

# **Diagnostika von Willebrandovy choroby**

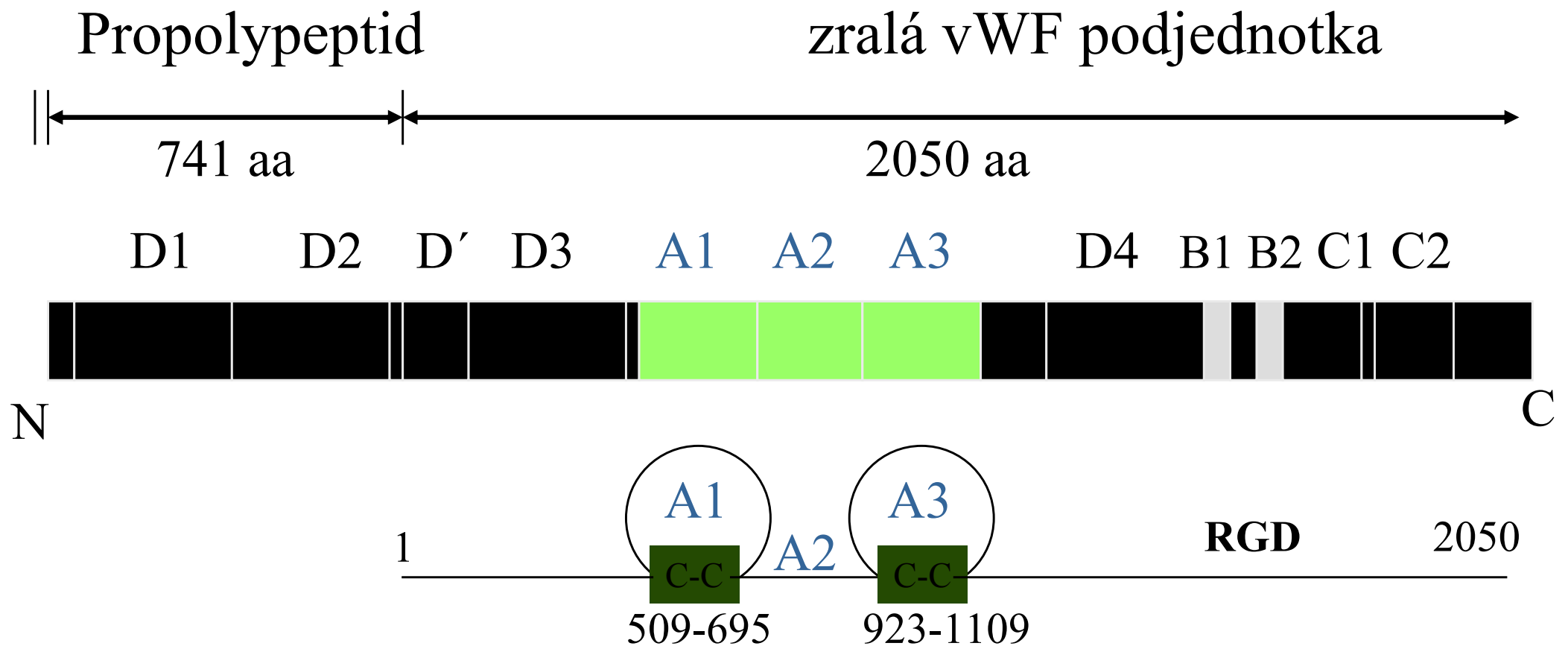
*P. Smejkal*

*Oddělení klinické hematologie, FN Brno*

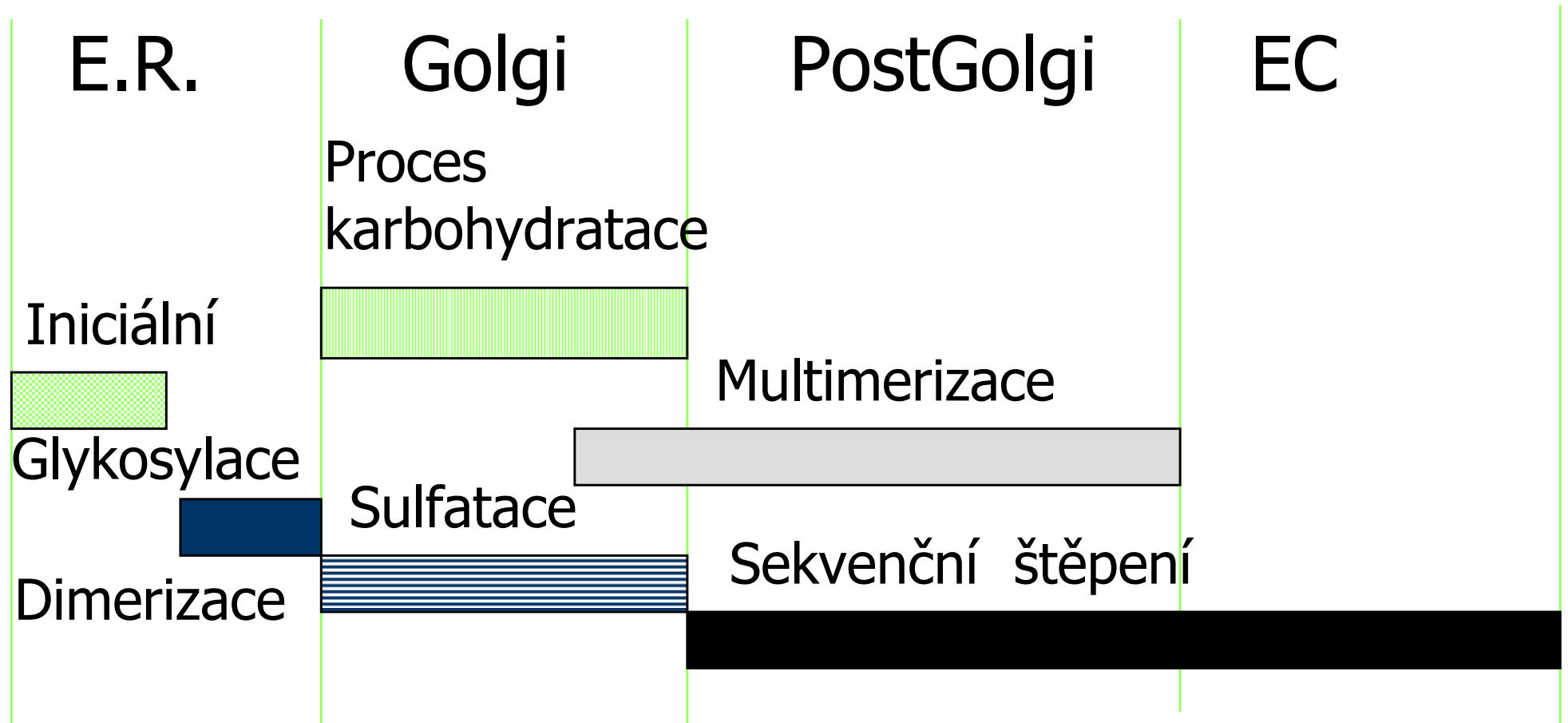
# Von Willebrandův faktor

- 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

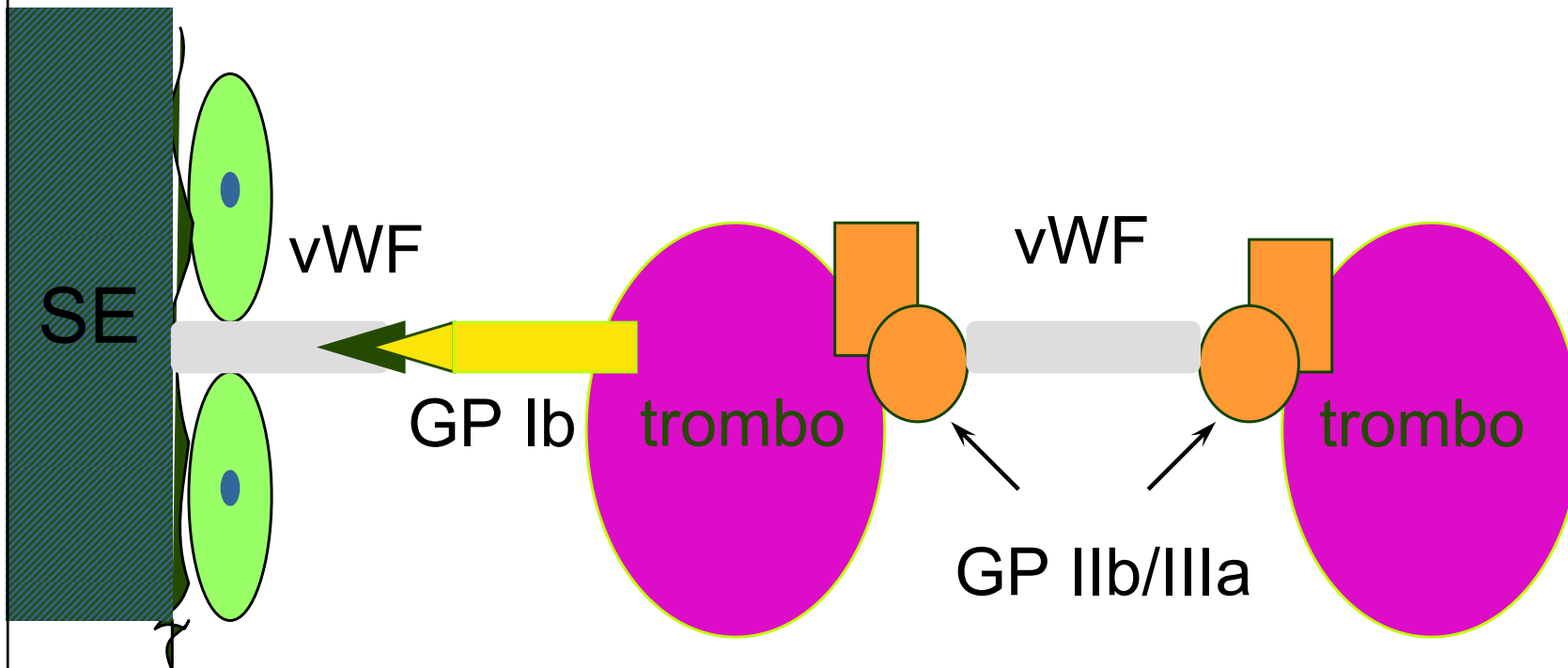


# Von Willebrandův faktor

## - 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:

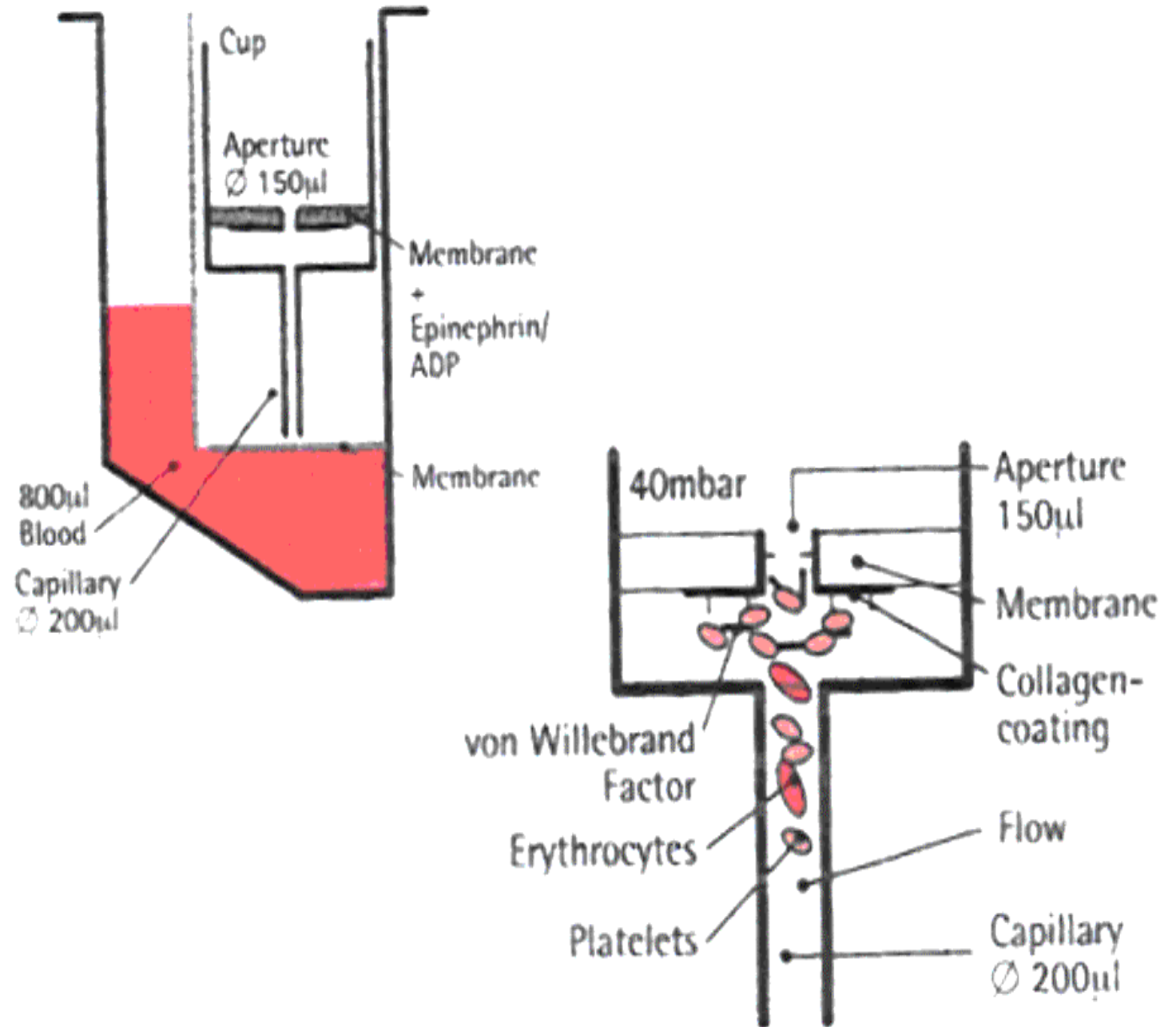
- RIPA (ristocetinem indukovaná destičková agregace)
- analýza multimerů vWF
- vazba vWF pro FVIII
- vyšetření trombocytárního vWF

# 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

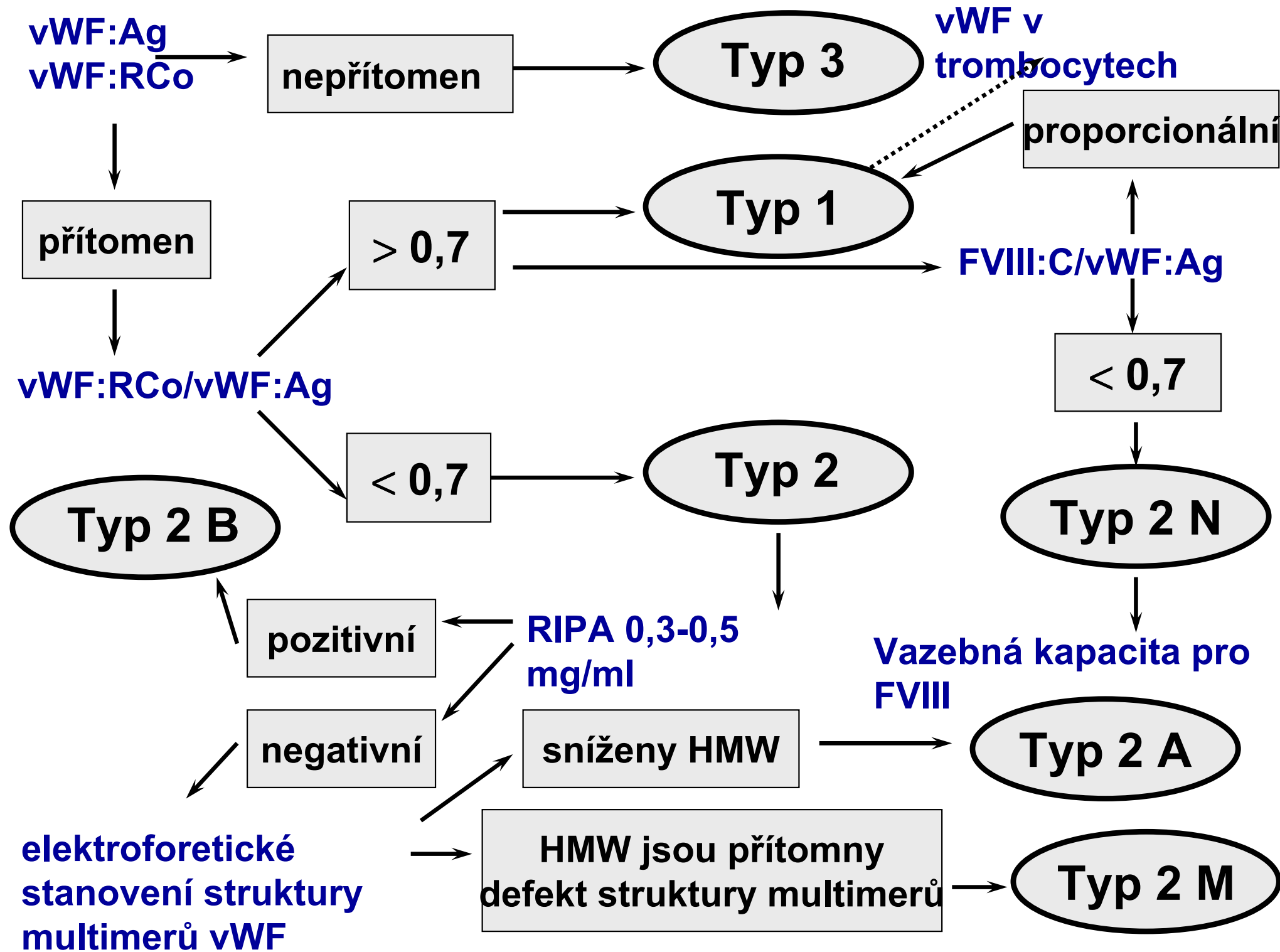


# Genetická diagnostika

- 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
<b>1</b>	<b>N↓</b>	↓	↓	<b>N↓</b>	<b>N</b>	↓	<b>N</b>
<b>2A</b>	↓↓	↓↓	<b>N↓</b>	<b>N↓</b>	↓ < <b>0,7</b>	↓↓	↓ < <b>0,5</b>
<b>2B</b>	<b>N↑</b>	↓	<b>N↓</b>	<b>N↓</b>	↓ < <b>0,7</b>	↓↓	↓ < <b>0,5</b>
<b>2M</b>	<b>N↓</b>	↓	<b>N↓</b>	<b>N↓</b>	↓	<b>N↓</b>	<b>N</b>
<b>2N</b>	<b>N</b>	<b>N↓</b>	<b>N↓</b>	↓	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>N</b>
<b>3</b>	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	<b>N↓</b>	↓↓	<b>N↓</b>



# 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%  
t<sub>2</sub> = 6 - 12 hod.**
- **1 j. FVIII:C / kg = 2 %  
t<sub>2</sub> = 12 – 24 hod.**

# Koncentráty vWF/FVIII

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

\**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<sub>2</sub> vWF:RCo = 11 h
  - t<sub>2</sub> 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 t<sub>2</sub>)
- rFVIIa (> 90 µg / kg á 2 - 3 hod.)
- imunoglobuliny
- DDAVP