

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 05.12.2023
Принята к печати 26.10.2024



EDN: JJGHFM

Контактная информация:

Головина Елена Михайловна,
лаборант-исследователь
лаборатории патологии гемостаза ФГБУ
«НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России; врач-гематолог
отделения детской онкологии
и гематологии с химиотерапией
ГБУ РО «Областная детская
клиническая больница»
Адрес: 344015, Ростов-на-Дону,
ул. 339-й Стрелковой дивизии, 14
E-mail: golovinhelen@yandex.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-62-70

Особенности диагностики болезни Виллебранда 2В типа у детей

Е.М. Головина^{1,2}, А.В. Полетаев², Е.А. Серёгина^{2,3}, Д.В. Фёдорова², А.В. Пшонкин², П.А. Жарков²

¹ГБУ РО «Областная детская клиническая больница», Ростов-на-Дону

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

³ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва

Несмотря на то, что болезнь Виллебранда (БВ) является распространенной коагулопатией, некоторые ее типы встречаются достаточно редко. Например, 2В тип регистрируется в 3–5% всех случаев БВ. Важными диагностическими маркерами данного типа являются тромбоцитопения, снижение активности фактора Виллебранда (vWF), повышение агрегации тромбоцитов с низкими дозами ристомидина и выявление мутаций в экзоне 28 гена vWF. Цель работы: продемонстрировать сложность дифференциальной диагностики и гетерогенность клинических и лабораторных проявлений БВ 2В типа. В ретроспективный анализ включили всех детей с диагнозом БВ 2В типа, установленным в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Для анализа использовались деперсонифицированные данные, полученные в ходе рутинной клинической практики, поэтому одобрения локального этического комитета не требовалось. У всех пациентов проводилась оценка данных анамнеза, степени кровоточивости по шкале Pediatric Bleeding Questionnaire, выполнялось необходимое лабораторное обследование. Диагноз БВ 2В типа устанавливался на основании следующих критериев: наличие симптомов кровоточивости, тромбоцитопения, выраженное снижение ристомидин-кофакторной активности vWF, нормальное или умеренно пониженное значение антигена vWF, соотношение ристомидин-кофакторной активности и антигена vWF < 0,7, повышение агрегации тромбоцитов с низкими дозами ристомидина. Диагноз БВ 2В типа был установлен 7 детям. У 5 из них имелись жалобы на кровоточивость, еще у 2 был отягощен семейный анамнез по БВ. У всех детей на первом году жизни была выявлена тромбоцитопения. Диагноз иммунная тромбоцитопения первично был установлен в 5 случаях, из них 1 пациентка имела отягощенный семейный анамнез по БВ. Все пациенты с установленным диагнозом иммунной тромбоцитопении получили курсы внутривенных иммуноглобулинов, кроме того, 1 ребенок – курсы глюкокортикостероидов. Значимые кровотечения, потребовавшие госпитализации в стационар до постановки диагноза БВ, отмечались у 3 пациентов. Характерный лабораторный фенотип имели все пациенты, кроме того, в 5 случаях отмечалось снижение коллаген-связывающей способности vWF. Двум пациентам с отягощенным семейным анамнезом диагноз был подтвержден генетически. В обоих случаях были выявлены мутации, как в экзоне 20, так и в экзоне 28 гена vWF. Полученные результаты согласуются с данными литературы о трудности дифференциальной диагностики данного типа БВ. Исследование агрегации тромбоцитов с низкими дозами ристомидина в совокупности с данными других лабораторных исследований позволяет эффективно дифференцировать лабораторный фенотип БВ 2В типа. Главной терапевтической опцией для пациентов со всеми типами БВ в нашей стране по-прежнему является заместительная факторная терапия.

Ключевые слова: болезнь Виллебранда 2В типа, дети, коагулопатия, тромбоцитопения, иммунная тромбоцитопения

Головина Е.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (4): 62–70. DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-62-70

Diagnosis of type 2B von Willebrand disease in children

E.M. Golovina^{1,2}, A.V. Poletaev², E.A. Seregina^{2,3}, D.V. Fedorova², A.V. Pshonkin², P.A. Zharkov²

¹Regional Children's Clinical Hospital, Rostov-on-Don

²The Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

³Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow

Even though von Willebrand disease (vWD) is a common bleeding disorder, it comprises some rare types as well. Type 2B vWD is usually diagnosed in 3–5% of all vWD cases. The important diagnostic markers of this disease subtype include thrombocytopenia, decreased von Willebrand factor (vWF) activity, increased low-dose ristocetin-induced platelet aggregation, and identification of mutations in exon 28 of the vWF gene. The purpose of this study was to highlight challenges associated with the differential diagnosis of vWD as well as to demonstrate heterogeneous clinical and laboratory signs of type 2B vWD. Here, we retrospectively analyzed all the cases of type 2B vWD diagnosed at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology. For the analysis, we used de-identified data collected during routine clinical care and hence did not need an approval from the Local Ethics Committee. All the patients had undergone medical history assessment and laboratory investigations and had been evaluated for bleeding disorders using the Pediatric Bleeding Questionnaire. Type 2B vWD was diagnosed based on the following criteria: bleeding symptoms, thrombocytopenia, significantly decreased vWF ristocetin-cofactor activity, normal or decreased vWF antigen levels, ristocetin-cofactor activity/vWF antigen ratio < 0.7; increased low-dose ristocetin-induced platelet aggregation. Type 2B vWD was diagnosed in 7 patients. Out of these, 5 had bleeding symptoms and 2 had a family history of vWD. All the children had been diagnosed with thrombocytopenia during their first year of life. Five patients had been initially diagnosed with immune thrombocytopenia, with one girl having a family history of vWD. All the patients with diagnosed immune thrombocytopenia had been treated with intravenous immunoglobulins, and one child had also undergone treatment with corticosteroids. Three patients had had to be admitted to hospital for major bleeding before they were diagnosed with vWD. All the patients had the typical laboratory phenotype, and five out of them demonstrated decreased vWF collagen-binding activity. In two patients with positive family history, the diagnosis was genetically verified, with both of them harboring mutations in exons 20 and 28 of the vWF gene. Our findings are consistent with

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 05.12.2023

Accepted 26.10.2024

Correspondence:

Elena M. Golovina,

a research technician at the Laboratory of Hemostasis Disorders at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation; a hematologist at the Department of Pediatric Oncology and Hematology with Chemotherapy at Regional Children's Clinical Hospital
Address: 339 Rifle Division St. 14, Rostov-on-Don 344015, Russia
E-mail: golovinhelen@yandex.ru

the literature suggesting how challenging differential diagnosis of this vWD type is. Still, a low-dose ristocetin-induced platelet aggregation test along with other laboratory investigations can be used to effectively identify the type 2B vWD phenotype. In Russia, factor replacement therapy remains the primary treatment option for patients with any type of vWD.

Key words: type 2B von Willebrand disease, children, bleeding disorders, thrombocytopenia, immune thrombocytopenia

Golovina E.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (4): 62–70.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-4-62-70

Блезнь Виллебранда (БВ) – самая распространенная геморрагическая коагулопатия, регистрируемая в популяционных скрининговых исследованиях у 0,6–1,3% населения [1, 2]. При оценке количества всех клинически значимых случаев БВ относительно количества людей, проживающих в стране, ее распространенность составляет от 23 до 110 на 1 млн населения (0,0023–0,01%) [3]. БВ развивается в результате качественного или количественного дефицита фактора Виллебранда (vWF).

vWF представляет собой крупный мультимер, состоящий из многократно повторяющихся идентичных субъединиц, имеющих несколько различных типов доменов, ответственных за связывание vWF с тромбоцитами, коллагеном, фактором свертывания крови VIII (FVIII), а также за димеризацию, мултимеризацию данного белка и его протеолиз металлопротеиназой ADAMTS13. Молекулярная масса vWF составляет до 20 000 кДа, а длина – до 1,8 мкм. Его синтез происходит в эндотелиоцитах и мегакариоцитах, где он накапливается в тельцах Вейбла–Паллада и альфа-гранулах соответственно. Основными функциями vWF являются адгезия тромбоцитов к субэндотелиальным структурам и защита FVIII от протеолитической инактивации [4]. Кроме того, имеются свидетельства участия vWF в регуляции ангиогенеза [5].

В настоящее время выделяют 6 типов БВ – для 1-го и 3-го типов характерны количественные дефициты, а для 2А, В, М и N типов – качественные [4]. Диагностика 1-го и 3-го типов довольно проста, в то время как уточнение качественных нарушений при БВ требует проведения большого количества диагностических тестов, нередко имеющих крайне гетерогенные результаты [6, 7]. Особенно трудна диагностика БВ 2В типа, часто маскирующегося под другие, более распространенные гематологические заболевания [8].

Тип 2В встречается примерно в 5% всех случаев БВ и характеризуется повышением сродства домена А1 vWF к гликопротеину Ib тромбоцитов в результате возникновения миссенс-мутаций в экзоне 28 гена vWF [9]. Наследование 2В типа обычно является аутосомно-доминантным, однако не редки и мутации, возникающие *de novo*. Из-за этих изменений vWF интенсивно связывает тромбоциты и затем они вместе элиминируются из кровотока, что проявляется характерными лабораторными изменениями. Из них наиболее постоянными являются снижение ристомин-кофакторной активности vWF

(vWF:RCo), соотношение ристомин-кофакторной активности и антигена vWF (RCo/Ag) < 0,7, тромбоцитопения и повышение агрегации тромбоцитов с низкими дозами ристоминина [7]. В связи с редкостью данного типа БВ в литературе встречаются преимущественно описания отдельных клинических случаев заболевания [8–10]. В реальной клинической практике, как правило, первым лабораторным признаком болезни является изолированная тромбоцитопения, которая направляет диагностический поиск в неверном направлении, из-за чего пациенты длительно получают недостаточно эффективное в их случае лечение.

В рамках данного исследования мы провели анализ пациентов с установленным 2В типом БВ, обращавшихся в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России с 2018 по 2022 г., в целях демонстрации сложности дифференциальной диагностики и гетерогенности проявлений этого заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В статье представлен ретроспективный анализ детей с установленным диагнозом БВ 2В типа, размер выборки заранее не учитывался. Для анализа использовались деперсонифицированные данные, полученные в ходе рутинной клинической практики, поэтому одобрения локального этического комитета не требовалось.

Диагноз БВ 2В типа устанавливался на основании следующих клинических и лабораторных критериев: наличие симптомов кровоточивости, тромбоцитопения, выраженное снижение vWF:RCo, нормальное или умеренно пониженное значение антигена vWF (vWF:Ag), соотношение RCo/Ag < 0,7, повышение агрегации тромбоцитов с низкими дозами ристоминина.

Проводился анализ анамнеза заболевания: учитывались предшествующие диагнозы и терапия, возраст установления диагноза БВ, частота и тяжесть спонтанных и индуцированных геморрагических эпизодов, наличие косвенных признаков их тяжести – дефицит железа, степень анемизации, потребность в трансфузиях препаратов крови. В целях объективизации данных геморрагического анамнеза проводилась оценка по шкале кровоточивости Pediatric Bleeding Questionnaire (PBQ), где патологическим считалось значение 2 балла и более. Кроме того, всем пациентам было проведено лабораторное

обследование: подсчет количества тромбоцитов, измерение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), vWF:RCo, концентрации vWF:Ag, соотношения RCo/Ag, агрегации тромбоцитов со стандартными (RIPA) и низкими (LD-RIPA) дозами ристомидина, коллаген-связывающей активности vWF (vWF:CB), активности FVIII.

Методика проведения лабораторных исследований

АЧТВ (SynthASil, Instrumentation laboratory, США) и активность FVIII (FVIII deficient plasma, Instrumentation laboratory, США) – клоттинговые методы, vWF:Ag (Instrumentation laboratory, США) и vWF:RCo (Instrumentation laboratory, США) – иммунотурбидиметрические методы, определялись на автоматическом коагулометре ACL TOP 750 (Instrumentation laboratory, США). Методом иммуноферментного анализа из замороженных аликвотированных образцов бедной тромбоцитами плазмы (режим центрифугирования 15 мин 1600g) выполнялось исследование vWF:CB (Asserachrom vWF:CB, Stago, Франция). Световую агрегометрию измеряли в богатой тромбоцитами плазме (режим центрифугирования 10 мин 300g) на лазерном агрегометре АПАТ-2 (НПО «Биола», Россия). Исследования проводили на богатой тромбоцитами плазме со следующими индукторами: ристомидин – 15 мг/мл (НПО «Ренам», Россия), низкая доза ристомидина – 7 мг/мл (НПО «Ренам», Россия). Анализ ДНК пациентов проводился на платформе NextSeq Illumina

методом парно-концевого чтения (115 × 2) с медианной глубиной прочтения 219× и покрытием целевого региона 99% при глубине прочтения не менее 30× с использованием панели «Тромбоцитопении и тромбоцитопатии».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С 2018 по 2022 г. 7 пациентам был установлен диагноз БВ 2В типа. Результаты обследования во всех случаях соответствовали критериям диагноза данного типа БВ. Среди пациентов с диагностированным 2В типом БВ распределение по полу было следующим: 2 девочки, 5 мальчиков. Минимальный возраст на момент установления диагноза составил 3 месяца, максимальный – 14 лет. Сводные анамнестические, клинические и лабораторные данные о каждом пациенте представлены в *таблице*.

В 5 случаях поводом для обращения к гематологу стали жалобы на эпизоды кровоточивости (пациенты №1, 3, 5–7), в 2 случаях – снижение числа тромбоцитов в гемограмме (пациенты №2 и №4). Семейный анамнез по БВ был отягощен у пациентов №3 и №5, у бабушки пациента №1 имелись жалобы на кровоточивость, однако диагноз установлен не был. У пациентов №1–3 геморрагические симптомы появились еще в первые дни жизни (кровоточивость из мест инъекций, петехиальная сыпь). Снижение количества тромбоцитов на первом году жизни отмечалось у всех детей: у пациентов №1–5 выявлено в первые дни жизни, у пациентов №6 и №7 – в первые месяцы.

Таблица

Сводные анамнестические, клинические и лабораторные данные пациентов с выявленным 2В типом БВ

Table

Summarized medical history, clinical and laboratory data of the patients with type 2B von Willebrand disease (vWD)

Параметр Parameter	Пациент №1 Patient No. 1	Пациент №2 Patient No. 2	Пациент №3 Patient No. 3	Пациент №4 Patient No. 4	Пациент №5 Patient No. 5	Пациент №6 Patient No. 6	Пациент №7 Patient No. 7
1	2	3	4	5	6	7	8
Режим терапии Treatment regimen	«По требованию» Upon request	«По требованию» Upon request					
Тромбоциты, тыс/мкл Platelets, thousand/mcl	157	184	182	114	96	10	62
LD-RIPA						Не проводилось (мало тромбоцитов) Was not performed (not enough platelets)	
FVIII, %	34,1	107,9	38,2	58,5	35	86	–
vWF:CB	19	27,5	6,85	109	2,89	6,4	–
RCo/Ag	0,13	0,06	0,25	0,4	0,17	0,07	0,18
vWF:Rco	3,1	4	8,7	30,4	4,4	5,8	5,2
vWF:Ag	24,6	70,1	34,8	76,6	26,1	79,8	28,6
АЧТВ, с aPTT, s	39,8	28,2	36,6	35,8	49,4	–	37,7
PBQ, баллы PBQ, scores	4	4	12	2	2	8	10
Пол Gender	Мужской Male	Мужской Male	Женский Female	Мужской Male	Мужской Male	Женский Female	Мужской Male

1	2	3	4	5	6	7	8
Анамнез Medical history	Тромбоцитопения с рождения, имеет циклический характер, расценена как изоиммунная. В первый месяц жизни терапия ВВИГ, менадиона натрия бисульфит, этамзилат с частичным ответом. В дальнейшем умеренный кожно-слизистый геморрагический синдром (гематомы, петехии, десневые кровотечения). Гемотрансфузии не проводились Cyclic thrombocytopenia since birth, thought to be iso-immune. During the first month of life the child was treated with IVIGs, menadione sodium bisulfite, etamsylate achieving partial response. Later on, the patient developed moderate cutaneous and mucosal hemorrhagic syndrome (hematomas, petechiae, gingival bleeding). No blood transfusions	Тромбоцитопения с рождения, расценена как аллоиммунная. Проводилась трансфузия тромбоконцентрата, терапия ВВИГ с частичным ответом. Тромбоцитопения имеет циклический характер. Проводился дифференциальный диагноз с синдромом Вискотта–Олдрича. Жалобы на спонтанные носовые кровотечения (максимум до 12 ч), кровотечения из мест инъекций Cyclic thrombocytopenia since birth, thought to be allo-immune. The child received platelet concentrate transfusions and IVIGs achieving partial response. Differential diagnosis with Wiskott-Aldrich syndrome was carried out. Complaints of spontaneous nosebleeds (lasting for up to 12 hours), bleeding from injection sites	Тромбоцитопения с рождения, имеет циклический характер, расценена как иммунная. Получала ВВИГ с эффектом. Диагноз БВ установлен в первые месяцы жизни. Кровотечения из раны языка, лунок зубов, спонтанные носовые кровотечения, межмышечные гематомы Cyclic thrombocytopenia since birth, thought to be immune. The child was treated with IVIGs with positive response. VWB was diagnosed during the first months of life. Bleeding from tongue injuries, alveolar sockets, spontaneous nosebleeds, muscular hematomas	Тромбоцитопения с рождения, сохранялась в первые месяцы. Затем нормальные или умеренно пониженные значения. Спонтанные носовые кровотечения до 5 раз в год длительностью до 10 мин Thrombocytopenia since birth, persisted during the first months of life. Later on, the values were either normal or moderately decreased. Spontaneous nosebleeds up to 5 times a year, lasting for up to 10 minutes	Тромбоцитопения с рождения (нестойкая с повышением тромбоцитов до нормальных значений). В раннем возрасте повторные кровотечения из уздечки губы, далее легкое проявление синяков Thrombocytopenia since birth (non-persistent, with platelet counts reaching normal values at times). In early childhood, the patient had repeated bleeds from the tongue frenulum, and later on, slight bruising	Впервые тромбоцитопения выявлена в 9 месяцев (ранее общий анализ крови не исследовался), расценена как иммунная. Получала ВВИГ с частичным ответом. Далее тромбоциты максимум до 70 тыс/мкл. В 2020 г. аппендэктомия без геморрагических осложнений. Кожный геморрагический синдром, редко – спонтанные носовые кровотечения, меноррагии Thrombocytopenia was diagnosed at 9 months (no blood testing had been performed in the child before that) and thought to be immune. The patient was treated with IVIGs and achieved a partial response. After the treatment, maximum platelet count amounted to 70 000/mcl. In 2020, she underwent appendectomy, without bleeding complications. Her symptoms included bleeding into the skin, rare spontaneous nosebleeds, menorrhagia	Впервые тромбоцитопения выявлена в 8 месяцев (ранее общий анализ крови не исследовался), расценена как иммунная. Получал этамзилат, затем курсы ВВИГ и ГКС неоднократно. Спонтанные носовые кровотечения (максимум до 6 ч), кровотечения при удалении зубов, однократно кровотечение из желудочно-кишечного тракта. Неоднократно заместительные трансфузии эритроцитарной взвеси Thrombocytopenia was diagnosed at 8 months (no blood testing had been performed in the child before that) and thought to be immune. The patient received etamsylate, then numerous cycles of IVIGs and GCCs. Spontaneous nosebleeds (lasting for up to 6 hours), bleeding after tooth extraction, a one-time gastrointestinal bleeding. The child received numerous red blood cell suspension transfusions
Отягощенность анамнеза по БВ Family history of vWD	Нет (у бабушки легкое появление экхимозов, меноррагии) None (the grandmother had minor ecchymoses, menorrhagia)	Нет None	Мать Mother	Нет None	Сестра, мать, дядя и дед по линии матери Sister, mother, maternal uncle and grandfather	Нет None	Нет None
Возраст на момент постановки диагноза Age at the time of diagnosis	1 год 1 year	2 года 2 years	3 месяца 3 months	3 года 3 years	11 месяцев 11 months	14 лет 14 years	10 лет 10 years

Примечание. ВВИГ – внутривенные иммуноглобулины; ГКС – глюкокортикостероиды.

Notes. aPTT – activated partial thromboplastin time, IVIGs – intravenous immunoglobulins, GCCs – glucocorticoids.

У всех детей показатели тромбоцитов колебались от низких до нормальных значений, при этом родители не отмечали связи выраженности геморрагических проявлений с тяжестью тромбоцитопении. В 5 случаях выявленное снижение тромбоцитов расценивалось как иммунное (пациенты №3, 6, 7 – иммунная тромбоцитопения (ИТП), пациент №1 – изоиммунная, пациент №2 – аллоиммунная), в связи с чем в лечении 1 пациенту (№7) проводились многократные курсы ВВИГ и ГКС, 4 – однократные курсы ВВИГ (пациенты №1–3, 6). У всех 5 пациентов, получивших терапию ВВИГ, регистрировался кратковременный частичный ответ, у пациента №7 отмечался частичный ответ и на ГКС. Также в 1 случае (пациент №2) в родильном доме ребенку проводились трансфузии тромбоконцентрата. В ходе наблю-

дения по месту жительства 1 ребенку проводилась дифференциальная диагностика ИТП с синдромом Вискотта–Олдрича (пациент №2) и 1 – с синдромом Бернара–Суллье (пациент №6). Родители пациентов №3 и №5, имеющих отягощенный анамнез по БВ, самостоятельно обратились к гематологу, что позволило ускорить диагностический поиск и подтвердить БВ в возрасте 3 и 11 месяцев соответственно. При этом пациентка №3 успела получить терапию по поводу ИТП до постановки верного диагноза.

У всех пациентов периодически регистрировались лабораторные изменения, характерные для латентного дефицита железа, однако выраженная анемизация была зарегистрирована только у 3 пациентов (№1, 3, 7), 2 из них (№3 и №7) требовались госпитализации и проведение трансфузий эритроци-

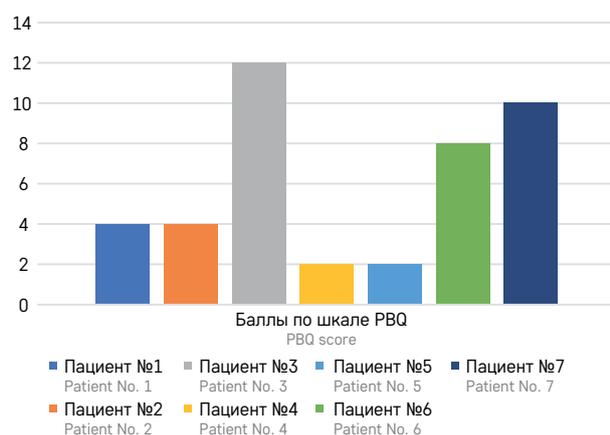
тарной взвеси. До момента установления диагноза БВ у 3 пациентов (№1, 6, 7) в анамнезе имелись эпизоды длительных кровотечений, потребовавших госпитализации в стационар. Из них 1 ребенку (пациент №1) потребовался хирургический гемостаз – ушивание ушибленной раны брови, еще 1 пациенту (№7) была проведена электрохимическая коагуляция сосудов зоны Киссельбаха в связи с рецидивами обильных носовых кровотечений. Одна пациентка (№6) перенесла оперативное вмешательство (аппендэктомия) и оно не сопровождалось геморрагическими осложнениями, при этом каждый эпизод менструации у нее требовал применения антифибринолитиков. После подтверждения диагноза БВ только 1 пациенту (№7) требовались госпитализации в стационар в связи с развитием носового кровотечения (дважды). По шкале RBQ 2 пациента имели по 2 балла, 2 – по 4 балла, по 1 пациенту – 8, 10 и 12 баллов (рисунки 1).

Геморрагические проявления у пациентов с подтвержденным 2В типом БВ представлены на рисунке 2.

Пять пациентов (№2–4, 6, 7) имели нормальные значения АЧТВ, у 2 (№1, 5) регистрировалось умеренное удлинение. В 4 случаях отмечалось снижение vWF:Ag (пациенты №1, 3, 5, 7): минимально до 34,8%, максимально до 26,1%. Снижение RCo отмечалось у всех пациентов: минимально до 30,4%, максимально до 3,1%. При этом соотношение RCo/Ag у всех пациентов было < 0,7. Снижение vWF:CB отмечалось у 5 пациентов (№1–3, 5, 6): минимально до 27,5%, максимально до 2,89%; у 1 ребенка (пациент №4) значение vWF:CB было в норме и у 1 (пациент №7) этот показатель не исследовался. Снижение активности FVIII было выявлено у 2 пациентов (№1 – 34,1%, №5 – 35%). У 6 пациентов регистрировались высокие значения LD-RIPA (норма 0–10%), в 1 случае по причине глубокой тромбоцитопении исследование провести не удалось. На

Рисунок 1
Распределение баллов по шкале RBQ у пациентов с подтвержденным 2В типом БВ

Figure 1
RBQ scores in the patients with confirmed type 2B vWD



момент выполнения исследования у 4 пациентов имелась тромбоцитопения (№6 – 10 тыс/мкл, №7 – 62 тыс/мкл, №5 – 96 тыс/мкл и №4 – 114 тыс/мкл), 3 имели нормальные пониженные значения (№1 – 157 тыс/мкл, №3 – 182 тыс/мкл и №2 – 184 тыс/мкл). Двум пациентам (№3 и №5) диагноз был подтвержден генетически, причем в обоих случаях мутация была выявлена не только в экзоне 28, но и в экзоне 20. У пациентов были выявлены идентичные миссенс-мутации: в экзоне 20 – с.2561G>A p.Arg854Gln (p.R854Q), в экзоне 28 – с.3916C>T p.Arg1306Trp (p.R1306W). Остальным 5 пациентам планируется проведение исследования.

После подтверждения диагноза всем детям было рекомендовано проведение терапии в режиме «по требованию» для лечения физиологически значимых кровотечений и обеспечения проведения инвазивных процедур. В настоящее время все пациенты в нашей выборке продолжают следовать этому режиму введения препаратов.

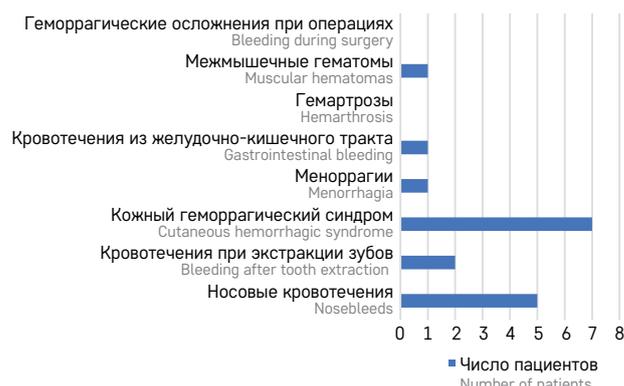
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на то, что БВ является самой распространенной коагулопатией, 2В тип относится к орфанным заболеваниям и составляет лишь 3–5% всех случаев БВ [1, 2, 9]. В связи с редкостью данного типа заболевания в литературе преимущественно встречаются описания единичных клинических случаев. По нашим данным, это первая работа на территории Российской Федерации, посвященная анализу значительного для этой патологии числа клинических случаев БВ 2В типа у детей.

Среди всех причин снижения количества тромбоцитов у детей первого года жизни, с которыми сталкиваются врачи, БВ 2В типа также встречается достаточно редко. И поэтому при отсутствииотягченного наследственного анамнеза пациентам

Рисунок 2
Геморрагические проявления у пациентов с подтвержденным 2В типом БВ

Figure 2
Hemorrhagic manifestations in the patients with confirmed type 2B vWD



диагностируются другие, более распространенные в этой возрастной группе причины тромбоцитопении. В нашей выборке детям чаще всего первично устанавливался диагноз ИТП. Причем он был приоритетным и у детей, которым дифференциальная диагностика также проводилась с синдромами Вискотта–Олдрича и Бернара–Сулье, и даже у 1 пациентки, имеющей отягощенный по БВ наследственный анамнез. Подобные трудности описываются и в литературе. Так, например, в клиническом случае, описанном J. Fan и соавт., выявленная на 6-е сутки после рождения тромбоцитопения была расценена как аллоиммунная и пациентка в первые месяцы жизни получила по 2 курса ГКС и ВВИГ с частичным ответом. В связи с сохранением тромбоцитопении на фоне проводимой терапии было выполнено обследование путем секвенирования нового поколения (next generation sequencing), в ходе которого выявленная мутация в экзоне 28 гена *vWF*, характерная для БВ 2В типа, оказалась для клиницистов случайной находкой. Семейный анамнез по БВ в 1 случае также не был отягощен [10]. Иногда пациентам, имеющим широкую семейную историю и диагноз БВ с неподтвержденным типом, устанавливается конкурирующий диагноз – ИТП, как, например, это описано в одном из клинических случаев, представленных R. Kruse-Jarres и соавт. [11].

Кроме ИТП дифференциация должна проводиться с некоторыми врожденными нарушениями функции и образования тромбоцитов. Тромбоцитопения и геморрагические проявления при синдроме Бернара–Сулье чаще всего обращают на себя внимание еще в неонатальном периоде. Это заболевание развивается в результате нарушения образования GPIb на поверхности тромбоцитов и характеризуется выраженным снижением RIPA при исследовании агрегации, тогда как *vWF:RCo* и *vWF:Ag* остаются в пределах нормальных значений [12]. Редким, но очень схожим с БВ 2В типа состоянием является так называемый тромбоцитарный тип БВ, который развивается в результате мутации, усиливающей способность GPIb связываться с доменом A1 *vWF* [13]. Для этого заболевания, так же как и для БВ 2В типа характерно повышение LD-RIPA, но специфические для БВ изменения активности *vWF* и мутации отсутствуют. В исследованиях было показано, что примерно у 15% пациентов с установленным диагнозом БВ 2В типа при дообследовании выявляется тромбоцитарный тип БВ [14]. Для синдрома Вискотта–Олдрича характерна микротромбоцитопения, а также признаки первичного иммунодефицита [15]. Кроме того, не следует забывать о других многочисленных врожденных и приобретенных причинах изолированной тромбоцитопении [16].

Наличие у пациентов, имеющих 2В тип БВ, частичного ответа на традиционную терапию ИТП

объяснимо. Повышение числа тромбоцитов у людей, получающих курсы ГКС, а также у пациентов с синдромом Кушинга, было описано еще в прошлом веке [17, 18]. Кратковременность ответа на ГКС при 2В типе БВ, вероятно, связана с их способностью активировать синтез *vWF*, приводя к его повышению [19]. В отсутствие качественного дефекта *vWF* этот и другие эффекты ГКС на свертывающую систему повышают риск венозных тромбозов [20]. У больных 2В типом БВ наоборот происходит быстрое образование ассоциаций дефектного *vWF* и тромбоцитов, после чего они элиминируются из кровотока, что вновь приводит к усилению геморрагических проявлений. Один из механизмов действия ВВИГ у данной группы пациентов может быть аналогичным их эффекту при ИТП – в некоторых случаях снижение тромбоцитов могло быть опосредовано не только особенностями патогенеза БВ 2В типа, но и иммунными механизмами. Кроме того, имеются описания влияния ВВИГ на выработку интерлейкина-11, который, в свою очередь, приводит к повышению тромбоцитов, FVIII и *vWF* у здоровых людей, пациентов с БВ и имеющих тромбоцитопению на фоне полихимиотерапии [21–24]. Как и в случае с ГКС, влияние ВВИГ не только на тромбоциты, но и на *vWF*, вероятно, обуславливает кратковременность эффекта от лечения.

В связи с редкостью заболевания крупные научные работы, в которых бы отдельно оценивалась выраженность геморрагических проявлений у детей, имеющих 2В тип БВ отсутствуют, однако имеются публикации исследований, куда были включены немногочисленные пациенты с этим типом заболевания, а также клинических случаев и их серий, где степень кровоточивости варьирует в широких пределах. В исследовании, проведенном в Аргентине в 2011 г., анализируются данные 194 детей с установленным диагнозом БВ, среди которых 12 пациентов имели 2В тип. Описано, что половина из них имели носовые кровотечения, кожный геморрагический синдром отмечался у 83,3%, а кровоточивость при экстракции зубов – у 16,7%. Все пациенты женского пола предъявляли жалобы на меноррагии. Также в 1 случае имелись данные о длительном кровотечении из пуповинного остатка. Геморрагические осложнения при оперативных вмешательствах, проводимых на фоне гемостатической терапии, отсутствовали [25]. В отдельных клинических случаях авторы преимущественно описывают кожный геморрагический синдром разной степени выраженности и кровоточивость при травматизации слизистой (прорезывание зубов, механическое повреждение и др.) [10, 11, 26].

Иногда симптомы кровоточивости в течение жизни настолько незначительны, что диагноз устанавливается уже в зрелом возрасте. Так, например,

описан случай подтверждения БВ 2В типа в возрасте 86 лет [27]. Однако не стоит считать, что геморрагический синдром при БВ 2В типа имеет исключительно «мягкое» течение. В литературе имеются данные о серьезных жизнеугрожающих геморрагических эпизодах. Так, например, были описаны случаи спонтанных внутримозговых кровоизлияний [28], иногда имеющих рецидивирующее течение [29]. В нашей выборке имелись различные варианты течения геморрагического синдрома, однако ни у одного пациента не было зарегистрировано жизнеугрожающих кровотечений и внутримозговых кровоизлияний. Оценка по шкале RBQ варьировала от 2 до 12 баллов, что также свидетельствует о гетерогенности геморрагических проявлений. До постановки диагноза дети госпитализировались в стационар для коррекции тромбоцитопении и по поводу кровотечений из мест травматизации, носовых и маточных кровотечений. Госпитализации в стационар после установления диагноза БВ потребовались лишь 1 пациенту в связи с развитием длительных носовых кровотечений и невозможностью проведения факторной терапии в домашних условиях.

Полученные нами результаты лабораторных исследований согласуются с литературными данными: как правило, у пациентов имеется снижение vWF:RCo. Снижение vWF:Ag и активности FVIII регистрируется не всегда и, как правило, носит пропорциональный характер [5, 6, 30]. Описанные случаи снижения vWF:CB обычно связаны с утратой высокомолекулярных изоформ vWF. Визуализация распределения мультимеров vWF в зависимости от их размера может осуществляться при помощи электрофореза изоформ vWF в геле [31]. Пациентам в нашей выборке до настоящего времени мультимерный анализ vWF не проводился.

Долгое время важным подтверждающим исследованием для БВ 2В типа считалось повышение LD-RIPA в сочетании с тромбоцитопенией и снижением активности vWF [32]. Данное тестирование позволяет с высокой вероятностью дифференцировать характерные лабораторные фенотипические признаки 2В типа БВ, но имеет некоторые ограничения. Например, для исследования требуются только свежие образцы крови, и их транспортировка в лабораторию должна происходить в максимально короткие сроки. Кроме того, отсутствует стандартизированная методика проведения исследования и поэтому дозы ристомидина варьируют в различных лабораториях. Среди прочих ограничений также выделяют чувствительность метода к разнообразным дефектам преаналитического этапа и трудность проведения исследования при выраженном снижении тромбоцитов. При этом при повторном обследовании пациентов диагноз подтверждался лишь в 60–77% случаев

[33]. В нашей выборке значение LD-RIPA было повышено у 6 из 7 пациентов, а в 1 случае исследование не было проведено по причине глубокой тромбоцитопении. В последнем случае диагноз был установлен на основании характерного лабораторного фенотипа, но для его подтверждения уже запланировано проведение генетического исследования.

В связи с наличием ограничений исследования LD-RIPA руководство, изданное в 2021 г., предлагает считать генетическое определение патогенных мутаций в экзоне 28 гена *vWF* ключевым методом диагностики 2В типа БВ. Бесспорным плюсом этого теста является возможность отсроченной работы с образцами, что позволяет транспортировать кровь в лабораторию из отдаленных регионов. Кроме того, он менее чувствителен к тромбоцитопении и дефектам преаналитического этапа [6]. Однако и он не идеален. Генетическое исследование позволяет выявить лишь наличие мутации и, если она описана как патогенная или вероятно патогенная, подтвердить заболевание при наличии характерных фенотипических особенностей [34]. При этом описаны как мутации в экзоне 28 гена *vWF*, относящиеся к другим подтипам БВ [7], так и мутации, выявляемые в нетипичных для 2В типа участках гена, например, в одном из клинических случаев у пациентки имелись характерный для БВ 2В типа лабораторный фенотип и мутация, обычно выявляемая при 2А типе [35]. Также встречаются и ранее неизвестные мутации, которые трактуются в пользу того или иного типа в зависимости от имеющихся клинических и лабораторных данных [36]. Некоторые авторы при отсутствии характерного лабораторного фенотипа и наличии мутаций в экзоне 28 все же предлагают считаться с диагнозом БВ 2В типа [37]. Отдельные авторы, напротив, не отрицая эффективность генетического обследования, все еще считают LD-RIPA хорошей скрининговой методикой, указывая на потребность в ее стандартизации [34]. У большинства описанных нами пациентов диагностика осуществлялась до 2021 г., поэтому генетическое обследование проводилось только 2 детям, которые помимо «классической» мутации в экзоне 28 имели и мутацию в экзоне 20 гена *vWF*.

Зарубежные руководства учитывают, что верификация диагноза важна для правильного подбора терапевтических опций – пациентам, имеющим 2В тип, противопоказаны препараты десмопрессина. Его интраназальные формы стимулируют выброс vWF, содержащегося в тельцах Вейбла–Паллада эндотелиоцитов и альфа-гранулах тромбоцитов, что при 2В типе лишь усиливает тромбоцитопению и течение геморрагического синдрома [6]. В Российской Федерации препараты десмопрессина для лечения пациентов с БВ не зарегистрированы и главной терапевтической опцией является заместительная

факторная терапия. Все описанные нами пациенты получали препараты факторов свертывания крови в режиме «по требованию» – при возникновении значимых кровотечений или необходимости проведения инвазивных процедур. Однако, как уже говорилось выше, геморрагические проявления при 2В типе БВ гетерогенны и имеются данные об успешном осуществлении заместительной факторной терапии в режиме профилактики у пациентов с выраженной кровоточивостью [38]. В литературе встречаются также редкие упоминания о применении агонистов рецепторов тромбозина у пациентов с тяжелыми геморрагическими проявлениями [39], связывающие их эффективность среди прочего с нарушением тромбоцитопоза у больных 2В типом БВ [40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

БВ 2В типа – редкое заболевание, которое скрывается под масками более распространенных гематологических болезней у детей и ведет лечащего врача по ложному следу. Дебют в раннем возрасте с тромбоцитопенией и геморрагического синдрома диктует необходимость включения БВ 2В типа в спектр дифференциальных диагнозов младенческих тромбоцитопений. При этом при всей трудности диагностики большинство описанных случаев БВ 2В типа имело доброкачественное течение и не сопровождалось тяжелыми жизнеугрожающими кровотечениями, что не исключает их развития в редких случаях. Диагно-

стика данного типа БВ непроста и рекомендации по приоритетности генетического обследования не исключают исследования LD-RIPA наравне с другими традиционными тестами для подтверждения лабораторного фенотипа заболевания. При этом результаты генетического обследования со временем, скорее всего, перестанут быть конечной точкой в постановке диагноза БВ 2В типа. Главной терапевтической опцией для пациентов с БВ в настоящее время в Российской Федерации является заместительная факторная терапия, которая проводится в режимах профилактики или «по требованию» в зависимости от характера течения геморрагического синдрома у конкретного пациента.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Коллектив авторов выражает благодарность сотрудникам ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, фонду «Лечим вместе», а также администрации ГБУ РО «Областная детская клиническая больница» (Ростов-на-Дону).

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Golovina E.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4452-5821>

Poletaev A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5209-2099>

Seregina E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7534-3863>

Fedorova D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4567-1871>

Pshonkin A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2057-2036>

Zharkov P.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

Литература / References

1. Biron C., Mahieu B., Rochette A., Capdevila X., Castex A., Amiral J., et al. Preoperative screening for von Willebrand disease type 1: low yield and limited ability to predict bleeding. *J Lab Clin Med* 1999; 134 (6): 605–9. DOI: 10.1016/s0022-2143(99)90100-2
2. Werner E.J., Broxson E.H., Tucker E.L., Giroux D.S., Shults J., Abshire T.C. Prevalence of von Willebrand disease in children: a multi-ethnic study. *J Pediatr* 1993; 123 (6): 893–8. DOI: 10.1016/s0022-3476(05)80384-1
3. Sadler J.E., Mannucci P.M., Berntorp E., Bochkov N., Boulyjenkov V., Ginsburg D., et al. Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2000; 84: 160–74.
4. Starke R.D., Ferraro F., Paschalaki K.E., Dryden N.H., McKinnon T.A., Sutton R.E., et al. Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. *Blood*. 2011; 117 (3): 1071–80. DOI: 10.1182/blood-2010-01-264507
5. Nichols W.L., Hultin M.B., James A.H., Manco-Johnson M.J., Montgomery R.R., Ortel T.L., 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 (2): 171–232. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2007.01643.x
6. James P.D., Connell N.T., Ameer B., Di Paola J., Eikenboom J., Giraud N., et al. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood Adv* 2021; 5 (1): 280–300. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020003265
7. Favalaro E.J., Dean E., Arunachalam S., Vong R., Mohammed S. Evaluating errors in the laboratory identification of von Willebrand disease using contemporary von Willebrand factor assays. *Pathology* 2022; 54 (3): 308–17. DOI: 10.1016/j.pathol.2021.07.001
8. Proud L., Ritchey A.K. Management of type 2b von Willebrand disease in the neonatal period. *Pediatr Blood Cancer* 2017; 64: 103–5. DOI: 10.1002/pbc.26168
9. Hepner D.L., Tsen L.C. Severe Thrombocytopenia, Type 2B von Willebrand Disease and Pregnancy. *Anesthesiology* 2004; 101: 1465–7. DOI: 10.1097/0000542-200412000-00029
10. Fan J., Ling J., Zhou H., He J., Hu S. Case Report: An Infant with Severe Thrombocytopenia Diagnosed with Type 2B von Willebrand Disease Due To a De Novo p.Val1316Met Mutation. *Turk J Haematol* 2020; 37 (4): 296–8. DOI: 10.4274/tjh.galenos.2020.2020.0213
11. Kruse-Jarres R., Johnsen J.M. How I treat type 2B von Willebrand disease. *Blood* 2018; 131 (12): 1292–300. DOI: 10.1182/blood-2017-06-742692
12. Almomani M.H., Mangla A. Bernard Soulier Syndrome. [Updated 2022 May 14]. In: StatPearls [Electronic resource]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557671> (accessed 22.10.2024).
13. Bury L., Malara A., Momi S., Petito E., Balduini A., Gresele P. Mechanisms of thrombocytopenia in platelet-type von Willebrand disease. *Haematologica* 2019; 104 (7): 1473–

81. DOI: 10.3324/haematol.2018.200378
14. Othman M. Platelet-type von Willebrand disease: a rare, often misdiagnosed and underdiagnosed bleeding disorder. *Semin Thromb Hemost* 2011; 37 (5): 464–9. DOI: 10.1055/s-0031-1281030
 15. Malik M.A., Masab M. Wiskott–Aldrich Syndrome. [Updated 2022 Jun 27]. In: StatPearls [Electronic resource]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539838> (accessed 22.10.2024).
 16. Nurden A.T., Federici A.B., Nurden P. Altered megakaryocytopoiesis in von Willebrand type 2B disease. *J Thromb Haemost* 2009; 7 Suppl 1: 277–81. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03371.x
 17. Dame C., Sutor A.H. Primary and secondary thrombocytosis in childhood. *Br J Haematol* 2005; 129: 165–77. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05329.x
 18. Sato T., Hiramatsu R., Iwaoka T., Fujii Y., Shimada T., Umeda T. Changes of Platelets, Serum Lactic Dehydrogenase, γ -Glutamyltranspeptidase, Choline Esterase and Creatine Phosphokinase Levels in Patients with Cushing's Syndrome. *Tohoku J Exp Med* 1984; 142 (2): 195–200. DOI: 10.1620/tjem.142.195
 19. Chopra A., Kumar R., Kishore K., Tandon N., Yusuf T., Kumar S., et al. Effect of glucocorticoids on von Willebrand factor levels and its correlation with von Willebrand factor gene promoter polymorphism. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012; 23 (6): 514–9. DOI: 10.1097/MBC.0b013e3283548dfc
 20. Yuan Z.H., Zhu P. [Relationship of von Willebrand factor gene single-nucleotide polymorphism with thrombosis diseases]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2010; 18 (2): 549–52. [Chinese].
 21. Nguyen A., Repesse Y., Ebbo M., Allenbach Y., Benveniste O., Vallat J.M., et al. IVIg increases interleukin-11 levels, which in turn contribute to increased platelets, VWF and FVIII in mice and humans. *Clin Exp Immunol* 2021; 204 (2): 258–66. DOI: 10.1111/cei.13580
 22. Denis C.V., Kwack K., Saffaripour S., Maganti S., André P., Schaub R.G., Wagner D.D. Interleukin 11 significantly increases plasma von Willebrand factor and factor VIII in wild type and von Willebrand disease mouse models. *Blood* 2001; 97 (2): 465–72. DOI: 10.1182/blood.v97.2.465
 23. Ragni M.V., Novelli E.M., Murshed A., Merricks E.P., Kloos M.T., Nichols T.C. Phase II prospective open-label trial of recombinant interleukin-11 in desmopressin-unresponsive von Willebrand disease and mild or moderate haemophilia A. *Thromb Haemost* 2013; 109 (2): 248–54. DOI: 10.1160/TH12-06-0447
 24. Wang Y., Niu Z.Y., Guo Y.J., Wang L.H., Lin F.R., Zhang J.Y. IL-11 promotes the treatment efficacy of hematopoietic stem cell transplant therapy in aplastic anemia model mice through a NF- κ B/microRNA-204/thrombopoietin regulatory axis. *Exp Mol Med* 2017; 49 (12): e410. DOI: 10.1038/emm.2017.217
 25. Bonduel M., Frontrath J.P., Hepner M., Sciuccati G., Feliu-Torres A., Pieroni G. Von Willebrand disease in children: diagnosis and management of a pediatric cohort in one single center in Argentina. *Semin Thromb Hemost* 2011; 37 (5): 560–7. DOI: 10.1055/s-0031-1281043
 26. Kranzhöfer D., Pavlova A., Schneider H., Franck P., Glonnegger H., Büchsel M., et al. Type 2B von Willebrand Disease: Early Manifestation as Neonatal Thrombocytopenia. *Hamostaseologie* 2021; 41 (6): 469–74. DOI: 10.1055/a-1665-6185
 27. Chapman K., Prasad R., Mohamed S., Favalaro E.J. 2B or not 2B? A diagnosis of von Willebrand disease a lifetime of 86 years in the making. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2021; 32 (3): 229–33. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000994
 28. Espitia O., Ternisien C., Agard C., Boisseau P., Denis C.V., Fouassier M. Use of a thrombopoietin receptor agonist in von Willebrand disease type 2B (p.V1316M) with severe thrombocytopenia and intracranial hemorrhage. *Platelets* 2017; 28 (5): 518–20. DOI: 10.1080/09537104.2016.1246717
 29. Zanon E., Pasca S., Bertomoro A., Mardari R., Simioni P. Spontaneous recurrent intracranial haemorrhage in a woman with type 2B von Willebrand disease: A clinical case and a brief literature review. *Haemophilia* 2019; 25 (4): e282–5. DOI: 10.1111/hae.13742
 30. Seidizadeh O., Baronciani L., Pagliari M.T., Cozzi G., Colpani P., Cairo A., et al. Phenotypic and genetic characterizations of the Milan cohort of von Willebrand disease type 2. *Blood Adv* 2022; 6 (13): 4031–40. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022007216
 31. Полетаев А.В., Серёгина Е.А., Пшонкин А.В., Карамян Н.А., Фёдорова Д.В., Плясунова С.А., Жарков П.А. Мультимерный анализ фактора Виллебранда: новые диагностические возможности. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2021; 8 (2): 35–41. DOI: 10.21682/2311-1267-2021-8-2-35-41 [Poletaev A.V., Seregina E.A., Pshonkin A.V., Karamyany N.A., Fedorova D.V., Plyasunova S.A., Zharkov P.A. Von Willebrand factor multimeric assay: novel diagnostics capabilities. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2021; 8 (2): 35–41. (In Russ.)].
 32. Frontrath J.P., Favalaro E.J. Ristocetin-Induced Platelet Aggregation (RIPA) and RIPA Mixing Studies. *Methods Mol Biol* 2017; 1646: 473–94. DOI: 10.1007/978-1-4939-7196-1_35
 33. DiGiandomenico S., Christopherson P.A., Haberichter S.L., Abshire T.C., Montgomery R.R., Flood V.H.; Zimmerman Program Investigators. Laboratory variability in the diagnosis of type 2 VWD variants. *J Thromb Haemost* 2021; 19 (1): 131–8. DOI: 10.1111/jth.15129
 34. Othman M., Favalaro E.J. 2B von Willebrand disease diagnosis: Considerations reflecting on 2021 multisociety guidelines. *Res Pract Thromb Haemost* 2021; 5 (8): e12635. DOI: 10.1002/rth2.12635
 35. Sacco M., Lancellotti S., Ferrarese M., Bernardi F., Pinotti M., Tardugno M., et al. Noncanonical type 2B von Willebrand disease associated with mutations in the VWF D'D3 and D4 domains. *Blood Adv* 2020; 4 (14): 3405–15. DOI: 10.1182/bloodadvances.202002334
 36. Jeraiby M.A., Sophie S., Caron C., Campos L., Brigitte T. Von Willebrand disease type 2B with a novel mutation in the VWF gene. *Ann Saudi Med* 2021; 41 (1): 59–61. DOI: 10.5144/0256-4947.2021.59
 37. Gindele R., Kerényi A., Kállai J., Pfliegler G., Schlamadinger Á., Szegedi I., et al. Resolving Differential Diagnostic Problems in von Willebrand Disease, in Fibrinogen Disorders, in Prekallikrein Deficiency and in Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia by Next-Generation Sequencing. *Life (Basel)* 2021; 11 (3): 202. DOI: 10.3390/life11030202
 38. Rugeri L., Harroche A., Repessé Y., Desprez D., Petesch B.P., Chamouni P., et al. Effectiveness of long-term prophylaxis using pdFVIII/VWF concentrate in patients with inherited von Willebrand disease. *Eur J Haematol* 2022; 109 (1): 109–17. DOI: 10.1111/ejh.13778
 39. Espitia O., Ternisien C., Agard C., Boisseau P., Denis C.V., Fouassier M. Use of a thrombopoietin receptor agonist in von Willebrand disease type 2B (p.V1316M) with severe thrombocytopenia and intracranial hemorrhage. *Platelets* 2017; 28 (5): 518–20. DOI: 10.1080/09537104.2016.1246717
 40. Nurden A.T., Federici A.B., Nurden P. Altered megakaryocytopoiesis in von Willebrand type 2B disease. *J Thromb Haemost* 2009; 7 Suppl 1: 277–81. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03371.x