

Themadag NVTH Werkgroep Hemostase Diagnostiek 15 maart 2012

De jaarlijkse Themadag vond dit jaar plaats in het Erasmus Medisch Centrum te Rotterdam, thema 'Von Willebrand Diagnostiek'. Er waren 42 deelnemers afkomstig van 19 instellingen.

Als gastsprekers waren aanwezig Dr. Marieke Kruij (Erasmus MC), Dr. Moniek de Maat (Erasmus MC) en Dr. Piet Meijer (ECAT).

Als inleiding op het onderwerp voor de volgende themadag (maart 2013) waarin de nieuwe antistollingsmiddelen centraal zullen staan, heeft Dr. Thomas Bergmeijer (St. Antonius Ziekenhuis Nieuwegein) als gastspreker een presentatie gegeven.

Programma:

- 9.30-10.00 Ontvangst met koffie.
- 10.00-10.15 Welkom en mededelingen door de voorzitter (Paul Verhezen).
- Er staat een link op de NVTH website (www.nvth.nl) naar de WHD (Werkgroep Hemostase Diagnostiek) waar het programma en verslag teruggelaten kunnen worden van deze dag. Op deze website staat tevens het e-mail adres (WHD@mumc.nl) waarop vragen gesteld kunnen worden, die weer beantwoord zullen worden vanuit de stuurgroep.
 - Aanwezigen dienen lid te zijn van de NVTH aangezien wij een subgroep van de NVTH zijn.
 - Volgende themadag is in maart 2013 in het LUMC te Leiden met als thema "Nieuwe antistollingsmiddelen".
- 10.15-11.00 *State of the art: Von Willebrand diagnostiek (dr. M. Kruij, Erasmus MC Rotterdam)*
Interessant en duidelijk verhaal over de diagnostiek van von Willebrand ziekte, met een blik vanuit de kliniek hierop.
De presentatie begon met de geschiedenis van von Willebrand, ontdekt in 1926 als "pseudo hemofilie A", waarbij de bloedingsklachten zowel bij het mannelijk als het vrouwelijk geslacht aanwezig waren. Pas 30 jaar later werd dit benoemd als ziekte van von Willebrand. De ziekte van von Willebrand (vWD) is de meest voorkomende erfelijke (autosomaal dominant/recessief) bloedingsziekte, met een prevalentie van 0.5-1:100 in de algemene bevolking. De meeste patiënten hebben de milde vorm, type 1 vWD ($\pm 70\%$, kwantitatief). De matig-ernstige en ernstige vorm (kwalitatief), waaronder type 2 ($\pm 25\%$) en type 3 ($\pm 5\%$) en sommige type 1 patiënten, komt veel minder vaak voor. Deze groep patiënten heeft een von Willebrand Factor gehalte van 30% of lager.
Type 2 is verder onder te verdelen in:
Type 2A: verlaagde affiniteit trombocyten (hoge multimeren ontbreken)
Type 2B: verhoogde affiniteit trombocyten (hoge multimeren ontbreken)
Type 2M: normaal multimeren patroon en verlaagde affiniteit trombocyten
Type 2N: klinische symptomen lijken erg op hemofilie A, het vWF kan zich niet binden aan FVIII.
- Na activatie ontvouwt het vWF zich en grijpt vast op de trombocyten en tegelijkertijd start de secundaire hemostase (stollingscascade). vWF ligt op chromosoom 12 en bestaat uit multimeren. De plasma spiegels van vWF variëren sterk door:
- ABO bloedgroep: Er is een hogere klaring van het vWF bij mensen met bloedgroep O, waardoor de vWF spiegels bij hen lager zijn.
 - Hormonen: Bij vrouwen is het cyclus afhankelijk hoe hoog de vWF spiegel is. Tijdens de menstruatiecyclus is op dag 10 het laagste punt van vWF activiteit bereikt en na 2 weken het hoogste punt.
 - Zwangerschap: Tijdens de zwangerschap stijgt het vWF, maar deze zakt ook weer heel snel na de bevalling. In het Erasmus MC worden zwangere vrouwen met ziekte van von Willebrand (onafhankelijk van welk type vWD) getest in week 30-32 of hun vWF hoog genoeg is voor de bevalling. Deze vrouwen mogen niet thuis bevallen.

- Stress: spanning, OK, trauma en lichamelijk inspanning verhogen de vWF activiteit. Hierdoor kunnen patiënten met matige vWD gemist worden.

Wat zeer belangrijk is bij het stellen van de diagnose van vWD naast de laboratorium diagnostiek is de **anamnese**: Klachten/ingrepen/medicatie en andere ziekten moeten worden nagevraagd. Daarnaast moet er worden geïnformeerd naar bloedingsklachten bij de patiënt zelf of bij familieleden.

Om te voorkomen dat elke patiënt met bloedingsklachten wordt onderzocht op vWD, maakt de arts ook gebruik van een zgn. bloedingsscore (vlgs Toretto). Het aantal punten per vraag in deze vragenlijst kan een ondersteuning geven aan de diagnose. Hoe hoger de score, hoe groter de kans op diagnose vWD (uitgezocht in de WIN studie).

De klinische symptomen bij de ziekte van von Willebrand zijn:

Slijmvliesbloedingen (m.n. neus/tandvles), hematomen, nabloedingen na kiesextractie of tonsillectomie en bij vrouwen hevige menstruatiesbloedingen en bloeding postpartum (na paar dagen, als het vWF weer is gedaald).

De bestaande labtesten voor de diagnose vWD worden later door dr. M. de Maat besproken.

De diagnosestelling van vWD type 1 blijft een probleem: De waarden van het vWF complex zijn sterk variabel door ABO bloedgroep, hormonen en stress en er moet meerdere malen worden getest om vWD uit te sluiten ofwel vast te stellen. Na 2x normale labuitslagen (soms pas na 3x) van het vWF bloedonderzoek, sluit men in het Erasmus MC de ziekte van von Willebrand uit.

Behandeling vWD:

DDAVP: Geeft 2 tot 6x stijging van het vWF (m.n. bij type 1 en 2A). DDAVP kan intraveneus, intra nasaal en evt. subcutaan (in buitenland) worden toegediend.

Na toediening van DDAVP wordt er na 1, 3, 6 én 24 uur getest op het effect van DDAVP op het vWF complex. Er wordt niet meer dan 3 dagen achter elkaar DDAVP toegediend, daar de hoeveelheid vWF uit het endotheel dan is uitgeput.

De respons op DDAVP helpt ook om beter onderscheid te maken tussen de verschillende types:

Type 1 : meestal werkzaam
 Type 2A en 2M : meestal niet werkzaam
 Type 2B : contra indicatie
 Type 2N : zelden werkzaam
 Type 3 : niet werkzaam

Andere behandelingen:

Haemate-P (werkzaam bij type 2B, 2A en 2M), FVIIa (type3) en fibrinolyse remmers. (tranexaminezuur bij kiesextractie/menstruatie)

Concluderend kan gezegd worden dat de ziekte van von Willebrand een heterogene ziekte is, die zeer frequent voorkomt. De diagnose is niet altijd eenvoudig en eenduidig te stellen. Er moet een goede anamnese (met bloedingsscore) worden afgenomen, waarna tezamen met de uitslagen van de labtesten (meerdere meetmomenten) en evt. respons op DDAVP een diagnose gesteld kan worden. De klinische informatie is essentieel evenals een goede samenwerking tussen arts en laboratorium!

11.00-11.15 Pauze

11.15-12.00 *vWD op bepalingniveau (dr. M. de Maat, Erasmus MC Rotterdam)*

Er zijn een aantal laboratorium testen bij verdenking op vWD benoemd en besproken:

1. PFA 100
2. vWF ag/act en FVIII
3. Collageenbindingsassay
4. vWF multimeren
5. vWF-FVIII bindingsassay
6. ADAMTS 13

Ad1. M.b.v. verschillende gecoate membranen (collageen-epinefrine en collageen-ADP) wordt het bloed gescreend op aanwezigheid van vWD. Na een verhoogde CT (closure time) bij coll.-epi, wordt ook de coll.-ADP ingezet. Geeft de laatste een normale CT, dan kan er een link zijn naar vWD (de kans op aspirine gebruik is dan meer waarschijnlijk), maar bij een verhoogde CT van beide testen is er een hoge kans op de aanwezigheid van vWD. Er zijn een aantal belangrijke voorwaarden met het meten m.b.v. PFA: Trombocyten aantal > 80×10^9 en HT >0.28. Binnen max. 4 uur na bloedafname moet het zijn getest en het bloed moet op kamertemp worden bewaard.

Ad2. vWF antigeen wordt bepaald m.b.v. een Elisa. Voor de vWF activiteit blijft vWF:RiCoF de belangrijkste bepaling (aggregatiemethode en vermindering van turbiditeit). Andere testen op de markt voor het meten van vWF act. zijn HeamosIL (IL), meet direct vWF door binding aan Moabs op latex. IL heeft nog een nieuwe test, waarbij latex gecoat is met recombinant GPIb.

Siemens heeft ook een nieuwe test: Innovance, principe gebaseerd op latex gecoat met recomb. GPIb GPIb met gainof function mutatie G233V/M239V. voor meer informatie t.a.v. beschikbare vWF activiteit bepalingen zie ook <http://www.ecat.nl/assays/> (inloggen met ECAT deelnemer inlogcode noodzakelijk).

Ad3. Collageenbindingsassay: Voor een optimale meting is coating m.b.v. type 1 én 3 collageen een must. Daarbij heeft het lab van Erasmus MC getest dat je hiervoor het beste de microtiterplaat van Costar kunt gebruiken, waarbij minimaal 3 dagen moet worden gecoat en binnen 8 dagen moet worden gebruikt voor de meting.

Ad4. Multimeren onderzoek: elektroblotten vs capillair blotten: capillair blotten geeft duidelijkere banden en verschillen tussen HMW en LMW multimeren. Door variatie met % agarose, elektrofose tijd en aantal volt is de test geoptimaliseerd en zijn de lage multimeren (banden) beter zichtbaar. In het Erasmus MC heeft men normaalwaarden van de satellietbanden bepaald na scannen. Gem: 0.4 % (0-1.2%)

Ad5. ADAMTS13 = test voor diagnosestelling van TTP en meet alle vWF cleaving proteases. ADAMTS 13 zorgt voor vermindering van collageen binding. Er zijn 3 verschillende testen, die pat. met TTP kunnen meten, maar er zijn veel verschillen in waarden bij gezonde vrijwilligers.

Er zijn nog overige testen genoemd: Sequencing van het vWF: Mutaties op het A domein, die de verschillende type vWD (type 2A/2B/2M) kunnen bevestigen. Sialzuur gehalte in vWF in ATTAC: In deze test is vWF onafhankelijk van leeftijd en bloedgroep.

12.00-12.30 *ECAT rondzending: Kunnen we wel goed type 1 en type 2 patiënten onderscheiden? (dr. P. Meijer, ECAT).*

von Willebrand Factor antigeen:

Wat betreft de resultaten van de bepaling van het vWF antigeen is de tussen lab variatie acceptabel. Er zijn wel verschillen in % CV tussen de LIA-testen en de ELISA's, waarbij het % CV in de LIA testen beter is. De % CV zijn in de loop der tijd wel beter geworden, waarschijnlijk ook, omdat steeds meer laboratoria over zijn gegaan op LIA testen.

von Willebrand Factor activiteit:

De tussen lab variatie in het pathologische gebied is erg hoog en bij de normale monsters ook nog 10-20%. Dit heeft m.n. te maken met de complexiteit van de test. Door de tijd heen lijken ook deze CV's te verbeteren bij de deelnemers van de ECAT, maar dit is veel minder duidelijk dan bij de antigeen bepalingen.

Verder valt op dat bij het insturen van een normaal monster (zonder afwijking in het vWF) de uitslag van de activiteit vaak lager uitvalt dan van het antigeen. Hier heeft

Piet geen goede verklaring voor. De ratio vWFag/vWFact komt hierdoor soms wel schever te staan en ligt de ratio lager bij normale monsters en monsters met type 1 vWD. Bij type 2 vWD is de spreiding enorm.

De conclusie die wordt gevraagd aan de deelnemers bij de uitslagen van de ECAT enquête van normale monsters wordt vaak goed getrokken. Bij type 1 is dat redelijk vaak goed, maar m.n. zijn de conclusies bij een type 2 monster variabel of worden niet gegeven. Verscheidene labs durven aan de hand van de uitslagen van de verschillende vWF-testen geen conclusie te geven over het type vWD.

Conclusie: Op basis van de ECAT rondzending kunnen de meeste deelnemende laboratoria wel een type 1 vaststellen, maar bij type 2 moet er nog een verbeteringslag worden gemaakt.

12.30-13-30 Lunch

13.30-13:45 *Korte presentatie: vWD type 2 Normandy (Robbie de Jong, Erasmus MC).*
Interessante korte presentatie over de bepaling van vWD type 2N m.b.v. de bindingscapaciteit van FVIII aan vWF m.b.v. een home made Elisa.
Patiënten met vWD type 2N hebben verhoogde klaring van het FVIII, omdat vWF met een missense mutatie niet kan binden aan FVIII. De half waarde tijd van FVIII is normaal 12-18 uur, maar bij patiënten met vWD type 2N is deze slechts 2 uur.
M.b.v. een ELISA kan men de patiënten met type 2N differentiëren van hemofilie A.
M.b.v. een ratio (FVIII gebonden aan vWF : vWF antigeen) kan men type 2N herkennen. FVIII gebonden < 0.60 wijst op type 2N
Variabelen zoals eerder genoemd (ABO bloedgroep, hoogte vWF ag, vWF act, geslacht) hebben geen invloed op de test. Uit een klein onderzoek bij patiënten uit de WIN-studie bleek dat er een patiënt onterecht werd bestempeld als hemofilie draagster. Zij bleek na het testen met deze Elisa een vWD type 2N te hebben.
Uit deze resultaten komt de aanbeveling om meerder hemofilie A en vWD type 1 patiënten te screenen m.b.v. deze Elisa. Verder zal het hemostase lab van het Erasmus MC controlemonsters gaan uitwisselen met LUMC en UMC St. Radboud.

13:45-15:15 *Interactieve sessie o.b.v. questionnaire vWD + richtlijnen (Erik Jan van den Dool en Eline Liesting WHD)*
De besproken resultaten werden ter discussie gesteld en vergeleken met bestaande richtlijnen (indien beschikbaar) uit de literatuur. Hieruit bleek dat er veel verschillende werkwijzen zijn (m.n. in het bewaren en het ontdooien van de monsters, maar ook de meet momenten), om evenveel verschillende redenen.
Elke deelnemer heeft deze presentatie met conclusie op papier meegekregen (ook te vinden op de NVTH site). Conclusies: Er zijn alleen richtlijnen te vinden vanuit de kliniek, er is geen standaardisatie voor het laboratorium, maar er is wel een noodzaak voor richtlijnen voor de laboratorium testen. Verder ook hier de belangrijkste conclusie: Wisselwerking tussen kliniek en laboratorium is zeer belangrijk!

15.15-15.30 Pauze

15.30-16.15 *Nieuwe antistollingsmiddelen (T. Bergmeijer, arts –onderzoeker, Antonius ziekenhuis Nieuwegein)*
Mooi verhaal over bloeding of trombose bij gebruik van de nieuwe antistollingsmiddelen die op de markt beschikbaar zijn of komen. Deze presentatie richtte zich vooral op de nieuwe plaatjesremmers, zoals Prasugrel en Ticagrelor bij patiënten met ACS (acuut coronair syndroom) Prasugrel zou beter werken dan Plavix, maar geeft wel meer kans op bloedingen. Ticagrelor werkt sneller en is reversibel, maar heeft als vervelende bijwerking benauwdheid. Van beide middelen zijn de kosten hoger dan van Plavix. Dit geldt ook voor het middel Bivalirudine, een directe IIa remmer, alternatief voor combinatie heparine/Gpl. Voor dit middel is geen lab monitoring nodig en wordt intraveneus toegediend. Voordeel van dit middel is minder kans op bloedingen!

Concluderend is er tegenwoordig meer keus voor verschillende plaatjesremmers, maar is er wel meer kans op (ernstige) bloedingen. De arts kan meer personalized medicine toepassen, door bijv. in het begin een sterke plaatjesremmer te kiezen en dan terug switchen naar Plavix, om bloedingen te voorkomen.

16.15-16.30 Paul blikt terug op een interessante dag m.b.t. von Willebrand Diagnostiek. Hij bedankt Audrey Caciono en Rolinda Stigter van het Hemostase laboratorium van het Erasmus MC voor de goede organisatie. Hans van Daele geeft nog een rondleiding over het Hemostase laboratorium van het Erasmus MC. Verder wordt iedereen bedankt voor de komst, een goede terugreis en tot volgend jaar (maart 2013, LUMC Leiden).