

VII
Jornadas Farmacéuticas
sobre el tratamiento de las
**COAGULOPATÍAS
CONGÉNITAS**
MADRID 12,13 Y 14 de Diciembre de 2012

Solicitados Créditos de Formación Continuada. Sistema Nacional de Salud. Solicitado Reconocimiento de Interés Científico. M^o de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad

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

Avalado
 Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria

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

Subdirección Médica
Hospital Universitario La Paz
Dirección-Gerencia
Hospital Universitario La Paz

PARÁMETROS DIAGNÓSTICOS DE LA HEMOFILIA Y DE LA ENFERMEDAD VON WILLEBRAND

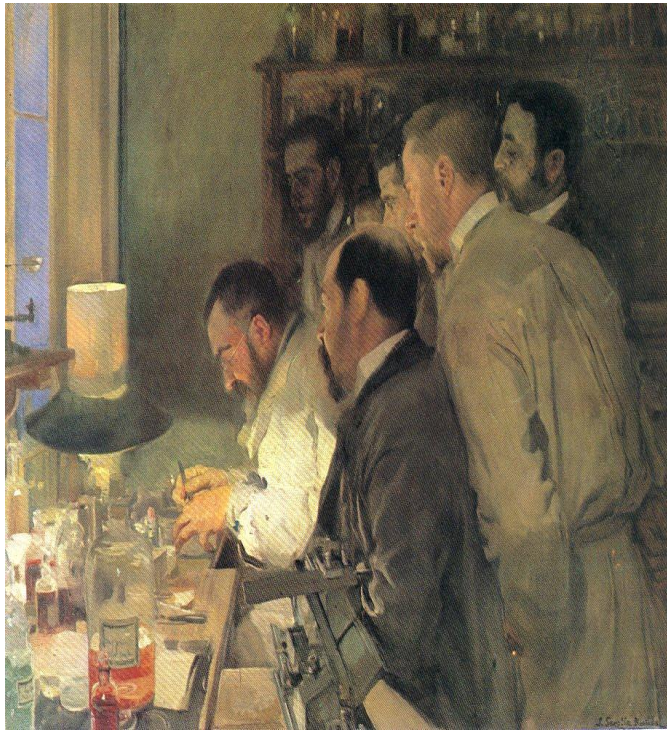
M^a Teresa Álvarez Román
Servicio de Hematología y Hemoterapia

Madrid, 13 de Diciembre del 2012

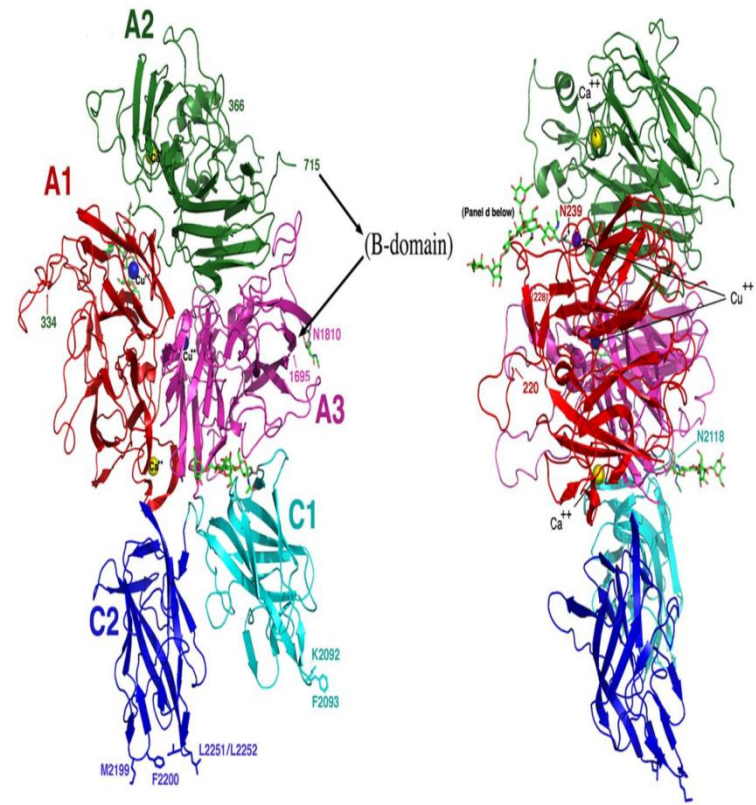
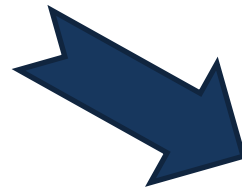
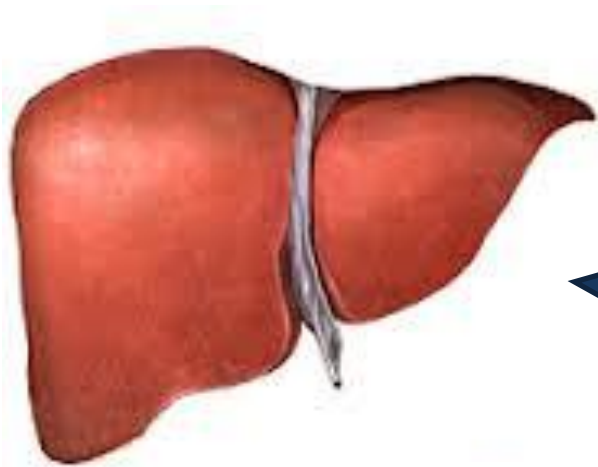
HEMOFILIA



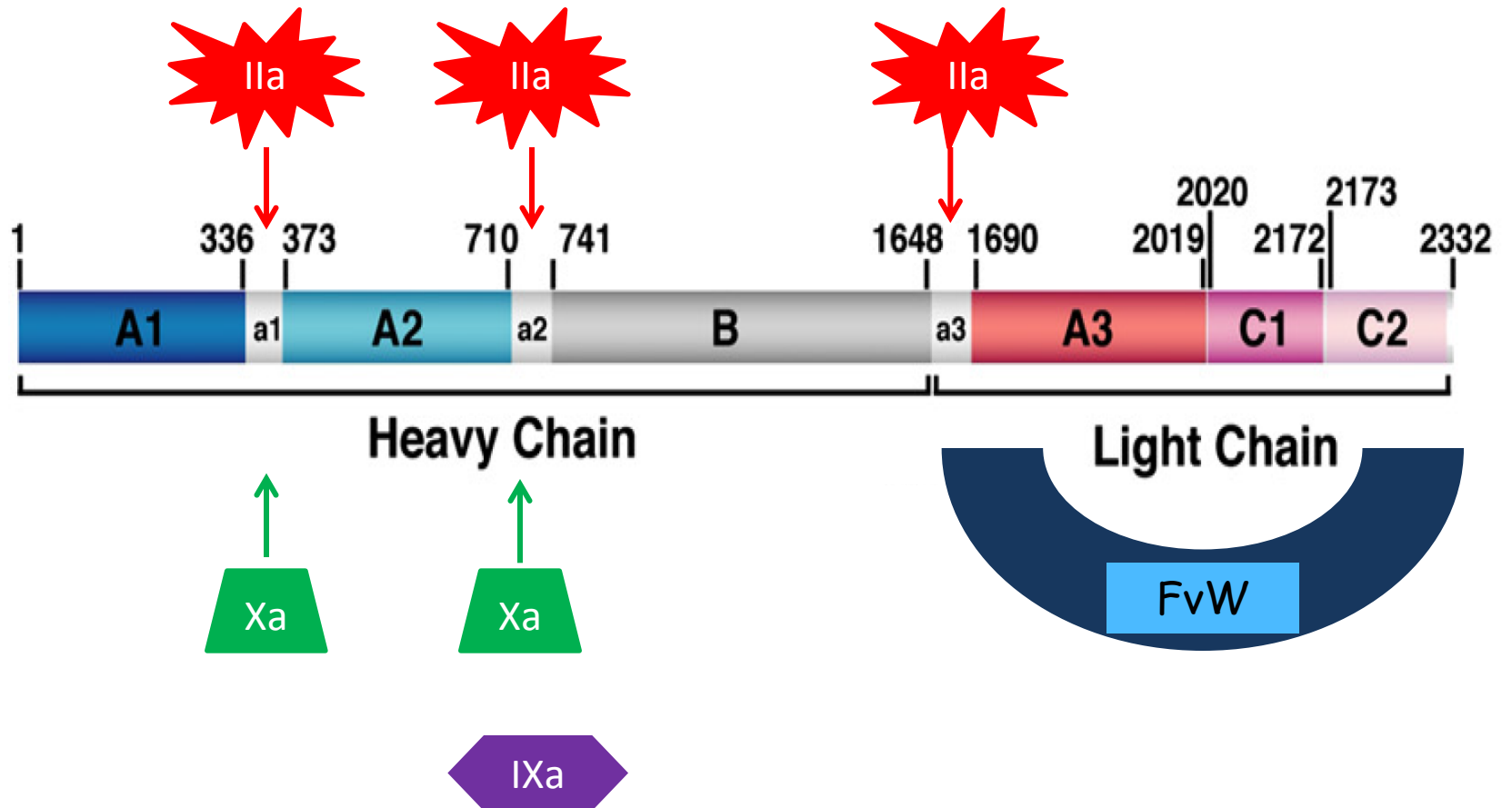
LABORATORIO EN HEMOFILIA



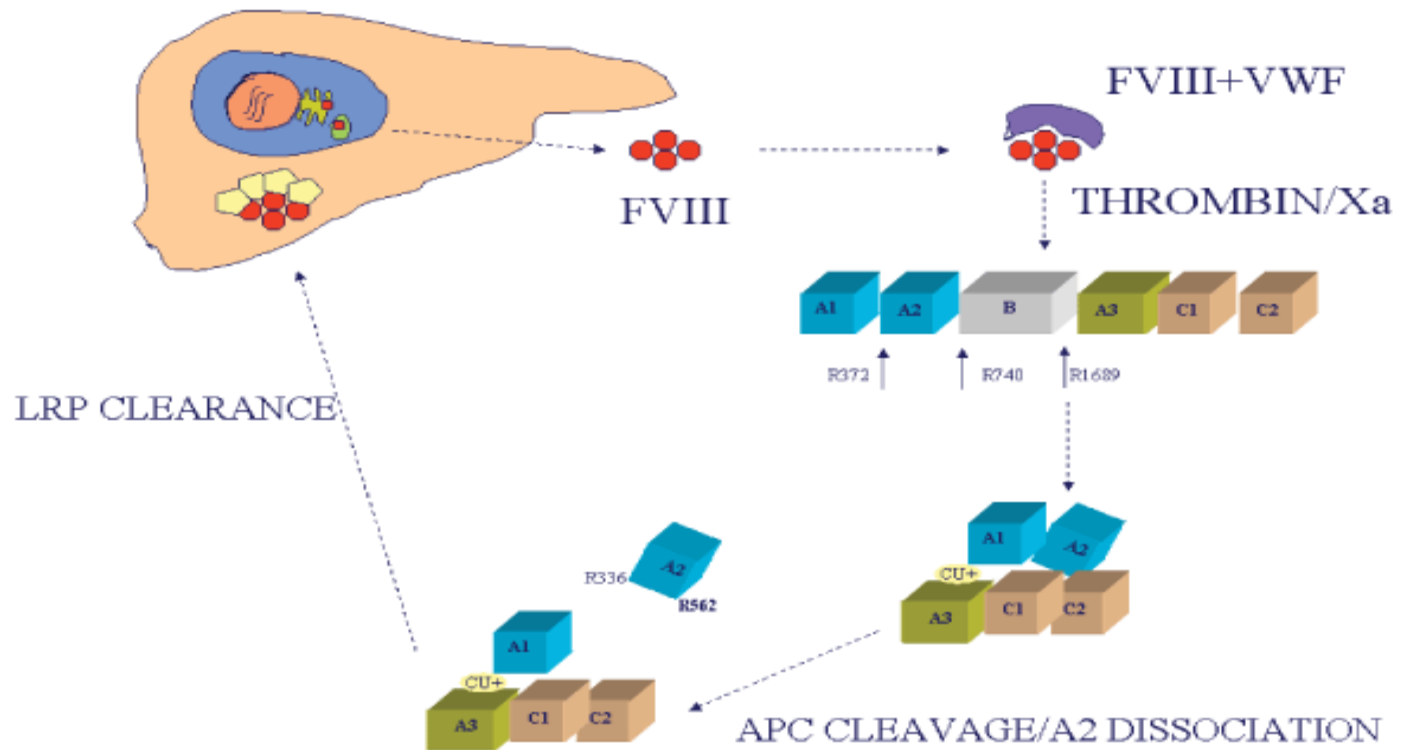
SÍNTESIS DE FVIII



ESTRUCTURA DEL FVIII

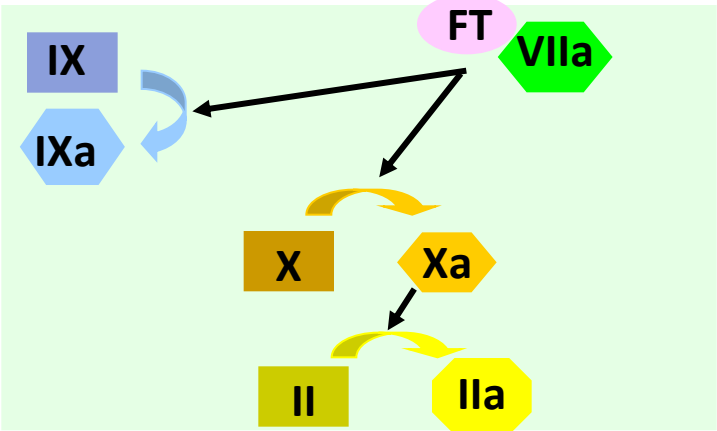


CICLO DE FVIII

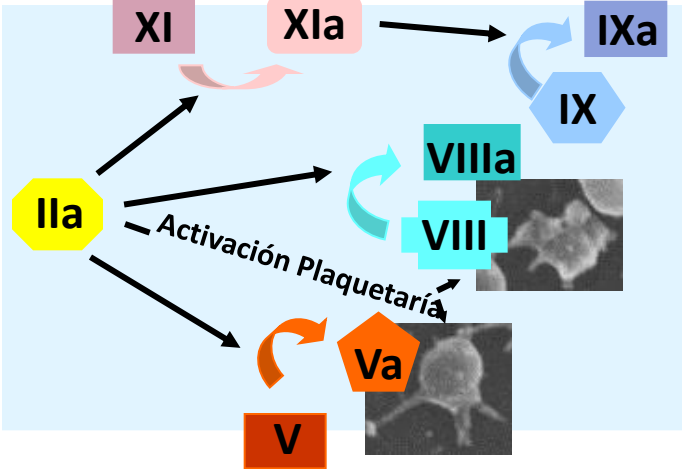


PAPEL DEL FVIII EN LA COAGULACIÓN

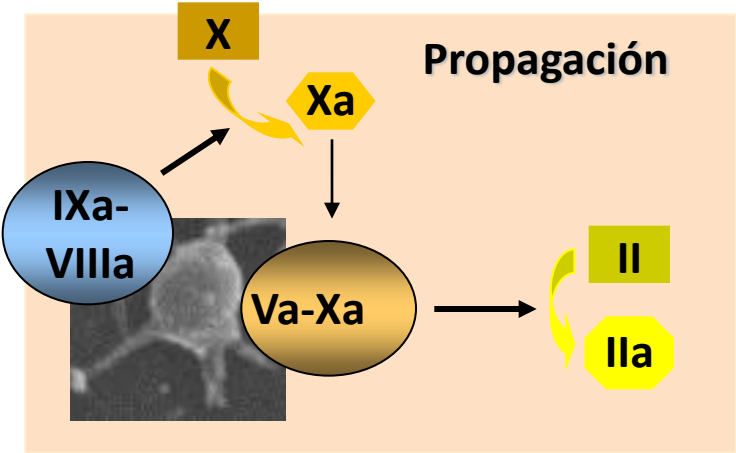
Inicio



Amplificación

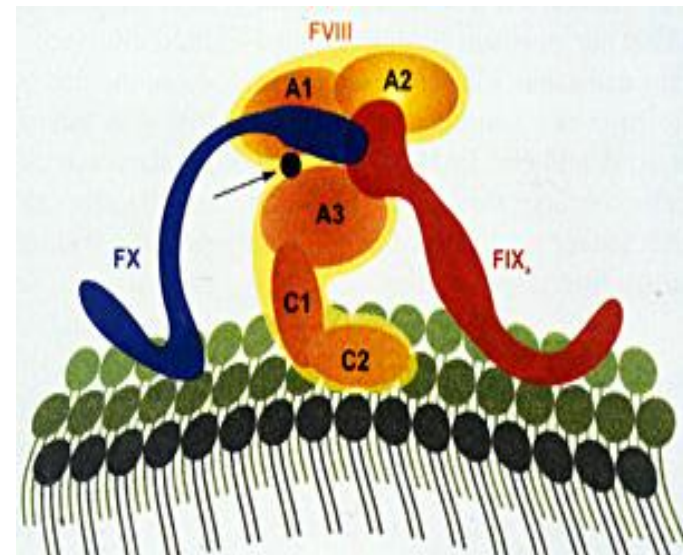
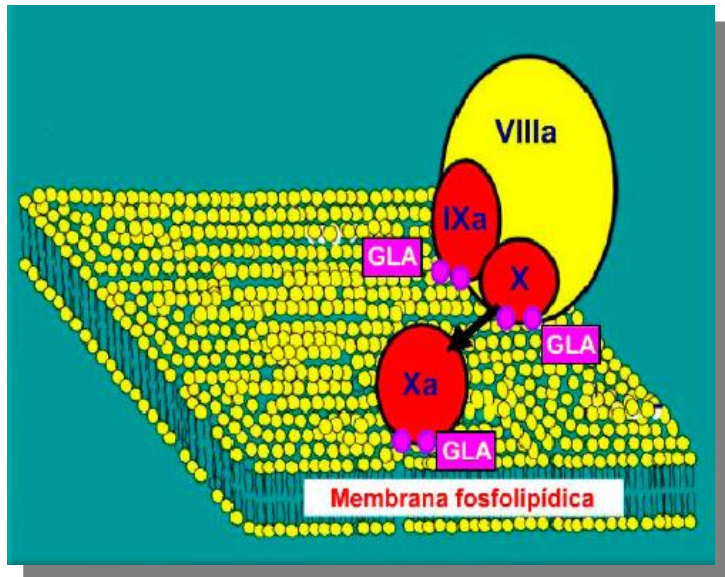


Propagación



Papel fundamental en el paso de FX \longrightarrow FXa.
Actúa como cofactor.

PAPEL DEL FVIII EN LA COAGUACIÓN (II)



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

DIAGNÓSTICO. FASE PREANALÍTICA

Tabla 1. Fase preanalítica

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

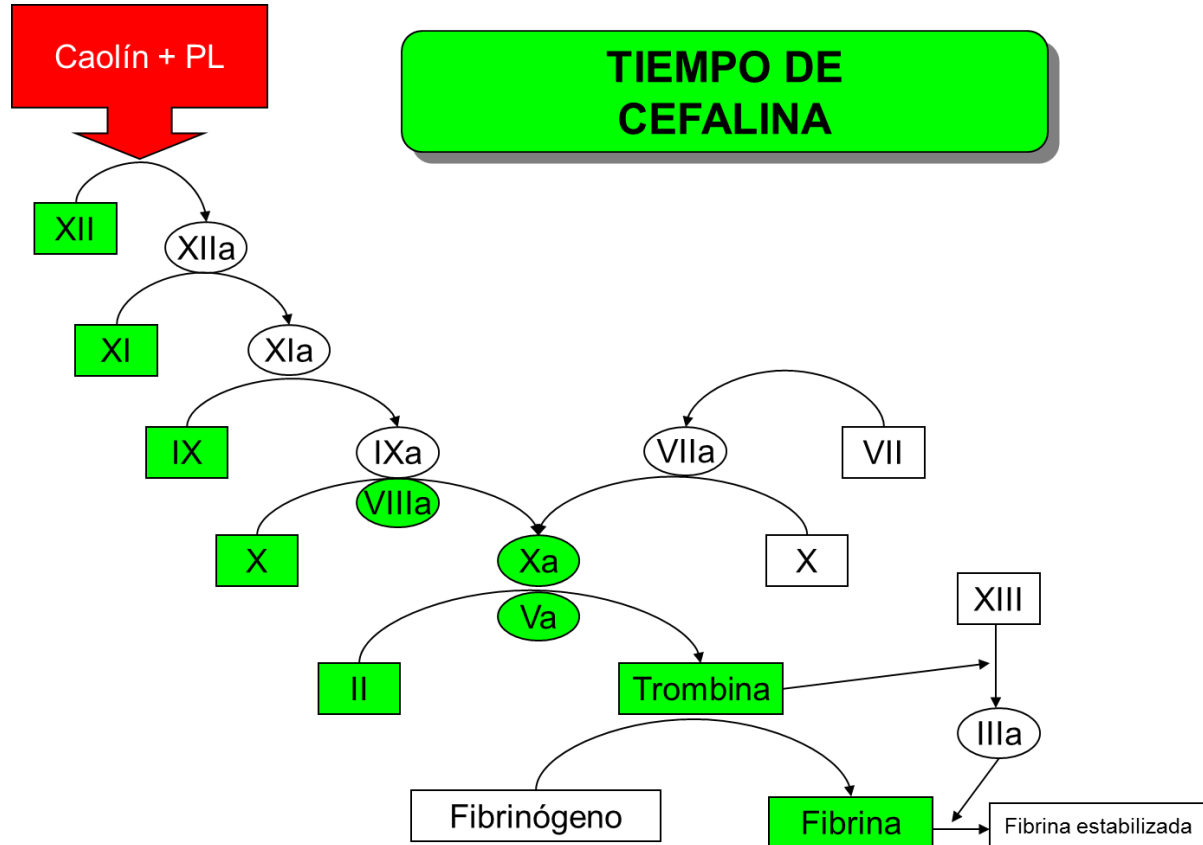
PPP: plasma pobre en plaquetas; TAD: tensión arterial diastólica; TAS: tensión arterial sistólica

DETERMINACIONES NECESARIAS

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

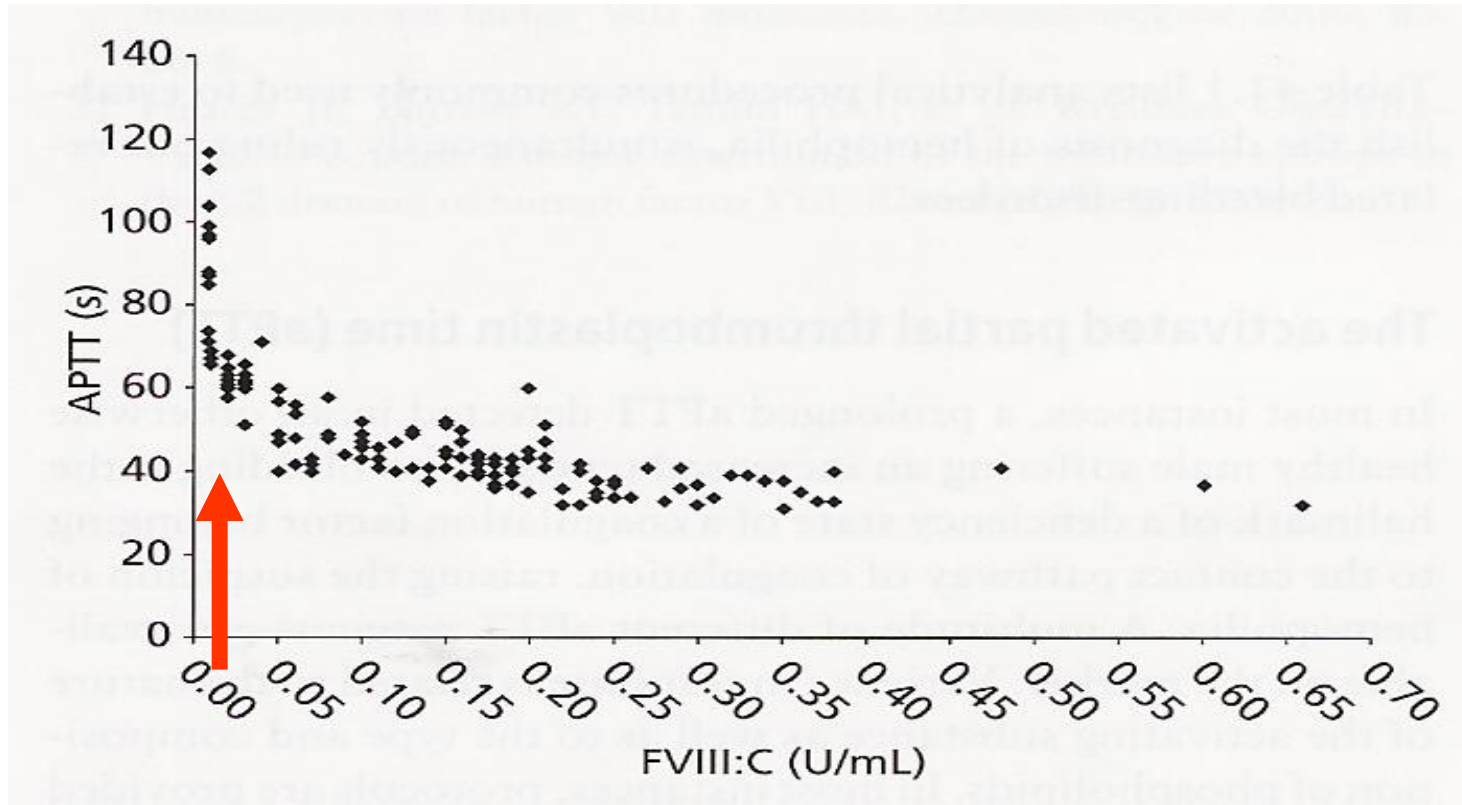
Platelet count	Platelet aggregation Agonists: collagen, ADP, ristocetin
aPTT	Activated partial thromboplastin time
PT	Prothrombin time
Factor VIII:C	Factor VIII procoagulant function (one-stage and/or chromogenic substrate method)
Factor VIII:Ag	Factor VIII antigenic determination
vWF: RCo	von Willebrand factor ristocetin cofactor
vWF:Ag	von Willebrand factor antigen
vWF:FVIIIb	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

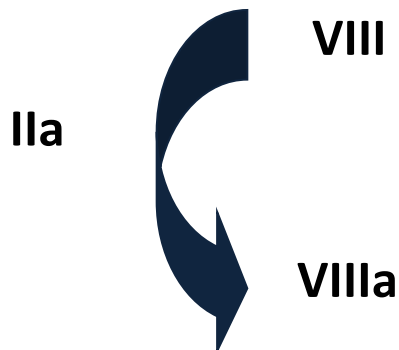
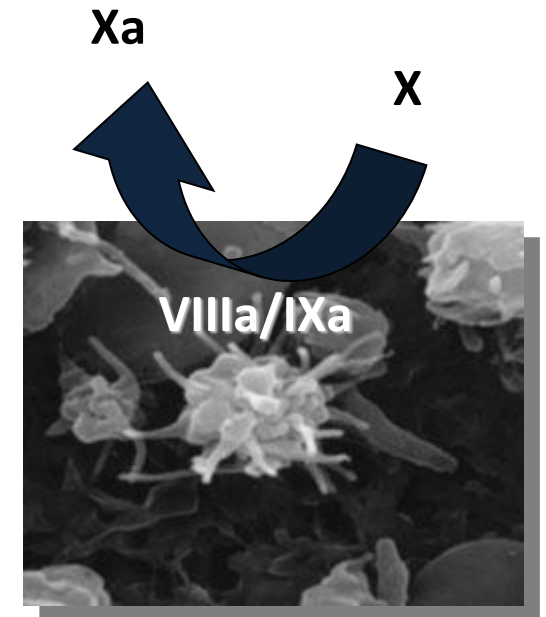
Monitorización
de tratamiento
sustitutivo

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

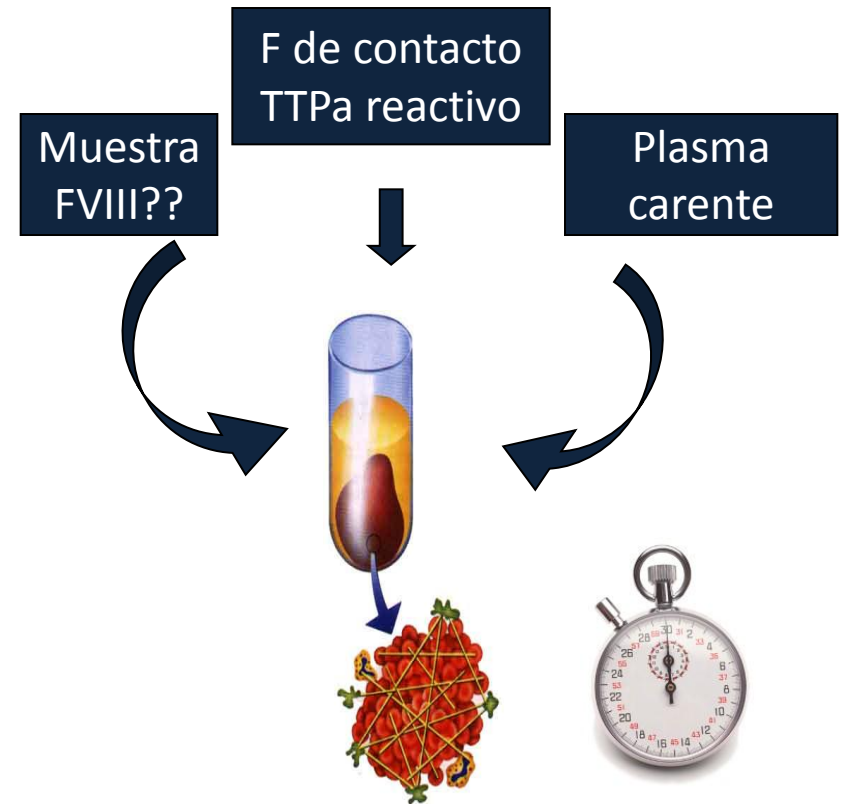
1. De forma indirecta: **MÉTODO COAGULATIVO:**

- ✓ 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.

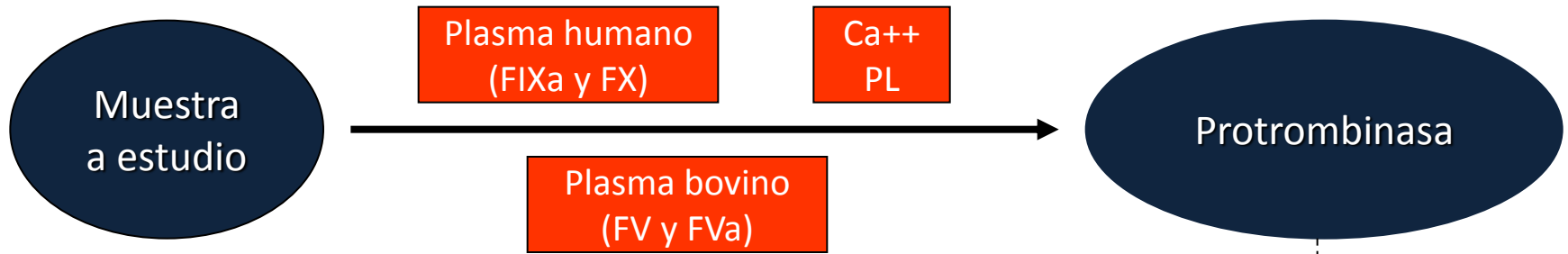


SITUACIÓN IDEAL

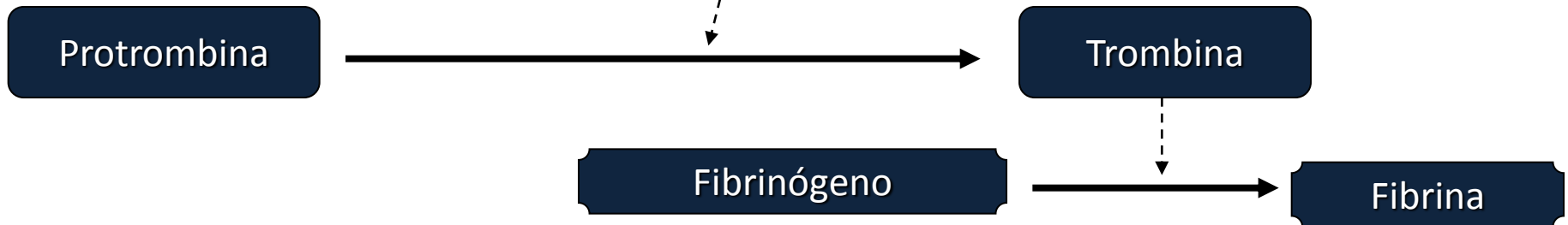
La **cantidad de FVIII existente en la muestra** es la que debe influir como **único factor** en el resultado final, cuando todos los demás factores se hallan en exceso.

MÉTODO COAGULATIVO EN DOS ETAPAS

Primera reacción



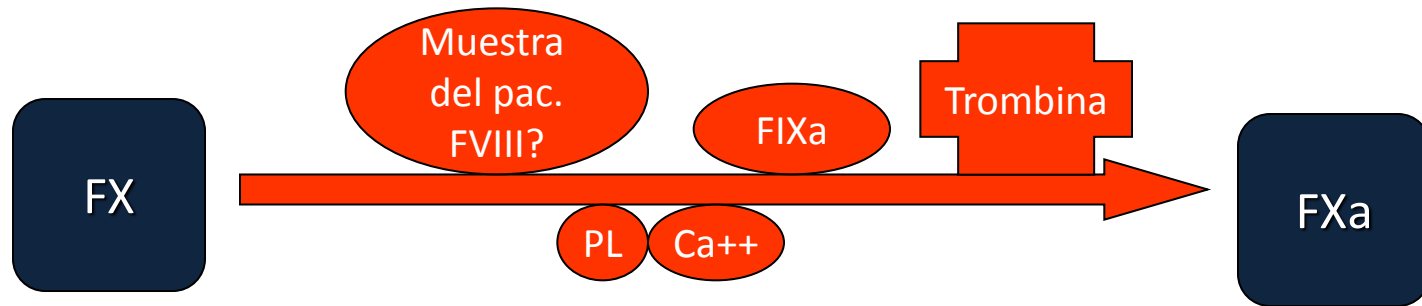
Segunda reacción



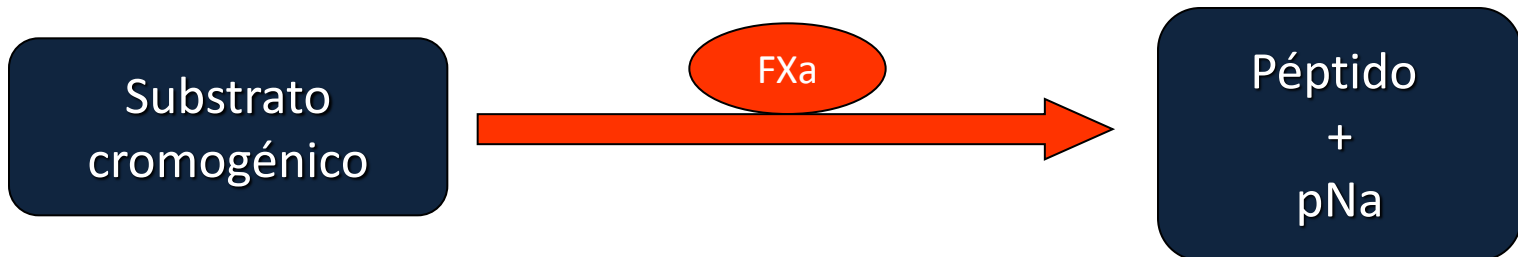
MÉTODO CROMOGÉNICO

1ª reacción: activación del FX dependiente de FVIII

Muestra a estudio incubada con trombina, FIXa, FX, Ca⁺⁺ y PL

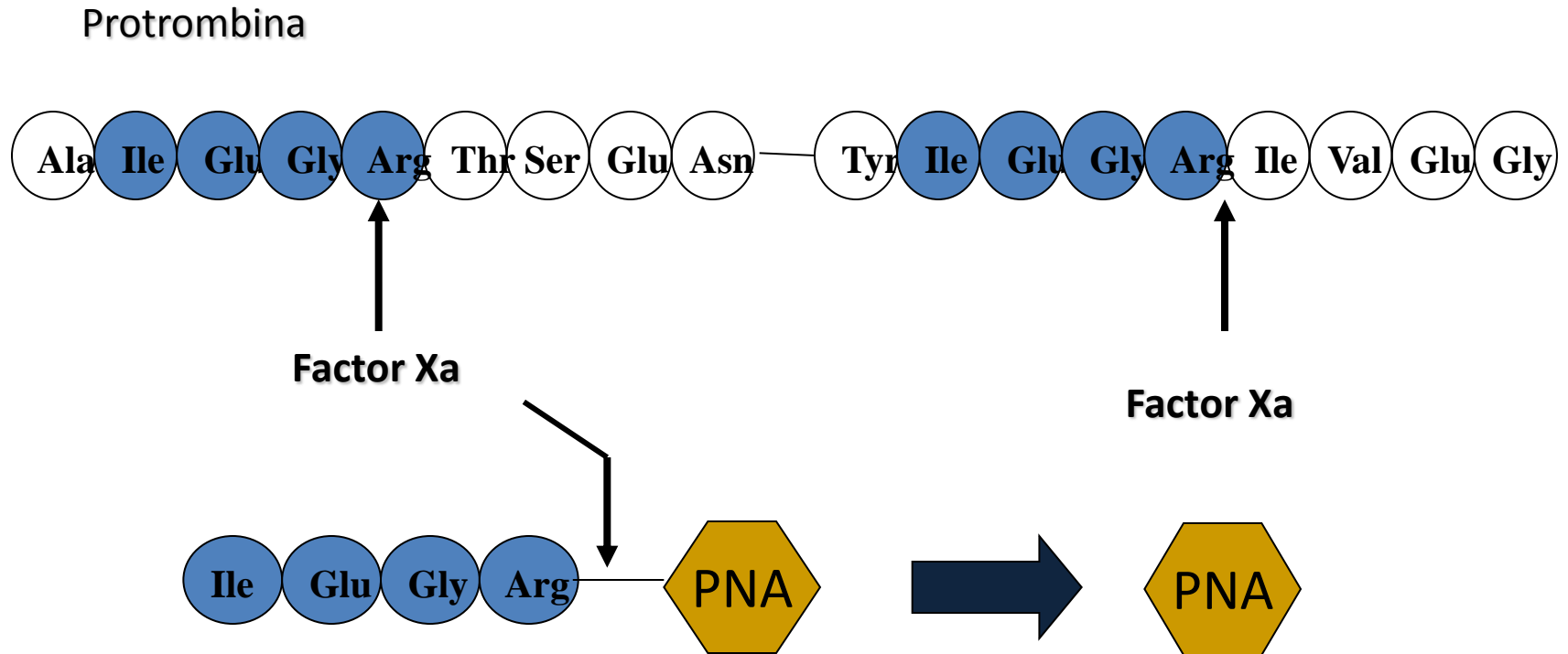


2ª reacción: mide la cantidad de FXa producido en la 1ª R



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

MÉTODO CROMOGENICO



SUBSTRATOS CROMOGENICOS

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, Ca²⁺

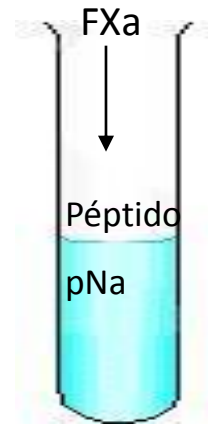


Fibrina

COAGULÓMETRO

MÉTODO CROMOGENICO

Muestra FVIII?
Trombina
FIXa, FX
PL, Ca²⁺



FXa

Péptido

pNa

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

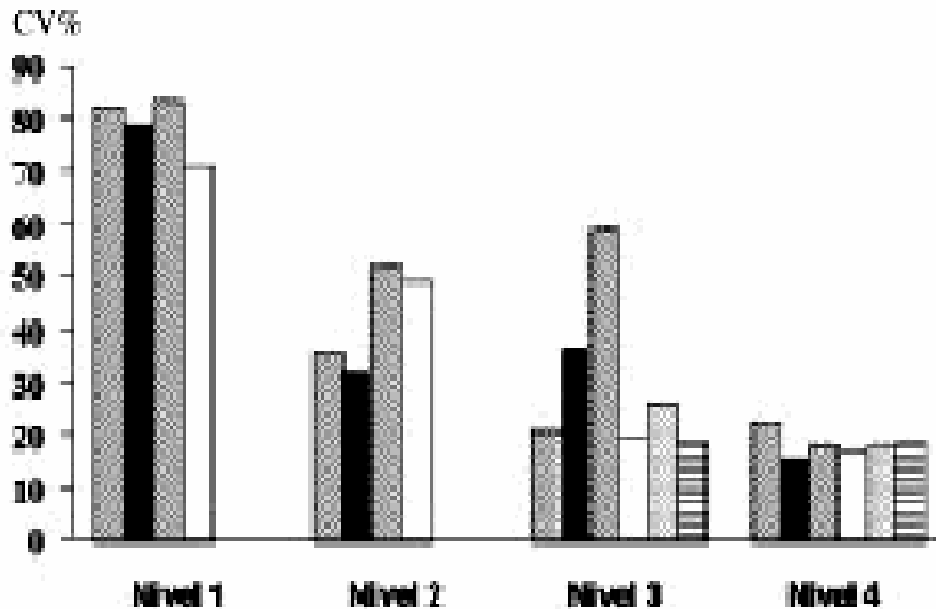
Que todos los métodos reflejen de modo exacto el **nivel real de FVIII:c**

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 human plasma/Πρότυπο πλάσμα βαθμονόμησης (ανθρώπινο)

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

LOT 503210

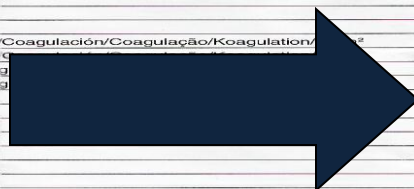
Table of Analytical Values/Tabelle der Analysenwerte/Tableau des valeurs d'analyse/Tabella dei valori analitici/Tabla de valores del análisis/Tabla dos valores de análise/Tabell med analytiske værdier/Tabell med analytiska värden/Πίνακας αναλυτικών τιμών
Values for calibration/Werte zur Erstellung von Bezugskurven/Waleurs pour 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 referencekurver/Kalibreringsværdier/tuócs yó bédóuónónón

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

Special Parameters/Spezial Parameter/Paramètres spéciaux/Parametri speciali/Parámetros especiales

Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής II ²	
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής V ²	
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής VII ²	
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής VIII: Clotting/Gerinnung/Coagulatione/Coagulación/Coagulação/Coagulation	
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής VIII: Chromogenic/Chromogène/Cromog	
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής VIII: Chromogenic/Chromogène/Cromog	
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής IX ²	
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής X ²	
Factor/Faktor/Facteur/Fattore/Συντελεστής XII ^{2,3}	
Antithrombin III/Antithrombine III/Antitrombina III/Antitrombin III/Αντιθρομβίνη III ²	
α ₂ -Antiplasmin/α ₂ -antiplasmine/α ₂ -antiplasmina/α ₂ -Αντιπλάσμιν ³	
C1-Inhibitor/inhibiteur/inibitore/inhibidor C1/Inhibitor C1/Αναστολέας C1 ^{4,5}	
Plasminogen/Plasminogène/plasminogeno/Plasminogénio/Πλασμογενόνο ³	
Protein C/Protéine C/proteína C/proteína C/Πρωτεΐνη C ²	
Protein S Ac/Protéine S Ac/Proteína S Ac/Proteína S Ac/Πρωτεΐνη S Ac ²	
vWF:RCo BC von Willebrand Reagent/Reagenz/Réactif/Reagenti/Reagens/Αντιδραστήριο ²	
vWF: Ag vWF Ag ^{2,3}	
Total Complement activity/Komplement-Gesamtaktivität/Activité complément total/attività totale del complemento/Actividad del complemento total/Komplement totalaktivitet/Total komplementaktivitet/Όλική δραστησιότητα συμπληρώματος ^{4,5}	

FVIII:c chromogénico 100%



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

Sensitivity values to/Sensitivitätswerte für/Valores de sensibility aux/Valori di sensibilità verso i/Valores de sensibilidade para os/Sensitivitetsvärder för/Tιμές ευαισθησίας σε

ProC Reagents/ProC-Reagenzien/ProC Réactifs/Reagenti ProC/Reagente ProC/ProC Reagens/Αντιδραστήρια ProC	PR
ProC® Global ¹	0.85
ProC® Global EV ¹	0.96

¹ 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 independentes del sistema a excepción de los sistemas mencionados/Valores independentes do sistema, excepto para os sistemas mencionados/systemunafhængige værdier undtagen for de nævnte systemer/systemoberoende värden utom för de omnämnda systemen/Μη εξαρτώμενες από το σύστημα τιμές εκτός των συστημάτων που αναγράφονται

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

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

⁴ 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 tilgængelig i USA/Inte tillgänglig i USA/Δεν διατίθεται στις Η.Π.Α.

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

Feb 2009 ORKL T13 E3145 (4612)

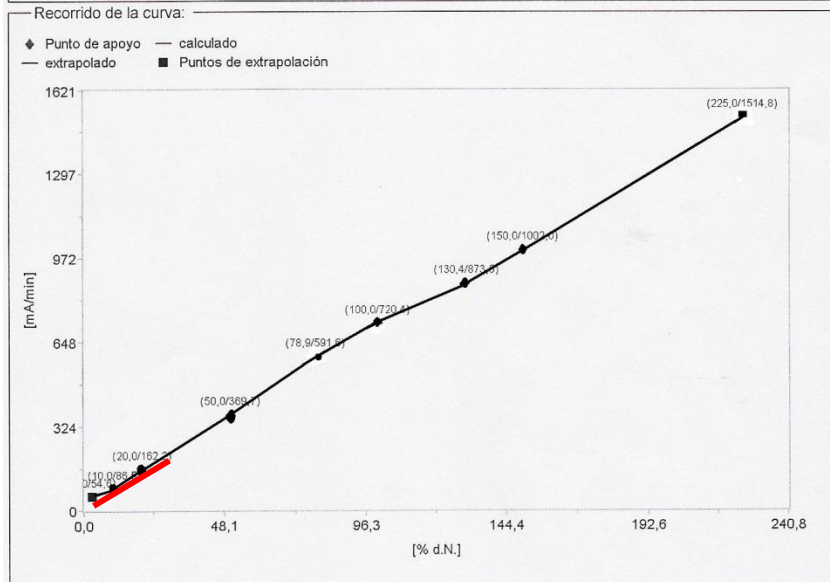


CALIBRACIÓN

FVIII:C alto

Información general:	
Nombre de curva referencia:	FVIII.cAlto_SHP_2009-09-22_09:52
Fecha de creación:	22/09/2009 / 10:07:27
Ensayo en ejecución:	FVIII.cAlto V.:
Método de evaluación:	Akima, lin/lin
Utilizar hasta:	
Tipo de curva:	Estándar (medido)

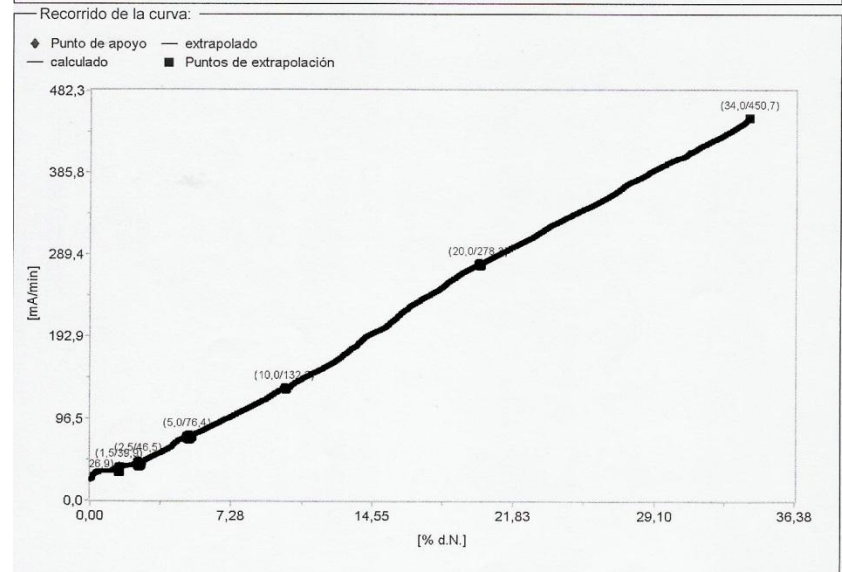
Lotes de reactivos empleados:		
Nombre del reactivo	Número de lote	Valor de ref.
NaCl	000111	
FXforFVIIIchrom	529143	
FIXaReag.forFVIIIchr	529244	
FVIIIchromSub	529343	
SHP	503208	100,00 % d.N.



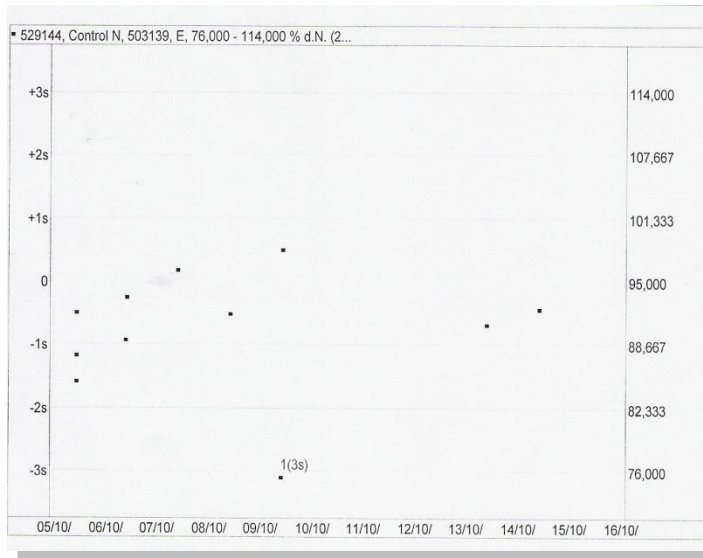
FVIII:C bajo

Información general:	
Nombre de curva referencia:	FVIIIcBajo_SHP_2008-09-16_09:50
Fecha de creación:	16/09/2008 / 11:23:17
Ensayo en ejecución:	FVIIIcBajo V.:
Método de evaluación:	Akima, lin/lin
Utilizar hasta:	
Tipo de curva:	Prediluido (medido)

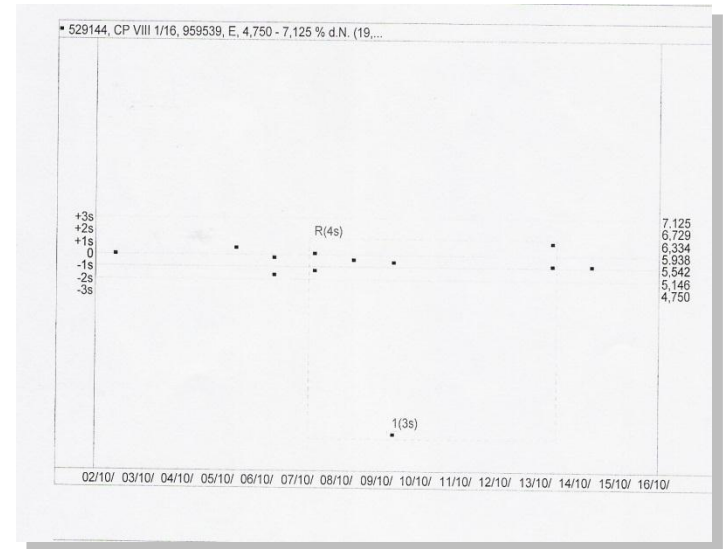
Lotes de reactivos empleados:		
Nombre del reactivo	Número de lote	Valor de ref.
NaCl	000111	
FXforFVIIIchrom	529137	
FIXaReag.forFVIIIchr	529238	
FVIIIchromSub	529337	
SHP	5025	
SHP	503203	90,00 % d.N.



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 B₁, 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



**TTPa
alargado**

**Dosificación
de FIX
(métodos
coagulativos)**

DETERMINACIÓN DE INHIBIDORES CONTRA EL FVIII Y FIX

- Técnicas de detección: estudio de mezclas.

- Técnicas de cuantificación:

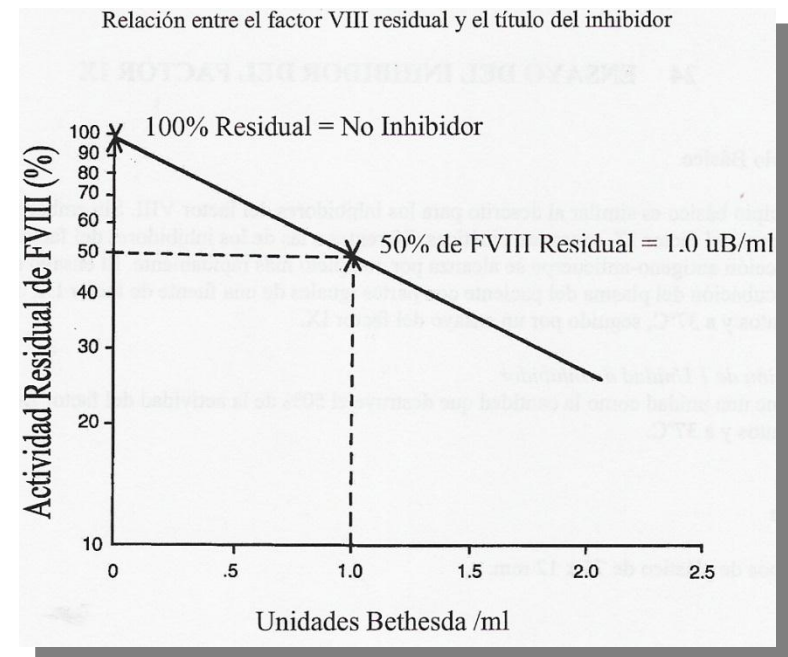
- ✓ **Método Bethesda:**

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

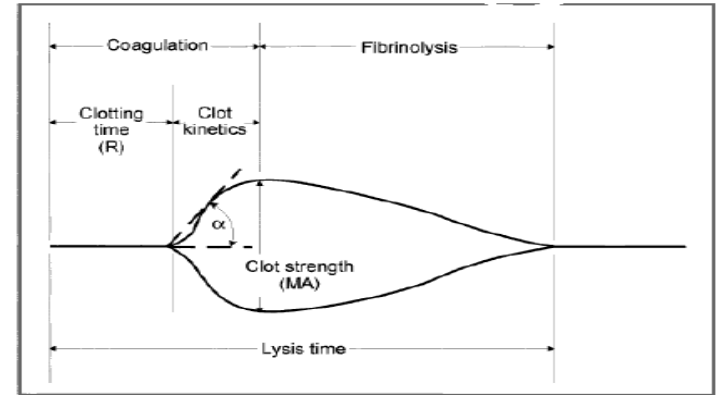
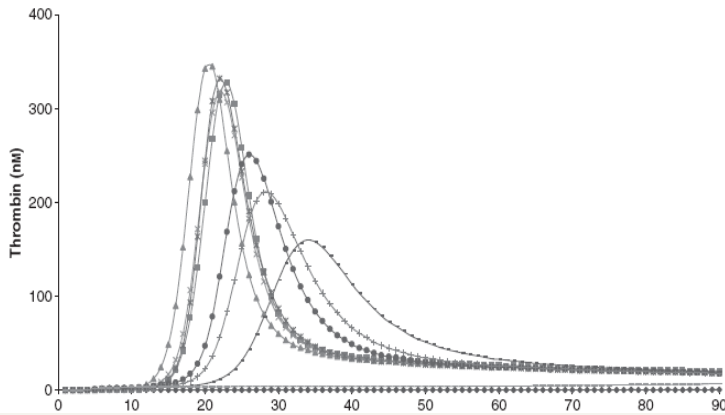
1UB

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

- ✓ Modificación de Nijmegen



¿¿¿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.

2002 Al Dieri R et al.

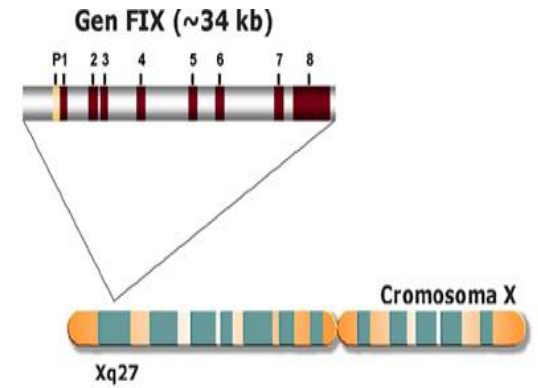
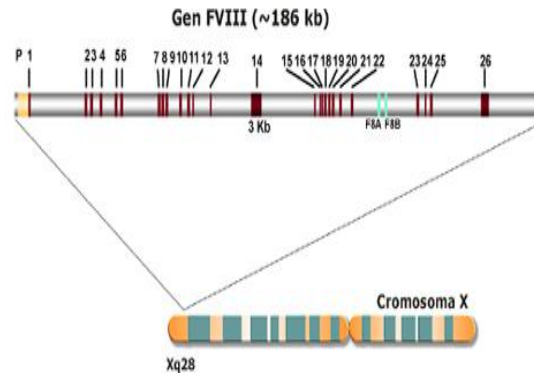
2003 Sorensen B et al: describe la técnica empleando pequeñas cantidades de FT

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

ESTUDIOS GENÉTICOS



HEMOFILIA A GRAVE

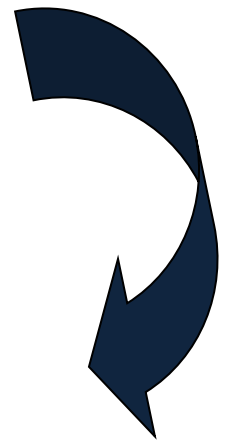


INVERSIÓN
INTRÓN 22

HEMOFILIA A LEVE/MOD
Y
HEMOFILIA B



SECUENCIACIÓN



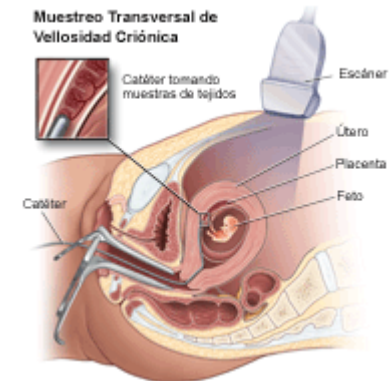
GESTACIÓN Y ESTUDIO PRENATAL

...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)

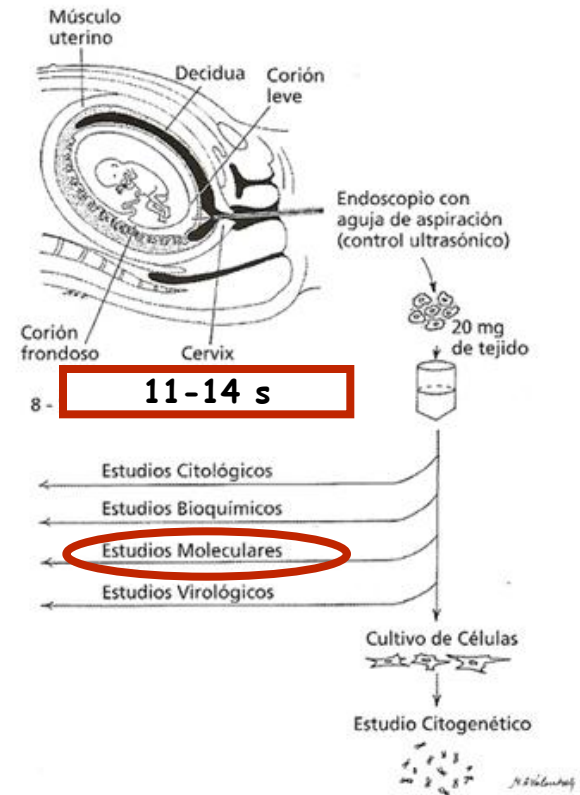


BIOPSIA DE VELLOSIDAD CORIAL

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

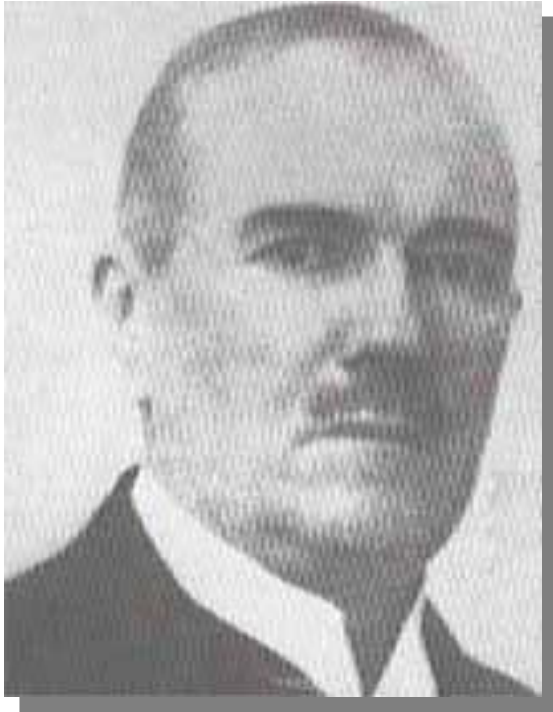
ANTES DE REALIZAR LA PRUEBA:

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
REDIGERADE AV
PROF. RICHARD SIEVERS
BAND LXVIII

1926 FEBRUARI 1926

INNEHÅLL:

Originalartiklar.

E. A. v. Willebrand, Hereditär pseudohefemofili. (Från Diakonstjukhusets i Helsingfors medicinska afdelning. Docent E. A. v. Willebrand.) (Med 3 figurer i texten)..... 97

T. W. Tallqvist, Sjöfylla och njurar. (Från II Kirurgiska Kliniken i Helsingfors, prof. E. Pallin, och Wiborgs Hjärtklinik, prof. P. W. Granberg.) (Med 3 figurer i texten) 139

Deutsche Referate.

S. 121, 126, 140.

Översikter.

Arthur Cleppat, Terapeutiska utvärderingar..... 142

Smärre meddelanden och referat.

Esther Gustavson, Löwy's metod för bestämmandet av de röda blodkropparnas storlek. (Från II Medicinska Kliniken i Helsingfors.) (Med 3 figurer i texten)..... 152

Gaston Parturier, Stenologie biléaire. (Ref. av Jari Hagelstam)..... 157

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

Litteraturanmärkingar.

G. Schauman T och F. Saltzman, Die perniciöse Anämie. (Ref. av Oskar Mustelin)..... 171

Arnold Jørgensen, Vad betyder indudringsslangen for vår kropp og sjel? (Ref. av M. Savallius)..... 179

Paris, 2 nov. 1926.

HELSINGFORS 1926
MERCATORS TRYCKERI AKTIEBOLAG

FINSKA LÄKARESÄLLSKAPETS HANDLINGAR. BAND LXVIII. NO 2.

ORIGINALARTIKLAR.

(Från Diakonstjukhusets i Helsingfors medicinska afdelning. Docent E. A. v. WILLEBRAND.)

Hereditär pseudohefemofili.

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

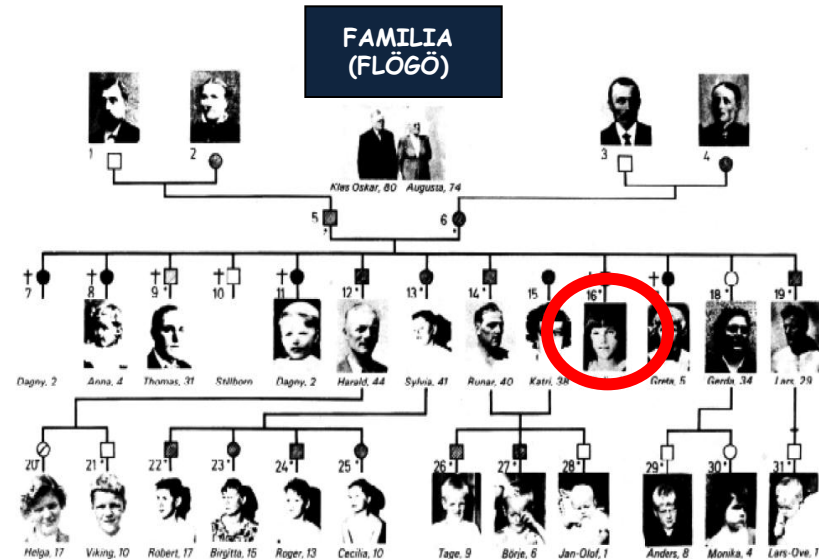
1. Sjukdomsbegrepp. Tidigare observerade fall.

I sitt nya stora arbete över de hemorragiska diateserna framhåller E. FRANK (Breslau), att den klassiska hefemofilien 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 trombopenien 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 ärfelig blödersjukdom och hefemofili såsom synonyma begrepp. Men om man genomgår hithörande litteratur, skall man finna, om icke i ett fåtal fall, beskrifningar över en familjär form av hemorragisk diates, som redan därigenom skiljer sig från äkta hefemofili 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 ifrågakvarande familjära lidande och hefemofilien. Därom mera längre fram i kap. 6 om diagnosen.

Finns i de medicinska Handlingarne 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”.

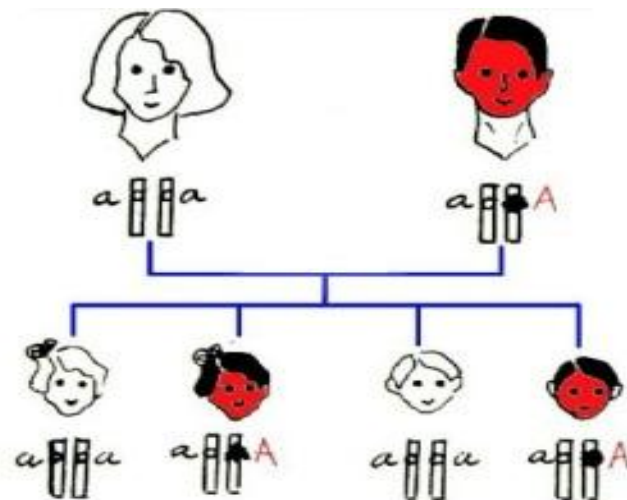
DEFINICIÓN

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

Generalmente es congénito.

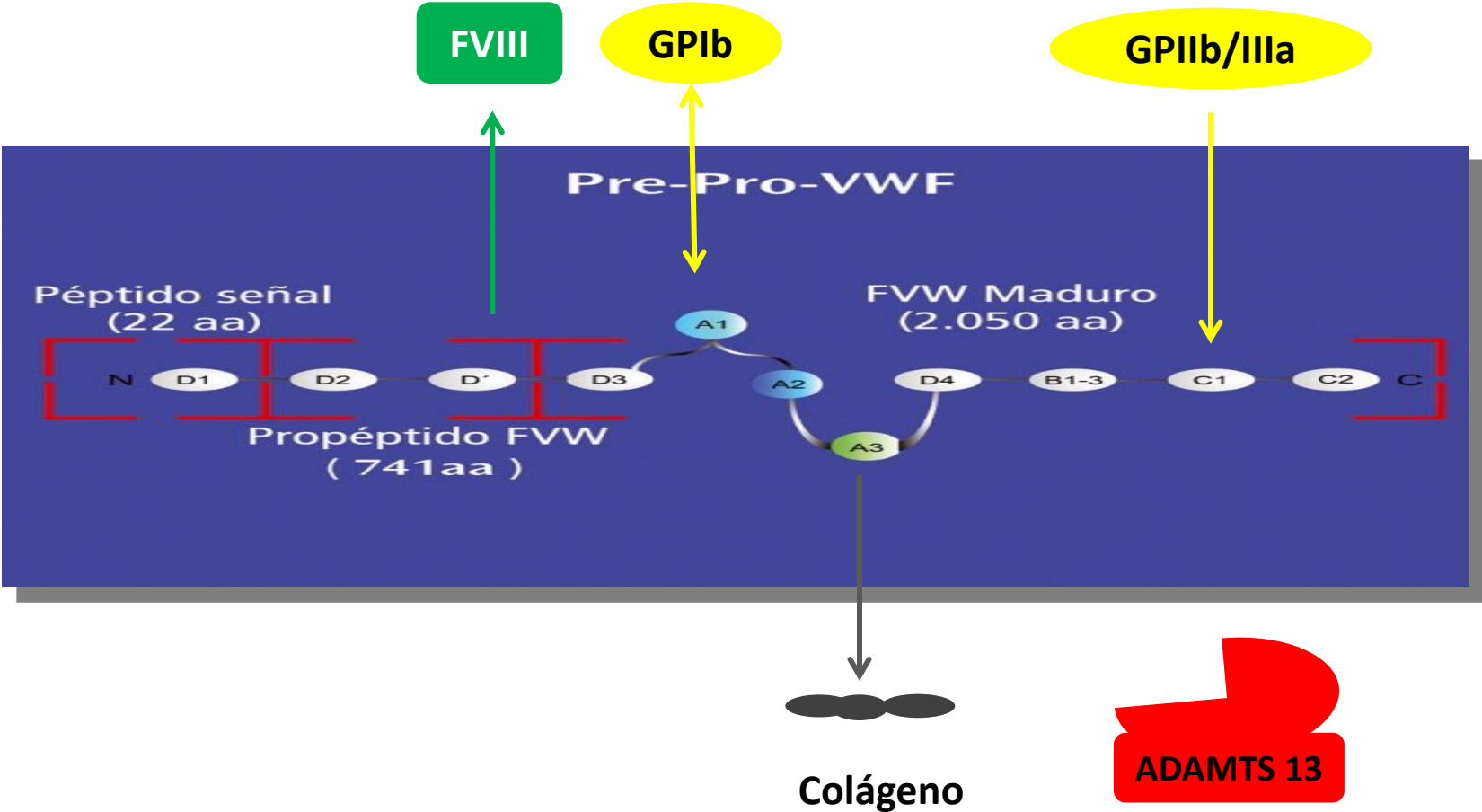
La mayoría de las veces es **AD**
y en algún caso es AR.

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

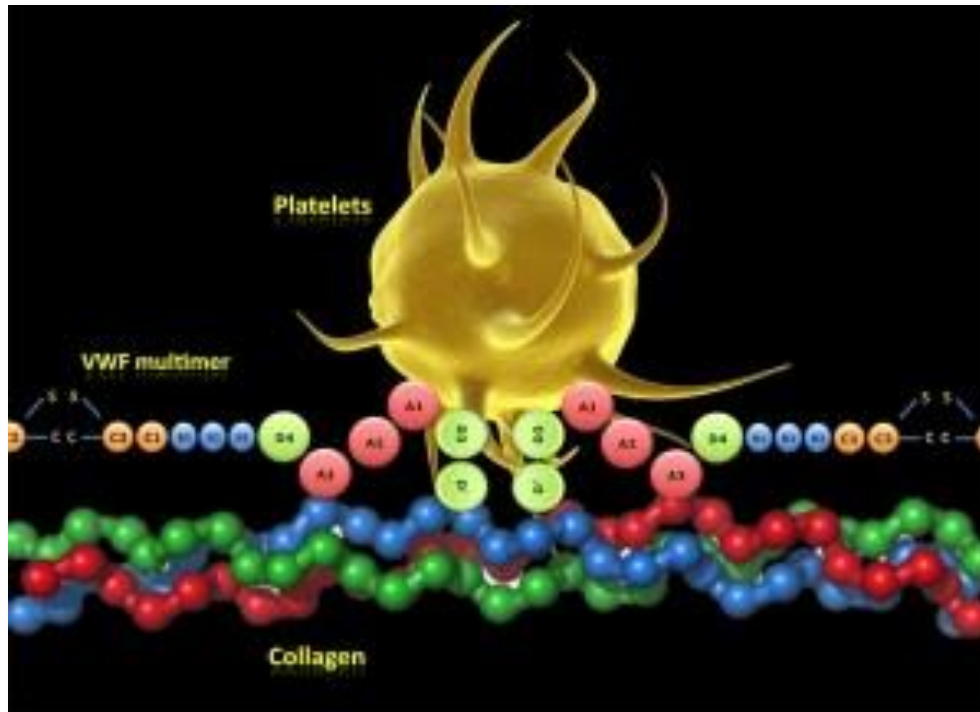


Autosómica
dominante

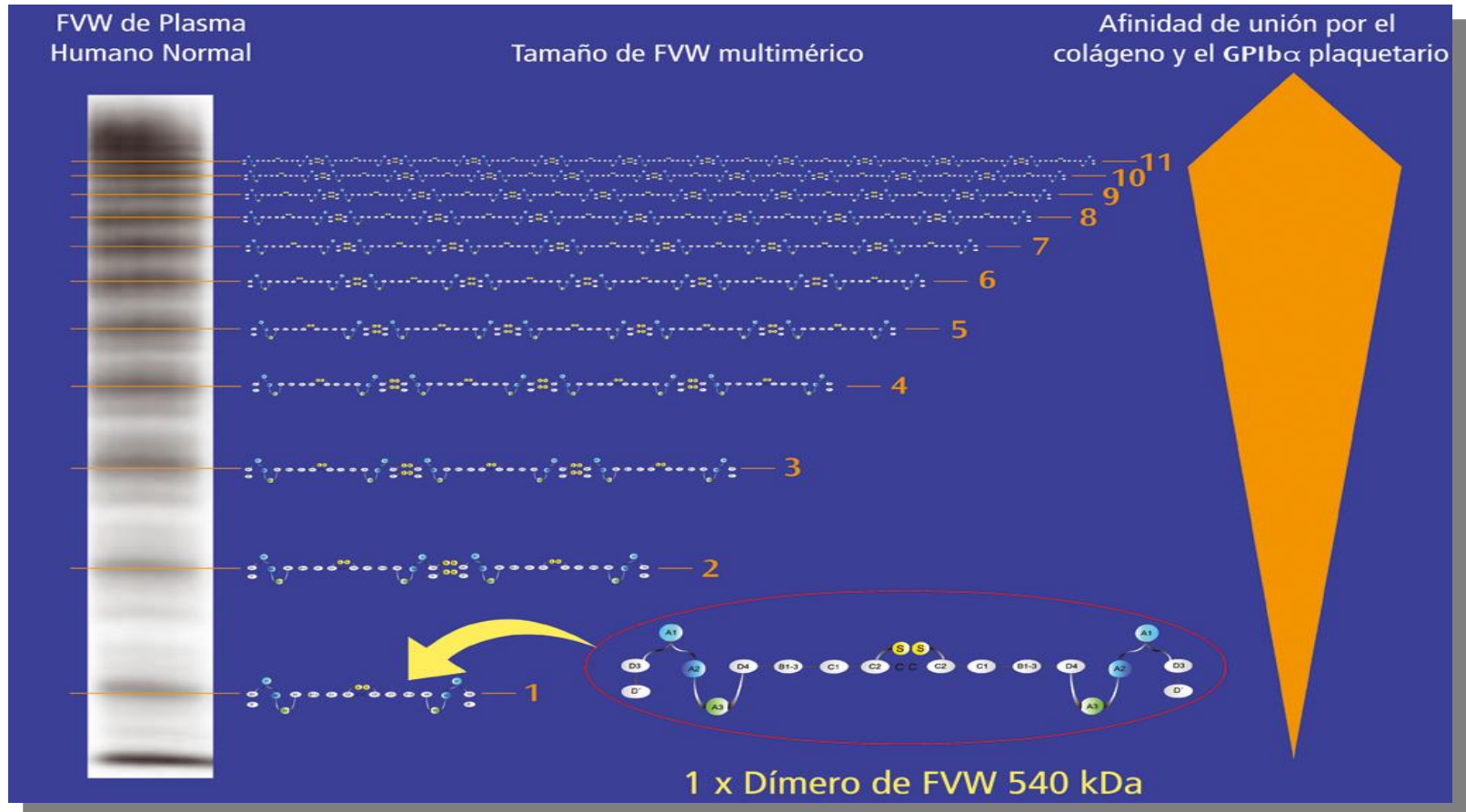
MOLÉCULA VON WILLEBRAND



INTERACCIONES DE FvW



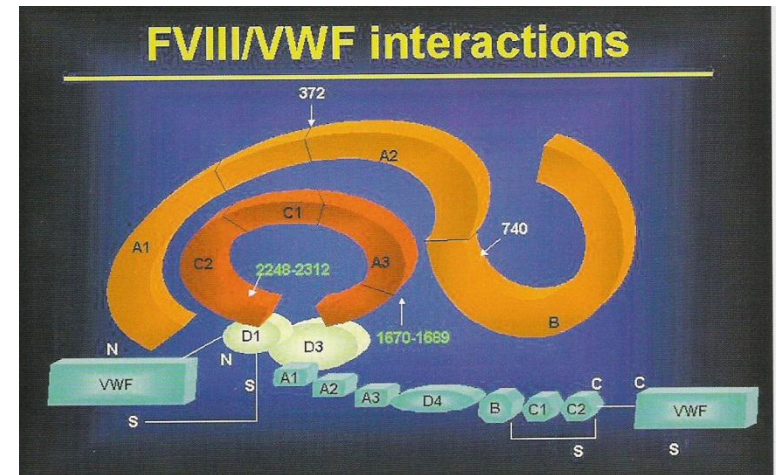
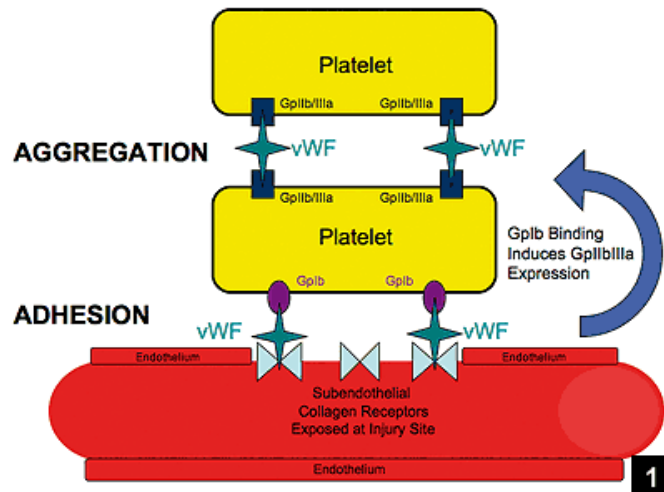
MULTÍMEROS VON WILLEBRAND



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

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

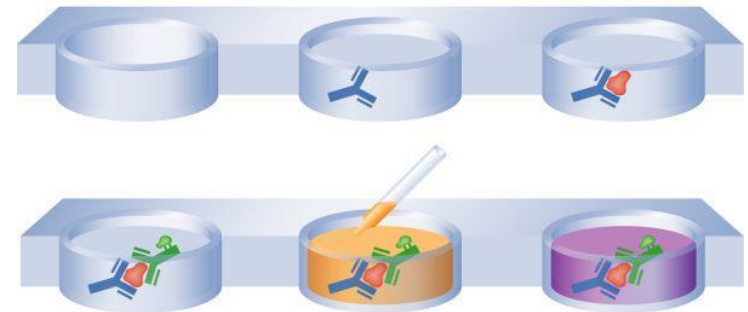
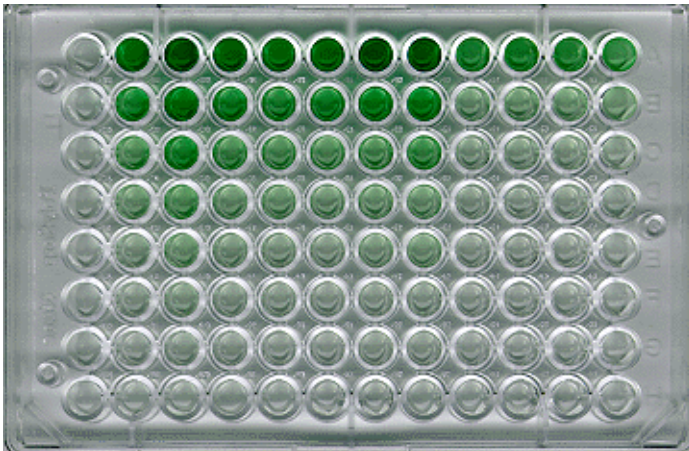
- Determinación de antígeno von Willebrand (**vWF:Ag**)
- Actividad del factor von Willebrand, cofactor de la ristocetina (**vWF:RCo**)
- Capacidad de VWF de unirse al colágeno (vWF:CB)
- Patrón multimérico
- Dosificación de FVIII
- Capacidad del FvW de unirse al FVIII

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.



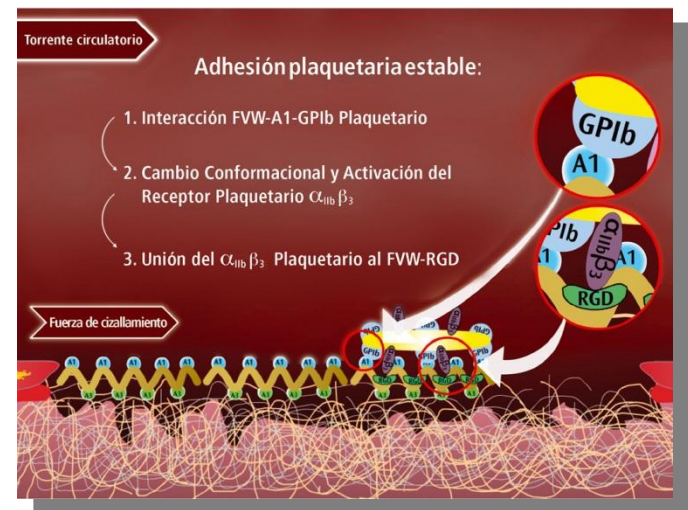
ACTIVIDAD DEL COFACTOR DE LA RISTOCETINA (FvW:RCo)

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

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

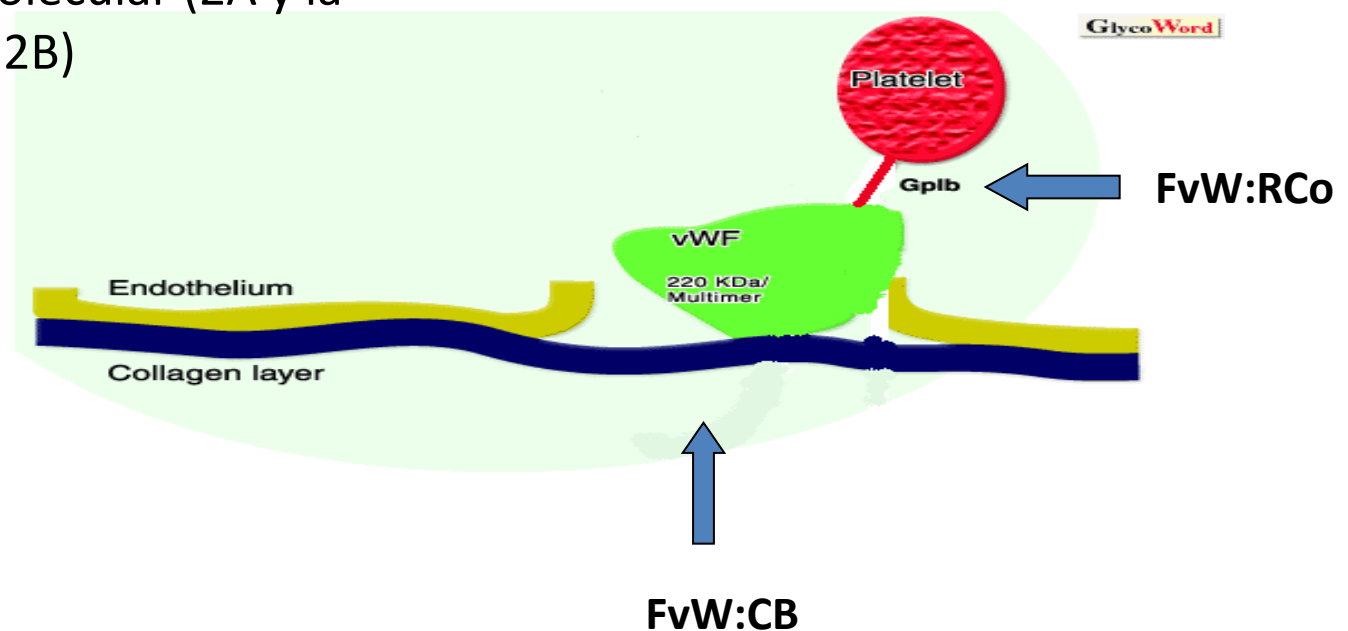
En nuestro laboratorio **se realiza mediante ELISA** con Ac. monoclonales IgG que reconocen un epítipo funcional de FvW.

Importante el ratio **FvW:RCo/FvW:Ag** para **filiar el subtipo de EvW**.

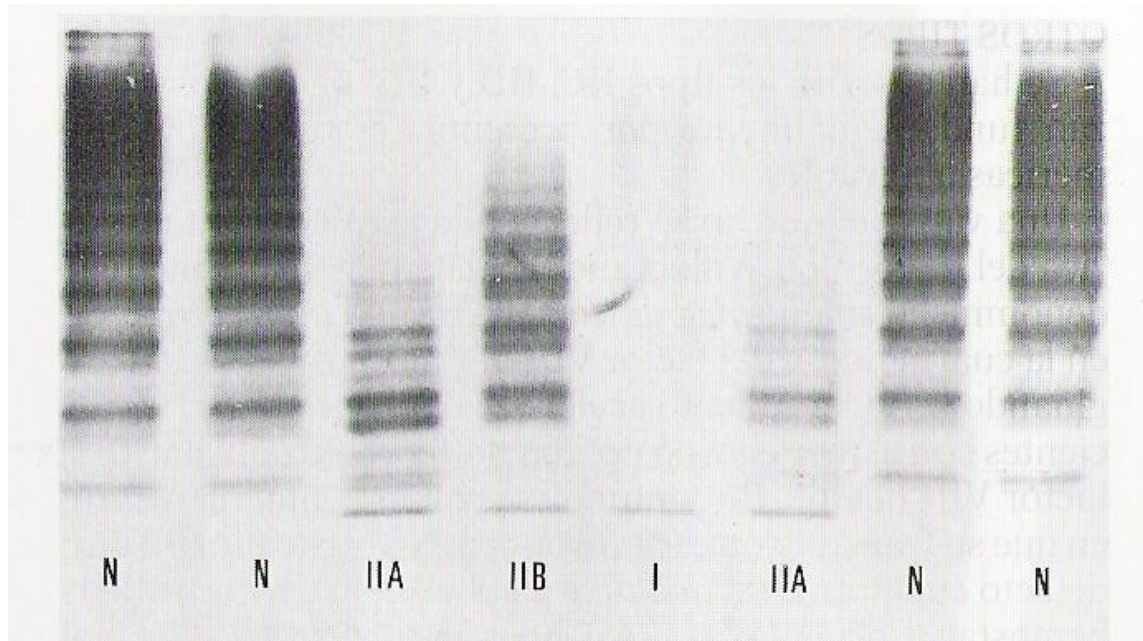


CAPACIDAD DE FvW DE UNIRSE AL COLÁGENO (FvW:CB)

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

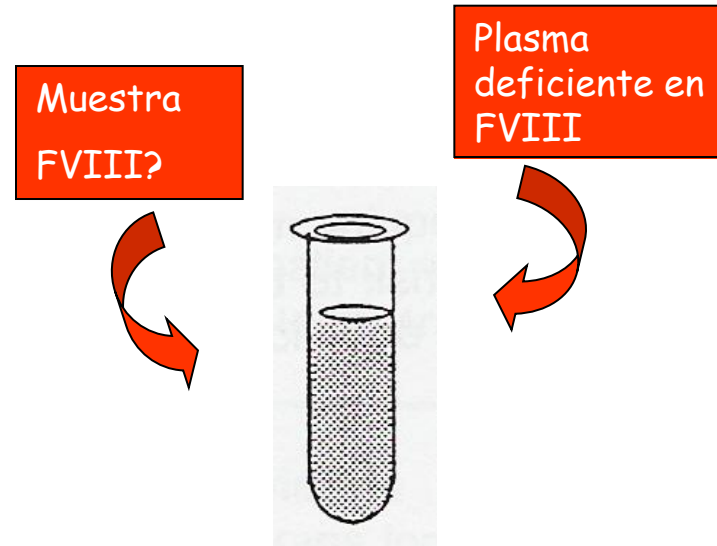


Es útil para establecer tipos y subtipos de EVW

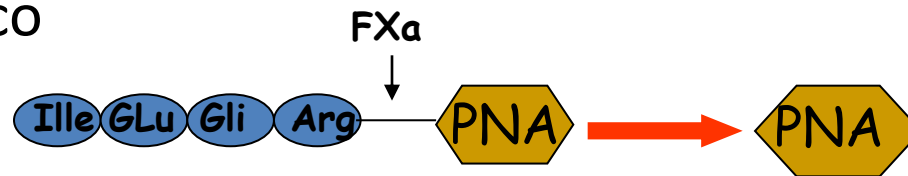
Es una técnica compleja y difícil de estandarizar

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

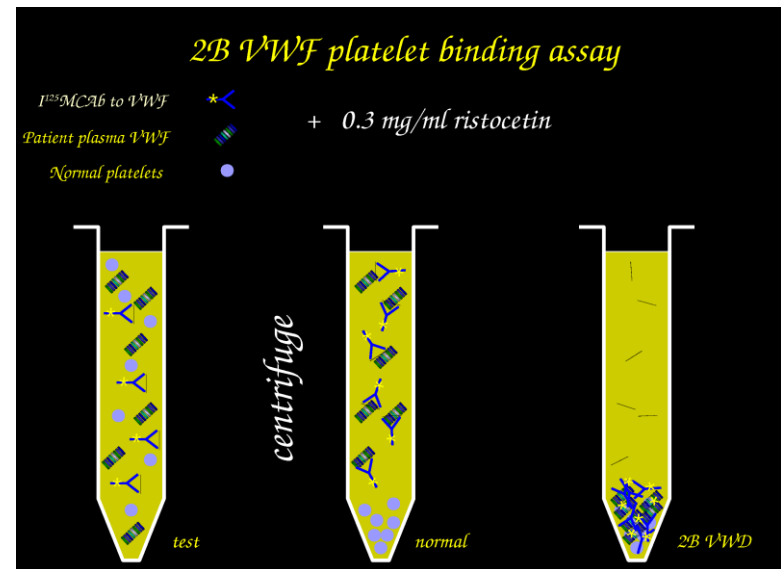
- ✓ **Mide la afinidad del FvW del plasma por el FVIII.**
- ✓ Se determina aislando el FvW del paciente por inmunoadsorción y enfrentándolo a FVIII exógeno purificado. Esta unión se evidencia por método cromogénico o mediante ELISA.
- ✓ **SE RECOMIENDA REALIZAR CUANDO EL RATIO $FVIII:c/FvW:Ag < 0.5$, 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 vWF:Ag; vWF:RCo así como el patrón multimérico en plaquetas lisadas.

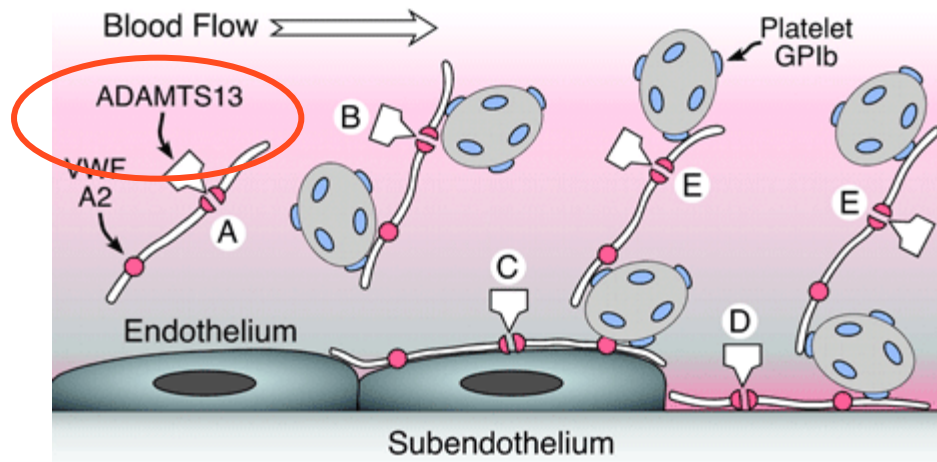
FACTOR VON WILLEBRAND PLASMÁTICO UNIDO A PLAQUETAS

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 vWF normal)

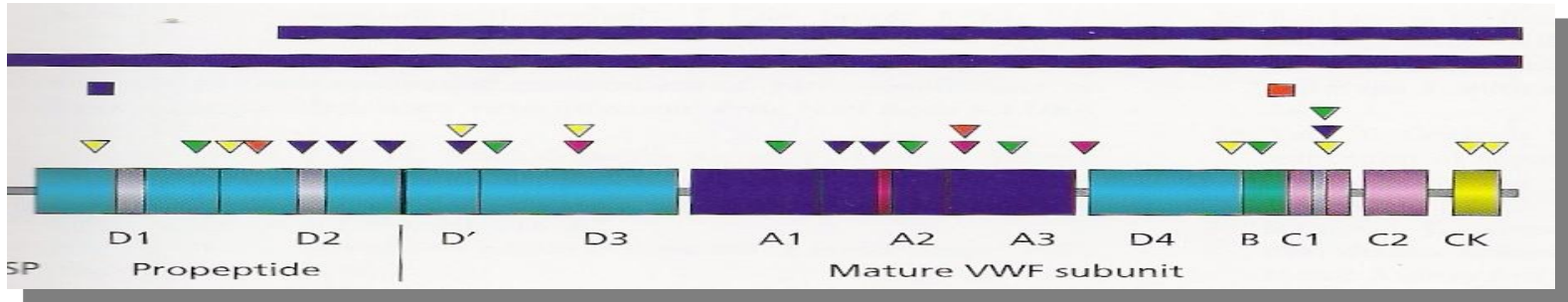
OTRAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

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.

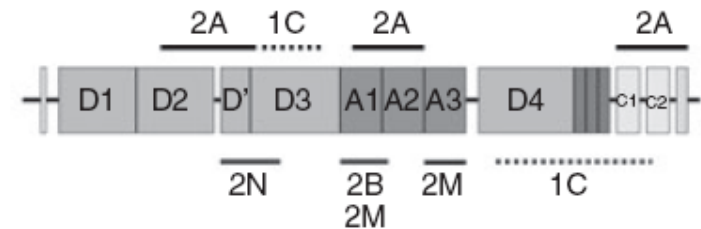
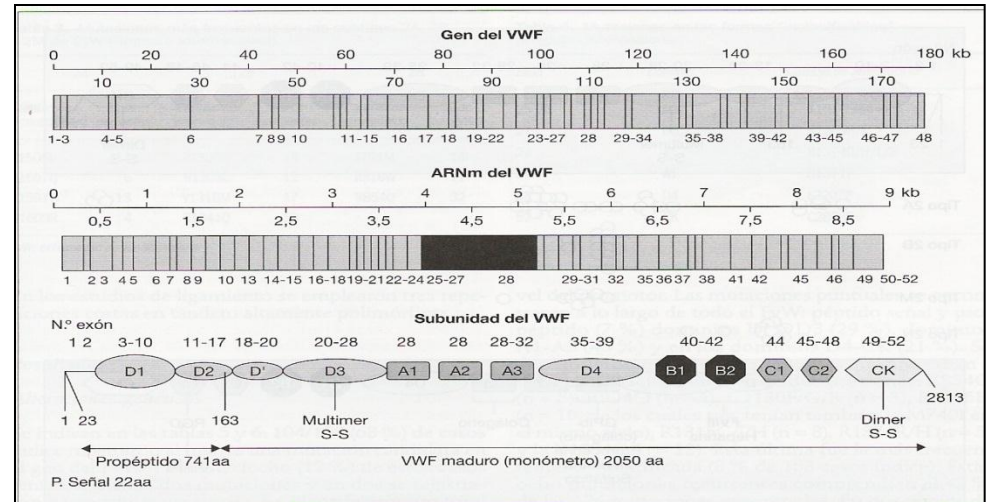
ANTICUERPOS ANTI-FVW: se detectan:

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

OTRAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

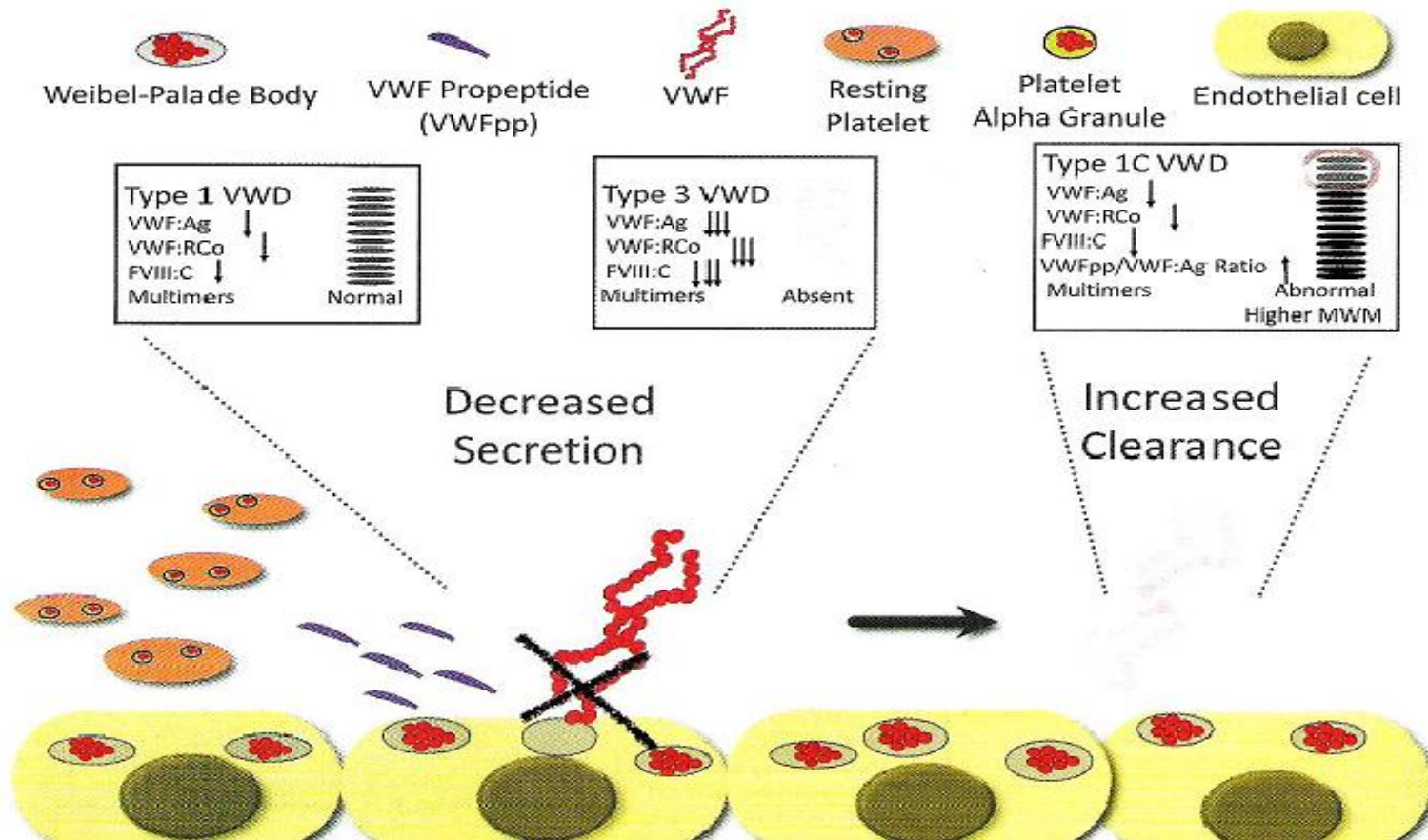
ANÁLISIS DEL DNA:

- ✓ 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).

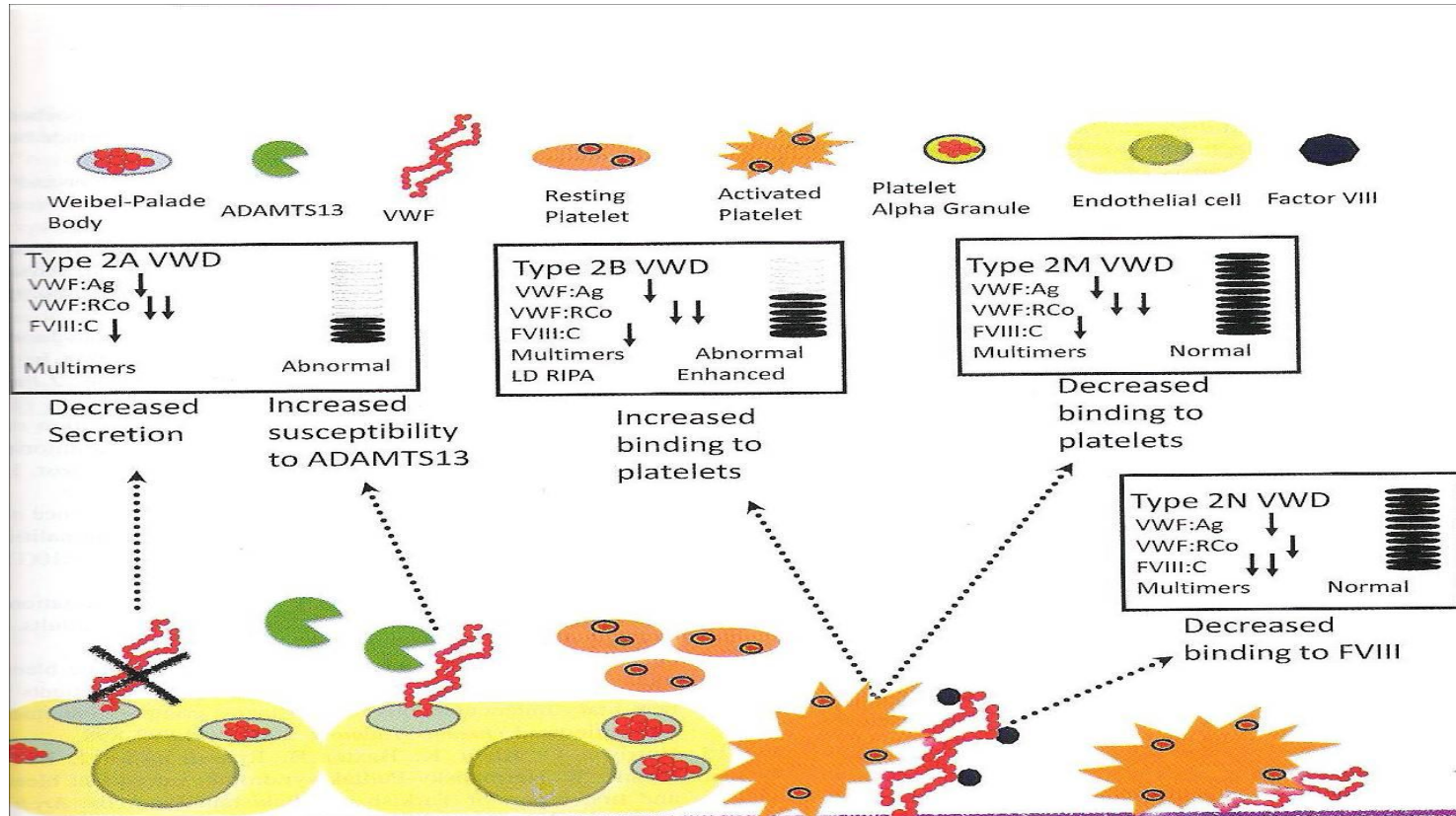


Location of type 2 and type 1C VWD mutations

CARACTERÍSTICAS DE LOS SUBTIPOS (I)



CARACTERÍSTICAS DE LOS SUBTIPOS (II)



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**