

# **Diagnostika von Willebrandovy choroby**

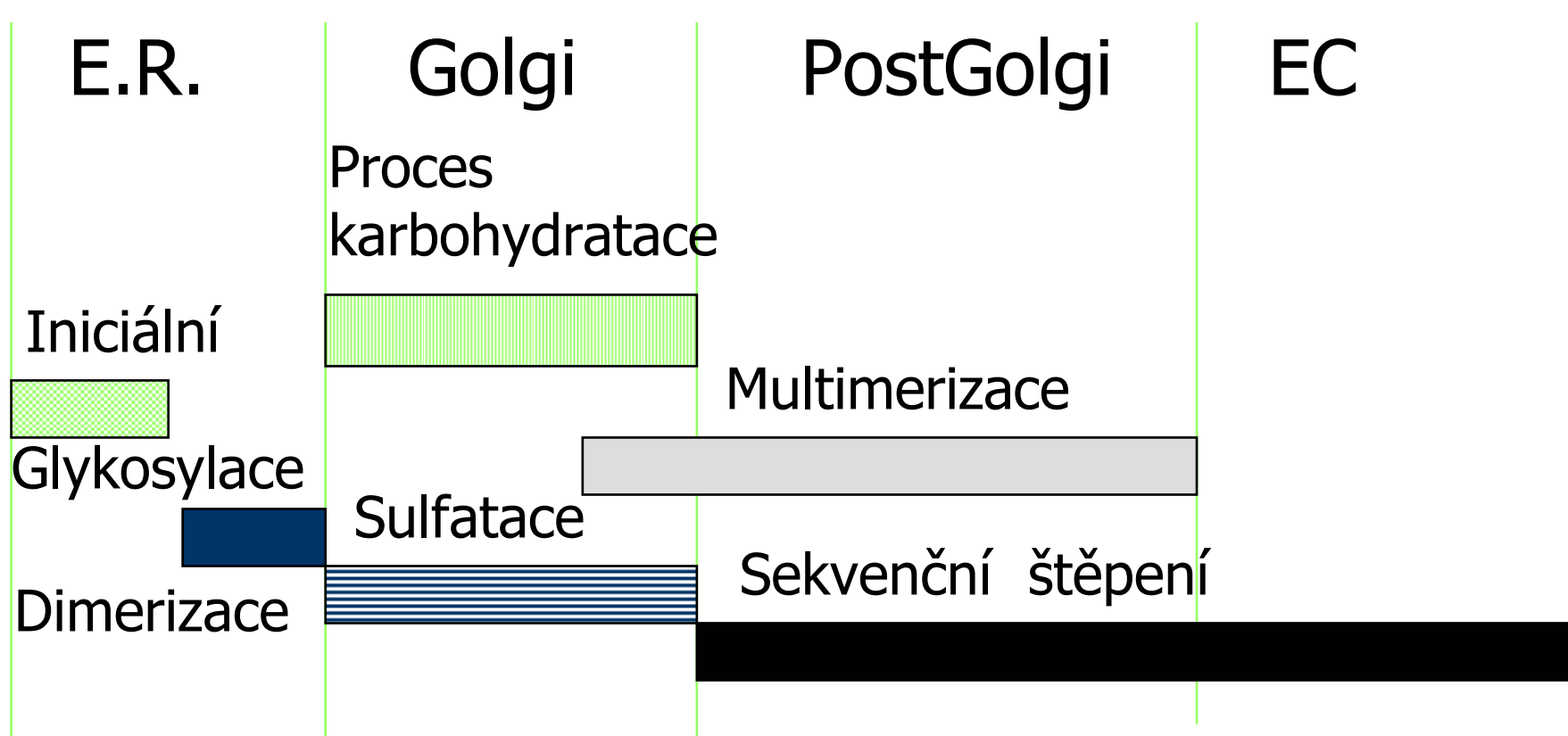
*P. Smejkal*

*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

# Von Willebrandův faktor

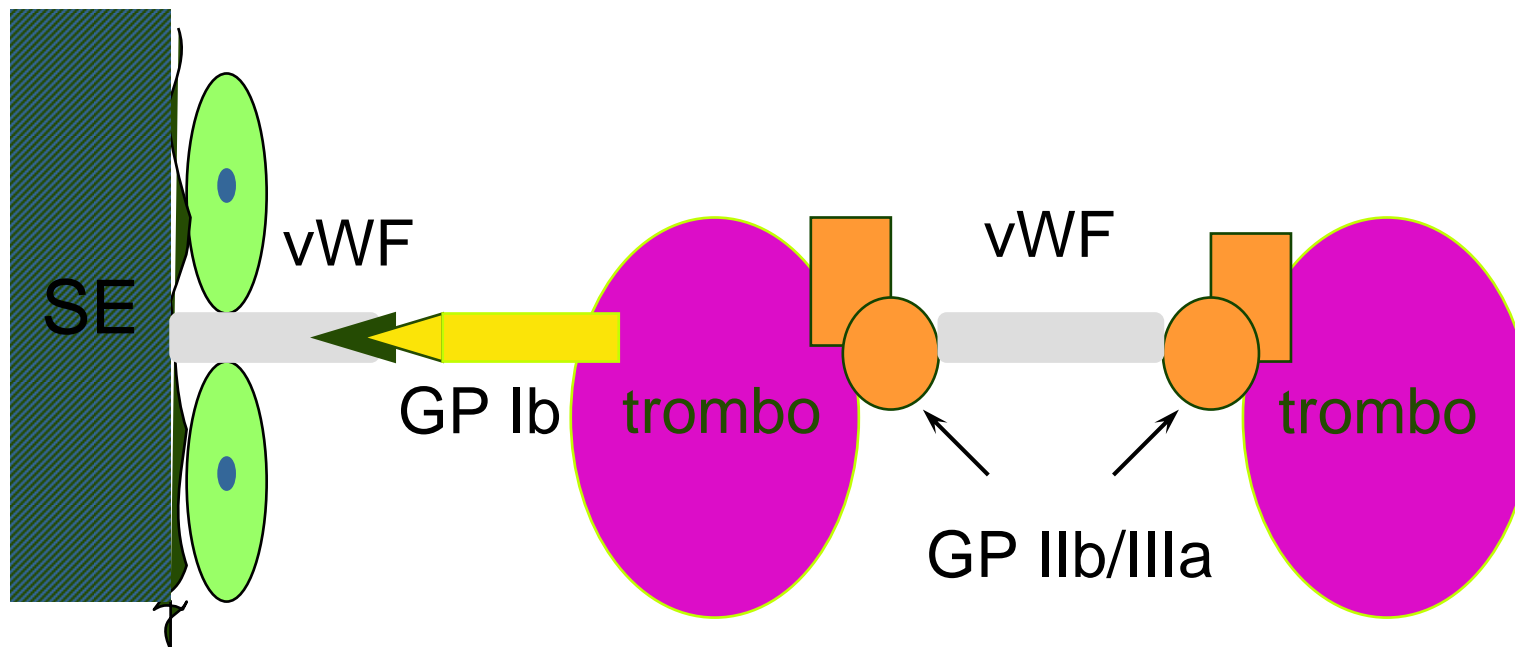


# Von Willebrandův faktor

## - 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 až 1%**
- klinicky krvácivé projevy 100-200/ 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%                |
| ■ <b>doba krvácení</b>                                 | < 40%              |
| ■ <b>PFA-100</b>                                       | 79-95%             |
| ■ KT ?   | _____              |
| ■ <u>osobní anamnéza</u> krvácivých projevů :          |                    |
| ■ <b>slizniční krvácení a hematomy</b>                 |                    |
| ■ <b>potraupatické a perioperační (zubní extrakce)</b> |                    |
| ■ <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

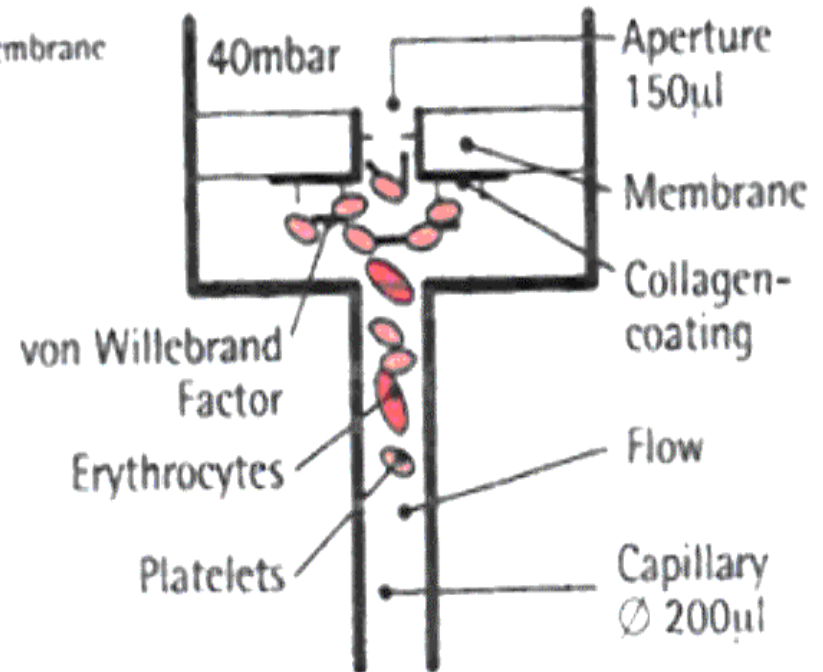
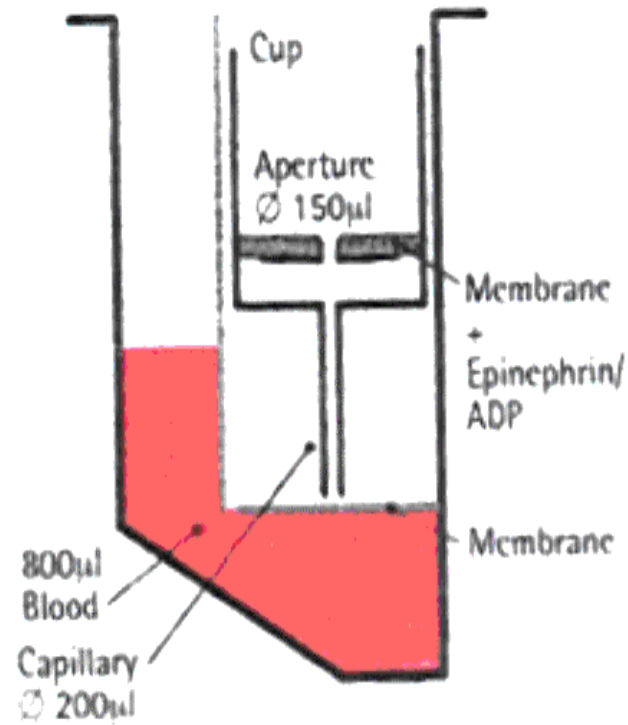
- diskriminační testy:

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

# Doba krvácení

- screeningový test primární hemostázy
- citlivější dle Ivyho
  - senzitivita < 40%
  - riziko keloidní jizvy
  - nutnost písemného souhlasu
- test in vivo

# 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

- standard diagnostiky funkce vWF
- **k monitoraci léčby koncentráty vWF/FVIII**
- agregační metoda přesnější než aglutinační
- **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
- závisí na přítomnosti HMW (high molecular weigh) multimerů
- **sensitivnější pro typ 2A, 2B:**  
**vWF:Ag / CBA > 2**

# RIPA

(ristocetinem indukovaná destičková agregace)

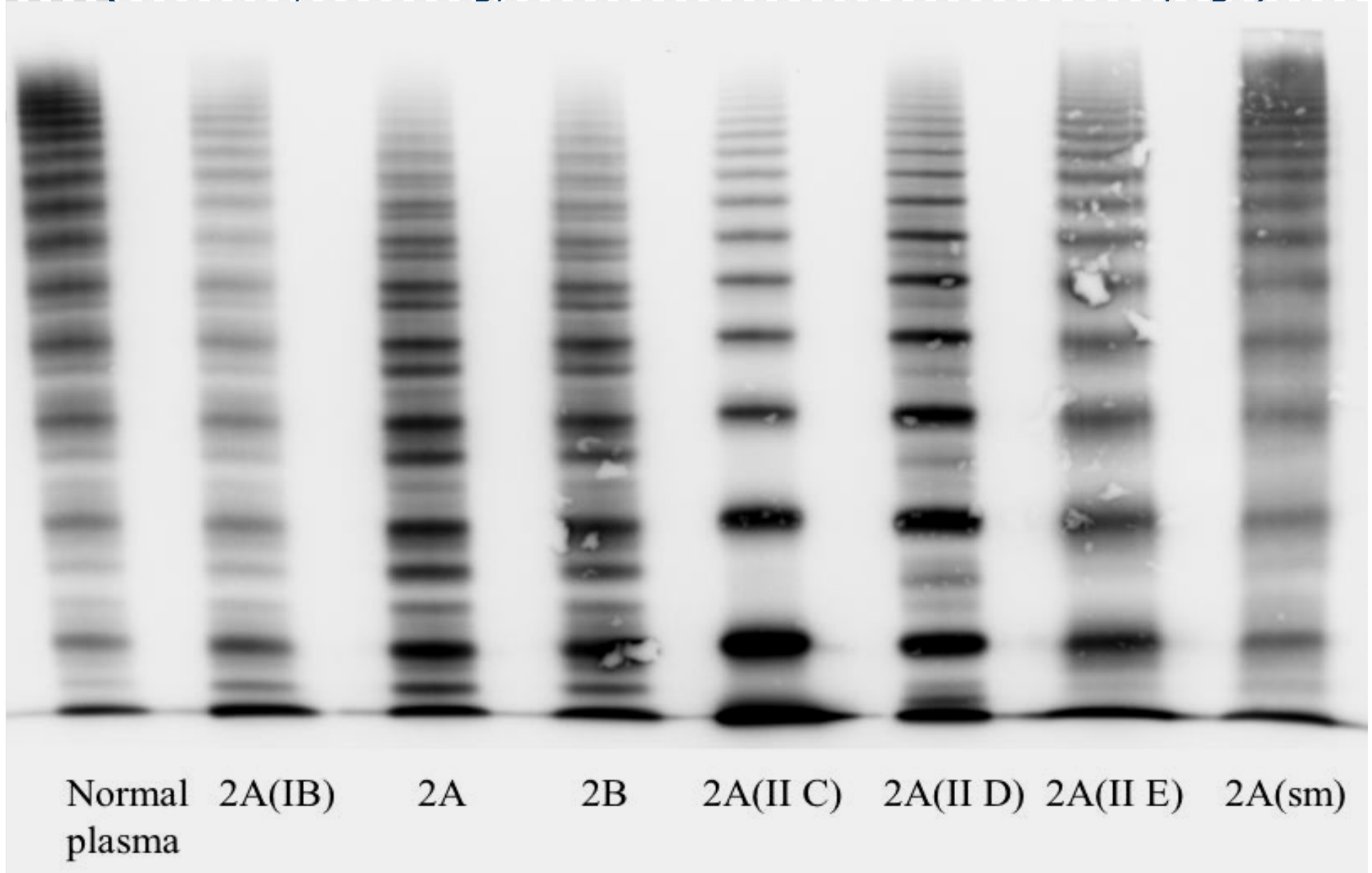
- **ristocetin 1 – 1,5 mg / ml**
  - ↓ u typu 3, 2A (2M, těžšího 1)
- **ristocetin 0,3 – 0,5 mg / ml**
  - pozitivita agregace: - typ 2B
  - destičkový typ

# Analýza multimerů vWF

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

# Struktura multimerů vWF u kvalitativního defektu

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



# 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

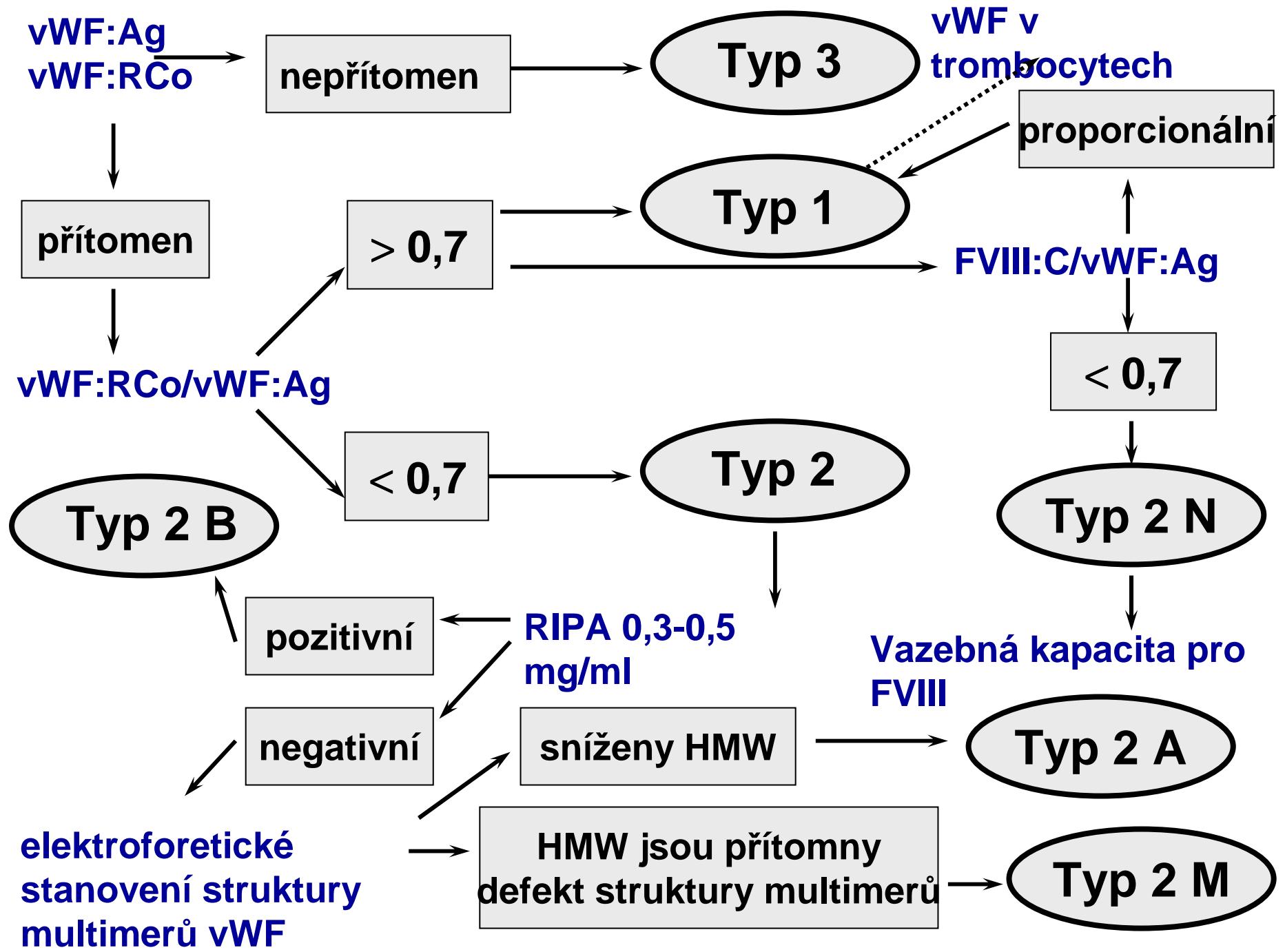


# Genetická diagnostika

- 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
<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>



vWF:Ag  
vWF:RCo

nepřítomen

Typ 3

vWF v trombocytech

proporcionální

přítomen

> 0,7

Typ 1

FVIII:C/vWF:Ag

vWF:RCo/vWF:Ag

< 0,7

Typ 2

< 0,7

Typ 2 N

Typ 2 B

pozitivní

RIPA 0,3-0,5 mg/ml

Vazebná kapacita pro FVIII

negativní

sníženy HMW

Typ 2 A

elektroforetické stanovení struktury multimerů vWF

HMW jsou přítomny  
defekt struktury multimerů

Typ 2 M

# 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.**

# 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.)**
- rFVIII (krátký t<sub>2</sub>)
- rFVIIa (> 90 µg / kg á 2 - 3 hod.)
- imunoglobuliny
- DDAVP