

Een M-proteïne geassocieerde coagulopathie door een factor IX deficiëntie

K. van der WEIDE¹, E. C. DOMPELING², L.D. DIKKESCHEI¹ en S.A.H. KOEKKOEK-MEIJER¹

Een 47-jarige vrouw presenteerde zich met spontane hematomen, waarbij afwijkende stollingsparameters worden gevonden (PT, APTT, trombocytenfunctie). De APTT mengproef liet geen normalisatie zien, duidend op een factorremmer. Factor VIII was niet afwijkend, echter factor IX liet een verlaagde activiteit zien van 46%. Het eiwitspectrum liet een M-proteïne van 11 g/L zien, wat samen met de kliniek en beenmerg-onderzoek wijst op een MGUS. Deze MGUS werd als ware het een MM behandeld. Na de 4e kuur VTD was een normalisatie van APTT, factor IX en trombocytenfunctie te zien, PT bleef nog licht verlengd, en de M-proteïne was niet meer aantoonbaar, waarna een autologe stamceltransplantatie werd uitgevoerd. Deze casus beschrijft een zeldzaam verworven factor IX deficiëntie op basis van een MGUS met ernstige stollingsproblematiek, waarvan de patiënte in eerste instantie genezen leek na behandeling van de MGUS.

Trefwoorden: Factor IX, MGUS, factor deficiëntie

Casus

Bij een 47-jarige vrouw werd een oriënterend stollingsonderzoek aangevraagd door haar huisarts in verband met spontane hematomen. Bij de anamnese gaf de vrouw aan snel blauwe plekken te krijgen na licht trauma, maar ook spontaan. Bij eerdere ingrepen (kiesextractie, buikwandcorrectie, borstcorrectie) zijn er nabloedingen geweest; bij de buikwandcorrectie, enkele jaren na een gastric bypass, is een bloedtransfusie nodig geweest. Enige weken geleden was er sprake van een bicepsbloeding na het voelen van een 'knapje' bij het tillen van een plank, wat werd geduid als niet spier-gerelateerd. Bij nader onderzoek (echo) was tevens een rectushematoom gezien met een diameter van maximaal 12 cm; een klein jaar eerder is een groot hematoom op de buik ontstaan bij het tillen van een zwaar object, eveneens na het voelen van een 'knapje'. De patiënte heeft in het verleden voor menorrhagie aanvankelijk Mirena gehad, vervolgens een Novasure-behandeling. Er was geen sprake van familie met een verhoogde bloedingneiging. In verband met een chronisch pijnsyndroom en een depressie werd de vrouw behandeld met respectievelijk diclofenac en citalopram.

Bij het stollingsonderzoek werden een licht verlengde PT (INR 1.2; Innovin, Siemens) en een licht verlengde

APTT (37 sec, ref 20-35 sec; Actin FSL, Siemens) gezien, een normaal aantal trombocyten ($210 \times 10^9/L$, ref 150-400 $\times 10^9/L$), en een afwijkende trombocytenfunctietest (epinefrine 244 sec, ref 85-165 sec; ADP 126 sec, ref 71-118 sec; PFA-100, Dade Behring). Dit laatste werd in eerste instantie geduid bij gebruik van een NSAID (diclofenac). Ook fibrinogeen (2,3 g/L, ref 2,0-4,0 g/L) was niet afwijkend. Met deze waarden werd de patiënte doorverwezen naar de hematoloog.

Door de hematoloog werd verder onderzoek aangevraagd. Herhaling van PT, APTT en trombocyten leverde vergelijkbare uitslagen op. De ziekte van Rendu-Osler-Weber en het syndroom van Ehlers-Danlos werden onwaarschijnlijk geacht op basis van lichamelijk onderzoek en er waren geen aanwijzingen voor een autoimmuunziekte. Lupus anticoagulans, alsmede antistoffen tegen cardiolipine en beta-2-glycoproteïne waren negatief. Van Willebrand Factor antigeen (92%, ref 70-200%) en activiteit (117%, ref 50-150%) waren niet afwijkend. Factor VIII activiteit was ook niet afwijkend (75%, ref 60-120%; Actin FSL), echter factor IX activiteit was verlaagd (46%, REF 60-120%), welke in drie weken tijd naar 26% daalde. De APTT mengproef (1:1 verdunning met normaal pool plasma) liet geen normalisatie zien van de APTT, wat de aanwezigheid van een factorremmer suggereert. Omdat een aangeboren hemofilie B onwaarschijnlijk is, werd gedacht aan een klinisch verworven factor IX deficiëntie. Dit vermoeden werd versterkt door de vurigheid van de hematomen, die deden denken aan de hematomen bij (hemofilie)patiënten met een verworven factorremmer. Hematologische parameters (Hb 7,8 mmol/L, erythrocyten $3,9 \times 10^{12}/L$, HCT 0,37 L/L, MCV 95 fL, leukocyten $5,4 \times 10^9/L$, trombocyten $190 \times 10^9/L$) lieten geen afwijkingen zien.



Figuur 1. Eén van de hematomen bij de patiënte

Klinisch Chemisch Laboratorium¹ en Interne Geneeskunde², Isala, Zwolle

E-mail: k.van.der.weide@isala.nl

Tabel 1. Relevante laboratoriumuitslagen voor, tijdens en na behandeling

	Voor kuur	Na 1e kuur	Na 2e kuur	Na 3e kuur	Na 4e kuur	Ref. waarden
IgG (g/L)	22,4	11,4	7,4	7,3	7,3	7,0-15,0
IgA (g/L)	1,77	0,91	0,67	0,73	0,52	0,7-3,8
IgM (g/L)	1,78	1,73	1,14	1,00	0,97	0,4-2,3
M-proteïne (g/L)	11*	3*	1	1	NA	
PT (INR)	1,1	1,1	1,1	1,2	1,1	0,9-1,1
APTT (sec)	37	32	30	29	26	20-35
PFA	Afw	Afw	NB	NB	Normaal**	
Factor VIII act (%)	75 (23/11/15)					60-120
Factor IX act (%)	26 (23/11/15)					60-120

* IgG kappa zwak aantoonbaar

** Na langer staken NSAID

Afw: afwijkend, NA: niet aantoonbaar, NB: niet bepaald.

Herhaling van onderzoek door een ander ziekenhuis (UMCU, Diagnostica Stago) liet een verlengde APTT zien (58 sec, ref: 29-39 sec), waarbij de APTT mengproef geen normalisatie van de APTT liet zien (53 sec). Bij factor IX was, ondanks een ogenschijnlijk normale waarde (80%, ref 60-150%) non-lineariteit te zien bij verdunning, wat indicatief is voor een factorremmer. De andere gemeten factoren (VIII, X, XI, XII, en VWF) lieten geen afwijkingen zien. Anti-Factor IX was 0,2 U (ref 0,0-0,3 U).

Omdat klonale B-cel ziekten kunnen leiden tot specifieke productie van antistoffen is gekeken naar de aanwezigheid van een M-proteïne. Bij het eiwitpectrum bleek inderdaad een M-proteïne aantoonbaar, waarbij 11 g/L monoklonaal IgG λ en een zeer zwak IgG κ werden gevonden (Tabel 1). Er werden geen Bence Jones eiwitten in de urine aangetoond. Er is afgezien van een beenmergbiopsie gezien de verhoogde bloedingsneiging, maar in een beenmergaspiraats werden 8% plasmacellen gezien; immunofenotypering liet een geringe monoklonale plasmacelpopulatie zien naast een polyklonale populatie. Er waren behoudens de stollingsstoornis geen klinische symptomen, er was geen sprake van een anemie of een verhoogd calcium en de nierfunctie was niet afwijkend. Er werden geen osteolytische laesies gezien op een CT-scan (CRAB-criteria, zie tabel 2). Men vond echter wel een cytogenetische afwijking in het beenmergaspiraats passend bij multipel myeloom (MM; extra kopie van chromosoom 9 in 43% van de onderzochte kernen, en 2 extra kopieën van chr 9 in 12%). Op basis van deze uitslagen werd de diagnose MGUS (monoklonal gammopathy of unknown significance) gesteld (zie tabel 2 voor de criteria van MM en MGUS).

Hoewel MGUS geen indicatie is voor behandeling, is de patiënte gezien haar kliniek van ernstige opeenvolgende bloedingen toch behandeld als het ware een multipel myeloom. In eerste instantie werd een inductietherapie van vier kuren VTD (Bortezomib, Thalidomide, Dexamethason) gegeven (2); er werd geen fraxiparine gegeven gezien de reeds verhoogde bloedingsneiging. In tabel 1 staan de laboratoriumuitslagen van gedurende de kuur. Er was een afname van de concentratie M-proteïne te zien, welke niet meer

aantoonbaar was na de 4e kuur VTD. De APTT normaliseerde, alsmede de factor IX concentratie; de PT bleef licht verlengd. Trombocytenfunctie normaliseerde eveneens, waarbij ook langere tijd de NSAID was gestaakt. Onderzoek van het beenmergaspiraats na de vierde VTD-kuur gaf een normaal aantal plasmacellen (1%). Bij patiënten jonger dan 65 jaar is een autologe stamceltransplantatie de eerste keus behandeling. Daarom werden bij de patiënte na de VTD-kuren stamcellen geoogst na mobilisatie middels een cyclofosfamidekuur, waarbij gestreefd dient te worden naar een opbrengst van tenminste 4×10^6 CD34/kg (2). Hierop volgend zijn na een hoge dosis Melfalan de autologe stamcellen getransplanteerd (2).

Bespreking

Factor IX is een serineprotease dat een rol speelt bij de zogenaamde intrinsieke route van de secundaire hemostase. Congenitale deficiëntie van factor IX is de oorzaak van hemofilie B, maar een deficiëntie van factor IX kan ook verworven zijn. Dit komt echter zelden voor. Vaker gezien wordt een factor VIII deficiëntie (verworven hemofilie A), hoewel dit ook zeker een zeldzaam fenomeen is (1:5.000.000 mensen) (3).

Verworven factordeficiënties worden meestal veroorzaakt door immunoglobulines die direct reageren met stollingsfactoren (neutralisatie van de activatie of functie) of met de reacties van deze factoren interfereren (4, 5). Het ontwikkelen van een remmende autoantistof tegen factor IX (in verder gezonde individuen) is veel zeldzamer dan het ontwikkelen van factor VIII antistoffen. De helft van de verworven factor VIII deficiënties ontstaan spontaan in oudere patiënten. Daarnaast is het gerapporteerd bij immunologische ziekten, zoals reumatoïde artritis, systemische lupus erythematosus, myasthenia gravis en temporal artritis, en op jongere leeftijd bij goedaardige lymfoproliferatieve ziekten en zwangerschap. Dit alles suggereert dat een dysfunctioneel immuunsysteem de ontwikkeling van een abnormale lymfoïde kloon stimuleert, met een hierop volgende T-cel-afhankelijke humorale immunrespons. Daarnaast zijn remmers waargenomen in patiënten met IBD, astma, pemphigus en andere huidziekten, bij medicatie als penicilline en sulfonamides, bij multipole sclerose en ontvangers

Tabel 2. Karakteristieken multipel myeloom versus MGUS (1).

	Non-IgM MGUS	Smouldering MM	MM
Serum M-proteïne	< 30 g/L	≥ 30 g/L of urine M-proteïne ≥ 500 mg/24 uur	Geen vereiste
% klonale plasmacellen in BM	EN < 10%	EN / OF 10-60% plasmacellen	≥ 10% of biopt bewezen extramedullair plasmacytoom EN
Klinische symptomen	Afwezigheid van eindorgaanschade zoals CRAB of amyloidose t.g.v. de plasmaceldyscrasie	Afwezigheid van myeloomdefinierende criteria of amyloidose	Bewijs van orgaanschade t.g.v. de plasmaceldyscrasie; CRAB: HyperCalcemie (>0.25 mmol/L boven bovengrens of >2.75 mmol/L Renaal falen (klaring <40 ml/min of creatinine >177 umol/L Anemie (Hb >1.3 mmol/L onder ondergrens of <6.3 mmol/L) Botziekte (1 of meer osteolytische laesies bij X-skelet, CT-scan of PET-CT-scan OF 1 of meer van onderstaande: ≥ 60% klonale plasmacellen Serum vrije lichte ketenratio ≥ 100 > 1 focale laesie bij MRI

van chronische behandeling met interferon alfa bij auto-immuun ziekten. Verder zijn factor VIII remmers gevonden in oudere patiënten met solide tumoren (prostaat, nier, long, colon), CLL en lymfomen, bij graft-versus-host disease en postpartum. Factor IX remmers zijn gevonden bij patiënten met hemofilie B, SLE, acute reumatische koorts, hepatitis, 'ill-defined collagen vascular diseases', multiple sclerose, postprostatectomie en postpartum (vaak onderliggende immunologische ziekte). Factor IX remmers zijn meestal van het IgG type (5).

Ongeveer 30 casus met verworven factor VIII deficiëntie op basis van een hematologische maligniteit zijn in de literatuur beschreven (6). Er zijn slechts weinig casus bekend waarin een dergelijke factor IX deficiëntie op basis van een monoklonale gammopathie is gevonden. In een retrospectieve analyse van zes MM patiënten die zich aanvankelijk slechts presenteerden met coagulopathie en bloedingen, zijn verschillende factordeficiënties gevonden: een patiënt had alleen een factor VII deficiëntie en een andere had een factor X deficiëntie. De vier andere (vrouwelijke) patiënten lieten een deficiëntie van een combinatie van factoren zien, van wie twee patiënten een factor IX deficiëntie hadden i.c.m. respectievelijk VIII en XI of V en VIII (7).

Aanwezigheid van een factor IX remmer wordt, net als bij factor VIII remmers, vastgesteld middels een verlengde APTT, een onvolledige correctie van de APTT bij de mengproef, en hierop volgend een kwantificatie van factor IX activiteit (5). Zodra een verlengde APTT wordt gevonden, dient eerst te worden bepaald of het een lupus anticoagulans, een stolfactor-deficiëntie of een circulerende remmer betreft. Dit kan worden

beoordeeld tabemiddels een APTT mengproef, waarbij normaal referentieplasma wordt gemengd met patiëntenplasma (meestal 1:1, maar soms meerdere verdunningen). Dit mengsel moet op 37 graden gedurende ten minste 1 uur, maar het liefst 2 uur worden geïncubeerd, want de expressie van auto-antistoffen is tijdsafhankelijk. De APTT zou in het geval van een remmer ten minste 8-10 seconden langer moeten zijn dan de controle, welke buffer en normaal plasma bevat. Vervolgens moet worden vastgesteld of de remmer specifiek voor een stollingsfactor (VIII, IX) is of niet-specifiek (lupus anticoagulans) is. Hiertoe kan gebruik worden gemaakt van factor-deficiënt plasma in verschillende verhoudingen gemengd met patiëntenplasma: bij een niet-specifieke remmer wordt het effect van de remmer als het ware verdund, dus kortere stollingstijden, echter bij een specifieke remmer blijft de stolling geremd. Een lupus anticoagulans kan worden uitgesloten middels een normale Russell's viper venom stollingstijd (RVVT) (5).

Kwantificatie van antistoffen wordt gedaan met de Bethesda assay: normaal plasma (gepoold, als bron van de deficiënte factor) wordt 1:1 verdund met het plasma van de patiënt en 2 uur geïncubeerd bij 37 graden, waarna de restactiviteit van de factor met een one-stage factor-assay wordt vastgesteld. Dit wordt uitgedrukt in Bethesda Units (BU), wat gedefinieerd is als de hoeveelheid antistof in het plasma van de patiënt die, wanneer gemengd met normaal gepoold plasma, een 50% restactiviteit van de factor laat zien. Deze methode is niet erg betrouwbaar in de lage ranges; echter, een verbetering van de methode, de Nijmegen assay, is wel bij lage titers van antistof betrouwbaar (5), en is door het UMCU uitgevoerd.

Hoewel zowel wij (Isala) als het UMCU een verlengde APTT vonden, was de APTT gemeten door het UMCU duidelijk verlengd; in Isala was deze marginaal verlengd. Een mogelijke verklaring hiervoor is het verschil in factorgevoeligheid van de gebruikte reagentia (Actin FSL, Siemens versus aPTT, Stago); het is bekend dat er grote verschillen kunnen zijn in het detecteren van factordeficiënties door verschillende reagentia (8). Ook bij de factor IX bepaling zijn verschillende reagentia gebruikt (Actin FSL versus aPTT reagens met kaoline i.p.v. silica als activator, Stago), welke de discrepantie in de factor IX activiteit tussen de twee ziekenhuizen zouden kunnen verklaren. Tevens was de PT licht verlengd, wat niet te verklaren is met een verlaagde activiteit van factor IX. Ook in andere patiënten is bij een factor IX deficiëntie een verlengde PT waargenomen (9), waarbij weliswaar sprake was van additionele factordeficiënties van de intrinsieke route (VIII, XI, XII), maar niet van factoren betrokken bij de extrinsieke (PT) route. In onze casus zou er sprake kunnen zijn van additionele antistoffen tegen bijvoorbeeld factor VII, II of V; deze zijn niet bepaald. Hoewel de APTT na behandeling was genormaliseerd, bleef de PT licht verlengd. Deze herstelde niet met behandeling met vitamine K en bleef, bij geen gebruik van een vitamine K antagonist en een normale leverfunctie, onverklaard.

Factor IX remmers kunnen spontaan verdwijnen, of worden meestal behandeld middels immunosuppressieve therapie (m.n. corticosteroiden). Bij bloedingen kunnen hoge doses van factor IX concentraten worden gebruikt, protrombine complex concentraten (Cofact, factor II, VII, IX, X en proteïne S en C), of recombinant factor VIIa (5). In onze casus is besloten de vermeende achterliggende oorzaak, namelijk een MGUS, te behandelen.

Voor zover bij ons bekend, is dit de eerste beschrijving van een casus met een verworven factor IX deficiëntie bij een MGUS, waarbij de deficiëntie en stollingsstoornissen zijn opgeheven door behandeling van de MGUS.

Vervolg

Ondanks de aanvankelijk geslaagde behandeling kreeg de patiënte korte tijd na de stamceltransplantatie (2 maanden na de laatste VTD kuur) weer hematomen, deze waren echter veel milder van aard dan bij eerste presentatie. Aanvankelijk werd de verklaring in het nog lage trombocytengetal gezocht ($<40 \times 10^9/L$), echter ook na herstel van de trombocyten tot $\sim 140 \times 10^9/L$ bleven er hematomen ontstaan. Hierbij was de APTT normaal (27 sec) en de PT iets verlengd (INR 1,1-1,2). De PFA was niet tot marginaal afwijkend, passend bij het gebruik van een NSAID, welke de patiënte aangaf niet langer te gebruiken. Factor IX activiteit was ook niet afwijkend en er werd geen M-proteïne gezien. Onderzoek naar factor XIII en α_1 -antiplasmine liet ook geen afwijkingen zien. Omdat er ook werd gedacht aan een verminderde intake c.q. opname na een gastric bypass, werd, zoals hiervoor vermeld,

gesuppleerd met vitamine K, wat geen effect op de PT heeft. Daarnaast werd vitamine C aangevraagd, welke geen afwijkingen liet zien. Vitamine C is een cofactor in de hydroxylatie van collageen, wat bindweefsel vormt en de vaatwand versterkt. Een laag vitamine C leidt tot instabiliteit in de triple helixstructuur van collageen met als gevolg een disfunctie van de wand van kleine vaten. Dit kan resulteren in het optreden van bloedingen (10). Een andere mogelijke verklaring voor het aanhouden van de hematomen is het gebruik van citalopram. Dit is een SSRI (selectieve serotonine heropnameremmer) waarvan is aangetoond dat het de trombocytenfunctie kan remmen, overigens zonder een significant effect te laten zien op de trombocytenfunctie gemeten middels de PFA (11). Over de vraag of dit uiteindelijk kan resulteren in een verhoogde bloedingsneiging zijn onderzoekers het nog niet eens; hoewel meerdere studies een associatie van SSRI's met bloedingen laten zien, wordt dit niet door alle studies bevestigd (12). Indien na aanpassing van de medicatie bij de patiënte nog steeds hematomen zullen ontstaan, zal uitgebreider onderzoek naar onder andere de trombocytenfunctie worden ingezet.

Referenties

1. Sonneveld P, Lokhorst HM, Delforge M. Multipel myeloom en andere plasmacelaandoeningen. Leerboek Hematologie, 2e ed, 2015, De Tijdstroom.
2. Zweegman S, Lokhorst HM, Levin M-D, de Waal E, Bos GMJ, Kersten MJ, Croockewit A, et al. Richtlijn behandeling multipel myeloom 2015. Versie 28 juni 2015: [http://www.hematologienederland.nl/sites/default/files/DEFINITIEF_Richtlijn-Multipel-Myeloom2015_Correcties\(20150628\).pdf](http://www.hematologienederland.nl/sites/default/files/DEFINITIEF_Richtlijn-Multipel-Myeloom2015_Correcties(20150628).pdf).
3. Kessler CM. An introduction to factor VIII inhibitors: The detection and quantification. *Am J Med.* 1991; 91 (suppl 5A): 1S-5S.
4. Lackner H. Hemostatic abnormalities associated with dysproteinemias. *Semin Hematol.* 1973; 10: 125-133.
5. Cohen AJ, Kessler CM. Acquired inhibitors. *Baillière's Clinical Haematology.* 1996; 9: 331-354.
6. Franchini M, Targher G, Manzato F, Lippi G. Acquired factor VIII inhibitors in oncohematology: a systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2008; 66:194-199.
7. Hu H, Wang L, Xu H, Peng J, Jia Y. Clinical analysis of six cases of multiple myeloma first presenting with coagulopathy. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2014; 25: 553-556.
8. Stroobants AK, Heckman M, Bakker B, van den Dool EJ, Sturk A. Gevoeligheid van verschillende APTT-reagentia. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk.* 2008;33:250-254.
9. Berman BW, McIntosh S, Clyne LP, Goldberg B, Lobel J, Komp DM. Spontaneously acquired Factor IX inhibitors in childhood. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1981; 3:77-81.
10. Michiels M, Mellema M, Peters FPJ. Bloedingen door vitamine C-deficiëntie. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2010;154: A1638.
11. Van Holten TC, Roest M, Riphagen J, Jansen C, Naarding P, Adriaansen HJ, De Groot PG, et al. Citalopram is a more potent platelet function inhibitor than paroxetine in a case-control study. *J Thromb Haemost.* 2012; 10: 1177-1179.
12. Andrade C, Sandarsh S, Chetan K, Nagesh KS. Serotonin reuptake inhibitor antidepressants and abnormal bleeding: a review for clinicians and a reconsideration of mechanisms. *J Clin Psychiatry.* 2010; 71:1565-75.

Abstract

van der Weide K, Dompeling EC, Dikkeschei LD, Koekkoek-Meijer SAH. An M-protein associated coagulopathy caused by a factor IX deficiency. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk. 2017;42:100-103

A 47-year old woman presented with spontaneous hematomas, which was accompanied by aberrant coagulation parameters (PT, APTT, thrombocyte function). The mixing study did not show normalization of the APTT, which indicates the presence of a factor inhibitor. Factor VIII was normal, however, activity of factor IX was decreased to 46%. Protein electrophoresis showed an M-protein of 11 g/L, and in combination with the clinical presentation and bone marrow analysis the diagnosis MGUS was made. This MGUS was treated as if it were an MM. After the fourth course with VTD a normalization of APTT, factor IX and thrombocyte function was seen. The PT remained slightly elevated, and the M-protein was undetectable, after which an autologous stem cell transplantation was carried out. This case describes a rare acquired factor IX deficiency based on an MGUS, with severe coagulation problems, which initially appeared to be cured after treatment of the MGUS.

Keywords: Factor IX, MGUS, factor deficiency