



**VIII JORNADAS  
FARMACEUTICAS**  
**Sobre el Tratamiento de las  
COAGULOPATÍAS  
CONGÉNITAS**  
Madrid, 2 3 y 4 de Diciembre de 2013

**Organiza**  
Salud Madrid  
Hospital Universitario La Paz  
Comunidad de Madrid

**Avalado**  
H

**Coordinadores**  
Servicio de Farmacia  
Dr. JA. Romero Garrido  
Dra. A. Herrero Ambrosio  
Servicio de Hematología  
Dr. V. Jiménez Yuste  
Dirección-Gerencia

# PARÁMETROS DIAGNÓSTICOS DE LA HEMOFILIA Y DE LA ENFERMEDAD VON WILLEBRAND

*M<sup>a</sup> Teresa Álvarez Román*  
*Servicio de Hematología y Hemoterapia*

*Madrid, 3 de Diciembre del 2013*

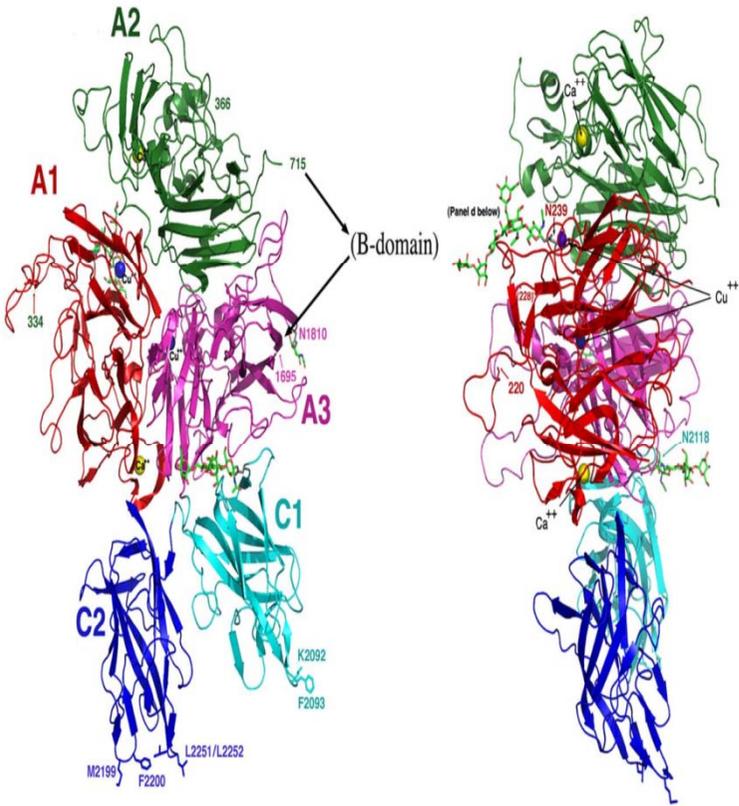
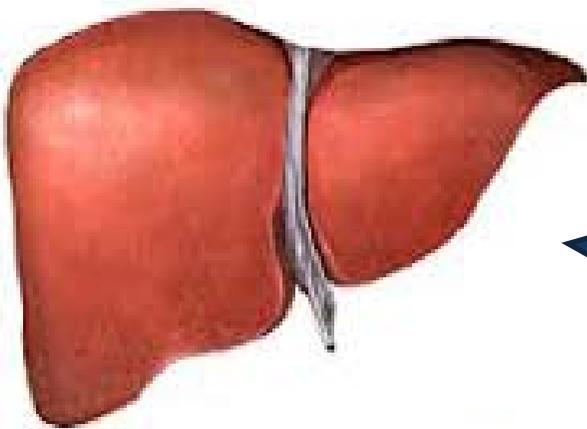
# HEMOFILIA



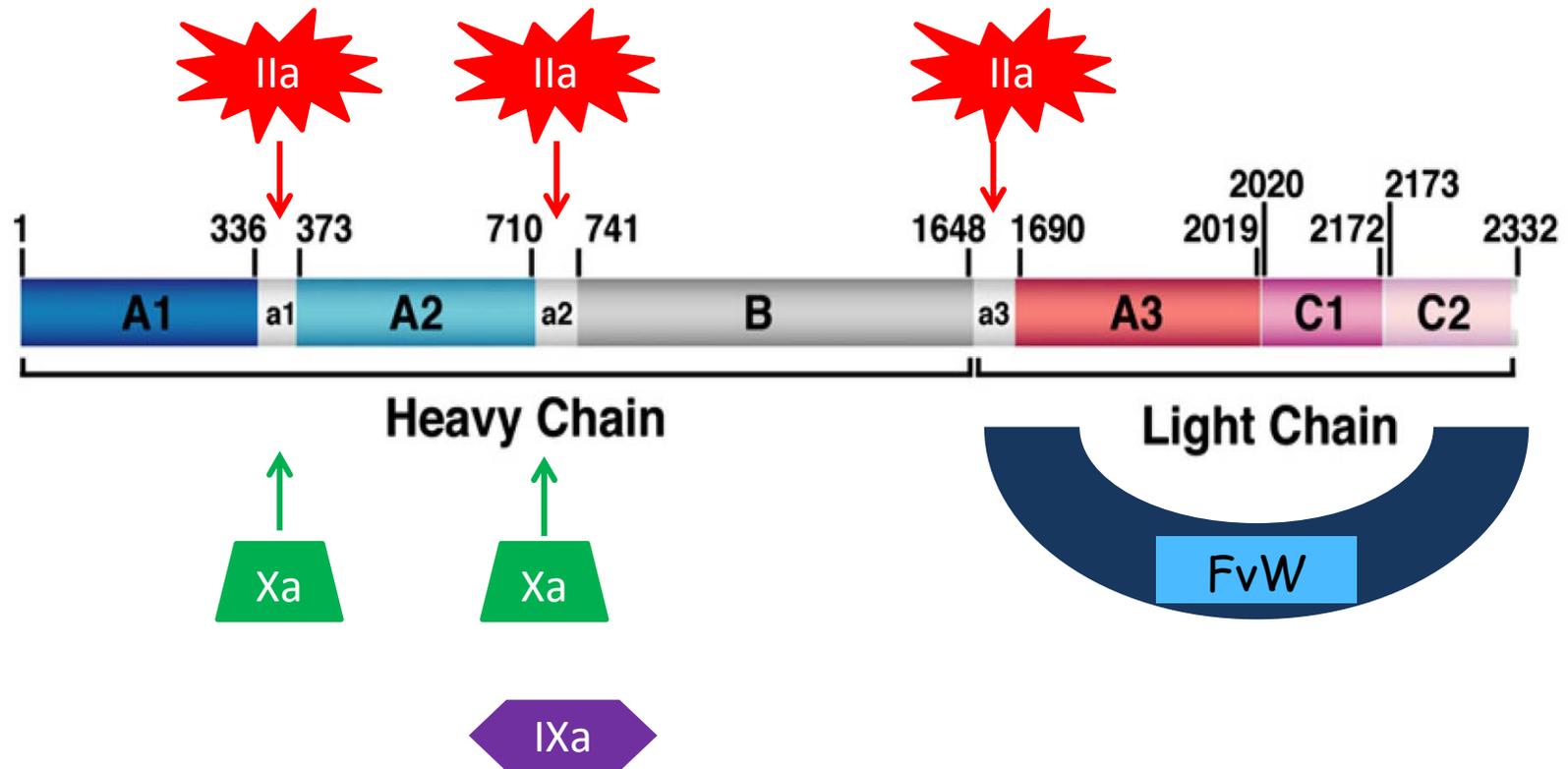
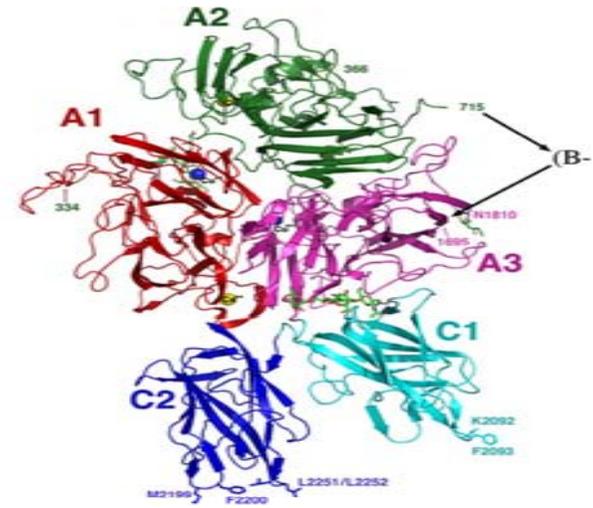
# LABORATORIO EN HEMOFILIA



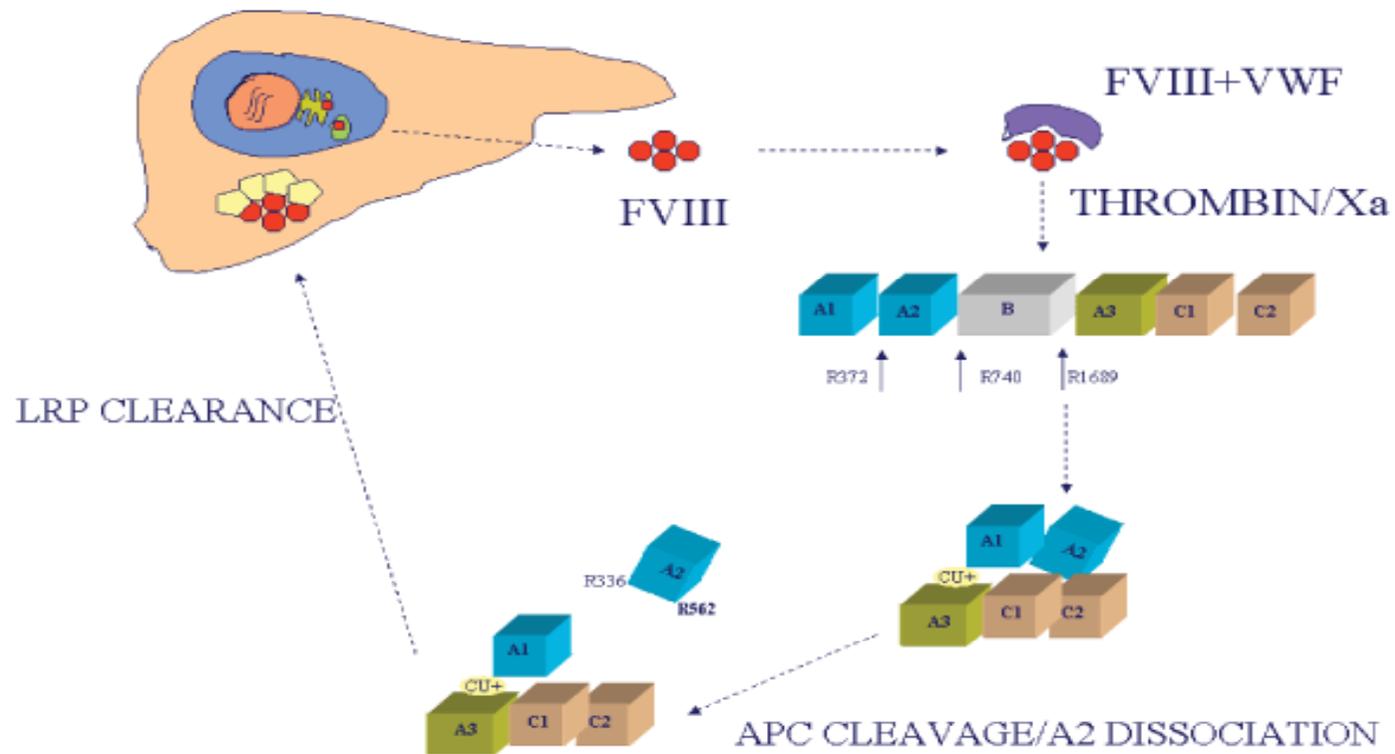
# SÍNTESIS DE FVIII



# ESTRUCTURA DEL FVIII

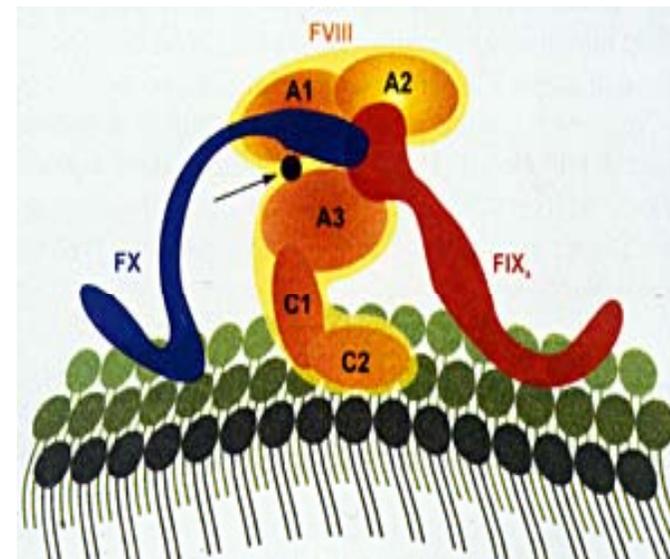
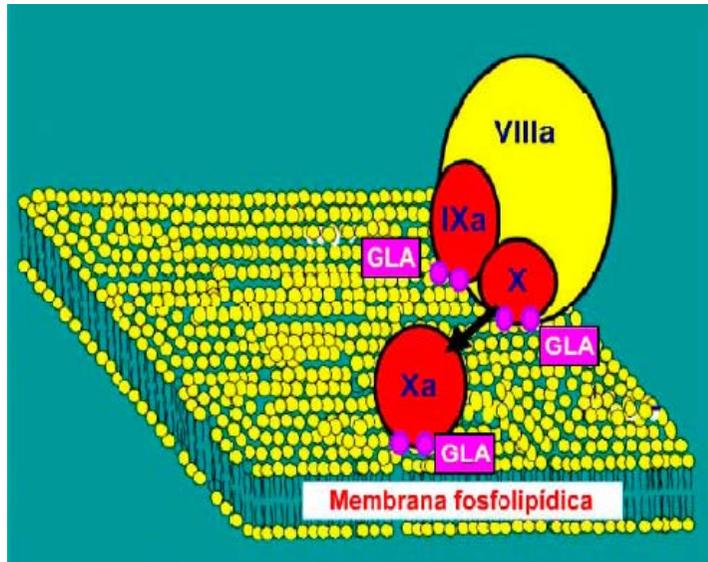


# CICLO DE FVIII





# PAPEL DEL FVIII EN LA COAGUACIÓN (II)



*Fuente: Curso postgrado de capacitación en patología trombótica-2011.*

# DIAGNÓSTICO. FASE PREANALÍTICA

Tabla 1. Fase preanalítica

Obtención	<b>Postura corporal:</b> se recomienda siempre la misma, pues hay variaciones de hasta un 20%
	<b>Método de obtención:</b> torniquete no más de 60 s a presión intermedia entre TAS y TAD
	<b>Contaminación:</b> por tromboplastina tisular, que puede falsear los resultados
	<b>Punto de punción:</b> mejor la vena periférica del antebrazo
	<b>Método de extracción:</b> Vacutainer® (método de vacío), no utilizando la 1.ª muestra
	<b>Anticoagulante utilizado:</b> el más utilizado es el citrato en proporción 1:10
Transporte y conservación	<b>Modo de transporte:</b> dependiendo de la técnica a realizar
	<b>Temperatura:</b> evitar altas temperaturas. Si se va a analizar inmediatamente, se conserva a temperatura ambiente
	<b>Tiempo de conservación:</b> el PPP se congela a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para conservación a corto plazo, y a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ para largo plazo
Procesamiento	<b>Separación:</b> mediante centrifugación
	<b>Alicuotado y distribución</b>
	<b>Pretratamientos:</b> congelación/descongelación

PPP: plasma pobre en plaquetas; TAD: tensión arterial diastólica; TAS: tensión arterial sistólica



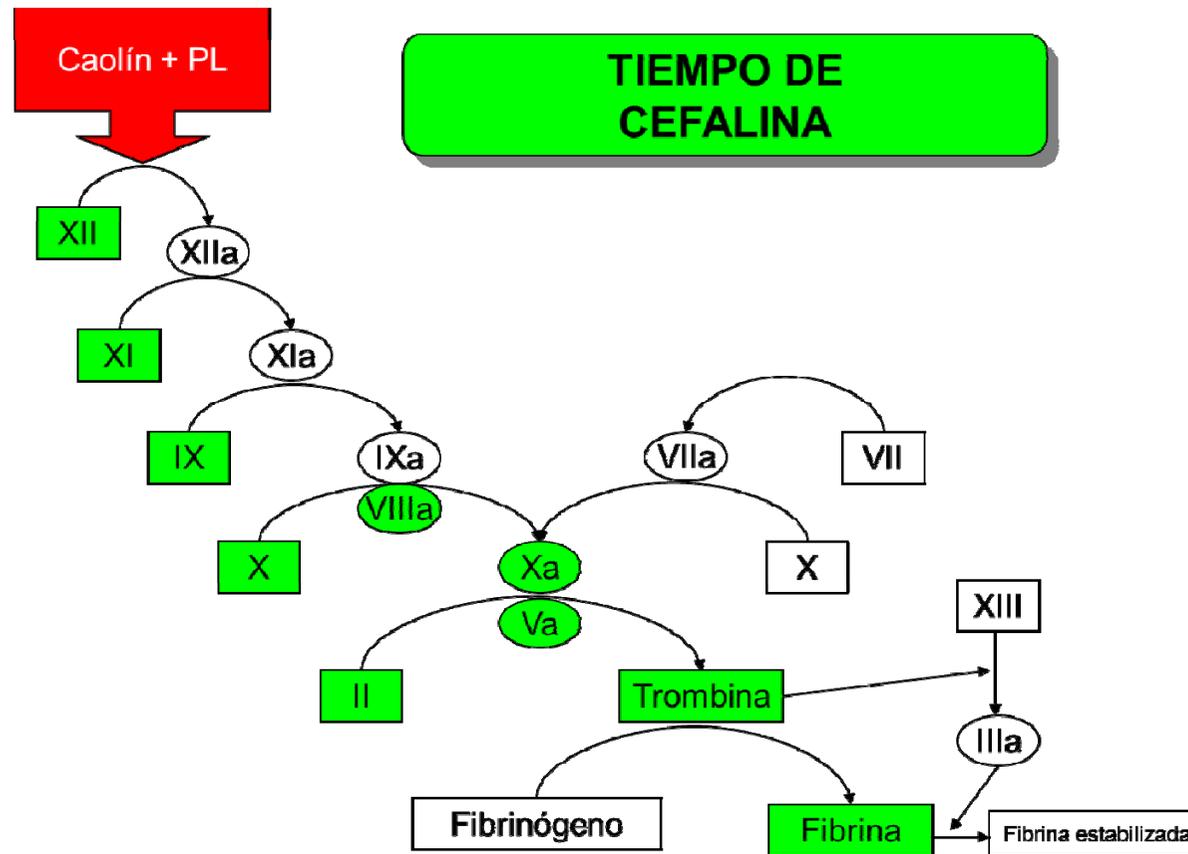
# DETERMINACIONES NECESARIAS

Table 41.1 Laboratory procedures commonly used in the diagnosis of hemophilia.

Platelet count	Platelet aggregation
<b>TTPa</b>	Agonists: collagen, ADP, ristocetin
PT	Activated partial thromboplastin time
	Prothrombin time
<b>FVIII:C</b>	Factor VIII procoagulant function (one-stage and/or chromogenic substrate method)
Factor VIII:Ag	Factor VIII antigenic determination
vWF: RCo	von Willebrand factor ristocetin cofactor
vWF:Ag	von Willebrand factor antigen
vWF:FVIII B	von Willebrand factor/FVIII-binding capacity
Fibrinogen	Functional assay for fibrinogen
Factor XIII	Enzymatic factor XIII assay

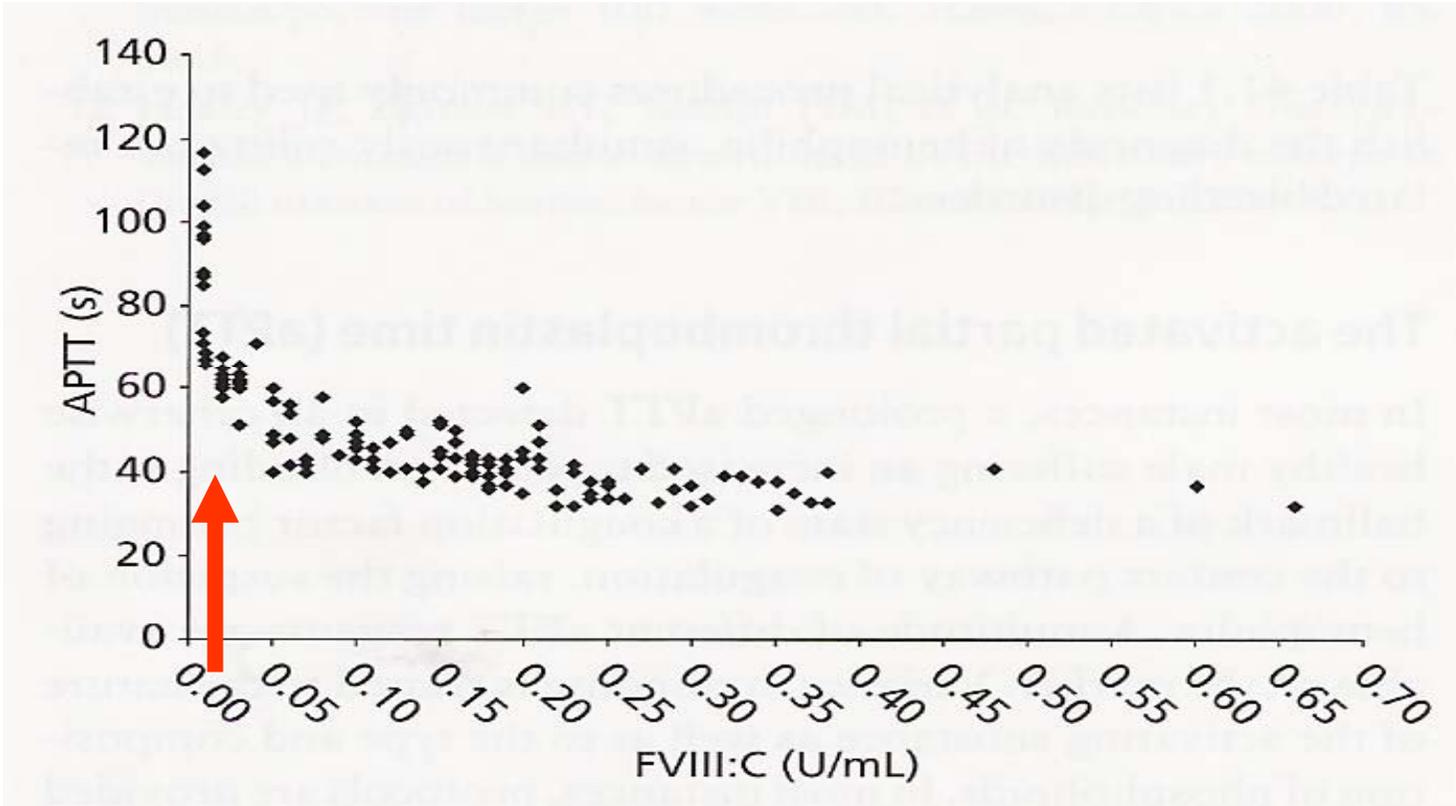


# DETERMINACIÓN DE TTPa



SÓLO SE DEBE CUANTIFICAR EL FVIII SI EL TTPa ESTÁ ALARGADO

# TTPa vs FVIII



# DOSIFICACIÓN DE FVIII

¿Por qué es importante una correcta dosificación?

¿Qué problemas se nos presentan en la dosificación de FVIII?

# ¿POR QUÉ ES IMPORTANTE UNA CORRECTA DOSIFICACIÓN?

Correcto  
diagnóstico

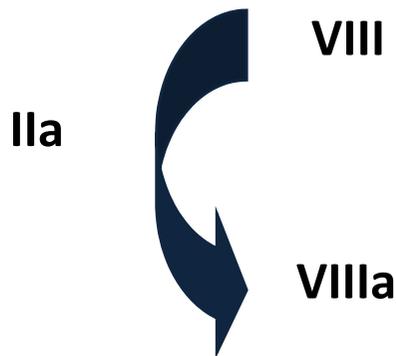
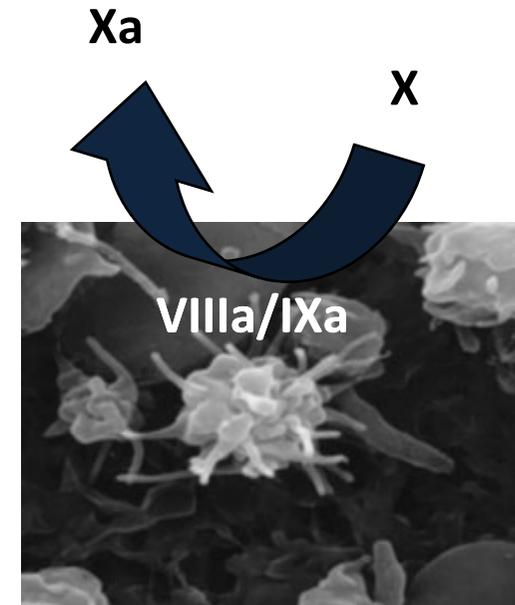
Monitorización  
de tratamiento  
sustitutivo

Manufacturación  
de concentrados

# ¿QUÉ PROBLEMAS SE NOS PRESENTAN EN LA DOSIFICACIÓN?

## 1) PAPEL DEL FVIII: COFACTOR

Actividad hay que medirla de forma indirecta.



## 2) NECESIDAD DE ACTIVACIÓN

Activación previa a ejercer como cofactor

La determinación resultaría mucho más sencilla si el FVIII no necesitara de una activación previa.

# MÉTODOS PARA LA DOSIFICACIÓN DEL FVIII

Miden el papel del FVIII como cofactor en la activación del FX

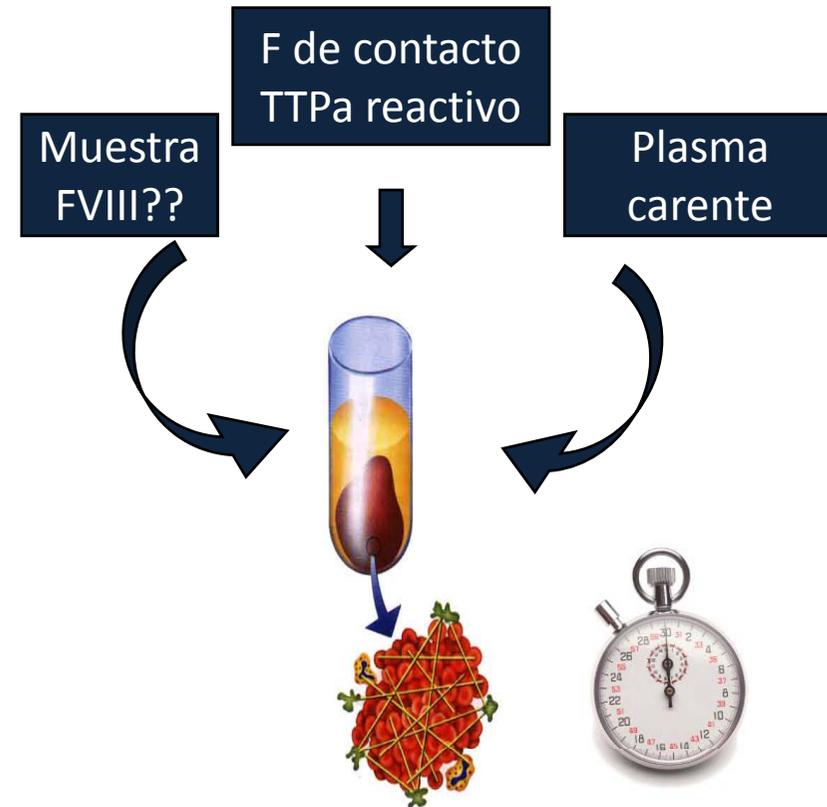
1. De forma indirecta: **MÉTODO COAGULATIVO**

- ✓ Método en una etapa
- ✓ Método en dos etapas

2. De forma directa: **MÉTODO CROMOGÉNICO**

# MÉTODO COAGULATIVO EN UNA ETAPA (ONE-STAGE ASSAY)

Mide la capacidad del FVIII contenido en una muestra de **acortar el tiempo de formación de un coágulo** del plasma de un hemofílico A, tras una activación de la fase contacto y recalcificación.

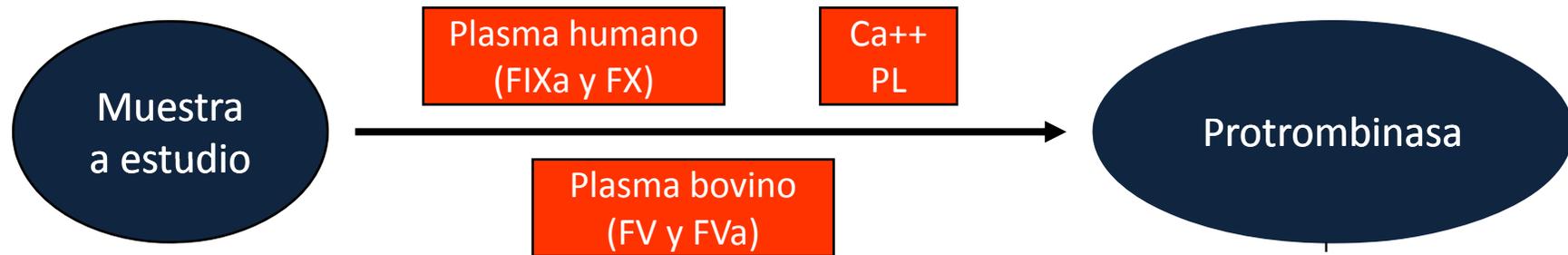


## SITUACIÓN IDEAL

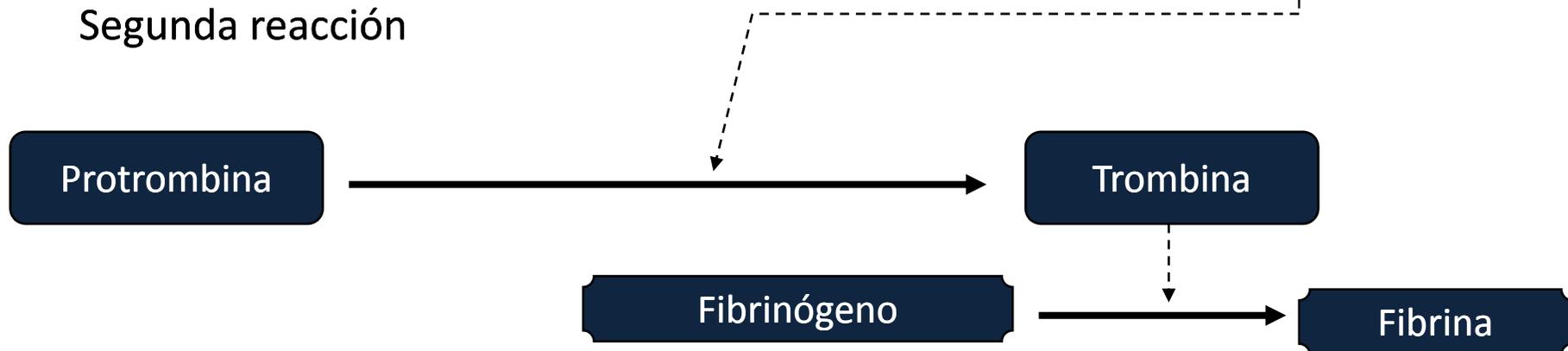
La **cantidad de FVIII existente en la muestra** es la que debe influir como **único factor** en el resultado final, cuando todos los demás factores se hallan en exceso.

# MÉTODO COAGULATIVO EN DOS ETAPAS

Primera reacción



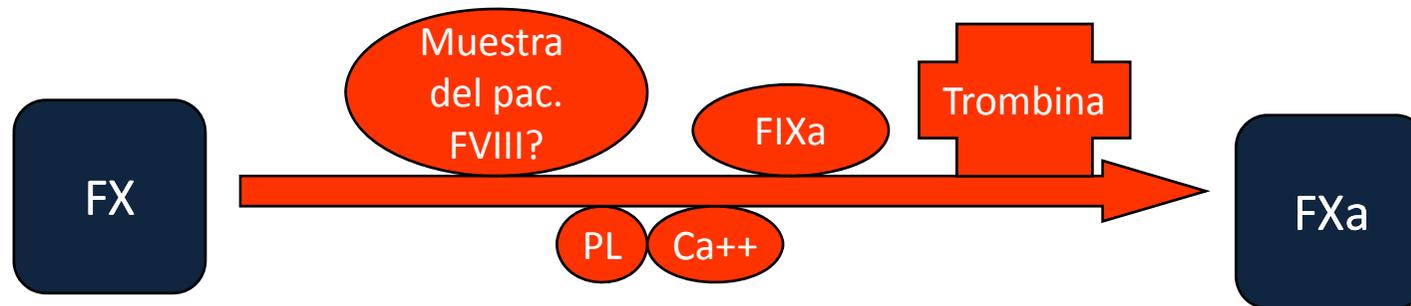
Segunda reacción



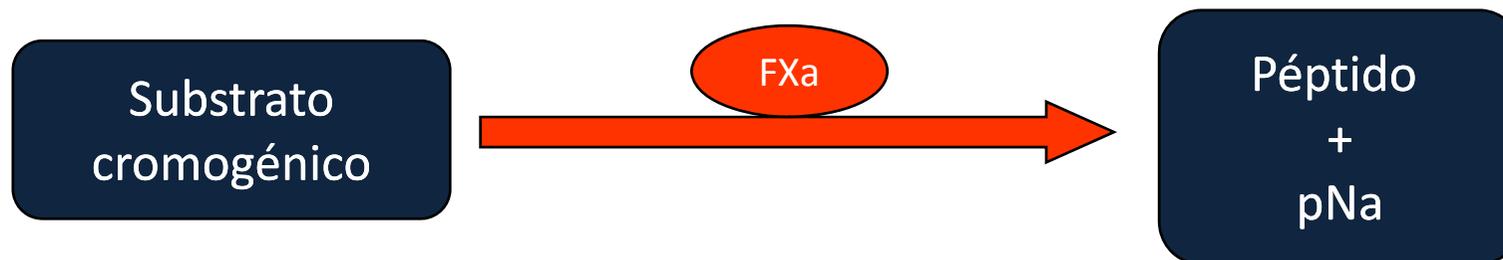
# MÉTODO CROMOGENICO

**1ª reacción:** activación del FX dependiente de FVIII

Muestra a estudio incubada con trombina, FIXa, FX, Ca<sup>++</sup> y PL

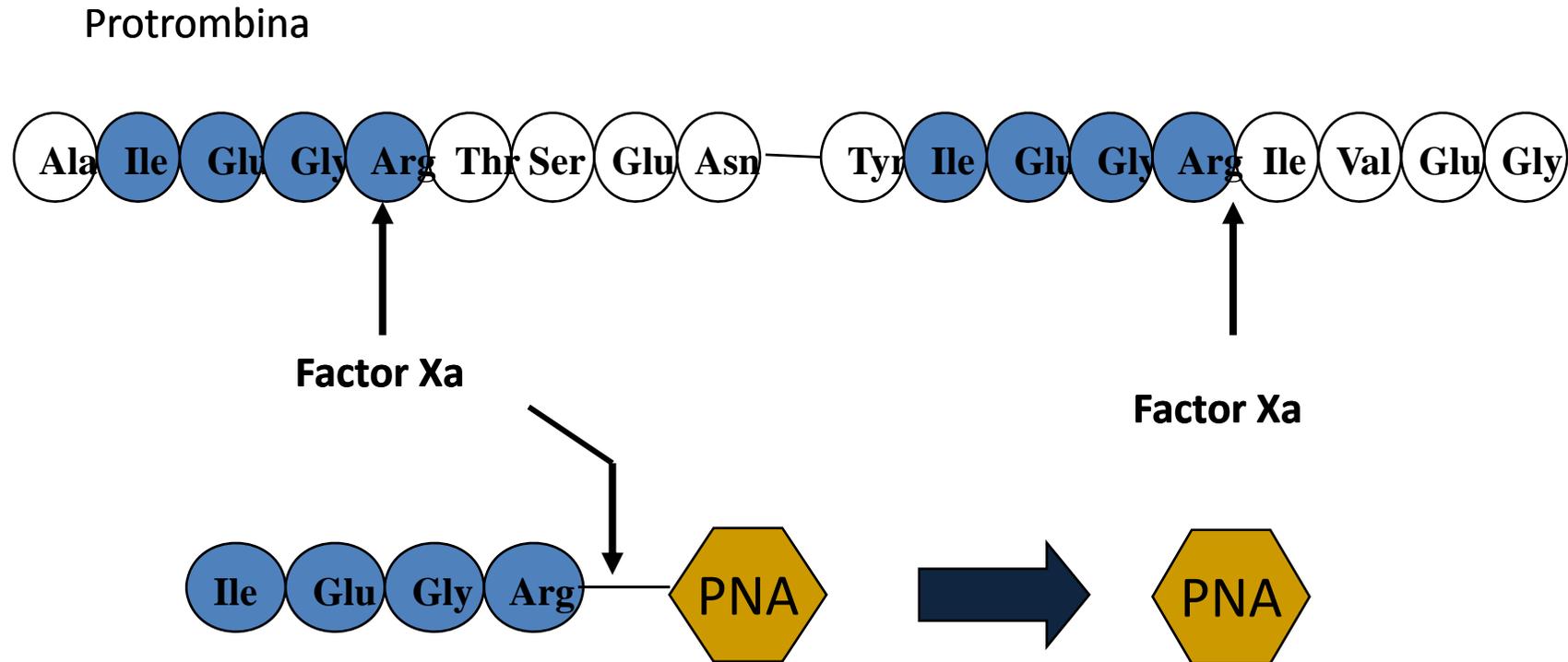


**2ª reacción:** mide la cantidad de FXa producido en la 1ª R



Hidrólisis de substrato cromogénico, liberación de color medido mediante espectrofotómetro a 405 nm

# MÉTODO CROMOGÉNICO



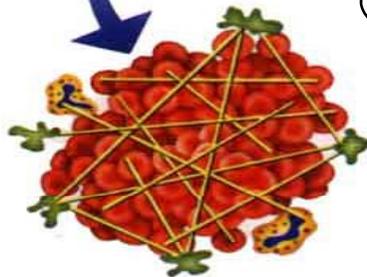
## SUBSTRATOS CROMOGÉNICOS

Péptidos **sintéticos** que reaccionan con enzimas proteolíticas conduciendo a la formación de color.

Afinidad a la acción del enzima similar al substrato natural.

## MÉTODO COAGULATIVO

Muestra FVIII?  
Plasma carente  
Activador  
PL, Ca<sup>2+</sup>

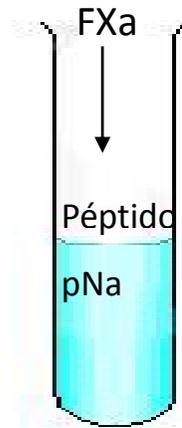


Fibrina

COAGULÓMETRO

## MÉTODO CROMOGENICO

Muestra FVIII?  
Trombina  
FIXa, FX  
PL, Ca<sup>2+</sup>



Liberación de color

ESPECTROFOTÓMETRO

# DIFERENCIAS ENTRE MÉTODOS

## MÉTODO COAGULATIVO

- Langdell, 1953
- Derivado TTPa
- Barato, sencillo y automatizable
- Formación suprafisiológica FIXa
- Preactivación del FVIII
- Importante variabilidad interlaboratorios.

## MÉTODO CROMOGENICO

- Rosén, 1984
- Sustratos cromogénicos
- Reactivos comerciales
- Fácilmente automatizable
- **Caro para pocas muestras**
- Exigido para la titulación de concentrados
- **MENOR VARIABILIDAD INTERLABORATORIO**

# DOSIFICACIÓN DE FVIII

## SITUACIÓN IDEAL

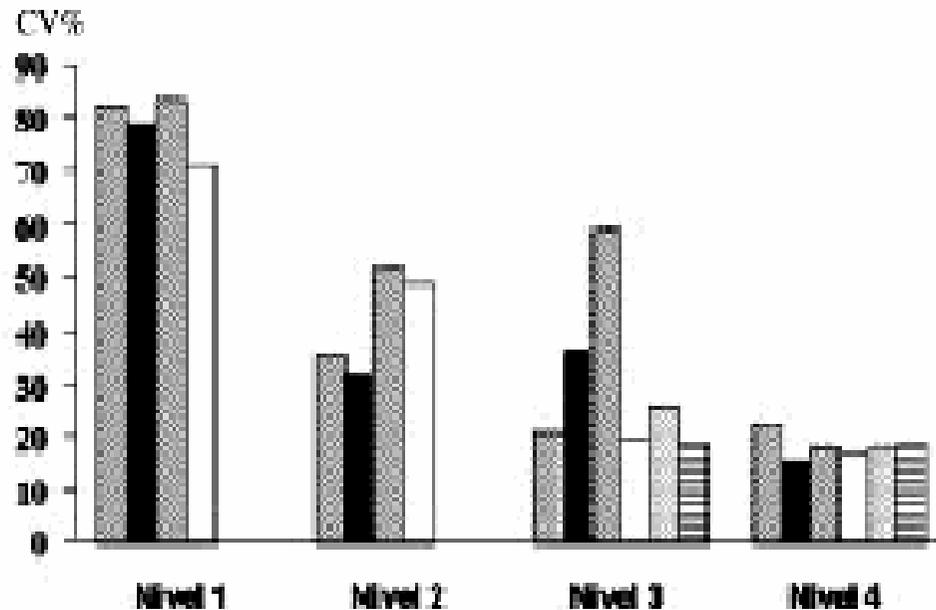
Que todos los métodos reflejen de modo exacto el **nivel real de FVIII:C**

## SITUACIÓN REAL

Existen discrepancias en los resultados **EN FUNCION DEL MÉTODO UTILIZADO**, tipo de FVIII a estudio, reactivos, plasma carente, estándar.

# DIAGNÓSTICO DE HEMOFILIA

FVIII <2%



CV tenían una relación inversa con el nivel de FVIII:C

Los resultados más aceptables eran del método cromogénico

# IMPORTANTES DIFERENCIAS ENTRE MÉTODO CROMOGÉNICO Y COAGULATIVO

*Blombäck M et al. On the unreliability of one-stage factor VIII:c clotting assay after infusion of factor. Scand J Clin Lab Invest. 1987;47(6):561-6*

*Aronson DL et al. The control and standardization of factor VIII. Scand J Haematol 1984; 33 (supl 40): 71-78*



**ESTANDARIZACIÓN**

# ¿QUÉ ES LA ESTANDARIZACIÓN DEL FVIII:C?

“Definir los mínimos procedimientos necesarios para obtener una concordancia en los resultados entre diferentes laboratorios y métodos, con especial énfasis en el uso de los estándares de referencia apropiados”

# PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA ESTANDARIZACIÓN BIOLÓGICA

## ✓ Principio “like versus like”

Elección de estándar apropiado en función de la muestra a analizar.

## ✓ Definición de estándares de referencia estables

- La definición universal de una unidad de FVIII por dl de plasma.
- Estándares internacionales estables de referencia.

## ✓ Igual determinación FVIII:c independiente del método usado

- Muy difícil de llevar a la práctica (plasma deficiente en FVIII, TTPa...).
- Discrepancias entre los diferentes métodos utilizados.

# ESTANDARIZACIÓN DE FVIII:C

Recomendaciones para muestras plasmáticas

**NO EXISTEN RECOMENDACIONES  
INTERNACIONALES**

Utilización de los estándares de la OMS

Recomendaciones para concentrados

**European Farmacopeia: método cromogénico**

**ISTH: método cromogénico**

# CALIBRACIÓN

## DADE BEHRING

**Standard Human Plasma/Plasma standard humain/Plasma umano standard/  
Plasma estándar humano/Plasma humano standard/Standard humanplasma/  
Πρότυπο πλάσμα βαθμονόμησης (ανθρώπινο)**

**Citrated plasma for coagulation tests/Citrat Plasma für Gerinnungsteste/Plasma citraté pour les tests de la coagulation/  
Plasma citratato per test coagulativi/Plasma citratado para ensayos de coagulación/Plasma citratado para testes de coagulação/  
Citratplasma til koagulationsanalyser/Citrerad plasma för koagulationstester/Κίτρικό πλάσμα για ηηκτικολογικές εξετάσεις**

**LOT 503210**

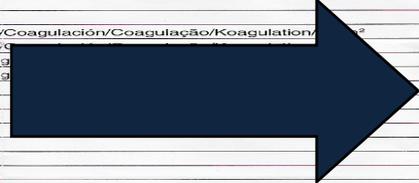
**Table of Analytical Values/Tabelle der Analysenwerte/Tableau des valeurs d'analyse/Tabella dei valori analitici/Tabla de valores del análisis/Tabla dos valores de análise/Tabell med analytiske værdier/Tabell med analytiska värden/Πίνακας αναλυτικών τιμών**  
Values for calibration/Werte zur Erstellung von Bezugskurven/Valores para l'établissement des courbes d'étalonnage/Valori per la preparazione delle curve di calibrazione/  
Valores para la elaboración de las curvas de referencia/Valores para estabelecimento de curvas de referência/Værdier til fremstilling af referencelukurver/Kalibreringsværdier/  
τιμές για βαθμονόμηση

Reagents/Reagenzien/Réactifs/Reagenti/Reactivos/ Reagentes/Reagens/Reagenter/Αντιδραστήρια	% of/der Norm/de la normale/della norma/del normal/ da norma/af Normalen/av Normalen/της φυσιολογικής τιμής	PT/TPZ/TQ/TP	PR
<b>Prothrombin time/Thromboplastinzeit/Temps de Quick/Tempo di protrombina/ Tiempo/Tempo de tromboplastina/Protrombintid/χρονο προθρομβίνης</b>	%		
Thromborel® S	95		1.06
Innovin®	85		1.11
<b>Fibrinogen determination/Fibrinogen-Bestimmung/dosage du fibrinogène/Fibrinogeno determinati/Determinación Fibrinógeno/fibrinógeno determinação/fibrinogenbestemmelse/fibrinogenbestämning/Προσδιορισμός ινωδογόνου</b>			g/L
Dade® Thrombin Reagent/Reagenz/Réactif/Reagenti/Reagens/Αντιδραστήριο except BCT/BCS®/BCS® XP <sup>1</sup>			2.4

**Special Parameters/Spezial Parameter/Paramètres spéciaux/Parámetro speciali/Parámetros especiales  
parámetros especiales/Specialle parametre/Särskilda parametrar/Ειδικές παράμετροι**

Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής II <sup>2</sup>			
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής VII <sup>2</sup>			
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής VIII: Clotting/Gerinnung/Coagulatione/Coagulación/Coagulação/Coagulation			
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής VIII: Clotting/Gerinnung/Coagulatione/Coagulación/Coagulação/Coagulation			
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής VIII: Chromogenic/Chromogène/Chromog			
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής VIII: Chromogenic/Chromogène/Chromog			
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής IX <sup>2</sup>			
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής XII <sup>2</sup>			

**FVIII:c cromogénico 100%**



**STANDARD  
OMS  
5th IS (02/150)**

Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής XIII <sup>2,3</sup>			
Antithrombin III/Antithrombine III/Antitrombina III/Antitrombin III/Αντιθρομβίνη III <sup>2</sup>			
α <sub>2</sub> -Antiplasmin/α <sub>2</sub> -antiplasmine/α <sub>2</sub> -antiplasmina/α <sub>2</sub> -Αντιπλάσμίνη <sup>2</sup>			
C1-Inhibitor/inhibiteur/inhibitor C1/inhibidor C1/Αναστολέας C1 <sup>2,3</sup>			
Plasminogen/Plasminogène/plasminogeno/Plasminógeno/Plasminogénico/Πλάσμινογόνο <sup>2</sup>			
Protein C/Protéine C/proteína C/proteína C/Πρωτεΐνη C <sup>2</sup>			
Protein S Ac/Protéine S Ac/Proteína S Ac/Proteína S Ac/Πρωτεΐνη S Ac <sup>2</sup>			
vWF:RCo BC von Willebrand Reagent/Reagenz/Réactif/Reagenti/Reagens/Αντιδραστήριο <sup>2</sup>			
vWF:Ag vWF Ag <sup>2,3</sup>			
Total Complement activity/Komplement-Gesamaktivität/Activité complément total/ activitat total del complemento/Actividad del complemento total/ Komplement totalaktivitet/Total komplementaktivitet/Ολική δραστηριότητα συμπληρώματος <sup>2,3</sup>			88
<b>Sensitivity values to/Sensitivitätswerte für/Valores de sensibilidad aux/Valori di sensibilità verso i/Valores de sensibilidade para os/Sensitivitetsværdier for/Sensitivitetsvärden för/Τιμές ευαισθησίας σε ProC Reagent/ProC-Reagenzien/ProC Réactifs/Reagenti ProC/ProC Reagens/Αντιδραστήρια ProC</b>			<b>PR</b>
ProC® Global <sup>1</sup>			0.85
ProC® Global FV <sup>1</sup>			0.96

<sup>1</sup> System independent values except for the systems named/Systemunabhängige Werte außer für die genannten Systeme/Valores indépendantes du système utilisé, sauf pour les systèmes indiqués/Valori indipendenti dai sistemi, ad eccezione dei sistemi citati/Valores independientes del sistema a excepción de los sistemas mencionados/Valores independientes do sistema, excepto para os sistemas mencionados/systemuafhængige værdier undtagen for de nævnte systemer/systemoberoende värden utom för de omnämnda systemen/Μη εξαρτούμενες από το σύστημα τιμές εκτός των συστημάτων που αναγράφονται

<sup>2</sup> Calibrated against/Kalibration gegen/anti calibration/Calibrato contro/Calibrado contra/calibrado com/Kalibreret mod/kalibrerad mot/Βαθμονομήθηκε έναντι WHO-Standard

<sup>3</sup> Calibrated against/Kalibration gegen/anti calibration/Calibrato contro/Calibrado contra/calibrado com/Kalibreret mod/kalibrerad mot/Βαθμονομήθηκε έναντι FNP (Fresh Normal Plasma pool)

\* Not available in the U.S./Nicht in den USA erhältlich/Non disponibile aux USA/Non disponibile negli USA/No se vende en USA/Não se encontra à venda nos EUA/ Ikke tilgjengelig i USA/Inte tillgänglig i USA/Δεν διατίθεται στις Η.Π.Α.

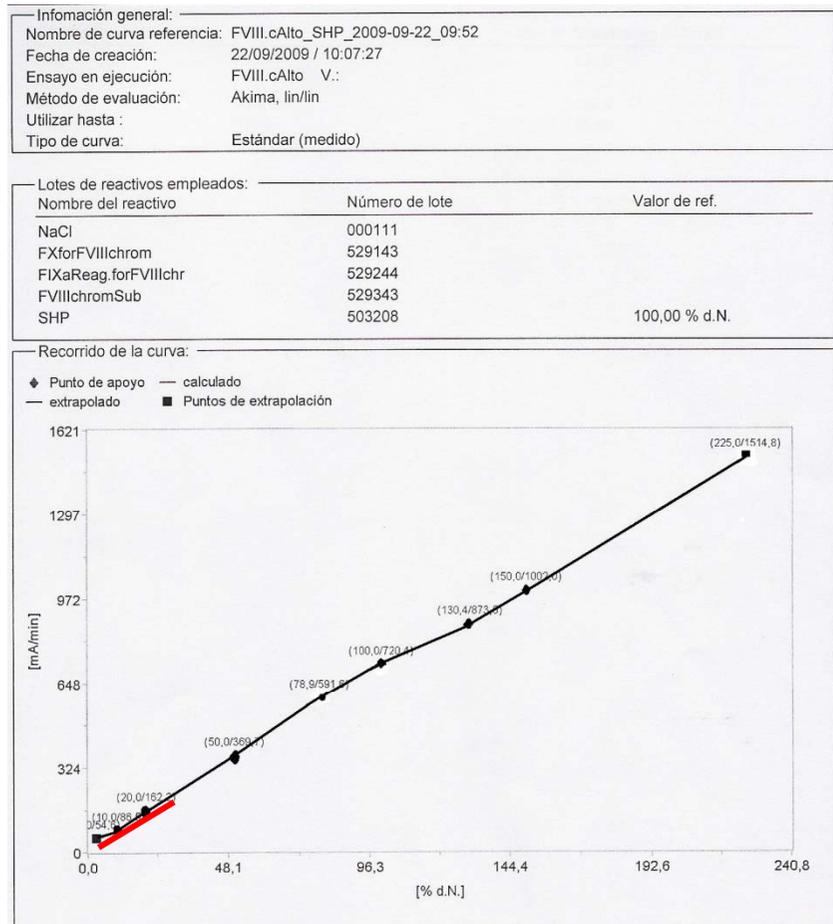
Dade Behring Marburg GmbH USA Distributor:  
Emil-von-Behring-Str. 76 Siemens Healthcare Diagnostics Inc.  
35091 Marburg/Germany Newark, DE 19714 U.S.A.  
© USA, EC  
www.siemens.com/diagnostics

Feb 2009 ORKL T13 E3145 ( 4612 )

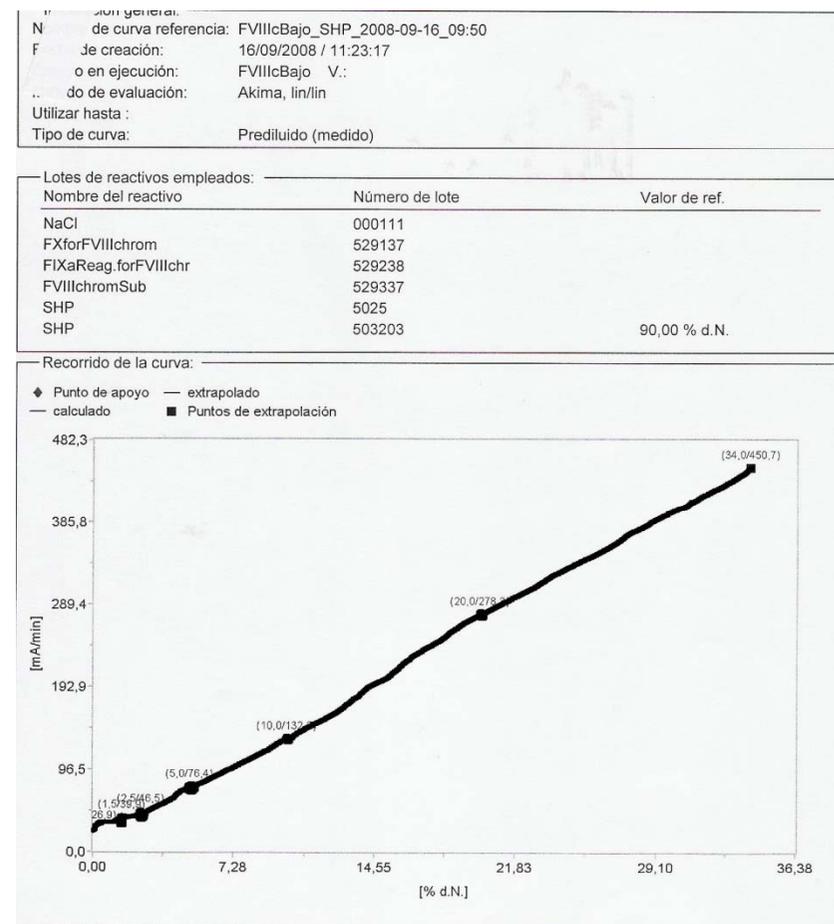


# CALIBRACIÓN

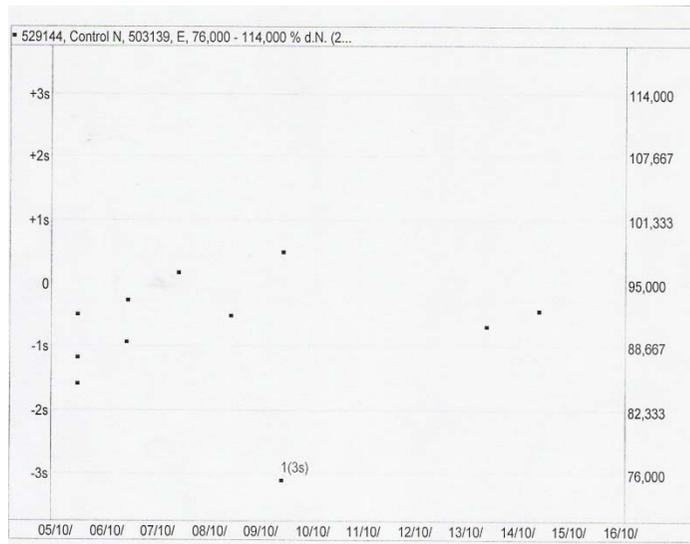
## FVIII:C alto



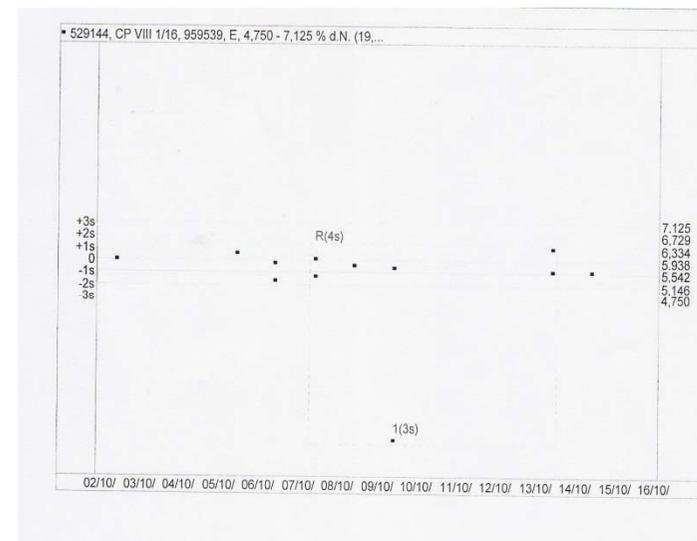
## FVIII:C bajo



# CONTROLES DE CALIDAD



**CONTROL NORMAL**



**CONTROL PATOLÓGICO BAJO**

# HISTORIA DE HEMOFILIA B

1378 DEC. 27, 1952

PARALYSIS OF EXTERNAL POPLITEAL NERVE

BRITISH  
MEDICAL JOURNAL

the patients are not clear, we would emphasize that in these the clinical picture and duration of the disability fall well within the limits of those whose aetiology is more certain.

## Treatment

With regard to treatment, we would make the following observations. Patients should be warned against crossing legs when sitting. There is no justification for the admission of these patients to hospital. A toe-raising spring overcomes the essential disability and even in heavy industry there is no need for the patient to remain off work. Massage, coloured lights, and other forms of passive physiotherapy, not to mention the administration of vitamin B<sub>1</sub>, play no part whatever in treatment. The patient should be instructed to carry out active movements of the affected muscles as often as possible when not wearing a spring, and, indeed, the spring itself is necessary only in the event of a severe paralysis of the tibialis anticus.

## Summary and Conclusions

Paralysis of the external popliteal nerve, excluding the results of gross trauma, is not uncommon.

Such paralysis generally (if not always) results from local nerve ischaemia, and simple mechanical factors can usually be found; these include kneeling, bandaging, crossing the legs while sitting, lying on a hard surface, and the wearing of knee-pads. Previous loss of weight

## CHRISTMAS DISEASE A CONDITION PREVIOUSLY MISTAKEN FOR HAEMOPHILIA

BY

**ROSEMARY BIGGS, M.D.**

**A. S. DOUGLAS, M.R.C.P.**

**R. G. MACFARLANE, M.D.**  
*Radcliffe Infirmary, Oxford*

**J. V. DACIE, M.D., M.R.C.P.**

**W. R. PITNEY, M.D., M.R.A.C.P.**  
*Postgraduate Medical School, London, W.12*

**C. MERSKEY, M.D., M.R.C.P.**  
*University of Capetown*

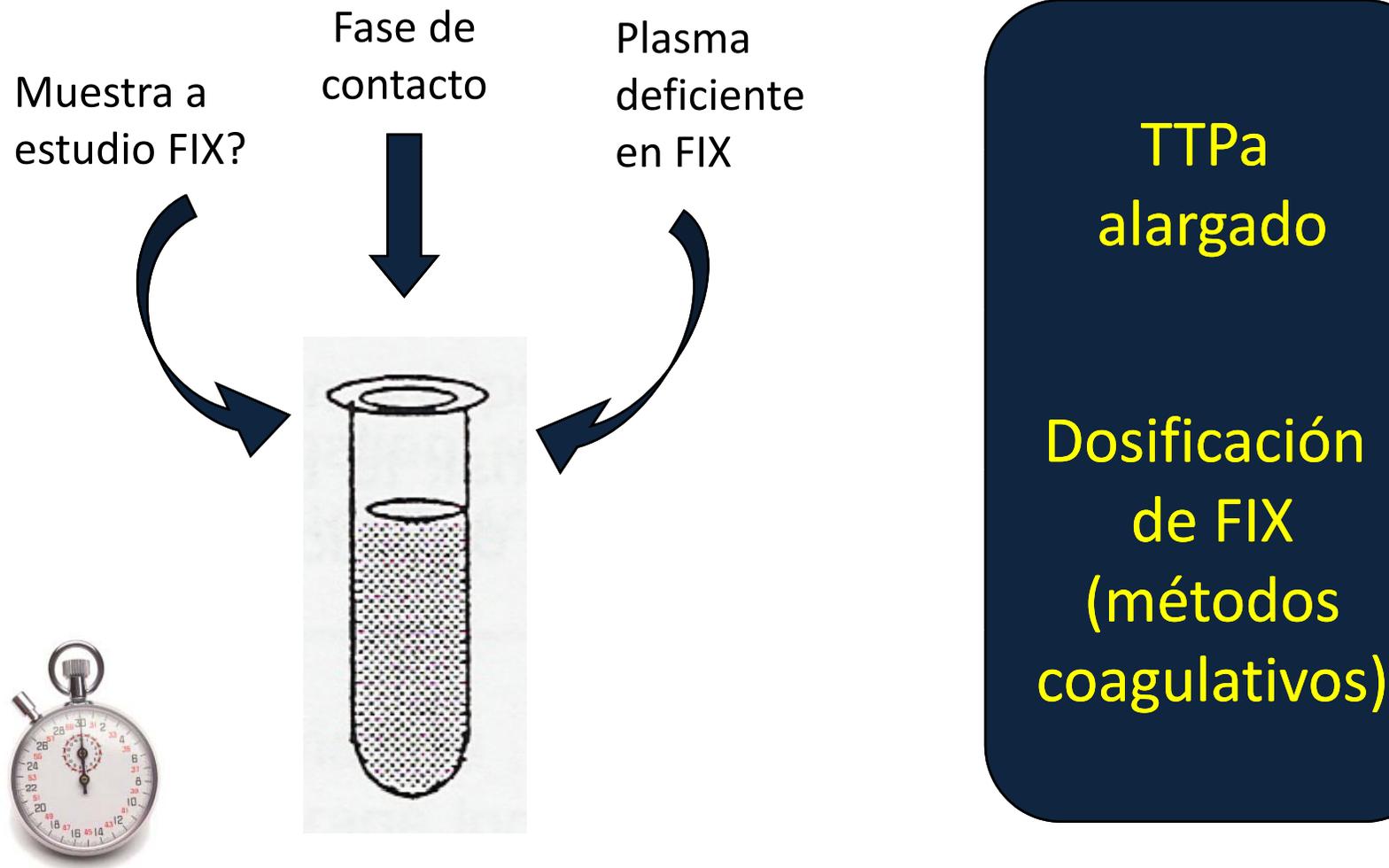
AND

**J. R. O'BRIEN, D.M.**

*South Devon and East Cornwall Hospital, Plymouth*

Haemophilia is a severe bleeding disease of males with a sex-linked recessive inheritance. Laboratory tests show a prolonged whole-blood clotting-time and deficient

# DIAGNÓSTICO DE HEMOFILIA B



# DETERMINACIÓN DE INHIBIDORES CONTRA EL FVIII Y FIX

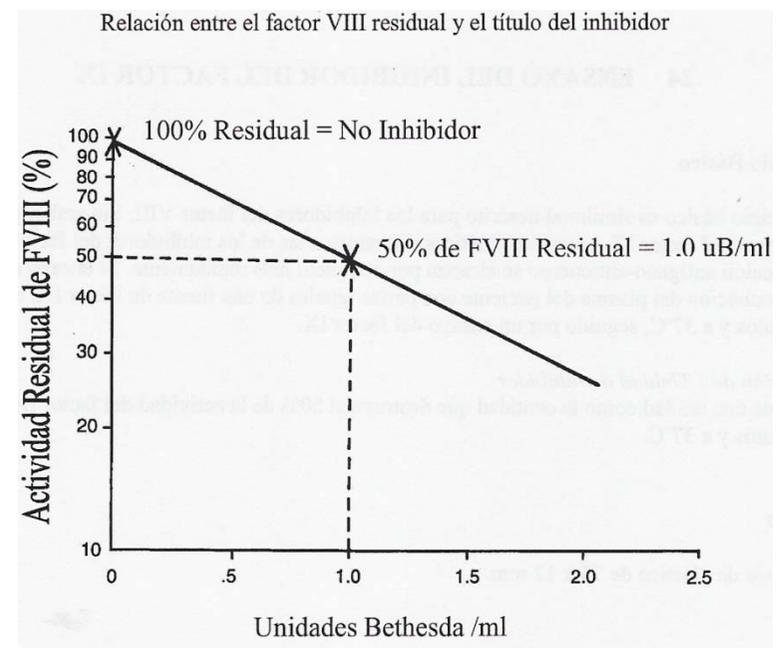
- Técnicas de detección: estudio de mezclas.
- Técnicas de cuantificación:

- ✓ **Método Bethesda:**

se incuban diluciones del plasma del paciente con plasma normal durante 2h a 37°C y se dosifica el FVIII ó FIX residual.

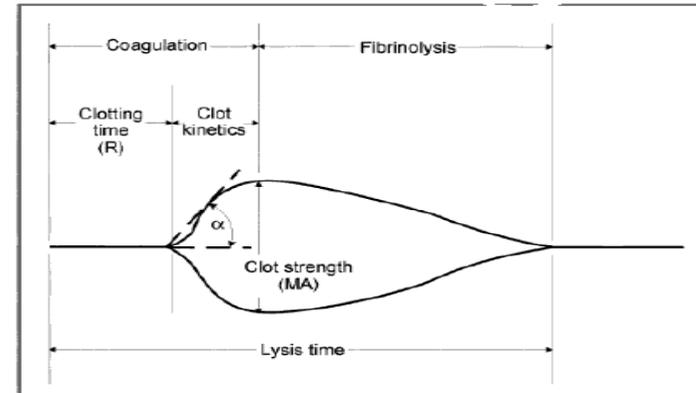
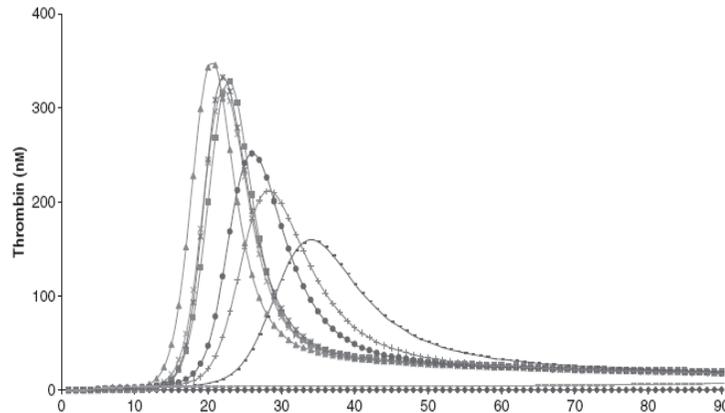
**1UB**  
cantidad de inhibidor  
que neutralizará el 50% de  
una unidad de FVIII añadido,  
durante 2h y a 37 °C

- ✓ Modificación de Nijmegen



# TEST GLOBALES DE LA HEMOSTASIA

## ¿¿¿FUTURO???



**1950 Macfarlane and Biggs:** con fibrinógeno.

**1980 Hemker et al:** sustrato fluorogénico.

**Actualmente se utiliza CAT:** con un software y calibrador adecuado para medir la actividad de trombina generada, la velocidad de reacción y el tiempo para generarlo.

**Van Veen JJ et al. "Thrombin generation testing in routine clinical practice: are we there yet?" Br J Haematol 2008;142 (6):889-903.**

**Thrombin Generation Assay Is Not Able to Predict Hemostatic Efficacy of by-Passing Agents in Patients with Hemophilia and Inhibitors: Results From in Vivo Studies. CO. ASH 2012**

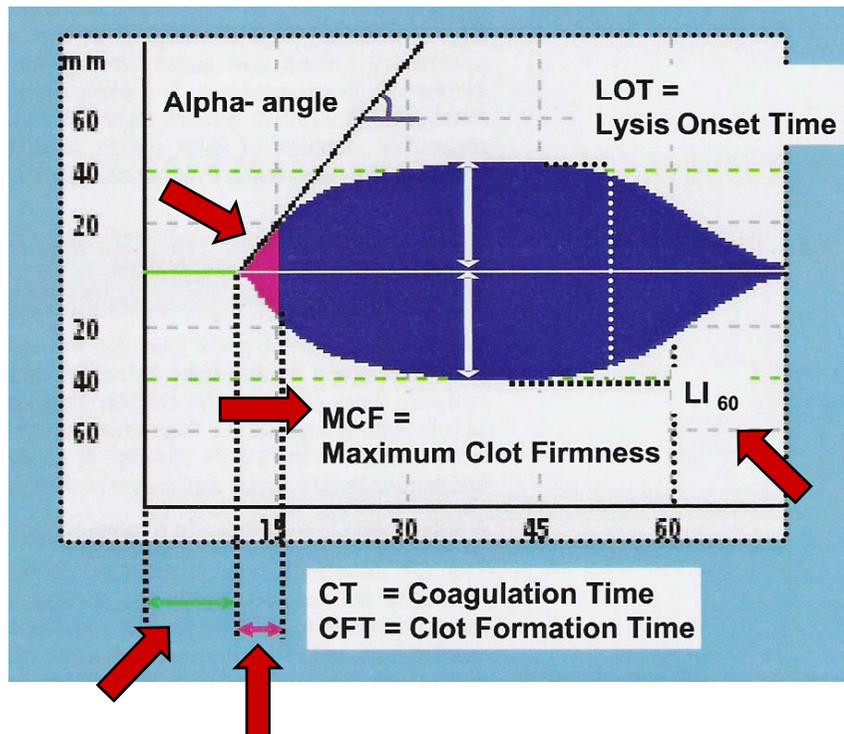
**Thromboelastography for Monitoring of Hemostatic Changes Following Factor Administration. PO 3373. ASH 2012**

**2002 Al Dieri R et al.**

**2003 Sorensen B et al:** describe la técnica empleando pequeñas cantidades de FT

# PARÁMETROS DE LA TROMBOELASTOGRAFÍA (ROTEM®)

Curva, parámetros de ROTEM®



CT

Coagulation time

CFT

Clot formation time

$\alpha$ -angle

Ángulo alfa

MCF

Maximum clot firmness

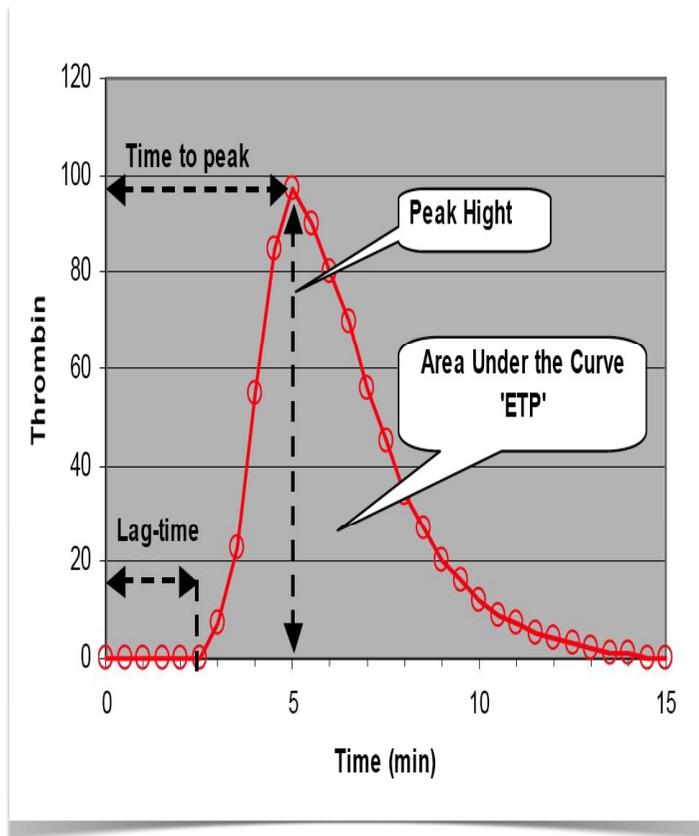
Ax

Amplitud at time X

LI30

Lysis index

# PARÁMETROS TGT: CAT



**Lag time:** tiempo de inicio de generación de trombina. Es equivalente al tiempo de formación del coágulo.

**Pendiente:** formación de trombina por unidad de tiempo.

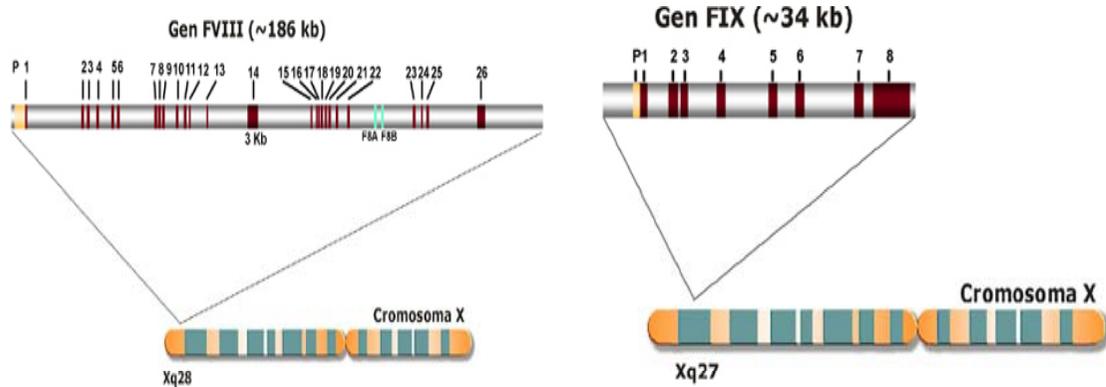
$$\text{Velocity Index (nM/s)} = \frac{\text{Peak thrombin}}{\text{TTP-lag time}}$$

**TTP (Time to peak):** Tiempo hasta el pico

**Peak thrombin (pico):** Máxima trombina formada

**AUC (area bajo la curva) = ETP (Endogenous thrombin potential):** cuantifica la acción que potencialmente puede ser realizada por la trombina: cuánta trombina y cuánto tiempo está activa

# ESTUDIOS GENÉTICOS



HEMOFILIA A GRAVE

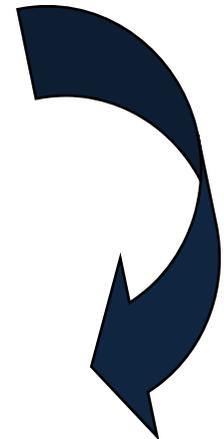


INVERSIÓN  
INTRÓN 22

HEMOFILIA A LEVE/MOD  
Y  
HEMOFILIA B



SECUENCIACIÓN



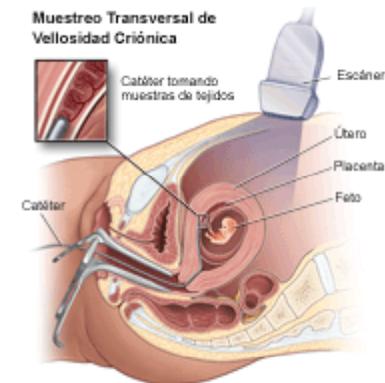
# GESTACIÓN Y ESTUDIO PRENATAL

...se define como “todas aquellas acciones realizadas antes del nacimiento que tengan como objeto el diagnóstico de un defecto congénito”



**1. Conocer sexo fetal en sangre materna**  
(analizando DNA fetal libre en la circulación materna mediante la presencia o ausencia de SRY loci)

**2. Biopsia de vellosidades coriales:** para obtener DNA fetal (11-14 semana)

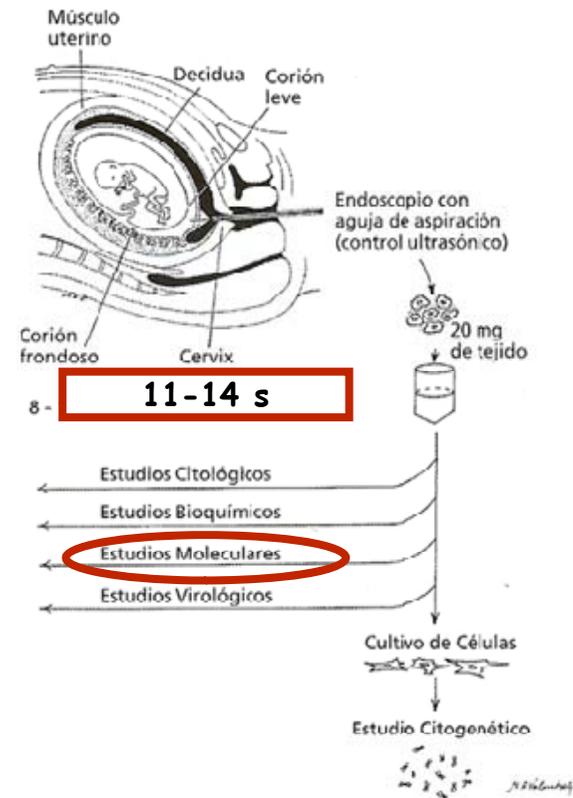


# BIOPSIA DE VELLOSIDAD CORIAL

- Se obtiene DNA fetal en el primer trimestre de embarazo (11-14 semana)

## ANTES DE REALIZAR LA PRUEBA:

1. CONOCER LAS TASAS DE FACTOR BASAL (si FVIII o FIX < 50%: profilaxis con factor recombinante)
  2. CONOCIMIENTO CON ANTELACIÓN DE LA MUTACIÓN FAMILIAR
- Una vez obtenido el DNA, se determina el sexo (si es varón se continúa el estudio)
  - Riesgo de aborto: 1%



Principales fases de la técnica de la biopsia coriónica y algunas de sus aplicaciones.

# ENFERMEDAD VON WILLEBRAND



Erik von Willebrand  
1926

FINSKA LÄKARESÄLLSKAPETS  
HANDLINGAR  
REDOGERADE AV  
PROF. RICHARD SIEVERS  
BAND LXVIII

1926 FEBRUARI 1926

INNEHÅLL:

Originalartiklar.

E. A. v. Willebrand, Hereditär pseudohefili. (Från Diakonstjukskhusets i Helsingfors medicinska avdelning. Docent E. A. v. Willebrand.) (Med 3 figurer i texten) ..... 87

T. W. Tallqvist, Öförlis och njurar. (Från II Kirurgiska Åskolan i Helsingfors, prof. E. Faltin, och Wiborgs Hnssjukhus, prof. P. W. Granberg.) (Med 3 figurer i texten) ..... 150

Deutsche Referate.

Översikter.

Arthur Clowatt, Terapeutiska utvärn. .... 142

Smärre meddelanden och referat.

Ester Gustavson, Löw's metod för bedömandet av de röda blodkropparnas storlek. (Från II Medicinska Åskolan i Helsingfors.) (Med 3 figurer i texten) ..... 152

Gaston Parturier, Stenologi biliaire. (Ref. av Jari Hagelstam) ..... 157

Knud Faber, Tuberkulosen i Danmark. (Ref. av R. Sievers) ..... 164

Litteraturanmärkingar.

O. Schauman f och F. Saltman, Die peritonale Anämie. (Ref. av Oskar Mustelin) ..... 171

Arnold Jørgensen, Vad betyder indudningsorganen för vår kropp och sjuk? (Ref. av M. Savall) ..... 173

Forts. 2 sidor.

HELSINGFORS 1926  
MERCATORS TRYCKERI AKTIEBOLAG

FINSKA LÄKARESÄLLSKAPETS HANDLINGAR. BAND LXVIII. NO 2.

ORIGINALARTIKLAR.

(Från Diakonstjukskhusets i Helsingfors medicinska avdelning. Docent E. A. v. Willebrand.)

**Hereditär pseudohefili.**

Av  
**E. A. v. Willebrand.**  
(Med 3 figurer i texten.)

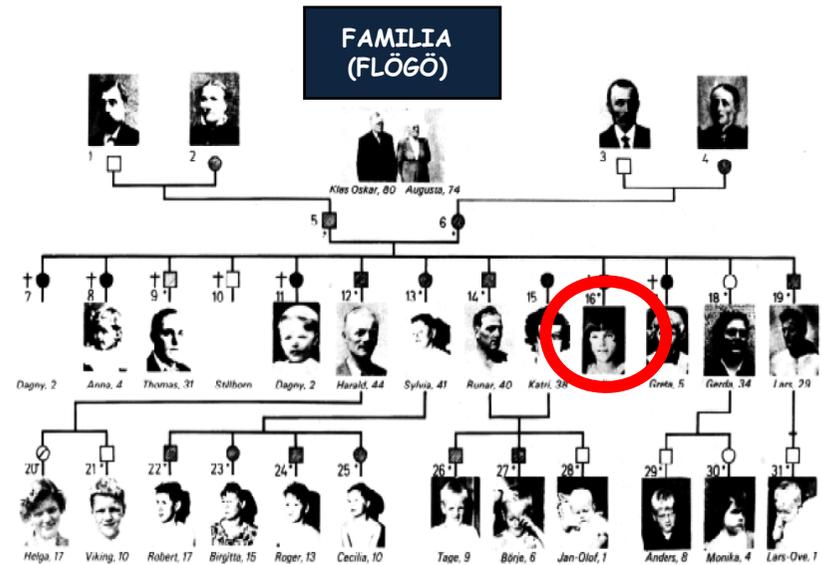
I. Sjukdomsbegrepp. Tidigare observerade fall.

I sitt nya stora arbete över de hemorragiska diateserna framhåller E. FRANK (Breslau), att den klassiska hemofili är en så exkvisit hereditär—familjär anomali, att det kan ifrågasättas, huruvida över huvud sporadiska fall av sjukdomen existera. Däremot är, säger han, den klassiska trombopenin så utpräglad sporadisk, att man kan diskutera, om en familjär form av densamma alls förekommer. Med trombopeni avses här den sjukdom, som sedan gammalt bär namnet morbus maculosus WERLHOFF eller purpura haemorrhagica och som på senaste tid av FRANK och en del andra forskare betecknats såsom essentiell trombopeni.

Hittills har man velat betrakta ärftlig blödaresjukdom och hemofili såsom synonyma begrepp. Men om man genomgår hithörande litteratur, skall man finna, om uck i ett fåtal fall, beskrifningar över en familjär form av hemorragisk diates, som redan därigenom skiljer sig från äkta hemofili att den även förekommer bland kvinnor och, såsom det tyckes, t. o. m. oftare än bland män. Men även i andra avseenden kan man draga en skarp gräns mellan ifrågavarande familjära lidande och hemofili. Däröfver mera längre fram i kap. 6 om diagnosen.

*Plats: Helsingfors. Handlingar 1926.*

# HISTORIA DE LA EVW



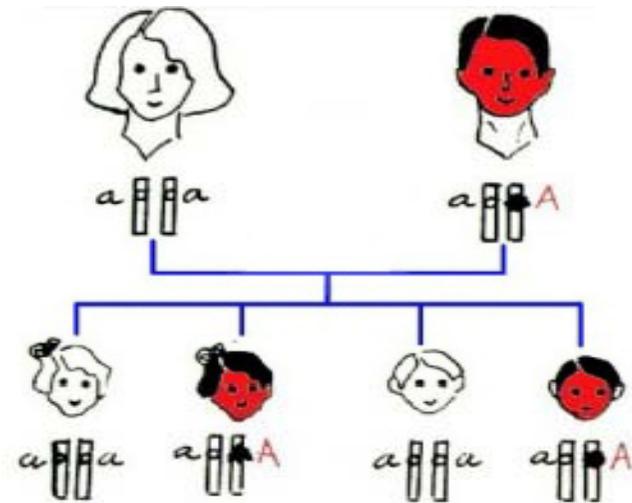
“Enfermedad hemorrágica hereditaria que afectaba por igual a hombres y mujeres y que no comprometía las articulaciones ni los músculos. En un principio se llamó PSEUDO-HEMOFILIA”.

# DEFINICIÓN

Es una coagulopatía causada por trastornos cualitativos o cuantitativos de la molécula von Willebrand.

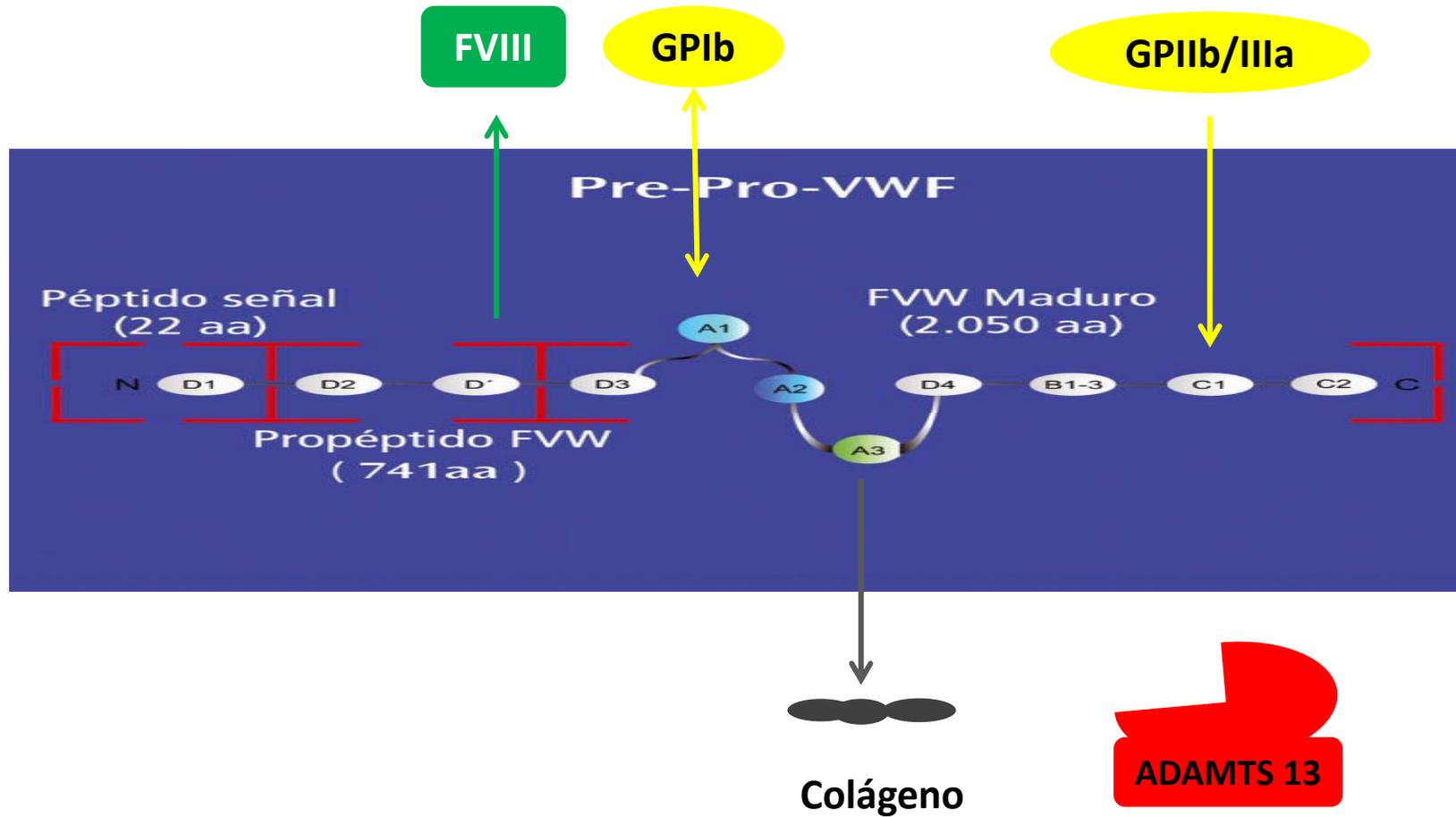
Generalmente es congénito.  
La mayoría de las veces es **AD**  
y en algún caso es AR.

Incidencia de 2-3% de la población. Es  
la coagulopatía congénita más  
frecuente

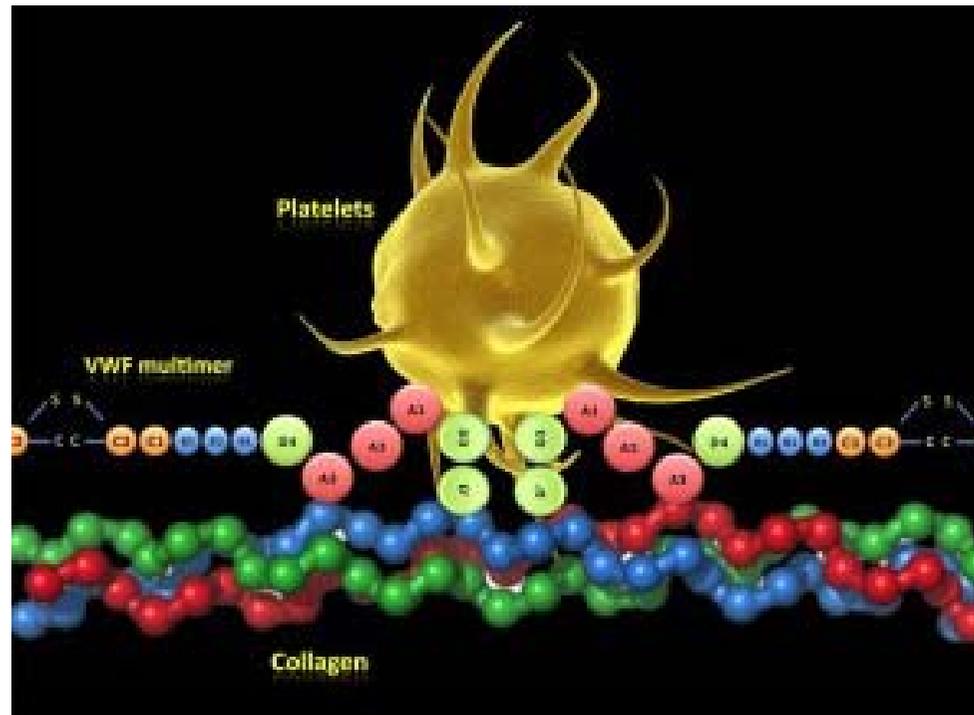


Autosómica  
dominante

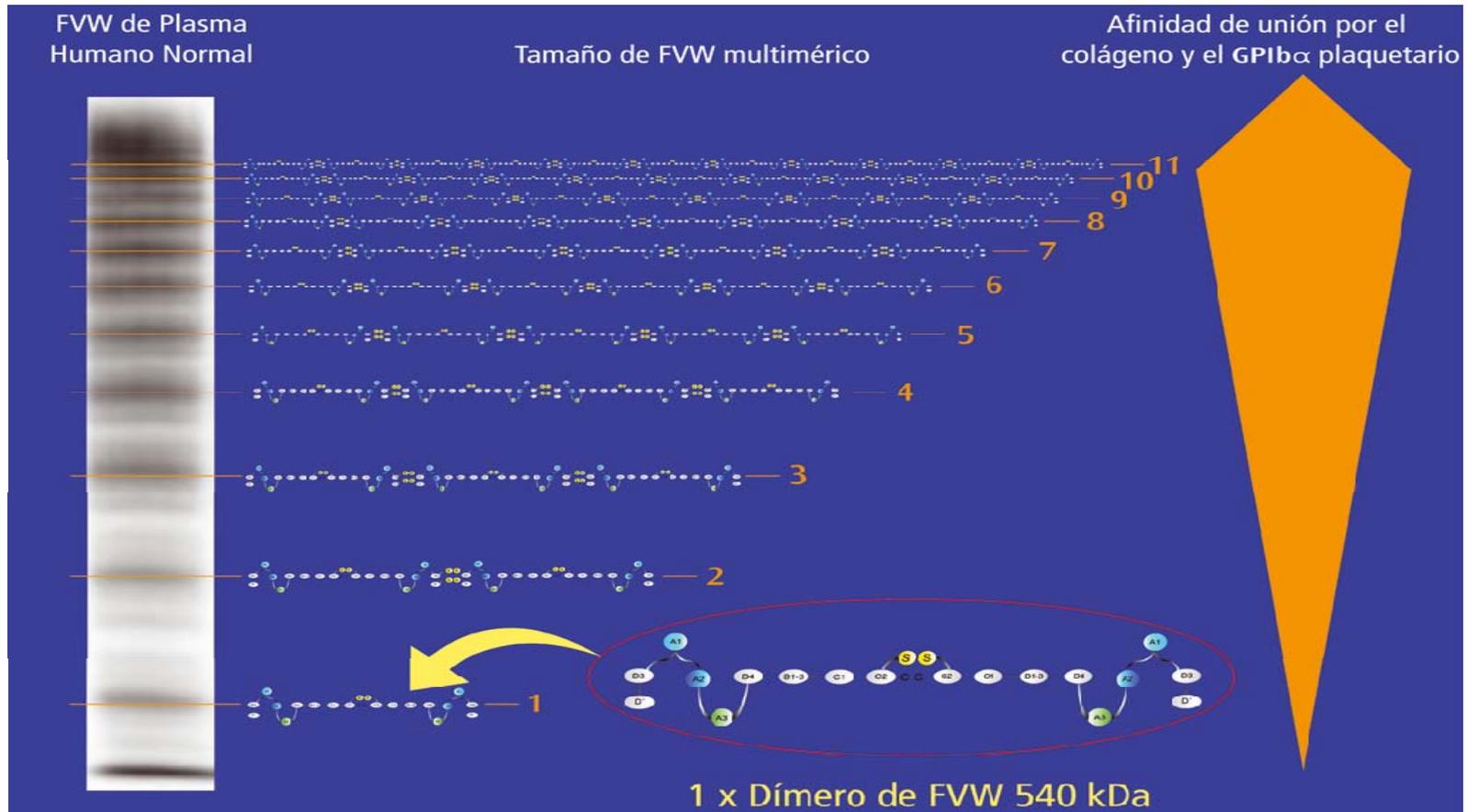
# MOLÉCULA VON WILLEBRAND



# INTERACCIONES DE FVW



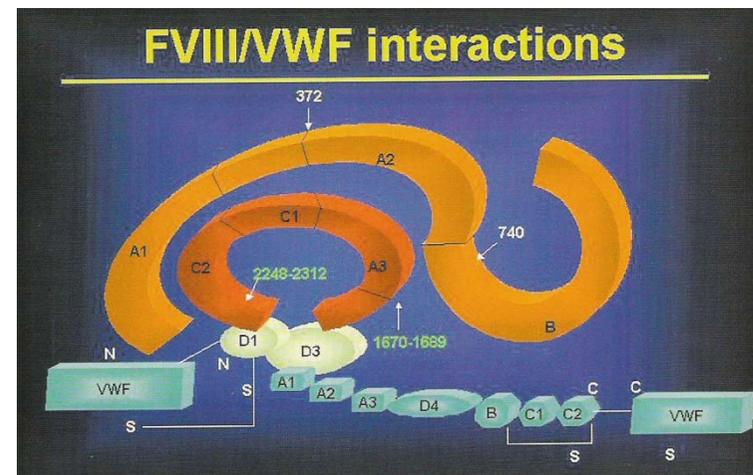
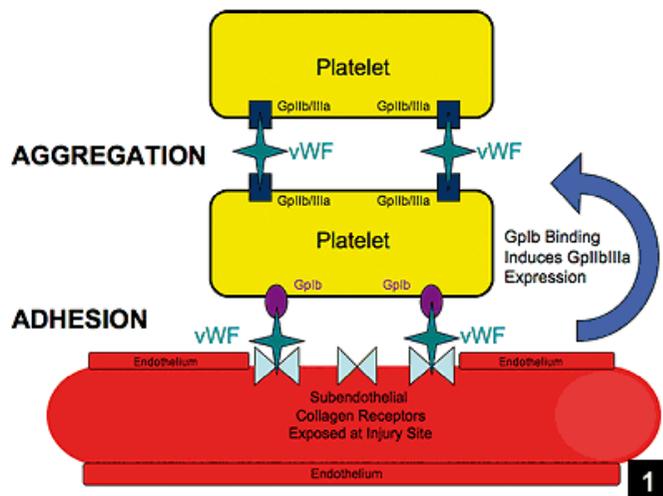
# MULTÍMEROS VON WILLEBRAND



# FUNCIONES DE LA MOLÉCULA VON WILLEBRAND

**Hemostasia primaria:**  
adhesión y agregación plaquetaria

**Hemostasia secundaria:**  
transporta el FVIII:c en el plasma



# CLASIFICACIÓN

## DÉFICIT **CUANTITATIVO** DE FVW

- **Tipo 1:** Déficit parcial de FVW
- **Tipo 3:** Déficit completo de FVW

## DÉFICIT **CUALITATIVO** DE FVW

- **Tipo 2:** Déficit cualitativo de FVW
- **Tipo 2A:** Disminución de la función del FVW plaquetar dependiente, con ausencia de multímeros de alto peso molecular
- **Tipo 2B:** Aumento de la afinidad del FVW por la GPIb plaquetar
- **Tipo 2M:** Disminución de la función del FVW plaquetar dependiente, con presencia de multímeros de mayor tamaño
- **Tipo 2N:** Disminución de la afinidad del FVW por el FVIII

# DIAGNÓSTICO

Historia clínica  
de sangrado

Antecedentes  
familiares

Pruebas de  
laboratorio

Historia clínica  
de sangrado

**SANGRADO  
MUCOCUTÁNEO  
SIGNIFICATIVO**

- ✓ Dos síntomas en ausencia de transfusión.
- ✓ Un síntoma que haya precisado transfusión.
- ✓ Un síntoma recurrente en al menos tres ocasiones.

*International Society of Thrombosis and Hemostasis  
(ISTH) Scientific Subcommitte on VWF*

# DIAGNÓSTICO

**Table 1. Significant mucocutaneous bleeding symptoms**

---

Nose bleeding: $\geq 2$ episodes without a history of trauma not stopped by short compression of $< 10$ min or $\geq 1$ episode requiring blood transfusion
Prolonged bleeding from trivial wounds lasting $\geq 15$ min or recurring spontaneously during the 7 d after wounding
Cutaneous hemorrhage and bruisability with minimal or no apparent trauma as a presenting symptom or requiring medical treatment
Oral cavity bleeding that requires medical attention, such as gingival bleeding or bleeding with tooth eruption or bites to lips and tongue
Spontaneous gastrointestinal bleeding requiring medical attention or resulting in acute or chronic anemia unexplained by ulceration or portal hypertension
Heavy, prolonged, or recurrent bleeding after tooth extraction or other oral surgery such as tonsillectomy and adenoidectomy requiring medical attention
Menorrhagia resulting in acute or chronic anemia or requiring medical treatment not associated with structural lesions of the uterus
Bleeding from other skin or mucous membrane surfaces requiring medical treatment (eg, eye, ear, respiratory tract, or genitourinary tract other than uterus)

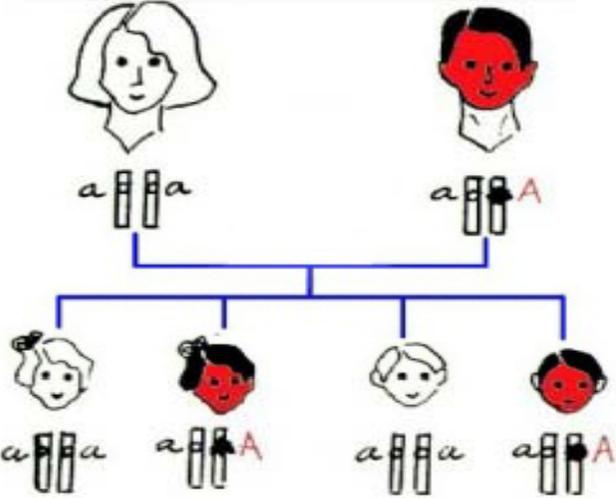
---

Symptoms listed in the table were developed by the ISTH VWF SSC.

Antecedentes familiares

# DIAGNÓSTICO

- ✓ Al menos un familiar de primer grado.
- ✓ Dos de segundo grado más H<sup>a</sup> de sangrado mucocutáneo.



*International Society of Thrombosis and Hemostasis (ISTH) scientific Subcommitte on VWF*

# TEST DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE EvW

Table 46.2 Tests for the laboratory diagnosis of von Willebrand disease.

## Screening tests

- Bleeding time
- Closure time (PFA-100)
- Platelet count
- Activated partial thromboplastin time

## Specific tests

- VWF antigen
- VWF ristocetin cofactor activity
- VWF collagen-binding capacity
- VWF multimer analysis
- Factor VIII assay
- VWF factor VIII-binding capacity

## Discriminating tests

- Ristocetin-induced platelet aggregation
- Platelet VWF
- Plasma VWF binding to platelets
- VWF proteolysis
- Propeptide assay
- Antibodies to VWF
- DNA analysis

# 1.-TEST DE SCREENING

**T. DE OBTURACIÓN:**

**Alargado** (sensibilidad de un 90%)

**CONTAJE DE PLAQUETAS:**

**Normal** excepto en el 2b

**TTPa:**

**Alargado** (muy prolongado en el tipo 3 y en el 2N)



## 2.-TEST ESPECÍFICOS

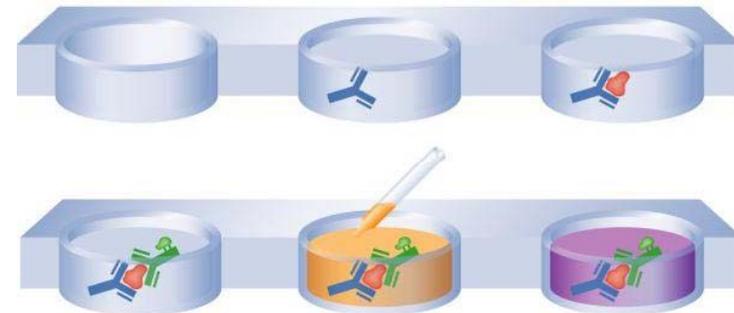
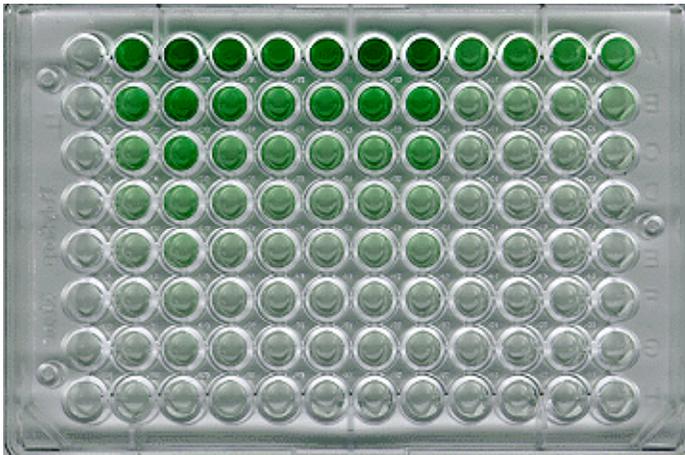
- Determinación de antígeno von Willebrand (**FVW:Ag**)
- Actividad del factor von Willebrand, cofactor de la ristocetina (**FVW:RCo**)
- Capacidad de FVW de unirse al colágeno (FVW:CB)
- Patrón multimérico
- Dosificación de **FVIII**
- Capacidad del FVW de unirse al FVIII

# DETERMINACIÓN DE ANTÍGENO VON WILLEBRAND (FVW:Ag)

Cuantifica el nivel total de la proteína von Willebrand

Método de electroinmunodifusión (Laurell)

**Técnicas de ELISA: técnicas más utilizada.**



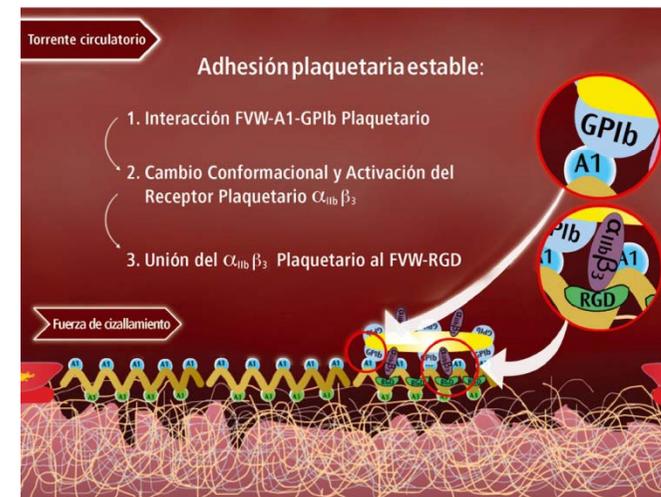
# ACTIVIDAD DEL COFACTOR DE LA RISTOCETINA (FVW:RCo)

Mide indirectamente **LA AFINIDAD DEL FVW POR LA GPIB.**

FVW:RCo continua siendo el gold standard para medir la actividad del FVW.

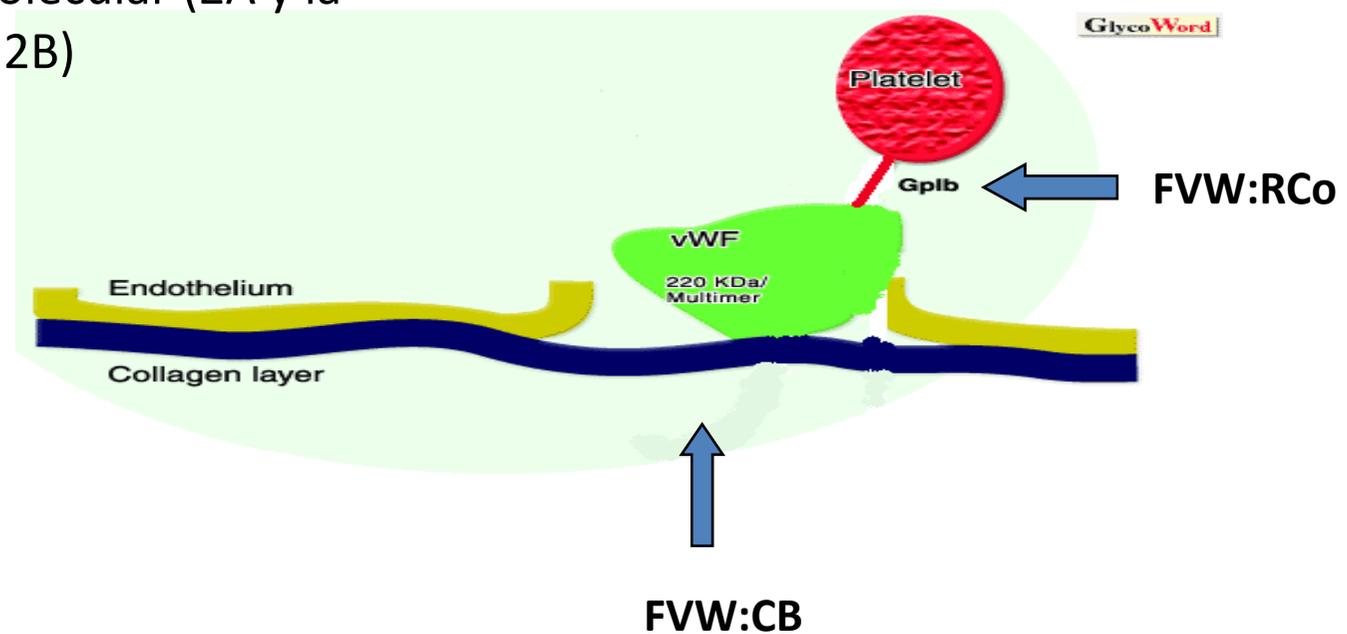
En nuestro laboratorio **se realiza mediante ELISA** con Ac. monoclonales IgG que reconocen un epítipo funcional de FVW.

Importante el ratio **FVW:RCo/FVW:Ag** para **filiar el subtipo de EVW.**

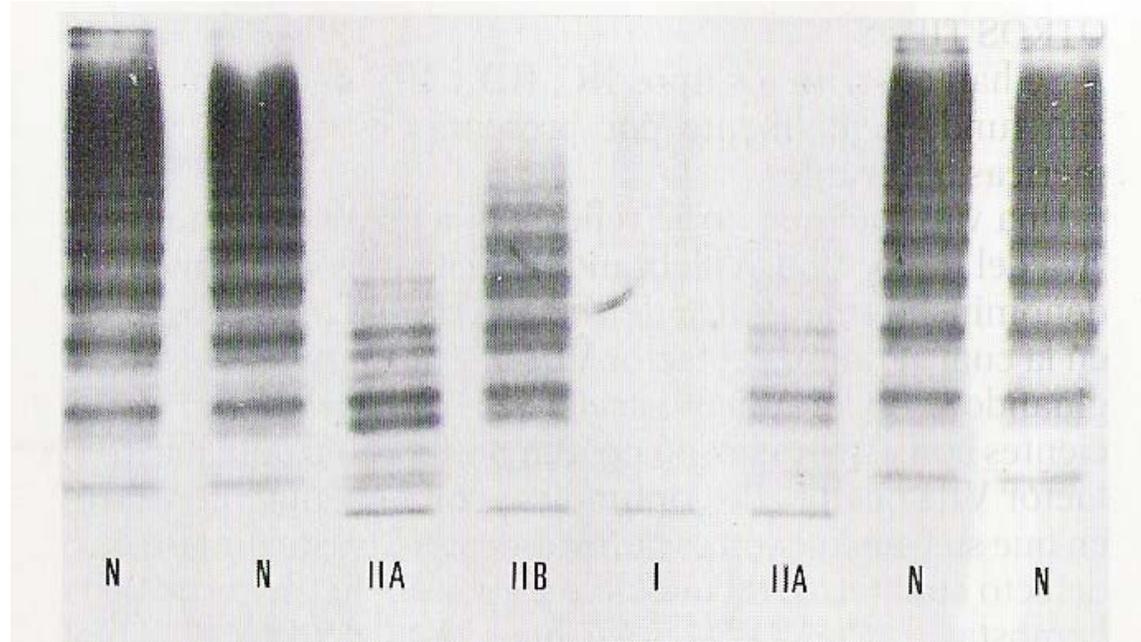


# CAPACIDAD DE FvW DE UNIRSE AL COLÁGENO (FvW:CB)

Muy útil en los subtipos en los que han perdido los multímeros de alto peso molecular (2A y la mayoría de los 2B)



# PATRÓN MULTIMÉRICO

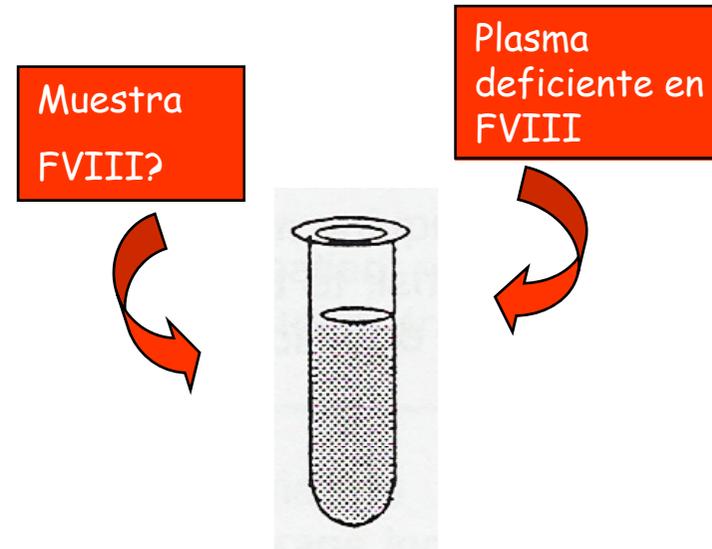


Es útil para establecer tipos y subtipos de EVW

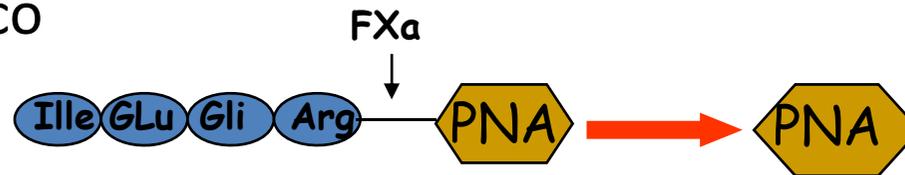
Es una técnica compleja y difícil de estandarizar

# DOSIFICACIÓN DE FVIII

- Método coagulativo



- Método cromogénico



Los niveles de FVIII:C y los FVW:Ag van paralelos excepto en el tipo2N (FVIII:C/FVW:Ag <0.5)

# CAPACIDAD DEL FVW DE UNIRSE AL FVIII

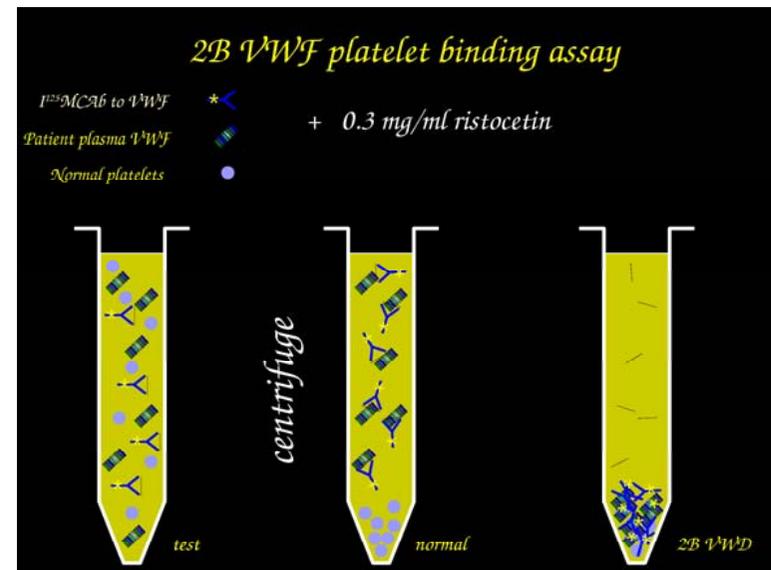
- ✓ **Mide la afinidad del FVW del plasma por el FVIII.**
- ✓ Se determina aislando el FVW del paciente por inmunoadsorción y enfrentándolo a FVIII exógeno purificado. Esta unión se evidencia por método cromogénico o mediante ELISA.
- ✓ **SE RECOMIENDA REALIZAR CUANDO EL RATIO **FVIII:C/FVW:Ag** <0.5, para DIFERENCIAR LA EvW tipo 2N de HEMOFILIA MODERADA**

# 3.-TEST DISCRIMINATIVOS

- Aglutinación plaquetaria inducida por ristocetina
- Contenido plaquetario de FVW
- FVW plasmático unido a plaquetas
- Estudio de proteólisis de FVW
- Determinación del propéptido
- Anticuerpos contra Factor Von Willebrand
- Análisis del DNA

# AGLUTINACIÓN PLAQUETARIA INDUCIDA POR RISTOCETINA (RIPA)

- ✓ Depende de la concentración de ristocetina y de la afinidad de FVW por la GPIb.
- ✓ **SU MAYOR UTILIDAD ES EL DIAGNÓSTICO DEL SUBTIPO 2B**, donde la agregación plaquetaria ocurre a bajas concentraciones de ristocetina (<0.6 mg/ml), indicando el aumento de la afinidad del FVW por GPIb.



# **OTRAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS**

## **FACTOR VON WILLEBRAND PLAQUETARIO**

Determinación de FVW:Ag; FVW:RCo así como el patrón multimérico en plaquetas lisadas.

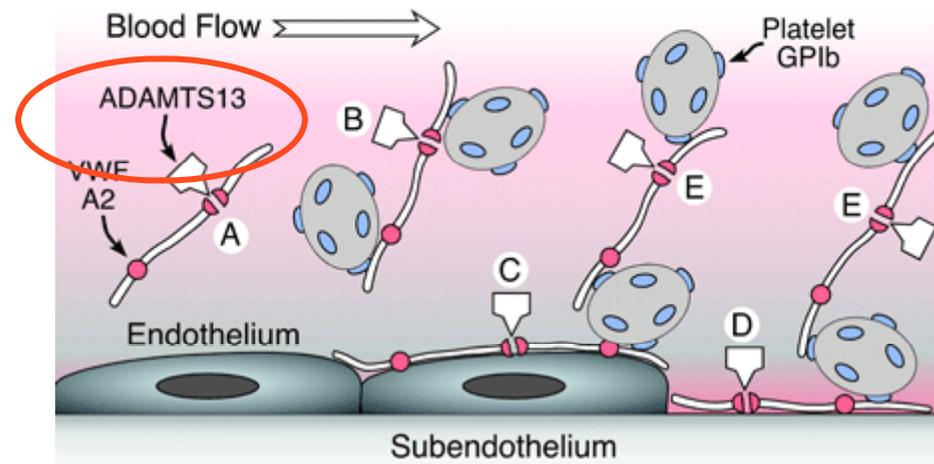
## **FACTOR VON WILLEBRAND PLASMÁTICO UNIDO A PLAQUETAS**

Nos permite diferenciar el tipo 2B (aumento de la afinidad del FVW plasmático por plaquetas normales) del PSEUDOVONWILLEBRAND (incremento de la afinidad de la GPIb de las plaquetas del paciente por el FVW normal)

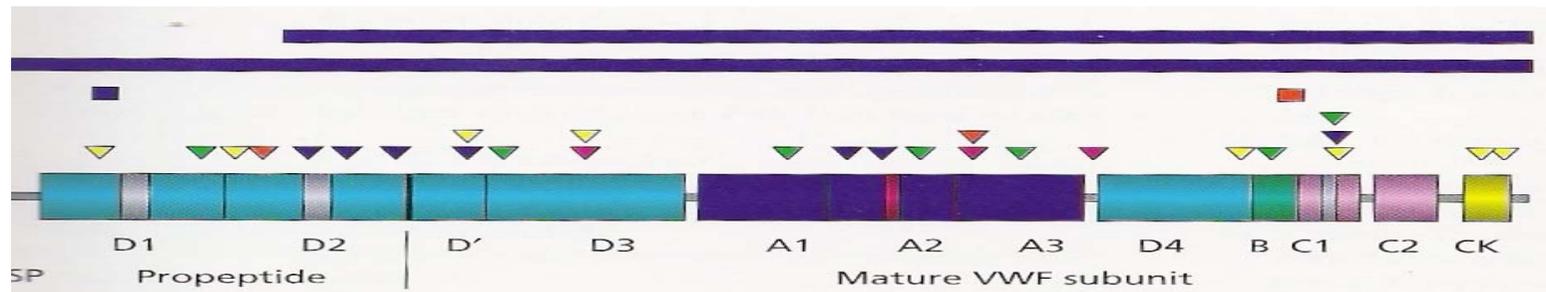
# OTRAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

## ESTUDIO DE PROTEOLISIS DEL FVW

Se mide la susceptibilidad de FVW a la metaloproteasa que regula su tamaño que es el ADAMTS13



# OTRAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS



**DETERMINACIÓN INMUNE DEL PROPÉPTIDO (FVWpp)**, el cociente FVW:Ag:FVWpp debe ser 1:1 si es mayor sugiere un aclaramiento acelerado bien por tipo 1C ó EVW adquirida.

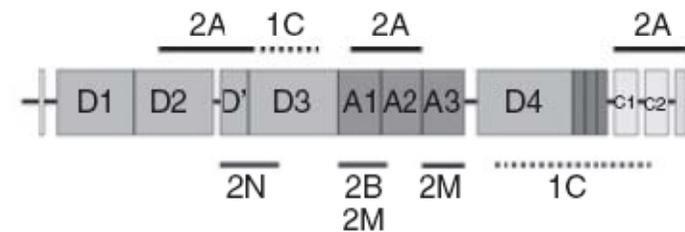
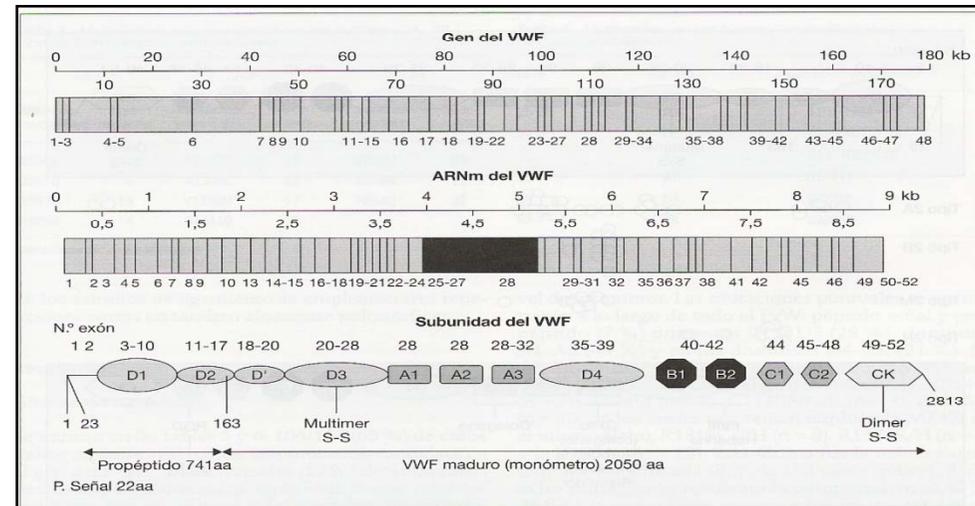
**ANTICUERPOS ANTI-FVW:** se detectan:

- ✓ Aloanticuerpos en EVW tipo 3 (7 - 10%)
- ✓ Autoanticuerpos en EVW ADQUIRIDO

# OTRAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

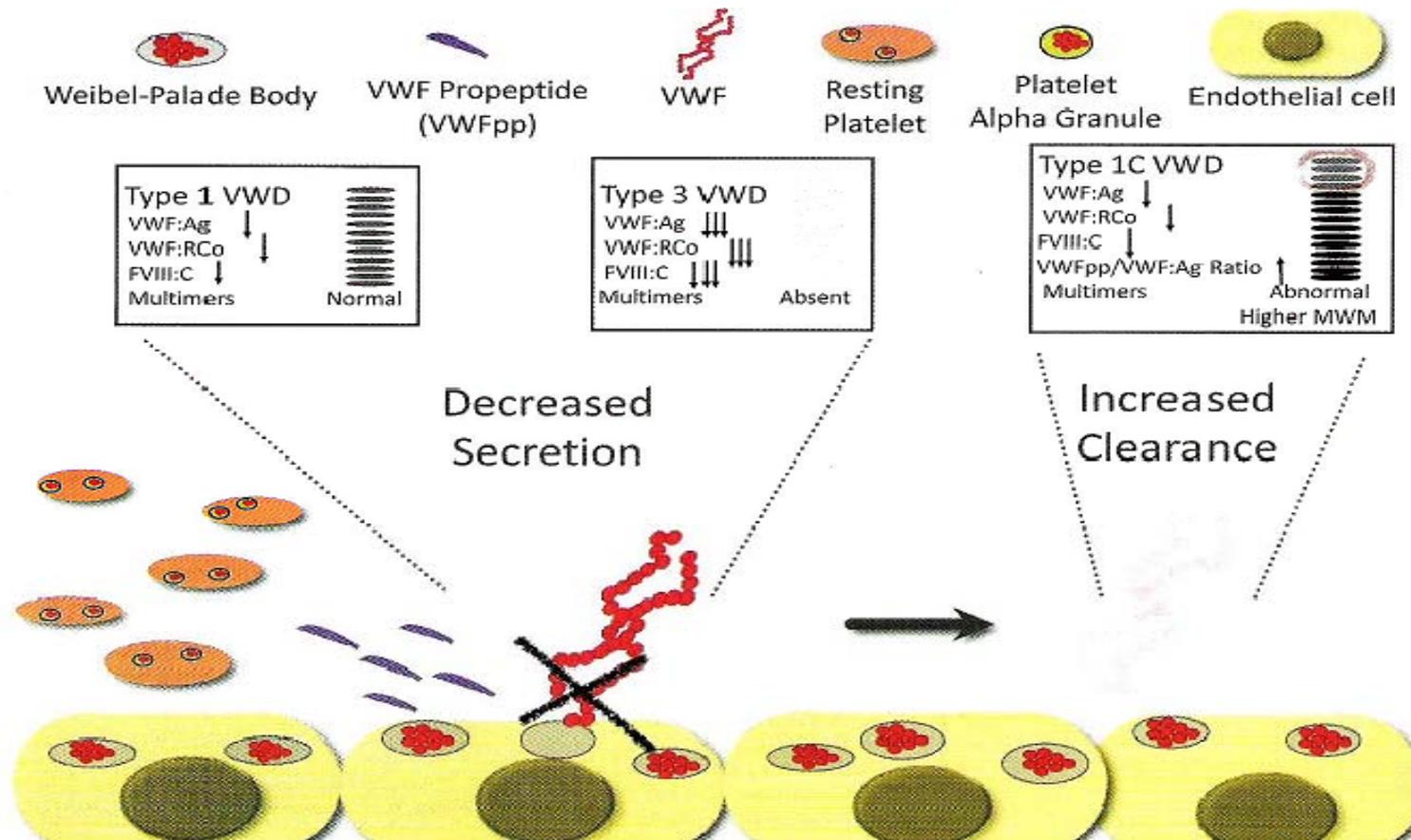
## ANÁLISIS DEL DNA:

- ✓ Muy avanzado en EVW tipo 2 y tipo 3
- ✓ Muy pobremente documentado en EVW tipo 1 (hay dos grandes estudios, uno en Europa y otro en Canadá)
- ✓ En EVW tipo 1:
  - **Baja penetrancia** (no todos los que heredan la mutación tienen clínica)
  - **Variable expresividad** (aquellos con la misma mutación muestran clínica variable).

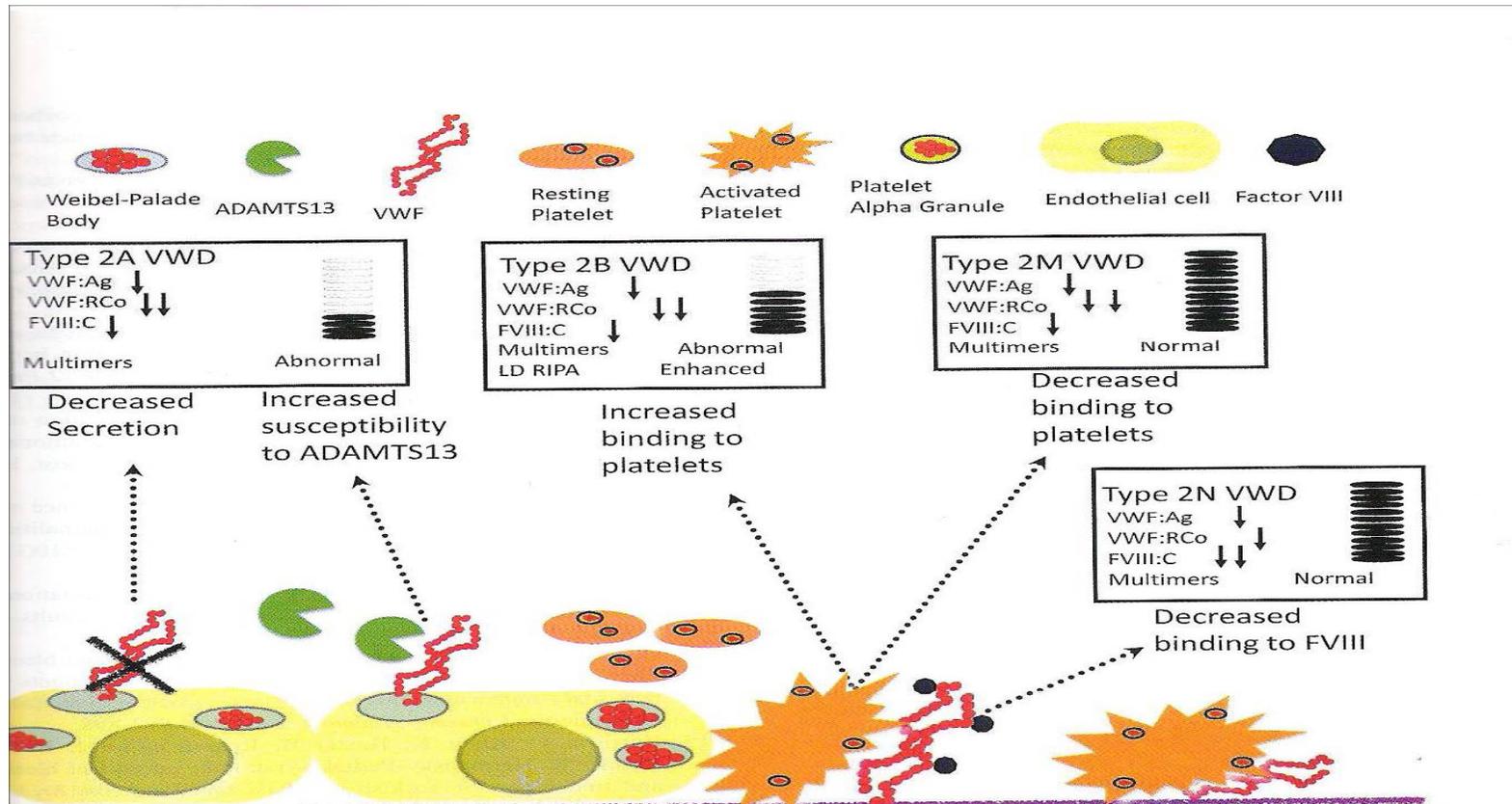


Location of type 2 and type 1C VWD mutations

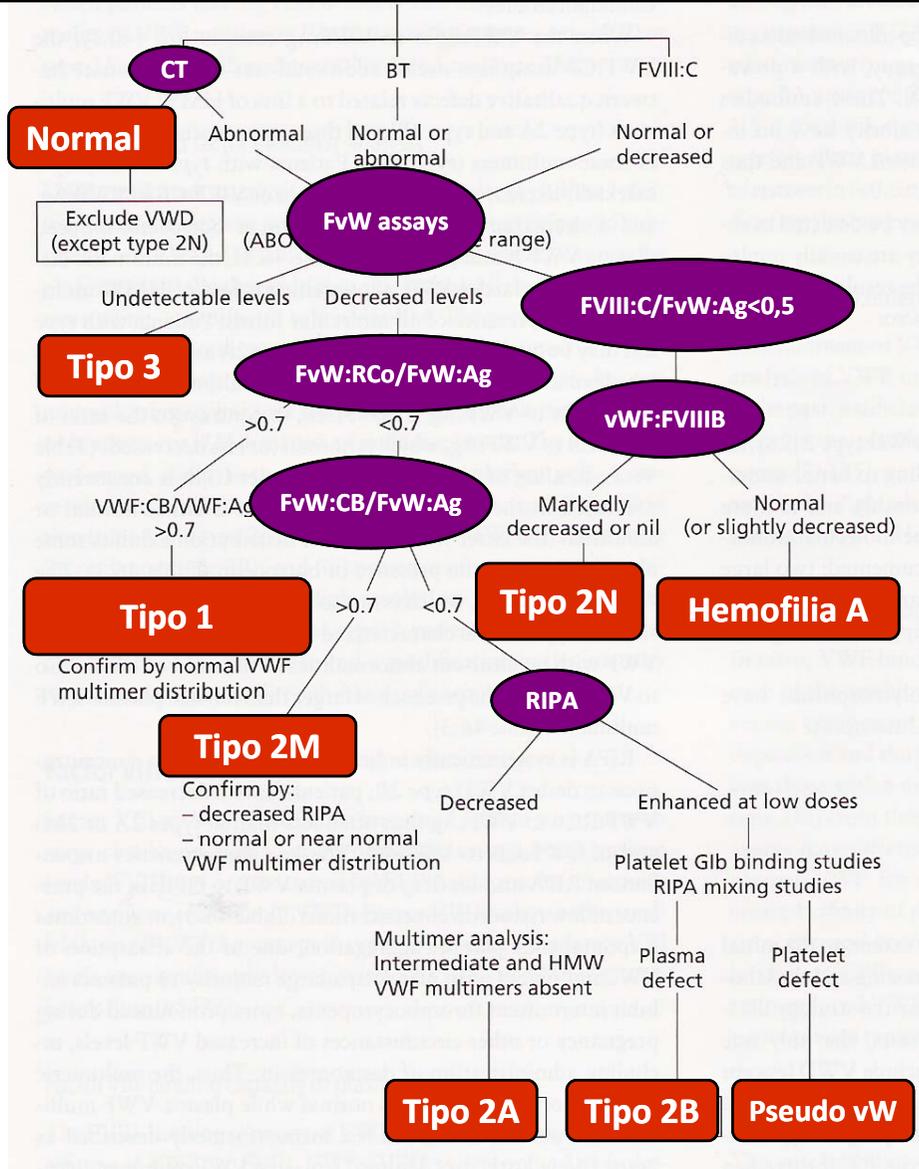
# CARACTERÍSTICAS DE LOS SUBTIPOS (I)



# CARACTERÍSTICAS DE LOS SUBTIPOS (II)



# Antecedentes personales o familiares de sangrado



# PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

## Hemofilia A

1. TTPa
2. Dosificación FVIII:
  - ✓ Método coagulativo
  - ✓ Método cromogénico

Estandarización

## Hemofilia B

1. TTPa
2. Dosificación FIX (método coagulativo)

## EVW

1. Test de screening (T. de obturación)
2. Test específicos:
  - ✓ FVW:Ag
  - ✓ FVW:RCo
  - ✓ FVW:CB
  - ✓ Patrón multimérico
  - ✓ Dosif. FVIII
  - ✓ FVW-FVIII B
3. Test discriminativos

**MUCHAS  
GRACIAS**