โรควอนวิลลิแบรนด์

(von Willebrand disease)

รศ.พญ.ดารินทร์ ซอโสตถิกุล
ภาควิชากุมารเวชศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โรควอนวิลลิแบรนด์ (vWD) เป็นโรคเลือดออกง่ายทางพันธุกรรมชนิดหนึ่งที่พบบ่อยที่สุดในประชากรทั่วโลก ในปี ค.ศ.1926 Dr. Eric Adolf von Willebrand[1] มีรายงานโรคนี้เป็นครั้งแรกจากครอบครัวของผู้ป่วยที่อาศัยอยู่ที่เกาะ Åland ซึ่งอยู่ระหว่างประเทศฟินแลนด์และสวีเดน ผู้ป่วยจะมีภาวะเลือดออกง่าย และมักมีเลือดออกตามเยื่อบุตามผนังต่างๆ และในผู้หญิงพบว่ามีประจำเดือนมามากและนานเกินสัปดาห์ (menorrhgia) หรือ มีภาวะเลือดออกรุนแรงจนเสียชีวิต ต่อมาในปี ค.ศ.1950 มีการค้นพบว่าผู้ป่วยโรคนี้มีระดับของแฟคเตอร์ VIII (FVIII) ในเลือดต่ำ และการให้ส่วนประกอบของพลาสมาจากคนปกติจะสามารถทำให้เลือดหยุดได้[2-6] และต่อมาทราบว่าโรคนี้เกิดจากความผิดปกติของโปรตีนในพลาสมา ที่เรียกว่าวอนวิลลิแบรนด์แฟคเตอร์ (von Willebrand factor; vWF)

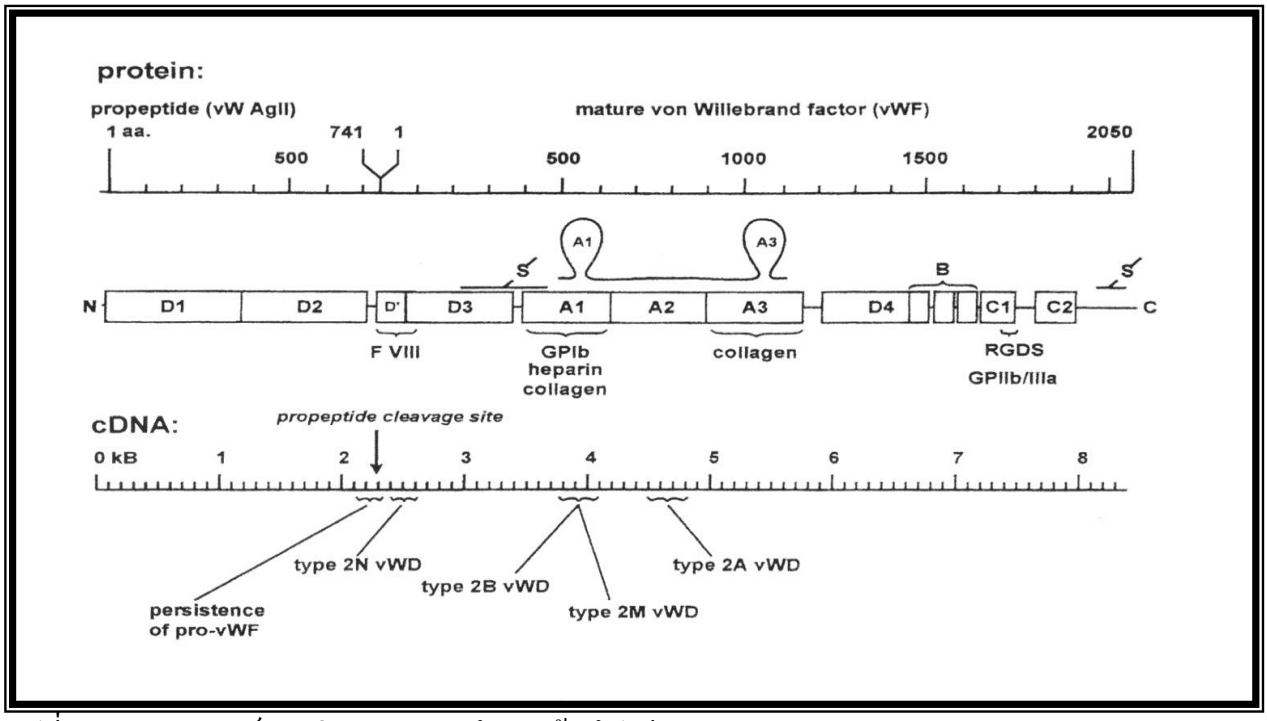
ในปี ค.ศ.1972 มีการค้นพบความผิดปกติทางพันธุกรรมของโรคนี้ รวมถึง ค้นพบวิธีการตรวจพิเศษที่ทำให้ทราบถึงโครงสร้างของ vWF[7] และนำมาใช้ในการแบ่งแยกชนิดต่างๆของโรค[8-10] ในปี ค.ศ.1985 มีการค้นพบโครงสร้างทางอณูพันธุศาสตร์ โดยใช้วิธี protein sequencing และ cDNA cloning[11-14] และจากความรู้ดังกล่าวทำให้พบความผิดปกติทางพันธุกรรมต่างๆ มากมายในผู้ป่วยโรคนี้ ปัจจุบันพบลักษณะความผิดปกติทางพันธุกรรมมากกว่า 250 ชนิด[15, 16]

บทบาทหน้าที่สำคัญของ vWF ในกลไกการห้ามเลือด คือ vWF มีหน้าที่เชื่อมเกล็ดเลือดให้ติดกับ endothelial cells [17, 18] และอีกหน้าที่หนึ่ง คือ ช่วยจับกับ FVIII ในกระแสเลือด เพื่อป้องกันไม่ให้ FVIII ถูกทำลายเร็วเกินไป[19] ดังนั้นความผิดปกติของ vWF ก่อให้เกิดปัญหาเลือดออกง่ายจากกลไกการห้ามเลือดทั้งปฐมภูมิและทุติยภูมิ (Primary and Secondary Hemostasis)

การควบคุมการสร้าง และการหลั่งของ vWF

ยีนควบคุม vWF อยู่บนแขนสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 12 ซึ่งมีขนาด 178 กิโลเบส ประกอบด้วย 52 exons[11-14] vWF สร้างมาจากเซลล์ของ endothelial และ megakaryocytes และถูกนำมาเก็บสะสมไว้ ใน secretory granules คือ Weibel-Palade body ในเซลล์ของ endothelium หรือ alpha-granule ในเกล็ดเลือด[20] โดยที่ vWF เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีขนาดใหญ่ (large multimeric protein) ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 2791 ตัว หรือเรียกว่า pro-vWF ในรูปที่ 1 และ pro-vWF จะถูกตัดย่อยเป็น vWF propeptide หรือเรียกว่า vWF antigen II และ mature vWF ซึ่งมีขนาด 230 กิโลดาลตัน (kd) หลังจากนั้นมีการสร้าง disulfide bond เชื่อมต่อโมเลกุลของ vWF จาก monomer กลายเป็น dimmer และ

จนในที่สุดมีขนาดใหญ่ขึ้นเป็น multimers ซึ่ง multimers นี้มีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ขนาดเล็ก 500 kd dimer จนถึงขนาดใหญ่ 20 million Dalton multimers (Low, Intermidiate และ High molecular weight multimers) และแต่ละชนิดมีหน้าที่แตกต่างกันในกลไกการห้ามเลือด



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่าง DNA และโครงสร้างโปรตีนของ pro-vWF

Multimers ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ซึ่งพบเป็นส่วนใหญ่ของ vWF ที่สร้างขึ้นมาใหม่ มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการจับกับ FVIII ส่งผลให้เกิดการสร้าง fibrin clot อย่างสมบูรณ์ และ multimers ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ จะมีปริมาณของตำแหน่งที่จับกับเกล็ดเลือดจำนวนมาก (platelet – binding sites) โดยแต่ละ multimeric subunit จะมีตำแหน่งจับกับ Glycoprotein Ib บนผิวของเกล็ดเลือดที่ไม่ถูกกระตุ้น (non-activated platelets) และ Glycoprotein IIb/IIIa บนผิวเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้น (activated platelets) ดังนั้น ในส่วนของโมเลกุลขนาดใหญ่ จึงมีหน้าที่ในกลไกการห้ามเลือดของระยะปฐมภูมิ ทั้งการเกาะยึดติดและการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด [21-23]

หน้าที่ของแต่ละ domain บนโมเลกุลของ mature subunit ของ vWF (รูปที่ 1)

vWF propeptide ประกอบไปด้วย domain ต่างๆ ตามการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโน แบ่งออกเป็น A, B, C, D domains และในแต่ละ domain เอง มีการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนซ้ำกันเป็นช่วงๆ เช่น A domain แบ่งย่อยเป็นส่วนๆ คือ A1, A2 และ A3 และในแต่ละส่วนย่อยนี้มีหน้าที่แตกต่างกันดังนี้

A1 domain เป็นตำแหน่งที่จับกับ glycoprotein Ib บนเกร็ดเลือด, heparin, collagen และ ristocetin[24-26]

A2 domain เป็นตำแหน่ง clevage ของ ADAMTS 13[25, 27]

A3 domain เป็นตำแหน่งสำคัญที่จับกับ collagen[25]

C1 domain เป็นตำแหน่งที่จับกับ glycoprotein IIb/IIIa[28]

D และบางส่วนของ D3 domain เป็นตำแหน่งจับกับ FVIII[29, 30]

การแบ่งชนิดของโรควอนวิลลิแบรนด์ (vWF) เป็น 3 ชนิดใหญ่ คือ

- ชนิดที่ 1 หรือ Partial Quantitative Deficiency มีปริมาณของ vWF ในเลือดลดลง โดยที่โครงสร้างของ vWF ปกติ
- ชนิดที่ 2 หรือ Qualitative deficiency มีโครงสร้างของ vWF ที่ผิดปกติ และมีการแบ่งย่อยเป็น 4 ชนิดย่อย (Type 2A, 2B, 2M และ 2N) ตามลักษณะทาง clinical phenotype
- ชนิดที่ 3 หรือ Total deficiency ตรวจไม่พบ หรือมี vWF น้อยมากในเลือด ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การแบ่งชนิดของโรควอนวิลลิแบรนด์

ชนิด	ลักษณะสำคัญ
1	Partial deficiency (person has reduced levels of qualitatively [functionally] normal vWF)
2A	Qualitative variant, decreased vWF-dependent platelet function due to absence of high molecular weight (HMW) multimers
2B	Qualitative variant, increased affinity of vWF for platelet glycoprotein Gp1b leading to loss of HMWvWF multimers from the plasma
2M	Qualitative variant, decreased vWF-dependent platelet function not due to loss of HMW multimers
2N	Qualitative variant, decreased affinity of vWF for factor VIII leading to factor VIII deficiency, vWF-dependent platelet function is normal
3	Total quantitative deficiency

ลักษณะที่สำคัญและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการในแต่ละชนิดของโรควอนวิลลิแบรนด์

Type 1 หรือ Partial Quantitative Defects เป็นชนิดที่พบมากที่สุดคือ ร้อยละ 70-80 ของผู้ป่วยทั้งหมด และถ่ายทอดทางพันธุกรรมชนิด autosomal dominant และพบความผิดปกติของยีนหลายชนิด ได้แก่ frameshifts และ nonsense mutations หรือภาวะการแหว่งหายของยีน (deletions)[31-33] ทำให้การสร้าง vWF มีปริมาณลดลง โดยที่โครงสร้างของ vWF ปกติ

อาการของภาวะเลือดออกง่ายในผู้ป่วยกลุ่มนี้ มีตั้งแต่รุนแรงน้อย ไปจนถึงอาการรุนแรงปานกลาง ส่วนใหญ่มักจะมีจุดจ้ำเขียว หรือมีเลือดกำเดาไหล และมีเลือดออกตามไรฟันบ่อยๆ และในผู้หญิงมักจะมีประจำเดือนมามากและนานเกินสัปดาห์ นอกจากนี้ผู้ป่วยบางกลุ่มของ Type 1 ไม่มีอาการเลือดออกเลย (asymptomatic) แต่ตรวจพบได้โดยบังเอิญ ซึ่งเป็นผลมาจากการศึกษาในญาติพี่น้องของผู้ป่วยโรคนี้ ชนิด Type 3 และพบว่าบางคนที่มีความผิดปกติของ

mutant allele เพียงยีนเดียว ไม่จำเป็นต้องมีเลือดออก โดยจะมีหรือไม่มีอาการเลือดออก เชื่อว่าขึ้นกับปฏิกิริยาระหว่างยีน haplotypes ส่งผลให้มีการแสดงต่อ receptor ของ specific platelet collagen adhesion ลดลงหรือไม่[34, 35]

นอกจากนี้ ปัจจัยทางพันธุกรรมในเรื่องของหมู่เลือดมีผลต่อการแสดงของโรคนี้ พบว่าผู้ป่วยหมู่เลือด กรุ๊ป โอ จะมีระดับของ vWF antigen (vWF : Ag) ต่ำที่สุด คือร้อยละ 75 ในขณะที่ผู้ป่วยที่มีหมู่เลือดกรุ๊ป เอบี จะมีระดับของ vWF : Ag สูงสุด คือร้อยละ 124 ตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของหมู่เลือด ABO ต่อระดับของวอนวิลลิแบรนด์แอนติเจนในเลือด[36]

		vWF:ag (percentage of pooled normal plasma standard)	
ABO type	**n**	**Geometric Mean**	**Geometric Mean ± 2 SD**
O	456	74.8	35.6-157.0
A	340	105.9	48.0-233.9
B	196	116.9	56.8-241.0
AB	109	123.3	63.8-238.2

vWF, von Willebrand factor.

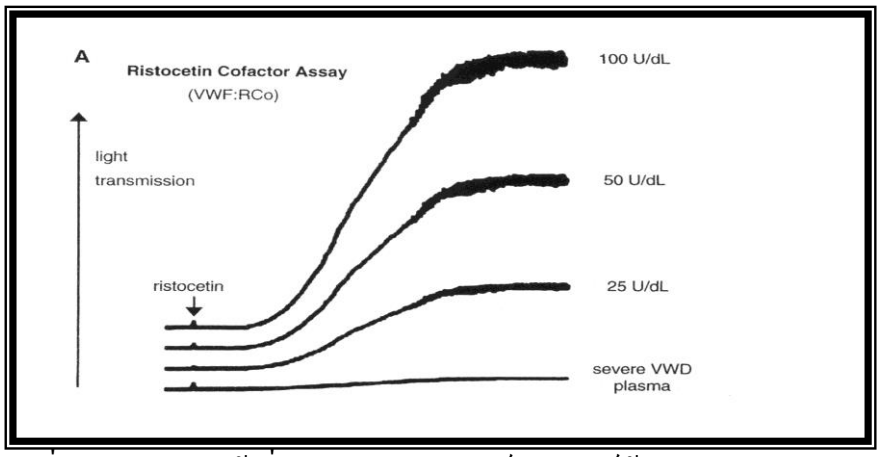
The groups were statistically different from each other as follows: O versus A, B, and AB, $P < 0.01$; A versus AB, $p < 0.01$; B versus A, $p < 0.05$

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น ได้แก่ Bleeding time (BT) และ Coagulogram (aPTT, PT) พบว่าในผู้ป่วยกลุ่มนี้พบร้อยละ 50 ที่มี BT ยาวกว่าค่าปกติ และพบเพียงร้อยละ 25 ของผู้ป่วยกลุ่มนี้ที่มี aPTT ยาวกว่าค่าปกติ ดังนั้นจึงเป็นการตรวจวัดที่ไม่ไว และมีความจำเพาะต่ำ จึงจำเป็นต้องใช้การตรวจทางห้องปฏิบัติการที่จำเพาะ ได้แก่

1. การตรวจระดับ FVIII มักพบว่า FVIII จะต่ำในกลุ่มนี้

2. การตรวจวัดปริมาณของ vWF คือ vWF:Ag โดยวิธี ELISA (enzyme-linked immunoabsorbent assays)[37] มักจะต่ำในผู้ป่วยกลุ่มนี้

3. การตรวจดูหน้าที่ของ vWF ได้แก่ วิธี Ristocetin cofactor activity (vWF:RCo) เป็นการตรวจหน้าที่ของ vWF ของผู้ป่วยในการทำให้เกล็ดเลือดของคนปกติมีการเกาะกลุ่มกัน โดยอาศัยการกระตุ้นของ ristocetin[38] และการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดจะมากหรือน้อยขึ้นกับปริมาณของ vWF ในพลาสมา ดังแสดงในรูปที่ 2 และการตรวจ collagen binding assay (vWF:CBA) เป็นวิธีตรวจดูหน้าที่ของ vWF เช่นกัน โดยตรวจหน้าที่ของ vWF ของผู้ป่วยในการจับกับสาร collagen ที่เคลือบบนผิวพลาสติก และการตรวจนี้ต้องอาศัยส่วนของ high molecular weight multimers เพื่อจับกับ collagen ได้ดียิ่งขึ้น[39] ในผู้ป่วย Type 1 จะมีการลดลงของทั้ง vWF:RCo และ vWF:CBA ในตารางที่ 3



รูปที่ 2 การตรวจหน้าที่ของวอนวิลลิแบรนด์แฟคเตอร์ด้วยวิธี Ristocetin cofactor assay โดยใช้ formalin fixed กับเกล็ดเลือดปกติและเส้น slope คือการเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด และแปรตามความเข้มข้นของ vWF

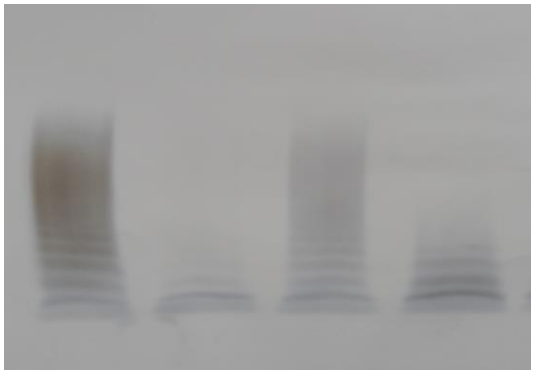
ตารางที่ 3 แสดงผลสรุปของการตรวจทางห้องปฏิบัติการในผู้ป่วยโรควอนวิลลิแบรนด์ชนิดต่างๆ

lab test	*type 1*	*type 2A*	*type 2B*	*pt-vWD **	*type 2M*	*type 2N*	*type 3*
BT	N or ↑	↑↑	N or ↑	N or ↑	↑↑	N	↑↑↑↑
PFA-100	↑	↑	↑	↑	↑	N	↑↑↑
FVIII	N or ↓	N or ↓	N or ↓	N or ↓	N	↓↓↓	↓↓↓
vWF:Ag	↓	↓	↓	↓	↓ or (N)	↓ or (N)	↓↓↓↓
vWF R:Co	↓	↓↓↓	↓↓	↓↓	↓	↓ or (N)	↓↓↓↓
LD-RIPA°	none	none	↑	↑	none	none	none
vWF multimers	N but ↓	abnormal	abnormal	abnormal	N but ↓	N but ↓	absent
normal							none seen
Tx 1°	DDAVP	vWF	vWF	platelets	vWF	vWF	vWF
2°	vWF	?DDAVP	?DDAVP		?DDAVP	?DDAVP	

Type 2 หรือ Qualitative Defects พบประมาณร้อยละ 15-20 ของผู้ป่วยทั้งหมด ลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมพบทั้ง autosomal dominant (AD)หรือ recessive (AR) ความผิดปกติของยีนเกิดจากมี point mutation ทำให้ร่างกายสร้าง vWF ที่มีคุณภาพไม่สมบูรณ์ หรือมีโครงสร้างที่ผิดปกติ การตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้นเกี่ยวกับ vWF พบว่ามีการลดลงของทั้งจำนวนและหน้าที่ของ vWF อย่างไม่เป็นสัดส่วนกันใน Type 2 กล่าวคือ เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่าง vWF:RCo หรือ vWF:CBA ต่อ vWF:Ag มักจะมีค่าต่ำกว่า 0.6[40] หรือบางสถาบันใช้ที่ค่าต่ำกว่า 0.7 [41, 42] ถือว่าผิดปกติ และสามารถจัดเป็นกลุ่มย่อยได้ 4 ชนิด คือ 2A, 2B, 2M และ 2N

1. Type 2A พบบ่อยที่สุดในจำนวนของ Type 2 มีลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมชนิด AD ความผิดปกติของยีนใน Type 2A พบการเกิด point mutation มากกว่า 20 ชนิด ในบริเวณตำแหน่ง exon ที่ 28 ของยีน vWF ซึ่งก่อให้เกิดการขาดในส่วนของ vWF multimers ขนาดใหญ่ ส่งผลให้ vWF ไม่สามารถจับตัวรวมกันเป็น multimer ได้ จากมีความผิดปกติในขบวนการ polymerization เกิดทั้งในเกล็ดเลือดและพลาสมา หรือทำให้มีการย่อยสลาย vWF ได้ง่ายขึ้น [43-46] อาการแสดงของภาวะเลือดออกมักจะรุนแรงปานกลางจนถึงรุนแรงมาก

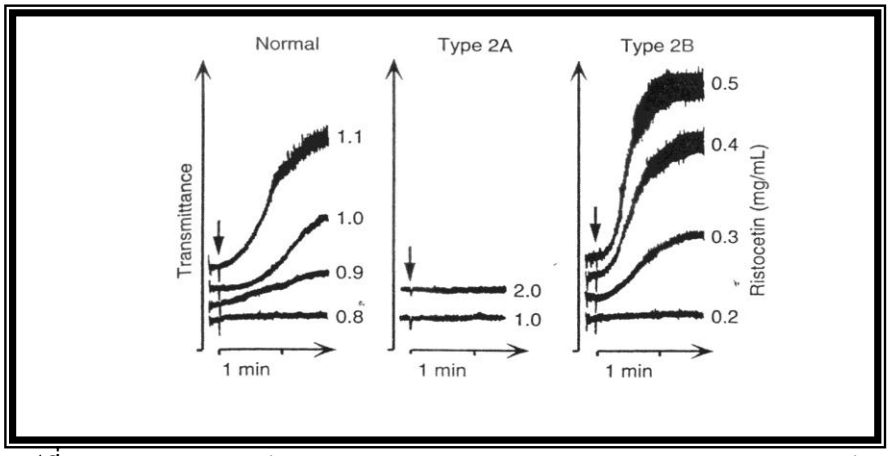
การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันว่าเป็น Type 2A ต้องอาศัยการตรวจ vWF Multimer assay โดยผู้ป่วย Type 2A ตรวจพบว่าจะไม่มีในส่วนของ high หรือ intermediate molecular weight multimers ในรูปที่ 3



Normal Type 3 Type1 Type 2A ,2B

รูปที่ 3 แสดงการตรวจด้วยวิธี vWF Multimer assay ในโรควอนวิลลิแบรนด์

นอกจากนี้การตรวจด้วย Ristocetin-induced platelet aggregation (RIPA) ซึ่งเป็นการตรวจหน้าที่ของ vWF ของผู้ป่วยในการทำให้เกล็ดเลือดของผู้ป่วยเองเกาะกลุ่มโดยอาศัยการกระตุ้นของ ristocetin และพบว่าในผู้ป่วย Type 2A การตรวจ RIPA ด้วยความเข้มข้นของ ristocetin ขนาดสูง 1-2 mg/ml จะทำให้เกล็ดเลือดเกาะกลุ่มได้ลดน้อยลงกว่าคนปกติ ในรูปที่ 4[10]



รูปที่ 4 แสดงการตรวจด้วยวิธี Ristocetin-induced platelet aggregation (RIPA) ในผู้ป่วย VWD type 2A และ 2B เมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ (↓) เป็นตำแหน่งที่เติม ristocetin ลงไปในพลาสมาที่มีเกล็ดเลือดอยู่จำนวนมาก (platelet-rich plasma) ก่อให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด และแสงสามารถผ่านได้ และมีการวัดเป็นเส้น curve ดังแสดงในภาพข้างต้น

2. Type 2B พบประมาณร้อยละ 5 ของผู้ป่วยทั้งหมด มีลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ AD พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของยีนแบบ point mutation ที่ตำแหน่ง 38-amino acid sequence[47] ภายใน A1 domain ซึ่งตำแหน่งนี้เป็นที่จับกับเกล็ดเลือด (Glycoprotein Ib) ดังนั้นทำให้ vWF สามารถจับเกล็ดเลือดได้เองมากขึ้น โดยไม่ต้องอาศัยตัวกระตุ้น[25, 48] มีผลทำให้เกล็ดเลือดต่ำได้ มีบางภาวะที่ก่อให้เกิดภาวะเกล็ดเลือดต่ำยิ่งขึ้นในชนิดนี้ ได้แก่ การตั้งครรภ์ การทำการผ่าตัดในผู้ป่วย หรือหลังได้ยา DDAVP อาการแสดงของภาวะเลือดออกง่ายในชนิดนี้จะรุนแรงปานกลางจนถึงรุนแรงมาก

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ การตรวจหน้าที่การทำงานของ vWF ด้วยวิธี vWF:RCo หรือ vWF:CBA จะต่ำมาก ไม่เป็นสัดส่วนกับการลดลงของจำนวนของ vWF กล่าวคือ vWF:Ag จะลดต่ำลงน้อยกว่า หรือเมื่อเทียบเป็นสัดส่วนระหว่าง vWF:RCo / vWF:Ag ratio จะมีค่ามากกว่า 0.7 และการตรวจด้วยวิธี RIPA จะสามารถทำให้เกล็ดเลือดของผู้ป่วยเกาะกลุ่มกันได้เพิ่มขึ้น โดยใช้ ristocetin ขนาดต่ำ (0.3 มิลลิกรัม/เดซิลิตร) โดยเกล็ดเลือดคนปกติไม่สามารถเกาะกลุ่มได้ด้วย ristocetin ขนาดต่ำเช่นนี้ ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษที่ใช้ในการวินิจฉัย Type 2B ดังแสดงผลการตรวจในรูป การตรวจด้วย vWF Multimers พบว่ามีการลดลงในส่วนของโมเลกุลของ vWF ที่มีขนาดใหญ่ รูปที่ 3

3. Type 2M พบได้น้อยมาก มีลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ AD มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงของยีนโดยเกิด mutation ที่ตำแหน่ง A1 domain แต่เป็นคนละตำแหน่งกับ Type 2B ผลทำให้ vWF ไม่สามารถจับกับเกล็ดเลือดที่ตำแหน่ง Glycoprotein Ib ได้ (loss-of-function)[49-51] ส่งผลให้ผู้ป่วยมีอาการเลือดออกรุนแรง

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบว่าระดับของ vWF:Ag และ FVIII:C จะปกติหรือลดลงเพียงเล็กน้อย แต่หน้าที่การทำงานของ vWF จะผิดปกติ กล่าวคือ vWF:RCo, vWF:CBA จะต่ำลงมาก และการตรวจด้วย vWF Multimers พบว่าโครงสร้างของ vWF จะปกติ

4. Type 2N พบได้น้อยมาก (N ย่อมาจาก Normandy ซึ่งเป็นสถานที่แรกที่พบผู้ป่วยชนิดนี้) มีลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ AR มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงของยีน โดยเกิด mutation ในตำแหน่งส่วนที่ที่จับกับ FVIII [52-55] ดังนั้น FVIII ไม่สามารถจับกับ vWF ในเลือดได้ ส่งผลให้ FVIII ถูกทำลายอย่างรวดเร็ว หากตรวจระดับ FVIII ในผู้ป่วยชนิดนี้ จะมีระดับ FVIII:C ต่ำมาก จึงทำให้มีอาการแสดงเหมือนในผู้ป่วยโรคฮีโมฟีเลีย เอ หรือเรียกว่า autosomal hemophilia[56, 57]

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบระดับของ FVIII:C จะลดต่ำลง พบประมาณร้อยละ 5-15[14] ดังนั้นต้องวินิจฉัยแยกโรคจากผู้ป่วยฮีโมฟีเลีย เอ ชนิดรุนแรงน้อย [58] รวมทั้งการตรวจ vWF:Ag, vWF:RCo, vWF:CBA, RIPA และ vWF Multimers อยู่ในเกณฑ์ปกติ

Type 3 หรือ Complete quantitative defect พบได้น้อยมาก กล่าวคือ พบ 1 ในประชากร 250,000 ราย มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ AR หรือ compound heterozygous ความผิดปกติทางพันธุกรรม ส่วนมากพบเป็นการแหว่งหายของยีนขนาดใหญ่ (large deletions) หรือ nonsense และ frame shift mutations ทำให้ไม่สามารถสร้าง vWF ได้ [43, 59, 60] จากการศึกษาผู้ป่วยกลุ่มใหญ่ในประเทศอิหร่านชนิดนี้ จำนวน 385 คน พบว่ามีเลือดออกในข้อ กล้ามเนื้อ ช่องปาก และเลือดกำเดาไหล คิดเป็นร้อยละ 37, 52, 70 และ 77 ตามลำดับ[61]

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบการลดลงของทั้ง vWF:Ag, vWF:RCo และ vWF:CBA อย่างชัดเจน รวมทั้งระดับของ FVIII:C จะต่ำมาก คือร้อยละ 1-10 และผลการทำ vWF Multimer ไม่สามารถตรวจพบ spectrum ต่างๆ ดังรูปที่ 3

แนวทางการวินิจฉัยผู้ป่วยโรควอนวิลลิเบรนด์

◆ อาศัยจากประวัติของผู้ป่วยที่มักมีปัญหาเลือดออกง่ายจากเยื่อบุต่างๆ และเกิดเป็นซ้ำบ่อยๆ เช่น เลือดกำเดาไหล มีจ้ำเลือดเกิดขึ้นเอง หากเป็นผู้หญิงจะมีประจำเดือนมามากและนาน และมีเลือดออกมากหลังได้รับการผ่าตัด ส่วนใหญ่มักมีประวัติมีเลือดออกมากหลังทำการผ่าตัดต่อมทอนซิลในวัยเด็ก[62] การซักประวัติการใช้ยาต่างๆ เช่น แอสไพริน บางครั้งพบว่าในผู้ป่วยโรคนี้ที่ใช้ยากลุ่มนี้อาจมีปัญหาเรื่องของจุดเลือดออกตามผิวหนังได้ และอาศัยประวัติบุคคลในครอบครัวมีปัญหาเลือดออกง่ายเช่นเดียวกับผู้ป่วย และเขียนพงศาวลี เนื่องจากโรคนี้ส่วนใหญ่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ AD จึงพบในผู้หญิงเท่ากับผู้ชาย แต่ในผู้หญิงมักจะได้รับการวินิจฉัยได้บ่อยกว่าผู้ชาย เนื่องจากมีประวัติของประจำเดือนมามาก หรือมีเลือดออกมากช่วงคลอดบุตร

◆ *อาศัยการตรวจร่างกายโดยละเอียด* โดยเฉพาะตามเยื่อบุต่างๆในร่างกาย หากตรวจพบว่ามีลักษณะเลือดออกในข้อ หรือกล้ามเนื้อ ให้นึกถึง vWD type 3 หรือชนิดที่รุนแรง

◆ *อาศัยจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการ* ได้แก่ Complete blood cell count (CBC) เพื่อแยกโรคที่เกิดปัญหาเลือดออกง่ายจากกลุ่มโรคของเกล็ดเลือดต่ำ และหากพบว่าผู้ป่วยมีจำนวนของเกล็ดเลือดปกติ ให้ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเพิ่มเติม ได้แก่ BT, aPTT และ PT

- ตรวจพบว่าผู้ป่วยมี BT ยาวเพียงอย่างเดียว ให้ดูทั้งขนาดและรูปร่างของเกล็ดเลือดเพื่อแยกโรคในกลุ่มของเกล็ดเลือดที่มีหน้าที่ผิดปกติตั้งแต่กำเนิด หรือเกิดขึ้นเองภายหลัง ได้แก่ Hereditary platelet dysfunction หรือ acquired platelet dysfunction with eosinophilia (APDE) ตามลำดับ และหากตรวจพบว่าผู้ป่วยไม่ได้เป็นโรคดังกล่าวมา ให้นึกถึงโรค vWD จึงต้องอาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้นเกี่ยวกับ vWF และระดับของ FVIII:C

- ตรวจพบว่าผลทั้ง BT และ aPTT ปกติ หรือผิดปกติอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือผิดปกติทั้งสองอย่าง ให้นึกถึงโรค vWD ให้ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้นเกี่ยวกับ vWF และผลของการตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้นเกี่ยวกับ vWF แยกตามชนิดต่างๆของโรคดังนี้

- ผลการตรวจระดับ vWF:Ag ได้ต่ำมาก (น้อยกว่าร้อยละ 10) ให้นึกถึง vWD type 3

- ผลการตรวจระดับ vWF:Ag ต่ำกว่าปกติ (น้อยกว่าร้อยละ 50) ให้เทียบหาอัตราส่วนระหว่าง vWF:RCo / vWF:Ag หากลดลงเป็นสัดส่วนเดียวกัน (อยู่ในช่วง 0.7-1.2) ให้นึกถึง vWD Type 1 และหาก vWF:RCo/vWF:Ag ลดลงไม่เป็นสัดส่วนเดียวกัน (ค่า < 0.7) ให้นึกถึง vWD Type 2 และเพื่อให้ได้การวินิจฉัยชนิดย่อยของ Type 2 จำเป็นต้องส่งตรวจด้วยวิธี RIPA และ vWF Multimers

- ผลการตรวจด้วยวิธี RIPA ให้ผลเพิ่มการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้นด้วย ristocetin ขนาดต่ำ ให้นึกถึง Type 2B และหากผลการตรวจ RIPA พบว่าลดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด และมีการขาดหายไปของส่วน high molecular weight multimer ให้นึกถึง Type 2A ในขณะเดียวกันหากพบว่ามีการลดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด แต่

vWF Multimers ปกติ ให้นึกถึง Type 2M ส่วนการวินิจฉัย Type 2N อาศัยการลดต่ำลงของระดับ FVIII:C คืออยู่ระหว่างร้อยละ 5-15

การรักษาผู้ป่วยโรควอนวิลลิแบรนด์

หลักสำคัญในการรักษาคือ การวินิจฉัยแบ่งชนิดของโรคนี้ และระดับความรุนแรงของภาวะเลือดออก โดยทั่วไปไม่มีผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการชนิดใดที่สัมพันธ์โดยตรงกับภาวะเลือดออก ส่วนใหญ่ใช้ระดับของ vWF:RCo และ FVIII:C เป็นตัวชี้วัดว่าระดับใดเพียงพอในการห้ามเลือด โดยแบ่งตามระดับความรุนแรงของภาวะเลือดออก และนำมาใช้ในการติดตามการรักษา[63] โดยระดับของ vWF:RCo หรือ FVIII:C ร้อยละ 40-50 เพียงพอสำหรับการห้ามเลือดจากผู้ป่วยที่มีเลือดออกไม่รุนแรง เช่น เลือดกำเดาไหล ประจำเดือนมามาก หรือการถอนฟัน ส่วนการผ่าตัดใหญ่หรือภาวะเลือดออกรุนแรงต้องการระดับของ vWF:RCo ในขนาดสูงถึงร้อยละ 80-100 ในช่วงแรกของภาวะเลือดออก และหลังจากนั้นการรักษาระดับของ vWF:RCo สูงเกินกว่าร้อยละ 50 ต่ออย่างน้อย 3 วัน ในขณะเดียวกันควรให้ระดับของ FVIII:C สูงกว่าร้อยละ 50 ในช่วง 5-7 วันแรก และระดับสูงกว่าร้อยละ 30 อย่างน้อย 7 วัน เพื่อป้องกันภาวะเลือดออกซ้ำในระยะหลัง [64, 65]

ปัจจุบันการรักษาโรคนี้ ประกอบด้วยยา 4 ประเภท ได้แก่ desmopressin, การใช้สารทดแทนด้วย vWF/FVIII ชนิดเข้มข้น, ยาต้านการสลายลิ่มเลือด (antifibrinolytic agents) และยาเอสโตรเจน (conjugated estrogen)

Desmopressin (1-deamine-8-D-arginine vasopressin; DDAVP) เป็นตัวสำคัญที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคนี้ที่มีอาการเลือดออกไม่รุนแรง โดยเฉพาะ Type 1 เริ่มนำมาใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ.1977[66-69] สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของ DDAVP ในการห้ามเลือด คือกระตุ้นให้มีการหลั่ง vWF จาก Weibel-Palade bodies ของ endothelium[70]

Desmopressin มีอยู่ใน 2 รูปแบบ ได้แก่ รูปยาฉีด หรือ Minirin® (4 ไมโครกรัม/ขวด) ซึ่งมีจำหน่ายในประเทศไทย ขนาดที่ใช้ คือ 0.3 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว (ขนาดสูงสุด 20 ไมโครกรัม) ผสมในน้ำเกลือ (0.9% normal saline solution) ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ทางหลอดเลือดดำ นาน 30 นาที หรือรูปยาพ่นจมูก หรือ stimate® ที่มีความเข้มข้นของ desmopressin สูงถึง 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งยังไม่มีจำหน่ายในประเทศไทย โดยต่างจากขนาดปกติที่ใช้ในการรักษาโรคเบาจืดที่มีความเข้มข้นเพียง 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขนาดที่ใช้ในผู้ป่วยเด็ก (ที่มีน้ำหนักน้อยกว่า 50 กิโลกรัม) คือ 150 ไมโครกรัม ส่วนผู้ใหญ่ ขนาดที่ให้ คือ 300 ไมโครกรัม[71, 72] ผลของการรักษาด้วย desmopressin สามารถเพิ่มระดับ vWF ในเลือดสูงสุด (2-4 เท่า) ภายในเวลา 30-60 นาที และระดับสูงนานอย่างน้อย 6 ชั่วโมง และสามารถให้ซ้ำได้ภายใน 12-24 ชั่วโมง หากภาวะเลือดออกยังไม่หยุดหรือในผู้ป่วยหลังการผ่าตัด[68, 69] การให้ซ้ำๆในเวลาอันสั้นอาจก่อให้เกิดปัญหาเรื่อง tachyphylaxis กล่าวคือ การตอบสนองต่อยานี้ลดลง ส่งผลให้การเพิ่มขึ้นของระดับ vWF สูงน้อยกว่าร้อยละ 30 ใน dose ที่ 2 ภายในเวลา 24 ชั่วโมง[73] เชื่อว่าเป็นผลจากการลดการสะสมของ vWF ใน endothelium นอกจากนี้ ผลข้างเคียงของยานี้ที่อาจเกิดขึ้น เช่น หน้าแดง, ปวดศีรษะ, ความดันโลหิตสูง สามารถแก้ไขได้โดยการให้ทางหลอดเลือดปริมาณช้าลง มีรายงานการเกิดภาวะโซเดียมในเลือดต่ำ ดังนั้น ควรจะมีการจำกัดปริมาณน้ำดื่มในช่วง 24 ชั่วโมงแรก[74-76] ข้อบ่งชี้ในการใช้ desmopressin ใช้ได้ผลดีใน Type 1 และ Type 2A สำหรับ Type 2M และ 2N อาจจะได้ผลเพียงชั่วคราว และสามารถใช้ได้ในผู้ป่วยบางรายเท่านั้น หากทดลองใช้ DDAVP สามารถเพิ่ม

ระดับ vWF:RCo ในเลือดอย่างน้อย 2 เท่า สำหรับใน Type 2B อาจก่อให้เกิดภาวะเกล็ดเลือดต่ำอย่างรุนแรง หลังได้ desmoporessin และไม่สามารถใช้ยานี้ได้ในกลุ่ม Type 3 เนื่องจากร่างกายไม่สามารถสร้าง vWF ได้เลย ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การรักษาโรควอนวิลลิแบรนด์โดยแบ่งตามชนิดต่างๆ[77]

ชนิด	ยา Desmopressin	การให้ vWF/FVIII เข้มข้น	การให้เกล็ดเลือดเข้มข้น
Type 1	สามารถใช้ได้ผลดีมาก และการทดสอบ ด้วยการให้ยานี้จะทำให้ระดับของ vWF เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว	ใช้ในกรณีที่ผู้ป่วยตอบสนองไม่ดีต่อยา Desmporessin หรือในกรณีต้องการให้ระดับของ vWF เพิ่มสูงมาก	ไม่มีที่ใช้
Type 2A	สามารถเพิ่มระดับของ vWF ในเลือดเพียงชั่วคราว ดังนั้นเหมาะสำหรับกรณีเลือดออกไม่รุนแรง หรือใช้ก่อนทำหัตถการต่างๆ	ในกรณีที่มีภาวะเลือดออกรุนแรงหรือในการผ่าตัดใหญ่	ไม่มีที่ใช้
Type 2B	อาจก่อให้เกิดภาวะเกร็ดเลือดต่ำได้เพิ่มขึ้นหลังจากได้รับยานี้	ในกรณีที่มีภาวะเลือดออกรุนแรงหรือในการผ่าตัดใหญ่	ให้ในกรณีที่มีภาวะเกล็ดเลือดต่ำมากขึ้น แม้ว่าจะให้ทดแทนด้วย vWF/FVIII เข้มข้น
Type 2M	สามารถเพิ่มระดับของ vWF ในเลือดเพียงชั่วคราวเท่านั้น	ในกรณีที่มีภาวะเลือดออกรุนแรงหรือในการผ่าตัดใหญ่	ไม่มีที่ใช้
Type 2N	สามารถเพิ่มระดับของ vWF ในเลือดเพียงชั่วคราวเท่านั้น	ในกรณีที่มีภาวะเลือดออกรุนแรงหรือในการผ่าตัดใหญ่ และไม่สามารถใช้ highly purified FVIII	ไม่มีที่ใช้
Type 3	ไม่สามารถใช้ได้	ในกรณีที่มีภาวะเลือดออกรุนแรงหรือในการผ่าตัดใหญ่	มีที่ใช้ในกรณีที่ไม่สามารถหยุดเลือดออกได้ แม้จะให้ vWF/FVIII ในขนาดที่เหมาะสมแล้ว

การให้สารทดแทนด้วย vWF ข้อบ่งชี้ ใช้ในผู้ป่วยชนิด Type 3 หรือ Type 2A และ 2B ที่มีภาวะเลือดออกที่รุนแรง หรือไม่ตอบสนองต่อการใช้ยา desmopressin รวมทั้งในกรณีของ Type 1 ที่มีระดับของ vWF ในเลือดต่ำปานกลาง และมีภาวะเลือดออกรุนแรงหรือหลังผ่าตัดโดยเลือดไม่หยุดหลังให้การรักษาด้วยวิธีอื่นๆ มีการให้สารทดแทนของ vWF ในรูปของ Cryoprecipitate หรือ สารทดแทนด้วย vWF/FVIII ชนิดต่างๆ[78-83] ตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สารทดแทนด้วย vWF/FVIII ชนิดต่างๆ

ผลิตภัณฑ์	Purification	Viral inactivation	Sp[ecific activity* (U/mg prot.)	vWF:RCo / Ag	vWF:RCo / FVIII	โปรตีนชนิดอ่อน
Immunate® (มีจำหน่ายในประเทศไทย)	Ion exchange chromatography	S/D ; vapor-heat, 60°C, 10 hr at 190 mbar	70±30	0.6	0.75	Albumin
Alphanate® (มีจำหน่ายในประเทศไทย)	Affinity Chromatography (Heparin)	S/D + 72 hour at 80°C	> 100	0.94	1.21	Albumin
Humate P®	Multiple Precipitation	Pasteurization 10 hour at 60°C	40 ± 6	0.96	2.54	Albumin

* Specific activity วัดปริมาณของ FVIII ก่อนเติม albumin

หลักการคำนวณปริมาณของการได้สารทดแทน ขึ้นกับตำแหน่ง และความรุนแรงของภาวะเลือดออก เช่น ในกรณีภาวะเลือดออกรุนแรง จำเป็นต้องให้ระดับของ vWF:RCo และ FVIII:C เกินกว่าร้อยละ 50-100 ในช่วงแรก ดังนั้นคำนวณขนาดของสารทดแทนด้วยvWF/FVIII ชนิดเข้มข้น ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 6

ข้อควรระวังในการให้ขนาดสูงในระหว่างการผ่าตัด คือการเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันของหลอดเลือดดำ [84] ซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับระดับของ FVIII:C ในเลือดสูงเกินกว่า 200 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ควรติดตามระดับของ FVIII:C ทุกวัน โดยให้ระดับของ FVIII:C ไม่เกิน 100 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6 การใช้ Plasma-derived FVIII ในการรักษาโรควอนวิลลิแบรนด์[85]

ลักษณะทางคลินิก	**วิธีการรักษา (Therapy)**
การผ่าตัดใหญ่ หรือภาวะเลือดออกรุนแรง	50 ยูนิตของ FVIII หรือ vWF:RCo ต่อกิโลกรัม และตามด้วยขนาด 25-40 ยูนิต ต่อน้ำหนักตัว ทุก 12-24 ชั่วโมง เพื่อรักษาระดับต่ำสุด (nadir) ของ FVIII หรือ vWF:RCo ให้สูงเกินกว่า 50 ยูนิต/เดซิลิตร ตลอด จนกว่าเลือดหยุด ส่วนใหญ่ใช้เวลานาน 5-10 วัน
การผ่าตัดเล็ก	40 ยูนิตของ FVIII หรือ vWF:RCo ต่อกิโลกรัม ทุก 24-48 ชั่วโมง เพื่อรักษาระดับต่ำสุดของ FVIII หรือ vWF:RCo ให้สูงเกินกว่า 30 ยูนิต/เดซิลิตร จนเลือดหยุด ส่วนใหญ่ใช้เวลานาน 2-4 วัน
การถอนฟัน	30 ยูนิตของ FVIII หรือ vWF:RCo ต่อกิโลกรัม ให้เพียงครั้งเดียว เพื่อให้ระดับของ FVIII หรือ vWF:RCo สูงเกิน 50 ยูนิต/เดซิลิตร นานถึง 12 ชั่วโมง
ภาวะเลือดออกเอง (spontaneous bleeding)	25 ยูนิตของ FVIII หรือ vWF:RCo ต่อกิโลกรัม ทุก 24 ชั่วโมง เพื่อให้ระดับต่ำสุดของ FVIII หรือ vWF:RCo สูงเกิน 30 ยูนิต/เดซิลิตร จนเลือดหยุด ส่วนใหญ่ใช้เวลานาน 2-4 วัน
การคลอดบุตร	40 ยูนิตของ FVIII หรือ vWF:RCo ต่อกิโลกรัม ทุก 24 ชั่วโมง เพื่อรักษาระดับต่ำสุดของ FVIII หรือ vWF:RCo สูงเกิน 50 ยูนิต/เดซิลิตร ในวันที่คลอดบุตร แล้วให้นานหลังคลอดบุตรต่อ 3-4 วัน

ยาต้านการสลายลิ่มเลือด (antifibrinolytic agents) ได้แก่ tranxamic acid นำมาใช้ในผู้ป่วยที่มีเลือดออกตามเยื่อบุต่างๆ ในอวัยวะที่มีการทำหน้าที่ของ Fibrinolytic สูงๆ เช่น ในช่องปาก โดยเฉพาะสามารถลดภาวะเลือดออกในระหว่างการทำฟันได้ดี หรือนำมาใช้ร่วมกับยาชนิดอื่นๆ เพื่อช่วยเสริมฤทธิ์ในการห้ามเลือด[86] ขนาดที่ใช้ คือ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ครั้ง ทุก 6-8 ชั่วโมง นาน 3-7 วัน มีทั้งในรูปของชนิดรับประทาน และชนิดฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำ ชนิดรับประทาน (แคปซูลขนาด 250 มิลลิกรัม) ผู้ป่วยเด็กที่มีปัญหาเลือดออกในช่องปาก ใช้ผงของยา tranxamic acid ละลายในน้ำปริมาณ 15 มิลลิลิตร อมกลั้วในปากนาน 15-20 นาที และสามารถลดผลข้างเคียงของยาต่อร่างกายได้[87] ผลข้างเคียงของยาเมื่อใช้เป็นเวลานานร่วมกับมีโรคประจำตัวบางอย่างที่ก่อให้เกิดภาวะ hypercoagulable จะเพิ่มปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตัน ข้อห้ามของยาชนิดนี้คือ ห้ามใช้ในกรณีที่ผู้ป่วยปัสสาวะมีเลือดปน เนื่องจากยานี้จะก่อให้เกิดการอุดตันของท่อทางเดินปัสสาวะได้

เอสโตรเจน (conjugated estrogen) นำมาใช้ในกรณีก่อนผ่าตัด[88] (surgical prophylaxis) หรือมีประจำเดือนมามาก กลไกการออกฤทธิ์ของยานี้ไม่ทราบแน่ชัด แต่เชื่อว่าเอสโตรเจนสามารถเพิ่มการสร้างของวอนวิลลิแบรนด์แฟคเตอร์

บทสรุป

โรควอนวิลลิแบรนด์ เป็นโรคเลือดออกง่ายทางพันธุกรรมชนิดหนึ่งที่พบบ่อยที่สุดในประชากรทั่วโลก แต่อุบัติการณ์ในประเทศไทยของโรคนี้จะต่ำกว่าในต่างประเทศ เนื่องจากอาการเลือดออกง่ายในผู้ป่วยมีความแตกต่างกันมาก ตั้งแต่ไม่มีอาการหรือเลือดออกเพียงเล็กน้อยไปจนถึงเลือดออกมากจนผู้ป่วยเสียชีวิตได้ ทำให้ผู้ป่วยกลุ่มหนึ่งไม่ได้มาพบแพทย์ และการวินิจฉัยยังต้องอาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่จำเพาะและทำได้ยาก ดังนั้นหากพบผู้ป่วยที่มีปัญหาเลือดออกง่ายโดยเฉพาะตามเยื่อบุต่างๆ เป็นซ้ำๆ ให้นึกถึงโรคนี้และส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการอย่างเหมาะสม เพื่อให้ได้การวินิจฉัย และหลักการรักษาโรคนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของโรควอนวิลลิแบรนด์และระดับความรุนแรงของภาวะเลือดออก

เอกสารอ้างอิง

1. EA vW. Hereditar pseudohemofili. Fin Laekaresaellsk Hand 1926;68:87-112.
2. Alexander B GB. Dual hemostatic defect in pseudohemophilia. J Clin Invest 1953;32:551.
3. Larrieu MJ, Soulier JP. [Deficiency of antihemophilic factor A in a girl associated with bleeding disorder.]. Rev Hematol 1953;8(3):361-70.
4. Quick AJ, Hussey CV. Hemophilic condition in a girl. AMA Am J Dis Child 1953;85(6):698-705.
5. Nilsson IM, Blomback M, Von Francken I. On an inherited autosomal hemorrhagic diathesis with antihemophilic globulin (AHG) deficiency and prolonged bleeding time. Acta Med Scand 1957;159(1):35-57.
6. Cornu P, Larrieu MJ, Caen J, Bernard J. Transfusion studies in von Willebrand's disease: effect on bleeding time and factor VIII. Br J Haematol 1963;9:189-202.

7. Holmberg L, Nilsson IM. Genetic variants of von Willebrand's disease. Br Med J 1972;3(822):317-20.
8. Hoyer LW, Shainoff JR. Factor VIII-related protein circulates in normal human plasma as high molecular weight multimers. Blood 1980;55(6):1056-9.
9. Ruggeri ZM, Zimmerman TS. Variant von Willebrand's disease: characterization of two subtypes by analysis of multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor in plasma and platelets. J Clin Invest 1980;65(6):1318-25.
10. Ruggeri ZM, Pareti FI, Mannucci PM, Ciavarella N, Zimmerman TS. Heightened interaction between platelets and factor VIII/von Willebrand factor in a new subtype of von Willebrand's disease. N Engl J Med 1980;302(19):1047-51.
11. Sadler JE, Shelton-Inloes BB, Sorace JM, Harlan JM, Titani K, Davie EW. Cloning and characterization of two cDNAs coding for human von Willebrand factor. Proc Natl Acad Sci U S A 1985;82(19):6394-8.
12. Lynch DC, Zimmerman TS, Collins CJ, et al. Molecular cloning of cDNA for human von Willebrand factor: authentication by a new method. Cell 1985;41(1):49-56.
13. Ginsburg D, Handin RI, Bonthron DT, et al. Human von Willebrand factor (vWF): isolation of complementary DNA (cDNA) clones and chromosomal localization. Science 1985;228(4706):1401-6.
14. Verweij CL, de Vries CJ, Distel B, et al. Construction of cDNA coding for human von Willebrand factor using antibody probes for colony-screening and mapping of the chromosomal gene. Nucleic Acids Res 1985;13(13):4699-717.
15. 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(2):177-84.
16. Sadler JE, Ginsburg D. A database of polymorphisms in the von Willebrand factor gene and pseudogene. For the Consortium on von Willebrand Factor Mutations and Polymorphisms and the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Thromb Haemost 1993;69(2):185-91.
17. Wagner DD. Cell biology of von Willebrand factor. Annu Rev Cell Biol 1990;6:217-46.
18. Ruggeri ZM, Ware J. von Willebrand factor. Faseb J 1993;7(2):308-16.
19. Brinkhous KM, Sandberg H, Garris JB, et al. Purified human factor VIII procoagulant protein: comparative hemostatic response after infusions into hemophilic and von Willebrand disease dogs. Proc Natl Acad Sci U S A 1985;82(24):8752-6.
20. Kawai Y, Montgomery RR. Endothelial cell processing of von Willebrand proteins. Ann N Y Acad Sci 1987;509:60-70.
21. Ruggeri ZM, Zimmerman TS. von Willebrand factor and von Willebrand disease. Blood 1987;70(4):895-904.
22. Zimmerman TS, Ruggeri ZM. von Willebrand disease. Hum Pathol 1987;18(2):140-52.
23. Raines G, Aumann H, Sykes S, Street A. Multimeric analysis of von Willebrand factor by molecular sieving electrophoresis in sodium dodecyl sulphate agarose gel. Thromb Res 1990;60(3):201-12.
24. Sugimoto M, Mohri H, McClintock RA, Ruggeri ZM. Identification of discontinuous von Willebrand factor sequences involved in complex formation with botrocetin. A model for the regulation of von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib. J Biol Chem 1991;266(27):18172-8.
25. Jenkins PV, Pasi KJ, Perkins SJ. Molecular modeling of ligand and mutation sites of the type A domains of human von Willebrand factor and their relevance to von Willebrand's disease. Blood 1998;91(6):2032-44.

26. Miura S, Li CQ, Cao Z, Wang H, Wardell MR, Sadler JE. Interaction of von Willebrand factor domain A1 with platelet glycoprotein Ibalpha-(1-289). Slow intrinsic binding kinetics mediate rapid platelet adhesion. J Biol Chem 2000;275(11):7539-46.
27. 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(10):4223-34.
28. Fujimoto T, Ohara S, Hawiger J. Thrombin-induced exposure and prostacyclin inhibition of the receptor for factor VIII/von Willebrand factor on human platelets. J Clin Invest 1982;69(6):1212-22.
29. Koppelman SJ, van Hoeij M, Vink T, et al. Requirements of von Willebrand factor to protect factor VIII from inactivation by activated protein C. Blood 1996;87(6):2292-300.
30. Foster PA, Fulcher CA, Marti T, Titani K, Zimmerman TS. A major factor VIII binding domain resides within the amino-terminal 272 amino acid residues of von Willebrand factor. J Biol Chem 1987;262(18):8443-6.
31. Zhang ZP, Lindstedt M, Falk G, Blomback M, Egberg N, Anvret M. Nonsense mutations of the von Willebrand factor gene in patients with von Willebrand disease type III and type I. Am J Hum Genet 1992;51(4):850-8.
32. Zhang ZP, Blomback M, Egberg N, Falk G, Anvret M. Characterization of the von Willebrand factor gene (VWF) in von Willebrand disease type III patients from 24 families of Swedish and Finnish origin. Genomics 1994;21(1):188-93.
33. Schneppenheim R, Krey S, Bergmann F, et al. Genetic heterogeneity of severe von Willebrand disease type III in the German population. Hum Genet 1994;94(6):640-52.
34. Di Paola J, Federici AB, Mannucci PM, et al. Low platelet alpha2beta1 levels in type I von Willebrand disease correlate with impaired platelet function in a high shear stress system. Blood 1999;93(11):3578-82.
35. Kunicki TJ, Federici AB, Salomon DR, et al. An association of candidate gene haplotypes and bleeding severity in von Willebrand disease (VWD) type 1 pedigrees. Blood 2004;104(8):2359-67.
36. 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(6):1691-5.
37. Zimmerman TS, Ratnoff OD, Powell AE. Immunologic differentiation of classic hemophilia (factor 8 deficiency) and von Willebrand's dissase, with observations on combined deficiencies of antihemophilic factor and proaccelerin (factor V) and on an acquired circulating anticoagulant against antihemophilic factor. J Clin Invest 1971;50(1):244-54.
38. Weiss HJ, Hoyer LW, Rickles FR, Varma A, Rogers J. Quantitative assay of a plasma factor deficient in von Willebrand's disease that is necessary for platelet aggregation. Relationship to factor VIII procoagulant activity and antigen content. J Clin Invest 1973;52(11):2708-16.
39. Favaloro EJ, Facey D, Grispo L. Laboratory assessment of von Willebrand factor. Use of different assays can influence the diagnosis of von Willebrand's disease, dependent on differing sensitivity to sample preparation and differential recognition of high molecular weight VWF forms. Am J Clin Pathol 1995;104(3):264-71.
40. Caron C, Mazurier C, Goudemand J. Large experience with a factor VIII binding assay of plasma von Willebrand factor using commercial reagents. Br J Haematol 2002;117(3):716-8.
41. 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(6):998-1004.
42. Riddell AF, Jenkins PV, Nitu-Whalley IC, McCraw AH, Lee CA, Brown SA. Use of the collagen-binding assay for von Willebrand factor in the analysis of type 2M von Willebrand disease: a comparison with the ristocetin cofactor assay. Br J Haematol 2002;116(1):187-92.
43. Nichols WC, Ginsburg D. von Willebrand disease. Medicine (Baltimore) 1997;76(1):1-20.

44. Zimmerman TS, Dent JA, Ruggeri ZM, Nannini LH. Subunit composition of plasma von Willebrand factor. Cleavage is present in normal individuals, increased in IIA and IIB von Willebrand disease, but minimal in variants with aberrant structure of individual oligomers (types IIC, IID, and IIE). J Clin Invest 1986;77(3):947-51.
45. Ginsburg D, Konkle BA, Gill JC, et al. Molecular basis of human von Willebrand disease: analysis of platelet von Willebrand factor mRNA. Proc Natl Acad Sci U S A 1989;86(10):3723-7.
46. Lyons SE, Bruck ME, Bowie EJ, Ginsburg D. Impaired intracellular transport produced by a subset of type IIA von Willebrand disease mutations. J Biol Chem 1992;267(7):4424-30.
47. Emsley J, Cruz M, Handin R, Liddington R. Crystal structure of the von Willebrand Factor A1 domain and implications for the binding of platelet glycoprotein Ib. J Biol Chem 1998;273(17):10396-401.
48. Cooney KA, Ginsburg D. Comparative analysis of type 2b von Willebrand disease mutations: implications for the mechanism of von Willebrand factor binding to platelets. Blood 1996;87(6):2322-8.
49. Mancuso DJ, Kroner PA, Christopherson PA, Vokac EA, Gill JC, Montgomery RR. Type 2M:Milwaukee-1 von Willebrand disease: an in-frame deletion in the Cys509-Cys695 loop of the von Willebrand factor A1 domain causes deficient binding of von Willebrand factor to platelets. Blood 1996;88(7):2559-68.
50. Hilbert L, Jenkins PV, Gaucher C, et al. Type 2M vWD resulting from a lysine deletion within a four lysine residue repeat in the A1 loop of von Willebrand factor. Thromb Haemost 2000;84(2):188-94.
51. Stepanian A, Ribba AS, Lavergne JM, et al. A new mutation, S1285F, within the A1 loop of von Willebrand factor induces a conformational change in A1 loop with abnormal binding to platelet GPIb and botrocetin causing type 2M von Willebrand disease. Br J Haematol 2003;120(4):643-51.
52. Allen S, Abuzenadah AM, Blagg JL, et al. Two novel type 2N von Willebrand disease-causing mutations that result in defective factor VIII binding, multimerization, and secretion of von Willebrand factor. Blood 2000;95(6):2000-7.
53. Nesbitt IM, Goodeve AC, Guilliatt AM, Makris M, Preston FE, Peake IR. Characterisation of type 2N von Willebrand disease using phenotypic and molecular techniques. Thromb Haemost 1996;75(6):959-64.
54. Schneppenheim R, Budde U, Krey S, et al. Results of a screening for von Willebrand disease type 2N in patients with suspected haemophilia A or von Willebrand disease type 1. Thromb Haemost 1996;76(4):598-602.
55. Montgomery RR, Hathaway WE, Johnson J, Jacobson L, Muntean W. A variant of von Willebrand's disease with abnormal expression of factor VIII procoagulant activity. Blood 1982;60(1):201-7.
56. Tuley EA, Gaucher C, Jorieux S, Worrall NK, Sadler JE, Mazurier C. Expression of von Willebrand factor "Normandy": an autosomal mutation that mimics hemophilia A. Proc Natl Acad Sci U S A 1991;88(14):6377-81.
57. Mazurier C, Dieval J, Jorieux S, Delobel J, Goudemand M. A new von Willebrand factor (vWF) defect in a patient with factor VIII (FVIII) deficiency but with normal levels and multimeric patterns of both plasma and platelet vWF. Characterization of abnormal vWF/FVIII interaction. Blood 1990;75(1):20-6.
58. Nishino M, Girma JP, Rothschild C, Fressinaud E, Meyer D. New variant of von Willebrand disease with defective binding to factor VIII. Blood 1989;74(5):1591-9.
59. Eikenboom JC, Castaman G, Vos HL, Bertina RM, Rodeghiero F. Characterization of the genetic defects in recessive type 1 and type 3 von Willebrand disease patients of Italian origin. Thromb Haemost 1998;79(4):709-17.

60. Baronciani L, Cozzi G, Canciani MT, et al. Molecular characterization of a multiethnic group of 21 patients with type 3 von Willebrand disease. Thromb Haemost 2000;84(4):536-40.
61. 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(4):1236-9.
62. de Diego JI, Prim MP, Rodriguez E, Garcia J, Morado M. Von Willebrand disease as cause of unanticipated bleeding following adeno-tonsillectomy. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 1999;49(3):185-8.
63. Cohen AJ, Kessler CM, Ewenstein BM. Management of von Willebrand disease: a survey on current clinical practice from the haemophilia centres of North America. Haemophilia 2001;7(3):235-41.
64. Kasper CK, Boylen AL, Ewing NP, Luck JV, Jr., Dietrich SL. Hematologic management of hemophilia A for surgery. Jama 1985;253(9):1279-83.
65. Abildgaard CF, Simone JV, Corrigan JJ, et al. Treatment of hemophilia with glycine-precipitated factor 8. N Engl J Med 1966;275(9):471-5.
66. Leissinger C, Becton D, Cornell C, Jr., Cox Gill J. High-dose DDAVP intranasal spray (Stimate) for the prevention and treatment of bleeding in patients with mild haemophilia A, mild or moderate type 1 von Willebrand disease and symptomatic carriers of haemophilia A. Haemophilia 2001;7(3):258-66.
67. 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(2):283-93.
68. Mannucci PM. Desmopressin (DDAVP) in the treatment of bleeding disorders: the first 20 years. Blood 1997;90(7):2515-21.
69. de la Fuente B, Kasper CK, Rickles FR, Hoyer LW. Response of patients with mild and moderate hemophilia A and von Willebrand's disease to treatment with desmopressin. Ann Intern Med 1985;103(1):6-14.
70. Mannucci PM, Ruggeri ZM, Pareti FI, Capitanio A. 1-Deamino-8-d-arginine vasopressin: a new pharmacological approach to the management of haemophilia and von Willebrands' diseases. Lancet 1977;1(8017):869-72.
71. Nilsson IM, Mikaelsson M, Vilhardt H. The effect of intranasal DDAVP on coagulation and fibrinolytic activity in normal persons. Scand J Haematol 1982;29(1):70-4.
72. Gill JC, Ottum M, Schwartz B. Evaluation of high concentration intranasal and intravenous desmopressin in pediatric patients with mild hemophilia A or mild-to-moderate type 1 von Willebrand disease. J Pediatr 2002;140(5):595-9.
73. Mannucci PM, Bettega D, Cattaneo M. Patterns of development of tachyphylaxis in patients with haemophilia and von Willebrand disease after repeated doses of desmopressin (DDAVP). Br J Haematol 1992;82(1):87-93.
74. Smith TJ, Gill JC, Ambruso DR, Hathaway WE. Hyponatremia and seizures in young children given DDAVP. Am J Hematol 1989;31(3):199-202.
75. Bertholini DM, Butler CS. Severe hyponatraemia secondary to desmopressin therapy in von Willebrand's disease. Anaesth Intensive Care 2000;28(2):199-201.
76. Dunn AL, Powers JR, Ribeiro MJ, Rickles FR, Abshire TC. Adverse events during use of intranasal desmopressin acetate for haemophilia A and von Willebrand disease: a case report and review of 40 patients. Haemophilia 2000;6(1):11-4.
77. Cox Gill J. Diagnosis and treatment of von Willebrand disease. Hematol Oncol Clin North Am 2004;18(6):1277-99, viii.
78. 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(1):42-51.

79. 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(6):688-95.
80. Lillicrap D, Poon MC, Walker I, Xie F, Schwartz BA. Efficacy and safety of the factor VIII/von Willebrand factor concentrate, haemate-P/humate-P: ristocetin cofactor unit dosing in patients with von Willebrand disease. Thromb Haemost 2002;87(2):224-30.
81. Srivastava A, Mathews V, Bhurani D, Baidya S, Chandy M. Successful surgical hemostasis in patients with von Willebrand disease following infusion of KoateDVI. Thromb Haemost 2002;87(3):541-3.
82. Mannucci PM, Tenconi PM, Castaman G, Rodeghiero F. Comparison of four virus-inactivated plasma concentrates for treatment of severe von Willebrand disease: a cross-over randomized trial. Blood 1992;79(12):3130-7.
83. Lethagen S, Berntorp E, Nilsson IM. Pharmacokinetics and hemostatic effect of different factor VIII/von Willebrand factor concentrates in von Willebrand's disease type III. Ann Hematol 1992;65(6):253-9.
84. Mannucci PM. Venous thromboembolism in von Willebrand disease. Thromb Haemost 2002;88(3):378-9.
85. Mannucci PM, Chediak J, Hanna W, et al. Treatment of von Willebrand disease with a high-purity factor VIII/von Willebrand factor concentrate: a prospective, multicenter study. Blood 2002;99(2):450-6.
86. Forbes CD, Barr RD, Reid G, et al. Tranexamic acid in control of haemorrhage after dental extraction in haemophilia and Christmas disease. Br Med J 1972;2(809):311-3.
87. Sindet-Pedersen S, Ramstrom G, Bernvil S, Blomback M. Hemostatic effect of tranexamic acid mouthwash in anticoagulant-treated patients undergoing oral surgery. N Engl J Med 1989;320(13):840-3.
88. Alperin JB. Estrogens and surgery in women with von Willebrand's disease. Am J Med 1982;73(3):367-71.