

Maladie de Willebrand : stratégie du diagnostic biologique Willebrand disease: biological diagnostic strategy

Hmamed Meryem¹, Benjabbor Fidae¹, Tlamçani Imane¹, Amrani Moncef¹

¹Laboratoire d'hématologie, laboratoire central d'analyses médicales, CHU Hassan II, BP 30000, Fès, Maroc.

Abstract:

Willebrand disease (WD) is the most common constitutional haemorrhagic pathology; due to a quantitative or qualitative abnormality of von Willebrand factor (VWF). Its main symptomatology is mucocutaneous haemorrhages or bleeding caused by trauma or an invasive procedure, but it can also lead to gastrointestinal haemorrhages and haemarthrosis in the most severe forms. Von Willebrand factor (VWF) is a multimeric glycoprotein essential for primary hemostasis. It also carries clotting factor VIII (FVIII), prolonging its half-life and concentrating it in the damaged endothelium. Identification of VWD patients is now possible in many hemostasis laboratories thanks to the availability of automated tests. The three main screening tests used include: von Willebrand factor antigen (VWF:Ag), platelet-dependent VWF activity and factor VIII activity. More specialized tests are needed to classify Willebrand disease into different types and subtypes, which have different therapeutic management.

Key Word: Willebrand disease, Willebrand factor, biological diagnosis.

Résumé:

La maladie de Willebrand (MW) est la pathologie hémorragique constitutionnelle la plus fréquente ; due à une anomalie quantitative ou qualitative du facteur de von Willebrand (VWF). Elle a comme symptomatologie principale des hémorragies cutané-muqueuses ou de saignements provoqués par un traumatisme ou un geste invasif, mais peut également entraîner des hémorragies gastro-intestinales et des hémarthroses dans les formes les plus sévères. Le facteur de Von Willebrand (VWF) est une glycoprotéine multimérique essentielle pour assurer l'hémostase primaire. Il est également porteur du facteur VIII de coagulation (FVIII), prolongeant sa demi-vie et le concentrant au niveau de l'endothélium endommagé. L'identification des patients atteints de la maladie de von Willebrand est aujourd'hui possible dans de nombreux laboratoires d'hémostase grâce à la disponibilité de tests automatisés. Les trois principaux tests de dépistage utilisés incluent : l'antigène du facteur von Willebrand (VWF : Ag), l'activité VWF dépendante des plaquettes et le dosage du facteur VIII. Des tests plus spécialisés sont nécessaires pour classer la maladie de Willebrand en différents types et sous-types et dont la prise en charge thérapeutique est différente.

Mots-clés : Maladie de Willebrand, Facteur de Willebrand, Diagnostic biologique.

Date of Submission: 01-06-2020

Date of Acceptance: 16-06-2020

I. Introduction

La maladie de Willebrand (MW) est une pathologie hémorragique constitutionnelle ou acquise de transmission autosomique généralement dominante. Caractérisée par une anomalie quantitative ou fonctionnelle du facteur de Von Willebrand (VWF selon la nomenclature internationale). Sa prévalence est de l'ordre de 1 à 2 % de la population générale [1]. C'est une pathologie très hétérogène sur le plan clinique phénotypique et génétique ; Ce qui explique la diversité des tests biologiques utilisés aux laboratoires dans l'exploration d'un déficit en VWF. Le but de cet article est de donner une revue d'ensemble sur la MW : sa classification, physiopathologie, fonctions du VWF, ainsi que le processus complexe qui mène au diagnostic de la maladie.

II. Physiologie du VWF

Le facteur de Von Willebrand (VWF) est une grande glycoprotéine adhésive de structure multimérique, synthétisé par les cellules endothéliales vasculaires et les mégacaryocytes selon un processus complexe comprenant l'assemblage de grandes protéines multimériques de différentes tailles. La structure de base du VWF est un monomère comprenant 2050 acides aminés, séparé en plusieurs régions fonctionnelles permettant sa liaison au Facteur VIII (domaines D'et D3), à la glycoprotéine Ib α plaquettaire (GpIb α) (domaine A1), à la glycoprotéine IIb/IIIa plaquettaire (GpIIb/IIIa) (domaine C4) et au collagène sous-endothélial (domaines A1 et A3). Le gène qui code pour le facteur VWF (178 kb), est localisé sur le bras court du chromosome 12 et comporte 52 exons.

Après un ensemble complexe de modifications post-traductionnelles : dimérisation, glycosylation, assemblage des dimères en multimères le VWF revêt une forme hautement multimérisée ; et se trouve stocké dans l'endothélium au sein des corps de Weibel-Palade (granules α pour les plaquettes). Sous l'influence de stimuli variés (interleukines, thrombine, vasopressine, hypoxie, forces de cisaillement...) les corps de Weibel-Palade libèrent leur contenu de VWF de très haut poids moléculaire (VWF-THPM) dans le compartiment plasmatique. Ces formes très lourdes et hyperfonctionnelles car capables de se lier spontanément à la Gp1b plaquettaire subissent immédiatement une protéolyse, par une métalloprotéase plasmatique : L'ADAMTS13 (adisintegrin and metalloprotease with thrombospondin domains-13). Cette protéolyse est régulée in vivo par l'accessibilité du domaine A2, qui contient le site de clivage ainsi que des exo-sites d'interaction pour l'ADAMTS13 [1]. D'autres protéines, notamment la thrombospondine, peuvent également réduire le FVW. Ce processus permet d'avoir des multimères de taille inférieure qui adoptent une conformation globulaire.

III. Rôles du VWF :

Lors d'une brèche vasculaire le VWF se fixe au collagène sous endothéliale et en présence de forces de cisaillement élevées générées par l'écoulement laminaire du sang dans les artérioles, les multimères de VWF prennent une conformation allongée exposant à leur surface les sites de liaison aux récepteurs Gp1b plaquettaires, constituant ainsi une surface adhésive permettant le recrutement des plaquettes qui exposent à leur surface les récepteurs GpIIb/IIIa capables de fixer le VWF et le fibrinogène, permettant l'agrégation des plaquettes et la formation d'un clou plaquettaire oblitérant la brèche vasculaire.

Les domaines D'et D3 permettent la liaison du VWF au facteur VIII (FVIII) et son transport au site de la lésion vasculaire [2]. Cette association permet également de stabiliser le FVIII et de prolonger sa demi-vie en empêchant son clivage prématuré par plusieurs protéases comme la protéine C activée [3]. Une fois libéré du VWF, le FVIII se dégrade rapidement sa demi-vie plasmatique peut alors être réduite jusqu' à 2 heures (au lieu de 12 à 20 h en présence de VWF).

Le VWF joue également un rôle dans la Thrombopoïèse : les études suggèrent l'importance conjuguée du VWF et des forces de cisaillement pour la maturation terminale des pro-plaquettes en plaquettes discoïdes dans la circulation [4]. Une anomalie de la maturation mégacaryocytaire a été rapportée en présence de la mutation p. R1308P responsable de la maladie de Willebrand type 2B [5].

IV. Classification de la maladie de Willebrand : (Tableau 1)

La maladie de Willebrand (MW) constitutionnelle est définie comme un trouble hémorragique secondaire à un défaut génétique de la concentration, de la structure ou de la fonction du VWF indépendamment de la localisation de la mutation causale sur le gène VWF ou un autre gène [1]. Elle est considérée comme l'anomalie constitutionnelle de l'hémostase la plus fréquente. Sa prévalence mondiale a pu être estimée entre 0,6 et 1,3% [6], en revanche des enquêtes menées auprès d'individus symptomatiques et pris en charge dans des centres d'hémostase spécialisés ont révélé une prévalence de 100 cas par million soit 0,01% ou moins ce qui est similaire à la prévalence de l'hémophilie A. Par ailleurs les formes très sévères de la maladie (MW type 3) sont beaucoup plus rares estimées à l'ordre de 1 par million (soit 0,0001 %) [7].

La classification internationale établie par l'International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), et basée sur des analyses phénotypiques a permis de distinguer 3 types :

Maladie de Willebrand de type 1 : C'est la forme la plus courante, représentant entre 60% à 70% de la maladie de Willebrand avec des taux de VWF inférieurs à 40 UI /dl (souvent <30 U /dl) [8]. Ce type est caractérisé par une diminution partielle et symétrique de l'antigène VWF, de l'activité fonctionnelle du VWF (activité cofacteur de la ristocétine, VWF:RCo) ainsi que du facteur VIII, et par la présence de tous les multimères. Il est généralement de transmission autosomale dominante. Les mutations responsables affectent généralement la sécrétion ou la clairance du VWF [9].

Maladie de Willebrand type 2 : c'est la forme la plus hétérogène de la maladie de Willebrand représentant 20% à 45% de la MW, de transmission dominante, sauf pour le type 2N et pour certains variants de type 2A. Différents mécanismes, parfois associés, sont en cause selon la mutation. Quatre grands sous-types ont été décrits.

-Le sous type 2A : c'est le plus fréquent de la MW de type 2, caractérisé par une diminution de l'affinité du VWF pour la Gp1b plaquettaire, associé à un déficit des multimères de HPM. Les taux de VWF:RCo sont notablement plus abaissés que ceux du VWF:Ag. L'agrégation en présence de faibles doses de ristocétine est absente ou très diminuée en présence de fortes doses. Les mutations en causes peuvent être : anomalies de dimérisation ou de multimérisation ; excès de protéolyse due à une sensibilité accrue à l'ADAMTS13 et/ou clairance accélérée dans la circulation. [10].

-Le sous type 2B : l'anomalie princeps est un gain de fonction du VWF pour la Gp1b plaquettaire, se traduisant par une adsorption spontanée du VWF sur les plaquettes. Bien que cela peut sembler bénéfique pour favoriser l'hémostase ; l'agrégation plaquettaire excessive dans la circulation, associée à une protéolyse accrue

des VWF-HPM liés aux plaquettes par l'ADAMTS13, provoquera par la suite une thrombopénie. Le rapport VWF:RCo/VWF:Ag est souvent diminué.

Une agrégation plaquettaire peut s'observer à une faible dose de ristocétine (0,2 à 0,6 mg/ml) qui ne peut induire l'agrégation d'un plasma riche en plaquettes de sujets normaux.

-Le Sous-type 2M : C'est une perte d'affinité du VWF pour le récepteur GPIb plaquettaire mais sans déficit des multimères de HPM. Les patients présentent un rapport VWF:RCo/VWF:Ag très diminué, alors que le rapport VWF:CB/VWF:Ag est normal. La liaison du VWF aux plaquettes induites par la ristocétine est diminuée, mais normale ou subnormale en présence de botrocétine [10].

-Le sous type 2N : Résulte d'une absence (ou franche diminution) de liaison du VWF au FVIII. Ce variant se traduit classiquement par un déficit plasmatique isolé en FVIII contrastant avec des taux normaux ou peu diminués de VWF. Les patients présentent un phénotype plus proche de l'hémophilie A mineure que les autres formes de MW. Le rapport FVIII/VWF:Ag est nettement diminué (< 0,5). La répartition des multimères est normale en dehors de rares cas. [11].

Maladie de Willebrand de type3 : Forme la plus grave de la maladie mais aussi la plus rare (sa prévalence est estimée à 1/1000000). Elle est due à un déficit quasi total en VWF. Le taux de FVIII est très diminué (< 10 UI/dl), mais reste mesurable, l'activité VWF:RCo est effondrée. L'agrégation plaquettaire induite par la ristocétine (RIPA) est effondrée voire nulle à toutes les concentrations. Le temps de saignement est constamment très allongé, entraînant des hémorragies spontanées des tissus et des articulations.

Ce type manifeste habituellement par des hématomes et des hémarthroses en plus des hémorragies cutanéomuqueuses. Les mutations impliquées sont très variées (mutations non-sens, larges délétions, mutations de sites d'épissage...), mais distinctes de celles retrouvées dans la MW de type1. Sa transmission est récessive.

V. Diagnostic biologique: (Figure 1)

Différents tests biologiques sont utiles pour établir le diagnostic et préciser le type et le sous-type, de la MW.

Le bilan de 1ère intention doit comprendre au minimum une exploration du taux du VWF plasmatique, un dosage de FVIII, et une mesure de son activité fonctionnelle (mesure de l'activité cofacteur de la ristocétine) ainsi que la réalisation de la RIPA si ce test est disponible.

En effet les dosages de ces trois paramètres (FVIII, VWF Ag et VWF:RCo) sont indissociable, puisque le calcul des ratios FVIII/VWF : Ag et VWF:RCo/VWF:Ag fait partie intégrante du bilan de dépistage.

V-1 Dosage antigénique du VWF : permet de quantifier la protéine plasmatique circulante du VWF, et peut être mesurée sur PPP (plasma pauvre en plaquette) par des méthodes immunologiques variées : immuno-enzymatique (ELISA ou ELFA), immunoturbidimétrique (LIA) ou immuno- chimiluminescence (IL). Cependant, seules les méthodes ELISA et IL, ont une sensibilité suffisante Pour permettre un diagnostic différentiel entre MW type 1 sévère (VWF : Ag <5 UI /dl) et MW type 3 (VWF : Ag <1 UI /dl) [1], car possèdent des limites de détection de 0,5 et 1 UI/dl, inférieures à celles des tests LIA (10 UI/d).

V-2 Dosage du FVIII : Un délai de moins de 2 h est recommandé en cas de dosage sur (plasma pauvre en plaquettes) PPP en raison de la thermolabilité du FVIII à température ambiante. En dehors des types 2N et 3, le taux du facteur VIII diminue parallèlement avec le taux de VWF, tout en restant généralement un peu plus abaissé, voir normal chez certains patients. Le déficit isolé en FVIII et/ou un ratio FVIII/VWF : Ag < 0,5-0,6 oriente soit vers une MW de type 2N soit vers une hémophilie A mineure. Un taux de FVIII normal a une mauvaise valeur prédictive négative pour le diagnostic de ces variants.

V-3 Mesure de l'activité fonctionnelle du VWF (liaison aux plaquettes)

La mesure de l'activité cofacteur de la ristocétine (VWF:RCo) constitue la méthode de référence et de première intention pour évaluer l'activité fonctionnelle du VWF. Ce test permet en effet d'évaluer la capacité du VWF à interagir avec des plaquettes normales en conditions statiques. L'absence de forces de cisaillement, essentielle à l'interaction VWF-GpIba in vivo, est contournée in vitro par l'utilisation de la ristocétine : un composé anciennement utilisé comme antibiotique modifiant la charge électro statique du VWF, et induisant une agglutination VWF-dépendante des plaquettes. Dans les déficits quantitatifs ce taux diminue parallèlement avec le VWF:Ag, alors que dans les anomalies qualitatives il est notablement plus abaissés que le taux de VWF:Ag, mais peut-être indétectable dans les formes graves[12].

La présence de polymorphismes sur les sites de liaison du VWF à la ristocétine (domaine A1) notamment le p.P1467S et p. D1472H ; constitue une limite intrinsèque à l'ensemble des tests basés sur l'usage de la ristocétine, car peuvent induire un taux faussement bas de VWF:RCo malgré une fonction in vivo normale du VWF [13].

D'autre part il existent des tests permettant d'évaluer biologiquement l'interaction VWF-GpIba en l'absence de Ristocétine et de plaquettes en se basant sur des méthodes immunoturbidimétrique par utilisation de billes de latex recouvertes d'un anticorps monoclonal anti-VWF reconnaissant un épitope fonctionnel pour la liaison à la GpIba. Ce test a prouvé sa performance dans le cadre du dépistage de la MW (CV < 10 %) [14].

Des tests automatisés utilisant une protéine recombinante GpIba mutée caractérisée par une hyper-affinité pour le VWF semblent intéressants à la fois pour le dépistage et le typage de la MW avec une bonne distinction entre MW type 1 et type 3 [15].

Malgré les bonnes performances analytiques et diagnostiques des tests récents qui s'affranchissent des contraintes de l'utilisation de la ristocétine et des plaquettes, et qui ont l'avantage d'offrir des réactifs plus stables, permettant d'effectuer le test à la demande ; le dosage du VWF:RCO reste le test fonctionnel de référence.

V-4 Tests spécialisés :

V-4-1 L'agrégation plaquettaire induite par la ristocétine(RIPA) : a pour principal intérêt de détecter une affinité augmentée du VWF pour la GpIb plaquettaire, par la mise en évidence d'une agrégation plaquettaire au sein d'un plasma riche en plaquettes (PRP) avec de très faibles doses de ristocétine, (inférieures à 0,8 mg/ml). Cette agrégation s'observe dans deux pathologies distinctes : la MW de type 2B et la pseudo-maladie de Willebrand (pseudo-MW) [16].

Des données récentes soulignent l'intérêt du RIPA dès le bilan de 1ère intention afin de ne pas méconnaître certains variants 2B pour lesquels la numération plaquettaire et la triade VWF : Ag, VWF :RCO ,FVIII :C s'avèrent parfois normales [17].

V-4-2 L'analyse de la distribution des multimères du VWF : Ce test n'est proposé que par une petite proportion de laboratoires d'analyse de la maladie de von Willebrand (<5% des laboratoires australiens par exemple). [18]

Le principe c'est de séparer les multimères en fonction de leurs tailles et de leurs poids moléculaires. Les méthodes les plus récentes utilisent la détection enzymatique des bandes tandis que la méthode originale utilisait la détection radio-isotopique des bandes [19].

La distribution des multimères est généralement normale dans le type 1 et les sous-types 2M et 2N, (tous les multimères sont présents). Dans le type 2A, il y a une perte des multimères de poids moléculaire intermédiaire et plus élevé. Dans le type 3, les multimères ne sont pas détectables.

V-4-3 L'étude de la liaison du VWF au FVIII (VWF : FVIII) : Effectuée devant un rapport FVIII :C/VWF : Ag diminué. Ce test réalisé par une technique ELISA étudie l'affinité du VWF au FVIII recombinant in vitro, et permet ainsi de différencier une MW de type 2N d'une hémophilie A dans sa forme mineure en objectivant une affinité conservée [20].

V-4-4 L'étude de la liaison du VWF au collagène (VWF : CB) : Plusieurs tests basés sur la méthode ELISA ont été développés pour évaluer la capacité du VWF à se lier à différents types de collagène humain [20]. Ce test peut être utile pour distinguer les sous types 2A et 2B (rapport VWF : CB/VWF:Ag diminué) des sous types 2M (rapport VWF:CB/VWF:Ag normal) [21].

L'utilisation des collagènes de types 1 et 3 permet l'identification de mutations dans le domaine A3 présentant une capacité réduite de VWF à se lier au collagène malgré la présence de structure multimérique normale. Des collagènes de types 4 et 6 peuvent également être utilisés permettant l'identification de certaines anomalies de liaison au VWF non identifiées par d'autres types de collagène notamment dans le domaine A1 [21]

V-4-5 Le dosage du propeptide (VWFpp): Le VWFpp est synthétisé selon un rapport équimolaire à la sous-unité mature du VWF, son dosage permet de révéler une clairance accélérée du VWF observée dans certaines formes de MW de type 1 notamment le type 1C, ou dans le syndrome de Willebrand acquis, en utilisant le rapport VWFpp / VWF:Ag, qui varie de 0,6 à 1,6 dans la population normale [22].

V-5 Analyse génétique :

Permet d'exclure l'influence de plusieurs variables telles que le stress, l'infection et l'inflammation. Les tests génétiques sont utiles pour différencier les types et les sous types de la MW, pour un conseil génétique, pour un éventuel diagnostic prénatal ou pour l'identification des patients à risque d'allo-immunisation et de réactions de type anaphylactiques lors d'un traitement par concentré de VWF.

Les anomalies génétiques sont mieux identifiées chez les patients atteints de la maladie de Willebrand type 2, car la présence de variants ciblés permet souvent de confirmer un diagnostic phénotypique 2A, 2B, 2M ou 2N. Des mutations génétiques peuvent être rencontrées chez la plupart des patients atteints de la MW de type 3.

Cependant, l'utilité clinique de ces tests présente certaines limites : le VWF est un très grand gène qui couvre 178 kb et contient 52 exons ; ce qui rend le séquençage et l'interprétation particulièrement difficile. En

outre, le gène est également hautement polymorphe avec plus de 300 polymorphismes nucléotidiques simples signalés [13].

VI. Conclusion

Le diagnostic et le traitement de la maladie de von Willebrand se sont considérablement améliorés au cours des dernières années. L'hétérogénéité de la MW nécessite la réalisation de plusieurs tests afin d'obtenir une caractérisation complète des taux plasmatiques et de l'activité fonctionnelle du VWF ; et donc un diagnostic précis de la maladie, qui est indispensable pour une prise en charge thérapeutique adéquate. L'interprétation des résultats nécessite une confrontation aux données cliniques à l'enquête familiale et au bilan biologique de dépistage. L'utilisation des techniques de biologie moléculaire pourrait bientôt changer radicalement notre approche diagnostique de la maladie de Willebrand.

Figure 1 : stratégie du dépistage et du typage de la MVW constitutionnelle

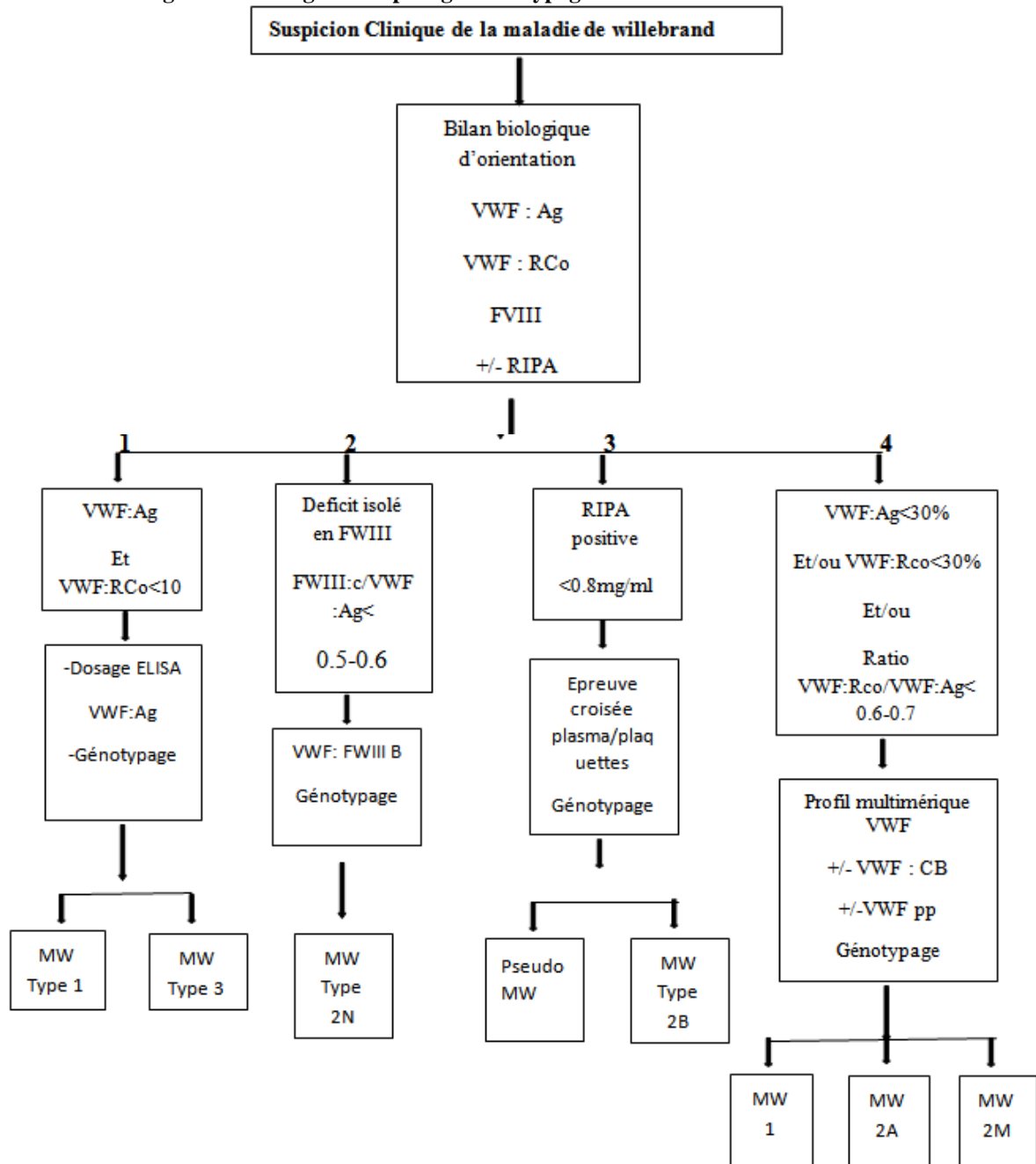


Tableau I : classification de la maladie de Willebrand

Type de VWD	Description	Commentaires	Diagnostic biologique	Défis diagnostiques	Profil de réponse DDAVP
Type 1	Déficit quantitatif partiel	Présentation la plus courante de « VWD » dans les pays développés ; la plupart des patients présentent des taux de FVW légèrement réduits.	De faibles niveaux de VWF, avec une concordance fonctionnelle de VWF	Parfois diagnostiqué entant que VWD de type 2 (variabilité du test ; problèmes pré-analytiques) ou mal identifiée comme n'étant pas la VWD (Augmentation de la phase aiguë du VWF en raison du stress, de la grossesse).	Répond généralement bien, sauf si VWF <10 U/dl 1. Généralement, VWF : Ag, VWF:RCo, VWF:CB et FVIII augmentent tous sensiblement.
Type 2A	Diminution de la proportion des formes de plus haut poids moléculaire résultant en un défaut interaction VWF-plaquettes.	Considérée comme la présentation la plus courante de MW type 2	Niveaux habituellement bas de VWF, avec discordance fonctionnelle de VWF (c.-à-d. Rapports de RCo / Ag et CB / Ag typiquement <0,7).	Parfois mal identifié comme VWD de type 1 ou 2M (variabilité du test ; panels de test limités).	Réponse clinique variable. En générale, VWF : Ag et FVIII augmentent .mais pas VWF : RCo et VWF: CB, les ratios CB / Ag et RCo/Ag restent inférieurs à 0,7.
Type 2B	Augmentation de l'affinité du VWF pour la glycoprotéine Ib plaquettaire	Forme rare de la maladie de von Willebrand de type 2. Définie par une réactivité améliorée au test RIPA.	Niveaux de VWF faibles à normaux, généralement avec une discordance fonctionnelle .	Parfois diagnostiqué comme VWD de type 2A (surtout si RIPA n'est pas effectué). Parfois diagnostiqué comme VWD de type 1 (surtout si RIPA ou VWF : CB non effectué	Certains le considèrent comme contre-indiqué, d'autres pensent qu'il représente un traitement efficace chez une proportion de patients. L'effet de la DDAVP sur les niveaux de VWF et de FVIII dépend du défaut en VWF.
Type 2M	Défaut interaction VWF-plaquettes et/ou défaut interaction VWF-collagène non lié à un défaut des formes multimères de haut poids moléculaires	Forme méconnue de la maladie de von Willebrand de type2. Considérée comme une forme relativement rare de VWD type 2.	Niveaux de VWF faibles à normaux, généralement avec une discordance fonctionnelle VWF détectée par RCo / Ag généralement <0,7, mais un rapport CB / Ag relativement normal. Les multimères de HPM présents, mais peuvent montrer d'autres anomalies.	Peut être identifié à tort comme une VWD de type 1 ou 2A (panels de tests limités qui permettent le dosage du VWF: CB ou des multimères).	Réponse clinique variable. En général, pour les cas de défauts de liaison plaquettaire, VWF : Ag, VWF: CB et FVIII augmentent tous mais pas VWF: RCo,
Type 2N	Défaut interaction VWF-FVIII	Forme rare de la maladie de von Willebrand de type 2.	Définie par le test VWF: FVIIIb, avec rapports FVIIIb / VWF :Ag souvent<0.5	Parfois confondu avec l'hémophilie A, ou d'autres formes de maladie de von Willebrand (en particulier de type 1)	Réponse clinique variable, en fonction du ou des déficits VWF composites présents.
Type 3	Déficit quantitatif total en VWF	Forme rare de la VWD dans les pays développés (<5% de la maladie de von Willebrand).	Généralement défini par des niveaux de VWF <5 U / dl et FVIII <10 U / dl.	Parfois diagnostiquée à tort comme une maladie de von Willebrand de type 1 (grave) ou d'hémophilie A (si le test de VWF n'est pas effectué).	Inefficace.

References

- [1]. Sadler JE, Budde U, Eikenboom JC, Favaloro EJ, Hill FG, Holmberg L, et al. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. *J ThrombHaemost* 2006; 4:2103–14.
- [2]. Castaman G, Goodeve A, Eikenboom J, European Group on von Willebrand D. Principles of care for the diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Haematologica* 2013; 98:667–74.
- [3]. Weiss HJ, Sussman II, Hoyer LW. Stabiliz*ation of factor VIII in plasma by the von Willebrand factor. Studies on posttransfusion and dissociated factor VIII and in patients with von Willebrand's disease. *J Clin Invest* 1977; 60: 390-404.
- [4]. Casari C, Lenting PJ, Wohner N, Christophe OD, Denis CV. Clearance of von Willebrand factor. *J ThrombHaemost* 2013;11(1):202–11.

-
- [5]. Nurden P, Debili N, Vainchenker W, et al. Impaired megakaryocytopoiesis in type 2B von Willebrand disease with severe thrombocytopenia. *Blood* 2006;108(8):2587-95.
- [6]. Nichols WL, Hultin MB, James AH, Manco-Johnson MJ, Montgomery RR, Ortel TL, Rick ME, Sadler JE, Weinstein M, Yawn BP. von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). *Haemophilia* 2008; 14: 171-232.
- [7]. Sadler JE, Mannucci PM, Berntorp E, bochkov N, Boulyjenkov V, Ginsburg D, Meyer D, Peake IR, Rodeghiero F, Srivastava A. Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand Disease. *ThrombHaemost* 2000; 84: 160-74. ACCEPTED
- [8]. Castaman G, Federici AB, Rodeghiero F, et al. Von Willebrand's disease in the year 2003: towards the complete identification of gene defects for correct diagnosis and treatment. *Haematologica* 2003;88(1):94-108.
- [9]. Eikenboom JC, Matsushita T, Reitsma PH, Tuley EA, Castaman G, Briet E, et al. Dominant type 1 von Willebrand disease caused by mutated cysteine residues in the D3 domain of von Willebrand factor. *Blood* 1996; 88:2433-41.
- [10]. Leebeek FW, Eikenboom JC. Von Willebrand's disease. *N Engl J Med* 2016 ;375:2067-80.
- [11]. Mazurier C, Dieval J, Jorieux S, et al. 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.
- [12]. Patzke J, Budde U, Huber A, Mendez A, Muth H, Obser T, et al. Performance evaluation and multicentre study of a von Willebrand factor activity assay based on GPIb binding in the absence of ristocetin. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2014;25(8):860-70.
- [13]. Flood VH, Gill JC, Morateck PA, et al. Common VWF exon 28 polymorphisms in African Americans affecting the VWF activity assay by ristocetin cofactor. *Blood* 2010;116(2):280-6.
- [14]. Trossaert M, Ternisien C, Lefrancois A, et al. Evaluation of an automated von Willebrand factor activity assay in von Willebrand disease. *Clin Appl ThrombHemost* 2011;17(6):E25-9.
- [15]. Lawrie AS, Stufano F, Canciani MT, et al. A comparative evaluation of a new automated assay for von Willebrand factor activity. *Haemophilia* 2013;19(2):338-42.
- [16]. Ruggeri ZM, Pareti FI, Mannucci PM, et al. 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
- [17]. Federici AB, Mannucci PM, Castaman G, et al. Clinical and molecular predictors of thrombocytopenia and risk of bleeding in patients with von Willebrand disease type 2B: a cohort study of 67 patients. *Blood* 2009;113(3):526-34.
- [18]. Favalaro EJ, Plebani M, Lippi G, Regulation in hemostasis and thrombosis : Part I-in vitro diagnostics. *Semin ThrombHemost* 2013; 39 235-49.
- [19]. Ruggeri ZM, Zimmerman TS. The complex multimeric composition of factor VIII/von Willebrand's factor. *Blood* 1981; 57: 1140-1143
- [20]. Flood VH, Gill JC, Christopherson PA, et al. Comparison of type I, type III and type VI collagen binding assays in diagnosis of von Willebrand disease. *J ThrombHaemost.* 2012;10(7): 1425-1432.
- [21]. Flood VH, Perils. Problems and Progress in laboratory diagnosis of Von Willebrand disease. *Semin ThrombHemost* 2014; 40: 41-8.
- [22]. Stufano F, Boscarino M, Bucciarelli P, Baronciani L, Maino A, Cozzi G, Peyvandi F. Evaluation of the Utility of von Willebrand Factor Propeptide in the Differential Diagnosis of von Willebrand Disease and Acquired von Willebrand Syndrome. *Semin ThrombHemost* 2018; 10--1660481.

Hmamed Meryem, et. al. "Maladie de Willebrand: stratégie du diagnostic biologique Willebrand disease: biological diagnostic strategy." *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, 15(3), (2020): pp. 47-53.