

Interferentie van rivaroxaban op factor Xa-afhankelijke stollingsbepalingen

Y.I.G.V. TICHELAAAR¹, W.H.A de JONG², H. NIJLAND², J.C. KLUIN-NELEMANS¹, K. MEIJER¹ en A.B. MULDER²

Recent is beschreven dat het gebruik van rivaroxaban foutief-positieve lupus anticoagulant (LAC) testresultaten kan geven (1). Hier beschrijven we een vergelijkbaar effect op de factor VIII: C (FVIII) bepaling. Rivaroxaban is een nieuw oraal antistollingsmiddel, dat selectief geactiveerd factor X (fXa) blokkeert (2). Uit de EINSTEIN studie is geconcludeerd dat rivaroxaban tenminste even effectief is als een vitamine K antagonist (VKA) bij de behandeling van symptomatische diep veneuze trombose (DVT) in het been (3). Onze sectie Hemostase en Trombose binnen de afdeling Hematologie heeft deelgenomen aan deze studie. Trombofilie-onderzoek is uitgevoerd in patiënten met een positieve familiegeschiedenis van veneuze trombose, in personen met een erfelijke trombofilie in een eerstegraads familielid, en in patiënten met een idiopathische diep veneuze trombose op jongere leeftijd (<30 jaar). Dit onderzoek bevatte ook de FVIII:C bepaling. Voor klinische routine follow-up, zijn trombofilie testen herhaald tijdens of na behandeling met anticoagulantia, afhankelijk van de medicatie en het soort test. Daarbij viel op dat gemeten FVIII:C levels sneller en sterker daalden in patiënten op rivaroxaban vergeleken met die op VKA. Dit fenomeen is verder uitgezocht door de in vitro invloed van rivaroxaban op de FVIII:C meting te onderzoeken. FVIII:C werd gemeten met een éénstaps stollingsbepaling in gepoold normaal citraat plasma dat werd gespiked met verschillende concentraties rivaroxaban tussen 5 en 500 µg/l. Ook is FVIII:C gemeten in plasma van gezonde vrijwilligers voor en na orale inname van 20 mg rivaroxaban.

Methoden

Vanuit de EINSTEIN studie zijn 89 patiënten met een indicatie voor trombofilie-onderzoek en met als medicatie rivaroxaban of VKA geïncludeerd voor de analyse van FVIII:C concentraties. DVT werd gediagnosticeerd door middel van compressie ultrasonografie en longembolie door middel van spiral computerized tomography. Na het verkrijgen van informed consent werd voorafgaand aan de diagnose een gestandaardiseerde vragenlijst ingevuld voor het verkrijgen van patiëntkarakteristieken. Bloed werd afgenomen door venapunctie voorafgaand aan de behandeling voor het

vaststellen van uitgangswaarden (t=0). Bij voorgeschreven gebruik van medicatie gedurende 6 maanden werd opnieuw bloed afgenomen na 3 maanden (t=1) en na 6 maanden (t=2), bij patiënten met medicatiegebruik gedurende 12 maanden of langer werd na 6 maanden (t=1) en na 12 maanden (t=2) bloed afgenomen. Hierdoor werd de medicatie door alle patiënten op t=2 nog ingenomen. Vanwege normaal verdeelde resultaten is een Student's t-test gebruikt voor de vergelijking van gemiddelden van individuele veranderingen in FVIII:C levels tussen de patiënten met acenocoumarol en die met rivaroxaban. Om gemiddelden op de drie verschillende tijdstippen (t=0, t=1 en t=2) te toetsen werd een p voor trend berekend met ANOVA. Wanneer op deze manier een significant verschil werd aangetoond werd een gepaarde t-toets met Bonferroni correctie uitgevoerd tussen 2 van de 3 tijdstippen. Voor categorische data is de Pearson Chi-square test gebruikt. Statistiek werd uitgevoerd met PASW 18.0 (Chicago, Illinois, USA).

Het in vitro effect van rivaroxaban op FVIII:C is getest door gepoold normaal citraat plasma te spiken met rivaroxaban. Aangezien rivaroxaban niet in water oplosbaar is, werd een rivaroxaban werkoplossing in 100% dimehtylsulfoxide (DMSO) gebruikt. Rivaroxaban concentraties waren 0, 5, 15, 50, 150, 250 en 500 ng/ml in 1% DMSO. De monsters werden gemeten in een standaard 1: 10 verdunning en ook in een 1: 40 en 1: 80 verdunning. Het in vivo effect van rivaroxaban op FVIII:C is daarnaast nog getest in 4 gezonde personen. Hiervoor zijn veranderingen in FVIII:C concentraties 4 uur na orale toediening van 20 mg rivaroxaban bekeken. Monsters zijn ook gemeten in 1: 10, 1: 40 en 1: 80 verdunningen. FVIII:C is bepaald met een éénstaps stollingsbepaling (Sysmex CA-7000, Siemens). Tevens zijn pro-thrombine tijd (PT) en geactiveerde partiële thromboplastine tijd (APTT) gemeten (Sysmex CA-7000, Siemens).

Resultaten

Er is geen significant verschil aangetoond in gemeten FVIII:C concentraties voorafgaand aan de behandelingen (t=0) tussen patiënten op rivaroxaban en VKA (tabel 1). Vrijwel alle patiënten vertoonden een verhoogd FVIII:C. Tijdens behandeling daalden FVIII:C waarden van 201, via 187 naar 181 IU/dl (p voor trend=0,282) in de VKA groep, en van 190, via 137 naar 152 IU/dl in de rivaroxaban groep (p voor trend=0,000, p=0,402 tussen t=1 and t=2). Wanneer beide groepen op t=1 en t=2 vergeleken werden, bleek FVIII:C significant verschillend (187 versus 137 IU/dl, p=0,00, en 181 versus 152 IU/dl, p=0,01, respectievelijk). Hierbij werd dus een gemiddelde daling van 43 IU/dl (95%CI, 25-58 IU/dl) gezien in patiënten op rivaroxaban, vergeleken met de uitgangswaarde vóór behandeling.

Afdeling Hematologie, divisie Hemostase en Trombose, Universitair Medisch Centrum Groningen, Groningen¹; Afdeling Laboratoriumgeneeskunde, Laboratorium Bijzondere Hematologie, Universitair Medisch Centrum Groningen, Groningen²

E-mail: y.tichelaar@onco.umcg.nl

Tabel 1. Resultaten

Gemiddelde fVIII concentraties in EINSTEIN studie patiënten IU/dL (95% CI)					
	Acenocoumarol (n=42)	Rivaroxaban (n=47)		Gemiddeld verschil (95% CI)	
t = 0	201 (181-221)	190 (171-208)		11 (-16-38)	
t = 1	187 (165-210)	137 (121-154)		50 (23-77) p<0,05	
t = 2	181 (165-197)	152 (134-169)		29 (6-53) p<0,05	

Gemiddelde fVIII concentraties, PT en APTT in rivaroxaban gespiked plasma (in vitro experiment)					
Rivaroxaban concentratie (ng/mL)	Bepaling (verdunding)				
	fVIII (IU/dL) (1: 10)	fVIII (IU/dL) (1: 40)	fVIII (IU/dL) (1: 80)	PT (s) (1: 3)	APTT (s) (1: 3)
0	103	103	110	10,8	27,6
5	105	102	100	10,8	28,3
15	104	105	100	11	29,4
50	88	100	103	11,3	31,7
150	73	90	92	12,1	36,2
250	58	77	89	13,1	41,8
500	40	60	84	15,7	50,9

Gemiddelde fVIII concentraties in gezonde vrijwilligers voor en na rivaroxaban toediening (in vivo experiment)			
Patient	Verdunding		
	1: 10	1: 40	1: 80
Voor	92	79	95
Na	59	69	77
Voor	166	181	225
Na	125	175	195
Voor	162	184	195
Na	100	139	146
Voor	90	81	89
Na	49	57	67

In gespiked plasma nam de PT dosis-afhankelijk toe tot 145% van de bovengrens van de normaalwaarden en de APTT tot 184%. Een dosis-afhankelijke interferentie op FVIII:C werd geobserveerd met toegenomen rivaroxaban concentratie. Interferentie werd geminimaliseerd door een verdunding van 1: 80 toe te passen in de bepaling (tabel 1).

In 4 gezonde vrijwilligers nam door rivaroxaban toediening de PT toe tot 113% van de bovengrens van de normaalwaarden en de APTT tot 131%. De gemiddelde pre-dosis FVIII:C concentratie was 130 IU/dl, welke afnam tot 83-110 IU/dl 4 uur na inname van rivaroxaban, afhankelijk van de verdunding in de bepaling. Dit gemiddelde verschil van 20 to 47 IU/dl kwam overeen met de resultaten verkregen van patiënten op rivaroxaban in de EINSTEIN studie. Net als *in vitro*, werd de interferentie op FVIII:C sterk gereduceerd bij een bepalingen verdunding van 1: 80, waardoor werd voorzien in betrouwbaardere FVIII:C resultaten (tabel 1).

Discussie

Er is al eerder beschreven door Merriman et al. (1) dat rivaroxaban effect heeft op de lupus anticoagulant test en hoewel bekend is dat rivaroxaban interferentie geeft in de APTT bepaling, realiseert men zich meestal niet dat

APTT-gebaseerde bepalingen zoals de FVIII:C bepaling ook gestoord kunnen worden. In deze studie hebben we aangetoond dat rivaroxaban de FVIII:C bepaling zowel *in vivo* (patiënten en gezonde controles) als *in vitro* beïnvloedt met foutief-verlaagde resultaten tot gevolg.

Concluderend kunnen we zeggen dat de lagere FVIII:C levels die worden gezien in patiënten op rivaroxaban vergeleken met die op VKA te wijten zijn aan remming van factor Xa door rivaroxaban in de éénstaps stollingsbepaling. Door plasma in hogere verdunningen te meten wordt de interferentie sterk verminderd. De boodschap is om oplettend te zijn bij interpretatie van APTT-gebaseerde stollingsbepalingen wanneer een patiënt rivaroxaban krijgt voorgeschreven.

Referenties

- Merriman E, Kaplan Z, Butler J, Malan E, Gan E, Tran H. Rivaroxaban and false positive lupus anticoagulant testing. *Thromb Haemost.* 2011; 105: 385-86.
- Eriksson BI, Quinlan DJ. Oral anticoagulants in development- Focus on thromboprophylaxis in patients undergoing orthopedic surgery. *Drugs.* 2006; 66: 1411-29.
- The EINSTEIN Investigators. Oral rivaroxaban for symptomatic venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 2010; 363: 2499-510.