

T.C  
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
Prof. Dr. Sevgi Mir

VON WILLEBRAND HASTALIĞI TANISINDA VE  
TEDAVİ YANITININ DEĞERLENDİRİLMESİNDE  
İNVİTRO KANAMA ZAMANI ( PFA-100<sup>®</sup> ) TESTİNİN ÖNEMİ

Pediyatrik Hematoloji Yandal Uzmanlık Tezi  
Dr. Mehmet AKIN

Tez Yöneticisi:  
Prof. Dr. Kaan KAVAKLI

İzmir-2009

## ÖNSÖZ

Eğitim sürem boyunca yetişmemde emeği geçen Prof.Dr. Sevgi Mir ve tüm hocalarıma,

Başkanı olduğu klinikte bana Pediatrik Hematoloji yandal ihtisası yapma fırsatı tanıyan ve hoşgörüsü ile her zaman yanımda olduğunu hissettiren Prof. Dr. Kaan Kavaklı ve Prof. Dr. Aziz Polat'a,

Tavırlarıyla her konuda sürekli desteklerini gördüğüm Doç.Dr.Deniz Yılmaz Karapınar ve Doç.Dr.Can Balkan'a,

Berber çalıştığımız süre boyunca çalışmaktan zevk aldığım uzman ve asistan arkadaşlarıma,

Tezimde çok çok emeği geçen sevgili dostum Basri BİLENOĞLU'na, Şükrü ÇELEN, Raziye IŞIN, Emine GÖKÇE'ye,

Denizli – İzmir arası 26 ay boyunca sabırlarından dolayı eşim ve kızlarıma teşekkür ederim.

## **İÇİNDEKİLER:**

<b>Kısaltmalar .....</b>	<b>IV</b>
<b>Giriş.....</b>	<b>1</b>

## **BÖLÜM 1: GENEL BİLGİLER**

<b>Von Willebrand Hastalığı .....</b>	<b>3</b>
<b>Hastalığın tanımı .....</b>	<b>3</b>
<b>Yapısı ve İşlevi.....</b>	<b>3</b>
<b>Patofizyoloji ve Tiplendirme .....</b>	<b>7</b>
<b>Klinik ve Fenotipik Tanı .....</b>	<b>11</b>
<b>Laboratuvar testleri.....</b>	<b>12</b>
<b>PFA-100® Sistemi .....</b>	<b>14</b>
<b>Spesifik testler.....</b>	<b>15</b>
<b>Desmopressin uygulanımı.....</b>	<b>17</b>
<b>Ayırıcı Tanı.....</b>	<b>19</b>

## **BÖLÜM 2: ARAŞTIRMA**

<b>Amaç .....</b>	<b>20</b>
<b>Gereç ve Yöntem.....</b>	<b>21</b>
<b>Bulgular.....</b>	<b>26</b>
<b>Tartışma .....</b>	<b>40</b>
<b>Sonuçlar.....</b>	<b>45</b>
<b>Özet .....</b>	<b>46</b>
<b>Kaynaklar .....</b>	<b>50</b>
<b>Hastalara ait tüm laboratuvar sonuçları .....</b>	<b>59</b>

## **KISALTMALAR:**

**APTZ:** Aktive parsiyel tromboplastin zamanı

**PZ:** Protrombin zamanı

**KZ:** Kanama zamanı

**vWH:** Von Willebrand Hastalığı

**vWF:** Von Willebrand Faktör

**vWF:Ag:** Von Willebrand faktör antijeni

**vWF:Ricof:** Ristosetin-kofaktör aktivitesi

**PFA-100®:** İn-vitro kanama zamanını ölçen Trombosit fonksiyon analiz testi

**vWF:CB:** Von Willebrand faktör - kollajen bağlama kapasitesi

**RİPA:** Ristosetinin- oluşturduğu trombosit aggregasyonu

**Desmopressin:** ( Deamino-8-D-Arginin VasoPressin) (DDAVP)

## Giriş

Von Willebrand Hastalığı (vWH), en sık rastlanılan konjenital kanama bozukluğu olup, toplumdaki sıklığı %1 civarındadır. Hastalık, zedelenen damar duvarında trombositlerin adezyonunu sağlamak ile Faktör VIII'i taşımak ve korumak gibi iki önemli görevi olan Von Willebrand faktör (vWF)'ün, değişik miktardaki eksikliği ya da fonksiyon bozukluğu sonucu ortaya çıkar. vWH' nın klinik ve laboratuvar bulguları, altta yatan moleküler bozukluğun tipine bağlı olarak değişkenlik gösterir.

**Tip 1 vWH:** Tüm yapı ve fonksiyonları normal olan vWF'ün kısmi eksikliğine bağlı olup klinik olarak, hafif veya orta şiddette mukozal kanamalarla karakterizedir. Epistaksis ve menoraji tipiktir. Tüm hastaların %70'ini oluşturur ve çoğunlukla otozomal dominant geçer. Penetransı farklı ailelerde ve aynı aile içinde farklı olabilir.

**Tip 2 vWH:** Multimer dağılımına ve vWF'deki fonksiyon kaybına göre farklılık gösteren 4 alt tipi vardır: Tip 2A, 2B, 2M ve 2N. Yüksek molekül ağırlıklı multimerler Tip 2A ve 2B'de eksik, 2M ve 2N'de normaldir. GP1b'ye bağlanma fonksiyonu 2A ve 2M de azalmış, 2B'de artmış, 2N'de ise normaldir. Tip 2N vWF'ün FVIII'e bağlanma fonksiyonunda bozulma ile ortaya çıkar ve otozomal resesif geçer, klinik olarak hemofili belirtisi verir.

**Tip 3 vWH:** Ağır tip vWH olarak tanımlanır. vWF'ün tam eksikliği, ağır kanama eğilimi ve otozomal resesif kalıtımla karakterizedir.

vWH'da kanama deri ve mukozal yüzeylerde olur. Kanamanın tipi ve şiddeti alttaki moleküler bozukluğun tipine göre hafif-ağır arası değişir. En sık görülen semptomlar çocukluk çağında başlayıp genellikle adolesandan sonra azalan ve kaybolan burun kanamaları, derinin küçük travmalarla morarması ve dişeti ve tonsil kanaması ile menoraji ve postpartum kanamadır. Hemofiliye benzer eklem ve kas içi kanamaları ağır mukozal kanamalar Tip 3 vWH'da görülebilir.

vWH'nın tanısında, dikkatli bir öykü ile güvenilir bir laboratuvarda yapılacak bir seri laboratuvar testlerine gereksinim vardır. Hastanın kendisi ve aile bireylerinde

kanama semptomlarının varlığı şiddeti ve tipi ile hastalığın genetik geçiş Őeklinin belirlenmesini sağlayacak iyi bir aile öyküsü ve dikkatli fizik inceleme tanı için çok önemli ipuçları verir. Tanıda en sık kullanılan laboratuvar testleri vWF:RicoF, vWF:Ag, FVIII:C ve bazı merkezlerde mevcut olan İn-vitro kanama zamanı (PFA-100®) testi'dir. Daha spesifik test olarak RİPA, vWF multimerleri, vWF-FVIII bağlama kapasitesi ve genetik analiz'de kullanılabilir.

Tedavi yaklaşımı hastalığın tipine ve kanama yerine göre farklılık gösterir. Ağır vWH olgularındaki ciddi kanama epizodları için FVIII/vWF veya saf vWF konsantreleri kullanımı hem primer hem de sekonder hemostaz bozukluğunu düzeltir. Daha hafif vakalarda özellikle hafif ve orta Tip 1 vWH hastalarda ise DDAVP (Desmopressin) kullanılır.

Çalışma, dünyada birçok merkezin labaratuvarında kullanılan vWF:Ag, vWF:RicoF, FVIII:C gibi temel tanısal testlerin yanısıra ve daha az sayıda merkezde kullanılan in-vitro kanama zamanı (PFA-100® testi) ile merkezimizde takip ve tedavi edilen vWH'larının tiplendirmesini yapmak ve tedavide kullanılan DDAVP (Desmopressin) ve FVIII/vWF konsantrelerine karşı bu testlerin yanıtlarını değerlendirmek amacıyla planlandı.

## **Genel Bilgiler**

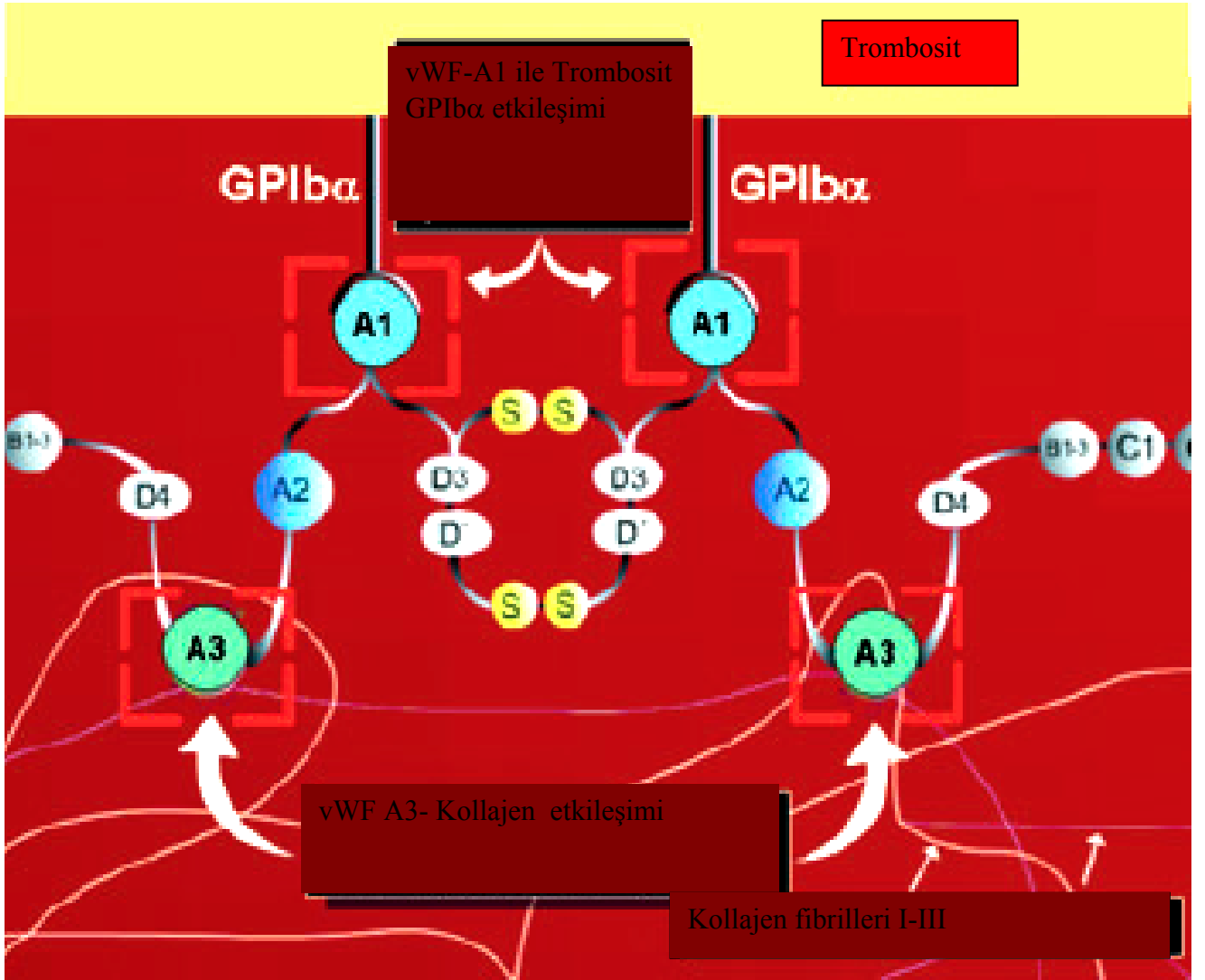
Von Willebrand Hastalığı (vWH), von Willebrand faktörün (vWF) eksikliği veya fonksiyon bozukluğu sonucu oluşan, otozomal geçişli kalıtsal bir kanama hastalığıdır. vWF, trombositlerin hasarlı damarın subendotelial bölgesine adezyonunu ve faktör VIII'in stabilizasyonunu sağlayan bir proteindir (1,2). vWH' da yara yerinde trombosit tıkaçı yeterince oluşamadığından, deride ve mukozal yüzeylerde minor travmalar kanamalara sebep olur. vWH'nın, vWF molekülündeki bozukluğun tipine göre değişen klinik ve laboratuvar özelliklerine sahip olan ve genetik geçişi birbirinden farklılık gösteren çok sayıda tipi ve subtipleri vardır. Bu farklı tiplerinin birbirinden ayırt edilmesi genetik danışma ve farklı tedavi gereksinimi yönünden önemlidir (3).

## **Sıklık**

vWH en sık görülen kalıtsal kanama diyatezidir. Toplum taraması ile elde edilen insidans rakamları %1-2 dolayındadır. Bu şekilde saptanılan olguların ancak %10'unda kanama semptomu bulunmaktadır. Buna karşılık, kanama semptomu ile sağlık kuruluşlarına başvuran hastaların sıklığı 35-100/ milyon arasında olup bazı İskandinav ülkelerinde 200/ milyona kadar çıkar. Hastalığın ağır kanama eğilimi ile karakterize tipinin sıklığı 1-5: milyon olarak hesaplanmaktadır (4,5).

## **vWF yapısı ve işlevleri**

vWF düz bir polipeptid olarak endotel hücresi ve megakaryositte sentezlenir. Molekülün primer yapısı Şekil 1'de görüldüğü gibi birbirlerini izleyen D, A, B ve C bölgelerinden oluşur. Her bölgenin farklı bağlanma fonksiyonları vardır:



Şekil 1: Von Willebrand Faktörün kollajen ve trombosit bağlama alanı

D' bölgesi FVIII'i, kollajeni ve heparini, A1 bölgesi trombosit membranındaki GPIb reseptörünü, kollajen ve heparini, A3 bölgesi kollajeni, C1 bölgesi ise trombosit agregasyon reseptörü olan  $GIIb\beta 3$ 'ü bağlar (6,7). vWF molekülü sentez edildikten sonra sonra hücre içinde bir seri kısaltılma ve glikozilasyon aşamaları geçirdikten sonra önce dimer, daha sonra dimerlerin birleşmesi ile multimerler oluşturur. Endotelde sentezlenen vWF multimerleri endotel altı dokuya ve kana geçer ayrıca endotel hücrelerinde gereksinim halinde salgılanmak üzere depolanır. Megakaryositlerde sentezlenen vWF ün ikinci depo alanı trombosit alfa- granülleridir. Kandaki mevcut total vWF ün %20 sini oluşturur (8).

vWF dolaşımında molekül ağırlıkları 10.000kD'a kadar çıkabilen farklı büyüklükte multimerler şeklinde bulunur. Molekülün multimerik yapısı hemostatik fonksiyonu bakımından çok önemlidir; molekül ağırlığı en yüksek multimerler, hemostatik olarak en etkin olanlardır. Yüksek molekül ağırlıklı multimerlerin kaybı veya normal multimerik yapının bozulması hemostatik fonksiyonun da azalmasına veya kaybına yol açar. Büyük multimerler dolaşımında özgül proteazlar tarafından parçalanarak küçültülür. Proteazların kırma yerindeki aminoasit değişiklikleri proteaza duyarlılığı artırabilir ve büyük multimerlerin kolayca parçalanarak dolaşımdan kaybolması Tip 2A vWH'na neden olur (9,10). vWF multimerlerini parçalayan proteazın (ADAMTS-13) edinsel eksikliği sonucu dolaşımında en büyük multimerlerin birikmesine sebep olarak trombotik trombositopenik purpuraya neden olur (11).

vWF hasarlanan damarın endotel altı dokusundaki kollajene ve trombositlerin GPIb reseptörüne bağlanarak damar duvarına trombositlerin yapışmasını (adezyon) sağlar. Ayrıca, arteriollerde olduğu gibi "shear stress" oranı yüksek olan damarlarda vWF trombosit agregasyonu yaptırır. Damar yaralanmasını izleyen normal

hemostatik yanıtta, bir taraftan koagülasyon aktive olup fibrin oluşmaya başlarken, diğer taraftan yara yerinde vWF aracılığı ile platelet adezyon ve agregasyonu olur. vWF'ün bu hemostatik işlevi multimerlerin büyüklüğü ile bağlantılıdır; büyük multimerler hemostatik etkinliği en fazla olanlardır; bunlardaki azalma adezyon ve agregasyonun azalmasına yol açar ve vWF düzeyi normal olsa bile etkin bir hemostatik yanıt oluşmaz.

Bu nedenle vWH da tipik olarak küçük çaplı damarların bulunduğu mukozal yüzeylerde ve deride uzun süreli kanamalar görülür. vWF'ün FVIII:C bağlaması, multimerik yapıya bağlı değildir. vWF, FVIII:C i bağlayarak inaktivasyondan korur. Bu şekilde FVIII:C'in plazmadaki yarı ömrü 12 saate kadar uzatılmış olur. vWF yoksa FVIII:C' in yarı ömrü 2 saate iner (12,13). Bu nedenle Tip 3 vWH'da FVIII düzeyi hemofili-A'daki kadar düşük bulunur.

## **Patofizyoloji ve Tiplendirme**

Von Willebrand hastalarının teşhis ve doğru tedavisi için spesifik subgruplarının tanımlanması gerekmektedir. vWH alttaki moleküler bozukluğa göre;

Tip 1 vWH, Tip-2 vWH ve Tip-3 vWH olmak üzere 3 ana tipte sınıflandırılır.

TİP 2 vWH nın ise 4 alt tipi vardır (14).

Tip 1 vWH : Normal vWF'ün kısmi yokluğu

Tip 3 vWH : Normal vWF' ün tam yokluğu

Tip 2 vWH: vWF' ün yapısal anormalliklerine bağlı ( kalitatif ) bozuklukları;

Tip 2A: Gplb'ye bağlanma azalmış, büyük multimerler eksik

Tip 2B: Gplb'ye bağlanma artmış, büyük multimerler eksik

Tip 2M: Gplb'ye bağlanma azalmış, multimerik yapı normal

Tip 2N: FVIII'e bağlama azalmış, multimerik yapı normal.

### **Tip 1 vWH:**

En sık rastlanan vWH formudur. Tüm olguların % 60-80'ini oluşturan tip 1 vWH otozomal dominant kalıtımla geçer. Klinik olarak hafif veya orta şiddette kanama semptomları ile kendini gösterir.

vWF:Ag, vWF:RicoF, FVIII:C düzeyi birbiriyle orantılı olarak düşük, kanama zamanı, in vitro kanama zamanı testi (PFA-100) normal veya hafif uzamış, multimerik yapısı ise normaldir. Kesin teşhis için genetik geçiş, kanama hikayesi ve düşük vWF düzeyi olmalıdır. Genetik defektler tam olarak aydınlatılamamış olmakla beraber, bilinen mutasyonların bazıları vWF'in endotel hücresi içinde retansiyonuna neden olmakta, bazıları multimer oluşumunu engellemekte veya molekülün dolaşımdaki yarı ömrünü kısaltmaktadır. Hastaların çoğunda DDAVP ye tam yanıt vardır (15,16).

## **Tip 2A:**

Tüm Tip 2 vWH %15-30 oranında olup ve en sık görüleni Tip 2A subtipidir. Dominant kalıtımla geçer. Mutasyonlar yanlış aminoasit şifreleme (missense) tipinde olup çoğu molekülün proteazla kırılma yerinin bulunduğu A2 bölgesinde yer alır (Şekil 1). Tip 2A vakalarında 2 çeşit defekt bulunmaktadır.

Birincisi plazma ve trombositlerdeki büyük vWF multimerlerinin intrasellüler depo ve sekresyonundaki defekt, ikincisi kesme yerinde aminoasit değişikliği sonucu ADAMTS13 enzimine karşı aşırı duyarlılık. Laboratuvar bulguları vWF:Ag ve FVIII:C aktivitesi normal veya hafif azalmış, vWF:Ricof da belirgin azalma, tipik olarak büyük molekül ağırlıklı multimerlerde kayıp ve buna bağlı GPIb' ye bağlanma fonksiyonunda azalma şeklinde karşımıza çıkar. Klinik olarak orta veya ağır şiddette kanamalarla kendini gösterir. DDAVP' ye yanıt düşüktür (17,18).

## **Tip 2B**

Genetik mutasyon vWF molekülünün GPIb' ye bağlanma yerinde (A1 bölgesi) yapısal değişim sonucu vWF dolaşımdaki trombositlere herhangi bir uyarı olmadan kendiliğinden bağlanır ve in vivo trombosit agregatları oluşur. Trombosit- büyük multimer kompleksleri fagosite edilip dolaşımdan uzaklaştırıldığı için hafif trombositopeni ve büyük multimerlerde azalma görülür. Trombositopeni kalıcı veya intermittan olabilir. Laboratuvar bulgularında vWF:Ag ve FVIII:C aktivitelerinde normal veya hafif azalma, vWF: Ricof belirgin azalma ve RİPA artışı izlenir (19). Hastalarda orta – ağır düzeyde kanama semptomları vardır. Klinik ve laboratuvar olarak buna benzer bir diğer hastalık trombsit- GPIb reseptöründeki bozukluk nedeniyle normal vWF'e bağlanmasının arttığı psödo vWH'dır.

Hastanın trombositlerinin normal plazma ile karıştırıldığında RİPA'nın düzelmesi tip 2B'ye işaret eder. Bu basit yöntem ikisi arasında ayırım yapılmasını sağlayabilecek basit bir yöntemdir (14).

**Tip 2M:**

vWF'nin trombosit veya endotel altı dokuya bağlanması azalmıştır. Büyük multimerlerik yapı normaldir. Klinik ve laboratuvar olarak tip 2A'ya benzer ancak multimer analizi ile ayırt edilebilir. Multimer analizinde bantlarda migrasyon anomalisi veya çok büyük multimerlerde artış (Vicenza tipi) gösteren alt tipleri de tanımlanmıştır. vWH molekülünün A1 bölgesinin C terminali tarafında missense mutasyonlar, nadir olarak gen delesyonu bildirilmiştir (20).

**Tip 2N:**

vWF'in FVIII:C'e bağlanmasında azalma ile karakterize otozomal resesif tipdir. Bu olgularda vWF'in FVIII:C bağlanma bölgesi olan D' - D3 bölgesinde missense mutasyonlar saptanır. vWF:Ag ve vWF:RicoF düzeyleri ile multimer yapı normal, FVIII:C düzeyi ise homozigotlarda hafif veya orta hemofilideki gibi düşüktür (%10-20 arası). FVIII:vWF oranı <0.7'dir. vWF'in GPIb'ye bağlanmasında bozukluk olmadığından, mukozal kanamalar görülmekle birlikte hemofilideki gibi eklem kas içi kanamaları ön planda görülür. Aile içinde hem kız hem erkek çocuklarda hemofili tablosu bulunması ile dikkat çeker. Kesin tanı için, hastanın vWF'nin FVIII bağlama aktivitesinde azalmanın gösterilmesi gereklidir (21).

### **Tip 3 (ağır) vWH:**

vWH'lı olguların %5-10 oranını kapsar. Otozomal resesif geçiş gösterir. Trombosit ve plazmada vWF düzeyi lulemeyecek kadar düşük (<1 U/dl), FVIII:C düzeyi %1-5 arasında olup, in vitro kanama zamanı (PFA-100) aşırı uzun bulunur. Klinik olarak şiddetli mukozal kanama ile beraber ağır hemofili hastalarındaki gibi hematom ve hemartroz bulguları görülür. Heterozigotlarda vWF düzeyi normal veya normalin alt sınırında olup klinik genellikle asemptomatiktir. Semptomlu tip 3 vWH taşıyıcılarının tip 1 vWH'den ayırđedilmeleri ancak aile taraması ile yapılabilir.

Tip 3 vWH olgularının çok azında total veya parsiyel gen delesyonları gösterilmiştir. Bunun dışında vWF mRNA ekspresyonuna engel olan veya protein sentezini erken sonlandıran baz eklenmeleri, yapışma yeri ve kalıp kayması mutasyonları tanımlanmıştır. Nadiren missens mutasyonlar için homozigot veya birleşik heterozigot olabilirler (22,23).

## KLİNİK VE FENOTİPİK TANI

vWH'nın teşhisi 2 basamaktan oluşur.

1. vWH için riskli hastaların saptanması ve tarama testlerinin sonuçları
2. Tip ve subtip tayini (ileri aşama)

### **Klinik hikaye:**

Ailede mukokutanöz ve postoperatif kanama hikayesi genellikle mevcuttur. En sık görülen semptom burun kanaması, deride kolay morarma, diş çekimi sonrası kanama ve menoraji'dir. Kanamanın şiddeti hastalığın tipine ve şiddetine göre değişmektedir. Tip 1 ve Tip 2 hastalarda kanama eğilimi hafif veya yoktur. Tip 3 vWH'da ise ciddi mukozal kanamalara ek olarak hemofilide olduğu gibi eklem ve kas içi kanamaları da görülebilir. Bazı hastalarda gastrointestinal sistemde gelişen anjiodisplazi nedeni ile yaşamı tehdit eden ve faktör tedavisi ile durdurulamayan GİS kanamaları görülebilir.

Çocuklarda burun kanaması, kanama eğilimi dışındaki pek çok sebebe de bağlıdır. Alerjik rinitli vWH'lı çocuklarda, polen mevsiminde alevlenen rinitte, nazal konjesyon nedeni ile kanamalar sıklaşır. Kısa süre bası ile durdurulamayan veya tıbbi müdahale gerektiren burun kanamaları patolojik kabul edilmeli ve incelenmelidir (24). Kanama semptomlarının düşük spesivitesi nedeniyle teşhis için laboratuvar sonuçları dikkate alınmalıdır.

## **Laboratuvar Testleri**

### **Genel koagulasyon tarama testleri**

Trombosit sayısı, kanama zamanı testi, APTZ, Protrombin zamanı, fibrinojen

Son iki test diğer koagulasyon defektlerini ekarte etmek için bakılmaktadır.

### **Doğrulayıcı testler**

**Faktör VIII aktivitesi:** vWH Tip 2N için azalmış düzey tipik iken diğer tipler için indirekt bir yöntemdir.

**vWF antigen (vWF:Ag):** Bu test teşhis için gereklidir ve vWH larının %80 den fazlasında azalmıştır. Stress durumlarında hafif Tip 1 hastalarında artarak normal düzeye ulaşarak tanı sorunu yaratabilir.

### **Ristosetin-kofaktör aktivitesi (vWF:RicoF):**

vWF ün ristosetinli ortamda GPIb/IX bağlanma kapasitesini ölçer. vWF'ün adheziv fonksiyonlarını ölçmede yaygın biçimde kullanılmaktadır. vWF:RicoF un diagnostik gücü vWF:Ag ile aynıdır. vWH nın hafif formlarında vWF:Ag den daha kolay tesbit edilir. Özellikle Tip 2A,Tip 2B ve Tip 2M li hastaların karakteristik özelliği vWF:Ag düzeyinin vWF:RicoF'a göre çok yüksek olmasıdır (25,26).

### **İn-vitro Kanama zamanı:**

Klasik kanama zamanı testi (Ivy testi) duyarlılığının ve özgüllüğünün az olması nedeni ile son yıllarda büyük ölçüde terk edilmiştir. Bunun yerine; birçok merkezde in-vitro kanama zamanı testi (PFA-100) (Platelet Function Analyser-100) testi tercih edilmektedir.

## **İn-vitro kanama zamanı testi (Platelet Function Analyser-100) (PFA-100®)**

PFA-100, trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesinde tarama amacıyla kullanılmaktadır. Kanama zamanına göre trombosit fonksiyonlarına çok daha duyarlı olması ve tekrarlanabilmesi önemli bir avantajdır. Trombosit fonksiyon tarama testi olarak kanama zamanının yerine kullanılmaya başlanmıştır. İki adet "kullan-at" kartuş kullanılarak çalışma yapılır. Kartuşların membranı agonist (Kollajen-Epinefrin veya Kollajen-ADP) ile kaplıdır. Bu membranın ortasında ise bir delik bulunur. Trombositler bu delikten arteriollerdeki "high-shear stres'e benzer şartlarda" hızla geçerler. Cihaz trombositlerin bu membrana yapışıp, agregasyon olup ve daha sonra da açıklığın tıkanması için geçen "kapanma zamanı"nı ölçer. Bu cihaz aspirine bağlı kusurlar ile daha ağır fonksiyon bozukluklarının ayırımını yapabilmektedir. Normal sonuç daha pahalı olan trombosit fonksiyon testlerinin yapılmasına olan gereksinimi ortadan kaldırmaktadır. Ancak PFA-100, in vivo bir test olan kanama zamanı gibi vasküler fonksiyonu değerlendirememektedir.

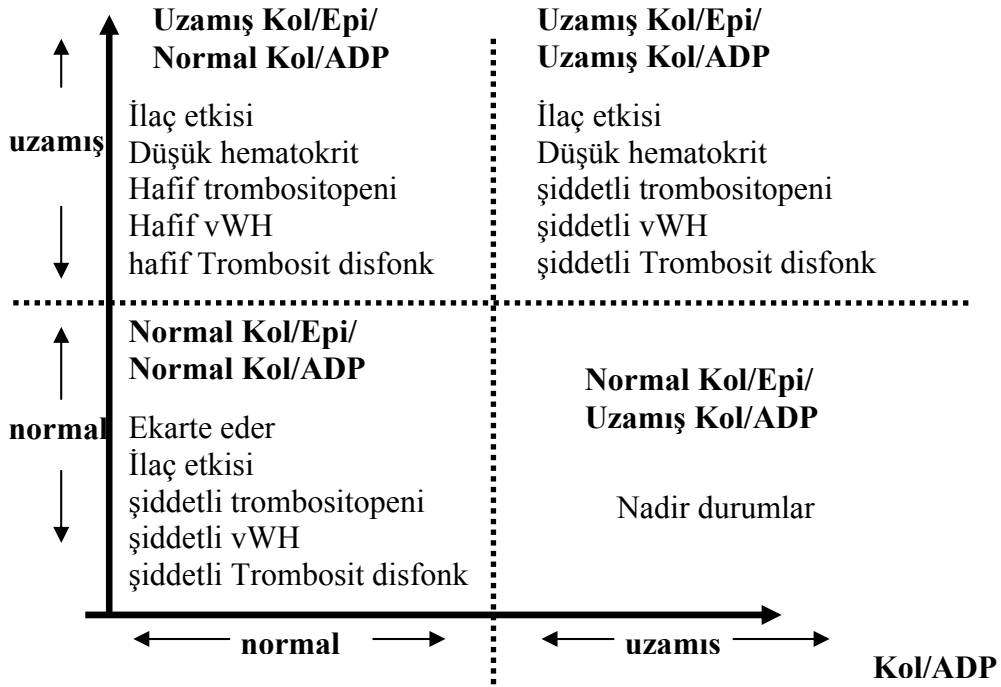
PFA-100 standart agregasyon ile karşılaştırıldığında aspirine bağlı kusurlar, vWH, ve Glanzmann trombastenisi tanısında duyarlılığı yüksektir (27). Ancak diğer spesifik trombosit kusurlarında (depo havuzu eksiklikleri gibi) duyarlılığı düşüktür. Ayrıca aspirinin etkisine olan duyarlılığına karşın, diğer trombosit antagonisti ilaçların etkilerine duyarlılığı düşüktür. Yani in-vitro kanama zamanı uzunluğu ancak bir tarama testi olabilir, kapanma zamanı uzun bulunan hastalarda ileri tanı için diğer tanı araçlarının kullanılması gerekir (27).

## PFA-100 ® Sistemi

PFA-100 sistemi in-vitro olarak primer hemostazı değerlendiren bir sistemdir. 4.5 cc sitratlı kan 1 saat içinde çalışılır. 5-8 dakikada sonuç veren hızlı bir testtir. Kollajen-EPI ve Kollajen-ADP adlı kartuşların kapanma zamanını ölçer. Normal kapanma zamanı Kollajen-EPI<165sn, Kollajen-ADP<118sn'dir. Şekil.2'de sonuçların değerlendirilmesi izlenebilir.

Resim 1. PFA-100 cihazının görünümü

### Kol/Epi Kapanma zamanı



Şekil 2. PFA-100® cihazındaki Kol/Epi ve Kol/ADP kartuşlarının kapanma zamanı sonucunun hızlı klinik değerlendirmesi

### Spesifik Testler

**Kollajen bağlama Kapasitesi (vWF:CB):**

Plazma vWF'nin kollajene bağlanma düzeyini ölçer. vWF'nün bağlama kapasitesi HMW vWF multimerinin bir fonksiyonudur. vWF:Ricof testine benzer tanı gücü vardır (28). Ancak ELISA testi ile yapılması nedeniyle günlük pratikte kullanımı zordur.

**Ristosetin- oluşturduğu trombosit agregasyonu (RİPA):**

Bu test vWF'nin GpIb'ye bağlanmasının patolojik düzeyde artmış olduğu tip 2B vWH tanısı için gereklidir. Standart platelet agregasyon testinde kullanılan 1.2 mg/ml yoğunluklu ristosetinle agregasyon testi yapıldıktan sonra ristosetin yoğunluğu her seferinde 0.2 mg/ml azaltılarak normalde agregasyon oluşturmayan düşük yoğunlukta agregasyon olup olmadığı aranır. Normal bireyler 0.6 mg/ml ristosetinle agregasyon göstermezken tip 2B vWH'lı hastalarda bu doz ile abartılı agregasyon görülür. Diğer tiplerdeki RİPA yanıtı ise; Tip 3'te hiç yok, tip 2A ve 2M'de yok veya çok düşük düzeyde, tip 2N de normal, tip 1 de ise normal veya azalmış düzeyde bulunmaktadır.

**vWF Multimer Analizi:**

Bu test SDS agar jel elektroforezi ile büyük vWF multimerlerinin bulunup bulunmadığını ve multimer bantlarında yapısal anormalliklerin olup olmadığını araştırmak için yapılır (29). Rutin klinik pratiğinde yapılması gereken testlerden değildir. Tip 1 ve Tip 2 ayırımında ve subtiplendirmede kullanılır. Ancak bu testin yapılamıyor olması tedavide bir değişikliğe neden olmayacaktır.

**Tablo 1. Von Willebrand Hastalığının laboratuvar değerlendirmesi**

	Normal	Tip 1	Tip2A	Tip2B	Tip2M	Tip 2N	Tip3	Tromb-vWH
vWF:Ag	N	D, ↓, ↓↓	↓, D	↓, D	↓, D	N, D	Yok	↓, D
vWF:Ricof	N	D, ↓, ↓↓	↓↓, ↓↓↓	↓↓	↓↓	N, D	Yok	↓↓
FVIII:C	N	N, ↓	N, ↓	N, ↓	N, ↓	↓↓	1-9	N, D
PFA-100	N	N, ↑	↑	↑	↑	N	↑↑↑	↑
Trombosit	N	N	N	N, ↓	N	N	N	↓
RİPA	N	N	↓	N	↓	N	Yok	N
Multimer analizi	N	N	Anormal	Anormal	N	N	Yok	Anormal

N:normal, PFA-100: İn-vitro kanama zamanı

RİPA: Ristosetin oluşan trombosit agregasyonu

## GENETİK:

12. kromozomda yer alan vWF geni 180 kilobaz büyüklüğünde olup 52 ekzon içermektedir. Bu gendeki farklı lokalizasyondaki mutasyonlar, vWF nin karmaşık biyosentez sistemini bozarak onun üretimini, multimer oluşturmasını veya salgılanmasını engellemekte, dolaşımdaki yarı ömrünü kısaltmakta, proteolizini hızlandırmakta veya çeşitli bağlanma fonksiyonlarını azaltmakta veya artırmaktadır. Gen çok büyük olduğundan tümünü mutasyon yönünden taramak güç ve zahmetli bir iştir. Bu sebeple tanı için sıklıkla intragenik belirleyicilere başvurulmaktadır. Intron 40' daki arka arkaya tekrarlar (tandem repeat) gen izlemede kullanılmaktadır. Bilinen mutasyonlar ve polimorfizmlerin veri tabanına <http://mmg2.im.med.unic.edu/vWF> internet adresinden ulaşılabilir (30).

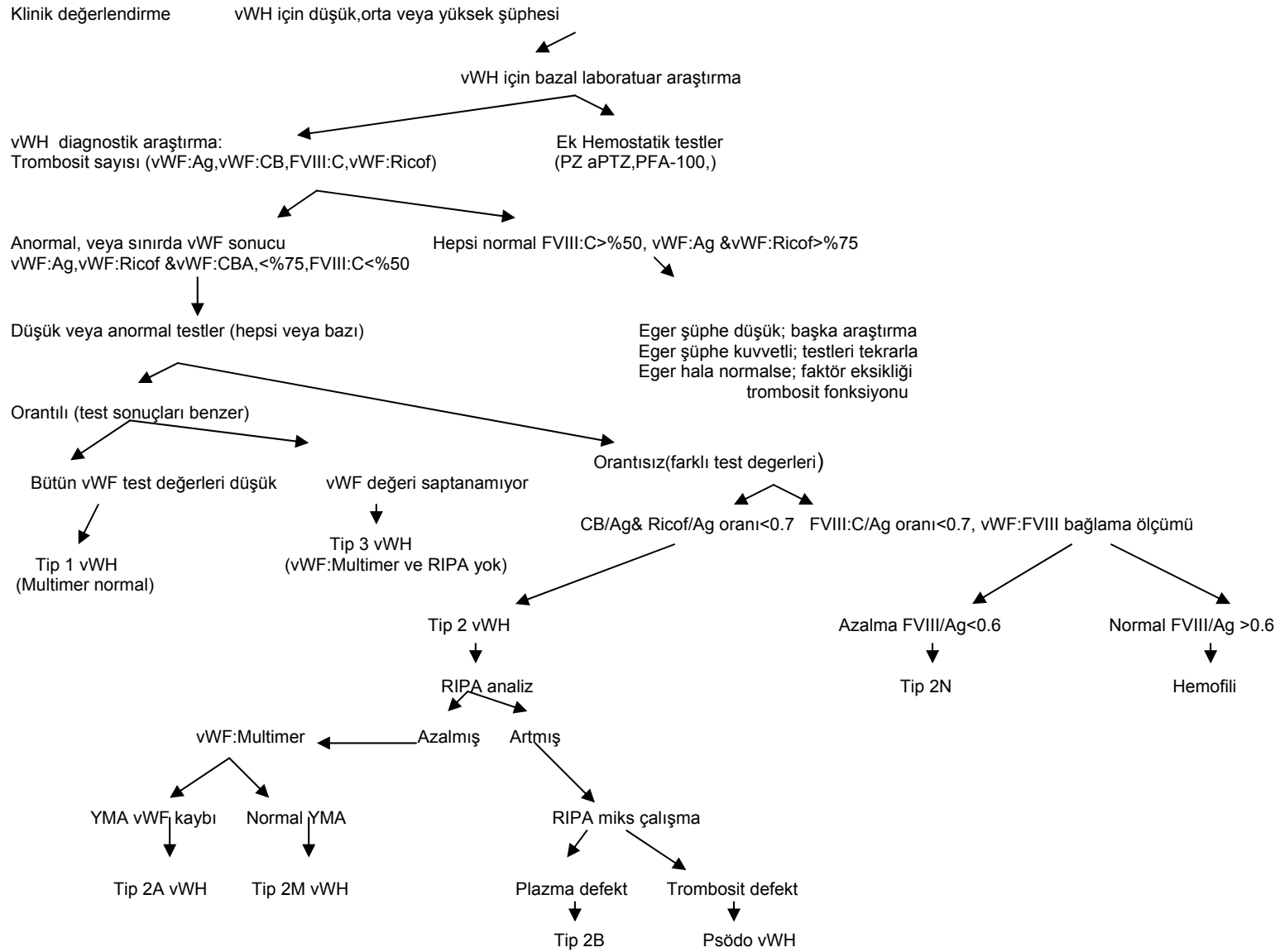
### **Desmopressin (Deamino-8-D-Arginin VasoPressin) (DDAVP)**

Sentetik ADH analogu olan bu madde endotelial depo hücrelerinden büyük moleküllü vWF'ün hızla salgılanmasına neden olur. İntravenöz (IV), subkütan (SC) ve intranazal (NS) yolla verilebilir. IV yolla 0.3 ug /kg dozda 25-50 cc serum fizyolojik içinde 20-30 dakikada infüze edilir. İnfüzyonu izleyen 30-60 dakika içinde vWF ve FVIII:C in kan düzeyleri 3-5 kat artar ve artış 6-8 saat sürer. DDAVP 8-12 saat aralıklarla 3-4 kez daha tekrarlanabilirse de yenileyen dozlarda etkinlik azalır veya kaybolur. Ancak bir hafta içinde tam cevaplılık tekrar kazanılır (31).

DDAVP'nin Türkiye'de 4 ug/ 1 ml lik 10 ampul içeren Minirin® ve 15 ug / 1 ml lik tek ampul içeren Octostim® isimli preparatları vardır. Bu ilaçlar IV dozunda SC olarak da verilebilir. SC uygulamanın etkinliği IV yola benzerlik göstermekte birlikte ev tedavisinde kullanılabilmesi bakımından pratik kolaylık sağlar. DDAVP'nin ciddi yan etkisi yoktur. Hızlı infüzyon sırasında yüzde kızarıklık ve hafif hipotansiyon görülebilir. Su tutucu etkisi nedeni ile bilhassa tekrarlanan dozlarda ödem ve hiponatremi

yapabilir. Bu nedenle 2 yaşın altındaki çocuklarda ve operasyon sırasında kullanılması önerilmemektedir (31).

DDAVP Tip1 vWH olgularının çoğunda ve tip 2A vWH olgularının yarısında etkilidir. Tip 2N'de etkisi kısa sürelidir. Tip 2B vWH da ise trombositopeniye neden olabileceğinden dikkatli kullanılmalı ağır trombositopeni varsa hiç kullanılmamalıdır. Tip 3 vWH olgularının hepsinde ve tip 1 vWH nın %15 inde DDAVP ya cevap yoktur. Klinikte DDAVP kullanmadan önce mutlaka cevap alınıp alınmadığı test edilmelidir(32). DDAVP testi için 0.3 ug/kg dozda DDAVP verilmeden önce ve verildikten 60 dakika sonra sitratlı kan alınarak genellikle FVIII düzeyleri ölçülür. Ancak imkanı olan merkezlerin vWF:Ag, vWF:Ricof düzeylerine de bakması önerilir. Test sırasında in-vitro kanama zamanının ölçülmesi rutin bir işlem olmayıp, çalışmamız sırasında tercih edilen bir uygulamadır.



**Şekil 3 : Von Willebrand Hastalığının ayırıcı tanısına yaklaşım(30).**

## **Amaç:**

Mukozal kanama diyatezi bulgularıyla başvuran hastalarda ilk akla gelecek konjenital hastalıklardan birisi vWH'dır. Kanama nedeni olarak trombosit fonksiyonu, vWH dışı başka nedenleri ayırmada in-vitro kanama zamanı testi (PFA-100®) hızlı, doğru ve güvenilir sonuç vermektedir.

vWH'nın tanısında, tiplendirmede ve tedavi yanıtının değerlendirmede kullanılan vWF:Ag, vWF:Ricof ve FVIII:C parametreleriyle hızlı sonuç almak her zaman mümkün olamamaktadır. Bu amaçla vWH'nın tanısında, tiplendirmesinde ve DDAVP, vWF/FVIII konsantrelerine tedavi yanıtının değerlendirmesinde kullanmak amacıyla pratik ve kısa zamanda sonuç alınan in-vitro kanama zamanı ölçüm testi (PFA-100) ile vWF:Ag, vWF:Ricof ve FVIII:C parametreleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi Hematoloji polikliniğinde takip ve tedavi edilen Von Willebrand Hastalığı tanılı 112 hasta ile ailesinde ve kendisinde herhangi kanama hikayesi bulunmayan sağlıklı 47 çocuk kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan tüm olgular bilgilendirilip ailelerden onay formları alındı. Hastaların demografik bilgileri ve kan grupları tablo 2’de gösterilmektedir.

**Tablo 2. Von Willebrand Hastaları ve sağlıklı kontrol grubu**

	Cinsiyet (K/ E)	Yaş (yıl) Ort (min-mak)	O-Kan grubu (%)
Kontrol (n=47)	1.04	9.5 (1-20)	55
Tip1 Ilımlı (n=34)	1.13	12.2 (5-19)	50
Tip1 (n=29)	0.56	12.5 (2-26)	71
Tip 1/ Tip2 (n=12)	1.00	9.4 (1-24)	66
Tip 2 (n=23)	1.56	11.2 (4-24)	56
Tip3 (n=14)	0.75	3.2 (0.1-9)	28
Toplam (n=159)			

Hasta grubundaki olgularda vWH dışı kanama sebeplerini ekarte etmek amacıyla aktive parsiyel protrombin zamanı (aPTZ), protrombin zamanı (PZ), fibrinogen, trombosit sayısına da bakıldı.

Tanı esnasında enfeksiyon, düşük hematokrit ve trombosit sayısı, antienflamatuvar ilaç kullanımı sorgulandı ve gereğinde hastalar tekrar değerlendirildi.

Hasta ve kontrol grubunda %3.8 sitrat içeren vakumlu tüplere hastalar 10 dk dinlendirildikten sonra deneyimli hemşire tarafından travmatize etmeksizin kan alındı. Von Willebrand tanısı için testler 2 hafta ara ile 2 kez çalışıldı.

İn vitro kanama zamanı (PFA-100) testi 1 saat içinde hemen çalışıldı. Tüpler santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve -20°C de 5 gün saklanarak vWF:Ricof, vWF:Ag ve FVIII:C çalışıldı. Tip 1, Tip 1/Tip2 ve Tip 2 vakalarına Desmopressin 0.3mcg/kg subkutan yapıldı, 0 ve 1. saatlerde vWF:Ricof, vWF:Ag, FVIII:C ve in-vitro kanama zamanı bakılarak tedaviye yanıt değerlendirildi. FVIII ve vWF:Ricof düzeyinde en az 3 kat artış veya > %50 düzeye ulaşması yanıt kriteri olarak değerlendirildi.

İn vitro kanama zamanı testi PFA-100® cihazıyla çalışıldı.  
(Siemens, Marburg, Germany).

vWF:RiCof aktivitesi 1mg/ml ristosetin kullanılarak aggregometrik yöntem ile çalışıldı. (Bio/Data Corporation Horsham, USA).

vWF:Ag testi CA-1500 koagulometre cihazında immunoturbidimetric yöntem ile çalışıldı. %7 nin altındaki değerler kalibrasyon grafiğinden değerlendirildi  
(Siemens, Marburg, Germany).

FVIII:C Aktivitesi aynı cihaz yardımıyla koagulometrik yöntem ile çalışıldı  
(Siemens, Marburg, Germany).

Laboratuar sonuçları ve kanama kliniği bir arada değerlendirilerek klinik ve fenotipik sınıflama yapıldı (33,34).

#### **Tip 1 ılımlı vWH (n=34):**

Çok hafif klinik kanama, iki vWF parametresinden birinde hafif azalma (vWF:RiCof 40-60% veya vWF:Ag düzeyi 50-70%) ve normal FVIII:C aktivitesi, Kol/Epi ve Kol/ADP süresinin normal veya herhangi birinde hafif uzama, olan hastalar Tip 1 vWH olarak yorumlandı.

**Tip 1 vWH (n=29):**

Hafif klinik kanama, vWF parametrelerinde eşit oranda azalma, vWF:Ricof/Ag oranı normale yakın (yaklaşık 1), vWF:Ag ve vWF:Ricof parametreleri %30-50, FVIII:C normal veya normale yakın azalma (40-70%), Kol/Epi ve Kol/ADP her ikisinin hafif uzaması veya Kol/Epi orta derece uzama olan olgular Tip1 olarak yorumlandı.

**Tip 1 şiddetli / Tip 2 vWH (n=12):**

Hafif –Orta derece kanama, vWF:Ag ve vWF:Ricof orta-şiddetli eksiklik %30 altı, FVIII:C %40 altı, Kol/Epi ve Kol/ADP her ikisinde orta –şiddetli uzama olan hastalarda Tip ayırımı yapılamadığından Tip1/Tip2 olarak gruplandı.

**Tip 2 vWH (n=23):**

Orta derece kanama, vWF:Ag ve FVIII:C düzeyi genellikle normal veya normale yakın azalmış, vWF:Ricof belirgin azalmış, vWF:Ricof/vWF:Ag oranı azalmış (<0.60) olan olgular Tip2 vWH olarak yorumlandı. Kol/Epi ve Kol/ADP her ikisi de orta veya maksimal uzamış olarak saptandı. Hastalara RİPA testi uygulandı (0.5mg/dl).

**Tip 3 vWH (n=14):**

Şiddetli kanama, vWF:Ag ölçülemeyen düzeyde, vWF:Ricof %12 altında, FVIII:C %1-9 arasında, Kol/Epi ve Kol/ADP maksimal uzama saptanan olgular Tip 3 vWH olarak yorumlandı.

PFA-100<sup>®</sup> cihazında bulunan Kol/ADP ve Kol/Epi kartuşu için belirlenen normal ve patolojik düzeyde olan kapanma zamanları tablo 3'de belirtildi.

**Tablo-3: İn-vitro kanama zamanı testi (PFA-100®) kapanma zamanının sınır değerleri**

	Kol/ADP kapanma zamanı (sn)	Kol/Epi kapanma zamanı (sn)
Normal sınır (aralık)	92 (71-118)	132 (85-165)
Hafif uzama	118- 150	165-200
Orta düzeyde uzama	150-200	200-250
Maksimal uzama	>200	>250

Tüm olguların hepsinden ilk önce PFA-100 testi çalışıldı. Plazmaları saklanarak yaklaşık 2 hafta aralıklarla toplanan plazmadan FVIII:C, vWF:Ricof ve vWF:Ag düzeyleri aynı anda çalışıldı. Klinik ve laboratuvar olarak birbirine yakın olgular aynı grupta toplandı.

### **İstatistiksel analizler**

(SPSS for Windows version 16.0) paket programı kullanıldı. Gruplardaki parametrelerin ortalama değerleri, standart sapma, minimum, maksimum değerler, %95 güvenlik sınırı ve gruplar arasında anlamlılık farkları için tek yönlü varyans analizi ANOVA (Bonferroni's Multiple Comparison Test) uygulandı. Gruplardaki değerlerin tedaviye cevabı ki-kare testi ile değerlendirildi. P değeri 0.05 altı istatistiksel anlamlı kabul edildi. vWF:Ricof/Ag oranının spesifite ve sensivitesinin hesabı için ROC curve testi yapıldı.

**Tablo 4. Olgularımızın klinik ve laboratuvar sonuçlarına göre gruplandırılması**

vWH Alt Grubu	Kanama Kliniği	vWF:Ricof	vWF:Ag	FVIII:C	PFA-100	
					Kol/Epi	Kol/ADP
Tip 1 İlimli (n=34)	Çok Hafif	40-60%	50-70%	N	N-↑	N-↑
Tip 1 (n=29)	Hafif	30-50%	30-50%	(40-70%) N-↓	↑	↑
Tip1/Tip2 (n=12)	Orta	<30%	<30%	<40%	↑/↑↑	↑/↑↑
Tip2 (n=14)	Orta	↓↓	N-↓	N-↓	↑↑	↑↑
Tip3 (n=14)	Şiddetli	<%12	1-2%	1-9%	↑↑↑	↑↑↑
<b>Toplam (n=112)</b>						

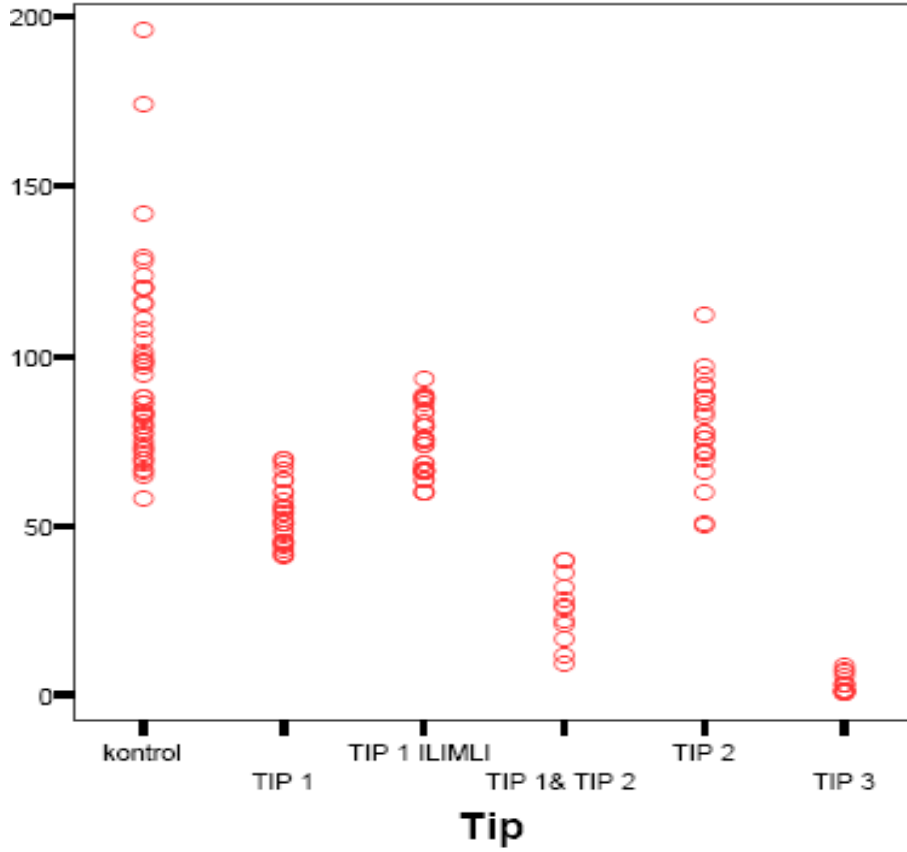
## **Bulgular**

Parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları, %95 güvenlik intervalleri, minimum, maksimum ve istatistiksel anlamları değerlendirildi.

Bütün gruplar arasında; FVIII:C aktivite düzeyleri arasında anlamlı fark saptandı. ( $p=0.000$ ). Kontrol grubu FVIII:C düzeyi diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p=0.000$ ). Tip 1 ılımlı ile Tip 2 vWH arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p=1.00$ ) ve her iki grubun FVIII:C düzeyi kontrol grup hariç diğer gruplardan anlamlı olarak yüksekti ( $p=0.00$ ). Tip 1 grup ile kontrol, Tip 1 ılımlı ve Tip 2 grup'tan anlamlı olarak düşük ( $p=0.000$ ) fakat Tip 1/Tip 2 ve Tip 3 gruptan anlamlı olarak yüksekti ( $p=0.00/0.02$ ). Tip 1 / Tip 2 grup ise kontrol, Tip 1 ılımlı, Tip 1/Tip 2 gruptan anlamlı olarak düşük ( $p=0.00$ ) ve Tip 3 gruptan anlamlı olarak yüksekti ( $p=0.02$ ). Tip 2 grup, kontrol grubtan anlamlı düşük, diğer gruplardan anlamlı olarak yüksekti ( $p=0.000$ ). Tip 3 bütün gruplardan anlamlı olarak düşüktü ( $p=0.000$ ) (Bonferroni Post Hoc test) (Tablo 5).

**Tablo 5. FVIII:C aktivitesinin karşılaştırılması**

	<i>FVIII:C(%)</i>	<i>Tip1</i>	<i>Tip 1</i>	<i>Tip1/ Tip2</i>	<i>Tip 2</i>	<i>Tip 3</i>
	<i>Ort(min-mak)</i>	<i>ılımlı</i>				
Kontrol	95.3±27.8 (58-196)	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.006</b>	<b>0.000</b>
Tip1 ılımlı	74.3 ±9.7 (60-93)		<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	1.000	<b>0.000</b>
Tip 1	53.5 ± 8.8 (41-70)			<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
Tip 1& Tip2	25.9 ± 10 (10-40)				<b>0.000</b>	<b>0.022</b>
Tip 2	79.2 ± 14.7 (50-112)					<b>0.000</b>
Tip 3	3.5 ± 2.7 (1-9)					



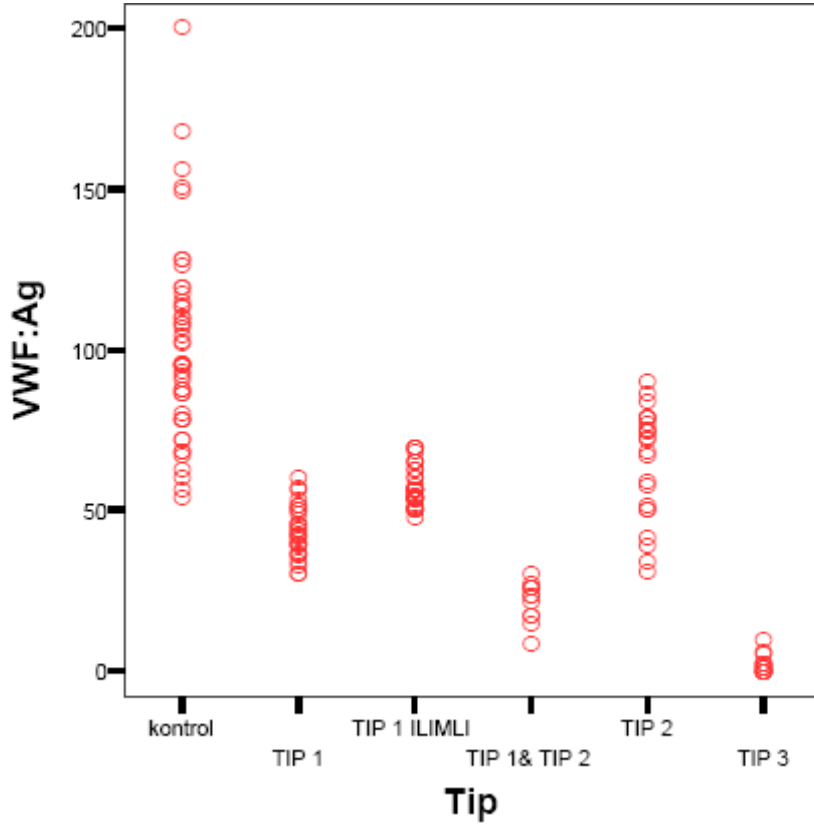
**Şekil-4. Gruplardaki ortalama FVIII:C düzeyleri**

Bütün gruplar arasında vWF:Ag aktivitesi arasında anlamlı fark saptandı ( $p=0.000$ ). Kontrol grubunda elde edilen vWF:Ag düzeyleri diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p=0.000$ ). Tip 1 ılımlı ile Tip 2 ve Tip 1 grupları arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=1.00/ 0.059$ ). Fakat kontrol gruptan düşük, Tip 1/ Tip 2 ve Tip 3 gruplarından anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p=0.00/0.00$ ). Tip 1 grup vWF:Ag düzeyi Tip 1/ Tip 2, Tip 2 ve Tip 3 gruptan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p=0.00/0.009$ ). Tip 1/ Tip 2 grup vWF:Ag düzeyi Tip 2 gruptan anlamlı olarak düşük fakat Tip 3 grup arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p=0.00/0.117$ ). Tip 2 grup düzeyi, Tip 3 gruptan anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p=0.00$ ).

Tip 3 grubunda vWF:Ag düzeyi bütün gruplardan anlamlı olarak düşük saptandı ( $p=0.000$ ). (Bonferroni Post Hoc test) (Tablo 6).

**Tablo 6. vWF:Ag aktivitesinin karşılaştırılması**

	<i>vWF:Ag</i> (%)	<i>Tip 1</i> <i>ılımlı</i>	<i>Tip 1</i>	<i>Tip 1/Tip2</i>	<i>Tip 2</i>	<i>Tip 3</i>
Kontrol	101 ± 30 (54-200)	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.006</b>	<b>0.000</b>
Tip1 ılımlı	57.3±6.4 (48-70)		0.059	<b>0.000</b>	1.000	<b>0.000</b>
Tip 1	43.7±7.9 (30-60)			<b>0.009</b>	<b>0.001</b>	<b>0.000</b>
Tip1/ Tip2	21.7±6.3 (8-30)				<b>0.000</b>	0.117
Tip 2	64.8±17.4 (31-90)					<b>0.000</b>
Tip 3	2.1 ± 2.9 (0-10)					

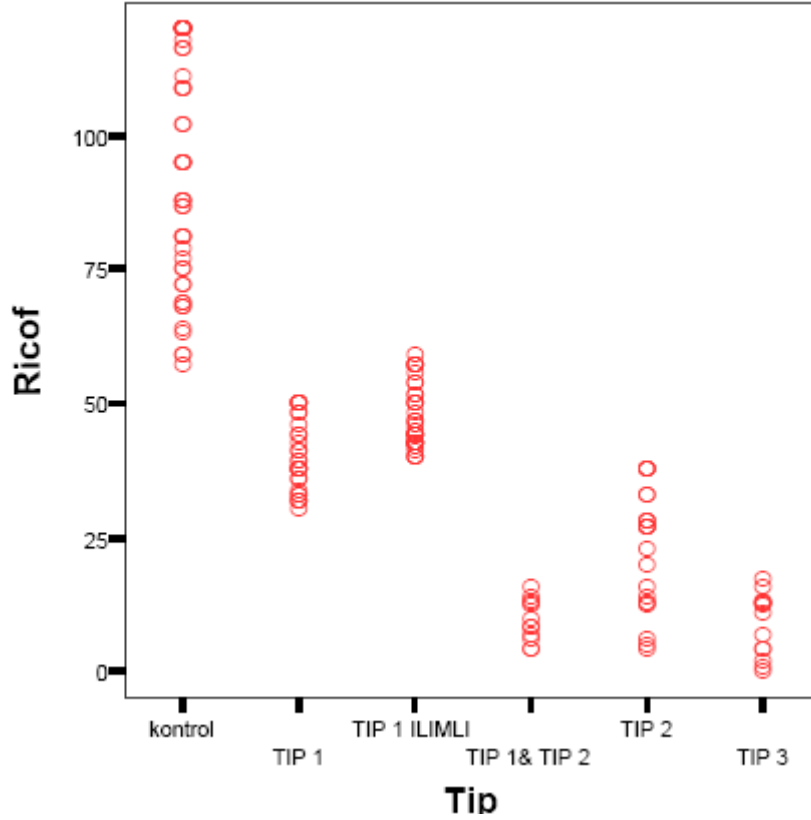


**Şekil-5. Gruplardaki ortalama vWF:Ag düzeyleri**

Bütün gruplar arasında vWF:Ricof aktivitesi arasında anlamlı fark saptandı ( $p=0.000$ ). Kontrol grubunda elde edilen vWF:Ricof aktivitesi gruplardan anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p=0.000$ ). Tip 1 ılımlı ile Tip 1 arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p=0.485$ ), Fakat Tip 1/ Tip 2, Tip 2 ve Tip 3 gruplarında anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p=0.00/0.00$ ). Tip 1 grub vWF:Ricof aktivitesi Tip 1/ Tip 2, Tip 2 ve Tip 3 gruplarından anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p=0.00/0.00$ ). Tip 1/ Tip 2 ile Tip 3 grupları arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=1.00$ ). Tip 2 grup vWF:Ricof aktivitesi Tip 3 gruptan anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p=0.025$ ). (Bonferroni Post Hoc test)(Tablo 7).

**Tablo 7. vWF:Ricof aktivitesinin karşılaştırılması**

	<i>vWF:Ricof</i> (%)	<i>Tip 1 ılımlı</i>	<i>Tip 1</i>	<i>Tip 1/ Tip2</i>	<i>Tip 2</i>	<i>Tip 3</i>
Kontrol	93.6±21.5 (57-120)	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.006</b>	<b>0.000</b>
Tip1 ılımlı	47.6 ±5.8 (40-59)		0.485	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
Tip 1	40.4 ± 6.5 (30-50)			<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
Tip 1/ Tip2	9.5 ± 4.0 (4-16)				0.063	1.000
Tip 2	23.3 ± 11 (4-38)					<b>0.025</b>
Tip 3	8.9 ± 5.7 (0-17)					

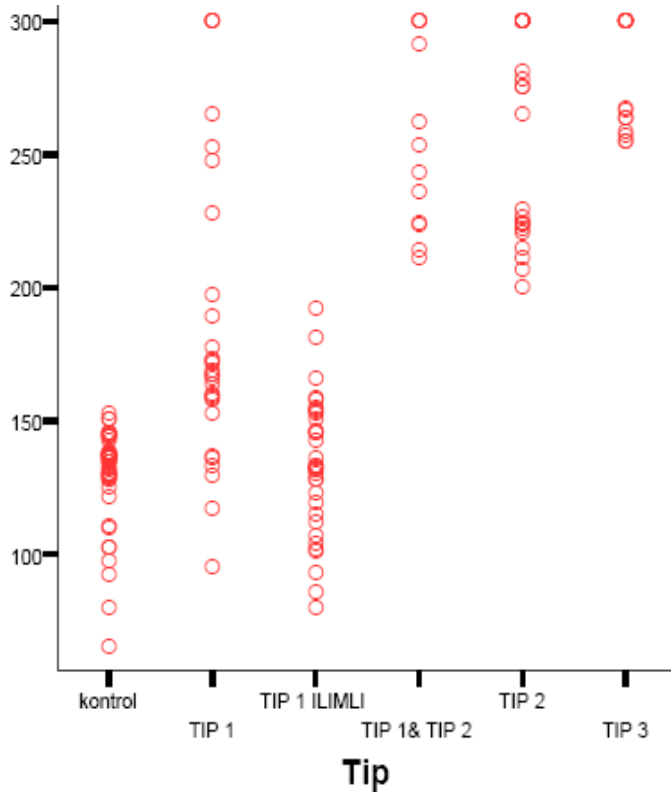


**Şekil 6. Grupların ortalama vWF:Ricof düzeyleri**

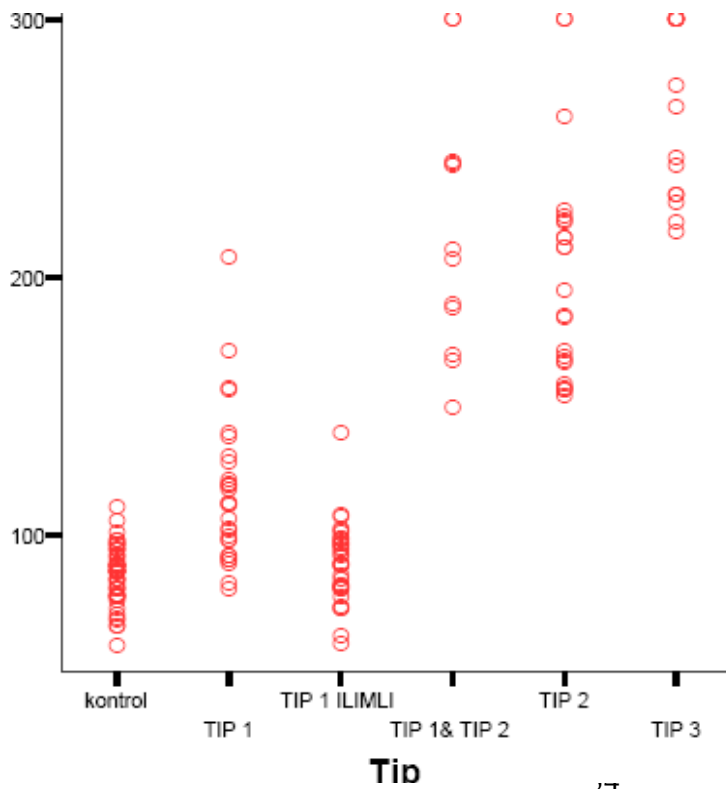
Bütün gruplar arasında Kol/Epi ve Kol/ADP kapanma zamanı değerleri arasında anlamlı fark saptandı ( $p=0.000$ ). Kontrol grubu ile Tip 1 ılımlı arası anlamsız, diğer gruplar arasında anlamlı olarak uzadığı izlendi ( $p=0.00$ ). Tip 1 ılımlı grupta diğer gruplardan anlamlı olarak kısa süreli olduğu izlendi ( $p=0.000$ ). Tip 1 ile kontrol ve Tip 1 ılımlı grup arasında anlamlı olarak uzun, diğer gruplardan anlamlı olarak kısa olduğu saptandı ( $p=0.00$ ). Kol/Epi süresi Tip 1/ Tip 2 ile Tip 2 ve Tip 3 arası anlamsız iken Kol/ADP süresi anlamlı olarak kısa süreli saptandı. Kol/Epi süresi Tip 2 ile Tip3 arasında anlamsız fakat Kol/ADP süresi Tip 2 grupta anlamlı olarak kısa süreli saptandı. (Bonferroni Post Hoc test)(Tablo 8).

**Tablo 8. İn-vitro kanama zamanı testi (PFA-100) ile Kol/Epi ve Kol/ADP kapanma zamanı süresinin karşılaştırılması**

	<i>Kol/Epi</i> (saniye)	<i>Kol/ADP</i> (saniye)	<i>Tip 1</i> <i>ılımlı</i>	<i>Tip 1</i>	<i>Tip1/Tip2</i>	<i>Tip 2</i>	<i>Tip 3</i>
Kontrol	130±18.2 (66-153)	84.6±11.2 (57-111)	1.000	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.006</b>	<b>0.000</b>
Tip1 ılımlı	133.6±26.0 (80-192)	89.2 ±15.2 (58-140)		<b>0.002</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
Tip 1	184.7±55.1 (96-300)	116.8±28.9 (79-208)			<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
Tip1/Tip2	255.2±34.9 (212-300)	218.3±49.5 (150-300)				1.000 1.000	1.000 <b>0.002</b>
Tip 2	255.9±37.9 (200-300)	201.8 ±43 (155-300)					0.822 <b>0.000</b>
Tip 3	277.9±20.16 (256-300)	261.9±33.27 (218-300)					



**Şekil 7. Gruplardaki ortalama KOL/EPI kapanma zamanı süreleri**



**Şekil 8. Gruplardaki ortalama KOL/ADP kapanma zamanı süreleri**

Bütün gruplar arasında vWF:Ricof /Ag oranı arasında anlamlı fark saptandı (p=0.000). Kontrol grubu ile Tip 1 arasında anlamlılık saptanamadı ancak diğer gruplarla anlamlı olarak yüksek saptandı (p=0.00). Tip 1 ılımlı ile Tip 1 arasında anlamlı fark saptanamadı (p=0.477). Tip 1 ile Tip 1/Tip 2 ve Tip 2 grupları arasındaki fark ise anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.00/ 0.00). Tip 1/ Tip 2 ile Tip 2 arasında anlamlı fark bulunmadı (p=1.00) (Bonferroni Post Hoc test) (Tablo 9).

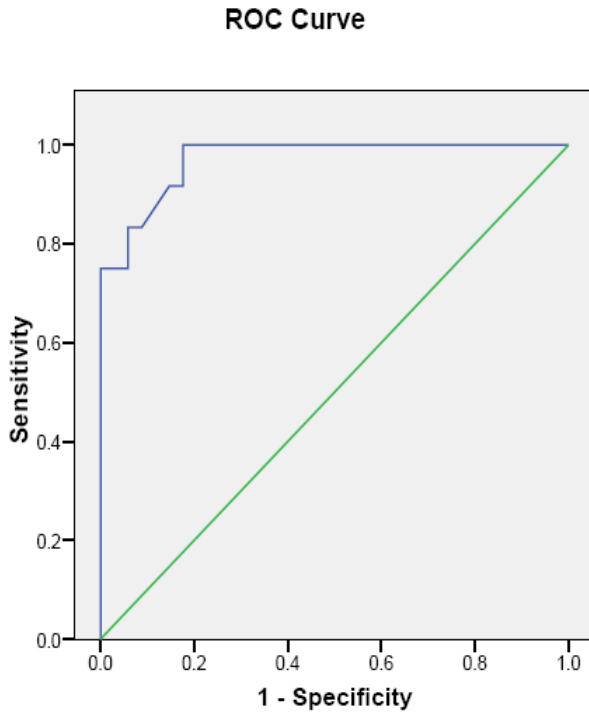
**Tablo 9. vWF:Ricof/vWF:Ag oranının karşılaştırılması**

	<i>vWF:Ricof/Ag</i> (oran)	<i>Tip 1</i> <i>ılımlı</i>	<i>Tip 1</i>	<i>Tip 1/ Tip2</i>	<i>Tip 2</i>
Kontrol	0.97± 0.28 (0.55-1.77)	<b>0.040</b>	1.000	<b>0.000</b>	<b>0.006</b>
Tip1 ılımlı	0.84 ± 0.13 (0.61-1.14)		0.477	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
Tip 1	0.94 ±0.18 (0.57-1.3)			<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
Tip 1/Tip2	0.45 ± 0.16 (0.23-0.7)				1.000
Tip 2	0.38 ± 0.18 (0.05-0.68)				

Tip 1 ve Tip 2 ayırımında vWF:Ricof/Ag oranı sensitivite ve spesivite oranları anlamlı olarak saptandı (Tablo 10).

**Tablo 10. vWF:Ricof/ vWF:Ag oranı ile Tip ayırımının "Roc Curve" ile hesaplanması**

	Sensitivite			Spesivite			p
	0.5	0.6	0.7	0.5	0.6	0.7	
Kontrol-Tip 1 ılımlı			17			81	0.035
Tip 1 ılımlı-Tip 1			20			90	<b>0.006</b>
Tip 1-Tip 2	58	75	100	100	100	83	<b>0.000</b>
Tip1/Tip2-Tip 2	69	91	100	25	25	9	0.385



**Şekil 9. vWF:Ricof/vWF:Ag oranlarının sensitivite ve spesivite ilişkisi**

Tanı ve tedavide kullanılan Desmopressin (DDAVP) yanıtına alınan yanıtların mukayesesinde ki-kare testi kullanıldı. DDAVP öncesi ve sonrası FVIII:C, vWF:Ag, vWF:Ricof, Kol/Epi ve Kol/ADP kapanma zamanı değerleri karşılaştırıldı.

**Tablo 11. Hasta grupları arasında Desmopressin yanıt oranı farklılıkları**

	<i>Cevaplı</i>	<i>Cevapsız</i>	<i>Total</i>	<i>Yanıt</i>	<i>p</i>
Tip 1	30	0	30	%100	
Tip 1/Tip 2	4	5	9	%44.4	
Tip 2	6	1	7	%87	
<b>Toplam</b>	<b>40</b>	<b>6</b>	<b>46</b>		<b>0.000</b>

Fisher'in tam olasılık testi ile 3 grup arasında Desmopressin yanıt oranına bakıldı.

Tip 1 ile Tip 1/Tip2 arasında anlamlı fark bulundu ( $p=0.000$ )

Tip1 ile Tip2 ve Tip 1/Tip2 ile Tip 2 arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p=0.189/ p=0.145$ ).

Desmopressine yanıt veren ve vermeyen hasta gruplarında FVIII:C, vWF:Ag, vWF:Ricof yanıtına in-vitro kanama zamanı parametreleri olan Kol/Epi ve Kol/ADP kapanma zamanları arasındaki ilişki karşılaştırıldı. Toplu sonuçlar tablo 12'de özetlendi.

Bu sonuçlara göre; Desmopressin uygulaması sonrası tüm gruplarda FVIII:C artışı hasta desmopressine cevaplı olsun olmasın anlamlı yüksek bulundu. vWF:Ag artışı açısından bakıldığında Desmopressin'e yanıt alınamayanlarda anlamlı artış saptanmadı. vWF:Ricof düzeylerindeki artış trendi de benzer şekildeydi.

İn-vitro kanama zamanındaki parametrelere bakıldığında ise desmopressin'e yanıt alınan hastalarda kapanma zamanındaki kısalma süresi anlamlı olarak düşük saptanmasına karşın, desmopressine yanıt alınamayan olgularda anlamlı fark olmadığı görüldü (Tablo 12).

**Tablo 12. Desmopressin uygulama öncesi ve sonrası laboratuvar yanıtı**

	Desmo pressin yanıtı	Tip 1 (n=30) (hepsi cevaplı)	Tip 1/Tip 2		Tip 2	
			Cevaplı (n=4)	Cevapsız (n=5)	Cevaplı (n=6)	Cevapsız (n=1)
FVIII:C* (ort±SD)	öncesi	72.9±16.8	38.5±1.7	26.2±5.8	62.3±9.3	72
	sonrası	138.4±32.5	97.5±5.3	64.4±7	109±34.1	112
vWF:Ag† (ort±SD)	öncesi	57.7±13.4	34±11.7	19.6±12.6	55.6±21.2	74
	sonrası	126.5±39.3	84±26.5	37.4±20.8	104±51.5	92
vWF:Rico‡ (ort±SD)	öncesi	42.3±10.8	23.2±14	12.8±3.5	24.3±12.3	20
	sonrası	109±26.5	101.2±51	21±5.3	76.3±37.1	27
Kol/Epi†† (ort±SD)	öncesi	153±27.1	249.5±61	280±21.7	221.3±54	268
	sonrası	99.9±19.6	145±14.7	254±49.6	153.5±48	246
Kol/ADP†† (ort±SD)	öncesi	107±19.8	182.7±81	226.8±28	154.6±35	212
	sonrası	68.3±11.2	84±24.2	209±53.7	118.6±36	188

p\* <0.05 tiplerin cevaplı ve cevapsız olanların hepsinde anlamlı olarak yükselme saptandı.

p† <0.05 tiplerin cevap verenlerinde anlamlı olarak yüksek iken cevapsızlarda anlamlı yükseklik saptanmadı (p=0.087)

p‡ <0.05 tiplerin cevap verenlerinde anlamlı olarak yüksek iken cevapsızlarda anlamlı yükseklik saptanmadı (p=0.074)

p†† <0.05 tiplerin cevap verenlerinde anlamlı olarak kısalma varken cevapsızlarda anlamlı kısalma saptanmadı (p=0.111)

p†† <0.05 tiplerin cevap verenlerinde anlamlı olarak kısalma varken cevapsızlarda anlamlı kısalma saptanmadı (p=0.202)

Faktör VIII/VWF konsantresi kullandığımız 5 olguda faktör konsantresi öncesi ve sonrası FVIII:C, vWF:Ag, vWF:Ricof yanıtına in-vitro kanama zamanı parametreleri olan Kol/Epi ve Kol/ADP kapanma zamanı yanıtına bakıldı. Toplu sonuçlar tablo 13’de özetlendi. Bu sonuçlara göre; Faktör VIII/VWF konsantresi uygulaması sonrası tüm olgularda FVIII:C, vWF:Ag ve vWF:Ricof düzeylerinde belirgin artış saptandı. İn-vitro kanama zamanındaki parametrelere bakıldığında ise faktör konsantresine yanıt alınan tüm olgularda kapanma zamanında kısalma saptanmadı (Tablo 13).

**Tablo 13. Faktör FVIII/VWF konsantresine laboratuvar yanıtı**

Olgu tipi	Veriliş sebebi	Faktör Haemate-P (kg/ FVIII)	FVIII:C	vWF:Ag	vWF:Ricof	(PFA-100)sn cevapsız	
						Kol/Epi	Kol/ADP
Tip1/Tip2	Sünnet	40	↑↑↑- %102	↑↑- %84	↑↑ -%86	224	198
Tip1/Tip2	Kas Biopsi	20	↑↑↑-%90	↑↑-%82	↑↑-%78	202	178
Tip1/Tip2	Menoraji	20	↑↑↑-%110	↑↑-%92	↑↑-%84	204	188
Tip 3	Hemorajik over kist	35	↑↑↑-%83	↑↑-%74	↑↑-%82	234	206
Tip 3	Sünnet	40	↑↑↑-%115	↑↑-%88	↑↑-%76	238	208

Olgularımızın operasyon nedenine göre FVIII/vWF konsantresinin dozu ve süresi ayarlandı. Kas biopsisi için tek doz, menoraji için gūnaşırı gūnde tek doz, sūnnet ve hemoraji over kisti için ilk gūn 2 doz sonraki 2 gūn tek doz şeklinde uygulandı. Hastalarımızın faktör konsantrelerinin yeterliđi takibinde aPTZ kullanıldı. PFA-100 dūzelmemesine rađmen herhangi bir kanama komplikasyonuna rastlanmadı.

## Tartışma

Von Willebrand Hastalığının sıklığı ülkemizde yapılan iki farklı çalışmada %0.44 ve %0.7 olarak belirtilmiştir (33,34). vWH'nin semptomlarının sıklık ve şiddeti klinik tiplerine göre değişkenlik göstermektedir. Yılmaz ve ark ve çalışmamızda vWH'nin en sık görülen semptomu burun kanaması ve deride kolay morarma'dır. En son yapılan sınıflandırma Tip 1, Tip 2 (Tip 2A, Tip 2B, Tip 2M, Tip 2N) ve Tip 3 olarak belirtilmiştir. Sınıflama spesifik laboratuvar testlere göre yapılmaktadır (35). Ancak vWH tiplendirmede kullanılan spesifik laboratuvar testlerinin tip ayırımında sınır değerlerini belirlemede zorluklar bulunmaktadır. Çünkü vWH oluşumundan sorumlu farklı mutasyonlar, kompleks fenotiplere neden olmakta bunun sonucu kategorizasyon zor olmaktadır. vWH genotip ve fenotip arasındaki ilişkinin belirlenmesi farklı altgruptaki hastaların tedavisinin düzenlenmesinde yardımcı olmaktadır.

vWH'nin tanısı kolay değildir ve mukokutanöz kanama hikayesi olan bir kişide tek bir spesifik laboratuvar testiyle diagnostik yaklaşım zordur. vWH şüphesinde başlangıçta bizim de yer aldığımız birçok merkezde tanıda ilk olarak vWF:Ag, vWF:RicoF, FVIII:C, az sayıda merkezde ise in-vitro kanama zamanı (PFA-100®) testi kullanılmaktadır (30,36). PFA-100 testi'nin vWH ve trombosit fonksiyon bozukluğu gibi primer hemostaz bozukluklarını saptamada sensitivitesi yüksektir (37). vWF:Ag, vWF:RicoF, FVIII:C testlerinin ölçümleri yüksek değişkenlik gösterdiğinden vWH'nin tanısı ve subtiplemesinde zorluklar oluşmaktadır. vWF geninde defekt olmadan da vWF seviyesinde düşüklük olabilmektedir. vWF düzeyi ile genetik mutasyon arasındaki ilişki genellikle vWF:Ag değerlerini %50'den fazla etkilemektedir (38,39). Tip1 vWH ile düşük vWF arasındaki ayırımın tanımlanmasında zorluklar

olabilmektedir. vWF düzeyinde azalma da hastada kanama riski yaratacağından bu durumun gerçek tip 1 vWH'dan ayrımı gereklidir. Bu ayırmada kabul edilen vWF:Ag ve vWF:Ricof düzey sınırı tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar bu sınırı %30 olarak kabul etmekte bu sınırın altını tip 1 vWH, vWF düzeyi %30-%50 arası olan hastaları ise düşük vWF saptanan olgu olarak tanımlamaktadır (40). Bizimde içinde olduğumuz bazı araştırmacılar ise vWF sınır değerini %50 olarak kabul etmekte bu değer altı tip 1 vWH, vWF:Ag düzeyini %50-%70, vWF:Ricof düzeyini %40-%60 arasını olanları "düşük vWF" tanılı birey değerlendirmektedir (41).

Çalışmalar "düşük vWF" tanılı olgularda, vWF'ün düşüklüğünün en önemli etkeninin 0 kan grubu olduğunu ve bu grupta 0 kan grubu sıklığının %60 ile %80 arasında değiştiğini göstermektedir (42). Çalışmamızda ise düşük vWF olanlarda 0 kan grubu sıklığı %50, diğer tip vWH'da 0 kan grubu oranı tip 3 vWH hariç farklılık göstermemekteydi.

Düşük vWF grupta FVIII:C düzeyi normal düzeyde, tip1 vWH da ise normal veya hafif düşük, PFA-100® testi düşük vWF grupta kapanma zamanı normal iken , tip1 vWH'da genellikle Kol/Epi kapanma zamanının uzadığını saptadık. Bulgumuz literatürde Kol/Epi testinin, özellikle tip 1 vWH'da Kol /ADP testine göre daha duyarlı ve tip 1 vWH'na sensitivitenin %85-90 civarında olduğu bulgusuyla uyumluydu (43,44).

PFA-100® testi; düşük vWF ile tip 1 vWH tanısının ayırımında sınırlı bir değere sahip olmasına rağmen bazı vakalarda ilk başvurularında vWF:Ag düzeyini normal düzeyde PFA-100® testi ise hafif uzamış olduğunu ve bu hastalarda farklı zamanda tekrarlanan testlerde vWF:Ag düzeyini düşük PFA-100® kapanma zamanı testinin ise hafif veya belirgin olarak uzadığını saptadık. Bu durum bize stres gibi nedenlerin vWF düzeyinde geçici bir yükselmeye neden olarak; gerçek tip 1 vWH'larının yanıltıcı

olarak düşük tip vWH tanısı alabileceğini ve PFA-100® testinin ilk ölçümünde hafif uzamasının ikinci ölçümde belirgin uzamasının literatür ile uyumlu olarak in-vitro kanama zamanı testi (PFA-100) kapanma zamanı sonuçlarının vWF:Ag ve vWF:Ricof düzeyleriyle kuvvetli bir ilişkisinin olduğu şeklinde yorumlanabilmektedir.

Şiddetli Tip 1 vWH da FVIII:C, vWF:Ag, vWF:Ricof düşüklüğünün orantılı bulunması ve PFA-100® testinin belirgin uzaması, vWF:Ricof/vWF:Ag oranının 0.6 dan düşük olması ile tip 1 vWH' dan kolayca ayırt edilmektedir. Fakat şiddetli tip 1 vWH'nın son yıllarda literatürde klasik tip 2 hariç genetik olarak gösterilmiş kantitatif tip 2 vWH'dan ayırımında zorluklar yaşanabilmektedir. Literatürde daha önce şiddetli tip 1 vWH tanısı alan olguların genetik inceleme ve multimer analizi sonuçları sonrasında %38 tip 2A veya 2M vWH tanısı aldıkları gösterilmiştir. Bu nedenle şiddetli tip 1 ile klasik olmayan tip 2 vWH'dan ayırt etmede multimer analizi gibi ileri yöntemler gerekebilmektedir. Son yıllarda ileri tanı yöntemlerinin yaygın kullanıma başlamasıyla tip 2 vWH oranında yükselme görülmektedir (45,46).

Çalışmamızda, şiddetli tip1/tip2 ayırımında ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde desmopresin testi kullanıldı ve teste yanıtı olmayan vakalar tip 2 vWH olarak değerlendirildi (47,48). Klinik gözlemimizde desmopresin tedavisine yanıt vermeyen tip 2 vWH bireylerin ve ailelerinin özellikle kolay morarma ve menoraji gibi kanama semptomlarının halen devam ettiğini, desmopresine tedavisine yanıtı olan şiddetli tip 1 vWH olguların kanama semptomlarının daha hafif olduğu ve aile bireylerinde kanama semptomların azalma veya kaybolduğu gözlemlendi.

Klasik tip 2 vWH'da vWF:Ag ve FVIII:C düzeyinin normal veya orta derecede azalması, vWF:Ricof düzeyinin vWF:Ag'ne oranla çok düşük olması, vWF:Ricof /vWF:Ag oranı 0.6 altında ve PFA-100 testinin her iki kartuşunun maksimal kapanma

zamanı ile şiddetli tip1 vWH'dan ayırımında zorluk yaşanmamaktadır (49,50). Fakat çalışmamız bu durumdan farklı olarak klasik tip 2 vWH'nın laboratuvar özelliğini gösteren PFA-100 testi Kol/Epi kapanma zamanının normal veya hafif uzaması ile seyreden olguları klasik tip 2 vWH'dan ayrılan tip 1 vWH olguları olarak yorumlandı.

Bu olguları kanama semptomlarının hafif olması nedeniyle tip 1 vWH olarak değerlendirdik. Bu durum tip 1 vWH'nın bazen klasik tip 2'nin laboratuvar özelliğini gösterdiği fakat ayırıcı tanıda in-vitro kanama zamanı (PFA-100) testi'nin bu tiplerin ayırımında kullanılabileceğini göstermektedir.

Tip 2 vWH' larının subtipleri ayırımında spesifik yöntemler kullanılmaktadır. Artmış RİPA testi ile tip 2B vWH tanısı düşünülürken, FVIII:C değeri çok düşük, vWF:Ag, vWF:Ricof ve PFA-100 testinin normal olduğu durumlarda ise tip 2N vWH akla getirilmelidir. Çalışmamızda bu özellikleri taşıyan kız ve erkek kardeşte genetik mutasyon sonucu tip 2N vWH tanısını koyduk. Tip 2A vWH ile tip 2M benzer laboratuvar özellikleri göstermektedirler ancak multimer analizi ve genetik mutasyon ile birbirlerinden ayırımı mümkündür ancak bu testler laboratuvarımızda yapılamadığından bu olgular toplu halde Tip 2 şeklinde yorumlanmıştır (51).

Tip 3 vWH, vWF:Ag ve vWF:Ricof düzeyi tesbit edilemeyecek kadar düşük, FVIII:C düzeyi genellikle %1-9 arası olan ve PFA-100 testinin heriki kartuşunun Kol/Epi ve Kol/ADP kapanma zamanının maksimum uzadığı, kanama semptomlarının şiddetli olması ile diğer tiplerden kolaylıkla ayrılan ve tanısı en kolay konan gruptur (52).

Desmopressin tedavisi sonrası tip 1 vWH'larında PFA-100 kapanma zamanı ile FVIII ve tüm vWF parametreleri arasındaki ilişki Favaloro ile Franchini ve ark, tarafından gösterilmiştir. Literatür ile uyumlu olarak çalışmamız tip1 vWH'larında tamamına yakın tedavi öncesi ve sonrası FVIII:C, vWF:Ag ve vWF:Ricof düzeyinde

2 ile 5 kat artışı göstermekte ve buna paralel in-vitro kanama zamanı (PFA-100®) testi kapanma zamanında normal süreye kısaltıldığının saptadık. Bunun sonucu tip 1 vWH'da desmopressin tedavisine yanıtta PFA-100'ün kullanılabileceği sonucuna vardık (53,54). Tip 1/tip2 vWH'larının yaklaşık yarısında desmopressin yanıtı alındı. Yanıtsız vakalarda uygulanan FVIII/vWF konsantresi infüzyonu sonrası FVIII, vWF:Ag ve vWF:Ricof plazma düzeyi yeterli olmasına rağmen PFA-100 kapanma zamanı normalleşmedi. Bu hastalardaki durumu J.J Michiels ve ark. plazma vWF multimer dağılımının göstergesi olan plazma vWF:CB/vWF:Ag oranının azalması olarak açıklamaktadırlar (51). Van Vliet ve ark, PFA-100 ile plazma konsantresi arasında ters ilişki olduğu ve PFA-100 cevabının hem fonksiyonel plazma vWF konsantrasyonuna hemde vWF:CB/vWF:Ag oranına bağlı olduğunu göstermişlerdir (55). Tip 2 vWH'da desmopressine yanıt olarak yalnızca bir vakada FVIII:C düzeyinde 5 kat, vWF:Ag düzeyinde hafif artış olmasına rağmen, vWF:Ricof düzeyinde artış gözlenmedi, buna paralel, in-vitro kanama zamanı (PFA-100) testi normalleşmedi ve yanıtsız olarak değerlendirildi. Diğer 6 olguda ise cevap alındı fakat bu sonuçlar literatür ile uyumlu bulunmadı. Çünkü tip 2 vWH' larında desmopressine yanıt %17 olarak belirtilmekle beraber bizde %87 gibi oldukça yüksek bulundu (56,57). Biz bu durumu bazı tip 1 vWH larının, tip 2 vWH ile uyumlu laboratuvar fenotipini gösterebileceğini bu vakaların ayırımında multimer analizi yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. Tip 3 vWH iki olgumuzda tedavi amaçlı verdiğimiz FVIII/vWF konsantrelerine yanıt olarak, FVIII:C, vWF:Ag ve vWF:Ricof plazma düzeyi artarken in-vitro kanama zamanında (PFA-100®) belirgin kısalma gözlenmedi. Bu durumu Meskal ve ark, tip 3 vWH'da FVIII/vWF konsantrelerinin plazma vWF düzeyini arttırmalarına rağmen, trombosit içi eksik vWF düzeyini arttırmaması

sonucu PFA-100 testinin tip 3 vWH'da faktör konsantrelerine karşı sensitivitesinin düşük olduğunu şeklinde açıklamaktadır (58,59).

PFA-100 testinin en güçlü özelliği primer hemostazı değerlendirmede hızlı yapılabilen kolay bir test olmasıdır. Ancak vWH tanısını koymak açısından sensitivitesinin yüksekliğine karşın spesifitesi düşüktür. PFA-100 testinin anormal sonucu yani kapanma zamanının uzaması hastada vWH ihtimalini akla getirsede tanı için spesifik testler yapılmalıdır. Ancak testin normal çıkması şiddetli bir vWH olmadığını ancak hafif tip 1 vWH olabileceğini göstermektedir (59-61). PFA-100 testinin özellikle tip1 vWH ve bazı tip2 vWH'nın tedavisinde kullanılan desmopressin yanıtı ve tedavisini değerlendirmede kullanılabileceği fakat tip2 vWH ve tip3 vWH'da tedavide kullanılan FVIII/vWF konsantrelerinin etkinliğini değerlendirmede ve takibinde yetersiz kaldığı sonucuna vardık (62,63). Söz konusu veri ülkemizde yapılan çalışmalarda şimdiye kadar tanımlanmayan çok değerli bir veridir. Desmopressin'e yanıt veren hastalarda tedavinin kan ürünleri kullanmadan ve kost-efektif olarak yapılabilmesi çalışmamızın değerini arttırmaktadır. Bunun yanında PFA-100'de elde edilen kapanma zamanı değerlerinin tanı sırasında tip ayırımında yardımcı veri olarak kullanılabilir olduğunun gösterilmesi de günlük pratikte genetik çalışmalara ülkemizde henüz başlanmış olan von willebrand hastalarında hematologlara yol gösterici değerde olacaktır. Kesin tip ayırımında rol oynamasa da klinik kanamalar açısından hekime uyarıcı olması hastanın takip ve tedavisi açısından katkı sağlayacaktır.

### **Sonuç olarak,**

Çalışmamız, in-vitro kanama zamanı (PFA-100®) testinin yalnızca Von Willebrand hastalığının tanı ve tiplendirilmesinde değil, aynı zamanda desmopressin yanıtının değerlendirilmesinde de hızlı ve güvenilir bir test olarak kullanılabileceği; fakat FVIII/vWF konsantrelerinin tedavide etkinliği ölçmede ve takibini değerlendirmede yetersiz kaldığını göstermektedir.

## Özet

Von Willebrand hastalığı, von Willebrand faktörün kalitatif ve/veya kantitatif eksikliği ile seyreden ve toplumda yaklaşık %1 oranında rastlanan herediter bir kanama hastalığıdır. vWH'nin tanısı klinik ve laboratuvar analizlerde bilgilerle konur. Ayırıcı tanıda ilk olarak vWF:Ag, vWF:RicoF, FVIII:C, az sayıda merkezde ise PFA-100® testi kullanılmaktadır. Çalışma birçok merkezin laboratuvarında kullanılan vWF:Ag, vWF:RicoF, FVIII:C gibi bazal testlerin yanısıra ve daha az sayıda merkezde kullanılan in-vitro kanama zamanı (PFA-100® testi) ile merkezimizdeki vWH'larının tiplendirmesini yapmak ve tedavide kullanılan DDAVP (Desmopressin) ve FVIII / vWF konsantrelerine karşı bu testlerin yanıtlarını değerlendirmek amacıyla planlandı.

Bu çalışma prospektif olarak analiz edildi. Çalışmaya kanama hikayesi olan 112 vWH tanılı hasta ve kanama hikayesi olmayan 47 sağlıklı çocuk kontrol grubu olarak alındı. Bütün olgulardan FVIII:C, vWF antigen, vWF:RicoF ve PFA-100® testi çalışıldı. Laboratuvar sonuçlarına göre hafif tip 1, tip 1, şiddetli tip 1/ tip 2 ve tip 3 olarak sınıflama yapıldı. Tedavide kullanılan DDAVP uygulaması öncesi ve 1 saat sonrası FVIII:C, vWF parametreleri ve PFA-100® testi arasındaki cevap ilişkisi analiz edildi. Tip 1 ve tip 2 hastalarının tamamına yakınında FVIII:C ve vWF parametrelerinde belirgin yükselme görüldü. Özellikle FVIII:C'de daha iyi cevap alındı. vWF parametrelerinde yükselmeyle paralel olarak PFA-100® testi normal kanama zamanına ulaştı. vWF parametreleriyle kapanma zamanı arasında zıt ilişki gözlemlendi. Tip 1/ Tip 2 tanılı ve desmopressine cevapsız olgularda FVIII:C ve vWF:Ag düzeyinde yükselme olurken, vWF:RicoF düzeyinde iyi cevap alınamadı ve PFA-100® testi ile normal kapanma zamanına ulaşamadı. Bu durum PFA-100® testinin düzelmesi için vWF:RicoF düzelmesinin gereğini gösterdi. Tip 3 vakalarında kullanılan

FVIII/vWF konsantrelerinin uygulanması sonucu FVIII:C ve vWF parametrelerinde belirgin yükselme görüldü fakat PFA-100® testi ile kanama zamanı yeterince düzelmedi. FVIII/vWF konsantrelerin tedavisinin takibinde vWF:RicoF ile PFA-100® testinin uyumlu olmadığı gözlemlendi. Çalışmamız, PFA-100® testinin yalnızca vWH'nın tanısında değil, desmopressin tedavisinin takibinde de kullanabileceğini fakat FVIII/vWF konsantre tedavilerinin takibinde kullanılmasının uygun olmadığını gösterdi.

## Summary

Von Willebrand disease (VWD) is caused by quantitative and/or qualitative deficiencies of von Willebrand Factor. It is the most common inherited bleeding disorder, with a reported prevalence up to 1% in the general population. The initial diagnosis of VWD is based on clinical and laboratory examination. Laboratory investigation typically entails initial plasma testing of factor VIII coagulant (FVIII:C), vWF:Ag and ristocetin cofactor (vWF:RCo) assay. The PFA-100® (platelet function analyzer) may also have a role in the identification of VWD. This study represents a prospective analysis of cases. All patients (n=112) admitted to the outpatient service of a positive bleeding history underwent a routine blood workup inclusive of haemostasis analysis. Blood from forty-seven (n=47) sex and age matched healthy children were also taken as the control group. They were evaluated in our laboratory for FVIII:C, vWF antigen, vWF:Ricof and PFA-100® test. According to the laboratory results, all cases were classified as the mild type 1, type 1, severe type 1 & type 2, type 2, type 3.

We have analysed the response relationship between PFA-100 CT (closure time) and the factor VIII:C and vWF parameters at the patients with type 1 and type 2 VWD before and after treatment with DDAVP. Type 1 VWD and type 2 VWD were characterised by prominent increment in all FVIII:C and vWF test parameters although more marked responses were consistently observed for FVIII:C. DDAVP treatment of patients with type 1 VWD and tip 2 were found to normalise the closure time in PFA-100 by increasing vWF levels to normal. In addition, there was a strong inverse relationship between closure time in PFA-100 and vWF parameters. In contrast, Type 1 & type 2 Unresponsive VWD individuals showed a distinctive pattern, with marked elevation in both FVIII:C and vWF:Ag, but insufficient response

in vWF:RCo. Prolonged PFA-100 closure time tended not to correct in these patients.

Our observations concluded that, PFA-100 system may be useful not only diagnosis and classification of von Willebrand disease but also useful for monitoring of Desmopressin response in these patients. However, PFA-100 system is not efficient for monitoring of treatment with FVIII/vWF concentrates in von willebrand disease.

## Kaynaklar

1. Haberichter SL, Montgomery RR. Structure and function of von Willebrand factor. In: Colman RW, Marder VJ, Clowes AW, George JN, Goldhaber SZ, eds. Hemostasis and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia, PA: Lippincott Williams& Wilkins, 2006: 707–22.
2. Fowler WE, Fretto LJ. Electron microscopy of von Willebrand factor. In: Zimmerman TS, Ruggeri ZM, eds. Coagulation and Bleeding Disorders. The Role of Factor VIII and von Willebrand Factor. New York: Dekker, 1989: 181–93.
3. Nesheim M, Pittman DD, Giles AR, et al. The effect of plasma von Willebrand factor on the binding of human factor VIII to thrombin-activated human platelets. J Biol Chem 1991; 266: 17815–17820.
4. Sadler JE, Mannucci PM, Berntorp E, et al. Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand Disease. Thromb Haemost 2000; 84: 160–74.
5. Federici AB, Mannucci PM. Diagnosis and management of von Willebrand disease. Haemophilia 1999; 5:28–37.
6. Shankaran H, Alexandridis P, Neelamegham S. Aspects of hydrodynamic shear regulating shear-induced platelet activation and self-association of von Willebrand factor in suspension. Blood 2003; 101: 2637-45.
7. Galbusera M, Zoja C, Donadelli R, et al. Fluid shear stress modulates von Willebrand factor release from human vascular endothelium. Blood 1997; 90: 1558–64.

8. Cramer EM, Breton-Gorius J, Beesley JE, Martin JF. Ultrastructural demonstration of tubular inclusions coinciding with von Willebrand factor in pig megakaryocytes. *Blood* 1988; 71: 1533–8.
9. Kato K, Kanaji T, Russell S, et al. The contribution of glycoprotein VI to stable platelet adhesion and thrombus formation illustrated by targeted gene deletion. *Blood* 2003; 102: 1701–7.
10. Reininger AJ, Heijnen HF, Schumann H, et al. Mechanism of platelet adhesion to von Willebrand factor and microparticle formation under high shear stress. *Blood* 2006; 107: 3537–45.
11. Donadelli R, Orje JN, Capoferri C, Remuzzi G, Ruggeri ZM. Size regulation of von Willebrand factor- mediated platelet thrombi by ADAMTS13 in flowing blood. *Blood* 2006; 107: 1943–50.
12. Ruggeri ZM, De Marco L, Gatti L, Bader R, Montgomery RR. Platelets have more than one binding site for von Willebrand factor. *J Clin Invest* 1983; 72:1–12.
13. Savage B, Almus-Jacobs F, Ruggeri ZM. Specific synergy of multiple substrate-receptor interactions in platelet thrombus formation under flow. *Cell* 1998; 94: 657–66.
14. Federici AB, Castaman G, Mannucci PM, Italian Association of Hemophilia Centers (AICE). Guidelines for the diagnosis and management of von Willebrand disease in Italy. *Haemophilia* 2002; 8: 607–21.
15. Eikemboom JCJ, Castaman G, Vos HL, et al. Characterization of the genetic defects in recessive Type 1 and Type 3 von Willebrand Disease Patients of Italian origin. *Thromb Haemost* 1998; 79: 709–17.

16. Federici AB, De Groot PG, Moia M et al. Type 1 von Willebrand disease, subtype platelet low decreased platelet adhesion can be explained by low synthesis of von Willebrand factor in endothelial cells. *Br J Haematol* 1993; 83: 88–93.
17. Meyer D, Fressinaud E, Gaucher C et al. Gene defects in 150 unrelated French cases with type 2 von Willebrand disease. From the patient to the gene. INSERM Network on Molecular Abnormalities in von Willebrand Disease. *Thromb Haemost* 1997; 78: 451–6.
18. Lyons SE, Bruck ME, Bowie EJW, et al. Impaired intracellular transport produced by a subset of type II A vWD mutations. *J Biol Chem* 1992; 267: 4424–30.
19. De Groot PG, Federici AB, De Boer HC, et al. vWF synthesized by endothelial cells from a patient with type II B supports platelet adhesion normally but has an increased affinity for platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 3793–7.
20. Hillery CA, Mancuso DJ, Sadler JE, et al. 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: 1572–81.
21. Mazurier C, Goudemand J, Hilbert L, et al. Type 2N von Willebrand disease: clinical manifestations, pathophysiology, laboratory diagnosis and molecular biology. *Best Prac Res Clin Hematol*, 2001; 14: 337–47.
22. Zhang ZP, Blomback M, Egberg N, et al. Characterization of the von Willebrand factor (vWF) gene in von Willebrand disease type III patients from 24 families of Swedish and Finnish origin. *Genomics* 1994; 21: 188–93.

23. Schneppenheim R, Krey S, Bergman F, et al. Genetic heterogeneity of severe von Willebrand disease type III in the German population. *Hum Genet* 1994; 94: 640–52.
24. Nitu-Whalley IC, Riddell A, Lee CA, et al. Identification of type 2 von Willebrand disease in previously diagnosed type 1 patients: a reappraisal using phenotypes, genotypes and molecular modelling. *Thromb Haemost* 2000; 84: 998–1004.
25. Favaloro EJ, Smith J, Petinos P, Hertzberg M, Koutts J. Laboratory testing for von Willebrand 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: 1276–82.
26. Vanhoorelbeke K, Cauwenberghs N, Vauterin S, Schlamadinger A, Mazurier C, Deckmyn H. A reliable and reproducible ELISA method to measure ristocetin cofactor activity of von Willebrand factor. *Thromb Haemost* 2000; 83: 107–13.
27. 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.
28. Favaloro EJ. Von Willebrand factor (vWF) collagen binding (activity) assay (vWF:CBA) in the diagnosis of von Willebrand's disorder (VWD): a 15-year journey. *Semin Thromb Hemost* 2002; 28:191–202.
29. Budde U, Schneppenheim R, Plendl H, Dent J, Ruggeri ZM, Zimmerman TS. Luminographic detection of von Willebrand factor multimers in agarose gels and on nitrocellulose membranes. *Thromb Haemost* 1990; 63:312–5.

30. Castaman G, Federici AB, Rodeghiero F, Mannucci PM. Von Willebrands disease in the year 2003: towards the complete identification of gene defects for correct diagnosis and treatment. *Haematologica* 2003;88: 94–108
31. Reinenger AJ. Function of von Willebrand factor in haemostasis and thrombosis. *Haemophilia* (2008), 14 (Suppl. 5), 11–26.
32. Favaloro EJ. Laboratory identification of von Willebrand Disease: Technical and scientific perspectives. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32: 456–471.
33. Yilmaz D, Karapınar B, Yeniay BS, Balkan C, Bilenoğlu B, Kavaklı K. İzmir’de Von Willebrand Hastalığı sıklığını belirtmeye yönelik epidemiyolojik çalışma. *Ege Pediatri Bülteni* 2005;12(3):151-159.
34. Gürsel T, Kavaklı K, Aktuğlu G, ve ark. Hemofili ve von Willebrand Hastalığında Tanı ve Tedavi, Türk Hematoloji Derneği-Hemofili Alt Komitesi Rehberi, İstanbul.1999,2-5.
35. Federici AB, Mazurier C, Berntorp E, et al. Biologic response to desmopressin in patients with severe type 1 and type 2 von Willebrand disease. Results of a multicenter European study. *Blood* 2004; 103: 2032–8.
36. Sadler JE, Budde U, Eikenboom JCJ, Favaloro EJ, et al. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the subcommittee on von Willebrand factor. *J Thromb Hemostasis*: 2006;4: 2103-2114.
37. Favaloro EJ. Clinical utility of the PFA-100. *Semin Thromb Hemost*. 2008 Nov;34(8): 709-733.
38. Zhang Z, Lindstedt M, Blomback M, Anvret M. Effects of mutant von Willebrand factor gene in von Willebrand disease. *Hum Genet* 1995; 96: 388,

39. Favaloro EJ. The utility of the PFA-100 in identification of von Willebrand Disease: A concise review. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32: 537–545.
40. Nichols WL, Hultin MB, James AH, et al. von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). *Haemophilia* 2008; 14:171–232.
41. James PD, Paterson AD, Notley C, et al. Genetic linkage and association analysis in type 1 von Willebrand disease: results from the Canadian type 1 VWD study. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 783–92.
42. Casana P, Martinez F, Haya S, Espinos C, Aznar JA. Significant linkage and non-linkage of type 1 von Willebrand disease to the von Willebrand factor gene. *Br J Haematol* 2001; 115: 692–700.
43. Castaman G, Eikenboom JC, Bertina RM, Rodeghiero F. Inconsistency of association between type 1 von Willebrand disease phenotype and genotype in families identified in an epidemiological investigation. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1065–70.
44. Dean JA, Blanchette VS, Carcao MD et al. Von Willebrand disease in a pediatric-based population: comparison of type 1 diagnostic criteria and use of the PFA-100 and a von Willebrand factor/collagen-binding assay. *Thromb Haemost* 2000; 84: 401–9.
45. Favaloro EJ. Template bleeding time and PFA-100 have low sensitivity to screen patients with hereditary mucocutaneous hemorrhages: comparative study of 148 patients—a rebuttal. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 2280–2282.

46. Posan E, McBane RD, Grill DE, Motsko CL, Nichols WL. Comparison of PFA-100 testing and bleeding time for detecting platelet hypofunction and von Willebrand disease in clinical practice. *Thromb Haemost* 2003; 90: 483–490
47. Nitu-Whalley IC, Lee CA, Griffioen A, Jenkins PV, Pasi KJ. Type 1 von Willebrand disease - a clinical retrospective study of the diagnosis, the influence of the ABO blood group and the role of the bleeding history. *Br J Haematol* 2000; 108: 259–64.
48. Eikenboom J, Van Marion V, Putter H, et al. Linkage analysis in families diagnosed with type 1 von Willebrand disease in the European study, molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 VWD. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 774–82.
49. Nitu-Whalley IC, Riddell A, Lee CA, et al. Identification of type 2 von Willebrand disease in previously diagnosed type 1 patients: a reappraisal using phenotypes, genotypes and molecular modelling. *Thromb Haemost* 2000; 84: 998–1004.
50. Federici AB, Mazurier C, Berntorp E, et al. Biologic response to desmopressin in patients with severe type 1 and type 2 von Willebrand disease: results of a multicenter European study. *Blood* 2004; 103: 2032–8.
51. Michiels JJ, van de Velde A, van Vliet HH, van der Planken M, Schroyens W, Berneman Z. Response of von Willebrand factor parameters to desmopressin in patients with type 1 and type 2 congenital von Willebrand disease: diagnostic and therapeutic implications. *Semin Thromb Hemost* 2002; 28: 111–132.
52. Büyükaşık Y, Karakuş S, Göker H, et al. Rational use of the PFA-100 device for screening of platelet function disorders and von Willebrand disease. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2002; 13:349–53.

53. Favaloro 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;7:180–89.
54. Franchini M, Gandini G, Manzato F, et al. Evaluation of the PFA-100 system for monitoring desmopressin therapy in patients with type 1 von Willebrand's disease. *Haematologica* 2002; 87: 670.
55. van Vliet HHDM, Kappers-Klunne MC, Leebeek FWG, et al. PFA-100 monitoring of von Willebrand factor (vWF) responses to DDAVP and FVIII/vWF concentrate substitution in von Willebrand disease type 1 and 2. *Thromb Haemost* 2008; 100: 462-468.
56. Favaloro EJ, Bonar R, Kershaw G, et al. Laboratory diagnosis of von Willebrand's disorder: quality and diagnostic improvements driven by peer review in a multilaboratory test process. *Haemophilia* 2004; 10: 232–42.
57. Meyer D, Fressinaud E, Hilbert L, Ribba AS, Lavergne JM, Mazurier C. Type 2 von Willebrand disease causing defective von Willebrand factor-dependent platelet function. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001; 14: 349–64.
58. Meskal A, Vertessen F, Van der Planken M, et al. The Platelet Function Analyzer (PFA-100) may not be suitable for monitoring the therapeutic efficiency of von Willebrand concentrate in type III von Willebrand disease. *Ann Hematol* 1999; 78: 426–430.
59. Michiels JJ, van Vliet HH, Berneman Z, et al. Intravenous DDAVP and factor VIII-von Willebrand factor concentrate for the treatment and prophylaxis of bleedings in patients with von Willebrand disease type 1, 2 and 3. *Clin Appl Thromb Hemost* 2007; 13: 14–34.

60. Favalaro EJ. A better approach to monitoring of therapy in von Willebrand disease? *Thromb Haemost.* 2008 Sep;100(3): 371-3.
61. Franchini M. The platelet function analyzer (PFA-100): an update on its clinical use. *Clin Lab.* 2005;51:367-72.
62. Karger R, Donner-Banzhoff N, Müller HH, Kretschmer V, Hunink M. Diagnostic performance of the platelet function analyzer (PFA-100) for the detection of disorders of primary haemostasis in patients with a bleeding history-a systematic review and meta-analysis. *Platelets.* 2007 Jun;18(4): 249-60.
63. Favalaro EJ. Clinical utility of the PFA-100. *Semin Thromb Hemost.* 2008 Nov;34(8): 709-33.
64. Hayward CP, Harrison P, Cattaneo M, Ortel TL, Rao AK. The Platelet Physiology Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Platelet function analyzer (PFA-100) closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. *J Thromb Haemost.* 2006 Feb;4(2): 312-9.

EKLER:

**ÇALIŞMAYA DAHİL OLAN TÜM HASTALARIN TANIMLAMASI**  
**VE**  
**LABORATUVAR SONUÇLARI**

**Tablo 13. Hafif tip 1 von Willebrand Hastalarının tanımlanması**

	isim	yaş (yıl)	kan grubu	FVIII:C	vWF:Ag	vWF:Ricof	PFA100	
							Kol/Epi	Kol /ADP
1	M.A	7	B	64	54	47	101	72
2	O.Z	11	0	84	70	44	107	73
3	K.A	15	AB	68	48	52	80	61
4	T.D	12	AB	76	56	44	86	58
5	D.Ç	19	B	93	50	48	134	88
6	K.K	13	0	66	51	46	128	83
7	B.T	16	0	66	54	43	102	79
8	T.G	12	A	60	50	57	159	94
9	İ.T	17	0	66	54	47	192	96
10	C.T	12	B	60	55	40	146	96
11	S.S	10	A	87	50	45	153	95
12	S.T	17	A	88	56	54	128	80
13	H.Y	9	0	76	52	50	113	81
14	O.K	12	0	74	56	50	132	96
15	C.Ç	15	B	79	60	40	134	107
16	M.K	11	A	68	54	54	93	72
17	T.O	6	0	89	53	44	147	84
18	K.Y	12	0	67	56	57	154	103
19	B.U	13	0	66	55	50	133	99
20	H.R	16	0	81	70	57	115	88
21	K.F	18	A	75	50	44	131	81
22	M.Y	8	0	66	56	40	136	92
23	O.G	8	A	74	54	43	151	99
24	F.U	16	0	75	56	43	156	79
25	K.N	16	A	84	58	41	105	76
26	B.O	9	0	88	65	56	146	140
27	F.T	6	0	87	53	43	132	93
28	İ.N	14	A	86	70	43	123	80
29	S.O	5	0	79	60	57	158	89
30	G.A	8	A	67	65	43	166	98
31	F.A	14	AB	60	63	52	120	89
32	K.K	11	A	79	65	44	182	101
33	Y.A	14	0	64	68	59	155	102
34	U.Z	16	0	67	63	42	143	108

**Tablo 14. Tip 1 von Willebrand hastalarının tanımlanması**

	isim	Yaş (yıl)	Kan grubu	FVIII:C	vWF:Ag	vWF:Ricof	PFA100	
							Kol/EPI	Kol/ADP
1	Y.K	21	B	51	34	24	300A	122
2	M.İ	26	0	48	39	41	134	82
3	O.U	19	0	64	42	50	168	119
4	O.Ç	13	A	43	45	48	178	120
5	D.E	21	0	41	50	33	158	106
6	D.V	18	0	55	44	39	160	98
7	K.K	19	A	46	36	36	172	102
8	S.E	22	A	42	33	44	164	100
9	O.M	10	0	56	30	38	137	79
10	O.Ö	9	0	64	56	32	300A	113
11	U.Y	17	B	45	40	39	248	172
12	E.U	6	0	44	46	48	174	103
13	M.E	4	0	57	41	38	118	91
14	C.İ	8	A	54	30	33	168	112
15	İ.Ç	9	0	67	37	38	96	91
16	E.E	10	A	42	60	41	136	92
17	Y.F	8	A	70	53	44	173	92
18	F.G	3	0	46	57	50	228	118
19	K.R	12	0	68	52	50	170	89
20	G.A	5	AB	60	49	46	161	98
21	S.A	15	A	52	37	26	>300A	208
22	V.K	4	0	51	40	32	265	156
23	H.H	14	B	60	46	50	153	128
24	A.F	10	A	54	42	38	198	140
25	K.D	14	0	56	44	32	130	138
26	G.C	10	0	51	50	50	159	157
27	M.N	8	A	46	40	30	190	113
28	N.O	3	0	49	43	43	166	131
29	F.İ	12	A	54	42	33	223	300

**Tablo 15. Şiddetli Tip 1/Tip 2 von Willebrand hastalarının tanımlanması**

	Yaş (yıl)	isim	Kan grubu	FVIII:C	vWF:Ag	vWF:Ricof	PFA-100	
							Kol/Epi	Kol /ADP
1	13	A.U	B	32	26	12,5	>300A	>300A
2	1	N.Ö	0	22	26	6	>225	>207
3	10	S.B	0	40	17	4	>292	>246
4	24	A.B	A	17	27	7	>300	>244
5	13	M.S	0	12	15	10	224	188
6	1	U.G	0	10	22	14	214	190
7	6	E.A	A	42	23	28	>254	>245
8	6	M.K	A	28	23	8	212	168
9	8	A.T	0	40	30	12	263	170
10	7	S.D	0	36	17	8	243	150
11	14	U.B	B	27	8	4	>236	>211
12	10	F.A	0	26	26	13	>300A	>300A

**Tablo 16. Tip 2 von Willebrand Hastalarının tanımlanması**

	Yaş (yıl)	İsim	Kan grubu	FVIII:C	vWF:Ag	vWF:RicoF	PFA-100	
							Kol/Epi	Kol/ADP
1	11	N.E	0	78	52	20	276	224
2	7	A.İ	A	88	39	12	224	212
3	12	Ç.G	B	50	73	6	225	222
4	5	B.B	0	95	34	13	>300A	216
5	9	E.B	B	105	92	38	>300A	82
6	8	E.E	0	82	41	28	276	216
7	11	A.E	0	71	22	33	>300E	>300A
8	11	Ö.Ö	0	78	59	38	>220E	137
9	8	M.S	A	84	79	5	300	263
10	15	E.B	0	92	79	4	225	196
11	15	A.G	0	112	58	33	221	156
12	15	T.B	0	88	74	33	162	156
13	6	A.G	A	66	77	13	212	159
14	8	F.A	0	76	86	23	>300A	223
15	4	G.A	B	51	75	38	300	155
16	23	M.A	AB	72	56	24	>300A	>300A
17	24	S.S	A	60	67	16	>282E	186
18	6	N.Y	0	71	50	28	200	167
19	14	M.O	0	86	68	27	230	172
20	15	G.Z	A	76	72	27	265	227
21	18	C.A	0	71	50	27	215	185
22	7	Ö.D	0	92	84	27	227	169
23	7	G.P	A	70	79	38	>222A	168

**Tablo 17. Tip 3 von Willebrand hastalarının tanımlanması**

	Yaş (yıl)	isim	Kan grubu	FVIII:C	vWF:Ag	vWF:Ricof	PFA-100	
							Kol/Epi	Kol/ADP
1	16	D.D	AB	3,3	0	0	>219E	>300A
2	13	S.T	B	1	1	16	>300A	>275D
3	12	E.G	A	1	2	2	256	244
4	18	Z.T	A	2	2	12	>264E	>232D
5	24	İ.Ç	AB	2	0	13	>300A	>300A
6	23	Y.K	B	3	4	6	>300A	>267E
7	2	B.Ö	A	1	2	6	>247E	>247C
8	21	B.S	0	8	2	7	264	222
9	12	A.K	0	7	5	4	268	218
10	20	V.A	B	3	1	1	256	232
11	25	O.Z	B	2	6	4	>300A	>300A
12	19	Y.Ç	A	1	0	11	>300A	>300A
13	2	U.Y	B	1	1	13	267	229
14	3	M.A	0	9	0	17	>300A	>297D

**Tablo 18. Kontrol grubunun tanımlanması**

	Yaş (yıl)	isim	Kan grubu	FVIII:C	vWF:Ag	vWF:Ricof	PFA-100	
							Kol/Epi	Kol/ADP
1	6	S.D	0	81	63	72	143	88
2	4	Ç.A	B	84	102	111	98	68
3	7	M.Ç	A	128	91	120	144	76
4	8	D.P	0	74	128	120	103	64
5	11	U.B	0	142	110	72	110	64
6	4	S.T	0	12	72	116	130	77
7	8	M.E	0	196	96	120	103	67
8	12	M.A	0	68	56	68	146	91
9	14	A.E	A	79	88	79	135	86
10	5	H.O	A	65	86	118	136	76
11	6	M.I	A	124	68	57	138	101
12	5	N.F	A	174	120	120	80	57
13	5	K.E	0	84	80	95	151	111
14	9	Y.S	A	115	118	120	126	83
15	10	A.R	0	105	110	88	138	77
16	11	D.U	0	98	96	95	144	98
17	12	U.K	0	66	60	69	146	96
18	4	K.K	0	77	86	120	129	94
19	7	Y.A	0	116	168	120	145	79
20	8	M.A	0	78	78	95	133	86
21	5	G.S	0	70	104	120	139	86
22	11	F.A	0	70	54	95	137	83
23	12	U.L	A	79	93	120	137	96
24	16	Ş.F	A	120	115	81	151	98
25	17	Y.A	B	83	113	88	139	79
26	4	B.O	B	88	95	88	131	89
27	6	V.R	A	86	78	102	136	88
28	5	N.Ö	0	108	95	102	153	94
29	10	K.T	A	75	151	109	92	69
30	8	H.U	0	111	149	116	128	72
31	4	E.R	A	67	119	81	128	88
32	6	T.O	A	100	119	109	136	83
33	7	M.E	0	71	68	75	138	86
34	9	N.G	0	82	92	63	144	96
35	5	I.L	0	86	67	69	130	92
36	3	Y.B	B	95	95	109	132	74
37	6	C.B	O	73	72	75	135	86
38	10	D.K	O	129	126	81	131	88
39	9	B.K	0	99	114	64	138	76
40	8	G.S	A	73	108	59	146	87
41	11	B.O	0	101	107	87	66	86
42	13	N.Y	0	98	88	59	137	92
43	5	P.K	A	120	156	120	131	82
44	4	D.P	0	97	108	77	135	95
45	7	A.N	0	88	128	120	136	88
46	10	K.B	A	82	103	87	111	80
47	11	K.F	B	58	78	68	122	105