

Současné vyšetřovací metody používané k diagnóze hemofilie

Mgr. Jitka Prokopová
Odd. hematologie a transfuziologie
Nemocnice Pelhřimov, p.o.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

- Seminář podpořen z projektu:
Vzdělávací síť hemofilických center
- Registrační číslo projektu:
CZ.1.07/2.4.00/12.0048



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

HEMOSTÁZA (zástava krvácení)

- proces nezbytný pro život
- zástava krvácení při poranění
- udržení tekutosti krve při neporušeném cévním řečišti

HEMOSTÁZA

- cévy
- krevní destičky
- plazmatické faktory
- červené krvinky, leukocyty, lipidy,

Důležitým procesem HEMOSTÁZY je SRÁŽENÍ KRVE, neboli HEMOKOAGULACE.

Srážení krve je komplexní proces zahrnující aktivaci krevních destiček a koagulačních faktorů, jehož výsledkem je tvorba nerozpustné sítě tvořené fibrinem, do které se zachytí červené krvinky.

Vzniklá „krevní sraženina“ ucpe defekt ve stěně cévy a zamezí tak krvácení.

PORUCHY KREVNÍHO SRÁŽENÍ

Chybění nebo nedostatečná funkce některé
z látek potřebných pro srážení

→ **KRVÁČIVÉ STAVY**

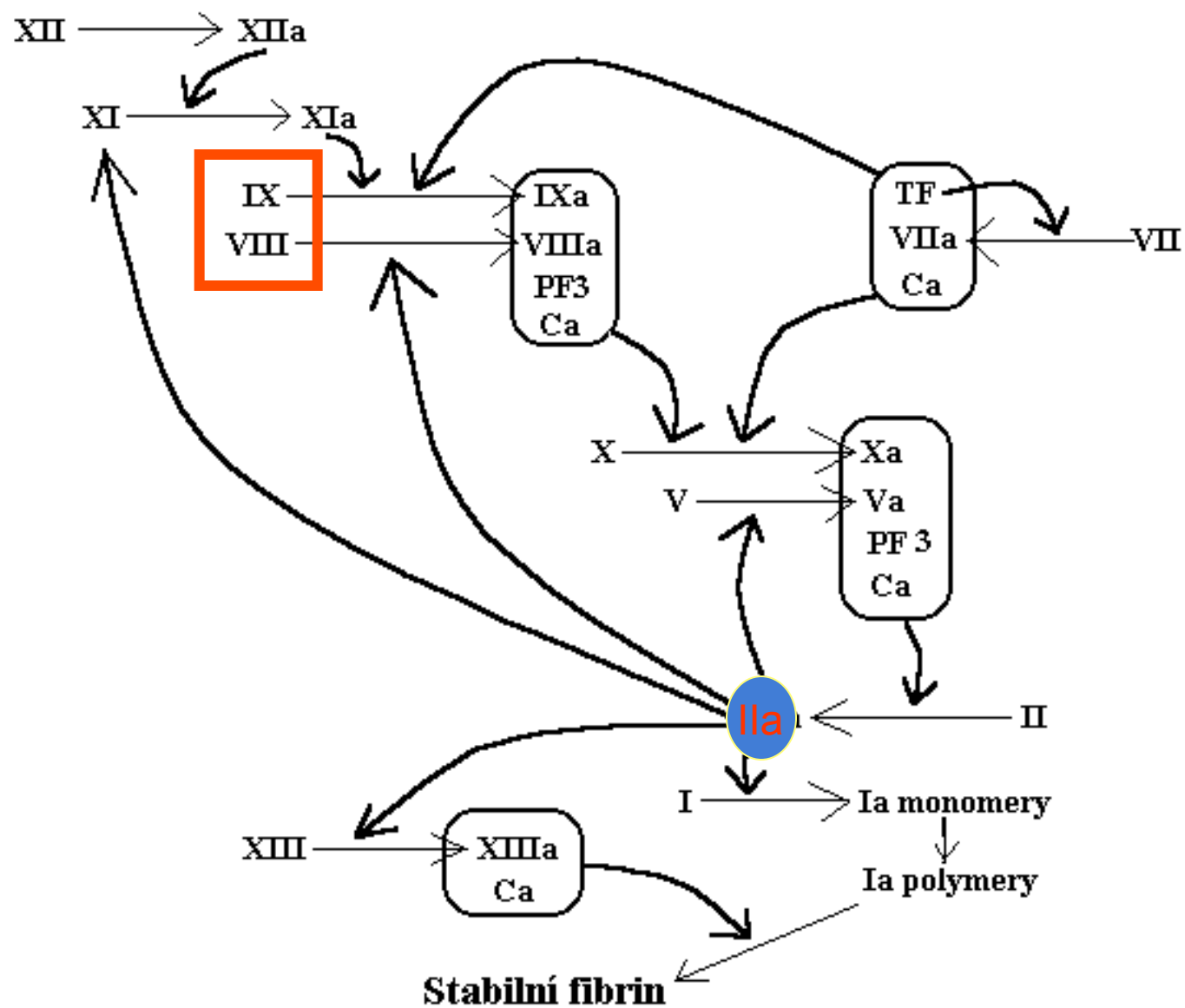
Nadbytek koagulačního faktoru nebo
nedostatečná funkce inhibitoru

→ **SKLON K TROMBÓZE -
TROMBOFÍLIE**

FAKTORY VIII, IX

Součást koagulační kaskády

- FVIII je aktivován trombinem na FVIIIa.
- FAKTOR IX je aktivován
 - a)Komplexem f. VII, TF a Ca
 - b)Aktivovaným faktorem XI (XIa)
- FIXa s F VIIIa s fosfolipidy z trombocytární membrány a kalciem vytvářejí tenázový komplex, který aktivuje FX na FXa



von WILLEBRANDŮV FAKTOR

- 2 základní funkce:

- a) VIII je vázán na von Willebrandův faktor – tato vazba ho chrání před degradací v plazmě.
- b) Funkce v primární hemostáze - zprostředkovává vazbu mezi subendotelem a trombocyty a mezi trombocyty navzájem

Hemofilie A

- Nedostatek funkčního faktoru VIII

Hemofilie B

- Nedostatek funkčního faktoru IX

Von Willebrandova choroba

- Nedostatek funkčního von Willebrandova faktoru

PŘÍČINY NEDOSTATKU FAKTORŮ VIII, IX

- Vrozené způsobené mutacemi genu pro faktor

Mutace vedoucí ke snížené syntéze faktoru

Mutace vedoucí k zrychlené ztrátě faktoru

Mutace vedoucí k poruše funkce faktoru

- Vrozené způsobené mutacemi genu pro vWf
- Získané způsobené protilátkami

Hemofilie A

- gonozomálně přenosné dědičné onemocnění způsobené deficitem nebo nedostatečnou funkcí faktoru VIII (vazba na X chromozom)
- projevuje se zvýšeným sklonem ke krvácení

- nečastější vrozená koagulopatie:
výskyt v populaci

hemofilie A: 0,1-0,05%

(85% všech vrozených koagulopatií)

hemofilie B: 0,02-0,003%

(10-12% všech vrozených koagulopatií)

Hemofilie - dědičnost

- Vazba na chromozom X
 - Manifestně nemocní jsou muži.
 - Přenašečky jsou ženy.
- Potomci nemocných mužů:
 - Synové jsou zdraví
 - Dcery jsou přenašečky
- Potomci žen přenašeček:
 - 50% synů je nemocných
 - 50% dcer jsou přenašečky

- Tíže klinických projevů odpovídá koagulační aktivitě F VIII
- Rozdělení dle tíže postižení:
 - forma těžká: do 1% faktoru
 - forma středně těžká: 1-5% faktoru
 - forma lehká: 5-30% faktoru

Těžká hemofilie:

spontánní krvácivé projevy již v 1. roce života.
Typická jsou opakovaná kloubní krvácení =>
poruchy hybnosti, deformity kloubů, krvácení do sval, tvorba pseudocyst a pseudotumorů,
fibrosní změny svalů....

Středně těžká hemofilie:

většinou nemívá spont. krvácení, jsou však kloubně svalová krvácení i po min. inzultech, potraumatická a pooperační krvácení.

Lehká hemofilie:

krvácení většinou až po chirurgickém zákroku nebo po úraze, krvácení jsou opožděná.

U všech typů hemofilie snadná tvorba modřin.

Diagnostika a diferenciální diagnostika:

- Rodinná a osobní anamnéza
- Fyzikální vyšetření
- Laboratorní vyšetření
 - Doplnková laboratorní vyšetření:
Krevní obraz, serologické a biochemické

KOAGULAČNÍ VYŠETŘENÍ

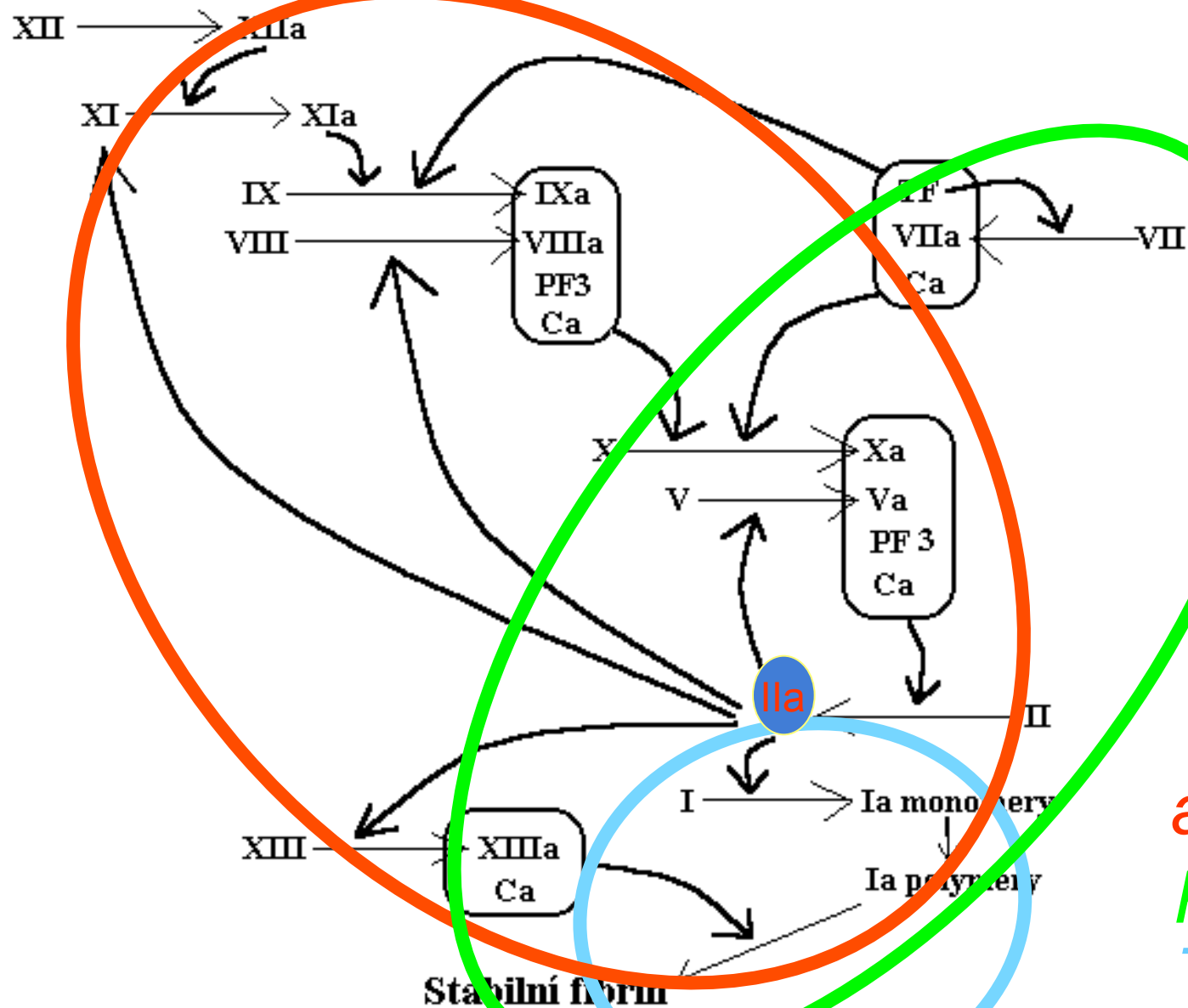
Vyšetření celého komplexu srážení krve nebo jeho části

→ globální testy:

Protrombinový test (PT, INR, Quick)

Aktivovaný parciální tromboplastinový test (APTT)

Trombinový čas (TT)



aPTT

PT

TČ

Hemofilie A,B

prodloužené APTT (většinou až při poklesu FVIII nebo f. IX pod 30-40%)

normální hodnoty protrombinového času

normální trombinový čas

KOAGULAČNÍ VYŠETŘENÍ

Vyšetření aktivity jednoho koagulačního faktoru nebo inhibitoru

→ specifické testy:

Faktor VIII

Faktor IX

von Willebrandův faktor

2 METODY URČENÍ FVIII

→ koagulačně

Ke zředěné plazmě vyšetřované osoby se přidá deficitní plazma, která obsahuje v nadbytku všechny faktory, vyjma faktoru VIII. Sleduje se koagulační čas od přidání startovací reagencie až do vytvoření prvního fibrinového koagula. Funkční aktivita koagulačního faktoru v procentech je poté odečtena z kalibrační křivky.

→ metodou chromogenního substrátu

FVIIIa funguje jako kofaktor přeměny FX na FXa. Pokud je zajištěno optimální množství Ca^{2+} , fosfolipidů a FIXa a nadbytek FX, je množství vzniklého FXa úměrné pouze hladině FVIII ve vzorku. Aktivace FVIII a FVIIIa je zajištěna přidavkem malého množství trombínu. Vznikající FXa hydrolyzuje chromogenní substrát a uvolňuje z něho barevný paranitrosanilín žlutého zbarvení. Koagulometr spektrofotometricky detekuje změnu barvy roztoku a odečítá hladinu FVIII z kalibrační křivky na základě barevných změn ve vzorku.

Dif dg.:

Snížená hladina f. VIII

- Hemofílie A
- Von willebrandova choroba

! Hladina vW faktoru

⇒ snížená hladina vWf vede ke snížení hladiny FVIII

⇒ většina lehkých snížení FVIII (20-50%) je způsobena von Willebrandovou chorobou.

Snížená hladina f. IX

- Hemofílie B

Vyšetření von Willebrandova faktoru

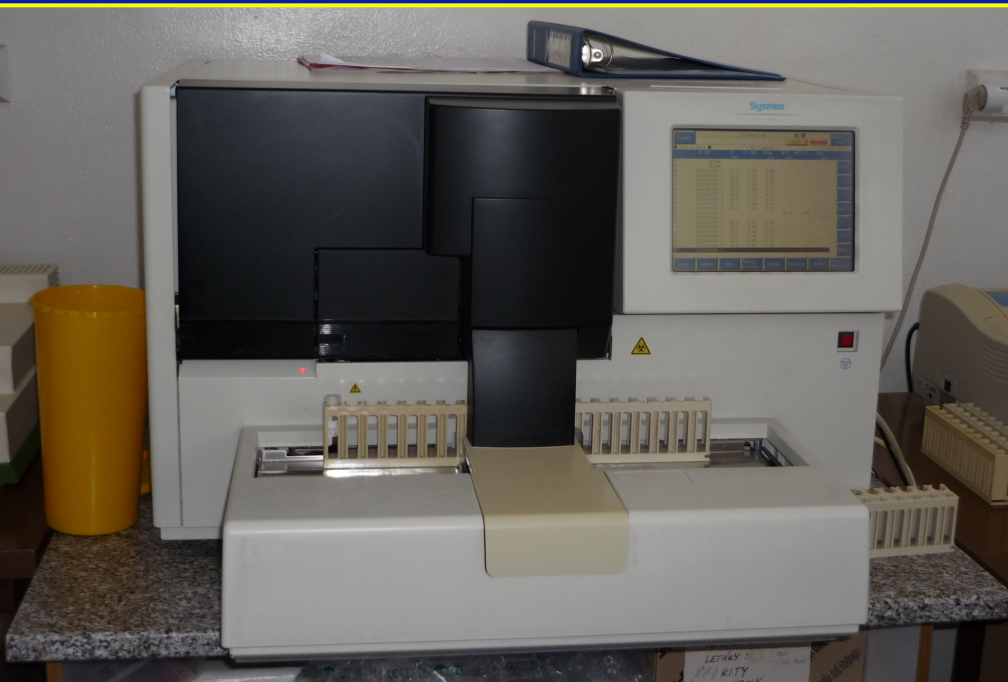
- Antigen
- Aktivita
 - RiCo
 - ELISA (aktivní doména)
 - LIA
- Collagen binding activity

**V naší laboratoři využíváme koagulometr
SYSMEX CA 1500**

Plně automatizovaný analyzátor.

Zpracovává velký objem vzorků.

Pracuje rychle a s velkou přesností.



Máme diagnózu hemofilie

Léčba hemofilie - Kauzální léčba neexistuje
Existuje pouze substituční léčba krvácení
krevními deriváty:

u hemofilie A: koncentráty faktoru VIII
(Immunate, Fanhdi, rekombinantní FVIII)

u hemofilie B: koncentráty faktoru IX
(Immunine, event.koncentrát protrombinového komplexu
– Prothromplex)

Dávka závisí na tíži hemofilie a na tíži krvácení,
případně na tíži plánovaného zákroku.

Substituce faktorů:

- On demand
 - Při krvácení
- Profylaxe
 - Preventivní podávání
 - Zejména v dětském věku při těžké formě hemofílie
 - Cílem je zabránění těžkých a invalidizujících kloubních postižení.

Genetické testování

- U většiny hemofilií je již odhalený genetický defekt.
- Vyšetření dcer hemofiliků – určení přenašečství
- Prenatální diagnostika

Další úkoly laboratoře:

- Monitorace aktivity FVIII (IX) při substituci
 - Po úrazu
 - Po operaci
- Úprava dávkování koncentrátu FVIII
- Průkaz inhibitoru FVIII (IX), který se vyvine při substituci.
- Kvantifikace inhibitoru.

Děkuji za pozornost