

von Willebrandova choroba



Aland Islands from Space: 6,500 islands



P. Smejkal
OKH FN Brno

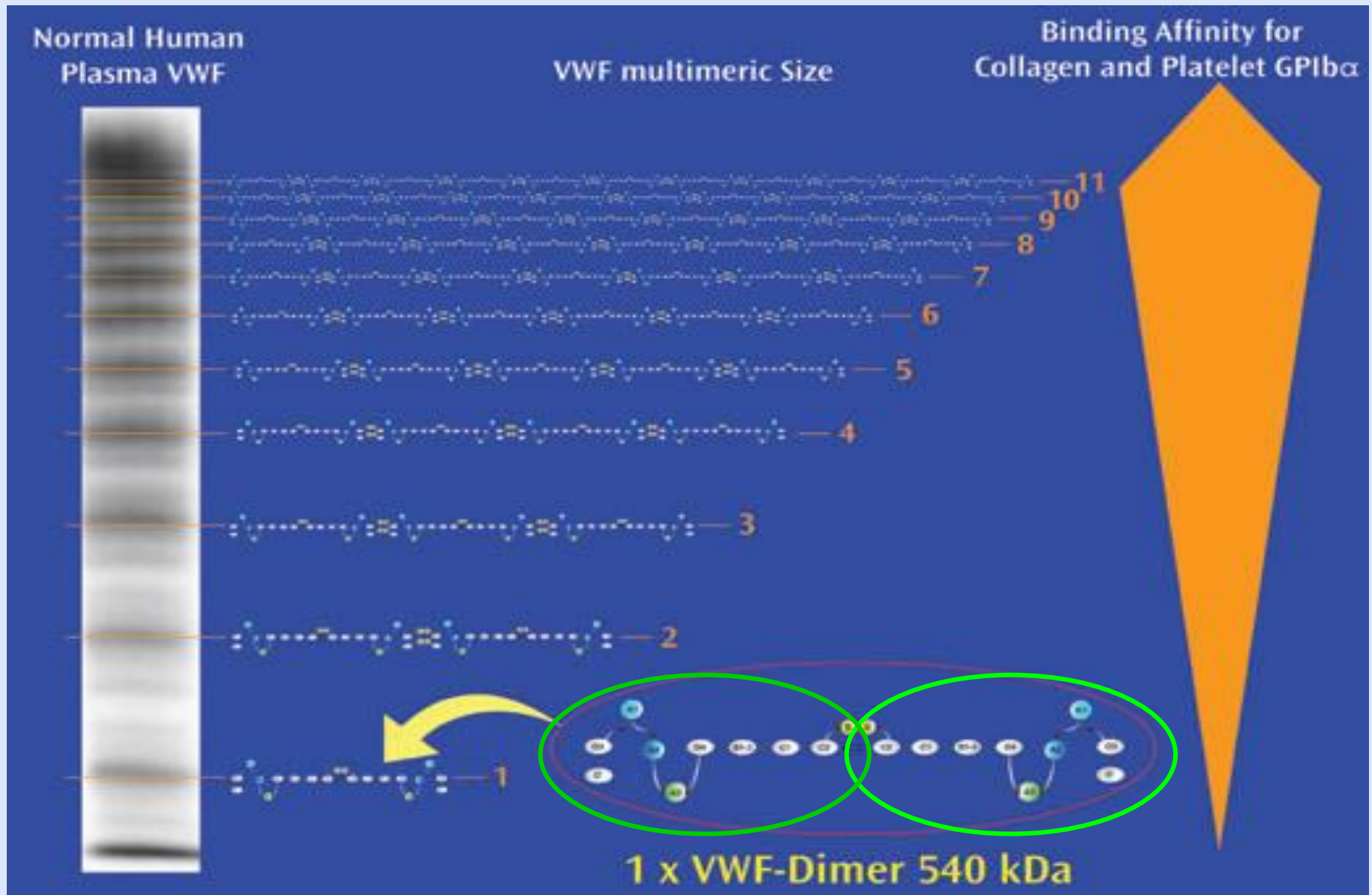
von Willebrandova choroba

- je krvácivá choroba způsobená vrozeným defektem koncentrace, struktury nebo funkce von Willebrandova faktoru

von Willebrandův faktor

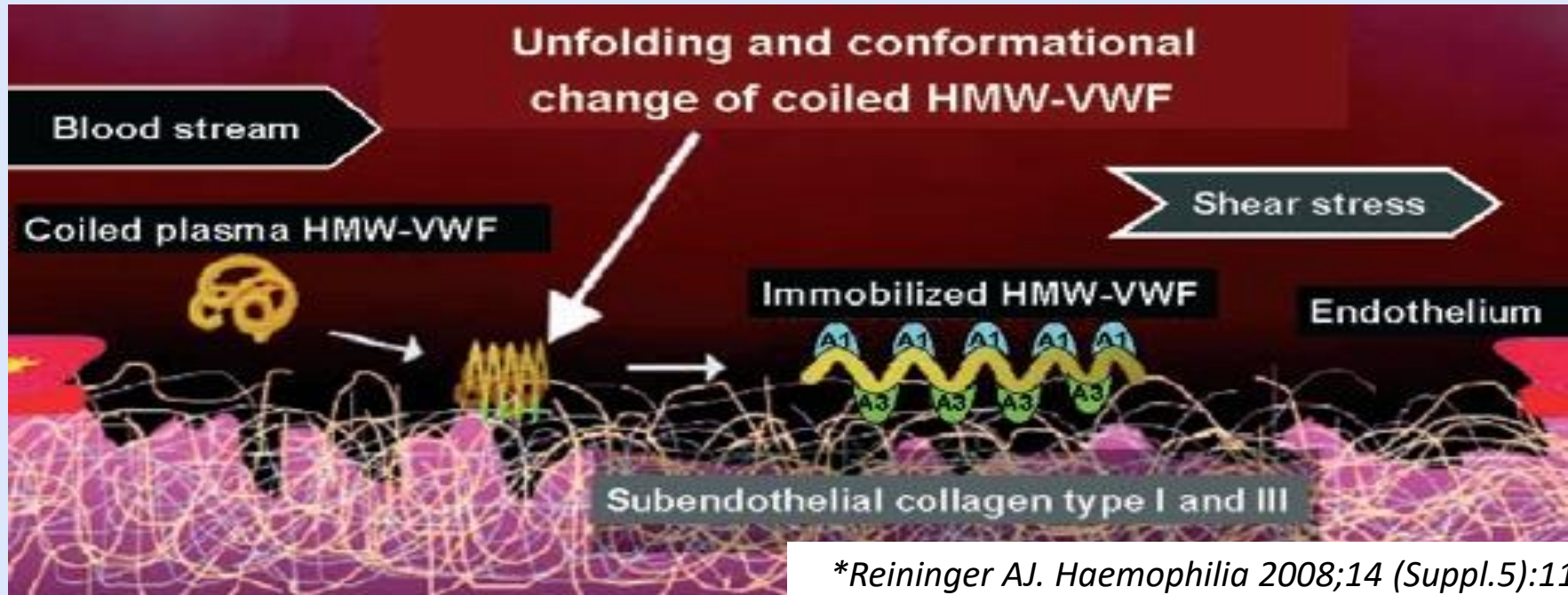
- je adhezivní glykoprotein o 2050 AMK
- **tvořen v endotelu a megakaryocytech**
- uvolňován
 - do subendotelu
 - intraluminálně
- **štěpen metaloproteázou ADAMTS13**
 - Tyr 1605 – Met 1606
- hraje klíčovou roli v primární hemostáze i koagulaci
- uspořádán do **multimerů** od 500 kDa až po 20 000 kDa
 - délka až 1,3 μm (průměr trombocytu)
- cirkulující **VWF se váže s FVIII**

Multimerní struktura VWF – korelace s elektroforézou



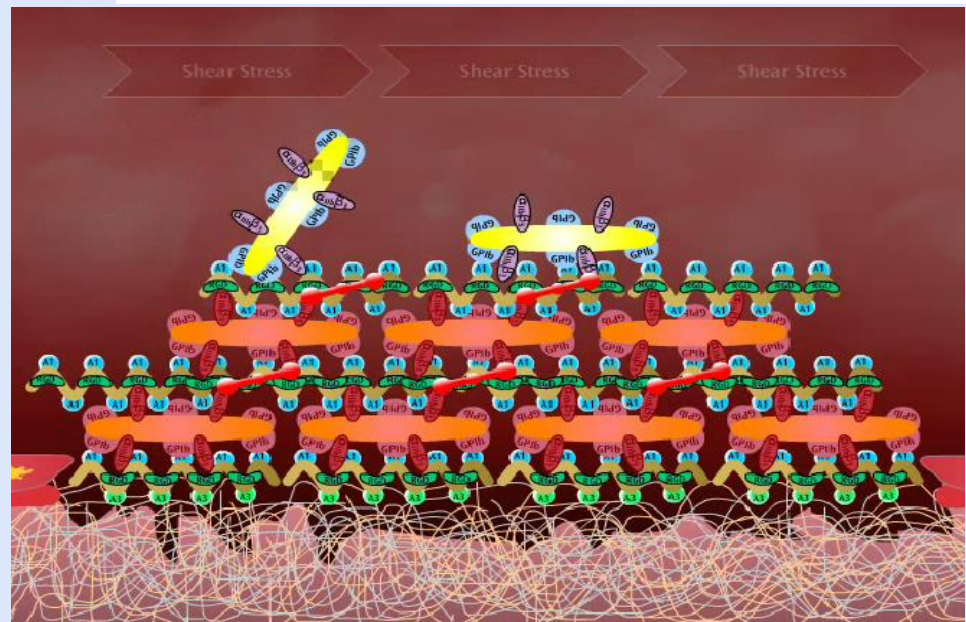
*Reininger AJ. Haemophilia 2008;14 (Suppl.5):11-26

Schéma funkce VWF v primární hemostáze



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

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



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

VWF -deficit

- vrozené defekty - von Willebrandova choroba
- získané defekty – získaný von Willebrandův syndrom
 - imunitně podmíněné
 - v důsledku zvýšené adherence na destičky, tumorózní buňky
 - hyposyntéza
 - zvýšená proteolýza

Prevalence VWCH

- VWF < 50 % 1 %
- klinicky krvácivé projevy 125/1 milion
- život ohrožující krvácení 0.5-3/1milion
- ohrožených krvácením 1000/1 milion

Klasifikace VWCH – 1994

- přítomnost defektu v genu pro vWF

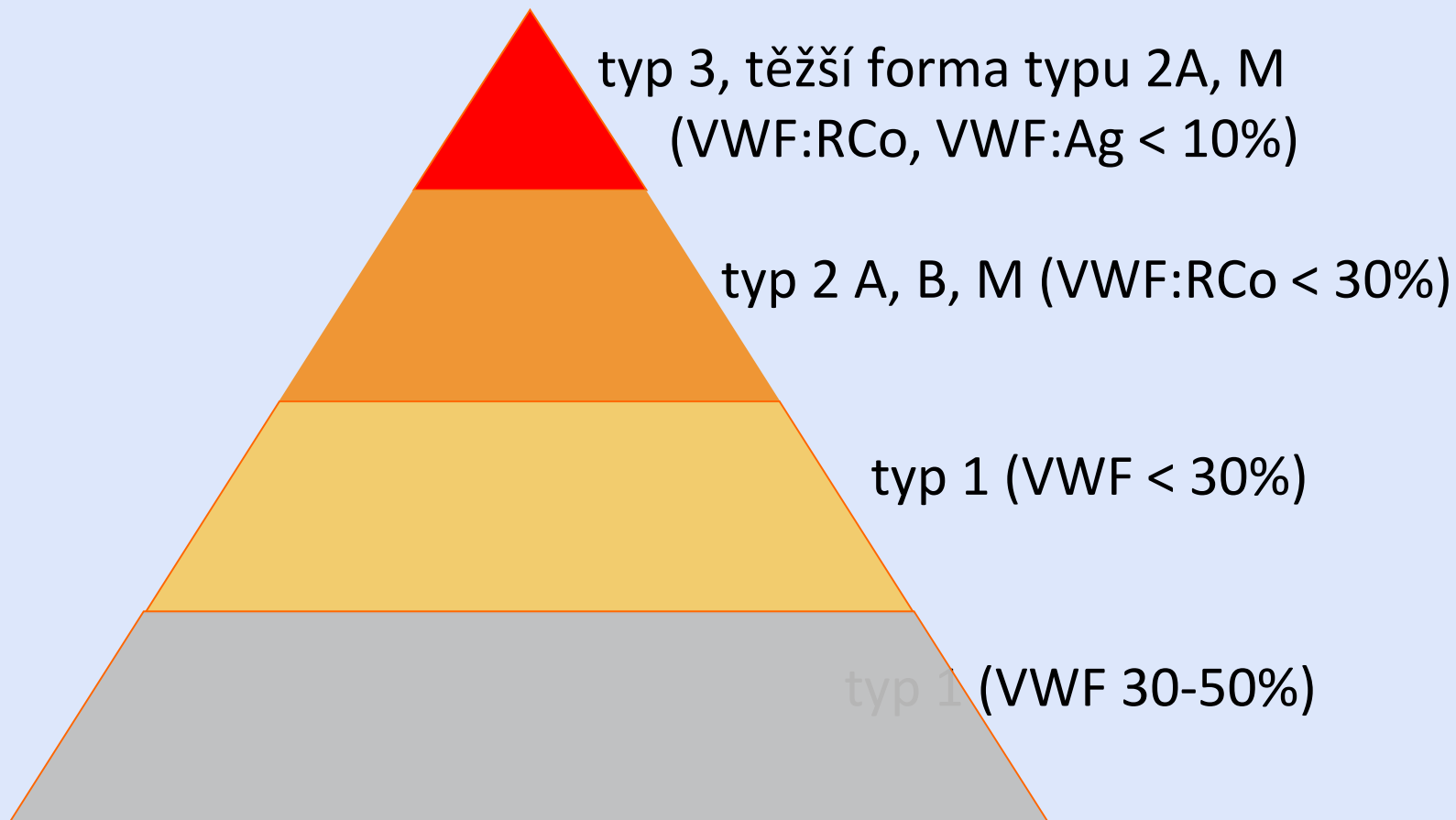
Sadler JE, Thromb Haemost 1994; 71: 520-525

- defekt v fenu pro VWF není podmínkou

Sadler JE, J Thromb Haemost 2006; 4: 2103-2114.

- **typ 1** - parciální kvantitativní defekt, AD, 75%
- **typ 2** kvalitativní defekt VWF, AD i AR, 20%
 - **2A** - pokles na VWF závislé adheze trombocytů, chybění HMW multimerů, 10-15%
 - **2B** - zvýšená afinita ke GPIb
 - **2M** - pokles na VWF závislé adheze trombocytů - zapříčiněn patologickou skladbou HMW multimerů
 - **2N** - pokles afinity k FVIII, AR
- **typ 3** úplný nedostatek VWF (<5%), FVIII <10%, AR, <5%

Rozložení tíže defektu vWF



Diagnóza VWCH typ 1

- jistá:
 - a) krvácivé projevy
 - b) VWCH v rodině
 - c) laboratorní nález:
VWF:RCo a VWF:Ag < 2 SD (KS 0, non-0)
- možná (possible): - nesplněno a) nebo c)
- nutno ze dvou odběrů

Diagnóza VWCH typ 1 (problémy)

Ne zcela jasná hranice normy, hladina VWF závisí na:

- krevní skupině 0 a non-0:
 - KS 0 VWF ↓ o 25% oproti non-0
 - MCMDM-1vWD cut off pro percentil 2,5 (n=1166):
 - KS 0:
 - VWF:RCo 43%
 - VWF:Ag 44,4%
 - KS non-0:
 - VWF:RCo 54%
 - VWF:Ag 54%

Diagnóza VWCH typ 1 (problémy)

Nejsou normy, protože je vliv:

- věku
 - od 40 let ↑ VWF o 1 % / rok
- pohlaví - ↑ ženy
- rasy - ↑ černoši
- VWF je **reaktant akutní fáze**
 - menstruačního cyklu:
 - bez HAK nejnižší VWF den 9 - 10
 - HAK nejnižší VWF den 5 - 6

Signifikanční slizničně-kožní krvácení dle ISTH

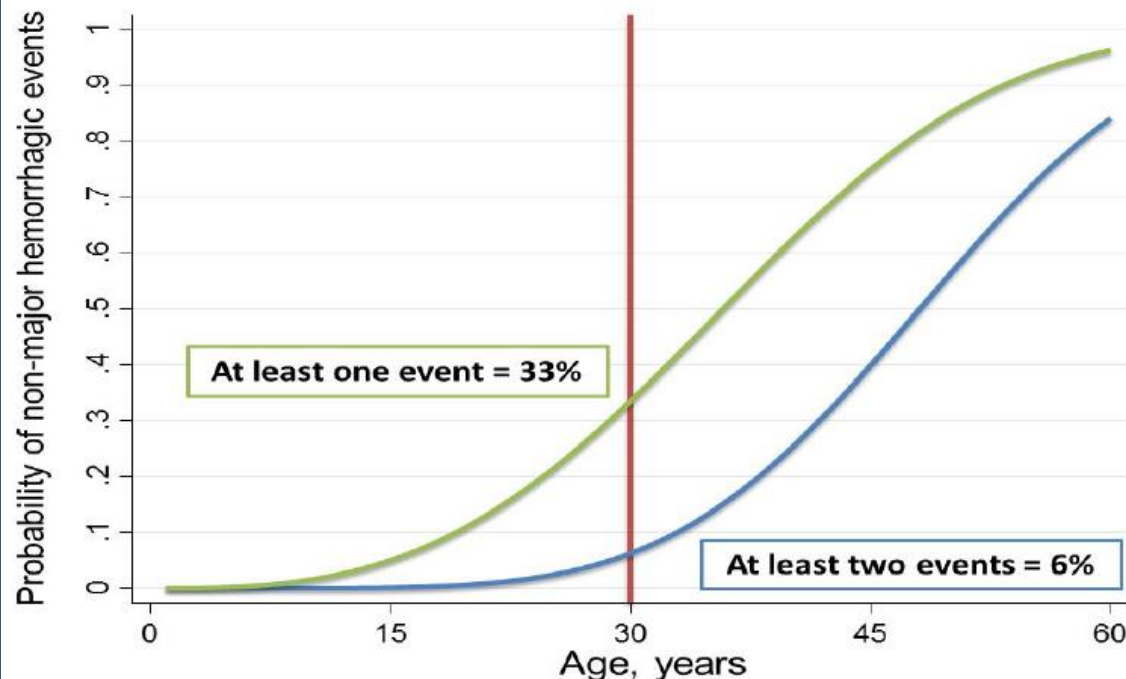
- Epistaxe:
 - 2x spontánně nebo 1x vyžadující transfúzi
- Tvorba hematomů:
 - spontánně nebo po minim. traumatu
- Prodloužené krvácení po poranění:
 - ≥ 15 min nebo recidiva do 7 dnů
- Krvácení z dásní, rtů, jazyka:
 - vyžadující ošetření
- Spontánní krvácení z GIT:
 - vyžadující léčbu či vedoucí k anemii bez ulcerace či portální hypertenze
- Krvácení po zubní extrakci, TE, ADE
 - vyžadující medikaci
- Menoragie:
 - způsobující anemii nebo vyžadující léčbu bez leze na uteru
- Kožní nebo slizniční krvácení jiného původu: oči, uši, moč. a dých. cesty
 - vyžadující medikaci

- ≥ 2 symptomy
- 1 symptom:
 - vyžadující transfúzi
 - recidivující za minimálně 3 různých okolností

Nezávažné krvácivé projevy v normální populaci

- Every 'normal' adult person has a 5 – 8% annual probability of minor bleeding

Study	Participants	Bleeding rate (% pt/year)	
		Major	Minor
Thrombosis Prevention Trial	1,272 men (age 45-69 years)	0.05	5.3
Women's Health Study	19,942 women (mean age 54.6 years)	0.06	7.7



*Tosetto A, *J Thromb Haemost* 2013;11:(Suppl. 1): 142-50

Adult and Pediatric Vincenza VWD Bleeding Questionnaire and Scoring System

Patient identification number:

Symptom	-1	0	1	2	3	4	Score
Epistaxis	-	No or trivial (<5)	>5 OR more than 10'	Consultation only	Packing or cauterization or antifibrinolytics	Blood transfusion or replacement therapy	
Cutaneous	-	No or trivial (<1cm)	> 1cm AND no trauma	Consultation only			
Bleeding from minor wounds	-	No or trivial (<5)	> 5 OR more than 5'	Consultation only or steri-strips	Surgical hemostasis or antifibrinolytics	Blood transfusion or replacement therapy	
Oral Cavity	-	No	Reported at least one	Consultation only	Surgical hemostasis or antifibrinolytics	Blood transfusion or replacement therapy	
GI Bleeding	-	No	Identified cause	Consultation or Spontaneous	Surgical hemostasis, antifibrin., blood transfusion.	Replacement therapy	
Tooth extraction	No bleeding in at least 2 extractions	None done No bleeding in 1	Reported, no consultation	Consultation only	Resuturing, repacking or antifibrinolytics	Blood transfusion or Replacement therapy	
Surgery	No bleeding in 2 surgeries	None done No bleeding in 1	Reported, no consultation	Consultation only	Surgical hemostasis or antifibrinolytic	Blood transfusion or Replacement therapy	
Menorrhagia	-	No	Reported or consultation only	Antifibrinolytics or Pill use	D&C, Iron therapy	Blood transfusion or replacement therapy or hysterectomy	
Post-partum hemorrhage	No bleeding in at least 2 deliveries	No deliveries No bleeding in 1 delivery	Reported or consultation only	D&C, Iron therapy, Antifibrinolytics	Blood transfusion or replacement therapy	Hysterectomy	

Muscle hematomas	-	Never	Post trauma no therapy	Spontaneous, no therapy	Spontaneous or traumatic, requiring replacement therapy	Spontaneous or traumatic, requiring surgical intervention or blood transfusion	
Hemarthrosis	-	Never	Post trauma no therapy	Spontaneous, no therapy	Spontaneous or traumatic, requiring replacement therapy	Spontaneous or traumatic, requiring surgical intervention or blood transfusion	
CNS Bleeding	-	Never	-	-	Subdural, any intervention	Intracerebral, any intervention	
Adult Score:							

Total

Childhood bleeding For each bleeding:	-1 -	0 No	1 Reported	2 Consultation only	3 Surgical hemostasis, antifibrinolytics, iron therapy	4 Blood transfusion or replacement therapy	Score
Umbilical stump							
Cerebral							
At circumcision							
At venipuncture							
Suction bleeding							
Hematuria							
Menarche							

Child Score:

Total

**Bowman M. et al. J Thromb Haemost 2008; 6: 2062-6*

Navržená dg. kriteria využívající krvácivé skóre

- **Krvácivé skóre:**

- > 3 pro muže
- > 5 pro ženy
- problém u dětí
 - menší důraz na přítomnost krv. projevů

**Rodeghiero F.2009;51st Congress of ASH,New Orleans*

Laboratorní diagnostika VWCH

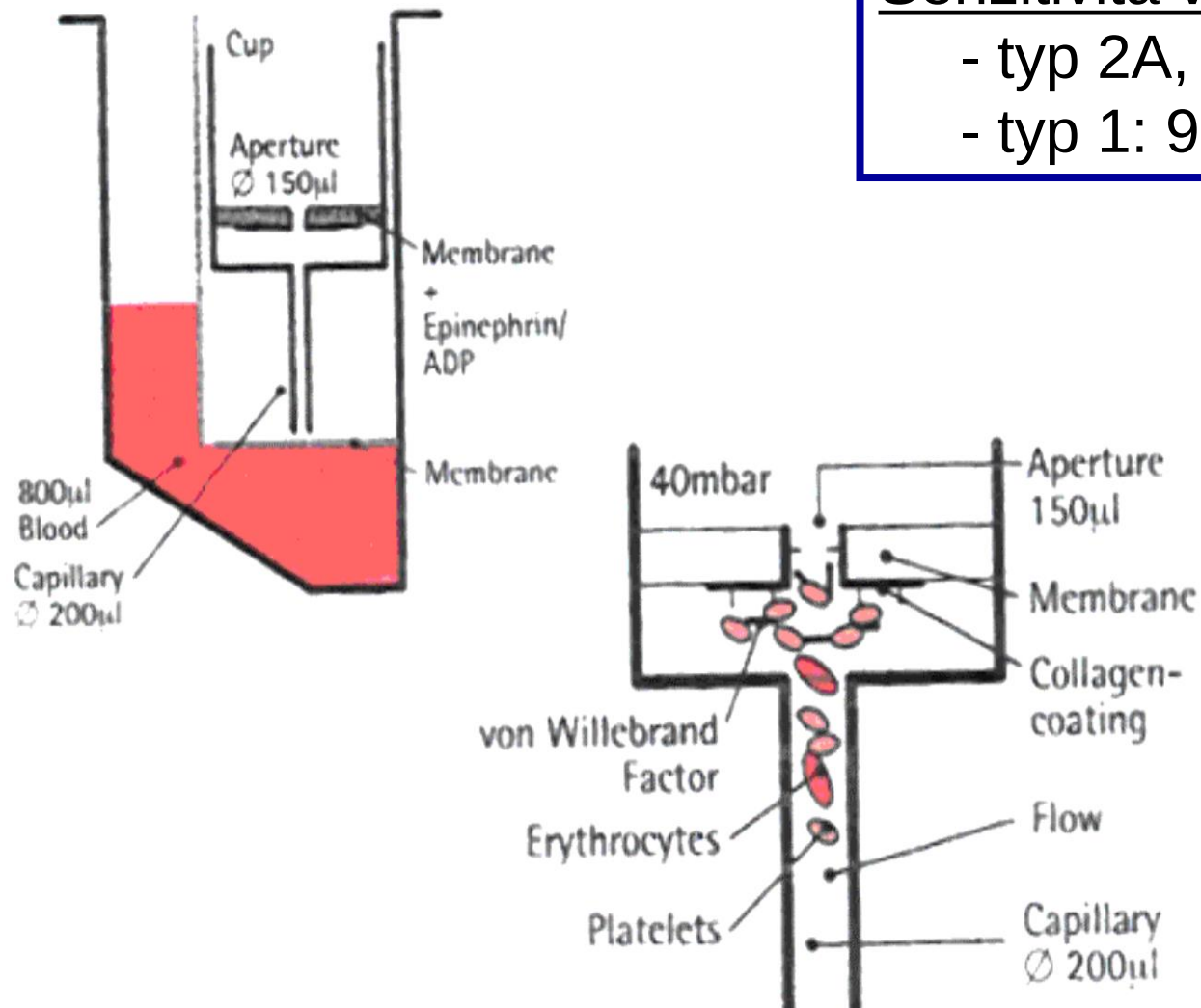
- **screening:**

	senzitivita
– trombocyty (↓typ 2B)	
– aPTT	< 30%
– doba krvácení	< 40%
– PFA100	79-100%
- **specifické testy:**
 - **VWF:Ag, VWF:RCo +/- VWF:CBA, FVIII:C**
- **diskriminační testy:**
 - elfo multimerů VWF, **RIPA**, VWF:FVIIIIB (vazebná kapacita VWF pro FVIII)
- **genetické vyšetření**

PFA-100®

Senzitivita v dg VWCH:

- typ 2A, B, M: 100 %
- typ 1: 90 %



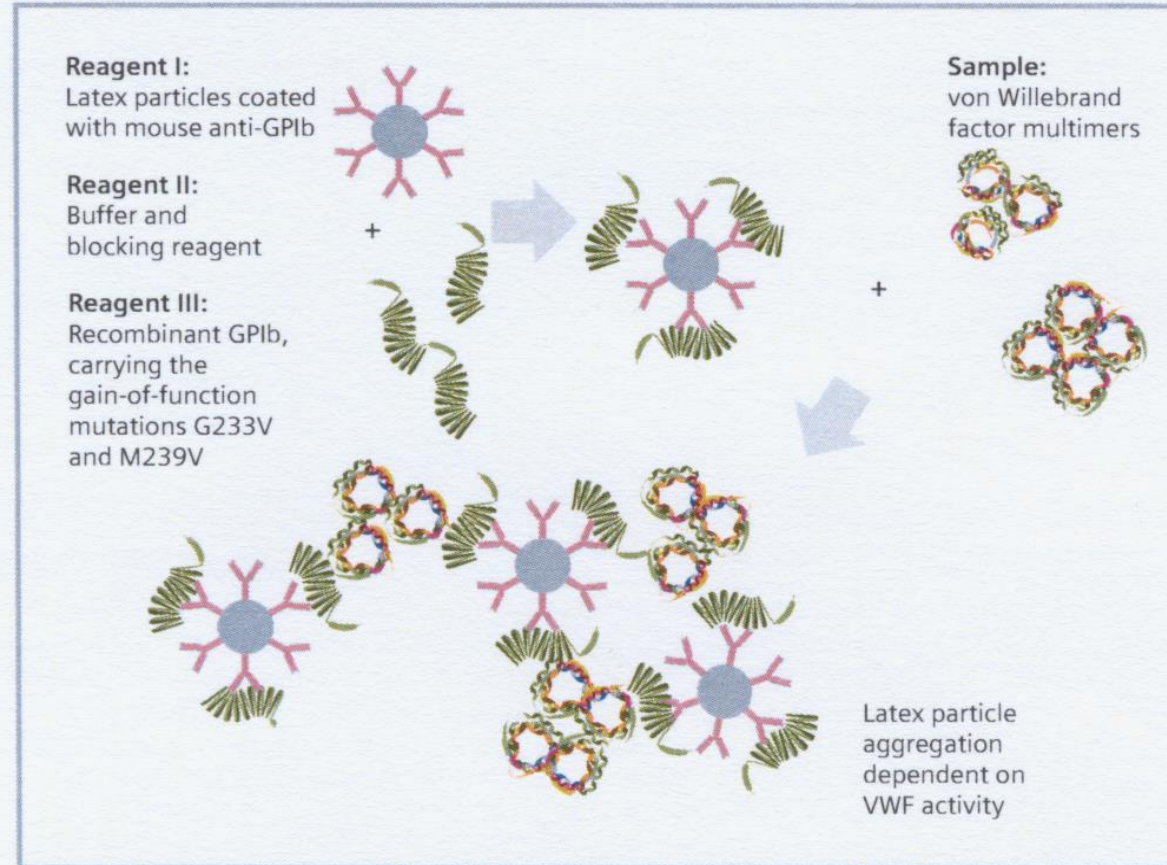
VWF:RCo

- ristocetin po navázání na GPI umožní vazbu VWF
- HMW + IMW multimers = 50%
- standard
- k monitoraci léčby koncentráty VWF/FVIII
- metoda aglutinační, agregační
- VWF:RCo / VWF:Ag
 - $< 0,7$ u typu 2 A, B, M

VWF:RCo - automatizace metody

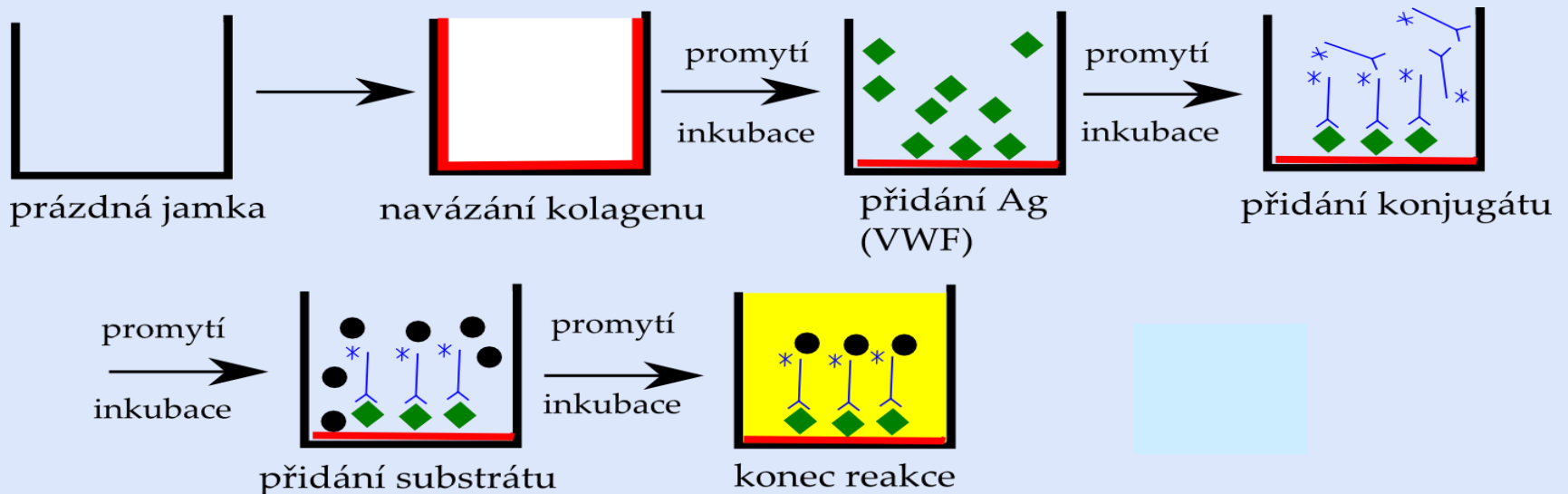
- vazba VWF na rf-GP Ib α fixovaný protilátkou – ELISA, LIA:
 - za přítomnosti ristocetinu
- vazba VWF na gain of function rf-GP Ib α fixovaný protilátkou – ELISA, LIA:
 - bez ristocetinu
 - **VWF:Ac**

The INNOVANCE VWF Ac Assay principle



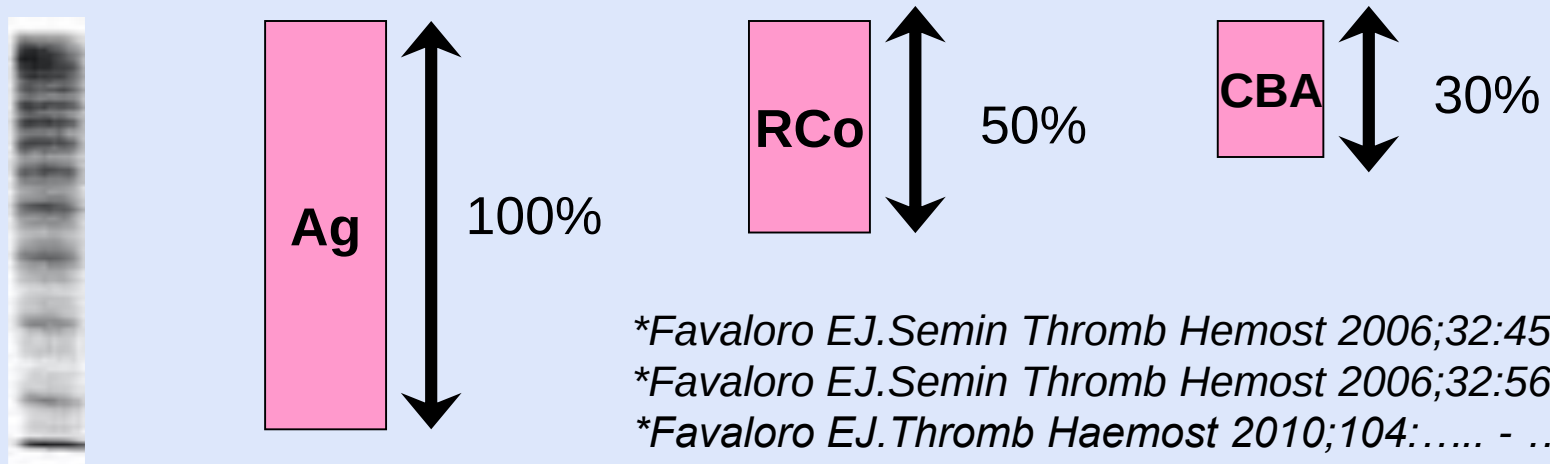
Stanovení VWF:CB

- collagen binding assay
- HMW multimery = 30%
- sensitivnější pro typ 2A, 2B:
$$\text{VWF:CB} / \text{VWF:Ag} < 0,7 \text{ (0,5)}$$
- ELISA:



Collagen binding assay - VWF:CB

- Citlivější k deficitu HMW multimerů
 - typ 2A, 2B: VWF:CB / VWF:Ag < 0,5 – 0,7
- Závisí na typu kolagenu:
 - směs type I/III (koňské či hovězí šlachy) preferovány
 - typ III se váže na VWF až příliš snadno:
 - nejen k HMW multimerům
 - typ I se váže na vWF velmi málo:
 - ↑ sensitivita k deficitu HMW multimerů, ale velká variabilita
- 2006: používáno laboratořemi: 50% Austrálie, 25% EU, 10% UK, < 5% USA



RIPA

(„ristocetin-induced platelet aggregation“)

- ristocetin 1 – 1,5 mg /ml
 - ↓ u typu 3, 2A (2M, 1)
- ristocetin 0,5 – 0,8 mg /ml
 - pozitivita agregace:
 - typ 2B
 - destičkový typ

Dif. dg. VWD 2B a destičkový typ VWCH

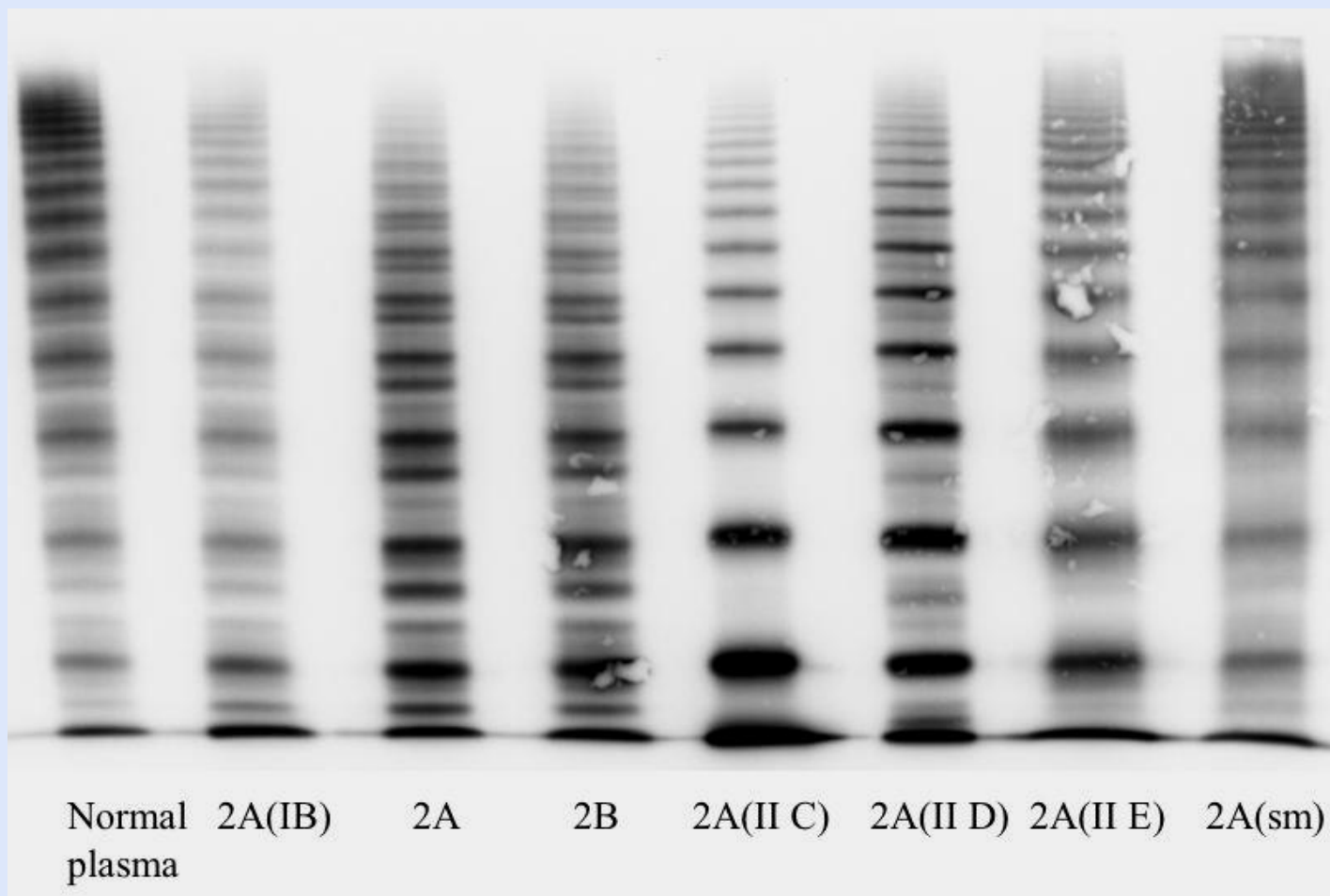
- GPIb má zvýšenou afinitu k VWF
- popsány jen 4 mutace:
 - Gly233Val
 - Met239Val
 - Gly233Ser
 - Delece 27 páru bází
- 1 : 4 kryoprecipitát : pacientova PRP
 - agreguje destičkový typ VWCH
- 1 : 1 PPP pacienta : PRP normálu + ristocetin
 - agreguje typ 2B

Diagnostika typů VWCH

typ	RIPA	RCo	Ag	FVIII	RCo/Ag	CB	CBA/Ag
1	N↓	↓	↓	N↓	N	↓	N
2A	↓	↓↓	N↓	N↓	↓ < 0,7	↓↓	↓ < 0,7
2B	N↑	↓	N↓	N↓	↓ < 0,7	↓↓	↓ < 0,7
2M	N↓	↓	N↓	N↓	↓ < 0,7	N ↓	N
2N	N	N ↓	N↓	↓	N	N	N
3	↓ ↓	↓ ↓	↓ ↓	↓ ↓	N↓	↓ ↓	N ↓

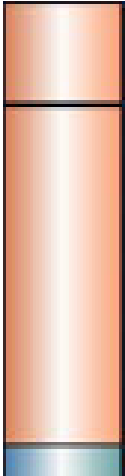
Struktura multimerů VWF u kvalitativního defektu

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



Role poměru VWFpp / Ag

- VWFpp je uvolněn až po sekreci VWF
- plazmatický poločas:
 - VWFpp: 2-3 h
 - VWF:Ag 8-12 h
- dg. zvýšení clearance:
 - některé typy VWD
 - získaný deficit VWF

VWF domain	Multimers	Mutation	FVIII:C	VWF:Ag	VWF:RCo	VWF:RCo/ VWF:Ag	VWF:pp/ VWF:Ag	VWD type
		WT	78-135	71-119	62-113	0.93	1.0	-
	▶	C1130R	13-15	12-22	7-13	N↓	2-4	I/2E
	▶	W114G	24	31	12	N↓	2-4	I/2E
	▶	R1205H	7-19	5-10	3-10	±1	>10	I/Wicenza

Genetická diagnostika

- VWCH všechny typy 2:
 - missense mutace, často exon 28
- VWCH typ 1 i typ 3:
 - heterogenní profil mutací
- význam v praxi:
 - prenatální a preimplantační **dg typu 3**
 - **dif. dg. typ 2B a destičkový typ VWCH**

Prenatální a preimplantační diagnostika

- Amniocentéza:
 - 15. – 17. týden
- Odběr choriových klků:
 - 11. – 14. týden
- Fetální DNA z krve matky:
 - od 7. – 9. týdne
 - 4% nejednoznačné výsledky
- **Preimplantační diagnostika:**
 - IVF, odběr 1/8 buněk

VWCH - terapeutické možnosti

- uvolnění endogenních zásob vWF:
 - DDAVP
- podání exogenního vWF:
 - koncentráty VWF/FVIII
 - trombokoncentrát

DDAVP 1-desamino-8-D-arginin vasopresin

- vzestup VWF:
 - přímé působení na endotel
 - monocyty » sekrece PAF » VWF z endotelu
- vzestup FVIII:
 - přímé uvolnění z místa syntézy
 - sekundární zvýšení při vzestupu plazmat. hladiny VWF:
 - delší poločas
 - stimulace uvolnění FVIII

DDAVP v léčbě VWCH

- 0,3 µg/kg i.v., s.c., 300 µg i. nasálně
 - á 12 - 24 hod.
 - nejdéle 5 dnů
 - efekt tachyfylaxe
 - nutná restrikce tekutin na 1/2
- VWF/FVIII:
 - vzestup 3-5x
 - max. za 45 min. i.v., 120 min. s.c., 90 min. i.n.
- t2 (typ 1 vWCH):
 - VWF 8 - 10 hod.
 - FVIII 5 - 8 hod.

Účinnost DDAVP v léčbě VWCH

- nutný terapeutický pokus
- typ 1: v 90% (normální trombocytární VWF)
- typ 2: asi v 50% a krátkodobý efekt
 - 2A (u zvýšené proteolýzy, t_{1/2}: 2- 4 hod.)
 - 2M (Vicenza, t_{1/2}: 1- 1,5 hod.)
 - 2N (t_{1/2}: 2- 4 hod.)
 - 2B (relativní kontraindikace pro prohloubení trombocytopenie)
- typ 3 a těžký typ 1:
 - nedostatečný vzestup VWF/FVIII na 10 - 30%

Léčba koncentráty VWF/FVIII

- kryoprotein (FVIII/VWF 80 - 100 j./1 TU)
- koncentráty FVIII/VWF
(ve všech jsou proti plazmě HMW multimery VWF redukovány)
 - Haemate P[®] (stř. čištěný, pasterizovaný)
 - vysoce čištěné koncentráty FVIII/VWF
 - HP VWF
- označení:
 - VWF:RCo
 - FVIII:C

Porovnání v ČR k léčbě VWCH doporučených koncentrátů FVIII / VWF

preparát	VWF:RCo / FVIII	Recovery / IU / kg		t1/2 (hod.)	FVIII IU / 1 mg	VWF: RCo IU / 1 mg
		Dávkování	Farmakokinetika			
Haemate P®	2,4	2%	1,9%	7	2 - 6	3 - 17
Fanhdi®	1,2	2%	1,9%	14	2,5 - 10	3 - 12
Wilate®	0,9	1,5 - 2%	1,5%	18 - 34	≥ 60	≥ 53
Willfact®	≥ 10	2%	2,1%	8 - 14		≥ 50

Dávkování substituce u VWCH

druh krvácení	cílová hladina		délka substituce
	VWF:RCo	FVIII:C	
velké operace	80-100%	kolem 100%	během zákroku
	> 50%	> 50%	do zhojení (7-10 dnů)
malé operace	> 50%	> 50%	během zákroku
	> 30-50%	> 30-50%	do zhojení (5-7 dnů)
zubní extrakce	> 50%	> 50%	během zákroku
	> 30%	> 30%	dalších 6-12 hod.
	+ antifibrinolytikum		7-10 dnů
krvácení (spont. i traumatické)	> 30%	> 30%	jednorázově či až do zhojení (2-4 dny)
vaginální porod	> 40-50%	> 40-50%	3 – 4 dny

VWF v graviditě

Od II. trimestru fyziologický vzestup VWF i FVIII:

- VWF až 3x ↑
- FVIII 2x ↑
- U typu 2 je uvolněn defektní VWF:
 - ↓ trombocytů u typu 2B

**James AH. Am J Obstet Gynecol 2009: 1e1-e8*

**Szecsi PB. Thromb Haemost 2010: 718-727*

- Doporučení kontroly plazmat. hladiny VWF:Ag, VWF:Rco a FVIII:
 - Týden 28 a 34

**Lee CA. Haemophilia 2006: 301-306*

VWF po porodu

- Návrat k původní hladině během 1-3 týdnů

**Nichols WL. Haemophilia 2008: 171-232*

- U typu 2A i do 24 hodin

**Kujovich JL. J Thromb Haemost 2005: 246-53*

**Ramsahoye BH. Haemophilia 1995: 140-144*

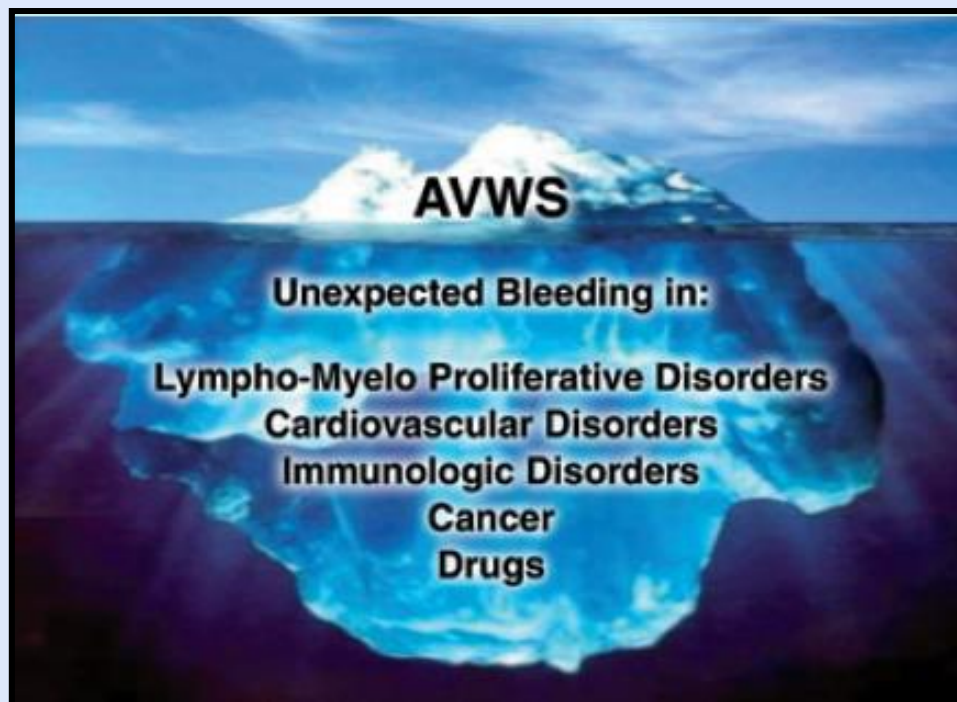
- Doporučení kontroly hladiny VWF a FVIII:
 - 3. - 5. den po porodu

**Pasi KJ. Haemophilia 2004: 218-231*

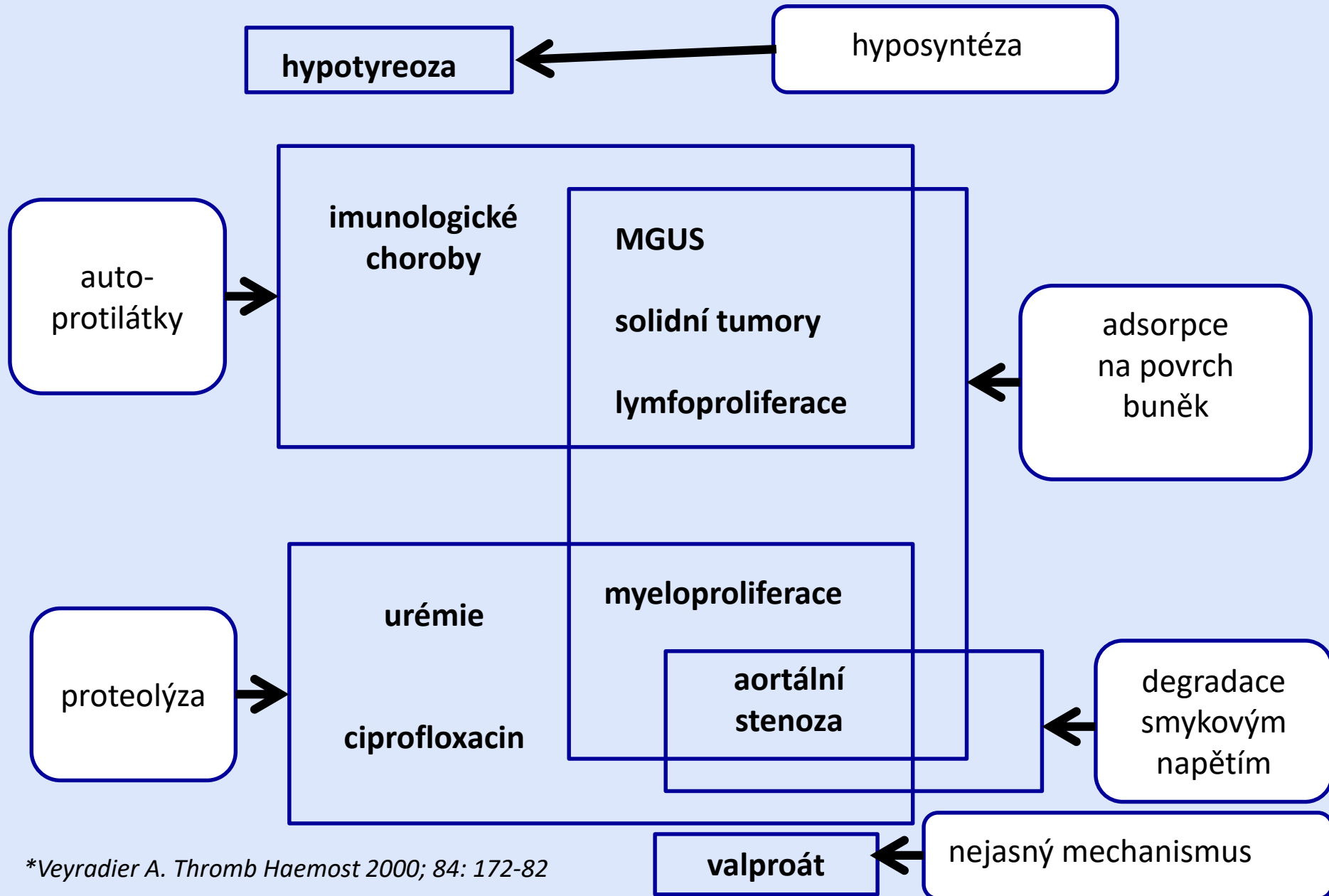
Co u von Willebrandovy choroby reálně očekávat?

- **vývoj klasifikace:**
 - co již je a ještě není choroba?
 - co již je a ještě není kvalitativní defekt?
 - nové příčiny onemocnění, mutace mimo gen pro VWF?
- **diagnostika:**
 - automatizace a standardizace vyšetření vWF:RCo (Ac)
 - Statim použití
 - ústup významu PFA-100 jako screeningového vyšetření
 - Jen jako negativní prediktivní hodnota
 - rozšíření VWF:CB
- **terapie (možnosti v ČR):**
 - úhrada vhodné formy DDAVP (Octostim inj)
 - úhrada vysoce čištěných koncentrátů (Wilate a Willfact)
 - uvedení rVWF

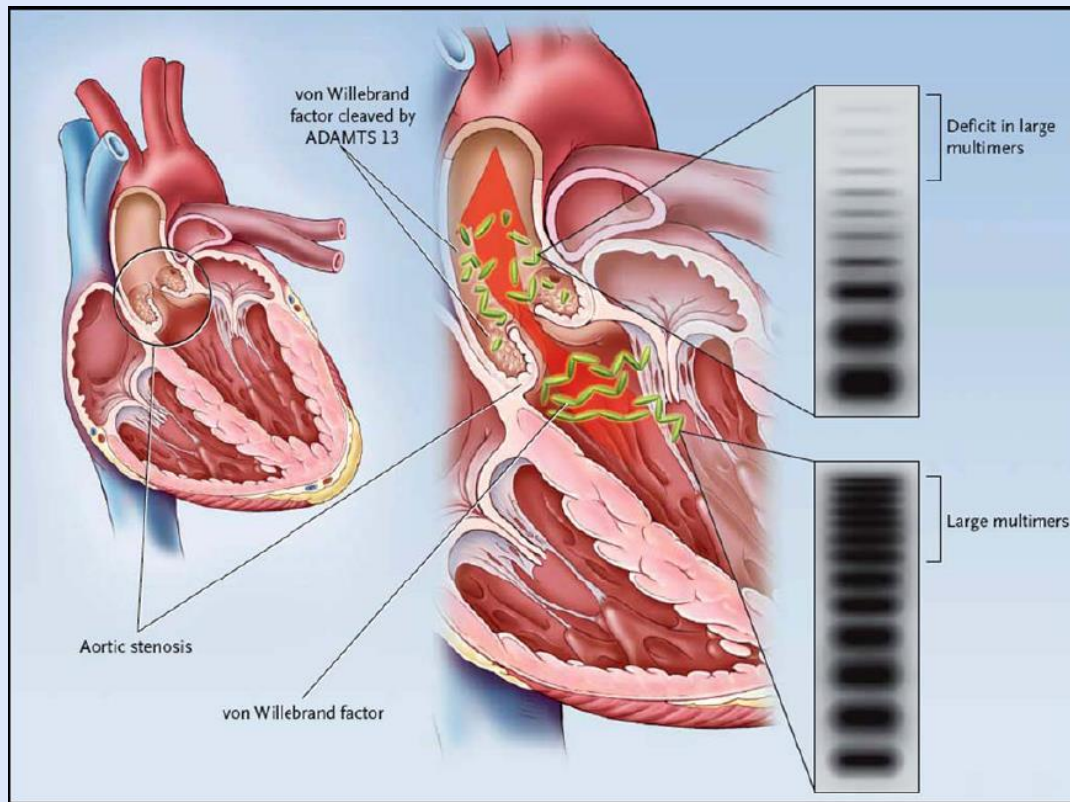
Získaný von Willebrandův syndrom



Patofyziologie získaného VWS



Mechanismus získaného VWS u aortální stenózy



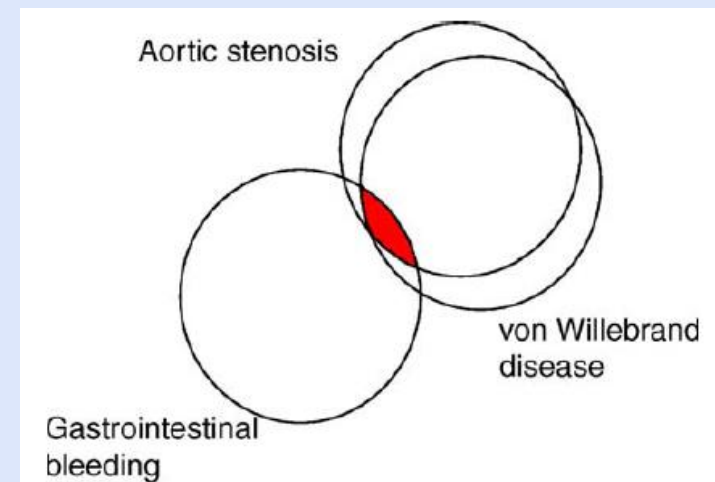
*Makris M. *Thrombosis research* 2006;118,S1:13-17

„Heyde´s“ syndrom:

*Heyde EC, *NEJM* 1958; 259: 196

- Aortální stenóza
- GIT krvácení
- ↓ HMW multimerů VWF
- ↓ VWF v endotelu
 - neovaskularizace

*Starke RD, *Blood* 2011;117:1071-80



Diagnostika získaného VWS

Anamnéza:

- Krvácivé projevy až ve „vyšším“ věku
- Negativní RA
- Onemocnění spojené se získaným VWS:
 - Lymfoproliferace 7% (8/113)
 - Myeloproliferace 11% (14/125)

**Tiede A et al. Blood 2011;117:6777-6785*

Laboratorní vyšetření:

- PFA-100
- FVIII, VWF:Ag, **VWF:RCo**, VWF:CB:
 - ↓ VWF:RCo/VWF:Ag, ↓ VWF:CB/VWF:Ag
- Multimery VWF
- Propeptid VWF:
 - ↑ VWFpp/VWF:Ag při ↑ clearance VWF
- Inhibitor non-neutralizující, ↑ clearance VWF:
 - Nelze prokázat Bethesda metodou

Léčba získaného VWS

- Léčba základního onemocnění:
 - Efekt u autoimunitních onemocnění
 - Neúčinné při MGUS
- DDAVP:
 - U solidních tumorů efekt v 75%
- Koncentrát VWF/FVIII:
 - Krátký poločas
- rFVIIa:
 - Ekonomická náročnost
- HD-IVIG:
 - Pouze u IgG MGUS
- Plazmaferéza:
 - U IgM MGUS

**Tiede A et al. Blood 2011;117:6777-6785*

Děkuji za pozornost

