

Diagnostika von Willebrandovy choroby

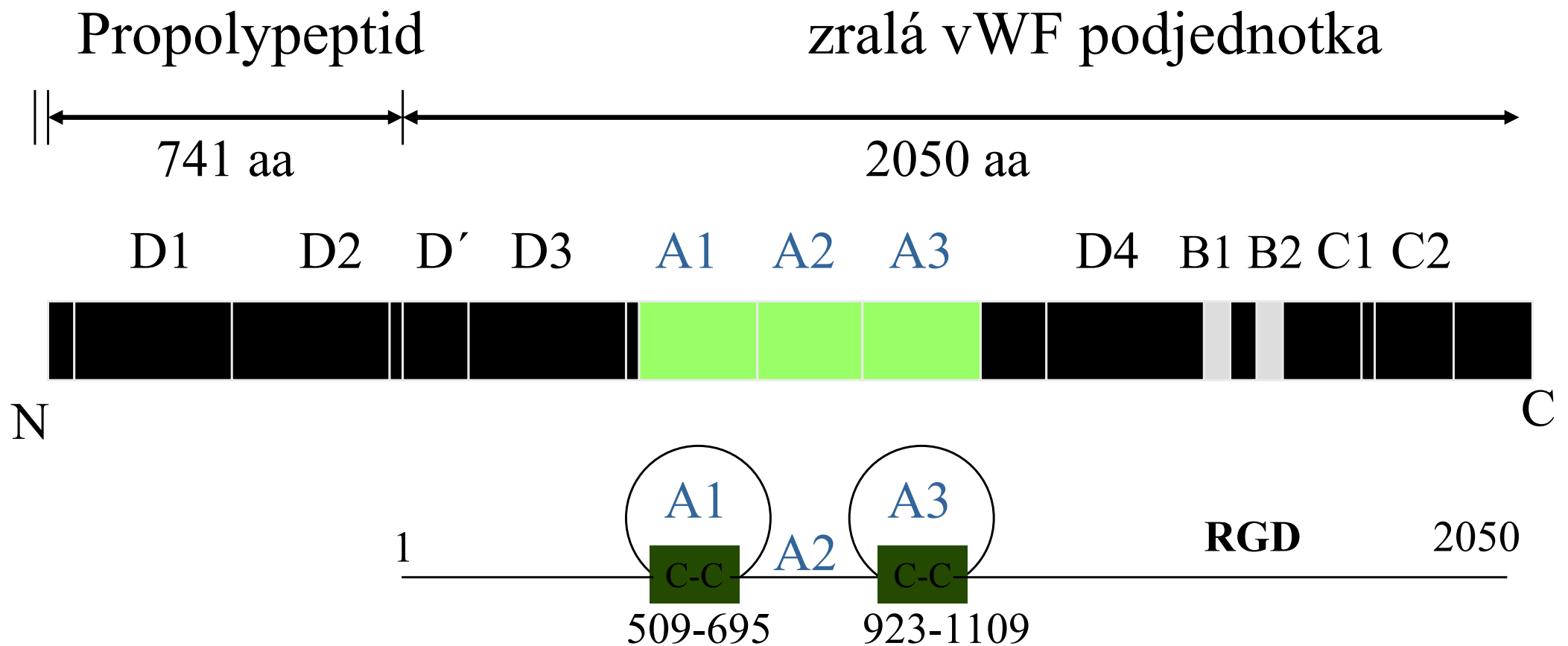
P. Smejkal

Oddělení klinické hematologie, FN Brno

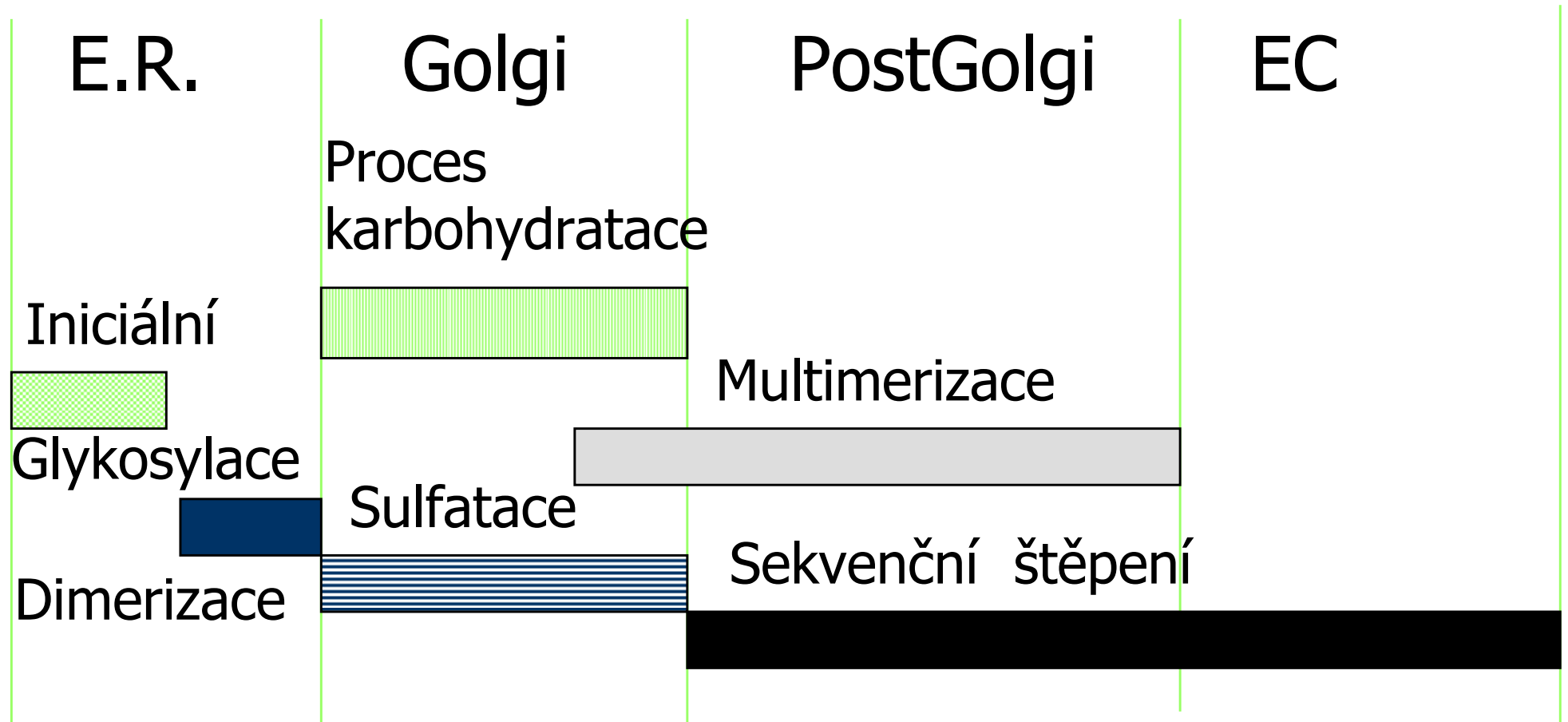
Von Willebrandův faktor

- syntetizován v:
 - endotelu
 - megakaryocytech
- 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

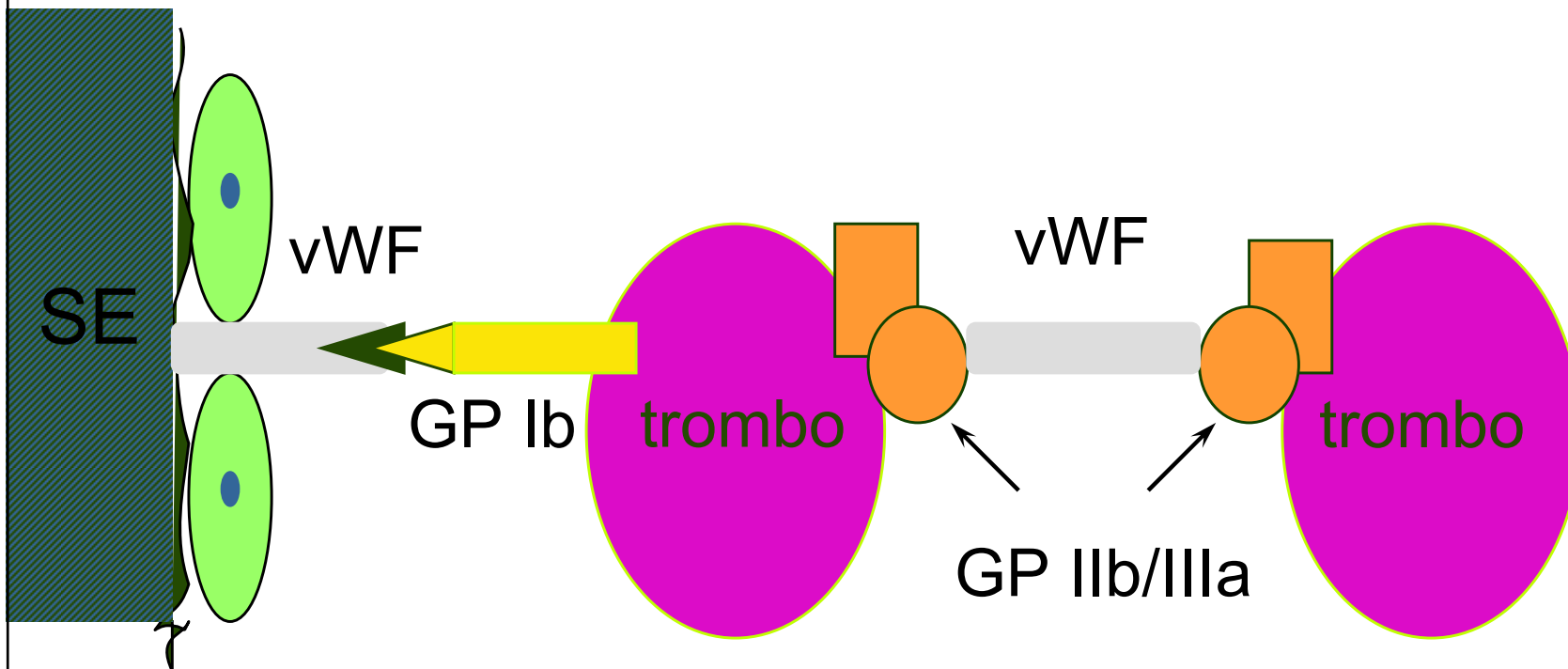


Von Willebrandův faktor

- 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 k 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
- rasy (černoši)
- *menstruačního cyklu:*
 - *bez HAK nejnižší vWF den 9 - 10*
 - *HAK nejnižší vWF den 5 - 6*
- vWF je reaktant akutní fáze

Diagnostika vWCH - screening:

senzitivita

- trombocyty (↓typ 2B) _____
- aPTT 30%
- doba krvácení < 40%
- PFA100 79-95%
- KT ? _____
- osobní anamnéza krvácivých projevů :
 - **slizniční krvácení a hematomy**
 - **potraumatické a perioperační (zubní extrakce)**
- rodinná anamnéza

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

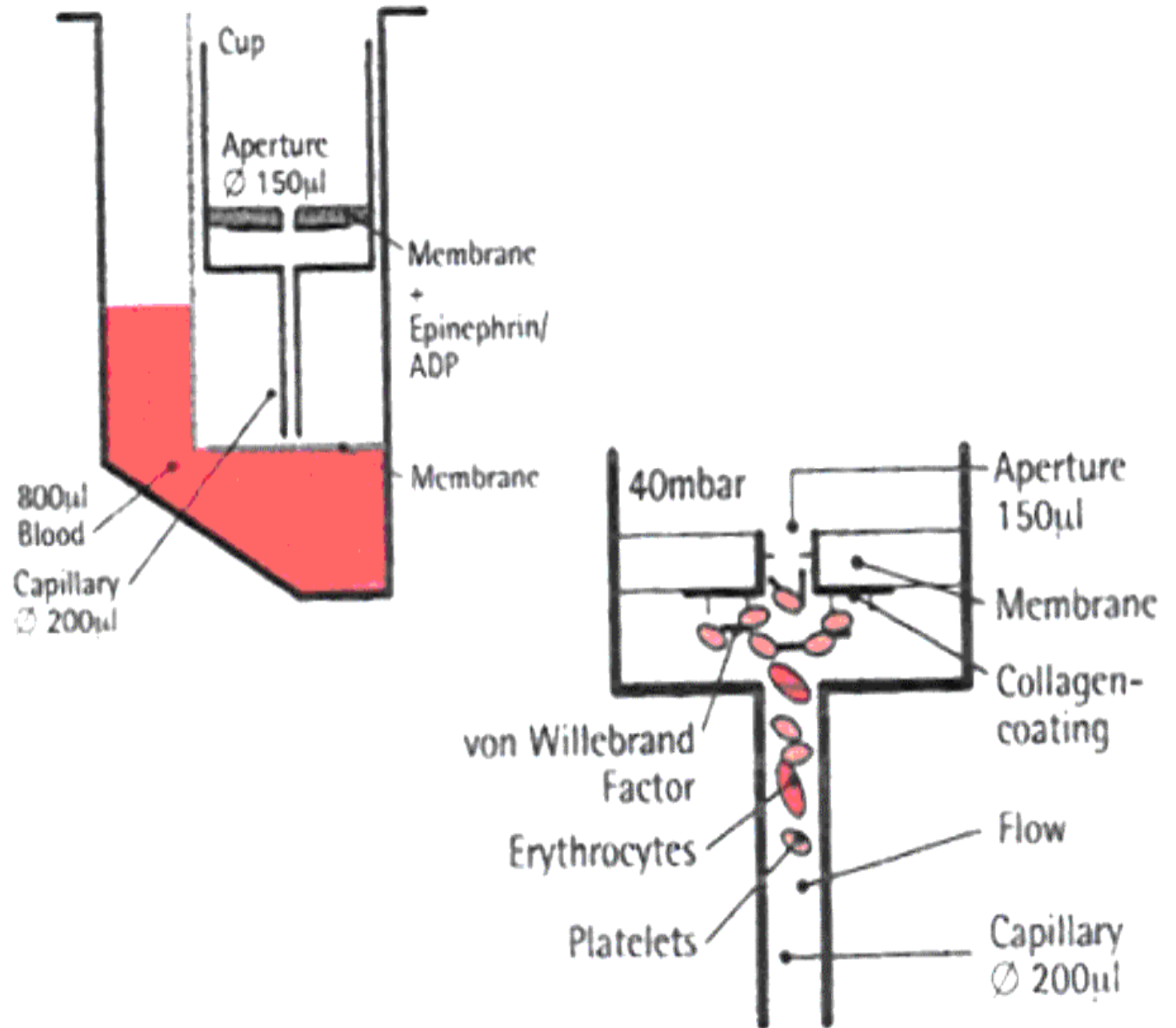
- diskriminační testy:

- 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
- $vWF:Ag / RCo > 1,4$ u typu 2A, B, M

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:

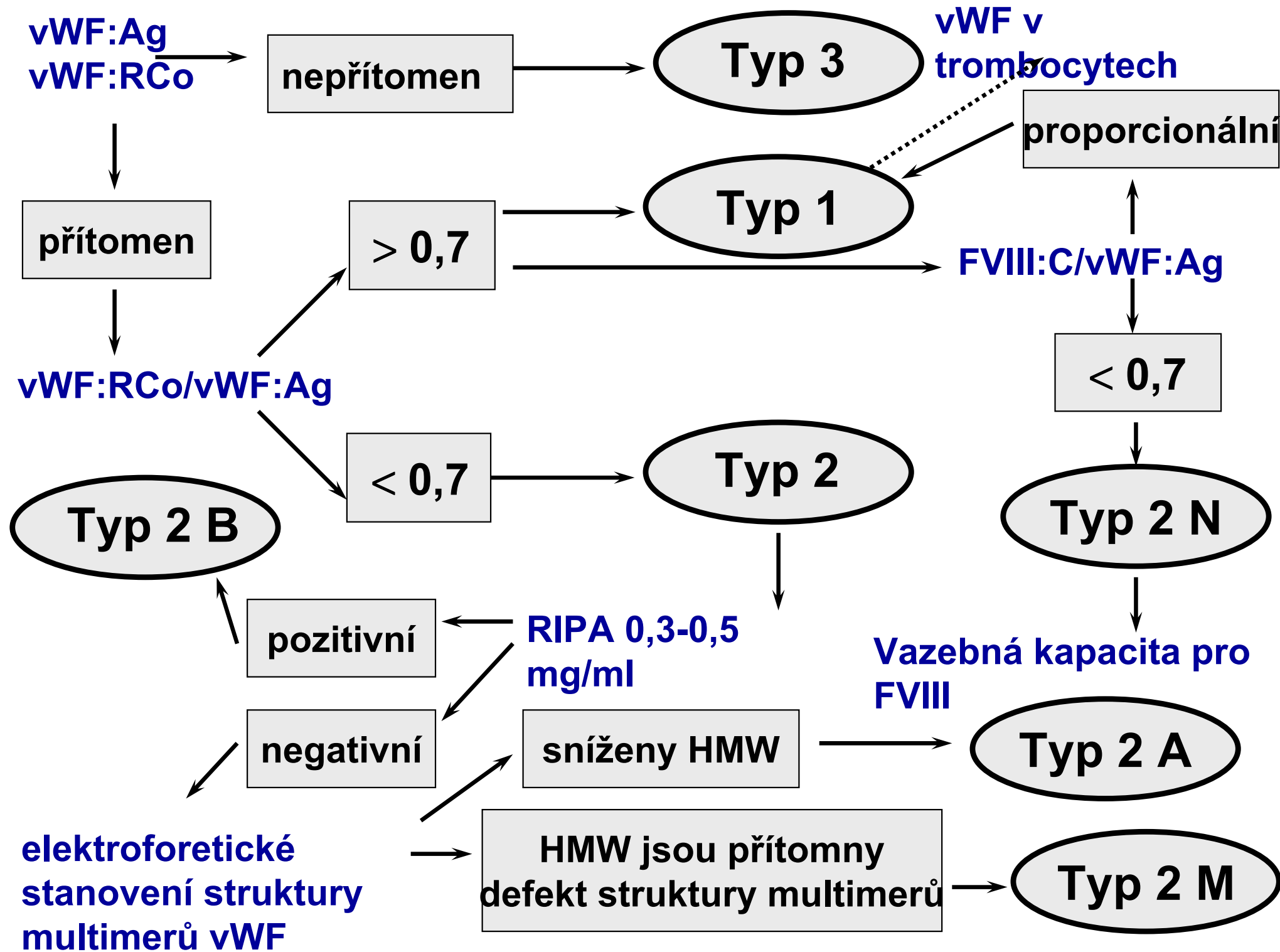
- vyšetřit při $vWF:Ag / FVIII:C > 1,4$
- set:
 - vazba rFVIII na fixovaný vWF
 - detekuje se FVIII navázaný na vWF:
 - chromogenně
 - ELISA
- vazba $FVIII/vWF < 0,6 \gg$ typ 2N

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
 - t₂ vWF:RCo = 11 h
 - t₂ FVIII:C = 17 h

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