

Diagnostika von Willebrandovy choroby

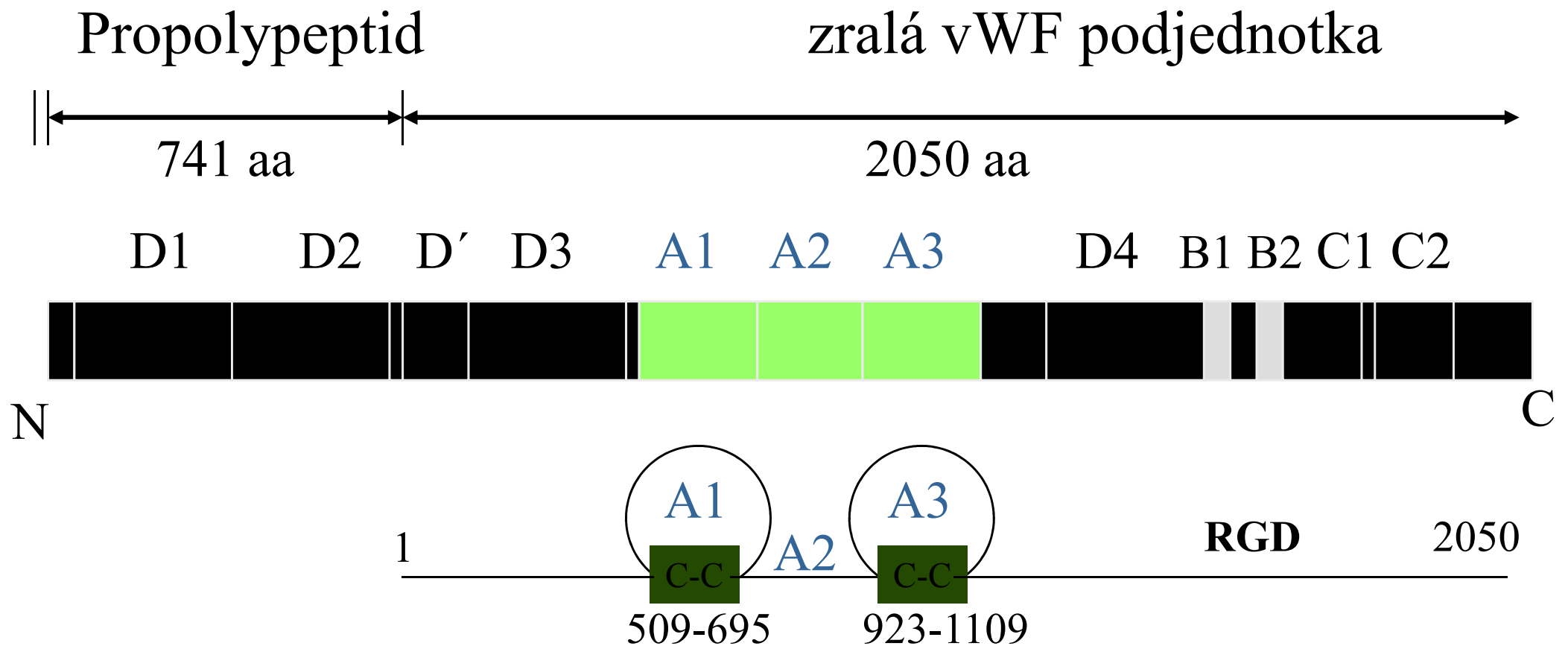
P. Smejkal

Oddělení klinické hematologie, FN Brno

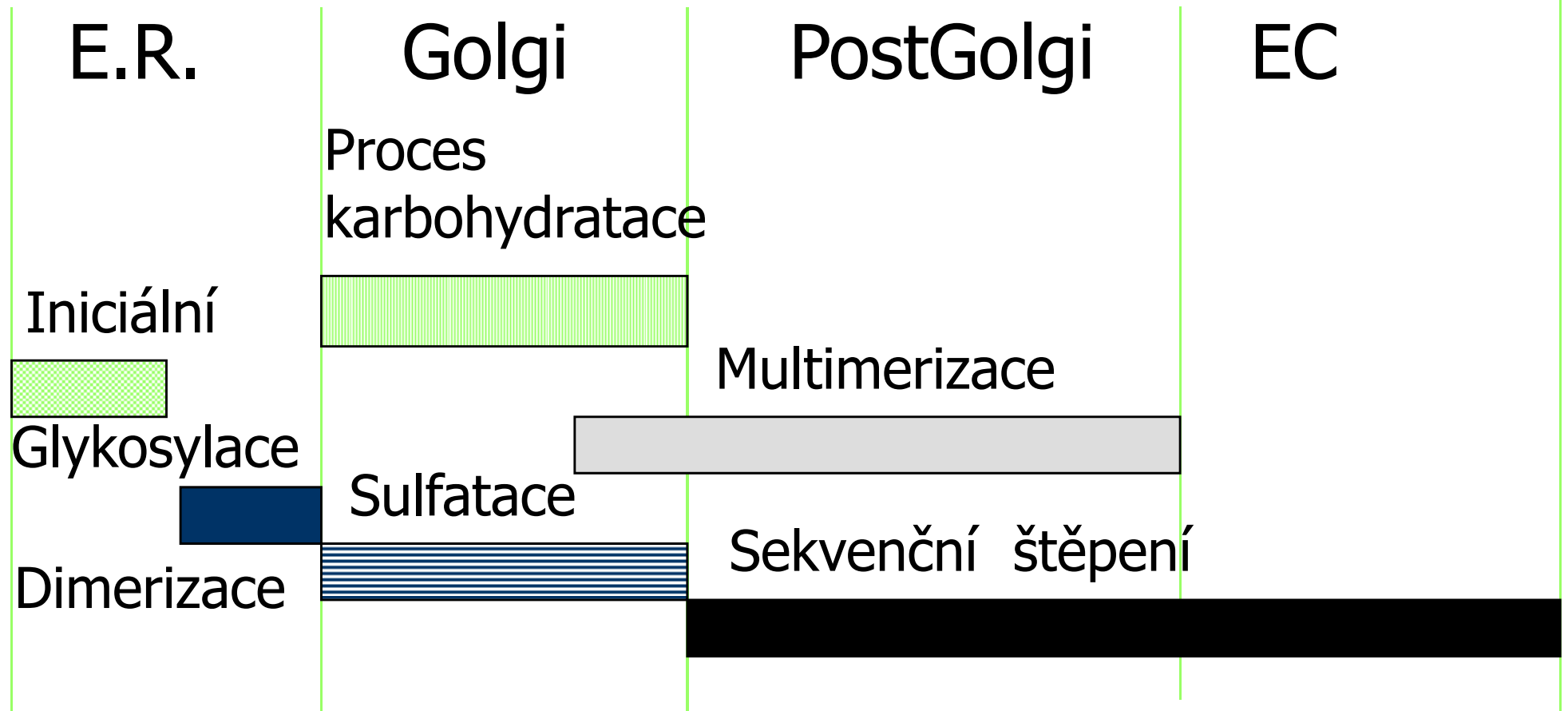
Von Willebrandův faktor

- **syntetizován v:**
 - **endotelu**
 - **megakaryocytech**
- **vytváří dimery a ty pak multimery**
- největší multimery až 15 000 kD
- koncentrace v plazmě $\approx 10 \mu\text{g/ml}$
- funkce:
 - v primární hemostáze
 - koagulaci

Schématicky pre-pro-vWF



Von Willebrandův faktor

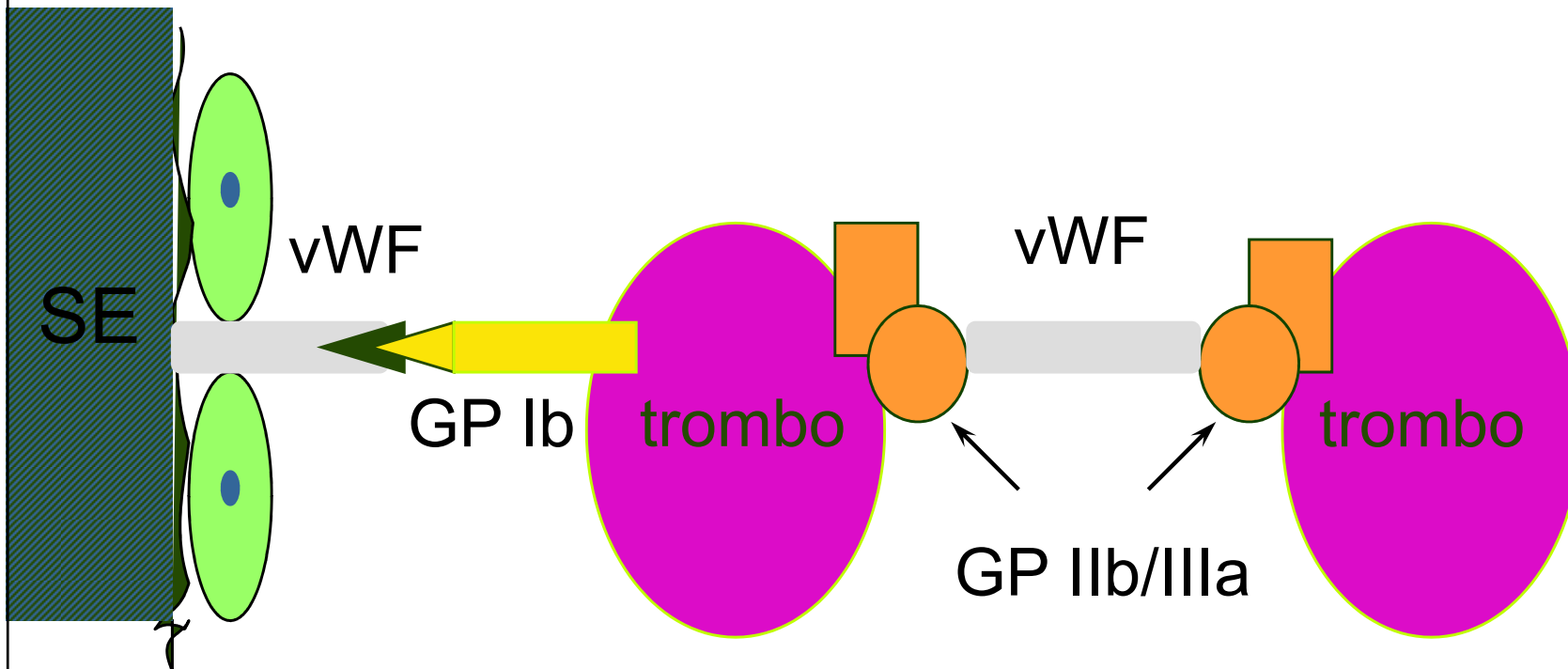


Von Willebrandův faktor

- funkce v primární hemostáze

(multimery o vysoké molekulové hmotnosti)

- adheze trombocytů k subendotelovým strukturám prostřednictvím GP Ib
- agregace vazbou na aktivovaný GP IIb/IIIa



Von Willebrandův faktor - **funkce v koagulaci**

(multimery všech molekulových hmotností)

- **váže a stabilizuje FVIII (ochrana FVIII před proteolytickou degradací)**
- **lokalizuje FVIII v místě poruchy cévní stěny**
- uvolňuje FVIII do oběhu
- efekt kofaktoru při aktivaci FVIII trombinem

Von Willebrandova choroba

- **vrozené defekty - porucha i mimo gen pro vWF (2006)**
 - **von Willebrandova choroba – vWCH**
- **získané defekty – sekundární vWCH**
 - imunitně podmíněné
 - v důsledku zvýšené adherence na destičky, tumorózní buňky
 - hyposyntéza
 - zvýšená proteolýza
- **pseudo-vWCH – destičkový typ**
 - ↑ **afinita GPIb k vWF**

Prevalence vWch

- **celková** **1%**
- klinicky krvácivé projevy 125/ 1 milion
- vyžadující léčbu 6-31/ 1 milion
- život ohrožující krvácení 0.5-3/ 1milion
- ohrožených krvácením 2500/ 1 milion
- **minimálně jako hemofilie A+B**

Klasifikace vWch (Sadler 1994)

- typ 1
 - **parciální kvantitativní defekt**
 - připuštěny i odchylky struktury multimerů a relativní snížení HMW multimerů, není-li postižena funkce vWF (2006)
 - autosomálně **dominantně**
 - 70 - 80%

- typ 2 - **kvalitativní defekt vWF**
 - autosomálně **dominantně (recesivně 2N)**
 - 20 - 25%

- typ 3
 - **úplný nedostatek vWF**
 - autosomálně **recesivně**
 - vWF < 5%, FVIII < 10%

vWCH typ 2 - podtypy

- **2A** - ↓ na trombocytech závislých funkcí vWF (AD)
 - **chybění HMW multimerů**
 - 15% (3/4 typu 2)
- **2M** - ↓ na trombocytech závislých fu. vWF (AD)
 - **patologická skladba multimerů vWF**
- **2B** - ↑ **afinita ke GPIb** (AD)
- **2N** - ↓ **afinity k FVIII** (AR)

Diagnóza vWCH typ 1

- **jistá:**
 - a) **krvácivé projevy**
 - b) **vWCH v rodině**
 - c) **laboratorní nálezy:**
 - vWF:RCo a vWF:Ag < 2 SD
(KS 0, non-0)
- **možná (possible):** - nesplněno a) nebo b)
- **nutno ze dvou odběrů**

Diagnóza vWCH typ 1 (problémy)

Nejsou přesné normy, protože jsou vlivy:

- **krevní skupiny 0 a non-0**
- věku
- pohlaví
- *menstruačního cyklu:*
 - *u některých žen je nižší hladina koncem menstruace*
- **vWF je reaktant akutní fáze**

Diagnostika vWCH - screening:

	<i>senzitivita</i>
■ trombocyty (↓typ 2B)	_____
■ aPTT	30%
■ doba krvácení	< 40%
■ PFA-100	79-95%
■ KT ?	_____
■ <u>osobní anamnéza</u> krvácivých projevů :	
■ slizniční krvácení a hematomy	
■ potraumatické a perioperační (zubní extrakce)	
■ <u>rodinná anamnéza</u>	

Laboratorní diagnostika vWCH

- specifické testy:

- **vWF:RCo (ristocetin kofaktor)**
- **FVIII:C (koagulační aktivita)**
- **vWF:Ag (antigen)**
- **vWF:CBA (vazebná kapacita pro kolagen)**

Laboratorní diagnostika vWCH

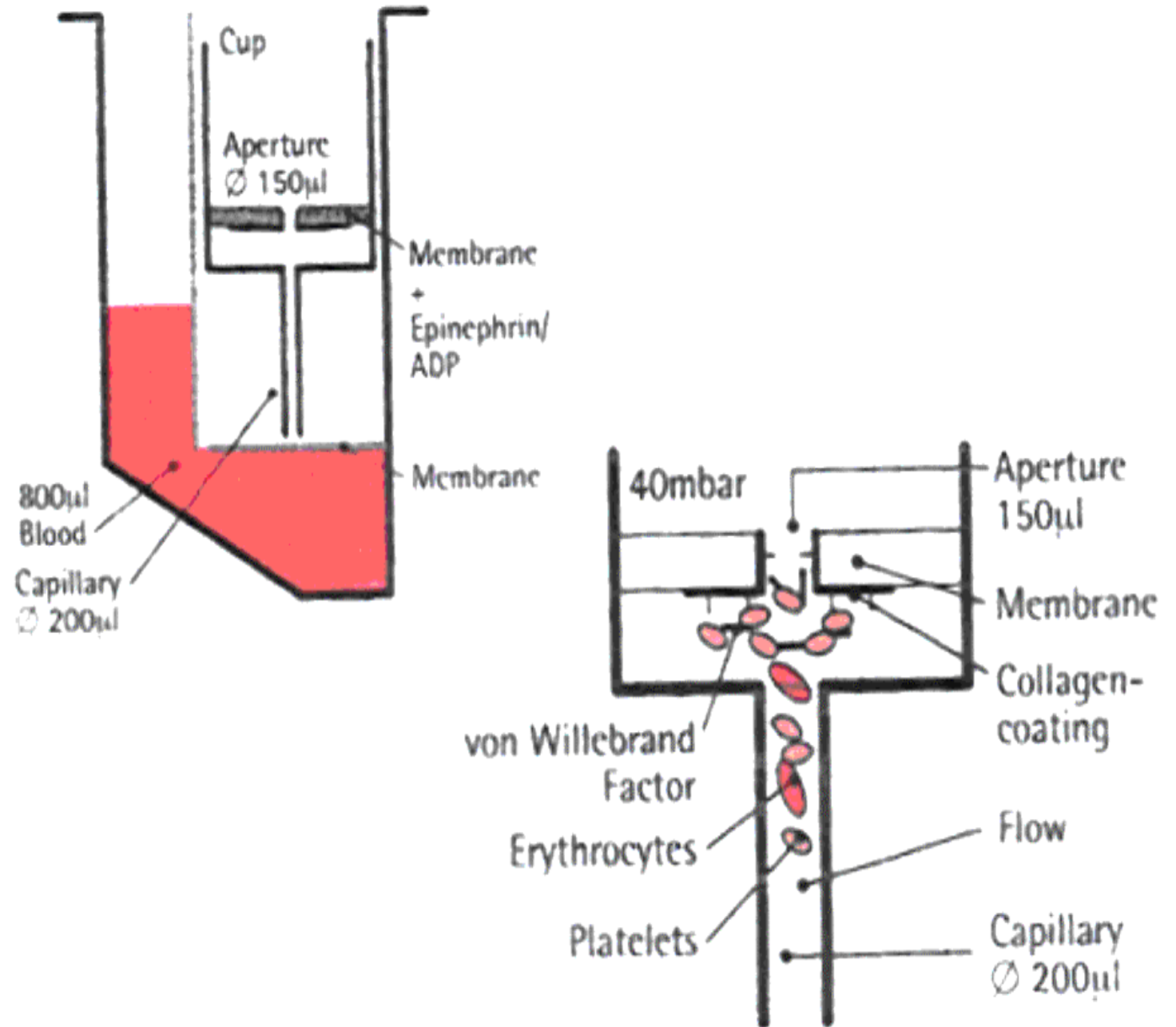
- diskriminační testy:

- **RIPA (ristocetinem indukovaná destičková agregace)**
- **analýza multimerů vWF**
- **vazba vWF pro FVIII**
- **vyšetření trombocytárního vWF**

Doba krvácení

- screeningový test primární hemostázy
- citlivější dle Ivyho
 - < 40%
 - riziko keloidní jizvy
 - nutnost písemného souhlasu
- test in vivo
- rozdíly mezi sety Simplate R

PFA 100



PFA-100

- screeningový test primární hemostázy
- kolagen + ADP nebo epinefrin
- čas k vytvoření koagula „closure time“ – CT
 - ADP <118 (127,120) s
 - epinefrin <162 (166) s
- sensitivita i u typu 1 vWCH 75 - 100%
- hereditárních trombocytopenií nepředčí DK?

vWF:RCo

- HMW + IMW multimers = 50%
- standard
- **k monitoraci léčby koncentráty vWF/FVIII**
- agregační metoda přesnější než aglutinační
- ELISA set se blíží vWF:Ag
- **u typu 2A, B, M**
 - **vWF: Ag / RCo > 1,4**
 - **vWF: RCo / Ag < 0,7**

vWF:Ag

- **EID:** - méně citlivé: - na typ 2 vWCH
- vWF <10%
- zkřížená EID
- **ELISA:** - standard
- **LIA:** - falešná pozitivita při RF
- méně citlivé vWF <10%

CBA

- collagen binding assay
- HMW multimery = 30%
- **sensitivnější pro typ 2A, 2B:
vWF:Ag / CBA > 2**

RIPA

(ristocetinem indukovaná destičková agregace)

- **ristocetin 1 – 1,5 mg /ml**
 - ↓ u typu 3, 2A (2M, 1)
- **ristocetin 0,3 – 0,5 mg /ml**
 - pozitivita agregace: - typ 2B
 - destičkový typ

Analýza multimerů vWF

- ELFO na agarozovém gelu
- vizualizace:
 - radiograficky
 - luminiscenčně
 - enzymaticky

Vazba FVIII na vWF:

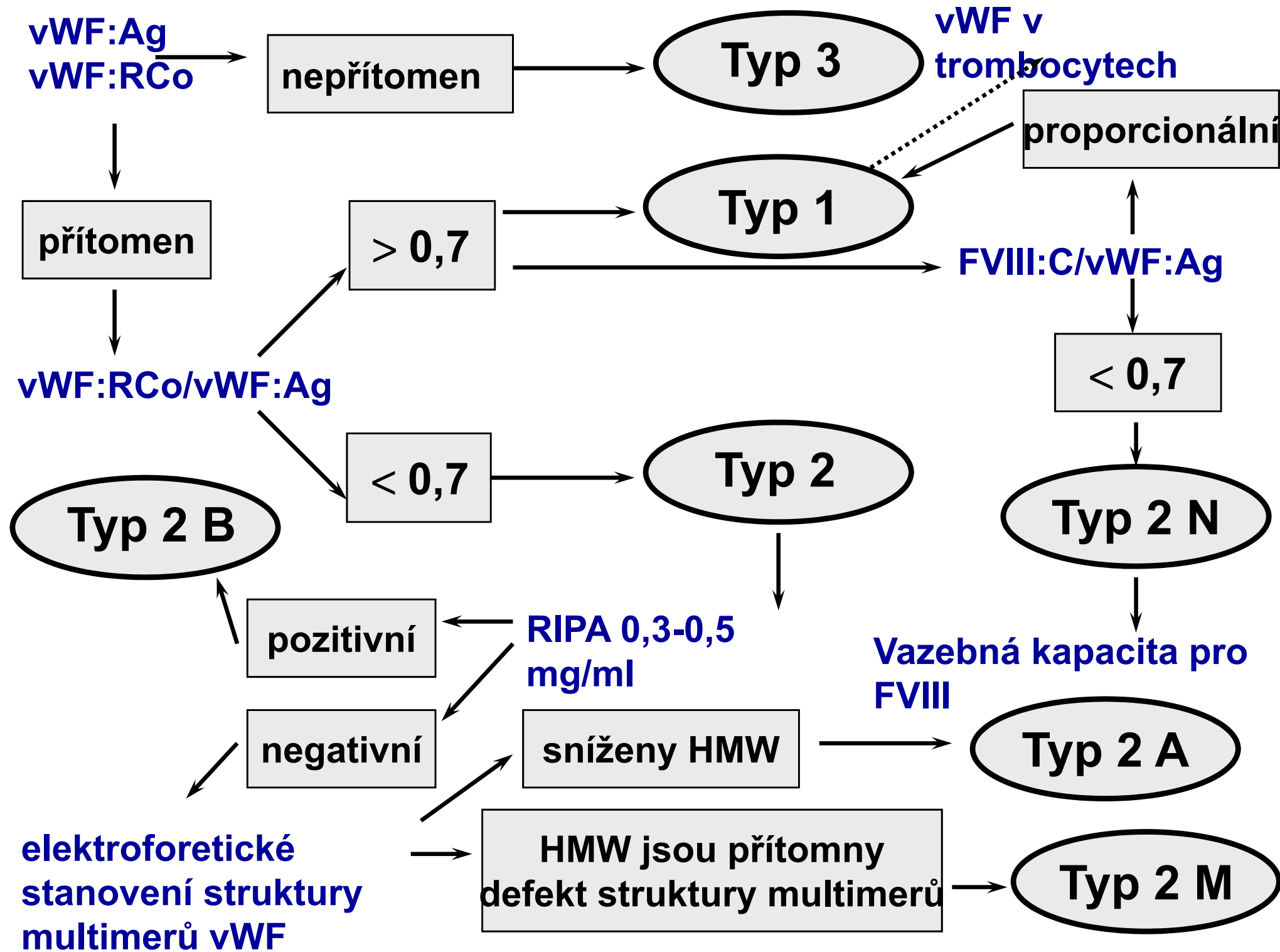
- **vyšetřit při vWF:Ag / FVIII:C > 1,4**
- set:
 - vazba rFVIII na fixovaný vWF
 - detekuje se FVIII navázaný na vWF:
 - ELISA
- vazba FVIII/vWF < 0,6 » typ 2N

Genetická diagnostika

- vWCH všechny typy 2:
 - missense mutace
- vWCH typ 1:
 - dosud neznámé mutace
 - heterogenní
- vWCH typ 3:
 - delece, nonsense, frameshift, missense

Diagnostika vWCH

typ	RIPA	RCo	Ag	FVIII	RCo/Ag	CBA	CBA/Ag
1	N↓	↓	↓	N↓	N	↓	N
2A	↓↓	↓↓	N↓	N↓	↓ < 0,7	↓↓	↓ < 0,5
2B	N↑	↓	N↓	N↓	↓ < 0,7	↓↓	↓ < 0,5
2M	N↓	↓	N↓	N↓	↓	N↓	N
2N	N	N↓	N↓	↓	N	N	N
3	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	N↓	↓↓	N↓



von Willebrandova choroba - léčba

Substituční terapie < 40 % vWF:RiCof
< 50 % FVIII:C

- **Haemate P (2,2 j. vWF:Ricof / 1 j. FVIII:C)**
- **1 j. vWF:RiCof / kg = 1,5%**
t₂ = 6 - 12 hod.
- **1 j. FVIII:C / kg = 2 %**
t₂ = 12 – 24 hod.

Koncentráty vWF/FVIII

koncentrát	vWF:RCo/FVIII:C			
Haemate P	2,5*	2,5♣	2,54●	2,0-2,7♦
Fanhdi	1,6	1,6	1,48	ND
Alfanate	1,6	1,2	ND	2,04
Immunate	ND	0,16	1,1	1,67
8Y	2,1	0,8	ND	1,3-3,2
FVIII-VHP-vWF	ND	ND	ND	4,3 – 8,5
VHP vWF	10	60	ND	8,75

*Lee A.L., *Textbook of Hemophilia*, 2005

●Federici A.B., *Haemophilia* 2002

♣Federici A.B., *Haemophilia* 2006

♦Berntorp E., *Haemophilia* 1999

HP vWF

- maximum vzestupu FVIII:C za 6 - 24 hod.
 - u akutního krvácení kombinovat s koncentrátem FVIII
- před operacemi první dávka 12 hod. předem
 - t_2 vWF:RCo = 11 h
 - t_2 FVIII:C = 17 h

von Willebrandova choroba - léčba

- **DDAVP** - 0,3 µg / kg i.v. á 12 - 24 hod., max. 5 dnů
(150 - 300 µg i. n.)

- **elevace:** - **vWF 2-4x** t₂ 5 - 10 hod.
 - **FVIII 2-6x** t₂ 6 - 12 hod.

- KI: - věk < 2 roky
 - epilepsie

- podpůrná - antifibrinolytika
 - venofarmaka
 - ethamsylát (Dicynone)
 - HAK

Léčba při inhibitoru vWF

- **výskyt inhibitoru**
 - **v 5 - 10% typu 3 vWCH**
 - **získaná forma vWCH (léčba zákl. onem.)**
- rFVIII (krátký t₂)
- rFVIIa (> 90 µg / kg á 2 - 3 hod.)
- imunoglobuliny
- DDAVP