

40e jaargang
nummer 2, 2012

Inhoudsopgave

Algemeen

21 In Memoriam dr. Anke van Geest

Opleiding

22 5 jaar cursus allround
medewerker trombosedienst

Symposia

23 Verslag SKS symposium:
(Anti)Stolling: Quo Vadimus?

Medisch

29 De structuur-functie relatie
van geactiveerd proteïne-C:
wat mutaties ons kunnen leren

33 Een nieuwe visie op het
antifosfolipidensyndroom

Externe kwaliteitscontrole

37 Educatieve post-analytische
INR-enquêtes

38 Externe kwaliteitscontrole van de
INR bepaling met Point-of-Care
coagulometers: is er verbetering
van de resultaten?

Colofon

Redactie
dr. A.M.H.P. van den Besselaar, biochemicus
drs. A. Horikx, apotheker
mw. O.D.M. Paauwe-Insinger, voorzitter
drs. M. Piersma-Wichers, internist

Wetenschappelijk eindredacteur
dr. K. Hamulyak, internist

Redactieadres
Bureau Federatie van Nederlandse
Trombosediensten
Postbus 100, 2250 AC Voorschoten

*Sluitingsdatum voor het indienen
van kopij voor Trombnibus 3-2012*
11 oktober 2012
ISSN: 1380-2232

In memoriam dr. Anke van Geest

Na een ziekteperiode met veel onzekerheden is Anke van Geest op 21 juni jl. overleden.



Anke van Geest

Sinds 1971 was Anke verbonden aan de Stichting Trombosedienst 's-Hertogenbosch en Omstreken waar ze tot september 2002 directeur en medisch leider was.

In de periode mei 1991 tot en met september 2002 was Anke tevens lid van het bestuur van de Federatie van Nederlandse Trombosediensten.

Binnen het bestuur was Anke in die lange periode iemand die nauwgezet zaken op een rij kon zetten, iemand met humor en iemand die altijd bereid was zaken op te pakken.

Door inspanningen van Anke werd in 1995 het 'Vademecum voor poliklinische antistollingsbehandeling met cumarinederivaten' afgerond, de voorloper van 'De Kunst van het doseren' (uitgave 2010), dat eveneens door Anke als voorzitter van de commissie standaardisering medisch handelen tot stand is gekomen en thans geldt als een richtlijn voor het medisch handelen in de trombosediensten, maar ook daar buiten. Haar voortrekkersfunctie in deze commissie was zeer groot en onmisbaar.

Naast haar bestuurslidmaatschap en haar werkzaamheden in de Trombosedienst 's-Hertogenbosch, heeft Anke in belangrijke

mate bijgedragen aan het opzetten van het kwaliteitssysteem voor de trombosediensten. Zij nam deze taak over van Tineke Gerrits, die hiertoe indertijd het initiatief had genomen maar het door ziekte niet heeft kunnen afronden. Tijdens dit proces werd Anke 'gegrepen' door het realiseren van kwaliteitssystemen leidend tot accreditatie en certificering van trombosediensten en nam zij de taak van voorzitter van de TAB-commissie op zich. Maar het ging verder, zij heeft als landelijk beoordelaar een grote rol gespeeld bij de opzet en de uitvoering van de audits in de trombosediensten. Onder haar verantwoordelijkheid werden 26 audits uitgevoerd en werden 26 kwaliteitscertificaten uitgereikt. Ankes geestdrift voor kwaliteit leidde aansluitend tot het ontwikkelen van opleidingstrajecten voor de doseeradviseurs en voor de algemeen trombosedienstmedewerkers.

In de ontwikkeling van beide cursussen heeft Anke een cruciale rol vervuld, maar ook aansluitend in het daadwerkelijk uitstekend onderwijs geven aan de doseeradviseurs.

Voor dit alles ontving Anke in 2006 de Jordanijs van de Federatie van Nederlandse Trombosediensten. Sinds 1981 hadden slechts 8 personen deze prijs mogen ontvangen.

Onder leiding van en sterk gestimuleerd door prof.dr. Guus Sturk en prof.dr. Marcel Levi heeft Anke aansluitend promotieonderzoek verricht. Haar onderzoek resulteerde in een promotie op 16 januari 2008 op het proefschrift "Antistolling binnen de grenzen".

Met het overlijden van Anke nemen het bestuur, de directie en de leden van de Federatie van Nederlandse Trombosediensten afscheid van een zeer markante en geliefde persoonlijkheid binnen de wereld van de trombosezorg.

O.D.M. Paauwe-Insinger, directeur

5 jaar cursus allround medewerker trombosedienst

**Trudy Straver, accountmanager Mondriaan
Bedrijfs- en particuliere opleidingen, Den Haag**

Inleiding

In 2005 heeft de Federatie van Nederlandse Trombose- diensten contact opgenomen met het Mondriaan Contract- onderwijs (thans beter bekend als Mondriaan Bedrijfs- en particuliere opleidingen) om mogelijkheden te verkennen een cursus voor de algemene medewerkers van de trombosediensten te ontwikkelen. De medische inhoud van de cursus kwam gereed in 2005 van de hand van dr. Anke van Geest, voormalig directeur-medisch leider van de Stichting Trombosedienst Den Bosch en Omstreken. Vervolgens heeft Mondriaan de competentieprofielen en competentie- vragenlijsten ontwikkeld en op basis daarvan de modules, praktijkopdrachten en toetsen ontwikkeld. Op basis van de inhoud van de cursus heeft het Mondriaan competentie- profielen beschreven, aansluitend werden kennistoetsen, praktijkopdrachten, modules en competentievragenlijsten ontwikkeld.

De doelstelling van de cursus werd in 2006 als volgt omschreven:

1. alle medewerkers van de FNT hebben dezelfde basis- kennis betreffende de taken van de trombosediensten;
2. iedere functionaris (medewerker bloedafname, administratief medewerker en de all-round medewerker) is bekwaam in de uitvoering van specifiek bij de functie behorende vaardigheden;
3. alle medewerkers (in de drie voornoemde functies) werkzaam bij de FNT aangesloten trombosediensten hebben dezelfde kennis en vaardigheden vastgelegd in het te verkrijgen certificaat;
4. alle medewerkers van de FNT hebben dezelfde basis- kennis betreffende de werking van orale anticoagulantia, aan welke patiënten deze medicijnen voorgeschreven zijn en de risico's van deze medicijnen.

De cursus kreeg de naam "Allround Medewerker Trombosedienst (AMTD)". Op 27 november 2006 werd een definitieve opzet van de cursus aan de ledenvergadering gepresenteerd. Bij de start kende de cursus een duur van drie dagen met daarnaast de mogelijkheid de module multiculturele communicatie te volgen.

Besloten werd om een pilotcursus te houden in 2007 met een toetsdag op 31 mei 2007.

In aanvang werd besloten dat de medische achtergrond- kennis gedoceerd werd door de medisch leider van de eigen trombosediensten in de vorm van klinische lessen.

Organisatie

Het Mondriaan heeft een database ingericht voor de inschrijving van de deelnemers, registratie van examen- nummers, die worden uitgegeven door de FNT, registratie van geslaagde c.q. gezakte kandidaten en de registratie van de certificaten die zijn uitgereikt.

Kosten voor de pilotcursus bedroegen € 290,- per deelnemer, te verhogen met € 70,- indien de opleiding multiculturele communicatie werd gevolgd.

Bovengenoemde kosten waren exclusief kosten voor leslocatie en reiskosten docenten.

Per 2011 bedroegen de kosten voor de cursus € 110,-.

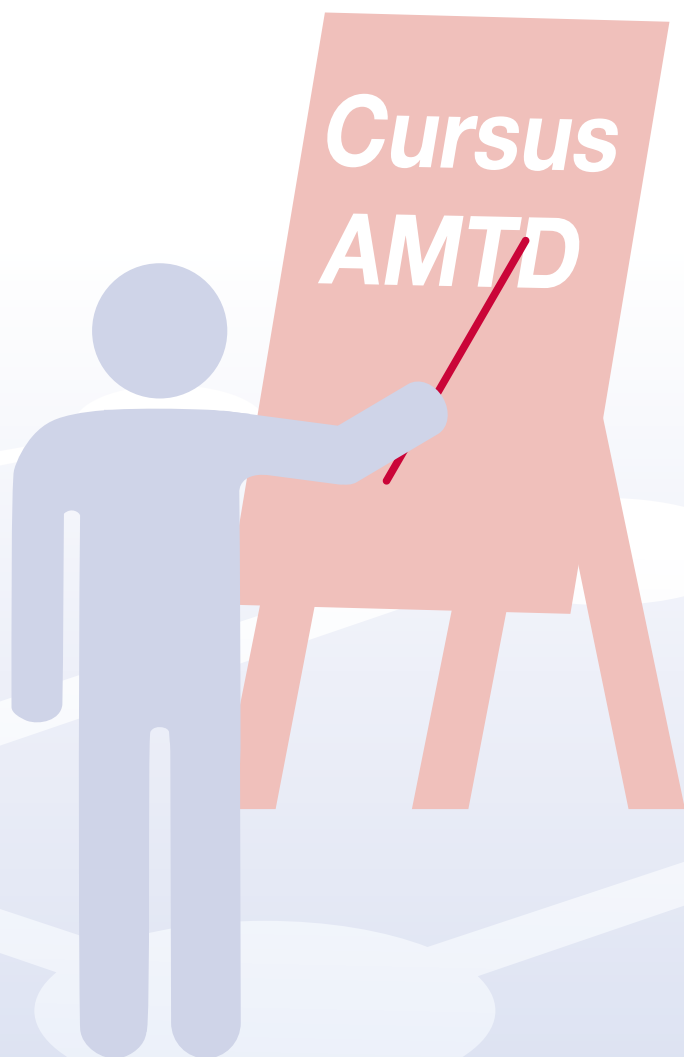
De kosten voor de toets zijn vastgesteld op € 62,50.

Daarnaast worden deze vaste componenten verhoogd met kosten voor leslocatie, toetslocatie, kosten voor de kennis cd-rom en reiskosten van docenten.

Alle correspondentie met de cursisten wordt verzorgd door het Mondriaan.

Ontwikkeling van de cursus

Op basis van de ervaring van de pilotcursus in 2006 werd in 2007 besloten om de cursus te centraliseren, zowel wat betreft medische achtergrond kennis als wat betreft communicatieve- en voorlichtingsvaardigheden. Wegens gebrek aan belangstelling voor de module multiculturele communicatie werd besloten deze module te laten vervallen.





De centrale cursus bestond uit anderhalve dag (4 uur medische achtergrondkennis door dr. Anke van Geest (later opgevolgd door Leonie Eurlings, doseerarts bij de Stichting Trombosedienst voor het Gooi te Hilversum), gevolgd door een dag van 8 uur cursus gesplitst in 4 uur algemene kennis en 4 uur communicatieve vaardigheden.

Het afnemen van een centrale toets bleef gehandhaafd. Met ingang van 2009 werd besloten tot een 1 daagse cursus. Voor deze cursus werd een uitgebreide reader met thuisopdrachten vervaardigd. Om de cursus goed te kunnen volgen is het noodzakelijk dat alle opdrachten vooraf zijn gemaakt en het resultaat hiervan is opgestuurd naar het Mondriaan. Deze opzet is tot en met 2012 gehandhaafd en voldoet aan de wensen van de praktijk.

Tot slot werd in de loop van de ontwikkeling besloten tot de mogelijkheid van een in company cursus (op locatie van de trombosedienst).

Resultaat tussen 2007 en 2011:

In afgelopen 5 jaar hebben 443 medewerkers zich aangemeld voor de cursus. 419 medewerkers hebben daadwerkelijk deelgenomen aan de cursus of aan de in company training en een certificaat behaald.

In het voorjaar 2012 zijn 50 medewerkers opgeleid en hebben de toets afgelegd. Voor het najaar 2012 is de groep volgeboekt (50 personen) en bestaat er een wachtlijst van 36 deelnemers. Met de FNT zal worden overlegd of het haalbaar wordt geacht een derde cursus in 2012 te geven. Daarnaast loopt nog een aanvraag voor een in company training in 2012.

Het bestuur van de FNT onderzoekt op dit moment of de ontwikkeling van een e-learning tot de mogelijkheden behoort. Hiertoe is een commissie ingesteld die het bestuur in 2012 hieromtrent zal adviseren.

Overzicht aantal deelnemers per dienst in de periode van 2007-2011.

Trombosediensten 2007 – 2011	Aantal inschrijvingen
TD Apeldoorn	1
SRTB Etten-Leur	1
TD Friesland-Leeuwarden	17
TD Delft	11
TD het Gooi	6
TD Heerenveen	1
Medial Hoofddorp	28
TD Leiden e.o.	16
TD Midden Brabant	9
TD Veluwe-Ede	20
TD Drechtsteden	33
TD Nijmegen	58
TD Vlaardingen	44
TD Alkmaar	4
TD Almelo	8
TD Emmen	3
TD Gouda	24
TD Groningen	28
TD Hoogeveen	8
TD Maastricht	11
Bernhoven	21
TD Zeeland	17
TD Limburg-Heerlen	1
Startlet-Alkmaar	4
TD Noord-Limburg Venray	6
TD Rijswijk Z-H	1
TD Roermond	7
Jeroen Bosch-'Hertogenbosch	14
Zwolle	14
Atal-Amsterdam	6
Hilversum	3
TD Arnhem-locatie Zevenaar	3
TD Kop van N-H Den Helder	1
TD Meppel	1
TD Flevoland-Lelystad	4
TD Noord-West Veluwe Harderwijk	1
TD Zeeuws-Vlaanderen	2
St. Reg. TD Den Haag	2
Rijnmond STAR	4

Verslag symposium SKS Introductie van de NOAC's: denken over de praktijk

**Esmeralda Wybrands, beleidsmedewerker
Trombosedienst Nederland**

Eigenlijk lag het onderwerp van het symposium van de Stichting Kwaliteitsbevordering Stollings-onderzoek (SKS) al bijna op voorhand vast. Want wie het anno 2012 over stolling en antistolling heeft, kan niet om de nieuwe orale anticoagulantia (NOAC's) heen. Reden voor de SKS om dit thema grondig uit te diepen op het door haar op 7 juni jl. georganiseerde congres '(Anti)stolling: Quo Vadimus'. Welke aspecten zijn van belang voor een zorgvuldige introductie in de praktijk?

SKS-voorzitter dr. Ad Castel opende de dag en dankte de aanwezigen voor de grote opkomst. Meer dan honderd kli-

nisch chemici, analisten, internisten, leiders van trombosediensten en andere belangstellenden waren bijeengekomen in het Apeldoornse theater Orpheus om zich op de hoogte te laten brengen van 'waar we naartoe gaan met de (anti)stolling'. Wat de deelnemers daar zelf van dachten, peilde Castel aan het begin van het symposium. Welke plaats dachten zij dat de NOAC's in de trombosedienst zouden gaan innemen ten opzichte van de vitamine K-antagonisten (VKA's)? De meningen hierover bleken niet erg verdeeld. Een kleine meerderheid van de deelnemers – 53,2% – dacht dat NOAC's een ongeveer even grote rol gaan spelen als de VKA's. Een andere grote groep (41,6%) was van mening dat de nieuwe middelen een wat grotere plaats zullen gaan innemen dan de VKA's, alhoewel voor de laatste groep zeker nog een rol zal blijven weggelegd. Slechts 2,6% dacht dat de NOAC's binnen 5 jaar de VKA's hebben vervangen, terwijl

eenzelfde percentage verwacht dat juist de NOAC's binnen die termijn weer van het toneel zijn verdwenen. Wat de verwachting ook is, duidelijk is dat het thema NOAC's de komende jaren de gemoederen flink zal bezighouden. Aan dagvoorzitter prof.dr. Guus Sturk van het Academisch Medisch Centrum (AMC) in Amsterdam de taak om tijdens het symposium de discussies hierover in goede banen te leiden.

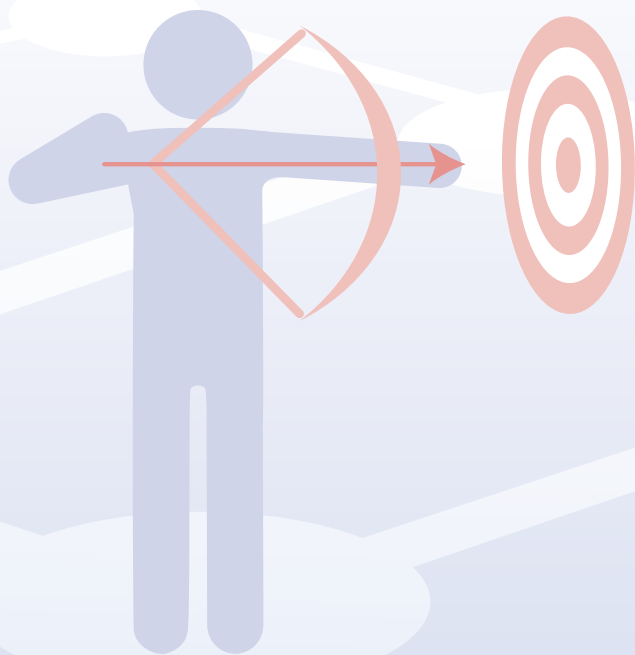
Met scherp schieten

Prof.dr. Pieter Willem Kamphuisen, internist en vasculair-geneeskundige aan het Universitair Medisch Centrum Groningen, trapte de dag af met een lezing over de introductie van de NOAC's in de klinische praktijk. Voordat hij dat deed schetste hij een kort beeld van de huidige stand van de antistollingstherapie in Nederland. Deze kenmerkt zich vooral door het gebruik van VKA's door drie grote patiëntgroepen, namelijk patiënten met een mechanische hartklep, met veneuze trombo-embolie (VTE) of met atriumfibrilleren (AF). De laatste categorie vormt veruit de grootste groep van de in totaal ruim 350.000 patiënten die in Nederland per jaar worden behandeld met VKA's. Het lastige van die VKA's is, zo vertelde Kamphuisen, dat ze verschillende stollingsfactoren remmen, zowel procoagulanten als stollingsremmers. Hoewel het netto-effect hiervan meestal goed is (namelijk een INR binnen het streefgebied), zou het natuurlijk mooier zijn als je 'met scherp kunt schieten' door één stollingsfactor direct te remmen. Op dit principe zijn de nieuwe antitrombotica gebaseerd. Deze remmen niet alleen de circulerende, maar ook de fibrinegebonden stollingsfactor. En daarmee hebben ze in potentie een krachtig antistollend effect. Kamphuisen besprak in zijn presentatie drie van de NOAC's die in Nederland al zijn geregistreerd of waarvan registratie in 2012 wordt verwacht, namelijk rivaroxaban, apixaban en dabigatran. De eerste zijn directe factor Xa-remmers, de laatste is een directe trombineremmer. Er zijn tal van studies gedaan naar de effectiviteit en veiligheid van deze middelen.

De belangrijkste uitkomstmaten hierbij zijn het aantal (recidief) tromboses, longembolieën of cerebrovasculair accidenten en de hoeveelheid (ernstige) bloedingen. Kamphuisen behandelde in vogelvlucht een paar van deze studies, namelijk die voor de indicatiegebieden VTE en AF. Uit deze studies blijkt dat de genoemde NOAC's voor patiënten met VTE of AF ten minste even effectief en veilig zijn als de VKA's, terwijl het gebruiksgemak van de NOAC's groter is. Immers, zo vertelde Kamphuisen, het merendeel van de patiënten kan een vaste dosis gebruiken en in principe is monitoring niet noodzakelijk. Indien er wel behoefte is aan monitoring, bijvoorbeeld om een indruk te krijgen van de therapietrouw, stuit de voorschrijver op een probleem. Monitoring is momenteel namelijk nog lastig, met name omdat nog niet voldoende duidelijk is welke plasmaspiegel moet worden nagestreefd. Mogelijk zijn bestaande stollingstesten als de protrombintijd (PT) en de geactiveerde partiële tromboplastinetijd (APTT) voor monitoring bruikbaar, alleen voldoen deze niet bij patiënten met bijvoorbeeld nierinsufficiëntie. Hier is dus nog een weg te gaan, concludeerde Kamphuisen. Hetzelfde geldt voor de zoektocht naar mogelijkheden van coupering van de NOAC's. In principe zou coupering, zo redeneert met name de industrie, niet direct noodzakelijk zijn door de korte halfwaardetijd van deze middelen (9 tot 17 uur). Maar in het geval van acute operaties of ernstige bloedingen zal er toch een roep ontstaan naar couperingsmogelijkheden. Kamphuisen liet zien dat in deze situaties wellicht recombinant factor VIIa (Novoseven), geactiveerd protrombinecomplex of protrombine-complexconcentraat (Cofact) kunnen worden toegediend. Of deze middelen echter in staat zijn het effect van de NOAC's voldoende te couperen is nog onduidelijk. Op dit gebied zijn alleen nog – gedocumenteerde – ervaringen opgedaan in proefdierstudies. Ondanks deze bezwaren, en de hogere kosten voor de NOAC's, vertelde Kamphuisen te verwachten dat de nieuwe antitrombotica ook in Nederland een plaats zullen gaan krijgen in de antistollingsbehandeling. Hij noemde dit een goede zaak, maar pleitte wel voor een zeer zorgvuldige introductie, waarbij de trombosediensten een belangrijke rol kunnen gaan spelen. Zij moeten met partners uit de eerste en tweede lijn om de tafel en zorgen voor een geprotocolleerde invoering. Mocht de overheid besluiten om tot vergoeding van de NOAC's voor VTE en AF over te gaan, dan ligt op deze manier een structuur klaar waarin de antistollingsbehandeling in Nederland in potentie een stuk eenvoudiger kan worden.

Weerbarstige praktijk

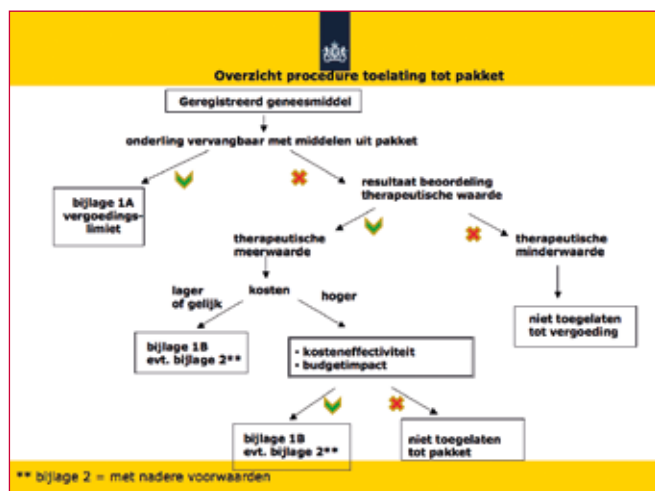
Woorden van gelijke strekking waren te horen tijdens de lezing van de volgende spreker, prof.dr. Hugo ten Cate, internist aan het Maastricht Universitair Medisch Centrum. Ook hij ziet door de komst van de NOAC's een kans tot zorgverbetering, maar ook hij plaatste kanttekeningen. Daarbij ging Ten Cate met name in op de organisatie van de zorg, op compliantie en de plaats van laboratoriumcontroles in de behandeling met NOAC's. Wat betreft de organisatie van de trombosezorg, zo vertelde Ten Cate, heeft een in 2010 verschenen rapport van de Inspectie voor de Gezondheidszorg (IGZ) geleid tot een stroomversnelling in



het denken hierover. Dit rapport, 'Keten trombosezorg niet sluitend', verscheen naar aanleiding van de resultaten van het HARM-onderzoek naar medicatiegerelateerde ziekenhuisopnames. Antistollingsmiddelen bleken een voorname rol te spelen bij deze opnames. Geen goed bericht dus en naar aanleiding van het IGZ-rapport dat daarop verscheen, sloot een aantal belangrijke partijen zich dan ook aan bij de al bestaande Stuurgroep ketenzorg antistolling. Deze stuurgroep vormt inmiddels een landelijk forum waarin alle relevante beroepsgroepen en patiëntenverenigingen, de Federatie van Nederlandse Trombosediensten (FNT), het ministerie van VWS en Zorgverzekeraars Nederland zijn vertegenwoordigd. De stuurgroep vormt, zo vertelde Ten Cate, een buitengewoon draagvlak voor de protocollering van de trombosezorg en van de introductie van de NOAC's. Het in mei van dit jaar verschenen rapport van de Gezondheidsraad zal hierbij ook een zet in de goede richting geven. Ten Cate besprak de hoofdconclusies van dit rapport, dat is geschreven door de Commissie nieuwe orale anticoagulantia van de Gezondheidsraad. Eén van de conclusies van de commissie is dat de introductie van NOAC's gepaard zou moeten gaan met meer gedetailleerd onderzoek naar de veiligheid, effectiviteit en kosteneffectiviteit. Ten Cate gaf in zijn presentatie een aantal voorbeelden om veilig gebruik in de hand te werken. In ieder geval, zo stelde Ten Cate, is het van belang om bij de indicatiestelling te werken volgens richtlijnen, zoals die van de American College of Chest Physicians (ACCP) of het Centraal Begeleidings Orgaan (CBO). Ook is het belangrijk om het gebruik van de NOAC's en de afstemming met regionale zorgpartijen te protocolleren. Het deze zomer te verschijnen 'richtsnoer' van het CBO kan daarbij behulpzaam zijn. En uiteraard, zo vertelde Ten Cate, kunnen ook praktijkadviezen erg nuttig zijn in het streven naar een veilig gebruik. Die zullen zeker nodig blijken, omdat de door de industrie gegeven informatie nogal eens afstaat van de praktijk. Ten Cate gaf hiervan een aantal voorbeelden. Wat te denken bijvoorbeeld van de indicatiestelling? Voor de NOAC's geldt een behoorlijk aantal exclusiecriteria, waarvan de lastigste om te beoordelen is of de patiënt mogelijk incompliant is. En hoe filter je snel de patiënten met contra-indicaties of interacterende middelen? Of wat te denken van de (uitgebreide!) instructie die je een patiënt moet meegeven over wat hij of zij moet doen bij een bloeding? Allemaal vragen die in de praktijk niet zo eenvoudig zijn te beantwoorden. Ten Cate besprak ook nog kort het punt van de monitoring. Hij verwacht dat er, ondanks de stellingname van de industrie, toch een belangrijke plaats komt voor laboratoriumtesten op dit gebied. Een probleem dat daarbij speelt is dat er behoorlijke inter-individuele variaties zijn van de plasmaspiegels van NOAC's. Ten Cate gaf hiermee een voorzet voor de presentatie van dr. Anja Leyte, die verder op dit onderwerp in zou gaan. Vervolgens sloot hij af met de constatering dat we in een zeer dynamische tijd leven. Een tijd waarin de NOAC's en de reorganisatie van de trombosezorg zullen zorgen voor daadwerkelijke zorgvernieuwing. Als we dit goed oppakken, zo stelde Ten Cate, kan Nederland ook in dit nieuwe tijdperk van trombosezorg weer wereldwijd zijn pioniersfunctie gaan vervullen.

Labtesten en NOAC's

Welke stollingstesten zijn nu eigenlijk geschikt als een patiënt een NOAC gebruikt? Aan dr. Anja Leyte, klinisch chemicus aan het Amsterdamse Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, de taak om de toehoorders hierover meer te vertellen. Alvorens dat te doen legde ze uit waaróm je überhaupt zou willen testen. De industrie claimt toch juist dat monitoring en dosisaanpassing bij NOAC's niet nodig zijn? Dat is natuurlijk nooit helemaal waar, stelde Leyte. In de praktijk zijn er altijd wel uitzonderingen te bedenken waarin je wel wil testen. Bijvoorbeeld om bij therapiefalen een indruk te krijgen van de compliantie. Of om de stollingsstatus te kunnen inschatten bij acute bloedingen of ingrepen. Het antwoord dat het laboratorium dan moet kunnen geven is erg afhankelijk van de vraag van de behandelaar, betoogde Leyte. Gaat het erom een indruk te krijgen van wat de patiënt gebruikt? Of gaat het om de spiegel, de stollingsstatus, of misschien wel alles tegelijk? Om deze vragen te kunnen beantwoorden zijn bij voorkeur labdata uit klinische trials nodig. Maar helaas... deze zijn, zo vertelde ook Leyte, grotendeels nog niet beschikbaar. Er zit dus niet veel anders op dan hierover zelf kennis te vergaren. "Begin daarbij vanuit de basis", betoogde Leyte. Dat betekent dat je plasma's gaat spiken, dat je gaat meten en ziet wat doseringen doen in de diverse labtesten. Vervolgens ga je nadenken over de mogelijke toepasbaarheid van die testen voor verschillende soorten van monitoring en ga je toetsen of je hypothese klopt met patiëntenmateriaal. Leyte illustreerde hoe die basis op dit moment wordt gelegd aan de hand van twee studies, namelijk een eigen studie naar rivaroxaban en een studie van een Belgische onderzoeksgroep naar dabigatran. In de eerste studie is gekeken naar de PTT, de aPTT, een trombinegeneratietest en als afgeleide concentratiebepaling een anti-Xa-bepaling; alles uitgevoerd op Siemens-apparatuur. Bij de tweede studie keken de onderzoekers grotendeels op Roche-apparatuur naar de PT (ook een verdunde PT), de aPTT, een trombinegeneratietest en een aantal afgeleide concentratiebepalingen, waaronder anti-IIa en Ecarine Clotting Time. Leyte besprak de relevantie van deze testen voor het bepalen van de stollingsstatus, spiegel en de therapeutische grens en afkapwaarden bij patiënten die rivaroxaban of dabigatran gebruiken. Zij concludeerde dat als een laboratorium wil weten wat de patiënt gebruikt en het niet 24 uur per dag LC-MS/MS tot zijn beschikking heeft, dan een combinatie bruikbaar is van anti-Xa-assays (wel of niet heparinegevoelig) en anti-IIa assays (met name de Hemoclot Trombine Inhibitor, HTI). De spiegel voor rivaroxaban is te bepalen met een anti Xa-assay, terwijl voor dabigatran de anti IIa assay (HTI) meer geschikt lijkt. Bij het bepalen van de stollingsstatus denkt Leyte dat voor het uitsluiten van een overdosis een PT- of aPTT-bepaling bruikbaar zou kunnen zijn. Voor de verdere toekomst ziet ze op dit gebied echter meer een rol weggelegd voor trombinegeneratietesten. Als het gaat om de vertaling naar therapeutische ranges en afkapgrenzen geldt wat Leyte al eerder noemde: er zijn veel meer klinische data nodig. Dit punt zal hoog op eenieders agenda moeten staan om al in de nabije toekomst goede labtesten voor NOAC-gebruikers beschikbaar te hebben, zo bepleitte zij.



Figuur 1. Procedure van opname van geneesmiddelen in het basispakket.

Registratie en vergoeding

Naast alle medisch-inhoudelijke vraagstukken rondom de NOAC's speelt natuurlijk nog een belangrijk - financieel - aspect: worden deze middelen opgenomen in het vergoedingspakket? En zo ja, hoe snel? De SKS had dr. Harrie Storms van het ministerie van VWS uitgenodigd om hierover meer te vertellen. Storms is lid van de Directie Geneesmiddelen en Medische Technologie aldaar, en gaf de aanwezigen een beeld van het proces van besluitvorming rondom vergoeding van de NOAC's. Daartoe behandelde hij eerst de algemene procedure voor opname van een geneesmiddel in het basispakket van zorgverzekeraars. Allereerst, zo vertelde Storms, zal het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen (CBG) een positief oordeel moeten vellen over de werkzaamheid en veiligheid van het middel. Als dat oordeel er is, kan het middel worden geregistreerd, wat betekent dat de fabrikant een handelsvergunning krijgt. Vervolgens zal de fabrikant een verzoek indienen bij het ministerie van VWS om het middel op te nemen in het basispakket van het Geneesmiddelen Vergoedingensysteem (GVS). Het ministerie stuurt dit dossier door naar het College voor zorgverzekeringen (CVZ), die het geneesmiddel per indicatie gaat beoordelen, daarbij bijgestaan door de Commissie Farmaceutische Hulp (CFH). Bij de beoordeling staan drie thema's centraal: therapeutische waarde, kosteneffectiviteit en budgetimpact. Op basis van de resultaten van haar onderzoek brengt het CVZ een advies uit aan de minister van VWS, die uiteindelijk over opname van het middel in het basispakket beslist. Bij die opname zijn er verschillende mogelijkheden. Als het geneesmiddel onderling vervangbaar is met een ander middel uit het vergoedingspakket, krijgt het middel een vergoedingslimiet (het middel wordt dan opgenomen in de zogenaamde bijlage 1a van de regeling zorgverzekering). Is het middel niet onderling vervangbaar, dan wordt gekeken naar therapeutische waarde ten opzichte van de standaardtherapie. Is er een 'minderwaarde', dan wordt het middel niet opgenomen. Is er een meerwaarde, dan kijken de minister en het CVZ naar de kosteneffectiviteit en budgetimpact. Afhankelijk van het oordeel hierover zal het geneesmiddel dan worden opgenomen in de zogenaamde bijlage 1b (niet clusterbaar, 'uniek' middel), of de minister besluit het middel niet toe te laten voor vergoeding. Daarnaast kunnen voor middelen die

op bijlage 1A of bijlage 1B staan nadere voorwaarden in bijlage 2 worden geformuleerd.

Storms gaf aan dat er echter ook wel eens grensgevallen zijn, waarbij het ministerie net niet over voldoende informatie beschikt om een gefundeerde beslissing te kunnen maken. Daarom heeft het ministerie recent de mogelijkheid van een 'voorwaardelijke opname' toegevoegd. In deze categorie worden middelen opgenomen waarbij nog onzekerheid bestaat over de therapeutische waarde of doelmatigheid, of als er sprake is van een hoge budgetimpact. Wanneer een middel in deze categorie valt, kan het ministerie besluiten om bijvoorbeeld met de fabrikant of de beroepsgroep afspraken te maken over aanvullend onderzoek naar de therapeutische waarde of doelmatigheid, of om met de fabrikant te gaan onderhandelen over de prijs van het geneesmiddel.

Terug naar de NOAC's: wat is de status van het vergoedingsbesluit rond deze middelen? Op het moment van het symposium, begin juni, waren apixaban en rivaroxaban opgenomen in bijlage 1A en dabigatran in bijlage 1B van het GVS. Voor deze middelen werden in bijlage 2 nadere voorwaarden geformuleerd zodat de aanspraak beperkt is tot de indicatie electieve totale heup- of knie vervangende operaties. In 2011 zijn de registraties voor dabigatran en rivaroxaban uitgebreid voor de indicatie AF. Voor deze indicatie hebben de fabrikanten een nieuwe vergoedingsaanvraag ingediend bij het ministerie. Storms gaf aan dat het ministerie daarbij heeft besloten om naast het advies van het CVZ, ook die van de Gezondheidsraad (GR) in te winnen. Enerzijds, zo vertelde Storms, omdat bij een opname sprake is van een uitzonderlijk hoge budgetimpact (ongeveer 70 tot 150 miljoen euro per jaar) en anderzijds vanwege de mogelijke gevolgen van deze middelen voor de trombose-diensten in de Nederlandse trombosezorg (die daardoor niet vergelijkbaar is met andere landen). Op het moment van het symposium was het rapport van de GR net verschenen (zie www.gezondheidsraad.nl; rapport 'Nieuwe antistollingsmiddelen: een geleidelijke introductie'). Het advies van het CVZ werd nog verwacht. Een algemene conclusie van de GR is dat de NOAC's minimaal gelijkwaardig zijn aan de standaardtherapie. Mogelijk is er zelfs een meerwaarde, vooral omdat ze het beter doen voor wat betreft de complicatie hersenbloedingen. Echter, zo stelt de GR, er zijn nog wel onzekerheden en dat heeft vooral te maken met het feit dat de resultaten uit de klinische studies niet zomaar zijn door te trekken naar de Nederlandse situatie. De GR noemt het toegenomen gebruiksgemak bij de NOAC's een belangrijk gegeven, maar plaatst daar tegenover het mogelijke risico van een afnemende therapietrouw door het wegvallen van regelmatige bloedwaardecontroles. Storms vertelde dat de GR een aantal aanbevelingen heeft gedaan aan het ministerie, zoals dat er nog aanvullend onderzoek zou moeten plaatsvinden over hoe de NOAC's het doen in de Nederlandse praktijk (via 'patient registry'). Verder beveelt de GR aan dat de beroepsgroep haar richtlijnen en protocollen aanpast aan de NOAC's en dat deze moeten bijdragen aan de in het rapport bepleite zorgvuldige introductie.

Zodra ook het CVZ-advies er is, zal de minister alle aspecten van een brede introductie van de NOAC's meewegen bij haar besluit. "NOAC's openen zeker een mogelijkheid tot verbetering in de trombosezorg", zo concludeerde Storms,

“maar er is nog wel een aantal punten en onzekerheden dat moet worden opgelost. Een zorgvuldige introductie vinden wij dan ook erg belangrijk”.

Stolling en foetale sterfte

Het was aan gynaecologe dr. Kitty Bloemenkamp van het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC) om onverhoopte slaperigheid bij de aanwezigen na de goed verzorgde lunch te voorkomen. Dit lukte haar uitstekend met een presentatie over stollingsafwijkingen en foetale sterfte. Foetale sterfte is een groot probleem, zo vertelde Bloemenkamp. Liefst 60% van alle bevruchtingen zet niet door, 10% eindigt in klinische miskramen en uiteindelijk leidt slechts 30% van alle concepties tot een geboorte. Er zijn diverse oorzaken voor miskramen. De meest voorkomende reden is een chromosomale afwijking bij de foetus. Bij herhaalde miskramen is er echter vaak iets anders aan de hand. Er kan sprake zijn van genetische factoren (3-6%), anatomische afwijkingen bij de moeder (10-25%), immunologische oorzaken (5-15%, waarvan de bekendste het antifosfolipidensyndroom is, ofwel APS) of hematologische redenen. Bloemenkamp besprak in haar presentatie de laatste twee oorzaken. Naar de associatie tussen trombofilie en vroege, late en herhaalde miskramen is erg veel onderzoek gedaan, vertelde Bloemenkamp. Uit deze onderzoeken komt naar voren dat trombofilie een ongeveer 1,5 tot 2 keer hogere kans geeft op miskramen. Oorzaken voor de trombofilie zijn dan bijvoorbeeld het dragerschap van de factor V Leiden-mutatie, protrombine- of MTFHR-mutaties, antitrombine-, proteïne C- en S-deficiënties, of bijvoorbeeld de aanwezigheid van anti-cardiolipine antistoffen, lupus anticoagulans of hyperhomocysteinemie. Bloemenkamp noemde met name het APS de ware ‘killer’ in de verloskunde. Vooral het lupus anticoagulans, dat veel bij APS-patiënten wordt gezien, is sterk geassocieerd met zowel trombose als een hoog miskraamrisico. Zwangeren worden niet standaard getest op APS, terwijl er sterke aanwijzingen zijn dat interventie met antistolling bij deze patiënten zinvol is. Met name de combinatie van aspirine en een laagmoleculairgewichtsheparine (LMWH) blijkt bij deze patiënten de kans op een goede zwangerschapscuitkomst te verhogen. Bloemenkamp benadrukte dat dit soort patiënten optimaal door een multidisciplinair team moet worden behandeld. Ook brak zij in haar presentatie een lans voor meer onderzoek naar het effect van antistolling bij patiënten met herhaalde miskramen zónder APS. Momenteel wordt in Nederland op dit gebied al samengewerkt door de verschillende academische centra, bijvoorbeeld in de door Bloemenkamp besproken Alife- en Habenox-studie. Deze studies tonen onder meer dat er geen bewijs is dat het geven van een ‘aspientje’ bij herhaalde miskramen een gunstig effect heeft op de kans op een goede zwangerschapscuitkomst en dat het toedienen van LMWH bij specifieke groepen die kans lijkt te vergroten. De in de studies onderzochte populaties zijn echter erg moeilijk met elkaar te vergelijken in verband met de forse verschillen in inclusiecriteria. Om meer te weten te komen over trombofilie en foetale sterfte is dan ook dringend meer onderzoek in samenwerkingsverband nodig, sloot Bloemenkamp af.

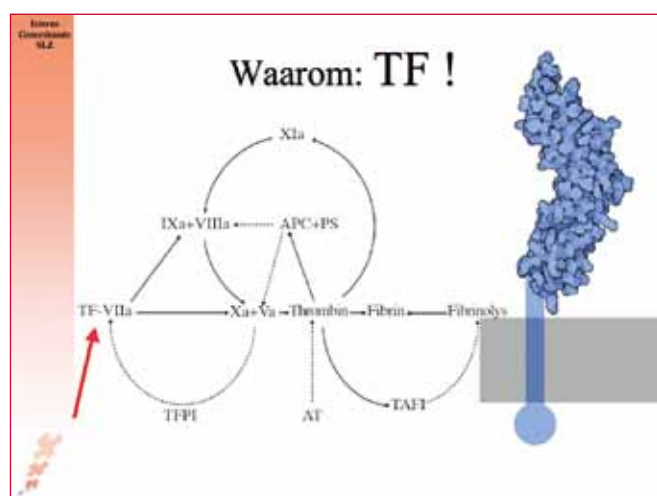


Figuur 2. Eindconclusies uit de lezing van gynaecologe dr. Kitty Bloemenkamp van het LUMC.

Harmonisatie stollingsbepalingen

dr. Ton van den Besselaar van het RELAC-laboratorium in het LUMC gaf een presentatie over harmonisatie van de uitslagen van veelgebruikte stollingstesten. Aan het einde van de vorige eeuw werd door de toenmalige Stichting Kwaliteitsbewaking Ziekenhuis Laboratoria (SKZL) het project Kalibratie 2000 gestart. Het doel van dit project was het landelijk harmoniseren van laboratoriumuitslagen in zoveel mogelijk deelgebieden van de medische laboratoriumdiagnostiek door middel van het gebruik van zogenaamde kalibratoren. De projectgroep Stolling (onderdeel van de Sectie Stolling van de SKML) heeft potentiële kalibratoren voor de bepaling van factor VIII:C, fibrinogeen en antitrombine getest volgens de opzet en het algemene plan van aanpak van Kalibratie 2000. Van den Besselaar liet zien dat toepassing van commuteerbare kalibratoren door ziekenhuislaboratoria de tussen-laboratoriumvariatie van de uitslagen van de genoemde stollingsbepalingen kon verkleinen. Naast bovengenoemde stollingsbepalingen wordt er door RELAC veel aandacht besteed aan harmonisatie van de PT en de daarvan afgeleide INR voor de controle van antistollingsbehandeling met VKA's. Sinds 1997 produceert en beheert RELAC sets diepgevroren plasma's voor harmonisatie van PT-INR-uitslagen ten behoeve van de leden van de FNT. Uit externe kwaliteitscontrole door de FNT is gebleken dat de tussen-laboratoriumvariatie van de INR in de afgelopen twintig jaar aanzienlijk kleiner is geworden. Toch zijn nog niet alle problemen opgelost. Een belangrijke invloed op de uitslagen van de PT-INR-bepaling wordt uitgeoefend door het gebruik van verschillende bloedafnamesystemen. In een studie die de Sectie Stolling van de SKML heeft opgezet, hebben drie laboratoria gelijktijdig INR's van patiëntenmonsters bepaald, elk met een ander PT-systeem. In het eerste deel van de studie zijn de patiëntenmonsters afgenomen met Vacutainer-buizen en in het tweede deel met Monovette-buizen. In het eerste deel van de studie was de maximum systematische afwijking van de INR voor alle patiëntenmonsters 14%, en in het tweede deel 4,9%. De natriumcitraatoplossingen in de bloedafnamebuizen waren verontreinigd met magnesiumionen (ongeveer 2,7 mmol/l in de Vacutainer en ongeveer 0,3 mmol/l in de Monovette). De systematische

INR-verschillen tussen de laboratoria zijn volgens Van den Besselaar voor een belangrijk deel te verklaren door de invloed van de bloedafnamebuizen. Het bestuur van de Sectie Stolling van de SKML heeft op grond van deze en andere studies geadviseerd om bloedafnamebuizen te gebruiken waarin de verontreiniging met magnesium niet groter is dan 1 mmol/l. Afgezien van pre-analytische effecten op de PT-INR zijn er ook nog kleinere analytische effecten van bepaalde PT-reagentia. Sommige reagentia voldoen niet strak aan het International Sensitivity Index-model (ISI). Wanneer desondanks de ISI-formule wordt toegepast, ontstaan er afwijkingen van de INR, vooral aan de grenzen van de therapeutische range. Deze afwijkingen zouden kunnen worden gecorrigeerd door toepassing van een andere formule dan die van het ISI-model.



Figuur 3. Tissue Factor lijkt een vrij essentiële rol te spelen bij het ontstaan van veneuze trombose bij patiënten met kanker.

28

Kanker en trombose

dr. Hans-Martin Otten, internist-oncoloog in het Slotervaart-ziekenhuis te Amsterdam, was door de SKS uitgenodigd om het onderwerp kanker en veneuze trombo-embolie (VTE) te belichten. Juist dit type trombose blijkt een directe relatie te hebben met het hebben van een maligniteit. Grote cohort-studies laten zien dat patiënten met een idiopathische VTE duidelijk een grotere kans hebben om een vorm van kanker onder de leden te hebben. Bovendien, zo vertelde Otten, ontwikkelen veel kankerpatiënten in de loop van de tijd een VTE (odds ratio 6,7!). Een kankerpatiënt is dus een hoog-risicopatiënt voor VTE en andersom heeft een patiënt met een idiopathische VTE meer kans op het hebben van kanker. Maar hoe is dit te verklaren? Otten vertelde dat hier nog geen eensluitend antwoord op is te geven. Er zijn tal van (nog onontdekte) factoren die hierbij van belang lijken te zijn. Duidelijk is wel dat het eiwit Tissue Factor (TF) een vrij essentiële rol lijkt te spelen bij het ontstaan van VTE bij kankerpatiënten. TF staat aan het begin van de stollingscascade en wordt tot expressie gebracht door met name parenchymale en bindweefselcellen. Studies laten zien dat ook diverse typen tumorcellen TF tot expressie kunnen brengen, en dan met name de tumorcellen met een slechtere differentiatiegraad (tumorcellen die zich in de loop der tijd agressiever gaan gedragen). Ook is inmiddels bekend dat kankercellen het

immunologisch systeem kunnen activeren. Otten vertelde dat als je een kwaadaardig gezwel onder de loep neemt, je een enorme infiltratie ziet van allerlei soorten witte bloedcellen, zoals macrofagen, monocytten en T-lymfocyten. Die produceren allerlei cytokines en chemokines die een verhoogde expressie veroorzaken van TF en een verlaging geven van bijvoorbeeld trombomoduline en geactiveerd proteïne C (APC). Die factoren bij elkaar zorgen voor een verhoogde tromboseneiging bij kankerpatiënten. Dit wetende dringt de vraag zich op of het zinvol is om VTE-patiënten te screenen op een maligniteit. En zou die screening dan uitgebreid of routinematig moeten zijn? Otten haalde voor de beantwoording van deze vraag de Nederlandse Trousseau-studie aan. Deze studie hoopte een gunstig effect te vinden van uitgebreide screening op de kans op het vinden van kanker bij met name idiopathische VTE-patiënten van zestig jaar en ouder. Dit effect bleek er echter niet te zijn en dan met name niet op de overleving van de aldus gescreende patiëntengroep. Bij routinematige screening (anamnese, lichamelijk onderzoek, eenvoudig labonderzoek en X-thorax) bleek een aantal patiënten (3%) met een onderliggende maligniteit te kunnen worden gevonden. Otten noemde routinematige screening dan ook een onderwerp dat nadere aandacht verdient.

Tot slot ging Otten nog in op de behandeling van VTE bij patiënten die bekend zijn met een maligniteit. De standaardtherapie bij een VTE bestaat uit een gecombineerde start met LMWH of ongefractioneerde heparine (UFH) en een VKA, waarna de LMWH of UFH wordt gestopt nadat de INR zich twee dagen in het gewenste therapeutische gebied bevindt. Nederlandse en Italiaanse studies laten zien dat deze standaardbehandeling voor patiënten met kanker zowel minder veilig als minder effectief is: de behandeling geeft zowel een grotere kans op een recidief VTE als op bloedingen. Een alternatief voor kankerpatiënten met VTE is een behandeling gedurende zes maanden met een LMWH of UFH. Deze behandeling werd onderzocht in een aantal studies en gaf een goed resultaat. In 2009 is dan ook de CBO-consensus hierop aangepast. Bij patiënten met een maligniteit en een VTE wordt nu geadviseerd zes maanden LMWH voor te schrijven. Als er na die zes maanden nog sprake is van een actieve maligniteit dan wordt aanbevolen een behandeling met VKA's te starten. Otten gaf aan dat er nog wel wat haken en ogen aan dit advies zitten. Wat bijvoorbeeld te doen met de mensen met VTE die geen detecteerbare tumor meer hebben? Hebben die baat bij een behandeling met een LMWH of UFH? Op dit soort vragen zal nog een antwoord gevonden moeten worden. Nadere studie is, zo vertelde Otten, dus aangewezen.

Stollingsquiz

Het interessante symposium werd afgesloten door prof.dr. Jeroen Eikenboom, hematoloog uit het LUMC. Hij daagde de aanwezigen uit met een stollingsquiz waarin hij een aantal stollingscasussen opvoerde. Omdat Eikenboom deze casuïstiek ook gebruikt als les- en toetsmateriaal voor zijn studenten is ervoor gekozen deze niet in dit verslag te beschrijven. Hoewel de aanwezigen over verschillende vragen van mening verschilden, was de overall score van de aanwezigen dik in orde!

De structuur-functie relatie van geactiveerd proteïne C: wat mutaties ons kunnen leren

Karin C.A.A. Wildhagen¹, Esther Lutgens^{2,3}, Sarah T.G.B. Loubele¹, Hugo ten Cate¹ en Gerry A.F. Nicolaes¹

¹Afdeling Biochemie,

²Afdeling Pathologie, Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), Universiteit Maastricht, 6200 MD Maastricht, Nederland

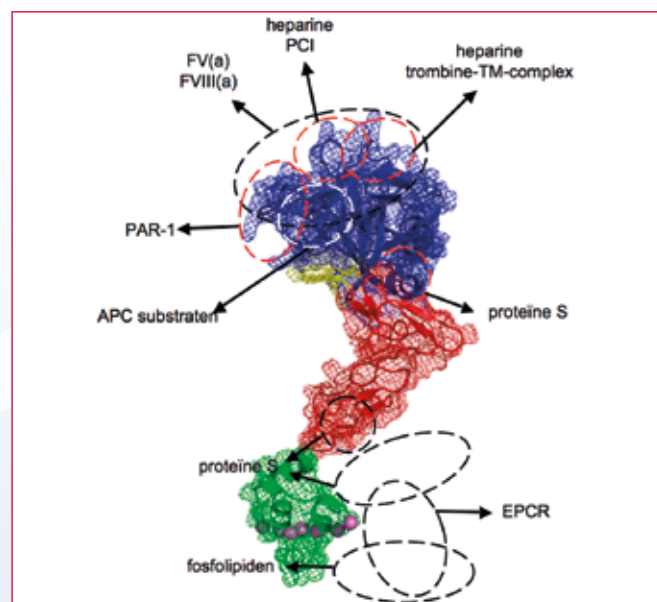
³Institute for Cardiovascular Prevention (IPEK), Ludwig-Maximilians University Munich, Pettenkoferstr. 9, 80336 Munich, Germany

Correspondentie:

E-mail: g.nicolaes@maastrichtuniversity.nl

Introductie

Proteïne C (PC) is een vitamine K-afhankelijk eiwit dat vooral bekend is vanwege zijn antistollende eigenschappen. Het wordt net als vele andere stollingsfactoren aangemaakt in de lever en heeft in humaan plasma een concentratie van ongeveer 70 nM met een relatief korte halfwaardetijd van 4-6 uur¹. PC is opgebouwd uit een aantal verschillende domeinen, die van belang zijn voor de verschillende functies zoals samengevat in figuur 1¹⁻³.



Figuur 1. Overzicht van de interacties van APC op een model van de 3D structuur.

De verschillende domeinen van APC zijn in dit 3D model verschillend gekleurd. Van N-terminus naar C-terminus zijn te zien: groen, het Gla-domein, aminozuren 1-37, (aminozuur nummers verwijzen naar het mature eiwit), rood, EGF-1 en EGF-2 domeinen, aminozuren 46-92 en 93-136 respectievelijk; geel, een bindingspeptide (aminozuren 137-157); blauw, het trypsine-gelijklend serine protease domein, aminozuren 170-419. Gebieden van het APC molecuul die interacties aangaan met FV(a)/FVIII(a), het trombine-TM-complex, PCI, heparine, PAR-1, proteïne S, EPCR en fosfolipiden zijn aangeduid. Interactie van de actieve site van APC met APC substraten is noodzakelijk voor proteolyse van deze substraten. Het activatie peptide, aminozuren 158-169, is niet zichtbaar, omdat het verwijderd wordt tijdens de activatie van PC tot APC. Interacties van dit gebied zoals met trombine en het trombine-TM-complex zijn daarom niet aangegeven.

Vitamine K is een essentiële cofactor bij de posttranslationele γ -carboxylering van PC. Deze carboxylering draagt bij aan een ruimtelijke structuur van het γ -carboxyglutamaat (Gla)-domein, die het binden van calcium mogelijk maakt waardoor PC kan binden aan celmembranen. Hierdoor is carboxylering belangrijk voor de antistollende functie van geactiveerd proteïne C (APC). Bij het gebruik van vitamine K antagonist is dus sprake van een verminderde antistollingsfunctie van APC.

APC is niet alleen van belang als antistollingseiwit, maar het is aangetoond dat het ook een aantal celbeschermende functies heeft, bijvoorbeeld tegen ontsteking of apoptose⁴. Structuurfunctie onderzoek van natuurlijk voorkomende APC varianten, maar ook van door onderzoekers bewust aangebrachte mutaties, heeft veel informatie opgeleverd over de relatie tussen de structuur en functie van PC. Dit vormt de basis voor de ontwikkeling van celbeschermende APC varianten voor toepassing in de kliniek. In dit artikel zal de structuur-functie relatie van PC worden geïllustreerd aan de hand van een aantal voorbeelden.

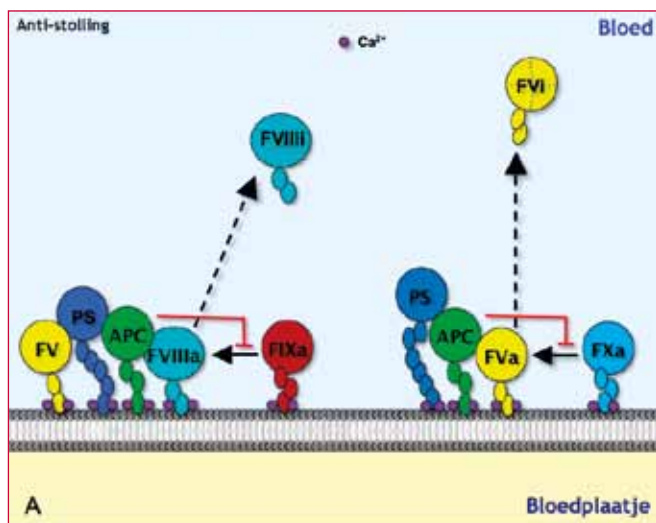
Hoe wordt PC geactiveerd tot APC?

PC wordt door trombine, dat gebonden is aan de receptor trombomoduline (TM), geactiveerd tot APC. Hierbij wordt het 12-aminozuren lange activatiepeptide verwijderd. Deze activatie wordt tot 20 keer versneld wanneer PC gebonden is aan de endotheliale proteïne C receptor (EPCR) op de oppervlakte van vasculaire endotheelcellen⁵. Zowel de interactie van PC met het trombine-TM-complex als met EPCR zijn afhankelijk van calcium. Zodra PC geactiveerd is tot APC, heeft het zowel antistollende en celbeschermende functies.

Antistollende functies van APC

Om bloedverlies na beschadiging van de vaatwand te beperken vindt allereerst vasoconstrictie, het vernauwen van het beschadigde bloedvat, plaats. Vervolgens wordt door geaggregeerde bloedplaatjes een prop gevormd en vindt bloedstolling plaats door de vorming van trombine en een netwerk van fibrinedraden, hetgeen de initiële hemostaseprop versterkt.

APC is een antistollingsfactor die van belang is om overmatige bloedstolling te voorkomen. APC kan op een aantal specifieke plaatsen, de actieve stollingsfactoren V (FVa) en VIII (FVIIIa) knippen en deze daardoor inactiveren (figuur 2A). De belangrijkste cofactoren in dit proces zijn het vitamine K afhankelijke proteïne S en opmerkelijk genoeg ook het niet-geactiveerde FV^{6,7}. APC kan FVa inactiveren door peptidebindingen op de posities R306, R506 en R679 te knippen^{8,9}. APC inactieveert FVIIIa door te knippen op de posities R336, R562 en R740¹⁰. Door inactivering van de essentiële cofactoren FVa en FVIIIa beperkt APC dus de netto trombinevorming. Resistentie voor APC, zoals dat wordt aangetroffen in dragers van de FVLeiden mutatie (R506Q), is de meest voorkomende, genetisch bepaalde, afwijking die leidt tot een verhoogde

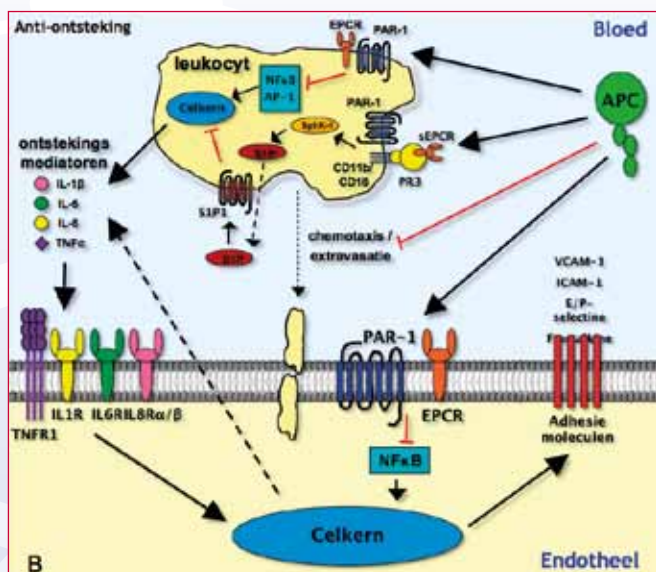


Figuur 2. Humorale and cellulaire effecten van APC.
(A) Anti-stolling. Na binding van APC aan FVa of FVIIIa, zorgt APC door verdringing van FXa en FIXa voor verminderde cofactor activiteit van FVa en FVIIIa. Vervolgens knipt APC FVa en FVIIIa waardoor deze definitief inactief worden. Dit leidt tot een onomkeerbare afname van de FVa- en FVIIIa-cofactor activiteit en bij gevolg tot een vermindering van trombine generatie en een afname van de bloedstolling. Proteïne S (PS) en FV zijn belangrijke cofactoren in dit proces.

stollingsneiging^{11,12}. Verlaagde hoeveelheden van circulerend PC zijn een onafhankelijke risicofactor voor met name veneuze trombo-embolie (VTE). Bij individuen met homozygote proteïne C deficiëntie kunnen zich hierdoor al op heel jonge leeftijd ernstige complicaties ontwikkelen, zoals neonatale purpura fulminans. Homozygote PC deficiëntie kan levensbedreigend zijn ondanks intensieve behandeling^{13,14}.

Celbeschermende functies van APC

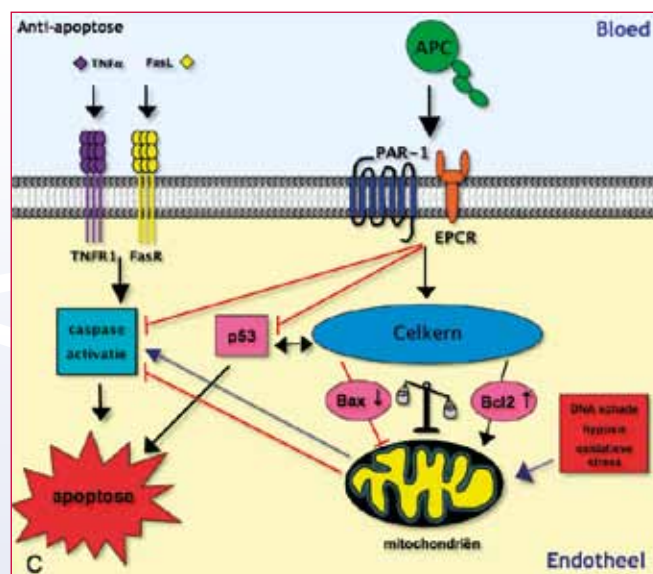
Voor de celbeschermende effecten van APC zijn zowel de protease geactiveerde receptor 1 (PAR-1) als EPCR van belang. PAR-1, is een transmembraan receptor eiwit dat aanwezig is op verschillende celtypen, waaronder endotheelcellen^{15,16}. Deze receptor kan door APC worden geactiveerd



(B) Anti-ontsteking. APC signalering remt in leukocyten de transcriptie van NF κ B/AP-1 en stimuleert de productie van Sphk-1, resulterend in een verminderde productie van ontstekingsmediatoren en onderdrukking van de pro-inflammatoire activiteit. In endotheelcellen remt APC NF κ B, waardoor de expressie van adhesiemoleculen afneemt.

door middel van proteolytische afsplitsing van een klein deel van deze receptor. De verschillende celbeschermende effecten en de tot nu toe geïdentificeerde onderliggende mechanismen, die bij kunnen dragen aan deze celbeschermende werking, staan afgebeeld in figuur 2B-D.

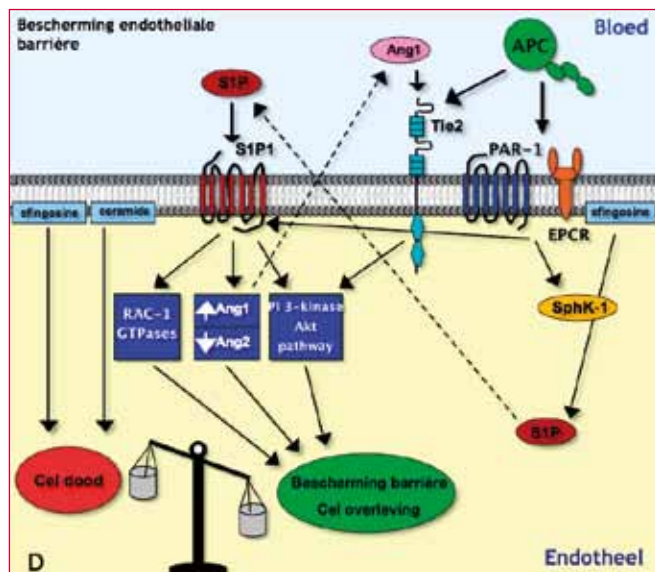
In leukocyten remt APC op een PAR-1 en EPCR afhankelijke manier de transcriptie van NF κ B/AP-1, resulterend in een verminderde productie van ontstekingsmediatoren. Binding van APC aan sEPCR, PR3 en CD11b/CD18 op leukocyten activeert PAR-1, waardoor svingosine kinase 1 (Sphk-1) en svingosine 1 fosfaat (S1P) opgeregeerd worden. Vervolgens leidt binding van S1P aan zijn receptor S1P1 tot een onderdrukking van de pro-inflammatoire activiteit van leukocyten. In endotheelcellen remt APC de expressie van NF κ B, waardoor de hoeveelheid adhesiemoleculen op het celoppervlak afneemt. Deze effecten van APC leiden samen tot een verminderde leukocyt chemotaxis en tot een verminderde infiltratie van leukocyten in het endotheel (figuur 2B). Apoptose kan geïnitieerd worden door binding van TNF α of Fas ligand aan de death receptoren (TNFR1/FasR) op het celmembraan van endotheelcellen (extrinsieke pathway) of door verhoging van de doorlaatbaarheid van het buitenmembraan van mitochondriën door DNA schade, ischemie of oxidatieve stress (intrinsieke pathway). Activatie van elk van beide pathways leidt tot activatie van caspases. APC remt caspase activatie, onderdrukt de expressie van pro-apoptotische genen (p53 + Bax) en stimuleert de transcriptie van anti-apoptotische genen (Bcl2). Dit leidt tot een normalisatie van de Bax/Bcl-2 ratio en een remming van apoptose. APC beschermt de endotheliale barrière door stimulering van SphK-1 en S1P (figuur 2C).



(C) Anti-apoptose. Apoptose wordt geïnitieerd door de toename van verschillende caspases in de cel. APC werkt anti-apoptotisch door de caspase activatie te remmen, de expressie van pro-apoptotische genen (p53 + Bax) te onderdrukken en de transcriptie van anti-apoptotische genen (Bcl2) te stimuleren.

Binding van S1P aan zijn receptor S1P1, leidt tot verhoogde celoverleving en een bescherming van de endotheliale barrière via activatie van de PI 3-kinase/Akt pathway, tot stimulatie van zowel RAC-1 GTPases en angiotensine (Ang) 1 en gelijktijdig tot een downregulatie van Ang2. Ang1 leidt via binding aan Tie2 tot verdere activatie van de PI 3-kinase/Akt pathway

en verbetering van de integriteit van de endotheliale barrière (figuur 2D).



(D) Bescherming endotheliale barrière. APC leidt tot een bescherming van de endotheliale barrière door SphK-1 en S1P gemedieerde activatie van de PI 3-kinase/Akt pathway, opregulatie van RAC-1 GTPases en verandering van de angiotensine (Ang) 1 / Ang2 ratio.

Als gevolg van deze celbeschermende effecten wordt in muismodellen wanneer er APC toegediend wordt, een verbeterd herstel gezien na hartinfarcten, beroertes en bij sepsis¹⁷⁻²⁰. Recentelijk is gebleken dat ook andere receptoren belangrijk zijn voor de celbeschermende effecten van APC²¹⁻²³.

Effecten van mutaties op de functie van APC

Informatie in de wetenschappelijke literatuur over zowel natuurlijke, als door onderzoekers aangebrachte mutaties in het APC molecuul, is uitermate belangrijk voor de structuur-functie studie van APC. De gevolgen van mutaties in verschillende delen van het APC molecuul voor de antistollende en celbeschermende functies van APC, maar ook voor de amidolytische activiteit, activatie van PC en de remming van APC door heparine, proteïne C inhibitor (PCI) en alfa 1 antitrypsine (α_1 AT) zijn bestudeerd. Tot slot zijn ook de interacties tussen de APC varianten en calcium, fosfolipiden, EPCR, proteïne S en PAR-1 bestudeerd. Enkele voorbeelden van effecten van mutaties op de functie van APC zijn hieronder gegeven. In het Gla-domein blijkt dat mutatie van Gla-residuen over het algemeen leidt tot een verminderde antistollingsactiviteit van APC, doordat deze mutanten minder affiniteit hebben voor calcium en fosfolipiden²⁴. Daarnaast leidt mutatie van residuen 8, 9, 16 of 26 in het Gla-domein tot een verminderde interactie met EPCR en daardoor een verminderde antistollingsactiviteit²⁵⁻²⁷. Anderzijds is er ook een mutant geconstrueerd (QGNSEDY) die door verschillende mutaties in het Gla-domein een hogere affiniteit heeft voor fosfolipiden en daardoor een 20x verhoogde antistollingsactiviteit heeft²⁸. In het serine protease domein leidt mutatie van positief geladen residuen in loop 191 en/of de Ca^{2+} -bindingsloop tot een verlaagde antistollingsactiviteit, doordat deze van belang zijn voor elektrostatiche interacties tussen APC en FVa/FVIIIa en voor de activatie van PC tot APC²⁹⁻³³. Er zijn ook mutanten beschreven die een effect hebben op de celbeschermende effecten van APC. Mutatie van residu 330 of 333 van APC, leidt

bijvoorbeeld tot een verlies van celbeschermende activiteit, omdat deze residuen noodzakelijk zijn voor de activatie van PAR-1³⁴. Een veel bestudeerde APC variant (S360A) waarin de actieve site serine gemuteerd is, heeft een verminderde antistollingsactiviteit, omdat deze mutant niet in staat is zijn substraten FVa en FVIIIa te knippen. Deze mutant kan daarnaast PAR-1 niet proteolyseren en heeft daardoor geen celbeschermende effecten *in vitro*^{29,34-36}.

Figuur 1 geeft een overzicht van de structuur van APC, waarbij wordt aangegeven welke gebieden belangrijk zijn voor welke individuele functies van APC (gebaseerd op structuur-functie-data).

Wat kan hieruit geleerd worden?

Verschillende aminozuren van het Gla-domein van PC zijn belangrijk voor de antistollende effecten. Daarnaast is een correcte driedimensionale conformatie van het Gla-domein, geïnduceerd door de binding van calcium, essentieel voor de binding van PC en APC aan fosfolipiden en de EPCR. Aminozuren in loop 191, de Ca^{2+} -bindingsloop en de autolyseloop van het serine protease domein zijn belangrijk voor electrostatiche interacties tussen APC en FVa, het belangrijkste fysiologische substraat van APC in de bloedstolling. Aminozuren die een interactie aangaan met proteïne S bevinden zich in het Gla-domein (aminozuur 38), EGF domein (aminozuur 71), verbindingseptide (aminozuur 149) en de autolyseloop.

Voor de activatie van PC door trombine en het trombine-TM-complex zijn aminozuren in de nabijheid van aminozuur 169 en daarnaast ook aminozuren in het Gla-domein (aminozuur 16 en 26), loop 191, loop 214, de Ca^{2+} -bindingsloop en de autolyseloop van belang. De interactie van PC met heparine, PCI en α_1 AT wordt bewerkstelligd door aminozuren in loop 191, loop 214 en meer in het bijzonder het aminozuur 336.

De autolyseloop en aminozuren 357 en 360 zijn belangrijk voor de interactie van PC met serine protease inhibitoren (serpins). In het algemeen kan worden gesteld dat verschillende regio's van het APC molecuul betrokken zijn bij specifieke interacties. Deze regio's kunnen topografisch geheel gescheiden zijn (zoals de interacties van PC of APC met het membraanoppervlak enerzijds en die met heparine anderzijds) maar kunnen ook overlappen (zoals het geval is bij de interacties tussen APC met FVa enerzijds en heparine anderzijds).

Mutagenese studies hebben aangetoond dat voor de recent ontdekte celbeschermende effecten van APC de aminozuren 149, 329, 330, 333 en 360 een belangrijke rol spelen. Een aantal APC varianten zijn tot op heden alleen op hun antistollende eigenschappen getest.

Aangezien zowel de academische wetenschap als de farmaceutische industrie geïnteresseerd zijn in de celbeschermende effecten van APC, zal een complete structuur-functie beschrijving van de celbeschermende eigenschappen van APC waarschijnlijk in de komende jaren beschikbaar komen. Dit is van toegevoegde waarde voor het verder ontwikkelen van APC varianten, die optimale celbescherming kunnen bieden zonder toegenomen kans op het ontstaan van bloedingen. Deze nieuwe varianten kunnen dan mogelijk gebruikt worden in geval van een aantal klinische condities, zoals sepsis, hartinfarcten en beroertes om ontsteking en apoptose van het weefsel zoveel mogelijk te beperken en herstel te bevorderen.

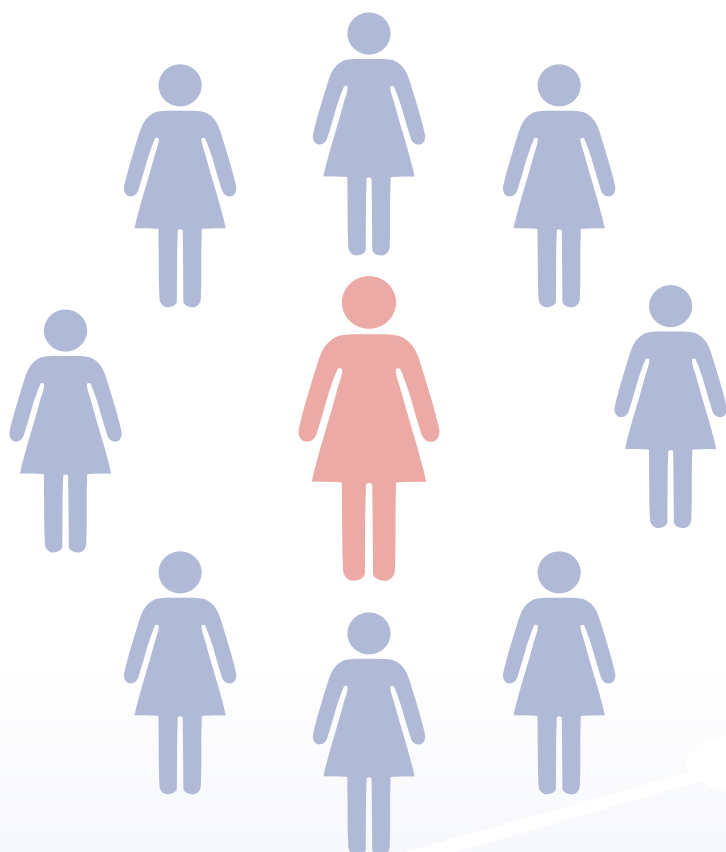
Referenties

1. Griffin, JH, et al., Activated protein C. *J Thromb Haemost*, 2007;5:73-80.
2. Mather, T, et al., The 2.8 Å crystal structure of Gla-domainless activated protein C. *EMBO J*, 1996;15: 6822-31.
3. UniProtKB/Swiss-Prot, PROC_HUMAN, accession number P04070. 2011.
4. Mosnier, LO, BV Zlokovic, and JH Griffin, The cytoprotective protein C pathway. *Blood*, 2007;109:3161-72.
5. Stearns-Kurosawa, D, et al., The endothelial cell protein C receptor augments protein C activation by the thrombin-thrombomodulin complex. *PNAS*, 1996;96:10212-6.
6. Thorelli, E, Kaufman, R and Dahlbäck, B, The C-terminal region of the factor V B-domain is crucial for the anticoagulant activity of factor V. *J Biol Chem*, 1998;273: 16140-5.
7. Thorelli, E, Kaufman, RJ and Dahlbäck, B, Cleavage of factor V at Arg 506 by activated protein C and the expression of anticoagulant activity of factor V. *Blood*, 1999;93:2552-8.
8. Kalafatis, M, Rand, M and Mann, K, The mechanism of inactivation of human factor V and human factor Va by activated protein C. *J Biol Chem*, 1994;269:31869-80.
9. Nicolaes, GAF, et al., Peptide bond cleavages and loss of functional activity during inactivation of factor Va and factor VaR506Q by activated protein C. *J Biol Chem*, 1995;270:21158-66.
10. Fay, P, Smudzin, T and Walker, R, Activated protein C-catalyzed inactivation of human factor VIII and factor VIIIa. Identification of cleavage sites and correlation of proteolysis with cofactor activity. *J Biol Chem*, 1991;266:20139-45.
11. Nicolaes, GAF and Dahlbäck, B, Activated protein C resistance (FV(Leiden)) and thrombosis: factor V mutations causing hypercoagulable states. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2003;17:37-61.
12. Nicolaes, GAF and Dahlbäck, B, Congenital and acquired activated protein C resistance. *Semin Vasc Med*, 2003;3:33-46.
13. Marlar, RA, Montgomery, RR and Broekmans, AW, Diagnosis and treatment of homozygous protein C deficiency. Report of the Working Party on Homozygous Protein C Deficiency of the Subcommittee on Protein C and Protein S, International Committee on Thrombosis and Haemostasis. *J Pediatr* 1989;114:528-34.
14. Seligsohn, U, et al., Homozygous protein C deficiency manifested by massive venous thrombosis in the newborn. *N Engl J Med*, 1984;310:559-62.
15. Coughlin, S, Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature*, 2000;407: 258-64.
16. Ossovskaya, VS and Bunnet, NW, Protease-activated receptors: contribution to physiology and disease. *Physiol Rev*, 2004;84:579-621.
17. Murakami, K, et al., Activated protein C attenuates endotoxin-induced pulmonary vascular injury by inhibiting activated leukocytes in rats. *Blood*, 1996;87:642-7.
18. Loubele, ST, et al., Activated protein C protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via inhibition of apoptosis and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009;29:1087-92.
19. Zlokovic, B, et al., Functional recovery after embolic stroke in rodents by activated protein C. *Ann Neurol*, 2005;58:474-7.
20. Liu, D, et al., Tissue plasminogen activator neurovascular toxicity is controlled by activated protein C. *Nat Med*, 2004;10:1479-83.
21. Yang, X, et al., Activated protein C ligation of ApoER2 (LRP8) causes Dab1-dependent signaling in U937 cells. *PNAS*, 2009;106:274-9.
22. Cao, C, et al., The efficacy of activated protein C in murine endotoxemia is dependent on integrin CD11b. *J Clin Invest*, 2010;120:1971-80.
23. Xue, M, et al., Activated protein C enhances human keratinocyte barrier integrity via sequential activation of epidermal growth factor receptor and Tie2. *J Biol Chem*, 2011;286:6742-50.
24. Zhang, L, Jhingan, A and Castellino, F, Role of individual γ -carboxyglutamic acid residues of activated human protein C in defining its in vitro anticoagulant activity. *Blood*, 1992;80:942-52.
25. Zhang, L and Castellino, F, The binding energy of human coagulation protein C to acidic phospholipid vesicles contains a major contribution from leucine 5 in the γ -carboxyglutamic acid domain. *J Biol Chem*, 1994;269:3590-95.
26. Christiansen, W, et al., Hydrophobic amino acid residues of human anticoagulation protein C that contribute to its functional binding to phospholipid vesicles. *Biochemistry*, 1995;34:10376-82.
27. Preston, R, et al., Selective modulation of protein C affinity for EPCR and phospholipids by Gla domain mutation. *FEBS J*, 2005;272:97-108.
28. Sun, YH, Shen, L and Dahlbäck, B, Gla domain-mutated human protein C exhibiting enhanced anticoagulant activity and increased phospholipid binding. *Blood*, 2003; 101:2277-84.
29. Mosnier, LO, et al., Activated protein C variants with normal cytoprotective but reduced anticoagulant activity. *Blood*, 2004;104:1740-44.
30. Friedrich, U, et al., Secondary substrate-binding exosite in the serine protease domain of activated protein C important for cleavage at Arg-506 but not at Arg-306 in factor Va. *J Biol Chem*, 2001;276:2305-8.
31. Gerlitz, B and Grinnell, B, Mutation of protease domain residues Lys37-39 in human protein C inhibits activation by the thrombomodulin-thrombin complex without affecting activation by free thrombin. *J Biol Chem*, 1996;271:22285-8.
32. Manithody, C, Fay, P and Rezaie, A, Exosite-dependent regulation of factor VIIIa by activated protein C. *Blood*, 2003;101:4802-7.
33. Vincenot, A, et al., Amino acids 225-235** of the protein C serine-protease domain are important for the interaction with the thrombin-thrombomodulin complex. *FEBS Lett*, 1995;367:153-7.
34. Yang, L, et al., Identification of a Specific Exosite on Activated Protein C for Interaction with Protease-activated Receptor 1. *J Biol Chem*, 2007;282:25493-500.
35. Nicolaes, GAF, et al., Inhibition of thrombin formation by active site mutated (S360A) activated protein C. *J Biol Chem*, 2010;285:22890-900.
36. Gale, AJ, et al., Nonenzymatic anticoagulant activity of the mutant serine protease Ser360Ala-activated protein C mediated by factor Va. *Protein science*, 1997;6:132-40.

Een nieuwe visie op het antifosfolipidensyndroom

dr. Ç. Açar, klinisch chemicus in opleiding
Afdeling Klinische Chemie, Laboratorium Algemene
Klinische Chemie, Academisch Medisch Centrum
Amsterdam.

Correspondentie:
 dr. Çetin Açar
 Email: c.agar@amc.uva.nl

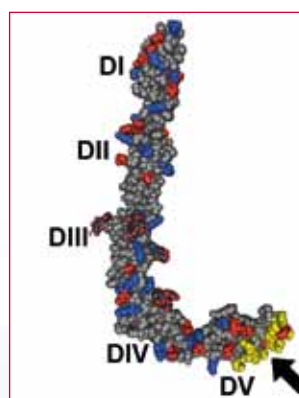


Samenvatting

Het antifosfolipidensyndroom is een auto-immuunziekte, die klinisch gekenmerkt wordt door trombotische complicaties of miskramen en serologisch door de aanwezigheid van antifosfolipiden antistoffen. Van de verschillende antistoffen in het antifosfolipidensyndroom is β_2 -glycoproteïne I het belangrijkste antigeen. Wanneer met een tussenperiode van minimaal 12 weken op twee verschillende momenten antifosfolipiden antistoffen worden gedetecteerd, bij een patiënt met trombotische of zwangerschap gerelateerde complicaties, wordt de diagnose antifosfolipidensyndroom gesteld. Recentelijk is aan het tot dusver functieloze β_2 -glycoproteïne I, een nieuwe functie gekoppeld die samenhangt met de conformatie van dit eiwit. Deze nieuwe kennis over de conformatie en functie van β_2 -glycoproteïne I biedt de mogelijkheid om meer inzicht te krijgen in de (patho)fysiologie van het antifosfolipidensyndroom. Deze kennis kan worden gebruikt voor de ontwikkeling van betere assays die kunnen leiden tot een verbetering van het stellen van de diagnose én behandeling van het antifosfolipidensyndroom.

β_2 -glycoproteïne I: toen en nu

In 1961 vond de allereerste beschrijving van β_2 -glycoproteïne I (β_2 GPI) in de literatuur plaats¹. Een alternatieve naam voor β_2 GPI, apolipoproteïne H (APO-H), werd geopperd in 1979, waarbij in een publicatie werd beschreven dat β_2 GPI een functie zou hebben in het vetmetabolisme². Vier jaar later werd APO-H de officiële naam voor het β_2 GPI gen en werden de namen β_2 GPI en APO-H naast elkaar gebruikt³. Plasma glycoproteïne β_2 GPI (43 kDa) bestaat uit 326 aminozuren, in te delen in vijf hoog homologe domeinen (DI – DV). De eerste vier domeinen bestaan elk uit ongeveer 60 aminozuren terwijl het vijfde domein uit 66 aminozuren bestaat en een 19 resterende C-terminale extensie (zie zwarte pijl in figuur 1)⁴. Deze extra aminozuren zorgen voor een positief geladen regio in het 5de domein die de bindingsplaats vormt voor negatief geladen fosfolipiden⁵. β_2 GPI wordt gesynthetiseerd in de lever en circuleert in bloed in hoge concentraties van ongeveer 4-5 μ M⁶. De kristalstructuur van β_2 GPI werd in 1999 opgehelderd door twee onderzoeksgroepen. Het molecuul bleek een hockeystickachtige conformatie te hebben^{4,7}. Domein I tot en met domein IV lagen in elkaars verlengde, waarbij domein V de krul van de stick vormde (zie figuur 1).



Figuur 1. Kristalstructuur van β_2 GPI. De vijf domeinen van β_2 GPI (DI - DV) zijn weergegeven. Een grote positief geladen regio in het vijfde domein van β_2 GPI (zwarte pijl) vormt de bindingsplek voor negatief geladen fosfolipiden.

Het antifosfolipidensyndroom

Het antifosfolipidensyndroom (APS) wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van zogenaamde antifosfolipiden antilichamen in plasma van patiënten die lijden aan arteriële en/of onbegrepen veneuze trombose of zwangerschap morbiditeit⁸. Een trombosebeen is de meest voorkomende veneuze complicatie, terwijl een ischemisch CVA het meest voorkomt als arteriële trombose. Bij zwangere vrouwen leidt APS zowel tot vroege miskramen (<12 weken) als tot zeer late intrauterine vruchtdood (>34 weken)⁹. APS komt vooral voor bij jonge vrouwen in de vruchtbare leeftijd: 8 op de 10 APS patiënten is vrouw. De antifosfolipiden antilichamen die gevonden worden bij mannen ouder dan 50 jaar zijn vaak klinisch veel minder relevant¹⁰.

Voordat het β_2 GPI eiwit werd geïdentificeerd als één van de belangrijkste auto-antigenen in APS, was cardiolipine al bekend als antigeen waartegen auto-antilichamen werden geproduceerd, die karakteriserend zijn in APS. Het antifosfolipidensyndroom dankt tot op heden zijn naam daarom ook

aan de antilichamen die gericht waren tegen cardioline, een fosfolipide. Gebleken is dat een deel van de toen bekende cardioline antilichamen eigenlijk auto-antilichamen bleken te zijn die gericht waren tegen β_2 GPI^{11,12}. Deze ontdekking heeft geleid tot betere diagnostische middelen. Meerdere studies hebben uitgewezen dat van de verschillende auto-antilichamen die gevonden kunnen worden bij APS patiënten, de antilichamen tegen β_2 GPI klinisch relevant blijken te zijn¹³.

Diagnostiek van APS

Een patiënt moet aan zowel klinische als serologische manifestaties voldoen om de diagnose APS te krijgen:

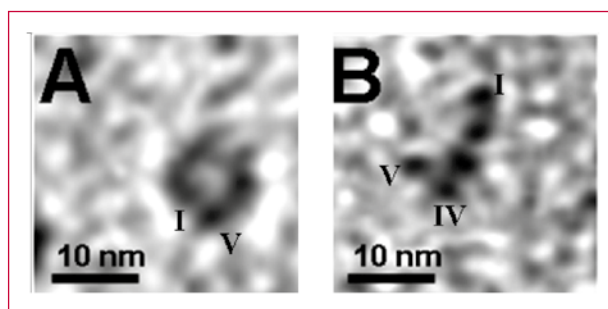
1. een geschiedenis van onbegrepen trombose of miskraam;
2. persisterende antifosfolipiden antistoffen die minimaal twee keer met een tussenperiode van minimaal 12 weken zijn waargenomen¹⁴.

Hedendaags zijn er drie verschillende testen voorhanden om de aanwezigheid van antifosfolipiden antistoffen aan te tonen: (1) de anti- β_2 GPI antistof ELISA, (2) de anti-cardiolipine ELISA en (3) de lupus anticoagulans (LA-test). ELISA nummer 1, die gebruik maakt van gezuiverd humaan β_2 GPI om de antistoffen te detecteren, zou in theorie goed moeten correleren met de waargenomen klinische verschijnselen. Echter, de praktijk wijst uit dat LA-testen het beste correleren met de klinische manifestaties¹⁵. Een van de redenen hiervoor is, dat subpopulaties van antistoffen bestaan die gericht zijn tegen verschillende domeinen van β_2 GPI. Alleen de antistoffen die gericht zijn tegen domein I zijn verantwoordelijk voor een positieve LA-test en dus klinisch relevant¹⁶. De uitdaging bij het stellen van de diagnose APS is de gevoeligheid van de verscheidene testen die worden gebruikt om de aanwezigheid van antifosfolipiden antistoffen in plasma aan te tonen. Geen van deze drie ELISA's voldoet aan reguliere interne en externe kwaliteitseisen. Bij controles is sprake van een te grote inter- en intra-assay variabiliteit en zijn de gebruikte testen niet adequaat gestandaardiseerd. Rondzending van identieke monsters naar verschillende internationale laboratoria liet zien dat er grote verschillen waren in de uitslagen, in het bijzonder bij plasma's met laag affiniteit antistoffen¹⁷⁻¹⁹.

De consensus vergadering in Sydney 2004, waarbij nieuwe aanbevelingen, richtlijnen en toevoegingen aan de bestaande diagnostische testen werden ingevoerd, heeft tot een verbetering van de resultaten tussen de onderlinge laboratoria geleid, maar de assays blijven ontoereikend voor het stellen van een juiste diagnose²⁰. Een recentere consensus uit 2009²¹ waarbij nieuwe criteria voor LA-testen zijn opgesteld zouden in theorie tot nog betere diagnoses moeten leiden, maar de praktijk leert dat een minderheid van laboratoria wereldwijd ook daadwerkelijk deze richtlijnen volgen²². Het universeel volgen van deze richtlijnen, verder onderzoek naar het verbeteren van de bestaande testen én onderzoek naar het β_2 GPI eiwit moeten leiden tot een gerichtere en betere diagnostiek van APS.

β_2 -Glycoproteïne I en het lupus anticoagulans effect

Bij de ontwikkeling van een nieuwe test voor de detectie van antifosfolipiden antistoffen werd bij toeval een andere ontdekking gedaan²³. Verschillende batches van gezuiverd humaan β_2 GPI, bleken verschillend te reageren in een aPTT. Na toevoeging van een van deze batches aan β_2 GPI deficiënt plasma werd een LA effect geobserveerd. Een verklaring hiervoor werd gevonden in de conformatie van β_2 GPI. Er bleek een tweede conformatie van β_2 GPI te bestaan, naast de al meer dan een decennium bekende hockeystickachtige vorm. De batches die geen effect lieten zien in een aPTT, bleken onder een elektronenmicroscop niet een hockeystickachtige conformatie maar een gesloten ronde conformatie te hebben, zie figuur 2A²³. In deze gesloten conformatie was er interactie tussen domein I en domein V, respectievelijk het domein met de antistof bindingsplek en het fosfolipiden bindend domein. Deze ontdekking suggereerde dat plasma β_2 GPI zich in een ronde, gesloten conformatie in de circulatie bevindt. De batch die een verlenging van de aPTT liet zien, figuur 3, bleek onder de elektronenmicroscop de bekende open hockeystickachtige structuur te hebben, zie figuur 2B.



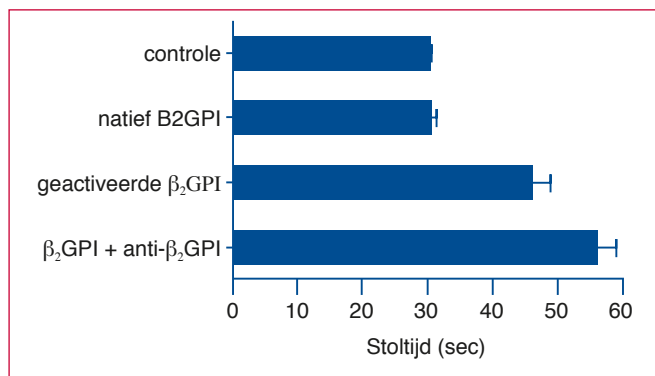
Figuur 2. β_2 GPI onder een elektronenmicroscop. Een interactie tussen domein I en domein V zorgt voor de gesloten ronde conformatie van natief β_2 GPI (A). Geactiveerde β_2 GPI (B), waarbij domein V in een hoek zit ten opzichte van domein IV, laat een open hockeystickachtige conformatie zien.

De figuur is aangepast uit een publicatie in Blood. C. Agar, et al. Blood 2010; 116(8): 1336-1343. © The American Society of Hematology.

Een additionele verlenging van de stoltijd in een aPTT werd geobserveerd wanneer aan β_2 GPI-deficiënt plasma β_2 GPI (natief en open) en antistoffen tegen β_2 GPI werden toegevoegd, zie figuur 3. Dit suggereert dat binding van de anti- β_2 GPI antistoffen aan natief β_2 GPI een conformatieverandering teweeg brengt. Daarnaast is er een soort stabiliserende werking van de toegevoegde antistoffen, waarbij het β_2 GPI-anti- β_2 GPI complex een sterker LA effect laat zien dan alleen het geactiveerde β_2 GPI.

Een nieuwe functie voor β_2 -glycoproteïne I

Onderzoek van de afgelopen 50 jaar heeft geleid tot het toeschrijven van verschillende functies aan β_2 GPI: in de antistolling, in trombocyten protrombinase activiteit en in ADP-gemedieerde trombocytenaggregatie²⁴⁻²⁹. Geen van de in de literatuur beschreven functies is echt overtuigend dé fysiologische functie van β_2 GPI. In 2011 werd een nieuwe functie geclaimd voor β_2 GPI, niet in de stolling maar in het immuunsysteem³⁰. Natief β_2 GPI bindt aan LPS (de membraancomponent van Gram-negatieve bacteriën die o.a. de ontstekingsreactie initieert). Dit complex ondergaat een



Figuur 3. Effect van β_2 GPI in een aPTT. Toevoeging van natief β_2 GPI aan β_2 GPI-deficiënt plasma laat geen effect zien in een aPTT in tegenstelling tot geactiveerd open β_2 GPI, waarbij een verlenging van de stoltijd wordt waargenomen. Er wordt een additionele verlenging geobserveerd na toevoeging van β_2 GPI (natief of geactiveerd) en antistoffen tegen β_2 GPI.

conformatieverandering en neutraliseert de effecten van LPS, waarna het β_2 GPI-LPS complex wordt opgeruimd door monocyt en macrofagen³⁰. Uit bindingsstudies bleek dat het LPS bindend deel een 7 aminozuur tellende sequentie is, gelokaliseerd in domein V³¹. Door binding van LPS aan domein V wordt de interactie tussen domein V en domein I verstoord, waardoor β_2 GPI van de natief gesloten conformatie overgaat naar een geactiveerde open conformatie³⁰. Dit is de conformatie die voor een LA effect zorgt in een aPTT en mogelijk ten grondslag ligt aan de inductie van auto-antistoffen tegen domein I van β_2 GPI, de antistoffen die klinisch het meest relevant zijn voor het antifosfolipiden-syndroom¹⁶.

β_2 -glycoproteïne I en de toekomst?

De interessante ontdekking dat geactiveerd open β_2 GPI in afwezigheid van auto-antistoffen een LA effect laat zien, opent nieuwe mogelijkheden voor verbeterde diagnostiek wereldwijd. Wanneer β_2 GPI overgaat van de natieve gesloten naar de geactiveerde open conformatie wordt een LA effect gezien. Deze conformatieverandering kan ook door LPS veroorzaakt worden³² en dus door infecties geïnduceerd worden. Een individu met een ontsteking en/of infectie kan in potentie een positieve LA test laten zien, hetgeen zou kunnen resulteren in een vals positieve LA uitslag. De mogelijkheid bestaat dat op basis van een infectie, die gepaard gaat met een verstoorde stolling, ten onrechte een LA wordt gediagnosticeerd. Omgekeerd moet bij een positieve LA naar een onderliggende infecties worden gezocht. Er zijn steeds meer aanwijzingen dat de auto-antistoffen tegen β_2 GPI tijdelijk worden aangemaakt door ziekteverwekkers die een conformationele verandering in β_2 GPI kunnen verwezenlijken. Dit zou kunnen verklaren waarom bij een groot gedeelte van de onderzochte individuen éénmalig een LA effect wordt gezien. Het is nog onbekend wat nu het mechanisme is dat verantwoordelijk is voor de omzetting van tijdelijke antilichamen in persistente auto-antistoffen. Assays die een onderscheid kunnen maken tussen het 'inactieve' gesloten natieve β_2 GPI en het geactiveerde open β_2 GPI zouden onjuiste diagnoses voor deze patiënten moeten vermijden.

Nawoord

De resultaten van de studie werden in een andere vorm gepubliceerd in het NTKC, juli 2012.

Referenties

1. Schultze HE, Heide K, and Haupt H. Über ein bisher unbekanntes niedermolekulares β_2 -Globulin des Humanserums. *Naturwissenschaften* 1961;48:719.
2. Polz E, Kostner GM. The binding of beta 2-glycoprotein-I to human serum lipoproteins: distribution among density fractions. *FEBS Lett* 1979;102:183-186.
3. Lee NS, Brewer HB Jr, Osborne JC Jr. beta 2-Glycoprotein I. Molecular properties of an unusual apolipoprotein, apolipoprotein H. *J Biol Chem* 1983;258:4765-4770.
4. Rioche M, Masseyeff R. Synthesis of plasma beta 2 glycoprotein I by human hepatoma cells in tissue culture. *Biomedicine* 1974;21:420-423.
5. Hunt JE, Simpson RJ, Krilis SA. Identification of a region of beta 2-glycoprotein I critical for lipid binding and anti-cardiolipin antibody cofactor activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:2141-2145.
6. Rioche M, Masseyeff R. Synthesis of plasma beta 2 glycoprotein I by human hepatoma cells in tissue culture. *Biomedicine* 1974;21:420-423.
7. Schwarzenbacher R, Zeth K, Diederichs K, et al. Crystal structure of human beta2-glycoprotein I: implications for phospholipid binding and the antiphospholipid syndrome. *EMBO J* 1999;18:6228-6239.
8. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306.
9. de Groot PG & Meijers JC. $\beta(2)$ -Glycoprotein I: evolution, structure and function. *J Thromb Haemost* 2011;9:1275-1284.
10. Gezer S. Antiphospholipid syndrome. *Dis Mon* 2003;49:696-741.
11. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:4120-4124.
12. Galli M, Comfurius P, Maassen C, et al. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 1990;335:1544-1547.
13. Galli M, Borrelli G, Jacobsen EM, Marfisi RM, Finazzi G, Marchioli R, Wisloff F, et al. Clinical significance of different antiphospholipid antibodies in the WAPS (warfarin in the antiphospholipid syndrome) study. *Blood* 2007;110:1178-1183.
14. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999;42:1309-1311.

15. de Laat HB, Derksen RHWM, Urbanus RT, Roest M, de Groot PG. b2-Glycoprotein I dependent lupus anticoagulant highly correlates with thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2004;104:3598–3602.
16. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE, et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. *J Thromb Haemost* 2009;7:1767-1773.
17. Jennings I, Greaves M, Mackie IJ, Kitchen S, Woods TA, Preston FE. UK National External Quality Assessment Scheme for Blood Coagulation. Lupus anticoagulant testing: improvements in performance in a UK NEQAS proficiency testing exercise after dissemination of national guidelines on laboratory methods. *Br J Haematol* 2002;119:364-369.
18. Favaloro EJ, Silvestrini R. Assessing the usefulness of anticardiolipin antibody assays: a cautious approach is suggested by high variation and limited consensus in multilaboratory testing. *Am J Clin Pathol* 2002;118:548-57.
19. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tripodi A. Italian Federation of Anticoagulation Clinics (FCSA). Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity- purified IgG. *Thromb Res* 2007;120:127-13
20. Reber G, Tincani A, Sanmarco M, de Moerloose P, Boffa MC. Proposals for the measurement of anti-beta2-glycoprotein I antibodies. Standardization group of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies. *J Thromb Haemost* 2004;2:1860-186
21. Pengo V, Tripodi A, Reber G, et al. Official communication of the scientific and standardization committee on lupus anticoagulant / phospholipid-dependent antibodies: update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009;7:1737-1740.
22. Moffat KA, Ledford-Kraemer MR, Plumhoff EA, et al. Are laboratories following published recommendations for lupus anticoagulant testing? An international evaluation of practices. *Thromb Haemost* 2009;101:178-184.
23. Açar Ç, van Os GM, Mörgelin M, et al. Beta2-glycoprotein I can exist in 2 conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2010;116:1336-1343.
24. Schousboe I & Rasmussen MS. Synchronized inhibition of the phospholipid mediated autoactivation of factor XII in plasma by beta 2-glycoprotein I and anti-beta 2-glycoprotein I. *Thromb Haemost* 1995;73:798-804.
25. Brighton TA, Hogg PJ, Dai YP, et al. Beta 2-glycoprotein I in thrombosis: evidence for a role as a natural anticoagulant. *Br J Haematol* 1996;93:185-194.
26. Mori T, Takeya H, Nishioka J, Gabazza EC, Suzuki K. Beta 2-Glycoprotein I modulates the anticoagulant activity of activated protein C on the phospholipid surface. *Thromb Haemost* 1996;75:49-55.
27. Shi T, Iverson GM, Qi JC, et al. Beta 2-Glycoprotein I binds factor XI and inhibits its activation by thrombin and factor XIIIa: loss of inhibition by clipped beta 2-glycoprotein I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:3939-3944.
28. Nimpf J, Wurm H, Kostner GM. Interaction of beta 2-glycoprotein-I with human blood platelets: influence upon the ADP-induced aggregation. *Thromb Haemost* 1985;54:397-401.
29. Nimpf J, Bevers EM, Bomans PH, et al. Prothrombinase activity of human platelets is inhibited by beta 2-glycoprotein-I. *Biochim Biophys Acta* 1986;884:142-149.
30. Açar Ç, de Groot PG, Mörgelin M, et al. β 2-glycoprotein I: a novel component of innate immunity. *Blood* 2011;117:6939-6947.
31. Açar Ç, de Groot PG, Marquart JA, Meijers JC. Evolutionary conservation of the lipopolysaccharide binding site of β 2-glycoprotein I. *Thromb Haemost* 2011;106:1069-1075.



Educatieve post-analytische INR enquêtes

Piet Meijer, biochemicus, Stichting ECAT, Leiden
Felix J.M. van der Meer, internist, Trombosedienst Leiden

Inleiding

Een nauwkeurige meting van de protrombinetijd (PT) in bloed, uitgedrukt in de zogenaamde International Normalised Ratio (INR), is van groot belang voor een goede behandeling van trombosepatiënten onder behandeling van vitamine K antagonisten (fenprocoumon en acenocoumarol). Immers, een te lage INR-waarde kan leiden tot trombose en een te hoge INR-waarde tot bloeding. De kwaliteit van de INR-bepaling door trombosediensten en/of ziekenhuis laboratoria wordt gecontroleerd door middel van een extern kwaliteitscontroleprogramma, de zgn. RELAC kwaliteitscontrole.

Naast een goede analytische kwaliteit van de INR bepaling is ook een juiste interpretatie van de gemeten INR-waarde in relatie tot de klinische achtergrond van de patiënt van groot belang. De interpretatie van meetgegevens noemen we de zogenaamde post-analytische fase. Tot nu toe is er nog weinig onderzoek gedaan naar de kwaliteit van de post-analytische fase. Een studie in Noorwegen bij huisartsen heeft laten zien dat er grote variatie is tussen artsen bij de beoordeling van een identieke casus¹. Een vergelijkbare studie is ook uitgevoerd op Europees niveau². Aan deze studie, die gehouden is in 2010, hebben in totaal ook 62 Nederlandse doseerartsen meegedaan.

Europese studie

Het doel van de Europese studie was om na te gaan of er bij de interpretatie van een tweetal casussen verschillen waren tussen de behandeling door huisartsen (primary care) en trombosediensten / ziekenhuizen (secondary care) in 13 verschillende Europese landen.

De stichting ECAT heeft de organisatie van deze enquête in Nederland op zich genomen. De enquête is aan alle trombosediensten toegestuurd met het verzoek deze te verspreiden onder de doseerartsen. In totaal hebben 62 doseerartsen van 27 verschillende trombosediensten aan deze studie meegewerkt. Gezien het feit dat dit een eerste keer was dat in Nederland een dergelijke enquête werd georganiseerd is dit een goede respons.

De enquête bestond uit een tweetal casussen. **Casus 1** ging over een 76-jaar oude man met permanente atriumfibrillatie en hoge bloeddruk die behandeld werd met acenocoumarol of fenprocoumon en geneesmiddelen tegen hoge bloeddruk. De therapeutische range voor deze patiënt was INR 2,0 – 3,0 (target: INR 2,5). Voor het overige was deze patiënt gezond en voelde hij zich op dat moment goed. Zijn INR-waarden waren stabiel en gedurende de laatste maanden varieerde deze tussen de 2,0 en 2,8. De INR-waarde op de laatste meetdag was 2,3. Vervolgens kwamen er vragen over de periode waarop de volgende meting zou moeten plaats vinden, hoeveel de INR moet veranderen om de dosering te verlagen cq te verhogen en vragen over het risico op het krijgen van een ischemisch herseninfarct dan wel een

ernstige bloeding tijdens de behandeling met acenocoumarol of fenprocoumon en het krijgen van een ischemisch herseninfarct wanneer er niet behandeld zou worden. **Casus 2** was een 62-jaar oude mevrouw, die 4 maanden geleden was opgenomen in een ziekenhuis met bevestigde longembolie. Er werd geen oorzaak voor de embolie gevonden, waarna zij werd behandeld met acenocoumarol of fenprocoumon. De therapeutische range voor deze patiënt was INR 2,0 – 3,0 (target: INR 2,5). Vervolgens werden de INR-waarden van 3 en 7 weken geleden gegeven, inclusief de doseerschema's. Deze doseerschema's liepen van maandag t/m zondag. Op maandag werd een nieuwe INR gemeten. Die bleek 4,8 te zijn (De INR-waarde werd bevestigd met een tweede meting). De patiënt voelde zich goed. Ze had haar dagelijkse dosis acenocoumarol of fenprocoumon nog niet ingenomen. Er werd vervolgens gevraagd naar het risico op het krijgen van een ernstige bloeding. Vervolgens werd gevraagd een doseerschema voor de komende 2 weken op te stellen of tot het moment dat een nieuwe INR-bepaling gedaan zou worden als dit binnen 2 weken wenselijk werd geacht. Na de aanpassing van doseerschema bleek de INR 2,9 te zijn. Er werd gevraagd wat nu de wekelijkse acenocoumarol of fenprocoumon dosering zou moeten zijn en wanneer de volgende INR-bepaling plaats zou moeten vinden.

In totaal hebben 3016 artsen uit 13 verschillende landen in Europa aan deze enquête meegedaan. Hiervan waren 82% huisarts en 18% artsen die verbonden waren aan een trombosedienst of ziekenhuis.

Er was een aanzienlijke variatie in de beantwoording van de vragen, zowel tussen de landen als binnen één land. Zo varieerde bijvoorbeeld voor Nederland in het geval van de eerste casus het risico voor het krijgen van een herseninfarct



zonder behandeling van 2 – 13% per jaar in de acenocoumarol-groep en 3 – 17% per jaar in de fenprocoumon-groep. In het geval dat er wel behandeld werd was dit voor beide groepen 1 – 5% per jaar. Het risico op een ernstige bloeding onder behandeling was 0,5 – 5% per jaar voor de acenocoumarol-groep en 0,3 – 15,2% per jaar voor de fenprocoumon-groep. Bij de vraag over het bloedingsrisico binnen 48 uur bij casus 2 na het meten van de INR van 4,8 was dit 0 – 5% per jaar voor de acenocoumarol-groep en 0 – 10% per jaar voor de fenprocoumon-groep. Voor meer details van deze studie wordt verwezen naar referentie 2.

Deze enkele voorbeelden geven aan dat in Nederland, ondanks het feit dat hier veel aandacht wordt besteed aan de standaardisatie van de behandeling van de anti-stollings-behandeling (zie b.v. de uitgave van de Federatie van Nederlandse Trombose-diensten: “De kunst van het doseren”), er nog steeds de nodige variatie aanwezig is in de beoordeling door doseerartsen van een identieke casus.

Dit bleek bijvoorbeeld duidelijk bij casus 2 uit de variatie in de dosisreductie nadat een INR van 2,9 was gemeten. Deze bleek voor de acenocoumarol-groep te variëren van 5 – 23% en voor de fenprocoumon-groep van 3 – 23%.

Een verschil in beoordeling van een casus kan dus leiden tot een verschil in dosering.

De voorlopige resultaten van de Nederlandse deelnemers aan deze enquête zijn in 2010 gepresenteerd tijdens de nascholingscursus voor doseerartsen in Noordwijkerhout.

Nieuw Nederlands initiatief

De hierboven beschreven Europese studie was een waardevol initiatief. Het probleem met een dergelijke internationale studie was het feit dat de vraagstelling niet altijd geheel aansloot bij de Nederlandse situatie.

Daarom heeft de stichting ECAT samen met Felix van der Meer, directeur van de Stichting Trombosedienst Leiden en Omstreken het initiatief genomen om dergelijke post-

analytische enquêtes op te gaan zetten specifiek voor de Nederlandse situatie. Dit initiatief wordt ondersteund door het bestuur van de Federatie van Nederlandse Trombosediensten.

Het doel van deze enquêtes is primair educatief. Hoe beoordelen Nederlandse doseerartsen een bepaalde casus en wat kunnen we hiervan leren?

De stichting ECAT is een onafhankelijke organisatie actief op het gebied van externe kwaliteitscontrole op het gebied van trombose en hemostase. Zij staat garant voor een objectieve en confidentiële beoordeling van de resultaten.

Leden van het bestuur van de Federatie van Nederlandse Trombosediensten zullen worden gevraagd te fungeren als klankbordgroep bij het opzetten van de enquêtes.

Medio september 2012 zullen de trombosediensten nader over dit initiatief geïnformeerd worden.

Uiteraard hopen wij dat veel doseerartsen aan deze enquêtes zullen meewerken. Wij zijn van mening dat dergelijke enquêtes mede een belangrijke rol kunnen spelen in het verder optimaliseren van de behandeling van trombosepatiënten.

Voor nadere informatie over dit initiatief kunt u contact opnemen met:

Piet Meijer, directeur stichting ECAT, tel. 088-8669720, e-mail: P.Meijer@ecat.nl

Referenties

1. Kristoffersen AH, Thue G, Sandberg S. Postanalytical external quality assessment of warfarin monitoring in primary healthcare. *Clin Chem*, 2006; 52: 1871-8.
2. Kristoffersen AH, Thue G, Ajzner E, Claes N, Horvath AR, Leonetti R, et al. Interpretation and management of INR results: A case history based survey in 13 countries. *Thromb Res*, 2012, in press.

Externe kwaliteitscontrole van de INR bepaling met Point-of-Care coagulometers: is er verbetering van de resultaten?

Ton van den Besselaar
RELAC laboratorium, Afdeling Trombose en Hemostase, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden

Inleiding

Sinds 2005 wordt er door de Federatie van Nederlandse Trombosediensten (FNT) in samenwerking met RELAC externe kwaliteitscontrole van de INR bepaling met point-of-care (POC) coagulometers georganiseerd.¹ Aan deze externe controle nemen praktisch alle Nederlandse trombosediensten deel. Individuele patiënten met een POC coagulometer nemen niet deel aan dit programma.

In dit programma werd gebruik gemaakt van controlebloed-monsters voor CoaguChek S, CoaguChek XS en ProTime Microcoagulation System (PMS). Daarnaast werd vanaf 2008 tot einde 2011 gebruik gemaakt van controleplasma voor de CoaguChek S. Er waren vijf rondzendingen per jaar met twee verschillende monsters per rondzending. Bovendien werden buisjes met calciumchloride oplossing naar iedere deelnemer gezonden voor recalcificatie van de controlebloed- en plasmamonsters.¹

In de beginperiode van dit programma was de variatie van de INR tussen de deelnemers vrij groot.²⁻³ De variatiecoëfficiënt (VC) van de INR kon tot ongeveer 46% oplopen.²



De onacceptabel hoge VC's werden mede veroorzaakt door het bewaren van de controlemonsters bij 2-8°C.² Er werden daarom enkele veranderingen aangebracht in de samenstelling en de bewaaromstandigheden van de controlematerialen.³ Bovendien werden de deelnemers in 2006 verzocht om geijkte pipetten te gebruiken voor de toevoeging van de calciumchloride oplossing aan de controlemonsters.³ Men kan zich afvragen of de resultaten van de externe kwaliteitscontrole *mutatis mutandis* zijn verbeterd. In dit artikel worden de resultaten vanaf 2006 tot en met 2011 gerapporteerd en besproken.

Methoden

Tussen-deelnemer variatiecoëfficiënten (VC) van de INR werden voor elk controlemonster berekend waarbij uitbijters werden verwijderd met de tolerantieintervalmethode.⁴ VC's werden berekend indien er minimaal 6 uitslagen waren. De uitslagen werden voor ieder type POC coagulometer afzonderlijk geëvalueerd. De gemiddelde INR van alle deelnemers met hetzelfde type POC coagulometer werd als consensuswaarde (INR_c) gebruikt om voor iedere deelnemer een grootte *d* te berekenen:

$$d = | (INR_i - INR_c) / INR_c |$$

waarin INR_i de uitslag van deelnemer (i) voorstelt. Zoals ook door onze Britse collega's (UK NEQAS) is geadviseerd, wordt een uitslag van een deelnemer als voldoende beoordeeld (binnen consensus) indien $d \leq 0,15$.⁵ Een uitslag is onvoldoende indien $d > 0,15$. Voor ieder monster en voor ieder type POC coagulometer werd berekend welk percentage van de uitslagen voldoende was.

Resultaten

In een aantal gevallen rapporteerden deelnemers dat er een "error" melding op het scherm van de POC coagulometer

verscheen. De error-meldingen kwamen niet altijd van dezelfde deelnemer of hetzelfde POC apparaat. De organisatoren hebben geadviseerd om twee POC coagulometers naast elkaar te gebruiken om ieder monster in duplo te kunnen analyseren. Indien slechts één van de POC apparaten een error geeft kan de deelnemer in ieder geval de andere uitslag inzenden.

De oorzaak van error-meldingen en uitbijters kon niet altijd worden opgespoord. Bij een aantal uitbijters was er waarschijnlijk sprake van verwisseling van de monsters of van verwisseling van stollingstijden en INR uitslagen. In tabel 1 is een samenvatting van de VC's (na verwijdering van uitbijters) per kalenderjaar gegeven voor de drie typen POC coagulometer. Tabel 2 geeft de percentages voldoende uitslagen per controlemonster, waarbij ook de statistische uitbijters zijn meegeteld. Een statistische uitbijter was niet altijd een onvoldoende uitslag.

Discussie

Bij de uitslagen van de CoaguChek S was een duidelijke daling van de mediaan VC te zien tussen 2006 en 2010 (Tabel 1). Alleen in 2011 was er weer een sterke stijging van de mediaan VC. Waarschijnlijk hangt de toename van de VC in 2011 samen met een daling van het aantal deelnemers dat uitslagen met de CoaguChek S heeft ingezonden. Ook bij het PMS was het aantal inzendingen relatief klein en bleef de VC relatief hoog. Bij de uitslagen van de CoaguChek XS was een duidelijke daling van de mediaan VC te zien tussen 2007 en 2011, waarbij het aantal inzendingen verdubbelde.

Het percentage voldoende uitslagen nam toe tussen 2006 en 2010, maar in 2011 nam het percentage bij de CoaguChek S weer af (Tabel 2). Mogelijk hangt ook dit samen met de sterke afname van het aantal inzendingen in 2011. Bleven in 2011 alleen de minder goede deelnemers over? Bij de deelnemers met de CoaguChek XS nam het

Tabel 1. Tussen-deelnemer variatiecoëfficiënten (VC, in %) bepaald met 10 controlemonsters per kalenderjaar voor drie typen POC coagulometer. N is het aantal inzendingen (mediaan) per controlemonster.

Jaar	CoaguChek S			CoaguChek XS			ProTime (PMS)		
	N	VC (mediaan)	VC (range)	N	VC (mediaan)	VC (range)	N	VC (mediaan)	VC (range)
2006	46	9,4	5,4-29,1	-	-		8	9,3	3,6-15,5
2007	51	8,3	3,8-20,8	38	4,05	2,9 – 7,5	9	10,6	6,6-17,9
2008	49	5,7	4,0-7,0	51	3,5	2,8 – 8,6	9	10,1	7,8-22,6
2009	45	4,95	3,8-10,8	56	3,05	2,2 – 5,1	4	-	
2010	41	4,35	3,1-7,1	65	2,8	2,3 – 3,4	5	-	
2011	12	8,85	2,0-14,2	75	2,75	2,5 – 4,1	3	-	

Tabel 2. Percentage voldoende uitslagen per controlemonster. N is het aantal inzendingen (mediaan) per controlemonster.

Jaar	CoaguChek S			CoaguChek XS			ProTime (PMS)		
	N	Mediaan	Range	N	Mediaan	Range	N	Mediaan	Range
2006	46	71,3	17,1-87,5	-	-		8	88,8	66,7-100
2007	51	81,4	54,2-92,3	38	93,9	91,1-100	9	82,9	62,5-100
2008	49	92,8	84,0-100	51	95,2	86,3-100	9	86,1	66,7-100
2009	45	93,3	89,5-97,6	56	95,7	85,7-100	4	-	
2010	41	93,0	90,2-100	65	97,0	96,8-98,6	5	-	
2011	12	88,8	77,8-100	75	98,0	94,7-100	3	-	

percentage voldoende uitslagen duidelijk toe vanaf 2007. Het is niet zo eenvoudig de waargenomen trends in de VC en het percentage voldoende uitslagen te verklaren. Deze grootheden zijn afhankelijk van zowel de kwaliteit van de controlemonsters als van de kwaliteit van de POC apparaten en de deelnemers. Er is waarschijnlijk ook sprake van een "leereffect". De deelnemers leren steeds beter hoe de controlematerialen moeten worden gebruikt. Toch zien we dat op ieder moment de mediaan VC met de CoaguChek XS lager was dan de mediaan VC met de CoaguChek S. Waarschijnlijk kan dit verschil worden verklaard door een verschil in analytische precisie tussen deze apparaten. De CoaguChek XS heeft een betere precisie dan de CoaguChek S.⁶ De analytische precisie van het Protime zelfmeetsysteem laat te wensen over.⁷ De variatie bij de Protime komt vooral voort uit de meetmethode en niet zozeer uit verschillen tussen individuele meters.⁷

Met ingang van 1 januari 2012 is het programma voor de CoaguChek S en de Protime beëindigd omdat deze apparaten in Nederland niet meer worden gebruikt. Het programma voor de CoaguChek XS wordt voortgezet.

De afname van de VC voor de CoaguChek S en CoaguChek XS ging gepaard met een toename van het percentage voldoende resultaten (Tabel 2). Op het eerste gezicht lijkt dit vanzelfsprekend, maar de VC werd berekend na verwijdering van uitbijters terwijl bij de berekening van het percentage voldoende resultaten de uitbijters niet werden verwijderd. Voor de groep deelnemers met de CoaguChek XS mogen wij concluderen dat de uitslagen vanaf 2007 geleidelijk dichter bij elkaar zijn komen te liggen.

Hoe verhoudt de tussen-deelnemer variatie van de POC apparaten zich tot de tussen-lab variatie van de klassieke laboratoriumbepaling? In 2010 lag de mediaan VC van de INR bepaald met de drie grootste preparaatgroepen (Innovin, Recombiplastin 2G, en Hepato Quick) tussen 3,2% en 4,1%. De huidige tussen-deelnemer variatie van de INR bepaald met de CoaguChek XS (VC ongeveer 3%) steekt dus gunstig af in vergelijking met die van de klassieke laboratoriumbepalingen.

Samenvatting

Externe kwaliteitscontrole van INR bepalingen met POC coagulometers werd uitgevoerd door de FNT in samenwerking met RELAC. Tussen-deelnemer variatie van de INR en percentage voldoende resultaten werden berekend voor drie typen POC coagulometers. Vanaf 2007 zijn de INR uitslagen van deelnemers met CoaguChek XS geleidelijk dichter bij elkaar komen te liggen. De huidige tussen-deelnemer variatie van de INR bepaald met de CoaguChek XS verhoudt zich goed ten opzichte van de tussen-lab variatie van de klassieke laboratoriumbepalingen.

Referenties

1. Van den Besselaar T. Externe kwaliteitscontrole van de INR bepaling met drie typen Point-of-Care coagulometers. *Tromnibus* 2008; 36:19-21.
2. Van den Besselaar AMHP. Het externe kwaliteitscontrole programma van de Federatie van Nederlandse Thrombosediensten in 2005. *Tromnibus* 2006; 34:34-39.
3. Van den Besselaar AMHP. Het externe kwaliteitscontrole programma van de Federatie van Nederlandse Thrombosediensten in 2006. *Tromnibus* 2007; 35:17-23.
4. Reijnierse GLA, van den Besselaar AMHP, Hermans J. Een nieuw verwerkingsprogramma van ingezonden uitslagen in het kader van externe kwaliteitsbewaking. Ervaringen in 1988. *Tijdschr NVKC* 1989; 14:122-127.
5. Kitchen S, Kitchen DP, Jennings I, Woods TAL, Walker ID, Preston FE. Point-of-care International Normalised Ratios: UK NE-QAS experience demonstrates necessity for proficiency testing of three different monitors. *Thromb Haemost* 2006; 96:590-6.
6. Braun S, Watzke H, Hasenkam JM, Schwab M, Wolf T, Dovifat C, Völler H. Performance evaluation of the new CoaguChek XS system compared with the established CoaguChek system by patients experienced in INR-self management. *Thromb Haemost* 2007; 97:310-314.
7. Van de Ven J, Rubens M, De Haan MA, Dobbe M, Wardenaar T, Bartels PCM. Analytische evaluatie van het Protime® INR zelfmeetsysteem. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2005; 30:307-308.