

Válasz Vásárhelyi Barnának a
VELESZÜLETETT ÉS SZERZETT RIKA HEMOSZTÁZIS BETEGSÉGEK
PATOGENETIKÁJÁNAK VIZSGÁLATA, DIAGNOSZTIKÁJÁNAK ÉS
TERÁPIÁJÁNAK FEJLESZTÉSE

c. disszertációjáról alkotott opponensi bírálatára

Először is hálásan köszönöm az időt és energiát, amit professzor úr a hosszú disszertáció áttanulmányozására és kritikai elemzésére fordított! Másodszor köszönöm az elismerő szavakat, amelyekkel a dolgozatban összefoglalt munkát értékelte. A fölvetett kilenc érdekes kérdésre azok sorrendjében az alábbiakban válaszolok:

1. Az első kérdés a súlyos 1-es típusú VWB vizsgálatához választott 20 IU/dl vágóérték kapcsán a VWB laboratóriumi diagnosztikájának egyik izgalmas területét érinti: a VWF plazmaszintjét számos genetikai és környezeti hatás befolyásolja, és ezért a kóros és egészséges közti határérték meghatározása egyáltalán nem triviális kihívás. Ami az idézett vizsgálatot illeti, a **(a)** 20 IU/dl alatti aktivitás és antigén szint a **(b)** minden generációt érintő (100% penetranciájú domináns öröklődésmenet társkritériummal együtt, valóban körülhatárolt egy nem nagyon gyakori, de egységes betegcsoportot az 1-es típusú VWB-en belül. Összehasonlításként: az 1-es típusú VWB betegek többségét a változó penetrancia és expresszivitás, valamint a 20 IU/dl-nél magasabb, inkább 20-50 IU/dl közötti VWF szint jellemzi. Tehát vizsgálatunk szempontjából nagyon hasznosnak bizonyult az alacsony határérték választása. De a kérdés kapcsán érdemes kitérni két problémára, ami a kóros és egészséges közti különbségtételt illeti. Az egyik a vércsoport szerepe. Ismert, hogy a 0 vércsoportú egészségesek VWF szintje átlag 25%-al alacsonyabb, mint a nem-0 vércsoportúaké. Emiatt ismételtén fölmerült a kérdés: van-e létjogosultsága a vércsoport-specifikus VWF normál értékek bevezetésének. Sok vita után a jelenlegi álláspont¹ az, hogy nincs, mivel a vérvészesség a vércsoporttól függetlenül függ össze a VWF szintekkel. A másik probléma abból a régi megfigyelésből következik, hogy az egészséges és az 1-es típusú VWB populációk VWF szintjei jelentős átfedést mutatnak² (vagyis az egészségesek egy jelentős részénél mérhetünk <50 IU/dl VWF szintet). Mivel azt is régóta tudjuk, hogy vérvészesség panaszok az egészséges emberek közt is gyakran előfordulnak³, az ilyen jellegű panasz és alacsonyabb VWF pusztán statisztikai koincidencia alapján sem ritka, és nem föltétlen jelent ok-okozati összefüggést. Ennek következménye a világszerte észlelt paradox helyzet, hogy a von Willebrand betegség egyszerre alul- és túldiagnosztizált. A jelenleg talán legszélesebb körben elfogadott irányelv¹ ezt a diagnosztikai kritériumok szigorításával (<30 IU/dl VWF, vagy 30-50 IU/dl és klinikailag jelentős vérvészesség együttes fennállása) igyekszik feloldani. A súlyos VWB (<20 IU/dl) esetén a környezeti hatások már minimális mértékig befolyásolják csak a VWF szinteket. Ebben a betegcsoportban ezért nem rögzítettük sem a gyógyszereszedést sem az esetleges gyulladáshoz kapcsolódó paramétereket. Megjegyzendő, hogy az értékek ismételtén ilyen alacsony tartományban voltak, így a környezeti hatások szerepe valószínűtlen.
2. A második kérdés a diagnosztikai laboratóriumok által használt különféle módszerek közti különbségek *mindennapi diagnosztikában való gyakorlati jelentőségére* vonatkozik. A válasz összetett: a mindennapi gyakorlatban használt módszerek szűrésre alkalmasak, de kóros érték esetén már nem mindegy, hogy azt hogyan mutattuk ki. A fejezetben leírt mérési különbségek egy része az ELISA módszerre szorítkozott, és bár biokémiaiailag nagyon érdekes, a mindennapi diagnosztikát nem érinti, mivel ELISÁt a rutin laborok VWF aktivitás mérésre nem használnak. Mindazonáltal a vizsgált automatizált módszerek közt is találtunk lényeges különbségeket. E módszerek közül az Európai Unióban az IVD-R (*In Vitro Diagnostic Regulation*) szabályozás miatt az AcuStar rendszernek egyelőre nincs uniós engedélye, így a továbbiakban e módszerre sem térek ki. Ha tehát a fentieket leszámítjuk, akkor a következő lényeges különbségekre kell figyelnie a klinikusnak és laboratóriumi szakembernek: **(a)** a **ristocetin** használó módszerek bizonyos polimorfizmusok (pl. a p.P1467S) esetén a VWF aktivitást tévesen alacsonyra mérik. **(b)** a **VWF:Ab** teszt bizonyos mutációkra (pl. p.V1665E, vagy p.G1324A) kevésbé érzékeny mint a többi teszt

(fölvetve a lehetőségét, hogy az eredmények más mutációknál is eltérhetnek). **(c)** az egyes mérő eljárások eltérően lehetnek érzékenyek bizonyos zavaró faktorokra (pl. heterofil antitestek jelenlétére). Mi a HemosIL **VWF:GPIbR latex agglutinációs** tesztnél észleltünk ilyen hibát két esetben. Végül fontos megjegyezni, hogy az egészséges kontrollok esetében valamennyi módszer egyöntetűen jól szerepelt. Mindebből tehát az a következtetés vonható le, hogy bármely módszer alkalmas szűrésre, és a normál értékek megbízhatóan elfogadhatóak. Azonban a kóros értékeket egy eltérő módszerrel ellenőrizni kell. A VWF biológiai variabilitása miatt az ismétlés egyébként is tanácsos, ezért ez a beteg számára nem jelent extra megterhelést, de feltételezi a módszerekben járatos klinikus és laboratóriumi szakorvos értő együttműködését.

3. A harmadik kérdés a VWF aktivitás mérések preanalitikai problematikáját érinti, ami szintén fontos klinikai kérdés. A hemosztázis vizsgálata általában érzékeny a vérvétel során, vagy a minták szállítása és feldolgozása közben föllépő hibákra, illetve a mintának a méréstől független olyan jellemzőire, mint a hematokrit, bilirubin, vagy a lipid szint – ezek összességét nevezzük preanalitikai hibáknak. Szerencsére a VWF fehérje stabil struktúra, a fentiek közül csak néhány potenciális hibára kell odafigyelni⁴. A VWF szintek mérését szobahőn akár 1-2 napig tartó szállítás sem zavarja. Viszont a hűtött (4 fok) szállítás során a trombociták aktiválódása révén a nagy méretű multimerok aránya és így az aktivitás is csökken, ami hamis eredményekhez vezet. Késleltetett analízis esetén fontos a trombocita-mentesített plazma fagyasztása, ami egyszeri felolvasztás utáni helyes összekeverés esetén nem zavarja a korrekt mérést. Azonban ismételt fagyasztás-felolvasztás nincs kellően vizsgálva, ezért a legtöbb labor kerüli az újrafagyasztott minták mérését. A mi esetünkben a trombocita-mentesített plazma minták egy része az elhúzóó vámvizsgálat miatt olvadt föl a szállítás során, és ismeretlen ideig volt szobahőn, amíg a laborban újra sikerült lefagyasztani. Minthogy erre a preanalitikai helyzetre nincsenek megfelelő vizsgálatok, ezeket a mintákat – a körülményekből fakadó variabilitás minimalizálása érdekében – jobbnak láttuk a legtöbb összehasonlításból kizárni. Viszont – mivel rendelkezünk az adatokkal – érdemes volt megvizsgálni, hogy vajon okozott-e szisztematikus eltérést ez az ismételt fagyasztás-olvasztás. Némi meglepetéssel azt tapasztaltuk, hogy **nem okozott**. Így végül a 2B betegek elemzésébe ezeket a mintákat is bevettük, mivel ezek nélkül különösen kevés minta állt volna rendelkezésre.
4. A negyedik kérdés az első kérdésre adott válaszban futólag már érintett földérintetlen enyhe VWB betegek esetleges szűrővizsgálattal való fölkeresésének lehetőségeire irányul. Ez amiatt összetett probléma, hogy a szervezetben a vérzés kontrollálása rendkívül sokrétű, és a szerepet játszó tényezők egy jelentős részben jelenlegi vizsgálatainkkal nem is megközelíthetőek. Emiatt a von Willebrand faktor antigén és aktivitási szintje önmagában csak az egészen alacsony szintek esetén korrelál a klinikai vérzékenységgel, az itt szóban forgó enyhe csökkenés önmagában nem jelent vérzékenységet. A teljesen egészséges egyének VWF szintje igen széles tartományban átfedésben van az enyhén vérzékeny 1-es típusú VWD betegcsoport szintjeivel². A diagnózishoz tehát komplex megközelítés szükséges, ami a laboratóriumi vizsgálaton kívül részletes vérzékenységi és családi anamnézist is magában foglal. Figyelembe kell venni, hogy a vérzékenység helytelen diagnózisa ugyanolyan káros, mint a valódi vérzékenység diagnózisának elmaradása. Gondolhatunk a pszichés károokra, biztosítási problémákra vagy akár fontos sebészi segítség késlekedésére vagy elmaradására. Tehát egy keskeny ösvényen haladunk a túldiagnosztizálás és aluldiagnosztizálás között, és egyszerű frappáns megoldás nem létezik. Amivel – véleményem szerint – valóban javítani lehetne az aluldiagnosztizált VWB mértékén az nőgyógyász és más invazív szakmák számára olyan ismeretterjesztő programok, amelyek révén a lokális okkal nem magyarázható menorrhágiás (mint leggyakoribb manifesztáció), vagy egyéb vérzékes tünetek esetén a betegek hemosztázis szakemberhez kerülhetnek.
5. Az ötödik kérdés a 3WINTERS-IPS study etnikai hátterének részleteire irányul. A vizsgálatban azt találtuk, hogy a vérzékes tünetek tekintetében nincs lényeges különbség a populációk között, de a 3-as típusú VWB genetikai háttere éles különbségeket mutat: A 154 mutációból, amelyeket a vizsgálatban azonosítottunk, mindössze 5 volt olyan, amely mindkét kontinensen is előfordult – ez föltétlenül arra utal, hogy a két populáció között nincs vagy minimális az átfedés. Másrészt a homozigóta mutációk aránya lényegesen nagyobb Iránban: a 87 nem

rokon családból 77 (92%), míg ugyanez az arány Európában 57/100, vagyis 57%. Ez nyilvánvalóan az iráni lakosság körében jóval magasabb rokon házassági arányra utal, bármi is legyen a pontos etnikai háttér. A kérdésre válaszolva a vizsgálatban sem ez európai sem az iráni betegek etnikai hovatartozását nem rögzítettük, így a kérdésre egészen pontos válasz nem adható. Irán lakossága valóban heterogén, a lakosoknak csak alig valamivel több, mint 60%-a perzsa. A legnagyobb kisebbség valóban az azeri. Azonban az irodalmi adatok szerint a kisebbségekhez tartozó lakosság területi megoszlása távolról sem egyenletes, így a vizsgálatban részt vevő centrumok elhelyezkedése szolgáltathat a becsléshez háttér információval: A részt vevő nyolc centrum közül négy teheráni központ volt. Teherán túlnyomó többségben perzsa lakosságú, ahogyan Shiráz és Iszfahán is. A fennmaradó két centrum perifériásabb elhelyezkedésű, Irán Iraqhoz (Ahvaz) illetve Törkmenisztánhoz (Meshed) közel eső tartományaiból. Ők kevesebb beteget válogattak a studyba, mint a nagyvárosok centrumai, így többé-kevésbé biztosak lehetünk benne hogy a betegek többsége valóban perzsa volt, de az arab vagy lúr (Ahvaz) illetve türkmén, azeri, kurd vagy afgán (Meshed) kisebbség képviselője nem zárható ki a jelenleg rendelkezésre álló információk alapján. Jóval kisebb számban élnek egyébként Iránban örmények, asszírok és zsidók is, statisztikai alapon jóval kisebb az ő jelenlétük valószínűsége a mintában. Sajnos az elérhető adatok nem adnak lehetőséget arra, hogy Irán lakosságán belül pl. a rokon-házasságok etnikai heterogenitását vizsgáljuk. A magyar kohorszban roma származású személy nem szerepelt.

6. A hatodik kérdés a trombofilia vizsgálatok időzítését érinti, és fölveti, hogy a gyulladásos állapotokra is figyelemmel kellene lenni az időzítés pontos kialakításakor. Nagyon érdekes kérdés, és sokat gondolkodtam rajta, hogy vajon miért nem szerepel ez a szempont egyetlen irányelvben sem. Hiszen elvi megfontolások alapján valóban kihatással van az akut fázis reakció pl. a protein S szintre – a PS hordozó fehérjeje a C4b kötő fehérje (C4BP) akut fázis fehérjének számít, amelynek szintje emelkedik a gyulladásos reakció során, ezzel nagyobb arányú szabad PS fehérjét kötve meg, ami PS aktivitás csökkenéséhez vezethet. A magyarázat valószínűleg abban rejlik, hogy a gyakorlatban az egyértelmű időzítésbeli megkötések olyan elektív időpontban való trombofilia vizsgálatot követelnek, amikor a trombózis körüli akut reakció már hónapokkal korábban lezajlott, és az antikoaguláns kezelést ki lehet hagyni annyi időre, hogy azok jelenléte a vizsgálatokat ne zavarja. Elektív vizsgálatokról lévén szó, egy interkurrens betegség gyulladásos reakciója általában a vizsgálat halasztását szokta magával vonni, ezért lehet, hogy ezt külön tiltani nem szükséges. Mindenesetre tény, hogy hosszas kutató munka után se találtam egyetlen olyan alapos klinikai vizsgálatot sem, amely a gyulladásos reakciónak a trombofilia vizsgálatokra kifejtett hatását vizsgálta volna – így marad a fenti elméleti okfejtés.
7. A hetedik kérdés a trombofilia vizsgálatok nemzetközi és hazai gyakorlatát érinti. Sajnálatos módon az indokolatlan kérések aránya a hazai és az amerikai gyakorlatban egyaránt igen magas. Ezt az USÁban csak kis részben magyarázhatja a műhibaperektől való félelem. Ugyanis általános tapasztalat, hogy a pereket egyetlen módon lehet hatékonyan megelőzni, és ez a helyes kommunikáció. 100%-ban persze soha nem lehet kizárni, hogy egy szerény körülmények közt élő beteg (vagy pláne: hozzátartozói) az óriási összegekkel kecsegtető ügyvéd tanácsára mégis él/élnek a perlés jogával, de aki emberséges módon, időt rászánva a saját nyelvén képes beszélgetni a betegekkel és hozzátartozóikkal, az sokkal kevésbé van kitéve a műhiba per veszélyének, mint a praxis sodrába belekerült átlag amerikai orvos. Ebben a képletben alig szerepelnek az elrendelt vizsgálatok – különösen olyanok, amelyek az általános elfogadottságot élvező guideline-ok egybevágó javaslatára szerint NEM INDOKOLTAK. Mi tartja akkor fenn az orvosokban a trombofilia vizsgálat elrendelésének reflexét Amerikában is, Magyarországon is? Megszokás? A felelősség megosztásának fals képzelet? Erre tudományosan megalapozható magyarázattal nem tudok szolgálni. Viszont a kérdés utolsó részére pontosan lehet válaszolni: az ami hiányzik a legtöbb dokumentációból, pedig a leginkább értékes információ a klinikai döntések szempontjából az a **részletes anamnézis**. A VTE kialakulásának részletei az esetleges provokáló tényezők (pl. lábtörés vagy major műtét) jelenlétének vagy hiányának említésével, a trombózis disztális vagy proximális jellege – mindez a legritkább esetekben lelhető fel a mindennapi dokumentációkban, noha a döntésekben ezek a tényezők kell, hogy a döntő szerepet

játsszák. Mindezek fényében látható, hogy a trombofiliák tekintetében jelenleg a túldiagnosztizálás mértéke sokszorososan meghaladja az aluldiagnosztizálás problémáját, noha nyilván van diagnózis nélkül maradt súlyos antitrombin hiány, vagy antifosfolipid szindróma, nem beszélve az olyan ritka betegségekről, mint a PNH vagy a HIT. Sajnos az elmaradt diagnosztikával kapcsolatos számszerű statisztikáról nincs tudomásom, és nem is tudom, hogyan lehetne ezt megbecsülni. Egy lehetőség lehetne hasonló országok prevalenciáival való összehasonlítás, de tudtommal Magyarországon nem áll rendelkezésre trombofiliákat érintő ilyenfajta statisztika.

8. A nyolcadik kérdés a CyDRi protokoll során a beteg monitorozásának kérdését veti föl. Az 1 g i.v. cyclophosphamid ellenére a CyDRi protokollt még az igen idős, és egyébként esendő betegek is nagyon jól tolerálják. Így a hasonló protokolloknál megszokott módon a hetente nézett vérképen túl nincs szükség speciális tesztekre a betegek követése során. A heti 100 mg Rituximab lényegében minden esetben teljes B-sejt ablációt eredményez – ennek laboratóriumi követése vagy dokumentálása a rutin kezelés során felesleges (tudományos céllal való dokumentálás flow citometriával lehetséges). Természetesen a FVIII szintet és az inhibitor mérő Bethesda tesztet folyamatosan követni kell. A gyakoriságra nincs előírás – a biztonságosnak gondolt 50%-os FVIII szint eléréséig hetente-kéthetente érdemes újra mérni.
9. Végül, a kilencedik kérdés az SLE-s betegpopulációban végzett vizsgálat során az általános kardiovaszkuláris rizikótényezők (dohányzás, ösztrogén hatás, vérnyomás, diabetes, koleszterin, stb) jelentőségét veti föl. Ebben a vizsgálatban a trombózis kockázati tényezőit vizsgáltuk egy SLE-s betegcsoportban retrospektív módon. Ebből a szempontból az ismert általános jellegű kardiovaszkuláris rizikótényezők is természetesen fontosak, hiszen ezek a rizikók kumulatív jelleggel összeadódnak a tromboembóliák kialakításában. Sajnos az adatbázisban nem volt megbízhatóan elérhető minden erre vonatkozó információ (pl. az ambuláns lapok és kórlapok ha meg is említették a dohányzást vagy ösztrogén antikoncepciensek használatát, annak kezdetét és elhagyását nem lehetett követni, és sok esetben teljesen hiányoztak ezek az információk. Ezért döntöttünk úgy, hogy ezt az elemzést az elérhető trombofiliákra korlátozzuk. SLE-ben a szokványos rizikótényezőkön túl számos faktor járul hozzá a tromboembóliák magas kockázatához, ezért több munkacsoport is kifejlesztett SLE-specifikus kockázati modelleket. E modellek ugyan pontosabban jelzik a kardiovaszkuláris rizikót, de egy nemrégben közölt tanulmány⁵ tanúsága szerint az antifosfolipid antitest pozitívitas így is a legjelentősebb önálló rizikófaktor – mindez alátámasztja a mi adatainkat.

Végül újra megköszönöm az elismerő szavakat, és remélem, hogy a fenti válaszok megfelelően világították meg a fölmerült kérdéseket.

Budapest, 2024. november 25.



Bodó Imre

IDÉZETT IRODALOM

1. James PD, Connell NT, Ameer B, et al. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood Adv.* 2021;5(1):280-300.
2. Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, Marks WJ, Jr., Montgomery RR. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood.* 1987;69(6):1691-1695.

3. Sramek A, Eikenboom JC, Briet E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Usefulness of patient interview in bleeding disorders. *Arch Intern Med*. 1995;155(13):1409-1415.
4. Favaloro EJ, Lippi G. Preanalytical issues that may cause misdiagnosis in haemophilia and von Willebrand disease. *Haemophilia*. 2018;24(2):198-210.
5. Panopoulos S, Drosos GC, Konstantonis G, Sfikakis PP, Tektonidou MG. Generic and disease-adapted cardiovascular risk scores as predictors of atherosclerosis progression in SLE. *Lupus Sci Med*. 2023;10(1).