

# **von Willebrandova choroba**

*P. Smejkal*

*Oddělení klinické hematologie, FN Brno*

# Von Willebrandův faktor

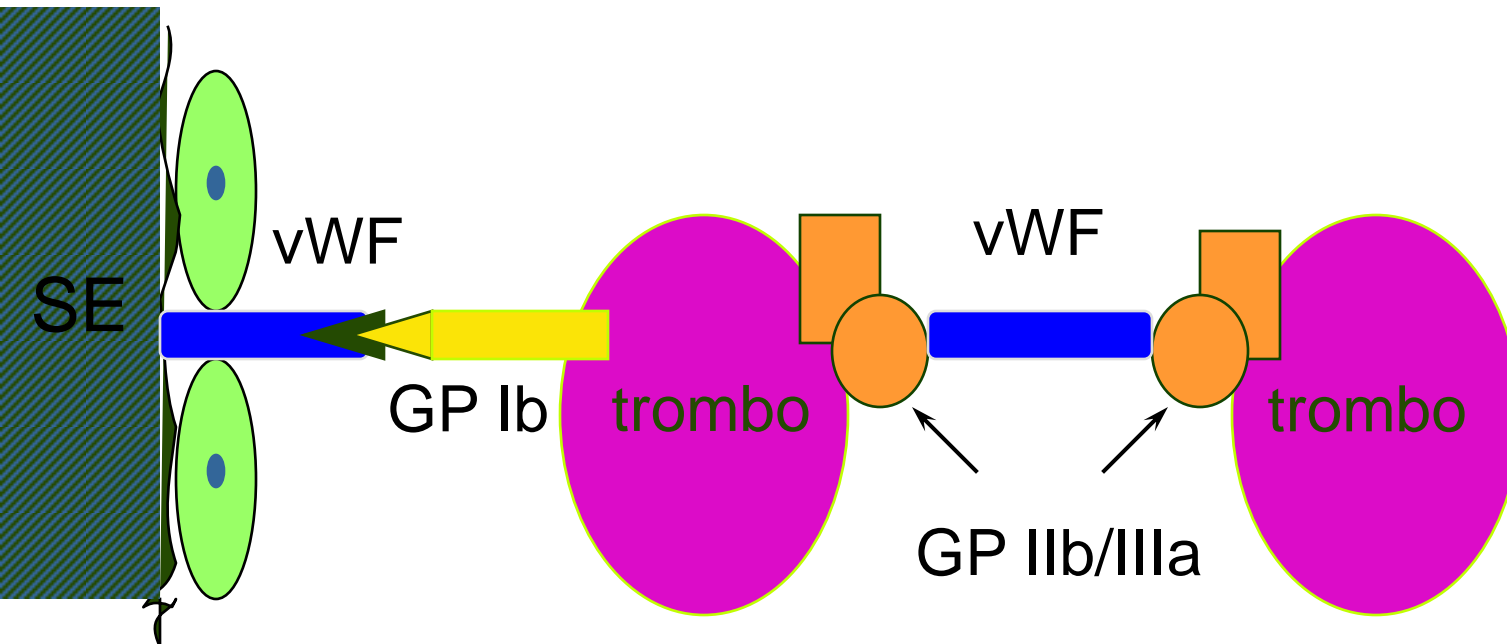
- syntetizován v:
  - **endotelu**
  - **megakaryocytech**
- vytváří dimery a ty pak **multimery**
- funkce: - **v primární hemostáze**  
- **koagulaci**

# 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

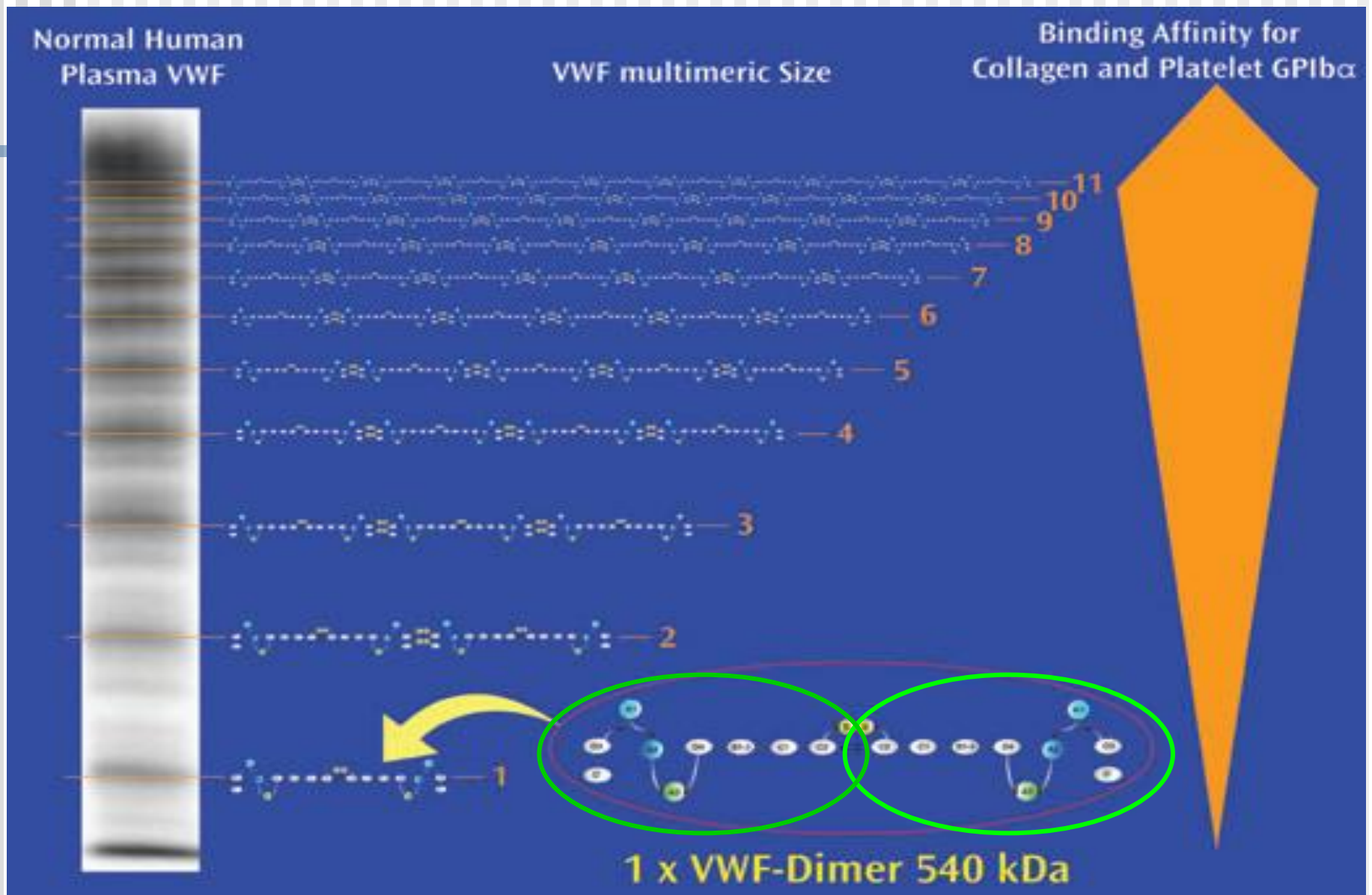


# Von Willebrandův faktor - **funkce v koagulaci**

(multimery všech molekulových hmotností)

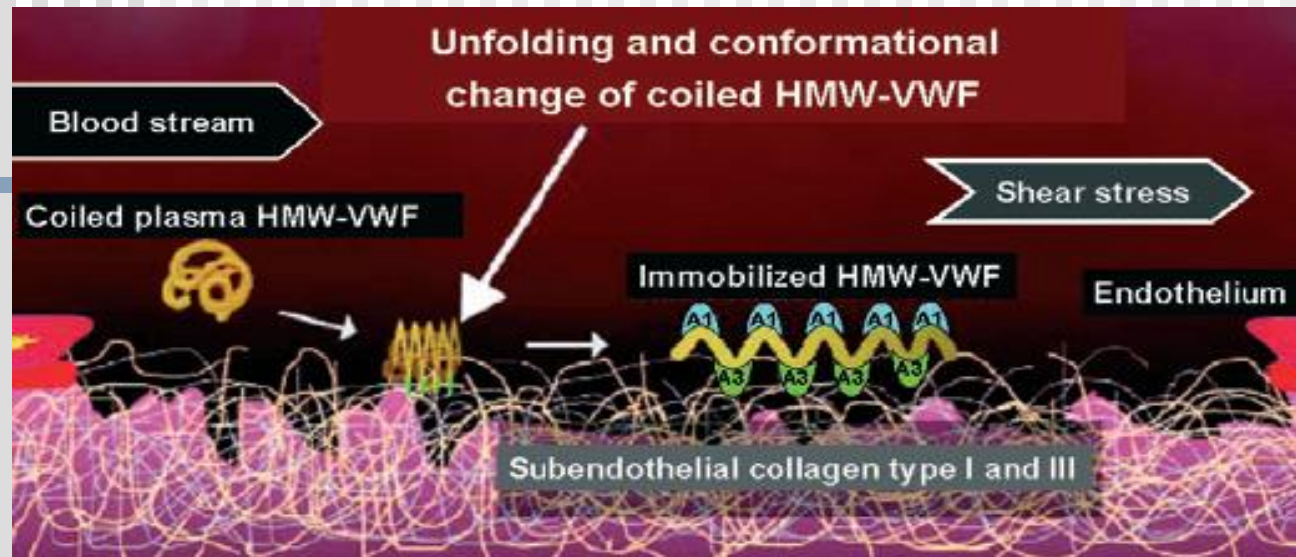
- **váže a stabilizuje FVIII (ochrana FVIII před proteolytickou degradací)**
- **lokalizuje FVIII v místě poruchy cévní stěny**
- uvolňuje FVIII do oběhu
- efekt kofaktoru při aktivaci FVIII trombinem

# Multimerní struktura VWF – korelace s elektroforézou



\*Reininger AJ. Haemophilia 2008;1

# Schéma funkce VWF v primární hemostáze



\*Reininger AJ.  
Haemophilia 2008;14  
(Suppl.5):11-26

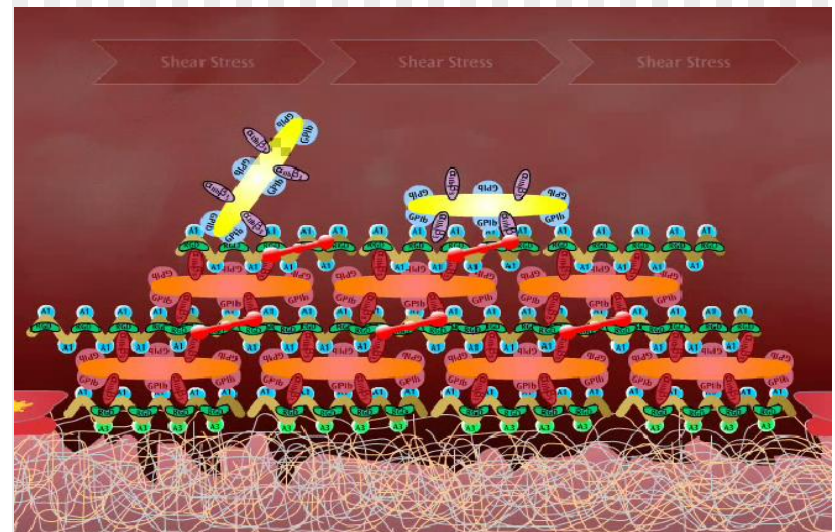
Klidový stav      35 Dyn/cm<sup>2</sup> = 875 s<sup>-1</sup>

No Shear → Shear Applied by AFM Probe → 35 Dyn/cm<sup>2</sup> Applied by Rotating Disk



Globular vWF      Short Extended Chain      Extended Chain

\*Siedlecki ChA.  
Blood  
1996;88:2239-50



# 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 až 1%**
- klinicky krvácivé projevy 100-200/ 1 milion
- život ohrožující krvácení 0,5-3/ 1 milion
- ohrožených krvácením 1000/ 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** - ↓ adheze trombocytů zprostředkované vWF (AD)
  - **chybění HMW multimerů**
  - 15% (3/4 typu 2)
- **2M** - ↓ adheze trombocytů zprostředkované 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 nálezn:**
    - 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:

*senzitivita*

- trombocyty (↓typ 2B) \_\_\_\_\_
- aPTT 30%
- doba krvácení < 40%
- **PFA-100** 79-100%
- 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:CB (vazeba na kolagen)**

# Laboratorní diagnostika vWCH

## - diskriminační testy:

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

# vWF:RCo

- standard diagnostiky funkce vWF
- PPP pacienta a zdravé destičky + ristocetin
- **k monitoraci léčby koncentráty vWF/FVIII**
- metody:
  - **aglutinační**
  - **agregační** přesnější než aglutinační
  - **ELISA:**
    - vazba vWF (vzorek) na r-GP Ib $\alpha$  fixovaný protilátkou -
    - dobrá korelace v klasickou metodou vWF:RCo
- **u typu 2A, B, M**
  - **vWF: Ag / RCo > 1,4**
  - **vWF: RCo / Ag < 0,7**



# VWF:RCo - automatizace metody

- protilátka k vazebnému místu VWF na **VWF:Ab**
  - ELISA:
    - nespolehlivé odlišení typu 1 a 2 VWCH
- vazba VWF na rf-GP Ib $\alpha$  fixovaný protilátkou v přítomnosti ristocetinu – ELISA, LIA: **VWF:GPIbR**
  - dobrá korelace v klasickou metodou **VWF:Rco**
- vazba VWF na gain of function rf-GP Ib $\alpha$  fixovaný protilátkou bez nutnosti přidá **VWF:GPIbM** ristocetin (VWF:Ac) – ELISA, LIA:
  - dobrá korelace v klasickou metodou **VWF:RCo**

# vWF:Ag

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

# vWF:CB

- collagen binding assay
- závisí na přítomnosti HMW (high molecular weight) multimerů
- **sensitivnější pro typ 2A, 2B:**  
**CBA / vWF:Ag < 0,5 – 0,7**

# RIPA

(ristocetinem indukovaná destičková agregace)

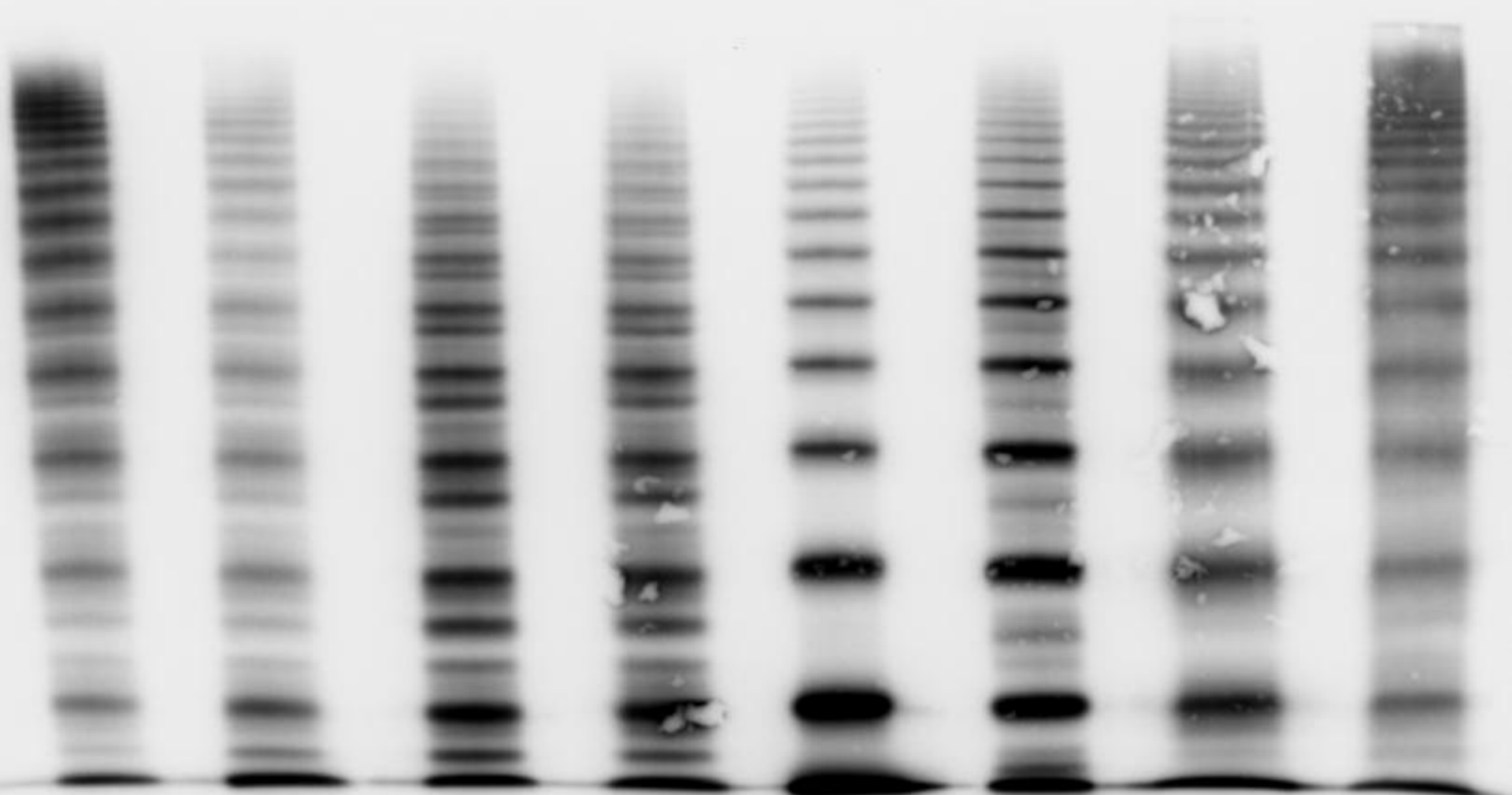
- **ristocetin  $\geq 1,0$  mg / ml**
  - ↓ u typu 3, 2A (2M, těžšího 1)
- **ristocetin 0,2 – 0,6 mg / ml**
  - pozitivita agregace: - typ 2B
    - destičkový typ

# Analýza multimerů vWF

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

# Struktura multimerů vWF u kvalitativního defektu

*(U. Budde, Hamburg, ISTH vWF SSC Information Homepage)*

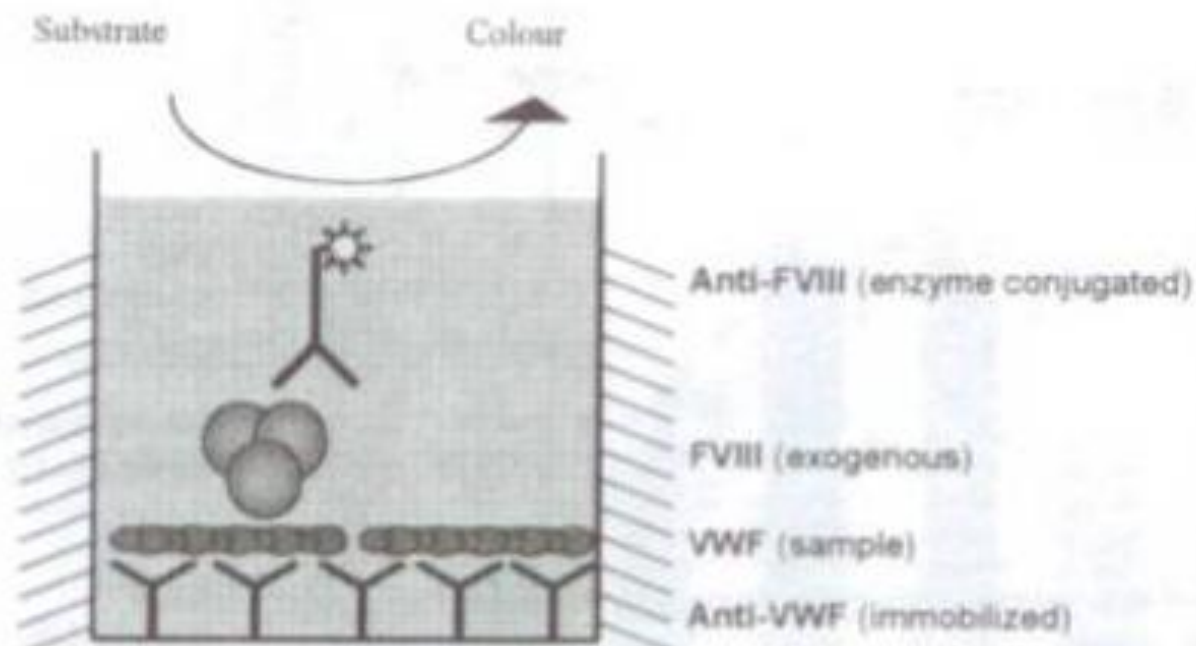


Normal plasma    2A(1B)    2A    2B    2A(II C)    2A(II D)    2A(II E)    2A(sm)

# Vazba FVIII na vWF:

- **vyšetřit při vWF:Ag / FVIII:C > 1,4**
- ELISA set:
  - fixace vWF pacienta
  - odstranění endogenního FVIII pacienta
  - přidání známého množství exogenního rFVIIIa
    - detekuje se:
      - vWF
      - FVIII navázaný na vWF:
- vazba FVIII/vWF < 0,6      » typ 2N

# Factor VIII binding assay



Crucial step:

- Wash away endogenous FVIII
- Addition of a known concentration of FVIII
- The VWF:Ag must be measured simultaneously



# 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>0,7</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 ( 2,4 j. vWF:RCo / 1 j. FVIII:C)**
- **1 j. vWF:RCo / kg = 2 %  
t<sub>2</sub> = 6 - 12 hod.**
- **1 j. FVIII:C / kg            = 2 %  
t<sub>2</sub> = 12 – 24 hod.**

# von Willebrandova choroba - léčba

- **DDAVP** - 0,3  $\mu\text{g}$  / kg i.v. á 12 - 24 hod., max. 5 dnů  
(150 - 300  $\mu\text{g}$  i. n.)
  - **elevace:** - **vWF 2-4x** t2 5 - 10 hod.
  - **FVIII 2-6x** t2 6 - 12 hod.
- **podpůrná**
  - antifibrinolytika
  - venofarmaka
  - ethamsylát (Dicynone)
  - HAK

# Léčba při inhibitoru vWF

- **výskyt inhibitoru**
  - **v 5 - 10% typu 3 vWCH**
  - **získaná forma vWCH (léčba zákl. onem.: lymfoproliferace)**
- rFVIII (krátký t<sub>2</sub>)
- rFVIIa
- imunoglobuliny
- DDAVP