF:RCo orantılı olarak azalmıştır. F VIII düzeyi vWF düzeyine eşit veya daha fazladır. vWF multimerleri ölçülebilirse hepsinin mevcut olduğu izlenir. Eğer platelet vWF içeriği ölçülürse, bu hastaların DDAVP testine yanıtları tahmin edilebilir ancak çoğu laboratuarda bu test uygulanamamaktadır. Tip 1 vWH olanların çoğu DDAVP'ye iyi yanıt verir ve bu hastaların tedavisinde tercih edilen bir seçenektir.

### Tip 3 Von Willebrand Hastalığı

Tip 3 vWH hastalığın en ağır formudur ve vWF sentezinin tamamen eksikliği sonucu oluşur. Ağır kanama bozukluğu nedeni ile genellikle çocukluk çağında tanı konulur. Hematom oluşumu siktir, burun kanaması hayatı tehdit edecek düzeyde olabilir ve düşük F VIII düzeyi nedeni ile hemartrozlar görülebilir. Tip 3 vWH olanlardan alınan plazma örneğinde tespit edilemeyecek düzeyde vWF vardır, plateletlerde veya endotelial hücrelerde vWF bulunmamaktadır. F VIII düzeyleri (tıpkı hafif –orta derece hemofili A hastalığında olduğu gibi) 1-10 U/dl düzeyindedir. Az miktardaki vWF'ün multimerik analizi sonucu bazen sadece küçük multimerler saptanmaktadır. Tip 3 vWH oldukça nadirdir, görülme sıklığının milyonda bir olduğu tahmin edilmektedir (69). Genetik çalışmalar ile vWF genindeki gen delesyonları, çerçeve mutasyonları, missens ve nonsens mutasyonlar gibi bozuklukların homozigot veya çift heterozigot olmasının hastalığa yol açtığı gösterilmiştir. Tip 3 vWH olanların ebeveynleri dikkatli incelenirse bunlarda hafif kantitatif vWF defekti saptanabilir ama ebeveynler çoğunlukla asemptomatiktir ve bu nedenle bu hastalığın resesif geçiş gösterdiği gözlenmiştir. Bazı tip 3 hastalarında alellerden birinde veya her ikisinde geniş gen delesyonları izlenmiştir ve bu hastalarda vWF transfüzyonu sonrası inhibitör alloantikör gelişimi açısından artmış risk sözkonusudur.

Bu hastalarda endotelial hücrelerde ve plateletlerde vWF bulunmadığından DDAVP'ye yanıt yoktur. Replasman tedavisi için bu hastalarda, vWF içeren orta saflıktaki FVIII konsantrilerine ihtiyaç vardır ki bunlar intakt vWF içermektedirler (70). Bu hastalarda FVIII yapımı ile ilgili bozukluk olmayıp, taşıyıcı protein olan vWF yapımı bozuk olduğundan transfüzyon sonrası FVIII düzeyleri yükselmekte ve sağkalımı hemofili A hastalarındakine oranla daha yüksek olmaktadır. Hayatı tehdit eden acil kanama durumlarında vWF ve FVIII replasmanı gerekirken, elektif cerrahi durumunda işlemden 12-24 saat önce tek başına vWF replasmanı olabilir.

### 2.8.12 Von Willebrand Faktörün Kalitatif Bozuklukları

vWH'nın tip 2 varyantları olarak sınıflandırılan kalitatif vWF bozuklukları daha az görülür; vWH olgularının %10-15'ini oluşturmaktadırlar. Hastanın kanama bulgularının vWF ve F VIII düzeylerine göre daha fazla olduğu, vWF:Ag düzeyi ile vWF aktivitesi veya F VIII düzeyi arasında uyumsuzluk olduğunda veya vWF eksikliği ile birlikte trombositopeni olduğuna tip 2 vWH'ndan şüphelenilmelidir. vWF yapısının daha iyi anlaşılması ile hastalığın alt tiplerinin tanımlanması için yararlı olacaktır. Bunun için günümüzde vWF multimer analizleri, vWF fonksiyonunun ileri değerlendirilmesi ve vWF geninin genetik analizi kullanılmaktadır (71-73). Tip 2 vWH altta yatan fonksiyonel bozukluklara göre tip 2A, 2B, 2M, 2N olarak sınıflandırılmıştır.

#### Tip 2A Von Willebrand Hastalığı

Tip 2A vWH; orta ve yüksek molekül ağırlıklı vWF formlarının eksikliği sonucu vWF ile plateletlerin etkileşiminin bozulması ile giden bir vWH alt tipidir. Hastalığın bu tipi otozomal dominant olarak geçer ve tip 2 vWH'nın en sık görülen alt tipidir. Plazma vWF:Ag ve F VIIIc düzeyleri normal veya azalmış olabilir. RiCoF ve vWF:CB ile ölçülen vWF aktivitesi, daha yüksek molekül ağırlıklı multimerlerin olmayışı nedeniyle (bunlar platelet GP1b ve kollajene bağlanma açısından daha potenttir), vWF:Ag düzeyinden belirgin olarak düşüktür. vWF multimer analizi sonucu orta ve yüksek molekül ağırlıklı türlerde relatif olarak bir azalma olduğu izlenir ve in vivo vWF multimer degradasyonu olduğu gösterilmiş ki bu multimerik anomalileri açıklayabilir. İleri protein analizleri ve gen çalışmaları sonucu hastalığın ortaya çıkışında birkaç mekanizma ortaya konmuştur. Bazı hastalarda uzun multimerlerin sentezinin bozuk olduğu izlenmiş, bazılarında büyük multimerlerin sentez edildikten sonra plazmada proteoliz ile degrade oldukları izlenmiştir. Bazı araştırmacılar matür vWF protein sekansında tirozin 842 ile metionin 843 arasında bir kesme noktası saptamışlardır. Olguların çoğundan exon 28 bölgesinde yoğunlaşmış mutasyonlar sorumludur. Tip 2A vWH'nın nadir resesif

formları da tanımlanmıştır. Bunlar çoğunlukla defektif multimerizasyon sonucu oluşmuştur.

VWF proteinin defektif olması nedeni ile, gebelik veya stres fonksiyonel vWF üretiminin artmasına neden olmaz. Aynı şekilde DDAVP verilmesi ile kanama zamanı veya platelet adezyonunda düzelme izlenmez ancak bazı hastalarda çok kısa süreli bir düzelme görülebilir.

### **Tip 2B von Willebrand Hastalığı**

Bu kanama bozukluğu, vWF:Ag düzeyindeki hafif azalmaya rağmen RiCof düzeylerindeki belirgin azalma ile karakterizedir. Multimer analizleri sonucu çok yüksek molekül ağırlıklı vWF multimerlerinin eksik olduğu izlenir. FVIII düzeyleri çeşitlilik göstermektedir. Tip 2B vWH olanların çoğunda hafif, persistan trombositopeni bulunur. Tip 2B vWH paradoksik bir kanama bozukluğudur. İn vitro olarak düşük ristosetin eklenmiş ortamda yüksek molekül ağırlıklı vWF ile plateletler arasında artmış interaksiyon izlenmiştir. İn vivo olarak artmış yüksek moleküllü vWF ve platelet interaksiyonu sonucu vWF-platelet kompleksleri oluşmakta, bu kompleksler dolaşımdan temizlenmekte ve yüksek molekül ağırlıklı vWF eksikliği ve hafif trombositopeni oluşmaktadır. Platelet sayısı fizyolojik stres veya gebelik, cerrahi girişimler ve DDAVP uygulanması sonucu daha da düşebilir. Tip 2B vWH tanısı koymak için ileri tetkik gerekir. Bu testler ; a) çok yüksek molekül ağırlıklı vWF multimer eksikliğini göstermek için multimerik inceleme, b) Ristosetin titrasyonu ile yapılan platelet agregasyon testleri ile düşük doz ristosetin ile vWF ile platelet etkileşiminin artığının gösterilmesi olarak sıralanabilir. Tip 2B vWH ile platelet tipi psödo-vWH 'nı ayırmak için mixing testi ve vWF gen sekansının analizinin yapılması gerekir.

Tip 2B vWH otozomal dominant geçişlidir. VWF geninin exon 28 bölümünde vWF A1 kısmının sentezinde görev alan genlerde meydana gelen mutasyonlar sonucu oluşmaktadır (4,48).

### **Tip 2M von Willebrand Hastalığı**

Tip 2M vWH platelet ile vWF etkileşiminin vWF multimerlerinde eksiklik olmaksızın bozulması sonucu oluşmaktadır. Bu hastalardaki laboratuvar bulguları tip 2A vWH'na benzer şekildedir; çeşitlilik gösteren vWF:Ag düzeyleri ile orantısız olarak azalan vWF:RCo düzeyleri sözkonusudur. F VIII düzeyleri vWF:ag düzeyleri ile orantılıdır. Trombosit sayımı normaldir. Tip 2A vWH'dan farklı olarak multimerik analizi normaldir. Tip 2M vWH otozomal dominant geçişlidir. vWF 'ün A1 parçasını kodlayan exon 28 bölgesindeki mutasyonlar sonucu oluşmaktadır. Tip 2B mutasyondan farklı olarak 2M mutasyonu sonucu vWF'ün GP1b bölgesine bağlanmasında bozukluk oluşmaktadır (62).

### **Tip 2N von Willebrand Hastalığı**

vWF ile FVIII arasındaki etkileşimi etkileyen mutasyonlar sonucu otozomal hemofili denilen FVIII düzeylerinin vWF'e kıyasla belirgin olarak azaldığı tip 2N vWH oluşmaktadır. Hastalarda FVIII düzeyleri 5 ile 30 U/dl arasındadır. VWF'ün amino terminaline yakın olan FVIII'e bağlanma bölgesindeki mutasyonlar sonucu meydana gelmektedir. Genetik çalışmalar sonucu mutasyonların çoğunluğunun exon 18,19,20'yi içeren mutasyonlar olduğu gösterilmiştir. Tip 2N vWH'ında diğer vWF fonksiyonları normaldir, bu nedenle vWF laboratuvar parametreleri (vWF:Ag, ristosetin kofaktör aktivitesi vb) normaldir. Bu bozukluk otozomal resesiftir. FVIII eksikliği olan ancak X'e bağlı resesif geçiş göstermeyen ve hemofili A tedavisine tam olarak yanıt vermeyen olgular tip 2N vWH açısından değerlendirilmelidir (74).

### **2.8.13. Platelet-Tip(Psödo) von Willebrand Hastalığı**

Platelet-tip vWH pek çok açıdan tip 2B vWH'na benzemektedir ancak buradaki bozukluk vWF'den değil plateletin GP1b bağlanma noktasından kaynaklanmaktadır (75). Genetik bir defekt sonucu GP1b'nin normal vWF'e affinitesi artmıştır. Platelet-tip vWH hafif trombositopeni, artmış kanama zamanının yanı sıra vWF ve F VIII düzeylerindeki değişken eksiklik ile karakterizedir. Plazma vWF ve F VIII düzeylerindeki eksikliğin bunların plateletlere bağlanması sonucu dolaşımdan temizlenmesi sonucu olduğu düşünülmektedir. İn vitro platelet agregasyon testlerinde oldukça az miktardaki

ristosetin ile platelet aglütinasyonu izlenmektedir. Spontan intravasküler platelet kümelenmesi olabilir. Platelet-tip psödo- vWH çoğu ailede otozomal dominant geçişlidir (76).

## **2.8.14. Tedavi**

### **Genel Tedavi Prensipleri**

vWH'nda hemofili hastalığında olduğu gibi tedavinin esası spontan kanama esnasında ve girişimsel işlem öncesi eksik olan faktörün replasmanıdır. Rutin profilaksi hemofili A ve B'de olduğu gibi uygulanmaz çünkü bu hastalarda kanama eğilimi daha azdır. Ancak rekürren eklem ve gastrointestinal sistem kanamaları olan tip 3 hastalarında profilaksi uygulanabilir. Hemofili A veya B'de tedavi seçeneği ve dozu, replasman materyalindeki F VIII veya IX içeriği, infüzyon sonrası plazma seviyeleri ve kanamanın kontrol altına alınmasına göre düzenlenmektedir. Bu denklem vWH için kısmen geçerlidir, çünkü vWH'da hangi laboratuvar ölçümünün kanamanın ciddiyeti ve kontrolü ile korele olduğu henüz kesin olarak bilinmemektedir. Plazma F VIII düzeyi cerrahi ve yumuşak doku kanamalarının en önemli göstergesidir (77,78). Ancak hangi testin mukozal kanamanın göstergesi olduğu belirsizdir (79,80). Ristosetin kofaktör aktivitesi ve kollajene bağlanma aktivitesinin mukozal ve cerrahi kanamanın kontrolü için kritik olduğunu gösteren az miktarda bilgi bulunmaktadır. Tedavi seçenekleri; otolog vWF ve F VIII'ün plazmaya salınmasını sağlayan desmopressin, bu faktörleri içeren allojenik plazma konsantreleridir. Fibrinolitik inhibitörleri, platelet konsantreleri, östrojen-progesteron preparatları yardımcı tedavi olarak uygulanmaktadır.

### **Otolog Replasman Tedavisi**

Desmopressin (1-deamino-8-D-arjinin vazopressin) antidiüretik hormonun sentetik bir derivativesidir ve tip 2 vazopressin reseptörleri üzerinden etki göstermektedir, tip 1 reseptör üzerinde etkisi çok azdır. Normal kişilerde, hafif hemofili ve vWH olanlarda desmopressin, F VIII ve vWF düzeylerini geçici

olarak arttırmaktadır. Desmopressinin avantajları; ucuz olması, kolay bulunması ve plazma konsantrelerinin kullanılmasından kaçınılmasıdır. Desmopressinin plazma vWF düzeyini arttırması ile ilgili en olası mekanizma c-AMP üzerinden endotelyal hücrelerdeki Wiebel Palade cisimciğinden plazmaya salınımını sağlamasıdır. F VIII'in depolandığı yer veya nasıl salındığı bilinmemektedir.

### **Dozu ve Uygulanma Şekli**

Desmopressin çocuklarda ve erişkinlerde 0.3 µg/kg dozunda 30 dakikada i.v. devamlı infüzyon şeklinde uygulanır, plazma vWF ve F VIII düzeylerini 30-60 dakika içinde, ortalama olarak başlangıç seviyelerinin üç ile dört katına kadar arttırır. İntravenöz yol acil kanamalarda ve cerrahi öncesi uygulanmaktadır. Desmopressin'in ayrıca subkutan enjeksiyon formu (0.3 µg/kg dozunda) ve nazal inhalasyon formu (erişkinlerde 300 µg ve çocuklarda 150 µg'lık sabit dozlarda) evde profilaksi ve kendikendine tedavi için uygun olan formlarıdır.

### **Klinik Etkinlik:**

Her hastanın desmopressine cevabı sabit olduğundan tanı esnasında veya elektif tedavi öncesi kişinin tedaviye yanıtını ve klinik etkinliği tespit etmek için test dozu uygulanmalıdır. Test dozu yukarıda belirtilen dozlarda uygulanmalı ve kanamanın tipine göre uygulanma şekline karar verilmeli ve infüzyon sonrası en az iki kez F VIII, Ristosetin kofaktör aktivitesi veya kollajene bağlanma aktivitesi ölçülmelidir. Bir saat sonra hastanın zirve seviyesi ve dört saat sonrasında yapılan ölçüm ile klerens hızı ile ilgili bilgi edinilebilir. Plazma faktör seviyelerindeki artış 8-10 saat sürdüğü için desmopressin 12-24 saatte bir uygulanmalıdır (81). Bazı hastalarda taşiflaksi gelişebilir. Genellikle desmopressin 2-4 kez tekrarlanmasının faydalı olduğu düşünülmekte ancak F VIII cevabının monitörize edilmesi ve tekrar dozlarının buna göre ayarlanması tercih edilebilir.

### **Fenotipler ve Cevaplar**

Tip 1 vWH gibi normal fonksiyonlu vWF'ü olan hastaların tedaviye cevap vermeleri, anormal vWF üreten tip 2 vWH olanlara kıyasla daha olasıdır.

Desmopressin genellikle tip 2A vWH olanlara önerilmez çünkü salgılanan vWF disfonksiyoneldir ve etkisiz olacaktır ancak bazı istisnalar bulunmaktadır([82]). Desmopressin tip 2B vWH'nda kontraendikedir, geçici trombositopeniye neden olmaktadır (83). Tip 2M vWH olanların çoğunda desmopressine iyi yanıt vermezler ancak bu hastalarda karar vermek için test dozunun uygulanması önerilmektedir (84,85). Tip 2N vWH'nda desmopressine cevap olarak F VIII düzeyleri artmakta ama bazı olgulara protein kısa bir süre için dolaşımda kalmakta çünkü F VIII'e bağlanmadaki bozukluk nedeni ile vWF'ün stabilize edici etkisi bulunmamaktadır. Bu hastalarda desmopressin test dozunun F VIII'in uygun hemostaz sağlamak için yeterli zirve düzeyi ve klerens hızına sahip olduğunun gösterildiği durumlar dışında, vWF içeren plazma konsantreleri tercih edilmelidir. Nadir istisnalar dışında tip 3 vWH desmopressine yanıt vermez çünkü bu hastalarda salınabilecek vWF depoları bulunmamaktadır.

### **Yan Etkiler**

Desmopressinin yan etkileri arasında taşikardi, baş ağrısı ve yüzde kızarıklık sık görülür ancak genellikle hafif seyredir. Desmopressinin antidiüretik etkisi nedeni ile oluşan su tutulumuna bağlı hiponatremi fazla sıvı alımından kaçınıldığında nadiren görülür. Ancak su intoksikasyonuna bağlı olarak nöbet gelişebilir, özellikle tekrarlayan tedaviler alan küçük çocuklarda vücut ağırlığının takibi bu nedenle önemlidir (86). Unstabil koroner arter hastalığı olan kişilerde kullanılmamalıdır, çünkü bu hastalarda endotel hücrelerinden salınan çok büyük vWF multimerleri kan akımındaki ani bozukluk durumunda platelet agregasyonunu indükleyip kalp krizine neden olabilir (87,88).

### **Allojenik Replasman Tedavisi**

Taze donmuş plazma hem F VIII hem de vWF içerir. Ancak yeterli hemostatik konsantrasyon sağlanması için fazla miktarda plazmaya gereksinim olduğundan ( yaklaşık 20-25 ml/kg ) volüm yüklenmesine neden olabilir. Her iki faktörü de plazmadan daha fazla miktarda içeren daha az miktardaki kriyopresipitat, faktör seviyelerinin düzelmesi ve kanamanın önlenmesi için

yeterlidir (89). Ancak bu plazma ürünlerine rutin virüs inaktivasyonu uygulanmamaktadır. Bu nedenle virüs inaktivasyonu uygulanan plazma konsantreleri daha güvenli olduğundan tercih edilmelidir.

### **Replasman Ürünleri**

Antihemofilik faktör olarak kullanılan bazı ticari plazma faktör konsantrelerinin hem FVIII hem de vWF içerdiği gösterilmiştir (90). Bu ürünlerde yüksek ısı, deterjan ve solventler kullanılarak virüs inaktivasyonu sağlanmıştır. Rekombinan DNA teknikleri ile veya plazmadan elde edilen yüksek saflıktaki F VIII preparatları vWF içermediğinden kullanılmamalıdır. Yüksek saflıkta vWF ve çok az miktarda F VIII içeren ve tip 3 ve diğer vWH tiplerinde kullanılacak bir plazma konsantresi de geliştirilmiştir (91,92). Bu preparatın kullanımı ile ilgili rasyonel ise vWH'nda F VIII yapımı normal olduğundan onu stabilize eden vWF verilmesi ile eksiklik düzeltilmektedir. İnfüzyon sonrası F VIII düzeyleri yavaşça artarak 6-8 saatte zirve düzeyine ulaşmaktadır, bu nedenle başlangıç F VIII düzeyleri normalin %20-30'u ve altında olan hastalarda acil kanama ve cerrahi girişim durumunda F VIII preparatı da verilmelidir. Elektif cerahiden 6-8 saat önce vWF preparatı vrilmelidir ve bu süre içinde F VIII düzeylerinin normale gelmesi sağlanabilir. Plazma ve kriyopresipitat dışındaki tedavide kullanılan plazma konsantrelerinin hiçbirinde çok büyük vWF multimerleri bulunmamaktadır, ancak bunun eksikliğinin tedavi üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu saptanmamıştır.

### **Konsantre Uygulama Dozu**

Değişik kanama tiplerinde kontrol ve profilaksinin uygulanması için önerilen dozlar Tablo 2.3.'de belirtilmiştir. Bu konuda az sayıda prospektif çalışma yapıldığından, önerilen dozlarla ilgili kanıt düzeyi oldukça düşüktür (93,94). Tablo 2.3.'deki dozlar, F VIII koagulan aktivitesi için kilogram başına düşen internasyonel ünite şeklinde belirtilmiştir. Dozlar ciddi vWF ve F VIII eksikliği olan hastalar (normal düzeyin %10'u ve daha düşük düzeyler) için düzenlenmiştir ve daha hafif eksikliği olan hastalarda doz azaltılmalıdır. Artık günümüzde vWH için kullanılan preparatlarının ristosetin kofaktör ve F VIII

potensini belirtecek şekilde etiketlenmesi gerekmektedir. Ristosetin kofaktör için önerilen doz F VIII ile benzerdir (uygulanan her IU/kg faktör, plazmada %2'lik bir artış sağlamaktadır).

**Tablo 2.3.** Ciddi vWH olan hastalarda (faktör düzeyleri normalin %10'u ve daha düşük olanlar) önerilen ortalama F VIII ve vWF dozları(5)

Kanama Tipi	Doz (IU/kg)	İnfüzyon sıklığı	Hedef
Major cerrahi	50	12-24 saat	F VIII düzeyi >normalin %50'si, yara iyileşmesi tamamlanincaya kadar(5-10 gün)
Minör cerrahi	40	12-24 saat	F VIII düzeyi >normalin %30'u ve yara iyileşmesi sağlanincaya kadar (2-4 gün)
Diş çekimi	30	Tek doz	F VIII düzeyi >normalin %50'si 12 saat boyunca
Spontan kanama atağı	25	12-24 saat	F VIII düzeyi >normalin %30'u ve kanama duruncaya kadar (2-4 gün)
Doğum ve puerperium	40	Doğum öncesi ve postpartum dönemde günlük	F VIII düzeyi >normalin %50'si 3-4 gün süresince

### Laboratuvar Monitörizasyonu

Cerrahi uygulanan veya terapötik dozlarda faktör konsantresi alan hastalarda dozun uygulandığı gün 12 saatte bir, sonrasında 24 saatte bir F VIII aktivitesi bakılmalıdır. Bu sadece F VIII'in cerrahi hemostazda esas belirleyici olmasından değil normalden yüksek düzeylere (örn. %200 veya üzeri ) ulaşması venöz tromboembolizme neden olabileceği için gereklidir (95,96). Tedavi ayrıca

vWF aktivitesini değerlendirmek amacı ile VWF ristosetin kofaktör aktivitesi ile takip edilmelidir. Cerrahi hemostaz sağlanması ve sürdürülmesi için gereken ristosetin kofaktör aktivite düzeyi faktör VIII ile benzerdir. Ancak uzun süreli tedavilerde ristosetin aktivitesi ile takip uygun olmayabilir, çünkü bu hastalarda plazma yarı ömrü 8-10 saat olan ristosetin aktivitesi hemen düşerken endojen F VIII üretimi nedeniyle F VIII düzeyleri normalden çok fazla yükselir ( hemofilide uygulanan F VIII yarı ömrü 10-14 saat iken, vWH'nda yarı ömrü 24-26 saate çıkar). Postoperatif dönemde kanama zamanı ölçümü gereksizdir. F VIII düzeyleri önerilen düzeylerde tutulursa, cerrahi girişim ve yumuşak doku kanamaları başarılı bir şekilde kontrol altına alınabilir (93).

Yeterli F VIII düzeylerine rağmen kanama kontrol altına alınamazsa plazma ürünleri ile birlikte  $4 \times 10^{11}$  veya  $5 \times 10^{11}$  platelet dozunda platelet konsantresi verilmesi, kanama kontrolüne katkı sağlamaktadır (97,98).

#### **Antifibrinolitik Amino Asitler**

Epistaksis ve menoraji gibi vWH'daki kanama semptomları mukozal yüzeylerin lokal fibrinolitik aktiviteleri ile kısmen desteklenmektedir. Bukkal mukoza ve dişetindeki lokal fibrinolitik aktivite diş çekimi sonrası kanamadan sorumludur. Bu bulgular, vWH ve diğer kalıtsal kanama diyatezlerinde antifibrinolitik amino asitlerin kullanılmasındaki esas oluşturmaktadır (99).  $\epsilon$ -Amino kaproik asit (50-60 mg/kg dozunda 4-6 saatte bir) veya tranexamik asit (10-15 mg/kg dozunda 8-12 saatte bir ) oral, intravenöz ve topikal olarak uygulanabilir. Antifibrinolitik amino asitler hafif mukozal kanamaların tedavisinde kullanılabilir. Daha sık olarak bu ajanlar desmopressin veya plazma konsantrelerine ek olarak minör ve major cerrahide kullanılmaktadır (Tablo 2.4.). Antifibrinolitik amino asitlerin bulantı ve ishal gibi nadir görülen yan etkileri mevcuttur. Gross hematürisi olan hastalarda oluşan pıhtı erimeyerek üretral obstrüksiyona neden olabileceğinden kontrendikedir.

**Tablo 2.4.** vWH alt tiplerinin tedavi seçenekleri.

vWH Alt Tipi	Tedavi seçeneği	Alternatif ve ek tedavi
--------------	-----------------	-------------------------

Tip 1	Desmopressin	Antifibrinolitikler, östrojen
Tip 2A	Faktör VIII/VWF Konsantreleri	
Tip 2B	Faktör VIII/VWF Konsantreleri	
Tip 2M	Desmopressin	Faktör VIII/VWF konsantreleri
Tip 2N	Desmopressin	Faktör VIII/VWF konsantreleri
Tip 3	Faktör VIII/VWF konsantreleri	Desmopressin, platelet konsantreleri

### Üreme Sağlığı ve vWH

vWH fertilitiyi etkilemez ve artmış düşük riski izlenmemiştir (100,101). Hastalık menoraji ve koitus esnasında fazla kanamaya neden olduğundan kadın sağlığını ve hayat kalitesini etkilemektedir.

### Menoraji

Menorajisi olan ve pelvik hastalığı olmayan 271 kadın hasta ile yapılan bir çalışmada, bunların %7-13'ünde düşük vWF düzeyleri tespit edilmiştir (102). Menoraji vWH olan kadınlarda sık görülen bir semptomdur (103,104). Bir çalışmada Tip 3 vWH olan 130 kadının 69'unda demir eksikliği anemisine yol açacak düzeyde fazla adet kanaması olduğu saptanmıştır (102). Tip 3 vWH olan kadınlarda oral östrojen-progesteron preparatlarının kan kaybını önlemede %88 oranında başarılı olduğu izlenmiştir (101). İntranazal ve subkutan desmopressin, antifibrinolitik amino asitler veya ikisinin bir arada kullanımı da denenmiş ancak bunların etkinliği, güvenilirliği ve kullanılabilirliği ile ilgili yeterli kanıt bulunmamaktadır. Tip 1 vazopressin agonistlerinden farklı olarak desmopressinin oksitoksik etkisi oldukça azdır ve bu nedenle hemofili A taşıyıcısı veya tip 1 vWH olan gebelerde cerrahi veya girişimsel işlemler öncesi kullanılabilir.

### **Doğum Esnasında Tedavi**

Tip 1 vWH olan kadınlarda gebelik esnasında vWF ve F VIII düzeyleri artmakta ve termde normal düzeye ulaşmaktadır. F VIII düzeyleri kanamayı en iyi predikte edeceğinden termde ve doğumdan 2 hafta sonrasında F VIII ölçümü yararlı olacaktır. Plazma F VIII düzeyleri normalin %30-40'ı ve üzerinde olan hastalarda vajinal doğum veya sezaryen sonrası kanama riski oldukça düşüktür. Ama bu düzeylerin altında kanama riski klinik olarak anlamlıdır (105,106) ve bu durumlarda doğum esnasında ve doğumdan sonraki 3-4 gün boyunca desmopressin veya konsantrelerin verilmesi gereklidir. Plazma F VIII düzeyleri artmayacağından tip 3 vWH olanlarda F VIII monitorizasyonu yapılmasının yararı yoktur. Doğum esnasında ve sonrasında kanamayı önlemek için günlük faktör konsantreleri verilmesi gerekmektedir (104-105).

### **Alloantikorlar**

Çok sayıda transfüzyon yapılmış olan tip 3vWH olanların %10-15'inde vWF'e karşı alloantikorlar gelişmekte ve bunlar dolaşımda immün kompleksler oluşturmaktadırlar (80). Bu kişilerde vWF içeren konsantrelerin kullanımı kontrendikedir, çünkü bunlar immün kompleksler aracılığı ile kompleman sistemini aktive ederek hayatı tehdit eden anaflaktik reaksiyonlara neden olabilirler. Rekombinan FVIII kullanımı ile ilgili kısıtlı bilgi olmasına karşın kabul gören bir tedavidir (107,108). Taşıyıcı protein eksikliğinde plazma F VIII'in yarı ömrü çok kısa olacağından sürekli infüzyon şeklinde yüksek dozlarda uygulanmalıdır. Aktive F VII kullanımı ile ilgili birtakım tecrübeler vardır ve buna göre 90 µg/kg dozunda 2 saatte bir veya 20 µg/kg dozunda saatlik devamlı infüzyon şeklinde verilmesinin cerrahi hemostazı sağladığı gösterilmiştir (109,110).

### **Gelecekteki Tedavi Yöntemleri**

İntakt multimerik yapıda ve translasyon sonrası modifikasyonları tamamlanmış olan yeni bir rekombinan vWF preparatının, vWH olan

köpeklerde plazmadaki eksiklikleri düzelttiği izlenmiştir (111,112). İnterlökin-11'in farelerde ve insanlarda plazma FVIII ve vWF düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (113). vWH olan köpeklerde interlökin-11'in FVIII ve vWF düzeylerinde, desmopressinin hızlı ortaya çıkan ve kısa süren etkisinden farklı olarak kademeli ve uzun süreli bir artış sağladığı saptanmıştır (114). Klinik çalışmalar ile sitokinin etkinliği ve güvenliği ispatlanırsa uzun süreli etki gerektiren durumlarda desmopressin yerine kullanılabilir.

Hemofili A ve B için gen terapileri ile ilgili faz 1 klinik çalışmalar yürütülürken vWH için bu yaklaşım çok ön plana çıkmamıştır. Çünkü vWH, hemofili kadar sık görülse de, sıklıkla daha hafif seyreder ve yeterli tedavi seçenekleri mevcuttur.

### III. BİREYLER VE YÖNTEM

Bu çalışmaya mukokütanöz kanama şikayeti ile, 1993-2004 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Ünitesine başvuran veya refere edilen ve Trombosit Agregasyon testleri sonucu Von Willebrand hastalığı ile uyumlu bulunan erişkin yaş grubundaki olgular, ve hastane arşivinde von Willebrand hastalığı tanısı ile kayıtlı dosyası bulunan ve şubat 2004 tarihi itibariyle 17 yaşını doldurmuş olan hastalar alındı. Bu hastaların dosya bilgileri incelenerek veya yüzyüze görüşmelerle elde edilen kanama ile ilgili klinik bilgileri; tanı yaşları, ilk başvuru şikayetleri, semptomları ( kolay morarma, epistaksis, diş çekimi sonrası kanama, cerrahi sonrası kanama, gastrointestinal kanama, derin doku kanaması, intrakranial kanama, menoraji), aile öyküleri, anemi öyküsü varlığı, aldıkları tedaviler(desmopressine yanıtları, kan ve/veya plazma ürünleri transfüzyonu), laboratuvar bulguları(kanama zamanları, PFA, trombosit agregasyon testleri) kaydedildi. Hastalarda tıbbi tedavi veya kan transfüzyonu gerektiren kanamaların olması ciddi kanama olarak değerlendirildi ve hastalık şiddetini belirlemek için ciddi kanama epizod sayısı olarak ayrıca belirtildi. Toplam 33 hastanın verileri değerlendirildi.

Hastaların vWH tanısı için öncelikle kanama öyküleri, aile öyküsü ve ilaç öyküsü tespit edildikten sonra FVIII:C, vWF:Ag, RiCof düzeyleri ve trombosit agregasyon testi sonucu da değerlendirilerek vWH tanısı ve alt tiplendirilmesi yapıldı. Bu değerlendirmeler sonucu vWF:ag ve vWF:RiCof düzeylerinde hafif orta düzeyde azalma, F VIII düzeylerinin normal veya hemostatik sınırın üzerinde olması , ciddi kanama öyküsünün olması ve aile öyküsünün pozitifliği ile tip 1 vWH tanısını konuldu. Sadece ciddi kanama öyküsü veya aile öyküsünün pozitifliği muhtemel vWH ile uyumlu olarak değerlendirildi. VWF:Ag ve RiCof:akt düzeyleri anormal olarak tespit edilen ve vWF:Ag / RiCof oranının 2.7'nin ( Hacettepe Hastanesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Ünitesi Koagülasyon-Hemostaz Laboratuvarında yapılan değerlendirme sonucu normal kişilerde vWF:ag / RiCof oranının 2,5 ile 97,5 persentil arasında seyrettiği, normal sınırlarının 0.3-

2.7 olduğu hesaplandı) üzerinde olan hastalara tip 2 vWH tanısı konuldu. Literatürde bu oran 1 veya bazı çalışmalarda 2'nin üzerinde olarak kabul edilmiştir [115;116]). Bu hastalarda vWF multimer analizi ve vWF-FVIII bağlanma testleri çalışılmadığından tip 2A, 2M ve 2N alt tiplerinin tanısı konulamadı. Ancak vWF:Ag ve RiCof düzeyleri anormal olan hastalarda agregasyon testlerinde ristosetin ile hiperagregasyon tespit edilen ve/veya trombositopenisi olan hastalar tip 2B vWH olarak sınıflandırıldı. vWF:Ag ve RiCof düzeyleri < %5 ve F VIII düzeyi orta hafif hemofili A düzeyinde azalmış olan hastalar tip 3 vWH ile uyumlu olarak değerlendirildi. Hastaların başvuru şikayetlerinin, anemi görülme sıklığının, cilt kanama zamanı ve in vitro kanama zamanı ölçümlerinin, Desmopressin testine verilen yanıtın ve uygulanan tedavi yöntemlerinin hastaların alt tiplerine göre dağılımı incelendi.

Hastalarda, von Willebrand antijen düzeyinin, latex immunassay yöntemi ile (STA-Liatest vWF; Diagnostica Stago, Asnieres, Fransa) ve ristosetin kofaktör aktivitelerinin optik metod ile (ristosetin kofaktör testi; Chrono-Log Corporation), plazma faktör VIII düzeyinin ise pıhtılaşma yöntemi ile (STA-Deficient VIII, Diagnostica Stago) çalışılmış olduğu gözlemlendi, tanıda ve hastalığın şiddetini belirlemede bu verilerden yararlandı.

Hastaların agregasyon testlerinin optik metod (Chrono-Log 560-Ca Agregometre; Chrono-Log Corporation, Haverton, Pennsylvania, USA) ile çalışılması ve reaktan olarak adenosin difosfat (ADP), epinefrin, kollajen ve ristosetin (Chrono-Par Reaktanları, Chrono-Log Corporation) kullanılmış olduğu görüldü. . Hastaların trombosit agregasyon test sonucunda ristosetin ile agregasyon bozukluğu olması ve vWF:Ag ve/veya RiCof düzeylerinde düşüklük olması vWH lehine değerlendirildi. Trombosit agregasyon sonucu ristosetin ile agregasyon bozukluğu saptanan ve hafif trombositopenisi, periferik yaymada dev trombositler izlenen hastalar Bernard Soulier sendromu ile uyumlu olarak değerlendirildi. Bozuk kollajen cevabı, ADP, epinefrin ve düşük trombin konsantrasyonu ile sekonder dalga eksikliği depo havuz hastalığı, kollajen ve trombin ile bozuk agregasyon; sekresyon bozukluğu, ADP, epinefrin, trombin ve kollajen ile bozuk platelet agregasyonu ise Glanzmann trombastenisi ile uyumlu olarak değerlendirildi.

Hastaların in vitro kanama zamanı, PFA-100® cihazı (Dade Behring) ile belirlenmişti. İn vitro kanama zamanı normal değerleri, CEPİ için  $\leq 150$  saniye, CADP için ise  $\leq 114$  saniye olarak alınmıştır. Hastaların invivo kanama testleri Template yöntemi (Simplat® IIR; Organon Teknika Corp., USA) ile ölçülmüş olduğu izlendi. Ayrıca hastaların ölçülmüş olan hemoglobin ve trombosit değerleri de kaydedildi.

Hastaların dosya kayıtlarından Desmopressin testi yapıp yapılmadığı ve bu tedaviye yanıtları değerlendirildi. Desmopressin testi şu şekilde uygulandığı görüldü. Hastaya 0.3 µg/kg Desmopressin 30 dakika içinde i.v. olarak uygulanmasının ardından 0.5, 1, 2 ve 4 saat sonra vWF:Ag, RiCof ve FVIII düzeyleri incelenmişti. Eğer 2 saat sonrasında bakılan vWF:RCo ve FVIII:C başlangıç değerlerini en az 3 katı kadar artmışsa ve F VIII ve RiCof değerleri 30 IU/dl üzerinde ise Desmopressin yanıtı pozitif olarak değerlendirildi.

### **3.1. İstatiksel Analizler**

İstatiksel analizler Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 11.0 for Windows kullanılarak yapıldı. Veriler tanımlayıcı istatistik yöntemleri kullanılarak ifade edildi.

#### IV. BULGULAR

Mukokütanöz kanama şikayeti ile başvuran 617 hastanın trombosit agregasyon testlerinin değerlendirilmesi sonucunda; 383 hastada trombosit agregasyon testi normal olarak bulunmuş, 68'inde (% 11) vWH ile uyumlu, 107 hastada (%17) sekresyon bozukluğu ile uyumlu, 48 hastada (%7) Glanzmann Trombasteni ile uyumlu, 7 hastada (% 0,9) Bernard Soulier hastalığı ile uyumlu, 6 hastada(% 0,9) Depo-Havuz hastalığı ile uyumlu olduğu saptandı. Bu çalışmada vWH tanısı olan toplam 33 erişkin hastanın dosya kayıtları değerlendirildi. Çalışma kapsamına alınan hastaların 24'ü (% 68,4) kadın, 9'u (% 31,6 ) erkek idi (Tablo 4.1.).

**Tablo 4.1.** Hastaların cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Sayı	%
Kadın	24	72,7
Erkek	9	27,3
Total	33	100.0

Hastaların tanı alma yaşları 1-60 yaş arasında değişmekte idi. Ortalama tanı yaşları 17,6 ve median tanı yaşı 19 idi (Tablo 4.2.). 31 hastada (% 93,9) semptomların başlangıç süresinin 1 yıldan uzun olduğu saptandı. Bu hastaların çoğunda (29 hasta) kanama semptomlarının, yaşamlarının ilk 5 yılı içinde başladığı saptandı. Ortalama tanı alma yaşları tip 3 vWH'nda 12, tip 1 vWH'nda 23.7, tip 2 vWH'nda 20.2, tip 2B vWH'nda ise 17 idi.

**Tablo 4.2.** Hastaların tanı yaşlarının dağılımı

	Yaş (Yıl)
Ortalama yaş	17,6
Median yaş	19.0

---

Minimum	1.0
Maksimum	60.0

---



Çalışmaya dahil edilen 33 vWH olan hastanın yapılan alt tiplendirmesi sonucu 11 hasta (%33,3) tip 3 vWH, 8 hasta (%24,2) tip 1 vWH, 5 hasta tip 2 vWH, 3 hasta tip 2B vWH olarak değerlendirildi. 6 hastaya veri eksikliği nedeni ile alt tanı konulamadı (Tablo 4.3.)

**Tablo 4.3. Von Willebrand hastalarının alt tiplerine göre dağılımı**

Alt tip	Hasta sayısı	Oran(%)
Tip 3	11	33,3
Tip 1	8	24,2
Tip 2B	3	9,1
Tip 2	5	15,2
Belli değil	6	18,2
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>100,0</b>

Tüm hastaların aile öyküleri değerlendirildiğinde 21 hastada (%66,8) kanama diyatezi ile uyumlu klinik ve/veya tanı var iken, hastaların 4'ünde (%11,0) aile öyküsü tespit edilemedi.(Tablo 4.4.)

**Tablo 4.4. Hastaların aile öykülerinin dağılımı**

Aile öyküsü		
Yok Sayı (%)	Var Sayı (%)	Bilinmiyor Sayı (%)
8 (%22,2)	21 (%66,8)	4 (%11,0)

Hastaların başvurma esnasındaki şikayetleri incelendiğinde 33 hastanın 10'unda (% 30,3) dişeti kanaması ilk sırada yer almaktaydı. Bunu takiben 7 hasta (% 21,2) burun kanaması ile başvurmuştu. Altı hasta (%18,2) ise menoreji, 5 hasta (%15,2) kolay morarma, 2 hasta (% 6,1) dişçekimi sonrası kanama, 1 hasta (%5,3) gastrointestinal kanama, 1 hasta (%3,0) travma sonrası uzamış kanama ve 1 hasta (% 3,0) ise cerrahi sonrası kanama ile başvurmuştu (Tablo 4.5.).

**Tablo 4.5.** Hastaların başvuru şikayetlerinin alt tanıların göre dağılımı

Alt tip		kolay morarma	menoraji	cerrahi sonrası kanama	diş çekimi sonrası kanama	burun kanaması	dişeti kanaması	GİS kanama	Travma sonrası uzamış
Tip 3	Sayı (%)	3 (%27.3)	1 (%9.1)	0	0	3 (%27.3)	4 (%36.4)	0	0
Tip 1	Sayı (%)	1 (%12.5)	3 (%37.5)	0	1 (%12.5)	3 (%37.5)	0	0	0
Tip 2B	Sayı (%)	0	1 (%33.3)	1(%33.3)	0	0	1 (%33.3)	0	0
Tip 2	Sayı (%)	1 (%20.0)	0	0	1 (%20.0)	1 (%20.0)	2 (%40.0)	0	0
Alt tip belli değil	Sayı (%)	0	1 (%16.7)	0	0	0	3 (%50.0)	1 (%16.7)	1 (%16.7)
Toplam	Sayı (%)	5 (%15.2)	6 (%18.2)	1 (%3.0)	2 (%6.1)	7 (%21.2)	10 (%30.3)	1 (%3.0)	1 (%3.0)

Toplam 33 hastanın 19'unda (%57,5 ) demir eksikliği anemisi öyküsü olduğu tespit edildi. Tip 3 vWH olan hastaların %81.8'inde, Tip 1 vWH olan hastaların %37.5'inde demir eksikliği anemisi öyküsü vardı (Tablo 4.6.).

**Tablo 4.6.** vWH alt tiplerinde demir eksikliği anemisi görülme sıklığı

Alt tanı	Demir eksikliği anemisi		
		var	Yok
Tip 3	Sayı (%)	9 (%81.8)	2 (%18.2)
Tip 1	Sayı (%)	3 (%37.5)	5 (%62.5)
Tip 2B	Sayı (%)	0	3 (%100.0)
Tip 2	Sayı (%)	2 (%40.0)	3 (%60.0)
Alt tip belli değil	Sayı (%)	5 (%83.3)	1 (%16.7)
<b>Toplam</b>	<b>Sayı (%)</b>	<b>19 (%57.5)</b>	<b>14 (%42.4)</b>

Tüm vWH alt tiplerinde en sık görülen (%94.0) semptom kolay morarma idi. İkinci sıklıkta (%66.7) izlenen semptom ise dişeti kanaması idi. Kadın hastaların %83.3'ünde menoraji vardı. Bir hastada derind oku kanaması (eklem içi kanama) vardı ve bu hasta tip 3 vWH tanısı ile izlenmekte idi (Tablo 4.7.).

Toplam 17 hastada PFA-100 cihazı ile in vitro kanama zamanı çalışılmıştı. Bu hastaların 16'sında CADP düzeyinin 114 saniyenin üzerinde (yüksek) olduğu gözlemlendi. CEPİ düzeyleri çalışılan tüm hastalarda, CEPİ düzeyinin 150 saniyenin üzerinde olduğu gözlemlendi.

Template yöntemi ile 18 hastada cilt kanama zamanı değerlendirilmişti ve bunların 15'inde kanama zamanının uzamış olduğu gözlemlendi. Kanama zamanı normal olan 3 hasta tip 1 vWH tanısı ile izlenmekte idi (Tablo 4.8.).

**Tablo 4.7.** Hastalarda kanama semptomlarının görülme sıklıkları

SEMPTOM	VAR Sayı (%)	YOK Sayı (%)
Kolay morarma	31 (%94.0)	2 (%6.0)
Dişeti kanaması	22 (%66.7)	11 (%33.3)
Burun kanaması	21 (%63.6)	12 (%36.4)
Menoraji*	20 (%83.3)	4 (%16.7)
Cerrahi sonrası kanama	4 (%12.1)	29 (%87.9)
Diş çekimi sonrası kanama	13 (%39.4)	20 (%61.6)
GİS kanaması	7 (%21.2)	26 (%78.8)
Derin doku kanaması	1 (%3.0)	32 (%97.0)

\*Sadece kadın hastalar gözönüne alınmıştır.

**Tablo 4.8.** Hastaların cilt kanama zamanlarının ve invitro kanma zamanlarının alt tiplerine göre değerlendirilmesi

Alt Tanı	CT-ADP		CT-EPI		Cilt kanama zamanı	
	Uzamış/ Yüksek	Normal	Uzamış/ Yüksek	Normal	Uzamış/ Yüksek	Normal
Tip 1	7	0	7	0	1	3
Tip 2	1	1	2	0	4	0
Tip 3	4	0	4	0	6	0
Alt tipi belli değil	1	0	1	0	4	0
Toplam	16 (%94,1)	1 (%5,6)	17 (%100)	0	16 (% 84.3)	3 (%15.7)

Desmopressin testi yapılan 9 hastanın teste olan yanıtları değerlendirildiğinde tip1 vWH olan 5 hastanın hepsinde ve tip 2 vWH tanısı

olan 1 hastada pozitif yanıt alınırken, tip 3 vWH tanısı olan 3 hastada olumlu yanıt alınmadığı görüldü (Tablo 4.9.).

**Tablo 4.9.** vWH alt tiplerinin Desmopressin tedavisine yanıtlarının değerlendirilmesi

Alt tanı		DDAVP	
		yanıt var	yanıt yok
Tip 3	Sayı	0	3
Tip 1	Sayı	5	0
Tip 2	Sayı	1	0
Toplam	Sayı (%)	6 (%66,7)	3 (%33,3)

vWH alt tiplerinin aldıkları kan transfüzyonları, plazma ve faktör replasmanları ve antifibrinolitik tedaviler açısından yapılan değerlendirilmesinde, tip 3 vWH olan hastaların %81,8'ine ( 11 hastanın 9'u ) kan transfüzyonu yapılmıştı. Tip 1 vWH olan 8 hastanın 1'i (% 12,5 ) , tip 2 vWH olan 5 hastanın 4'üne ve tip 2B vWH olan 3 hastanın 2'sine kan transfüzyonu yapılmıştı. tip 3 vWH olan 7'sine (%63.6) ve tip1 vWH olan 1 hastaya (%12.5) faktör replasmanı yapılmıştı. Tip 3 vWH olan 5 hasta, tip 1 vWH olan 3 hasta ve tip 2 vWH olan 2 hasta antifibrinolitik tedavi almıştı (Tablo 4.10.).

**Tablo 4.10.** Uygulanan tedavi yöntemlerinin von willebrand hastalarının alt tiplerine göre dağılımı

Alt tip		Antifibrinolitik tedavi		Kan transfüzyonu		Faktör replasmanı		Plazma replasmanı	
		uygulanmış	uygulanmamış	yapılmış	Yapılmamış	yapılmış	yapılmamış	yapılmış	yapılmamış
Tip 3	Sayı (%)	5 (%45.5)	6 (%54.5)	9 (%81.8)	2 (%18.2)	7 (%63.6)	4 (%36.4)	7 (%63.6)	4 (36.4)
Tip 1	Sayı (%)	3 (%37.5)	5 (%62.5)	1 (%12.5)	7 (%87.5)	1 (%12.5)	7 (%87.5)	2 (25.0)	6 (75.0)
Tip 2B	Sayı (%)	0	3 (%100)	2 (%66.7)	1 (%33.3)	2 (%66.7)	1 (%33.3)	3 (%100)	0
Tip 2	Sayı (%)	2 (%40)	3 (%60)	4 (%80.0)	1 (%20.0)	1 (%20.0)	4 (%80.0)	2 (%40)	3 (%60)
Belli değil	Sayı (%)	1 (%16.7)	5 (%83.3)	5 (%83.3)	1 (%16.7)	3 (%50.0)	3 (%50.0)	4 (%66.7)	2 (%33.3)
Toplam	Sayı (%)	11 (%33.3)	22 (%66.7)	21 (%63.6)	12 (%36.4)	14 (%42.4)	19 (%57.6)	18 (%54.5)	15 (%45.5)

vWH alt tiplerinin kanama şiddeti açısından yapılan değerlendirilmesinde ciddi kanama epizod sayısı iki ve üzerinde olan Tip 3 vWH olanların oranı % 54,5 iken, tip 1 vWH olanlarda %12,5 ve tip 2 vWH olanlarda %20 idi. tip 2B vWH olan hastaların hiçbirinde iki ve üzerinde ciddi kanama epizodu saptanmadı(Tablo 4.11.).

**Tablo 4.11.** Hastaların ciddi kanama epizodlarının alt tiplerine göre dağılımı

Alt Tanı		Ciddi Kanama Epizod Sayısı	
		İkiden az	İki ve üzeri
Tip 3	Sayı (%)	5 (%45.5)	6 (%54.5)
Tip 1	Sayı (%)	7 (%87.5)	1 (%12.5)
Tip 2B	Sayı (%)	3 (%100)	0
Tip 2	Sayı (%)	4 (%80.0)	1 (%20.0)
Belli değil	Sayı (%)	1 (%16.7)	5 (%83.3)
Toplam	Sayı (%)	20 (%60.6)	13 (%39.4)

## V. TARTIŞMA

Von willebrand hastalığı en sık görülen kalıtsal kanama diyatezidir. Yapılan çalışmalarda genel popülasyondaki prevalansı %1-2 olarak izlenmiştir (1-5,114,117). Kanama şikayeti ile refere edilen hastalar üzerinden yapılan çalışmalarda prevalansının daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir. vWH klinik olarak son derece heterojen olup asemptomatik olabileceği gibi, hafif mukozal kanamalardan hemofiliye benzer ağır kanama eğilimine kadar farklı ağırlıkta kanama semptomları ile kendini gösterebilir. vWH'nın pekçok alt tipi tanımlanmıştır. Gerek tedavi yaklaşımlarının farklı olması gerekse genetik danışma yönünden vWH'nın tiplerinin ayırılması gereklidir. Klinik olarak hafif kanamalarla seyreden hastalarda da hastalığın tanınması yine genetik danışmanlık açısından önemlidir. vWH kalıtsal bir hastalık olmasına rağmen tanı konulması geç yaşlara kadar gecikebilir. Özellikle hafif formlarında, bayanlarda tek bulgu menoraji olabileceği için sistemik kanama eğilimi yapan bir neden düşünülmez ise hastada uzun vadede demir eksikliği anemisi gelişebilir ve tedaviye rağmen düzelmeyebilir.

Bu çalışmaya, Hacettepe Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Ünitesine mukokütanöz kanama şikayeti ile başvuran veya refere edilen 617 hastanın trombosit aggregasyon testlerinin değerlendirilmesi sonucunda Von Willebrand hastalığı ile uyumlu bulunan erişkin yaş grubundaki olgular, ve hastane arşivinde von Willebrand hastalığı tanısı ile kayıtlı dosyası bulunan ve şubat 2004 tarihi itibarıyla 17 yaşını doldurmuş olan hastalar alındı. Trombosit aggregasyon testi çalışılan, kanama öyküsü olan ve trombositopenisi olmayan 617 hasta arasında Von Willebrand hastalığı ile uyumlu bulunan olgular, tüm hastaların % 11'ini oluşturuyordu. Literatürde vWH'nın en sık kalıtsal kanama diyatezi olduğu belirtilmesine(1-5) rağmen kanama şikayeti ile başvuran hastalarda vWH prevalansı ile ilgili veriye rastlanmadı.

Çalışmaya alınan 33 vWH olan hastanın yapılan alt tiplendirme sonucu, 11 hasta (%33,3 ) tip 3 vWH, 8 hasta ( %24,2 ) tip 1 vWH , 5 hasta tip 2 vWH, 3 hasta tip 2B vWH olarak değerlendirildi. Altı hastada veri eksikliği nedeni ile alt tanı belirlenemedi. Literatüre baktığımızda vWH alt tiplerinden en sık görüleni (%70-80) tip 1 vWH'dır(1-3,5,7). Tip 3 vWH ise vWH'nın %5-10'unu

oluşturmaktadır (54). Bazı kaynaklarda ise bu oran %1-5 olarak rapor edilmiştir (3). Bu tez çalışmasında tip 3 vWH oranının yüksek olmasının nedeni, hasta sayısının az olması, ciddi semptomları olan hastaların hastaneye daha fazla başvurması ve alt tiplendirme yapılamayan %18.2'lik bir hasta dilimi olması olabilir.

Hastaların tanı yaşları değerlendirildiğinde ortalama tanı yaşları 17,6 olarak saptanmıştır. Ragni ve ark tarafından yapılan bir çalışmada 38 tip 1 vWH olan kadında ortalama tanı yaşı 16 olarak saptanmıştır (118). Sadece tip 3 vWH olan hastaların dahil edildiği bir çalışmada ortalama tanı yaşı 5,5 olarak rapor edilmiştir (54). Bu çalışmadaki hastaların çoğunun (29 hasta) semptomlarının, yaşamlarının ilk beş yılı içinde başladığı düşünüldüğünde ve 11 hastanın tip 3 vWH olmasına rağmen, tanı alma yaşlarının geç olduğu görülmektedir. Bunun nedeni hastaların hastaneye geç başvurması veya vWH ile ilgili hekimlerin bilgi düzeylerinin yeterli olmaması olabilir.

vWH'nda tekrarlayan kanamalar nedeniyle, özellikle kadınlarda demir eksikliği anemisi sıklıkla gelişmektedir. Toplam 33 hastanın 19'unda (%57,5) demir eksikliği anemisi öyküsü olduğu tespit edildi. Tip 3 vWH olan hastaların %81.8'inde, tip 1 vWH olan hastaların %37,5'inde demir eksikliği anemisi öyküsü vardı. Kadın hastaların % 62,5'inde (15/24) anemi saptandı. Ragni ve ark tarafından tip 1 vWH olan 38 kadın hastanın katıldığı bir çalışmada 13 hastada (%48,1) anemi saptanmış ve bunların da %53'ü demir replasman tedavisi aldığı belirtilmiştir (6). Ayrıca yapılan bir çalışmada tip 1 vWH olan 42 erkek hastanın %12'sinde anemi saptanmıştır (117). Bu çalışmada da, özellikle tip 3 vWH olan hastalarda yüksek oranda demir eksikliği anemisi öyküsü saptanmıştır.

Von Willebrand hastalarının en sık görülen başvuru nedenleri dışı kanaması, burun kanaması ve kadınlarda menorajidir. Değişik merkezlerde kanama semptomlarının sıklığına dair yapılan farklı çalışmalar bulunmaktadır. İtalya'da yapılan tip 1 vWH, tip 2 vWH ve tip 3 vWH olan hastaların katıldığı bir çalışmada tüm alt tiplerde en sık görülen semptomun burun kanaması olduğu izlenmiştir (119,120). İran' da tip 3 vWH olan hastalar ile yapılan bir çalışmada da en sık görülen semptomların sırasıyla burun kanaması, dış çekimi sonrası kanama ve menoraji olduğu izlenmiştir (101). İskandinavya'da ise vWH olan

hastalarda en sık görülen kanama semptomları epistaksis ve menoraji olarak rapor edilmiştir (119-121). Türkiye’de yapılan bir çalışma sonucunda ise hastalarda en sık görülen semptomlar sırasıyla burun kanaması ve menoraji olarak izlenmiştir (122). Bu çalışmada, hastaların başvurma nedenleri arasında 33 hastanın 10’unda (% 30,3) dişeti kanaması ilk sırada yer almaktaydı. Bunu takiben 9 hasta (% 23,7 ) burun kanaması ile başvurmuştu. Hastaların sorgulaması sırasında en sık görülen kanama semptomu ise % 92.1 ile kolay morarma, bunu sırasıyla % 65.8 ile burun kanaması ve %60,5 ile dişeti kanaması izlemekte idi. Sadece kadın hastalar değerlendirildiğinde, ikinci en sık görülen semptom %83,3 ile menoraji idi. Amerika’da vWH olan 38 kadın hastanın dahil edildiği bir çalışmada menorajinin %93,1 ile kadınlarda en sık görülen semptom, ayrıca kadın hastalarda en sık başvuru nedeni (%53,1) olduğu saptanmıştır (6). Dolayısı ile menoraji şikayeti ile başvuran hastaların, vWH açısından değerlendirilmesi yararlı olacaktır.

vWH tanısını koymakta kullanılan tarama testlerinden bir tanesi kanama zamanı ölçümüdür. Ön koldan ölçülen cilt kanama zamanı, trombositopenilerde, trombosit fonksiyon bozukluklarında ve von Willebrand hastalığı'nda uzun olarak bulunur. Ancak bu testin tecrübeli kişiler tarafından, standart yöntem kullanılarak yapılması gereklidir. Son yıllarda primer hemostazın gerçekleştiği koşullarını taklit eden *platelet function analyzer* adlı cihaz ile in vitro kanama zamanı ölçümü mümkün olmaktadır. PFA-100 cihazı template kanama zamanındaki teknik hataları içermediği gibi, daha hızlı, objektif ve invaziv olmayan bir şekilde trombosit fonksiyon bozukluklarını ve von Willebrand hastalığını saptayabilmektedir. Bazı klinik çalışmalarda, template kanama zamanına göre daha duyarlı olduğu ve trombositopenik hastalarda kanama riskini belirlemede etkili olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada toplam 17 hastada PFA-100 cihazı ile in vitro kanama zamanı çalışılmıştır. Bu hastaların %94,1’inde CAPP düzeyinin 114 saniyenin üzerinde olduğu gözlemlendi. CEPİ düzeyleri çalışılan tüm hastalarda, CEPİ düzeyinin 150 saniyenin üzerinde olduğu gözlemlendi. Template yöntemi ile 19 hastada cilt kanama zamanı bakılmıştı ve bunların % 84,3’ünde kanama zamanının uzamış (>8 dakika) olduğu gözlemlendi. Çalışmaya dahil edilen hastaların laboratuvar

incelemeleri değerlendirildiğinde PFA-100 cihazı ile yapılan invitro kanama zamanının cilt kanama zamanından daha sensitif olduğu gözlemlendi. vWH'nda tarama testi olarak PFA-100 cihazı ile invitro kanama zamanı ölçümünün etkili bir yöntem olduğu ile ilgili çalışmalar mevcut (58,59,123). Ayrıca Quiroga ve ark (9), Nitu-Whalley ve ark (10) tarafından yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Von Willebrand hastalarında kanama epizodlarının tedavisi alt tiplere göre farklılık göstermektedir. Tip 1 ve bazı tip 2 vWH alt tiplerinde, plazma ürünlerinin yan etkilerini içermeyen bir tedavi seçeneği olan Desmopressin kullanılmaktadır. Tedavide kullanılmadan önce, hastaların bu ilaca olan yanıtlarının test yapılarak değerlendirilmesi gerekir. Federici ve ark tarafından tip 1 ve tip 2 vWH olan 66 hasta ile yapılan bir çalışmada, tip 1 vWH'nda Desmopressin testine yanıt % 27 (7/26) iken, tip 2 vWH'nda yanıt %18 (7/40) olduğu saptanmıştır (85). Bu çalışmada ise, desmopressin testi yapılan 9 hastanın teste olan yanıtları değerlendirildiğinde tip 1 vWH olan 5 hastanın hepsinde pozitif yanıt alınırken, tip 3 vWH tanısı olan 3 hastada yanıt alınamamış, tip 2 vWH tanısı olan 1 hastada ise olumlu yanıt elde edilmiştir. Beklenildiği üzere tip 1 vWH olan hastalarda Desmopressin testine iyi yanıt elde edilmiştir, dolayısıyla bu hastalarda kanama kontrolünde ve kanamanın önlenmesinde iyi bir tedavi seçeneğidir.

vWH'nın alt tiplerinin kanama sıklığı birbirinden farklıdır. İtalya'da yapılan prospektif bir çalışmada, bir yıllık izlemde vWH olan hastaların %18'inde kanama epizodu izlenmiş ve en sık tip 3 vWH alt tipinde (%57.7) kanama olayı gerçekleştiği rapor edilmiştir (4). Sumner ve ark tarafından tip 3 vWH olan 79 hasta ile yapılan bir çalışmada hasta başına ortalama yıllık yaşamı tehdit etmeyen kanama sayısı 9,2 iken, yaşamı tehdit eden ortalama kanama sayısı 0,7 olarak belirtilmiştir (54). Bizim çalışmamızda, vWH alt tiplerinin kanama şiddeti açısından yapılan değerlendirilmesinde, iki ve üzerinde ciddi kanama epizod sayısı tip 3 vWH olanların % 54,5'ünde, tip 1 vWH olanların %12,5'inde ve tip 2 vWH olanların %20'sinde izlendi. Tip 2B vWH olan hastaların hiçbirinde iki ve üzerinde ciddi kanama epizodu saptanmadı. tip 3 vWH

olanların kan transfüzyonu, faktör ve plazma replasmanı alma oranlarının da benzer şekilde diğer alt tiplerden yüksek olduğu gözlemlendi.

Bu çalışma sonucunda Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Erişkin Hematoloji bölümüne mukokütanöz kanama şikayeti ile başvuran hastalarda en sık rastlanan kalıtsal kanama bozukluğunun vWH olduğu saptandı. Bu hasta grubunun üçte birini, klinik olarak en ağır seyreden alt tip olan tip 3 von Willebrand hastaları oluşturuyordu. Buna rağmen hastaların ortalama tanı alma yaşları literatüre göre daha geç bulundu. Hastaların başvuru nedenleri arasında dişeti ve burun kanaması, kadınlarda menoraaji yüksek oranda gözlemlendi. Ciddi kanama epizodu sayısı, kan ve plazma ürünü transfüzyon oranı en fazla tip 3 vWH olgularında izlendi. vWH en sık görülen kalıtsal kanama diyatezi olması nedeni ile kanama semptomları ile başvuran hastalarda ayrıca tanıda akılda tutulmalı ve konu ile ilgili hekimlerin bilgi düzeyleri saptanarak gerekirse bilgi düzeylerinin artırılmasına yönelik çalışmalar yapılması gerekmektedir.

## VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışma sonunda özetle aşağıdaki bilgiler elde edilmiştir.

1) Hacettepe Üniversitesi İç hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Ünitesi'ne mukokütanöz kanama ile başvuran veya refere edilen 617 hastanın yapılan trombosit agregasyon testleri konjenital trombosit fonksiyon bozukluğu açısından değerlendirildiğinde; bu hastaların 68'inde (% 11) vWH ile uyumlu sonuç elde edilmiştir.

2) Çalışmaya alınan 33 vWH olan hastanın yapılan alt tiplendirmesi sonucu 11 hasta (%33,3 ) tip 3 vWH, 8 hasta ( %24,2 ) tip 1 vWH , 5 hasta tip 2 vWH, 3 hasta tip 2B vWH olarak değerlendirildi. Altı hastada veri eksikliği nedeni ile alt tanı belirlenememiştir. Bu hastaların alt tiplendirilmesinin tamamlanması için eksik olan verilerin tamamlanması gerekmektedir. Ayrıca tip 2 vWH olan hastaların alt tiplendirilmesi için ileri tetkikler (vWF multimer analizi, vWF-FVIII bağlanma aktivitesi gibi) yapılması önerilmelidir.

3) Hastaların çoğunda kanama semptomları yaşamlarının ilk 5 yılı içinde ortaya çıkmasına rağmen, ortalama tanı yaşları 17,6 yıl olduğu saptandı. Bu da hastaların tanısının konmasında gecikme olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle kanama şikayeti ile gelen hastaların vWH açısından değerlendirilmesi gerekir.

4) Kadın hastalarda ikinci en sık görülen semptom menoraji idi. Bu nedenle menoraji şikayeti ile başvuran hastaların jinekolojik nedenler ekarte edildikten sonra sistemik kanama eğilimi ve özellikle vWH açısından klinik ve laboratuvar bulguları ile değerlendirilmesi önerilir.

5) PFA-100 cihazı ile çalışılan in vitro kanama zamanı testi, cilt kanama zamanına göre, vWH'nı saptamada daha sensitif bir testtir.

6) Hastalık alt tipleri karşılaştırıldığında ciddi kanama epizodu sıklığı açısından en ağır formunun tip 3 vWH olduğu görüldü. Buna bağlı olarak en fazla kan transfüzyonu, plazma ve faktör replasmanı yapılan alt tip yine tip 3 vWH idi. Bu hastalarda, kanama bulgularının ağır olması ve sık kan ve plazma transfüzyonu ihtiyacı olması nedeni ile gelecekte farklı tedavi yöntemlerinin,

Özellikle gen tedavisi gibi tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi, morbidite ve mortalitelerinin azaltılmasında faydalı olacaktır.



## VII. KAYNAKLAR

1. Levine SP, Qualitative Disorders of Platelet Function, Wintrobe's Clinical Hematology, (Ed. Greer JP, Rodgers GM, Foerster J, Paraskevas F, Lukens JN, Glader B), 11. Baskı, Lippincott Williams 2004, s.1603-1618.
2. Ginsburg G, Von Willebrand disease, Williams Hematology, (ed. Ernest Beutler, Marshall A. Lichtman, Barry S Coller, Thomas J. Kipps, Uri Seligsohn) 6. Baskı, MC Graw-Hill 2001, s.1813-1828).
3. Sadler EJ, Blinder M. Von Willebrand Disease: Diagnosis, Classification, and Treatment. Thrombosis and Haemostasis (Ed. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN) 4. Baskı, Lippincott Williams 2001,s.825-837
4. Federici AB. Clinical diagnosis of von Willebrand disease. Hemophilia 2004;10,(Suppl 4), s. 169-176
5. Mannucci PM. Treatment of von Willebrand's Disease. N Engl J Med 2004;351:683-694.
6. Ragni MV, Bontempo,FA, Hassett,AC. von Willebrand disease and bleeding in women. Haemophilia 1999;5:313-317.
7. Favaloro EJ, Lillicrap,D, Lazzari,MA, Cattaneo,M, Mazurier,C, Woods,A, Meschengieser,S, Blanco,A, Kempfer,AC, Hubbard,A, Chang,A. von Willebrand disease: laboratory aspects of diagnosis and treatment. Haemophilia 2004;10 Suppl 4:164-168.
8. 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;10:232-242.
9. 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;2:892-898.

10. Nitu-Whalley IC, Lee,CA, Brown,SA, Riddell,A, Hermans,C. The role of the platelet function analyser (PFA-100) in the characterization of patients with von Willebrand's disease and its relationships with von Willebrand factor and the ABO blood group. *Haemophilia* 2003;9:298-302.
11. Buyukasik Y, Karakus,S, Goker,H, Haznedaroglu,IC, Ozatli,D, Sayinalp,N, Ozcebe,OI, Dundar,SV, Kirazli,S. Rational use of the PFA-100 device for screening of platelet function disorders and von Willebrand disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002;13:349-353.
12. Favalaro 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;10:232-242.
13. Favalaro EJ, Kershaw,G, Bukuya,M, Hertzberg,M, Koutts,J. Laboratory diagnosis of von Willebrand disorder (vWD) and monitoring of DDAVP therapy: efficacy of the PFA-100 and vWF:CBA as combined diagnostic strategies. *Haemophilia* 2001;7:180-189.
14. Dahlback B. Blood coagulation. *Lancet* 2000;355:1627-1632.
15. Buller HR, Ten Cate,T. Coagulation and platelet activation pathways. A review of the key components and the way in which these can be manipulated. *Eur Heart J* 1995;16 Suppl L:8-10.
16. Marder VJ, Rosove,MH, Minning,DM. Foundation and sites of action of antithrombotic agents. *Best Pract Res Clin Haematol* 2004;17:3-22.
17. Calverly DC, Maness LJ. Platelet Function in Hemostasis and Thrombosis
18. Calverly DC, Maness LJ. Platelet Function in Hemostasis and Thrombosis, Wintrobe's Clinical Hematology, (Ed. Greer JP, Rodgers GM,

- Foerster J, Paraskevas F, Lukens JN, Glader B), 11. Baskı, Lippincott Williams 2004, s.651-675
19. Jackson CM, Nemerson Y. Blood coagulation. *Annu Rev Biochem* 1980;49:765-811.
  20. Brummel-Ziedins K, Orfeo T, Jenny NS et al. Blood Coagulation and Fibrinolysis
  21. Nemerson Y. Tissue factor and hemostasis. *Blood* 1988;71:1-8.
  22. Nakagaki T, Foster DC, Berkner KL, Kisiel W. Initiation of the extrinsic pathway of blood coagulation: evidence for the tissue factor dependent autoactivation of human coagulation factor VII. *Biochemistry* 1991;30:10819-10824.
  23. Kalafatis M, Swords NA, Rand MD, Mann KG. Membrane-dependent reactions in blood coagulation: role of the vitamin K-dependent enzyme complexes. *Biochim Biophys Acta* 1994;1227:113-129.
  24. Fenton JW. Regulation of thrombin generation and functions. *Semin Thromb Hemost* 1988;14:234-240.
  25. Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 1989;264:4743-4746.
  26. Kalafatis M, Rand MD, Mann KG. The mechanism of inactivation of human factor V and human factor Va by activated protein C. *J Biol Chem* 1994;269:31869-31880.
  27. Rapaport SI. The extrinsic pathway inhibitor: a regulator of tissue factor-dependent blood coagulation. *Thromb Haemost* 1991;66:6-15.
  28. Olson ST, Bjork I, Shore JD. Kinetic characterization of heparin-catalyzed and uncatalyzed inhibition of blood coagulation proteinases by antithrombin. *Methods Enzymol* 1993;222:525-559.

29. Rodgers MD, Diagnostic approach to the bleeding disorders Wintrobe's Clinical Hematology, (Ed. Greer JP, Rodgers GM, Foerster J, Paraskevas F, Lukens JN, Glader B), 11. Baskı, Lippincott Williams 2004, s.1511-1532
30. Frojmovic MM, Milton,JG, Caen,JP, Tobelem,G. Platelets from "giant platelet syndrome (BSS)" are discocytes and normal sized. J Lab Clin Med 1978;91:109-116.
31. Poulsen LO, Taaning,E. Variation in surface platelet glycoprotein Ib expression in Bernard-Soulier syndrome. Haemostasis 1990;20:155-161.
32. Lopez JA, Andrews,RK, Afshar-Kharghan,V, Berndt,MC. Bernard-Soulier syndrome. Blood 1998;91:4397-4418.
33. Greinacher A, Potzsch,B, Kiefel,V, White,JG, Muller-Berghaus,G, Mueller-Eckhardt,C. Evidence that DDAVP transiently improves hemostasis in Bernard-Soulier syndrome independent of von Willebrand-factor. Ann Hematol 1993;67:149-150.
34. Markovitch O, Ellis,M, Holzinger,M, Goldberger,S, Beyth,Y. Severe juvenile vaginal bleeding due to Glanzmann's thrombasthenia: case report and review of the literature. Am J Hematol 1998;57:225-227.
35. George JN, Caen,JP, Nurden,AT. Glanzmann's thrombasthenia: the spectrum of clinical disease. Blood 1990;75:1383-1395.
36. Awidi AS. Delivery of infants with Glanzmann thrombasthenia and subsequent blood transfusion requirements: a follow-up of 39 patients. Am J Hematol 1992;40:1-4.
37. Poon MC, d'Oiron,R, Hann,I, Negrier,C, de Lumley,L, Thomas,A, Karafoulidou,A, Demers,C, Street,A, Huth-Kuhne,A, Petrini,P, Fressinaud,E, Morfini,M, Tengborn,L, Marques-Verdier,A, Musso,R, Devocioglu,O, Houston,DS, Lethagen,S, Van Geet,C, von Depka,M, Berger,C, Beurrier,P, Britton,HA, Gerrits,W, Guthner,C, Kuhle,S, Lorenzo,JJ, Makris,PE, Nohe,N,

- Paugy,P, Pautard,B, Torchet,MF, Trillot,N, Vicariot,M, Wilde,J, Winter,M, Chambost,H, Ingerslev,J, Peters,M, Strauss,G. Use of recombinant factor VIIa (NovoSeven) in patients with Glanzmann thrombasthenia. *Semin Hematol* 2001;38:21-25.
38. Wilcox DA, Olsen,JC, Ishizawa,L, Bray,PF, French,DL, Steeber,DA, Bell,WR, Griffith,M, White,GC. Megakaryocyte-targeted synthesis of the integrin beta(3)-subunit results in the phenotypic correction of Glanzmann thrombasthenia. *Blood* 2000;95:3645-3651.
39. Holmsen H, Setkowsky,CA, Lages,B, Day,HJ, Weiss,HJ, Scrutton,MC. Content and thrombin-induced release of acid hydrolases in gel-filtered platelets from patients with storage pool disease. *Blood* 1975;46:131-142.
40. Wall JE, Buijs-Wilts,M, Arnold,JT, Wang,W, White,MM, Jennings,LK, Jackson,CW. A flow cytometric assay using mepacrine for study of uptake and release of platelet dense granule contents. *Br J Haematol* 1995;89:380-385.
41. Nieuwenhuis HK, Akkerman,JW, Sixma,JJ. Patients with a prolonged bleeding time and normal aggregation tests may have storage pool deficiency: studies on one hundred six patients. *Blood* 1987;70:620-623.
42. Castaman G, Rodeghiero,F. Consistency of responses to separate desmopressin infusions in patients with storage pool disease and isolated prolonged bleeding time. *Thromb Res* 1993;69:407-412.
43. Gitschier J, Wood,WI, Goralka,TM, Wion,KL, Chen,EY, Eaton,DH, Vehar,GA, Capon,DJ, Lawn,RM. Characterization of the human factor VIII gene. 1984. *Biotechnology* 1992;24:288-292.
44. Baumgartner HR, Tschopp,TB, Meyer,D. Shear rate dependent inhibition of platelet adhesion and aggregation on collagenous surfaces by antibodies to human factor VIII/von Willebrand factor. *Br J Haematol* 1980;44:127-139.

45. Sadler JE, Shelton-Inloes, BB, Sorace, JM, Titani, K. Cloning of cDNA and genomic DNA for human von Willebrand factor. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1986;51 Pt 1:515-523.
46. Furlan M, Robles, R, Lamie, B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood* 1996;87:4223-4234.
47. Orstavik 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;37:89-101.
48. 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;69:1691-1695.
49. 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;71:520-525.
50. 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;84:160-174.
51. Federici AB. Mild forms of von Willebrand disease: diagnosis and management. *Curr Hematol Rep* 2003;2:373-380.
52. 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;82:1456-1461.
53. Vidal F, Farssac, E, Altisent, C, Puig, L, Gallardo, D. Rapid hemophilia A molecular diagnosis by a simple DNA sequencing procedure: identification of 14 novel mutations. *Thromb Haemost* 2001;85:580-583.

54. 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;10:360-366.
55. Federici AB. Diagnosis of von Willebrand disease. *Haemophilia* 1998;4:654-660.
56. Hollestelle MJ, Thinner,T, Crain,K, Stiko,A, Kruijt,JK, van Berkel,TJ, Loskutoff,DJ, van Mourik,JA. Tissue distribution of factor VIII gene expression in vivo--a closer look. *Thromb Haemost* 2001;86:855-861.
57. Di Paola J, Federici,AB, Mannucci,PM, Canciani,MT, Kritzik,M, Kunicki,TJ, Nugent,D. Low platelet alpha2beta1 levels in type I von Willebrand disease correlate with impaired platelet function in a high shear stress system. *Blood* 1999;93:3578-3582.
58. 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;82:35-39.
59. Favaloro EJ, Facey,D, Henniker,A. Use of a novel platelet function analyzer (PFA-100) with high sensitivity to disturbances in von Willebrand factor to screen for von Willebrand's disease and other disorders. *Am J Hematol* 1999;62:165-174.
60. Blann AD, Daly,RJ, Amiral,J. The influence of age, gender and ABO blood group on soluble endothelial cell markers and adhesion molecules. *Br J Haematol* 1996;92:498-500.
61. Blann AD, Nitu-Whalley,IC, Lee,CA, Lip,GY. Inverse relationship between plasma von Willebrand factor and soluble P selectin in patients with type 1 but not type 2 von Willebrand disease. *Am J Hematol* 2002;69:135-137.

62. Favaloro EJ, Smith,J, Petinos,P, Hertzberg,M, Koutts,J. Laboratory testing for von Willebrand's disease: an assessment of current diagnostic practice and efficacy by means of a multi-laboratory survey. RCPA Quality Assurance Program (QAP) in Haematology Haemostasis Scientific Advisory Panel. *Thromb Haemost* 1999;82:1276-1282.
63. Rodeghiero F, Castaman,G, Tosoletto,A. von Willebrand factor antigen is less sensitive than ristocetin cofactor for the diagnosis of type I von Willebrand disease--results based on an epidemiological investigation. *Thromb Haemost* 1990;64:349-352.
64. 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;87:1013-1021.
65. Zimmerman TS, Ruggeri,ZM. von Willebrand disease. *Hum Pathol* 1987;18:140-152.
66. Hambleton J. Diagnosis and incidence of inherited von Willebrand disease. *Curr Opin Hematol* 2001;8:306-311.
67. Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem* 1998;67:395-424.
68. Hillery CA, Mancuso,DJ, Evan,SJ, Ponder,JW, Jozwiak,MA, Christopherson,PA, Cox,GJ, Paul,SJ, 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;91:1572-1581.
69. 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;57:163-169.

70. Agrawal YP, Dzik,W. The vWF content of factor VIII concentrates. *Transfusion* 2001;41:153-154.
71. Zimmerman TS, Ruggeri,ZM. Von Willebrand's disease. *Prog Hemost Thromb* 1982;6:203-236.
72. 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;69:177-184.
73. Federici AB, Mannucci,PM. Advances in the genetics and treatment of von Willebrand disease. *Curr Opin Pediatr* 2002;14:23-33.
74. Mazurier C. von Willebrand disease masquerading as haemophilia A. *Thromb Haemost* 1992;67:391-396.
75. Miller JL, Castella,A. Platelet-type von Willebrand's disease: characterization of a new bleeding disorder. *Blood* 1982;60:790-794.
76. Bryckaert MC, Pietu,G, Ruan,C, Tobelem,G, Girma,JP, Meyer,D, Larrieu,MJ, Caen,JP. Abnormality of glycoprotein Ib in two cases of "pseudo"-von Willebrand's disease. *J Lab Clin Med* 1985;106:393-400.
77. Larrieu MJ, Caen,JP, Meyer,DO, Vainer,H, Sultan,Y, Bernard,J. Congenital bleeding disorders with long bleeding time and normal platelet count. II. Von Willebrand's disease (report of thirty-seven patients). *Am J Med* 1968;45:354-372.
78. Biggs R. The treatment of patients with coagulation defects. General review. *Bibl Haematol* 1965;23:1289-1298.

79. 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;57:25-31.
80. Green D, Potter,EV. Failure of AHF concentration to control bleeding in von Willebrand's disease. *Am J Med* 1976;60:357-360.
81. 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;47:283-293.
82. 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;59:1272-1278.
83. 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;309:816-821.
84. 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;71:65-70.
85. Federici AB, Mazurier,C, Berntorp,E, Lee,CA, Scharrer,I, Goudemand,J, Lethagen,S, Nitu,I, Ludwig,G, Hilbert,L, Mannucci,PM. Biologic response to desmopressin in patients with severe type 1 and type 2 von Willebrand disease: results of a multicenter European study. *Blood* 2004;103:2032-2038.
86. Smith TJ, Gill,JC, Ambruso,DR, Hathaway,WE. Hyponatremia and seizures in young children given DDAVP. *Am J Hematol* 1989;31:199-202.
87. Moake JL, Turner,NA, Stathopoulos,NA, Nolasco,LH, Hellums,JD. Involvement of large plasma von Willebrand factor (vWF) multimers and

- unusually large vWF forms derived from endothelial cells in shear stress-induced platelet aggregation. *J Clin Invest* 1986;78:1456-1461.
88. Moake JL, Turner,NA, Stathopoulos,NA, Nolasco,L, Hellums,JD. Shear-induced platelet aggregation can be mediated by vWF released from platelets, as well as by exogenous large or unusually large vWF multimers, requires adenosine diphosphate, and is resistant to aspirin. *Blood* 1988;71:1366-1374.
  89. Perkins HA. Correction of the hemostatic defects in Von Willebrand's disease. *Blood* 1967;30:375-380.
  90. Thompson AR, Gill,JC, Ewenstein,BM, Mueller-Velten,G, Schwartz,BA. Successful treatment for patients with von Willebrand disease undergoing urgent surgery using factor VIII/VWF concentrate (Humate-P). *Haemophilia* 2004;10:42-51.
  91. Menache D, Aronson,DL, Darr,F, Montgomery,RR, Gill,JC, Kessler,CM, Lusher,JM, Phatak,PD, Shapiro,AD, Thompson,AR, White,GC. Pharmacokinetics of von Willebrand factor and factor VIIIc in patients with severe von Willebrand disease (type 3 VWD): estimation of the rate of factor VIIIc synthesis. Cooperative Study Groups. *Br J Haematol* 1996;94:740-745.
  92. 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.
  93. Mannucci PM, Chediak,J, Hanna,W, Byrnes,J, Ledford,M, Ewenstein,BM, Retzios,AD, Kapelan,BA, Schwartz,RS, Kessler,C. Treatment of von Willebrand disease with a high-purity factor VIII/von Willebrand factor concentrate: a prospective, multicenter study. *Blood* 2002;99:450-456.
  94. Gill JC, Ewenstein,BM, Thompson,AR, Mueller-Velten,G, Schwartz,BA. 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;9:688-695.
95. Mannucci PM. Venous thromboembolism in von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2002;88:378-379.
  96. 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;88:387-388.
  97. Ruggeri ZM, Mannucci,PM, Bader,R, Barbui,T. Factor VIII-related properties in platelets from patients with von Willebrand's disease. *J Lab Clin Med* 1978;91:132-140.
  98. Castillo R, Monteagudo,J, Escolar,G, Ordinas,A, Magallon,M, Martin,VJ. Hemostatic effect of normal platelet transfusion in severe von Willebrand disease patients. *Blood* 1991;77:1901-1905.
  99. Mannucci PM. Hemostatic drugs. *N Engl J Med* 1998;339:245-253.
  100. 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;74:784-790.
  101. 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;111:1236-1239.
  102. Kadir RA, Economides,DL, Sabin,CA, Owens,D, Lee,CA. Frequency of inherited bleeding disorders in women with menorrhagia. *Lancet* 1998;351:485-489.
  103. 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;97:630-636.

104. 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;5:40-48.
105. Chediak JR, Alban,GM, Maxey,B. von Willebrand's disease and pregnancy: management during delivery and outcome of offspring. *Am J Obstet Gynecol* 1986;155:618-624.
106. 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;105:314-321.
107. Bergamaschini L, Mannucci,PM, Federici,AB, Coppola,R, Guzzoni,S, Agostoni,A. Posttransfusion anaphylactic reactions in a patient with severe von Willebrand disease: role of complement and alloantibodies to von Willebrand factor. *J Lab Clin Med* 1995;125:348-355.
108. Boyer-Neumann C, Dreyfus,M, Wolf,M, Veyradier,A, Meyer,D. Multi-therapeutic approach to manage delivery in an alloimmunized patient with type 3 von Willebrand disease. *J Thromb Haemost* 2003;1:190-192.
109. Ciavarella N, Schiavoni,M, Valenzano,E, Mangini,F, Inchingolo,F. Use of recombinant factor VIIa (NovoSeven) in the treatment of two patients with type III von Willebrand's disease and an inhibitor against von Willebrand factor. *Haemostasis* 1996;26 Suppl 1:150-154.
110. Grossmann RE, Geisen,U, Schwender,S, Keller,F. Continuous infusion of recombinant factor VIIa (NovoSeven) in the treatment of a patient with type III von Willebrand's disease and alloantibodies against von Willebrand factor. *Thromb Haemost* 2000;83:633-634.
111. Schwarz HP, Turecek,PL, Pichler,L, Mitterer,A, Mundt,W, Dorner,F, Roussi,J, Drouet,L. Recombinant von Willebrand factor. *Thromb Haemost* 1997;78:571-576.

112. Turecek PL, Gritsch,H, Pichler,L, Auer,W, Fischer,B, Mitterer,A, Mundt,W, Schlokot,U, Dorner,F, Brinkman,HJ, van Mourik,JA, Schwarz,HP. In vivo characterization of recombinant von Willebrand factor in dogs with von Willebrand disease. *Blood* 1997;90:3555-3567.
113. Denis CV, Kwack,K, Saffaripour,S, Maganti,S, Andre,P, Schaub,RG, Wagner,DD. Interleukin 11 significantly increases plasma von Willebrand factor and factor VIII in wild type and von Willebrand disease mouse models. *Blood* 2001;97:465-472.
114. Olsen EH, McCain,AS, Merricks,EP, Fischer,TH, Dillon,IM, Raymer,RA, Bellinger,DA, Fahs,SA, Montgomery,RR, Keith,JC, Jr., Schaub,RG, Nichols,TC. Comparative response of plasma VWF in dogs to up-regulation of VWF mRNA by interleukin-11 versus Weibel-Palade body release by desmopressin (DDAVP). *Blood* 2003;102:436-441.
115. 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;10:232-242.
116. Vanhoorelbeke K, Cauwenberghs,N, Vandecasteele,G, Vauterin,S, Deckmyn,H. A Reliable von Willebrand factor: ristocetin cofactor enzyme-linked immunosorbent assay to differentiate between type 1 and type 2 von Willebrand disease. *Semin Thromb Hemost* 2002;28:161-166.
117. Ziv O, Ragni,MV. Bleeding manifestations in males with von Willebrand disease. *Haemophilia* 2004;10:162-168.
118. Ragni MV, Bontempo,FA, Hassett,AC. von Willebrand disease and bleeding in women. *Haemophilia* 1999;5:313-317.
119. 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;88:94-108.

120. Federici AB, Castaman,G, Mannucci,PM. Guidelines for the diagnosis and management of von Willebrand disease in Italy. *Haemophilia* 2002;8:607-621.
121. Silwer J. von Willebrand's disease in Sweden. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1973;238:1-159.
122. Gürsel T, Bumin C Ç, Özaltın S. von Willebrand hastalığının prevalansı. *Doğa Turk J Med Sci*, 1992;16:324
123. 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;91:1325-1331.