

Trombotische trombocytopenische purpura: nieuwe therapeutische ontwikkelingen

Thrombotic thrombocytopenic purpura: new therapeutic developments

dr. R. Fijnheer¹, prof. dr. J. Voorberg² en dr. C. Maas³

Samenvatting

Trombotische trombocytopenische purpura (TTP) ontstaat door een tekort aan ADAMTS13. Dit enzym knipt lange vonwillebrandfactor (VWF)-polymeren in kleinere stukjes waardoor deze minder trombogeen worden. TTP is een auto-immuunziekte waarbij antistoffen worden gemaakt die ADAMTS13 neutraliseren. De huidige therapie bestaat uit hoge dosis steroïden en intensieve plasmaferese. De overleving is hiermee sterk verbeterd, al is de mortaliteit nog steeds rond 15%. Bovendien is er nog steeds een kans van ongeveer 50% op een recidief. De hoge kosten van het benodigde plasma, hoge kans op recidief en aanzienlijke mortaliteit maakt dat er behoefte is aan nieuwe therapie. De bindingsplaatsen van patiëntantistoffen op ADAMTS13 zijn recentelijk in kaart gebracht. Ook is duidelijk geworden op welke wijze VWF-polymeren door ADAMTS13 worden geknipt. Naast ADAMTS13 kunnen VWF-polymeren ook worden geknipt door plasmine. Op het gebied van de behandeling van TTP is er een drietal nieuwe aangrijpingspunten: 1) depletie van CD20-positieve B-cellen door rituximab, 2) VWF-remmende antistoffen (caplacizumab), 3) therapeutische enzymen (ADAMTS13, plasmine). Rituximab en caplacizumab zijn duidelijk het verst in ontwikkeling. Voor rituximab ontbreekt echter fase 3-onderzoek, voor caplacizumab start dat binnenkort. De ontwikkeling van ADAMTS13 en plasmine bevindt zich nog in een preklinisch stadium.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2016;13:18-24)

Summary

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is caused by a deficiency of the metalloprotease ADAMTS13, that cleaves von Willebrand Factor (VWF) polymers into smaller units. TTP is an auto-immune disease that results from the development of auto-antibodies against ADAMTS13. The current treatment consists of high dose steroids and intensive plasmapheresis. This treatment greatly improves survival, although the mortality rate is still around 15%. In addition, there is still a 50% chance of recurrent disease. In view of the high cost, high risk of recurrence and significant mortality, there is a need for novel therapies for TTP. The precise localization of binding sites for autoantibodies that develop in patients with acquired TTP have been determined. Also, detailed knowledge on the processing of VWF by ADAMTS13 has been obtained. More recently, it was shown that other proteases such as plasmin can also cleave VWF polymers. Increased knowledge on the pathogenesis of acquired TTP has resulted in 3 novel therapeutic strategies: 1) depletion of CD20-positive B cells by rituximab, 2) nanobody-mediated inhibition of VWF activity (caplacizumab), 3) therapeutic enzymes (ADAMTS13 and plasmin). Rituximab has already entered the clinic and phase 3 clinical studies for caplacizumab have been initiated. Future development of recombinant ADAMTS13 (variants) or alternative VWF cleaving proteases such as plasmin have the potential to further extend current therapeutic approaches for TTP.

¹internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Meander Medisch Centrum, ²bijzonder hoogleraar cellulaire hemostase, Academisch Medisch Centrum, afdeling Plasma-proteïnen, Sanquin Research, ³assistent professor, biochemicus, afdeling Klinische Chemie en Hematologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht. Correspondentie graag richten aan dhr. dr. R. Fijnheer, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Meander Medisch Centrum, Maatweg 3, 3813 TZ Amersfoort, tel.: 033 850 50 50, e-mailadres: r.fijnheer@meandermc.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: Landsteiner Stichting, Noaber en Hoge Dennen Foundation.

Trefwoorden: ADAMTS13, vonwillebrandfactor, trombotische microangiopathie, trombotische trombocytopenische purpura

Keywords: ADAMTS13, von Willebrand factor, thrombotic microangiopathy, thrombotic thrombocytopenic purpura

Inleiding

Trombotische trombocytopenische purpura (TTP) ontstaat door een tekort aan ADAMTS13-activiteit. Dit enzym knipt onder normale omstandigheden vonwillebrandfactor (VWF)-polymeren en breekt het af tot kleinere eenheden. Er kunnen 2 vormen van TTP worden onderscheiden: een zeer zeldzame congenitale vorm met afwezig ADAMTS13 (Upshaw-Schulman-syndroom) en de vaker voorkomende verworven TTP als auto-immuunziekte.^{1,2} Bij de laatste vorm zijn er auto-antistoffen tegen ADAMTS13. Verworven TTP komt vooral voor bij jongvolwassenen en relatief vaker bij vrouwen.

VWF is een eiwit in bloedplasma dat verantwoordelijk is voor de hechting van bloedplaatjes aan een beschadigde vaatwand. VWF is opgebouwd uit een repeterend patroon van dimeren, verbonden met disulfide bruggen tot lange multimeren. Normaal circuleren deze multimeren in opgerolde toestand door de bloedbaan. In deze toestand is het eiwit bolvormig en zijn de bindingsplaatsen voor collageen (A3-domein) en bloedplaatjes (A1- en C1-domein) afgedekt. VWF kan binden aan vrijliggend collageen in het wondgebied. Door de krachten van het stromend bloed ontrollen de VWF-multimeren zich en worden de bindingsplaatsen voor bloedplaatjes toegankelijk. Na het binden en activeren van de plaatjes komt de stolling op gang. Zo draagt VWF bij aan het stelpen van bloedingen. Wanneer endotheelcellen geprikkeld raken (zoals tijdens een verwonding kan gebeuren), scheiden zij een uitzonderlijk lange vorm van VWF ('ultra large VWF'; ULVWF) uit dat gemakkelijker kan ontrollen en bloedplaatjes kan binden. Het is voor het lichaam daarom belangrijk om de trombogeniciteit van ULVWF goed onder controle te houden. Onder normale omstandigheden knipt ADAMTS13 (UL)VWF in het A2-domein (zie *Figuur 1A*).³ Deze inactiverende knipplek voor ADAMTS13 is nog niet beschikbaar wanneer VWF niet is ontrold. ADAMTS13 moet aan VWF binden om het te kunnen knippen. Het 'spacer'-domein op ADAMTS13 is cruciaal voor de binding.⁴ Bij TTP ontstaan er antistoffen gericht tegen het 'spacer'-domein (aangegeven in *Figuur 2*, pagina XX). Deze antistoffen remmen de binding van ADAMTS13 aan VWF waardoor de VWF-multimeren niet meer kunnen worden geknipt door ADAMTS13. Op deze manier kan verworven ADAMTS13-deficiëntie leiden tot persisterende aanwezigheid van grote VWF-multimeren in de circulatie. Dit ULVWF klontert intravasculair bloedplaatjes samen (zie *Figuur 1B*). Vervolgens ontstaat er trombose in de kleine capillairen met micro-

angiopathische hemolytische anemie als resultaat. Deze ziekte is levensbedreigend. Patiënten overlijden aan bloedingen en orgaanfalen. Door tijdige diagnose kan deze aandoening bij 85% van de patiënten met succes worden behandeld.^{5,6} Deze behandeling bestaat uit intensieve plasmaferese (gemiddeld 60-120 eenheden plasma over 1-2 weken) en hoge dosis prednison. Bij 15% van de patiënten is er echter toch sprake van een fataal beloop en bij 50% van de patiënten komt de ziekte op langere termijn weer terug. Plasmaferese is een zeer kostbare en intensieve behandeling.

Ongeveer 50% van de TTP-patiënten ontwikkelt een recidief binnen 1-3 jaar. Het is moeilijk te voorspellen of en wanneer dit zal gebeuren. Een aanhoudende afwezigheid van ADAMTS13 na de aanval is een risicofactor voor een nieuwe aanval.⁷ Waarschijnlijk is een 'second hit' nodig om TTP te induceren bij patiënten zonder circulerend ADAMTS13. Op dit moment is er nog weinig kennis met betrekking tot de mogelijke triggers die kunnen resulteren in een recidief. Ook is bij ADAMTS13-'knock-out'-muizen bekend dat volledige afwezigheid van ADAMTS13 niet direct tot symptomen van TTP leidt.^{8,9} De verantwoordelijke microtrombi zijn rijk in bloedplaatjes en VWF, maar bevatten weinig fibrine. TTP wordt geïnduceerd nadat de muis een trigger heeft ondergaan: bijvoorbeeld door inspuiten van toxines of een hoge dosis recombinant VWF.^{9,10} Ook patiënten met congenitale ADAMTS13-deficiëntie kunnen gedurende lange aaneengesloten tijden asymptomatisch zijn; sommige patiënten krijgen pas op hogere leeftijd een aanval. Kortom, volledige afwezigheid van ADAMTS13 leidt niet altijd tot een onmiddellijke aanval. Dit suggereert dat andere proteases mogelijk de rol van ADAMTS13 bij de proteolyse van ULVWF-multimeren kunnen overnemen.

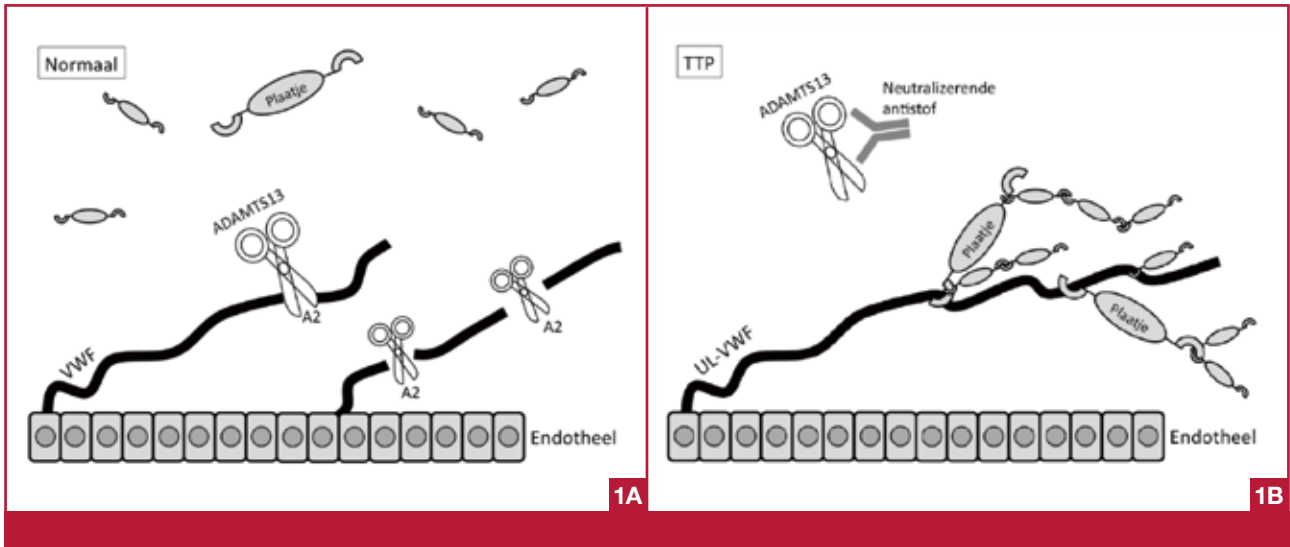
De hoge kosten, grote kans op relapse en de nog steeds aanzienlijke mortaliteit maakt dat er behoefte is aan nieuwe therapieën voor de behandeling van patiënten met verworven TTP.

Potentieel nieuwe therapieën zijn:

1. Depletie van CD20-positieve B-cellen (rituximab; anti-CD20).
2. 'Nanobody'-gedieerde remming van VWF (caplacizumab).
3. Therapeutische enzymen (ADAMTS13 en plasmine).

Rituximab

Rituximab is een monoklonaal antilichaam gericht tegen het CD20-antigeen op B-lymfocyten. De depletie van



Figuur 1. Het ziektemechanisme van verworven TTP. **A.** ADAMTS13 knipt VWF-multimeren tot kleinere fragmenten en voorkomt hiermee klontering aan bloedplaatjes (normale situatie). **B.** Neutraliserende antistoffen blokkeren ADAMTS13 waardoor steeds langer wordende VWF-multimeren spontane klontering van bloedplaatjes kunnen veroorzaken (verworven TTP).

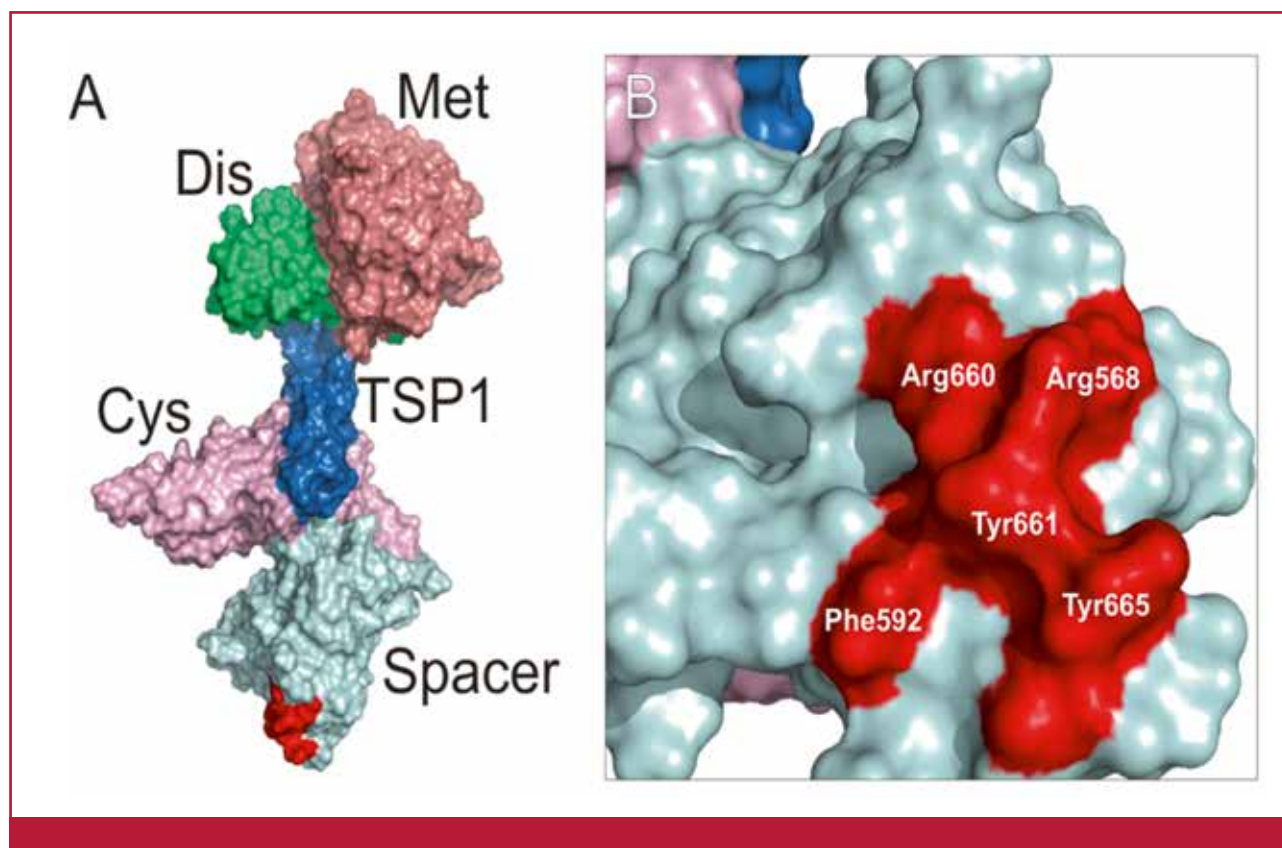
CD20-positieve B-cellen door rituximab resulteert in een sterke vermindering van de aanmaak van pathogene autoantistoffen. Rituximab wordt bijvoorbeeld gebruikt voor de behandeling van patiënten met immuungemedieerde trombocytopenische purpura (ITP).¹¹ Bijna alle TTP-patiënten met een ernstige ADAMTS13-deficiëntie hebben autoantistoffen tegen ADAMTS13. Interfereren met de productie van autoantistoffen lijkt dan ook een prima mogelijkheid voor de behandeling van patiënten met TTP. Gerandomiseerde studies naar de plaats van rituximab bij TTP ontbreken. Alle beschikbare gegevens zijn gebaseerd op historische controles, ‘case reports’ en ‘case series’.

Bij patiënten met een acute episode van TTP bleek de initiële behandeling met rituximab, plasmaferese en corticosteroiden te leiden tot een remissie bij >90% van de patiënten binnen 14 tot 21 dagen met een zeer lage kans op recidief.¹² Vergeleken met historische controles is dat een verbetering. Rituximab lijkt zijn plaats te hebben bij de behandeling van refractaire TTP met goede responspercentages.^{11,13} In verschillende ‘case series’, bestaande uit patiënten met refractaire of snel recidiverende TTP, resulteerde rituximab in een hoog percentage klinische remissie (87% tot 100%). Herstel van trombocytopenie vond plaats binnen 11 tot 14 dagen na de eerste dosis.^{14,15} De momenteel beschikbare gegevens suggereren dat rituximab ADAMTS13-activiteit aanzienlijk verhoogt door productie van neutraliserende antistoffen tegen ADAMTS13 te remmen.¹⁶ Als gevolg hiervan is de trombocytopenie en behoefte aan

plasmaferese minder langdurig. Volgens de TTP-richtlijn (zie www.hematologienederland.nl/richtlijnen-1) is het nu redelijk om rituximab in te zetten bij refractaire TTP en indien er meer dan 2 recidieven zijn geweest. De primaire behandeling blijft op basis van plasmaferese en corticosteroiden, mede omdat de gegevens nog onvoldoende ondersteunend zijn om rituximab voor de initiële behandeling in te zetten. Vergoeding voor het gebruik van rituximab bij patiënten met TTP moet worden aangevraagd bij de zorgverzekeraar, omdat TTP geen erkende indicatie is.

Antistoffen die de binding van bloedplaatjes aan VWF remmen (caplacizumab)

Caplacizumab is een ‘nanobody’ die is ontwikkeld door Ablynx NV.¹⁷ ‘Nanobodies’ zijn kleine, compacte antistoffragmenten die worden verkregen door immunisatie van lama’s. In verhouding tot een humaan immunoglobulinemolecuul (150 kDa) zijn nanoantistoffen ongeveer 10 x kleiner (14 kDa). Nanoantistoffen kunnen worden geselecteerd om specifieke doelwitten te herkennen. Caplacizumab is een gehumaniseerde bivalente nanoantistof gericht tegen het A1-domein van VWF.¹⁸ Dit domein zorgt normaal voor de interactie met plaatjes (via de GPIIb-receptor op het celoppervlak). De nanoantistof caplacizumab blokkeert deze interactie. Bij TTP is VWF overmatig trombogeen en remming van plaatjes-VWF-interactie is een manier om de overmatige klontering van plaatjes tegen te gaan (zie *Figuur 3A*, pagina 22). Het is uiteraard van belang om bij patiënten met



Figuur 2. Bindingsplaats van pathogene autoantistoffen in het 'spacer'-domein van ADAMTS13. Bij **A** is een overzicht weergegeven van de driedimensionale structuur van een deel van ADAMTS13. Het 'spacer'-domein is weergegeven in lichtblauw. In rood is de bindingsplaats van de autoantistoffen in het 'spacer'-domein weergegeven. Bij **B** is dit deel sterk vergroot weergegeven. De bindingsplaats bestaat uit 5 aminozuren (Arg660, Arg568, Tyr661, Phe592 en Tyr665); modificatie van deze aminozuren resulteert in een ADAMTS13-variant die nog wel actief is, maar die niet meer door de autoantistoffen kan worden geremd.²¹ Met toestemming overgenomen uit Pos et al., 2011.²²

een uitgesproken trombocytopenie rekening te houden met een mogelijk bloedingsrisico dat een middel dat de adhesie van bloedplaatjes remt met zich mee kan brengen. Volledige in-vivo-neutralisatie van VWF met caplacizumab induceert echter geen bloeding in een primaat model voor verworven TTP.¹⁷ Ook bij gezonde vrijwilligers zonder trombocytopenie (fase 1) werden geen ernstige bloedingen geconstateerd; slechts na meerdere infusies werden lichte bloedingen waargenomen. Deze studies zijn verrassend, omdat de interactie van GPIb met VWF van essentiële waarde is voor primaire hemostase. De afwezigheid van GPIb (bij patiënten met Bernard-Soulier-syndroom) of functionele afwezigheid van VWF (bij patiënten met de ziekte van von Willebrand) is geassocieerd met een bloedingsfenotype. Caplacizumab is verder onderzocht in een placebo-gecontroleerde fase 2-studie met 75 patiënten met TTP (www.clinicaltrials.gov; NCT01151423). De veelbelovende resultaten zijn vooralsnog in een 'abstract' gepubliceerd.¹⁹

De tijd tot normalisatie van het aantal bloedplaatjes was korter en het aantal patiënten in complete remissie op dag 30 was hoger in de groep met caplacizumab. Daarnaast bleek het bloedingsrisico niet sterk verhoogd te zijn. Een fase 3-studie wordt inmiddels gestart, waaraan ook een aantal Nederlandse ziekenhuizen zal meewerken. De tijd tot complete remissie (trombocyten $>150 \times 10^9/l$) is het primaire eindpunt van deze studie.

Recombinant ADAMTS13

Infusie van ADAMTS13 bij TTP zal vermoedelijk niet direct tot verbetering van de TTP leiden: antistoffen zullen dit herkennen. Deze antistoffen remmen de functie van ADAMTS13 en kunnen bijdragen aan versnelde klaring. Toch zijn er veelbelovende indicaties uit dierstudies dat de neutraliserende antistoffen kunnen worden overwonnen na behandeling met voldoende hoge doses recombinant ADAMTS13.²⁰

De laatste jaren zijn de bindingsplaatsen voor autoanti-

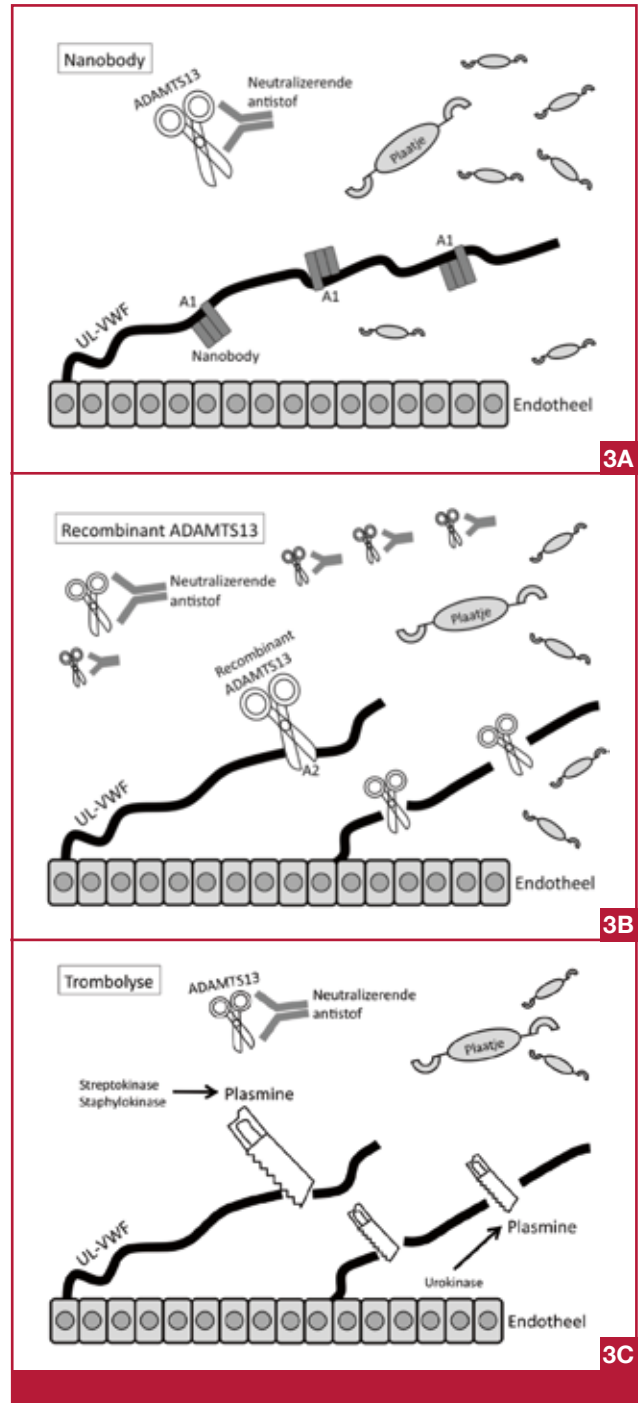
stoffen op ADAMTS13 in kaart gebracht. Bij bijna alle patiënten met verworven TTP zijn er autoantistoffen aanwezig die aan een geëxposeerd stukje van het ‘spacer’-domein van ADAMTS13 binden (zie *Figuur 2*).^{21,22} Dit deel van het ‘spacer’-domein zit aan de buitenkant van ADAMTS13 en is cruciaal voor de binding aan VWF.²³ Modificatie van dit geëxposeerde gebied in het ‘spacer’-domein zorgt ervoor dat het gemodificeerde ADAMTS13 niet meer door autoantistoffen wordt herkend. Dit gemodificeerde ADAMTS13 kan mogelijk worden ingezet bij de behandeling van patiënten met TTP (zie *Figuur 3B*). De eerste recombinante vormen van ADAMTS13 zijn in ontwikkeling, waarvan sommige inderdaad resistent zijn tegen neutraliserende antistoffen.^{21,22} Klinische studies ontbreken echter nog.

Plasmine

De relatie tussen ADAMTS13-activiteit en het ontstaan van ziekteverschijnselen is niet 1:1. Er zijn patiënten met ondetecteerbare ADAMTS13-activiteit die gezond lijken te zijn. Recentelijk heeft men gevonden dat behalve ADAMTS13 er verschillende andere enzymen zijn die VWF kunnen afbreken.²⁴ Het is aantrekkelijk om te veronderstellen dat deze enzymen bijdragen aan de proteolyse van ULVWF wanneer ADAMTS13 sterk verlaagd is en microtrombi de bloedvaten verstoppen. Plasmine is een van de enzymen die VWF kan knippen en inactiveren, op een wijze die vergelijkbaar is met ADAMTS13 (zie *Figuur 3C*).²⁵ In een studie met 26 patiënten hebben wij recentelijk in de acute fase van TTP aangetoond dat de concentratie van PAP-complexen (plasmine- α 2-antiplasmine) verhoogd is. Dit toont aan dat plasmine actief wordt tijdens deze aanvallen. Bovendien correleren de PAP-complexen met de mate van trombocytopenie.

Op basis van celbiologische studies stelden wij ons hierna voor dat activatie van plasminogeen door hypoxisch endotheel een mogelijk ‘escape’-mechanisme is om microvasculaire obstructies (zoals bij TTP worden gezien) te verwijderen. Het is mogelijk dat bij aanhoudende microangiopathie, dit reddingsmechanisme uitgeput raakt.²⁶ In dit geval zou versterking met trombolytische middelen een therapeutisch effect kunnen hebben. In de kliniek is er zeer schaarse, maar positieve ervaring met deze therapeutische strategie.²⁷

Om de hypothese dat plasmine therapeutisch zou kunnen werken bij TTP nader te onderzoeken, hebben wij ADAMTS13-deficiënte muizen in een model voor TTP behandeld met een eenmalige lage dosis van de directe plasminogeenactivator streptokinase.⁸ Wij



Figuur 3. De 3 voorgestelde alternatieve therapeutische mogelijkheden bij TTP. In alle gevallen zal ULVWF niet meer in staat zijn om spontaan plaatjes te binden. De plaatjesklontering zal stoppen en TTP gaat over. **A.** De ‘nanobody’ caplacizumab bindt aan ULVWF en door de remmende werking is ongeknipt VWF niet meer in staat om plaatjes te binden. **B.** Recombinant ADAMTS-13 mist de autoantistofbindende domeinen en is in staat om ULVWF te knippen. ULVWF zal niet meer spontaan plaatjes binden. **C.** Trombolyse in TTP: plasmine is een alternatief protease voor ULVWF. Plasmine ontstaat uit plasminogeen via streptokinase, stafylokinase of urokinase.

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Trombotische trombocytopenische purpura (TTP) ontstaat doordat ADAMTS13 vonwillebrandfactor (VWF) niet goed kan knippen.
2. TTP gaat gepaard met 15% mortaliteit en hoge kosten voor de behandeling.
3. 50% van de TTP-patiënten ontwikkelt een recidief.
4. Nieuwe strategieën bij TTP: remmen van antistofproductie (rituximab) en remmen van VWF-activiteit (caplacizumab).
5. Mogelijke toekomstige therapieën: recombinant ADAMTS13 en alternatieve VWF-afbrekende enzymen.

vonden dat door deze behandeling de symptomen van TTP werden geremd. Ook werden circulerende microtrombi afgebroken. Bovendien corrigeerde deze trombolytische therapie de trombocytopenie: een opmerkelijk pro-hemostatisch effect van plasmine dat de kans op bloedingen mogelijk kan reduceren. Wij stellen op basis van deze eerste bevindingen voor dat trombolyse in de toekomst een mogelijke behandeling van TTP zou kunnen zijn. Naar onze verwachting zijn directe plasminogeenactivatoren (streptokinase, stafylokinase) en de indirecte plasminogeenactivator urokinase het best in staat om de afbraak van VWF bij TTP te voorkomen. Een bijkomend voordeel van deze therapeutische strategie is dat de remmende antistoffen tegen ADAMTS13 kunnen worden omzeild en de behoefte aan plasma voor de behandeling voor deze patiënten naar vermoeden zal verminderen. Klinische studies zullen de werking, bijwerkingen en therapeutische dosis van deze klasse van middelen moeten uitwijzen.

Conclusie

ADAMTS13 is een essentiële regulator van VWF en het tekort door autoantistoffen is oorzakelijk voor TTP. Plasmaferese met corticosteroiden is de standaardbehandeling. Mortaliteit is echter nog steeds rond 15% en de behandeling is zeer intensief en kostbaar. In dit artikel beschrijven wij 3 verschillende alternatieve mogelijkheden die in ontwikkeling zijn om TTP te behandelen. Ondanks het ontbreken van fase 3-onderzoek wordt rituximab reeds toegepast bij de behandeling. Fase 2-studies suggereren dat caplacizumab (dat de activiteit van VWF remt) effectief is bij de behandeling van TTP; fase 3-studies gaan binnenkort van start. In de toekomst kunnen recombinant ADAMTS13-varianten en mogelijk ook pro-fibrinolytica, die de vorming van plasmine

stimuleren, worden gebruikt bij de behandeling van patiënten met TTP.

Referenties

1. Knöbl P. Inherited and acquired thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) in adults. *Semin Thromb Hemost* 2014;40(4):493-502.
2. Sadler JE. Von Willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2008;112(1):11-8.
3. Zander CB, Cao W, Zheng XL. ADAMTS13 and von Willebrand factor interactions. *Curr Opin Hematol* 2015;22(5):452-9.
4. Verbij FC, Fijnheer R, Voorberg J, Sorvillo N. Acquired TTP: ADAMTS13 meets the immune system. *Blood Rev* 2014;28(6):227-34.
5. Chung MC, Ellerton HD. The physico-chemical and functional properties of extracellular respiratory haemoglobins and chlorocruorins. *Prog Biophys Mol Biol* 1979;35(2):53-102.
6. Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, et al. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* 1991;325(6):393-7.
7. Crawley JT, Scully MA. Thrombotic thrombocytopenic purpura: basic pathophysiology and therapeutic strategies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013;2013:292-9.
8. Tersteeg C, De Maat S, De Meyer SF, et al. Plasmin cleavage of von Willebrand factor as an emergency bypass for ADAMTS13 deficiency in thrombotic microangiopathy. *Circulation* 2014;129(12):1320-31.
9. Motto DG, Chauhan AK, Zhu G, et al. Shiga toxin triggers thrombotic thrombocytopenic purpura in genetically susceptible ADAMTS13-deficient mice. *J Clin Invest* 2005;115(10):2752-61.
10. Schiviz A, Wuersch K, Piskernik C, et al. A new mouse model mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura: correction of symptoms by recombinant human ADAMTS13. *Blood* 2012;119(25):6128-35.
11. Lim W, Vesely SK, George JN. The role of rituximab in the management of patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2015;125(10):1526-31.
12. Westwood J-P, Webster H, McGuckin S, et al. Rituximab for thrombotic thrombocytopenic purpura: benefit of early administration during acute episodes

- and use of prophylaxis to prevent relapse. *J Thromb Haemost* 2013;11(3):481-90.
13. Rinott N, Mashiach T, Horowitz NA, et al. A 14-year experience in the management of patients with acquired immune thrombotic thrombocytopenic purpura in Northern Israel. *Acta Haematol* 2015;134(3):170-6.
 14. Froissart A, Buffet M, Veyradier A, et al. Efficacy and safety of first-line rituximab in severe, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with a suboptimal response to plasma exchange. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *Crit Care Med* 2012;40(1):104-11.
 15. Clark WF, Rock G, Barth D, et al. A phase-II sequential case-series study of all patients presenting to four plasma exchange centres with presumed relapsed/refractory thrombotic thrombocytopenic purpura treated with rituximab. *Br J Haematol* 2015;170(2):208-17.
 16. Sayani FA, Abrams CS. How I treat refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2015;125(25):3860-7.
 17. Callewaert F, Roodt J, Ulrichs H, et al. Evaluation of efficacy and safety of the anti-VWF nanobody ALX-0681 in a preclinical baboon model of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2012;120(17):3603-10.
 18. Hulstein JJ, De Groot PG, Silence K, et al. A novel nanobody that detects the gain-of-function phenotype of von Willebrand factor in ADAMTS13 deficiency and von Willebrand disease type 2B. *Blood* 2005;106(9):3035-42.
 19. Peyvandi F, Duby C. Caplacizumab, anti-VWF nanobody potentially changing the treatment paradigm in thrombotic thrombocytopenic purpura: results of the TITAN trial. *Blood* 2014;124(21):229.
 20. Tersteeg C, Schiviz A, De Meyer SF, et al. Potential for recombinant ADAMTS13 as an effective therapy for acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015;35(11):2336-42.
 21. Jian C, Xiao J, Gong L, et al. Gain-of-function ADAMTS13 variants that are resistant to autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2012;119(16):3836-43.
 22. Pos W, Crawley JT, Fijnheer R, et al. An autoantibody epitope comprising residues R660, Y661, and Y665 in the ADAMTS13 spacer domain identifies a binding site for the A2 domain of VWF. *Blood* 2010;115(8):1640-9.
 23. Kremer Hovinga JA, Voorberg J. Improving on nature: redesigning ADAMTS13. *Blood* 2012;119(16):3654-5.
 24. Wohner N, Kovács A, Machovich R, et al. Modulation of the von Willebrand factor-dependent platelet adhesion through alternative proteolytic pathways. *Thromb Res* 2012;129(4):e41-6.
 25. Berkowitz SD, Dent J, Roberts J, et al. Epitope mapping of the von Willebrand factor subunit distinguishes fragments present in normal and type IIA von Willebrand disease from those generated by plasmin. *J Clin Invest* 1987;79(2):524-31.
 26. Kakishita E, Koyama T, Higuchi M, et al. Fibrinogenolysis in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 1989;32(1):14-9.
 27. Vesconi S, Langer M, Rossi E, et al. Urokinase treatment for severe neurological complications in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haemostasis* 1981;10(5):289-95.

Ontvangen 12 oktober 2015, geaccepteerd 24 november 2015.