

von Willebrandova choroba

P. Smejkal

Oddělení klinické hematologie, FN Brno

Von Willebrandův faktor

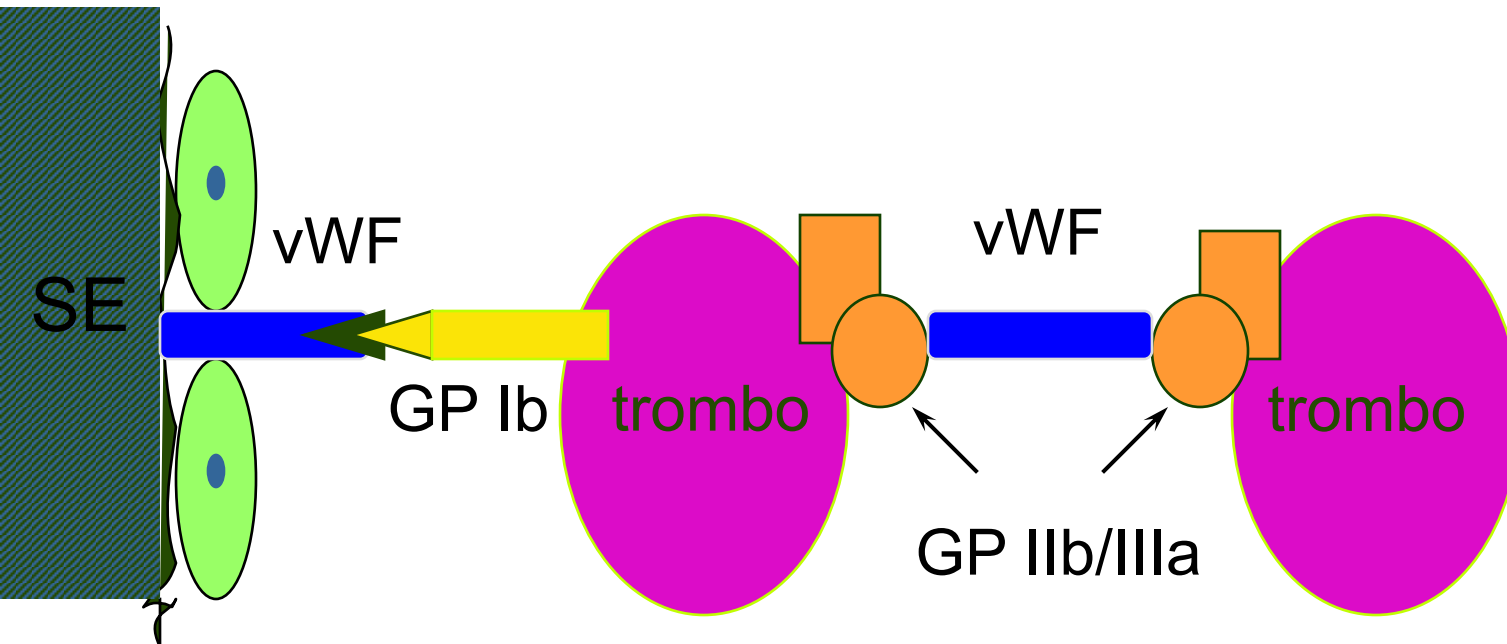
- syntetizován v:
 - **endotelu**
 - **megakaryocytech**
- vytváří dimery a ty pak **multimery**
- funkce: - **v primární hemostáze**
- **koagulaci**

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

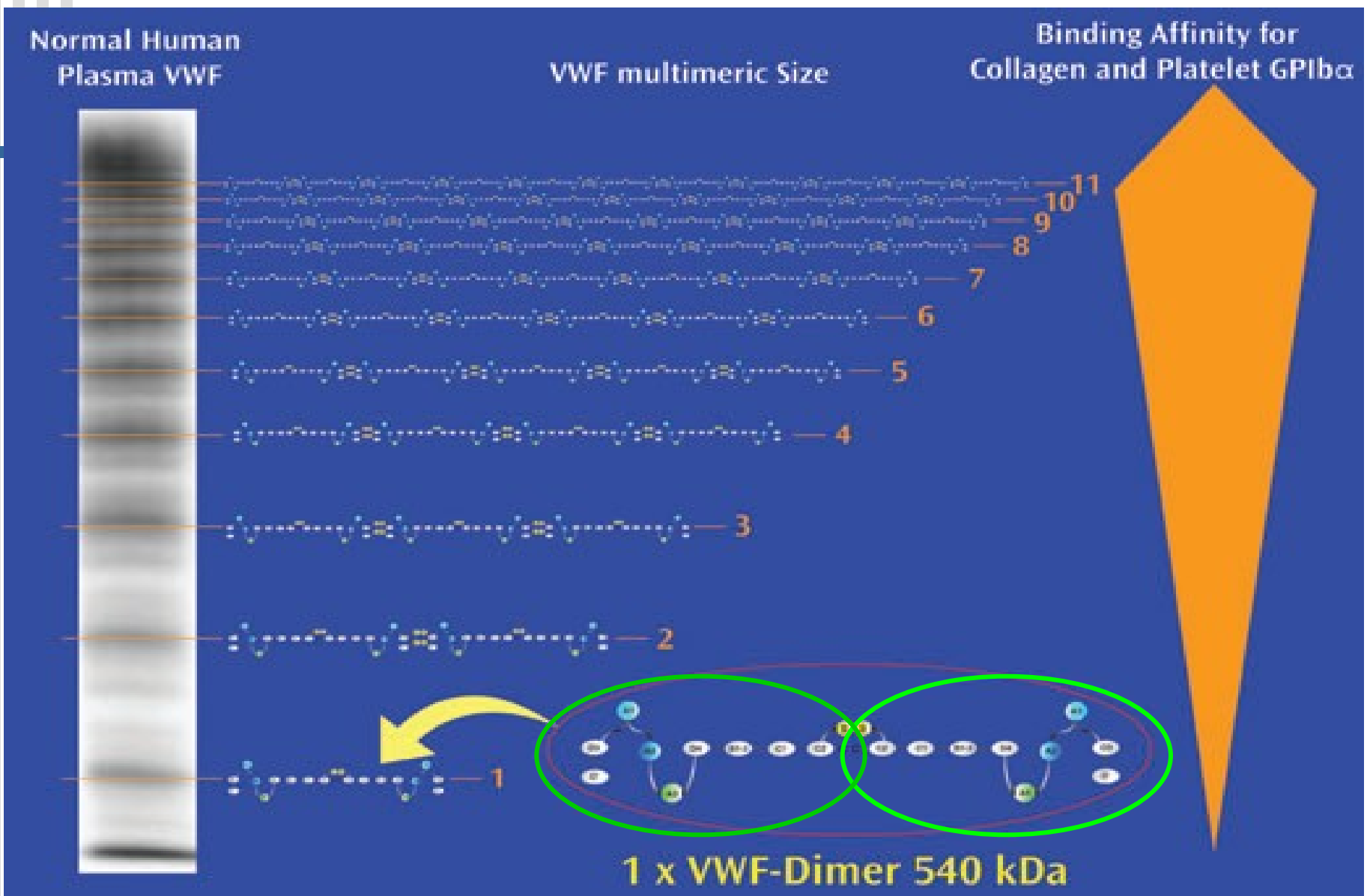


Von Willebrandův faktor - **funkce v koagulaci**

(multimery všech molekulových hmotností)

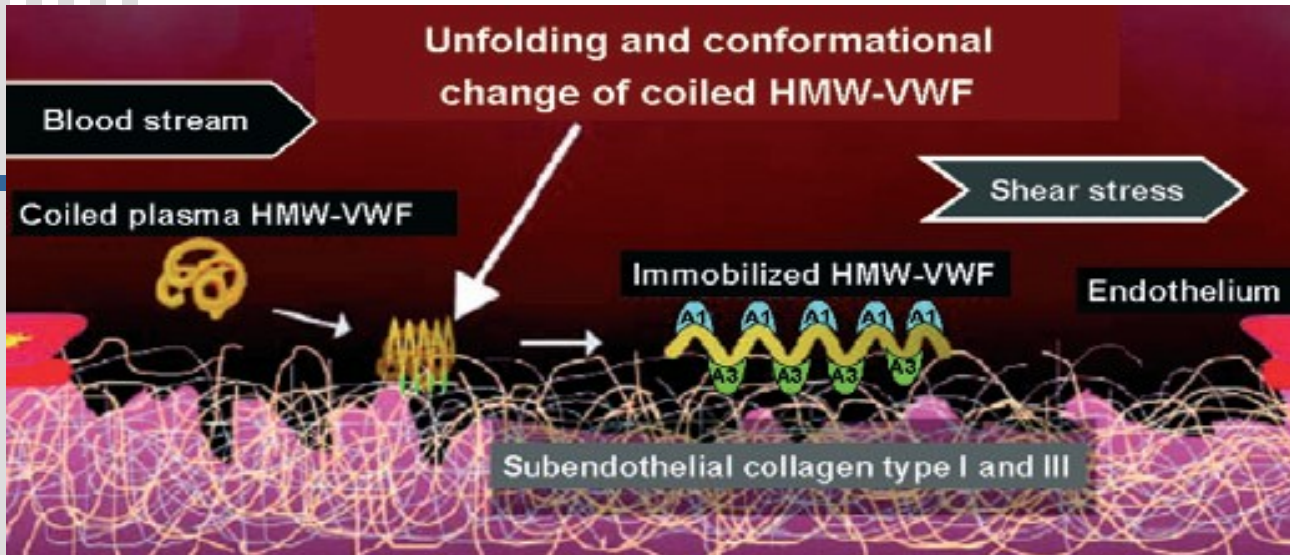
- **váže a stabilizuje FVIII (ochrana FVIII před proteolytickou degradací)**
- **lokalizuje FVIII v místě poruchy cévní stěny**
- uvolňuje FVIII do oběhu
- efekt kofaktoru při aktivaci FVIII trombinem

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

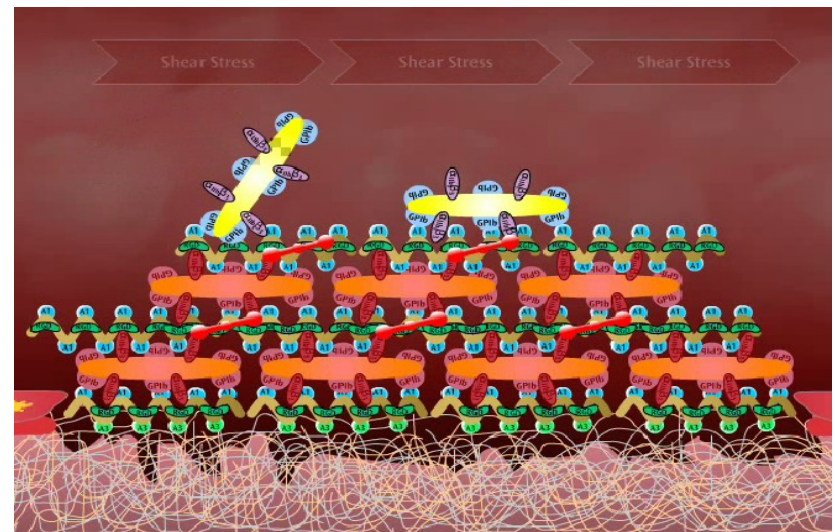
Klidový stav $35 \text{ Dyn/cm}^2 = 875 \text{ s}^{-1}$

No Shear → Shear Applied by AFM Probe → 35 Dyn/cm^2 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 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:

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 α 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 α 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 α 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)

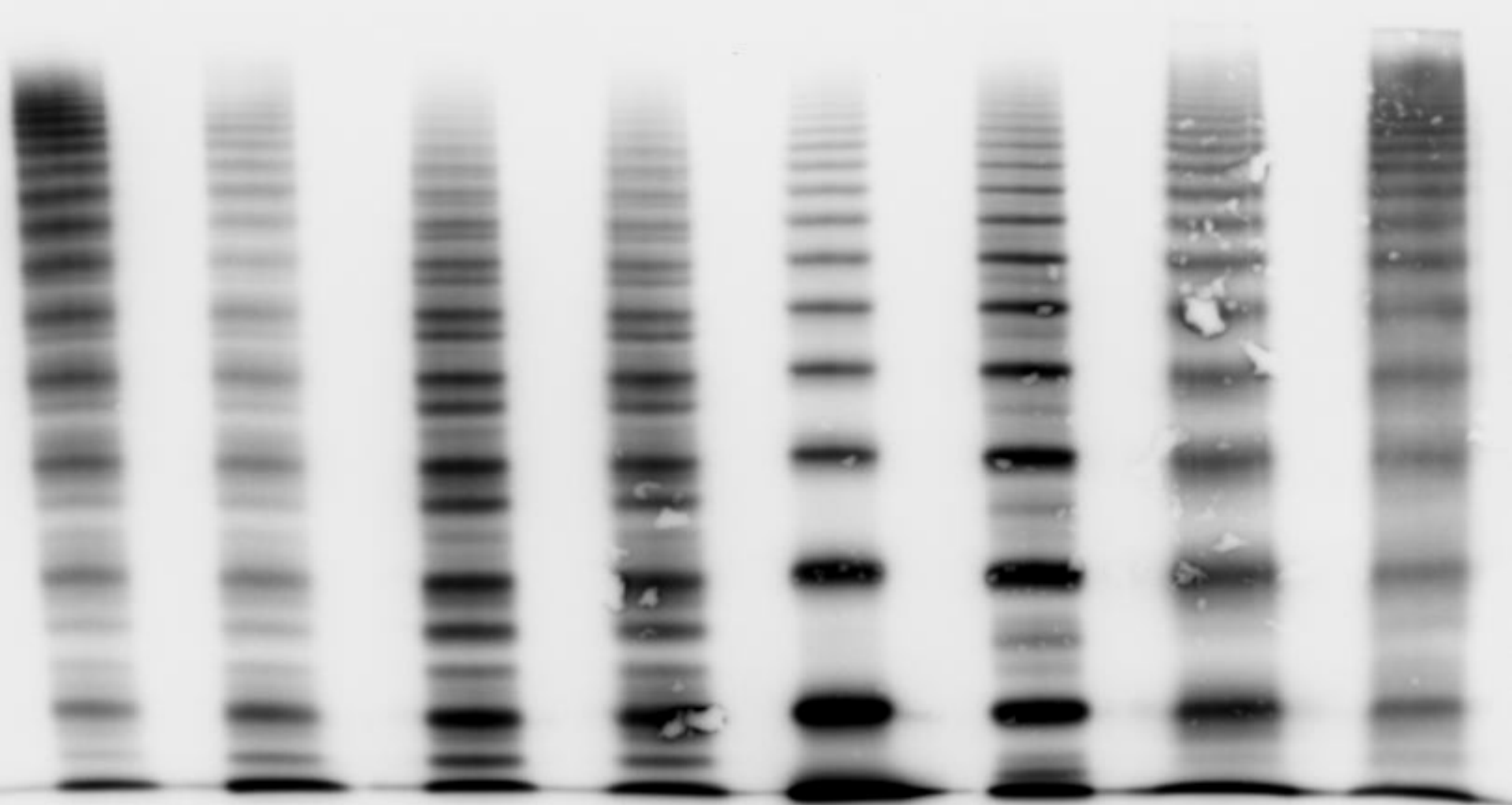
- **ristocetin $\geq 1,0$ mg / ml**
 - ↓ u typu 3, 2A (2M, těžšího 1)
- **ristocetin 0,2 – 0,6 mg / ml**
 - pozitivita agregace: - typ 2B
 - destičkový typ

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(1C)

2A(1D)

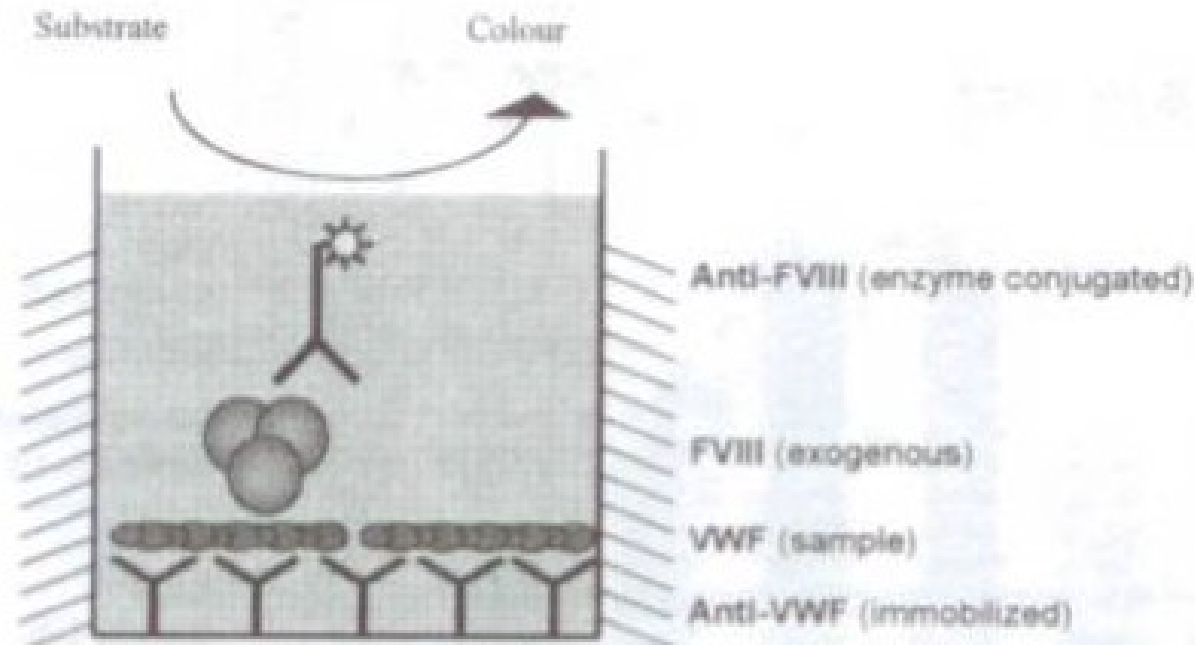
2A(1E)

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
1	N↓	↓	↓	N↓	N	↓	N
2A	↓↓	↓↓	N↓	N↓	↓ < 0,7	↓↓	↓ < 0,5
2B	N↑	↓	N↓	N↓	↓ < 0,7	↓↓	↓ < 0,5
2M	N↓	↓	N↓	N↓	↓ < 0,7	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 (2,4 j. vWF:RCo / 1 j. FVIII:C)**
- **1 j. vWF:RCo / kg = 2 %
t₂ = 6 - 12 hod.**
- **1 j. FVIII:C / kg = 2 %
t₂ = 12 – 24 hod.**

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.
- **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 t₂)
- rFVIIa
- imunoglobuliny
- DDAVP