

Verbetering van de diagnostiek en behandeling van personen met een onverklaarde bloedingsneiging in Nederland

Improving diagnosis and treatment of persons with a bleeding disorder of unknown cause in the Netherlands



drs. A.L.L. Monard^{1*}, drs. C.M.A. Mussert^{2*}, prof. dr. ir. Y.M.C. Henskens³, dr. M.J.H.A. Kruip⁴, prof. dr. R.E.G. Schutgens⁵, dr. S. Schols⁶, prof. dr. K.J. Fijnvandraat⁷, prof. dr. K. Meijer⁸, dr. P.L. den Exter⁹, dr. L. Nieuwenhuizen¹⁰, dr. I. van Moort¹¹, dr. M. van den Biggelaar¹², drs. T.T. van Duij¹³, dr. M.H. Cnossen¹⁴, dr. F.C.J.I. Heubel-Moenen¹⁵

SAMENVATTING

Bij meer dan de helft van de personen die zich bij hemostase-experts presenteren met een klinisch relevante bloedingsneiging wordt na uitgebreide laboratoriumdiagnostiek geen oorzaak gevonden. Deze personen worden gediagnosticeerd met een onverklaarde bloedingsneiging of 'bleeding disorder of unknown cause' (BDUC). De definities die in de literatuur worden gebruikt voor BDUC zijn heterogeen, maar omvatten allemaal twee belangrijke criteria: 1) er is sprake van een verhoogde bloedingsneiging, op basis van het klinisch oordeel van de arts en/of een verhoogde bloedingscore, en 2) er worden geen afwijkingen gevonden bij beschikbare hemostaselaboratoriumtesten. Hierbij is het belangrijk om andere, niet-hemostatische en verworven

oorzaken van een bloedingsneiging uit te sluiten. Het bloedingsfenotype van personen met BDUC wordt over het algemeen vergeleken met het bloedingsfenotype van personen met erfelijke bloedstollingsstoornissen zoals de ziekte van Von Willebrand of bloedplaatjesfunctiestoornissen. Het ontbreken van een duidelijke diagnose bij personen met BDUC is zowel voor het individu en zijn/haar omgeving als voor de behandelend arts lastig, aangezien er geen duidelijke richtlijnen zijn met betrekking tot behandeling en follow-up. Er is reeds onderzoek gedaan naar de diagnostische waarde van nieuwe laboratoriumtesten bij personen met BDUC, zoals trombinegeneratie, trombo-elastrografie en flow-kameronderzoek. Tot op heden heeft dit echter niet geleid tot aanbevelingen. De BDUC-studiegroep is

Stuurgroep BDUC-IN landelijke multicenter onderzoekslijn: ¹arts-onderzoeker, afdeling Interne Geneeskunde – Hematologie, Maastricht UMC+, ²arts-onderzoeker, afdeling Hematologie – Kinderhematologie, Erasmus MC – Sophia Kinderziekenhuis, ³klinisch chemicus, Centraal Diagnostisch Laboratorium, Maastricht UMC+, ⁴internist-hematoloog, Interne Geneeskunde – Hematologie, Erasmus MC, ⁵internist-hematoloog, afdeling Interne Geneeskunde – Hematologie, UMC Utrecht, ⁶internist-hematoloog, afdeling Interne Geneeskunde – Hematologie, Radboudumc, ⁷kinderarts-hematoloog, afdeling Hematologie – Kinderhematologie, Amsterdam UMC, ⁸internist-hematoloog, afdeling Interne Geneeskunde – Hematologie, UMCG, ⁹internist-vasculaire geneeskunde, afdeling Interne Geneeskunde – Vasculaire Geneeskunde, LUMC, ¹⁰internist-hematoloog, afdeling Interne Geneeskunde – Hematologie, Maxima MC, ¹¹post-doc, afdeling Hematologie, Erasmus MC, ¹²laboratoriumhoofd proteomics, afdeling Moleculaire Hematologie, Sanquin, ¹³postdoctoraal onderzoeker, afdeling Moleculaire Hematologie, Sanquin Research, ¹⁴kinderarts-hematoloog, afdeling Hematologie – Kinderhematologie, Erasmus MC – Sophia Kinderziekenhuis en hoofdonderzoeker SYMPHONY-consortium, ¹⁵internist-hematoloog, afdeling Interne Geneeskunde – Hematologie, Maastricht UMC+ en hoofdonderzoeker BDUC-IN, *gedeeld eerste auteurschap. Belangenconflict/financiële ondersteuning: M.H. Cnossen heeft door de jaren heen door de onderzoeker geïnitieerde onderzoeks- en reisbeurzen ontvangen van de Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek (NWO), Nederlandse Organisatie voor Gezondheidsonderzoek en Zorginnovatie (ZonMw), het Nederlandse Innovatiefonds Zorgverzekeraars, Pfizer, Baxter/Baxalta/Shire/Takeda, Bayer Schering Pharma, CSL Behring, Sobi, Novo Nordisk, Novartis, Nordic Pharma, Roche en Octapharma en heeft gediend als bestuurslid voor Roche en Bayer. Alle beurzen, prijzen en vergoedingen gaan naar het Erasmus MC als instelling. F.C.J.I. Heubel-Moenen heeft een onderzoekssubsidie van Octapharma ontvangen. S.E.M. Schols heeft een onderzoeksgrant van Bayer ontvangen. K. Meijer heeft sprekersvergoedingen van Alexion, Bayer en

een landelijk initiatief om zowel diagnostische, therapeutische als fundamentele onderzoeksvragen naar de pathofysiologie achter de bloedingsneiging van deze individuen te beantwoorden. Om dit te verwezenlijken zullen gezamenlijk en interdisciplinair retrospectieve studies in bestaande onderzoekscohorten worden verricht en zullen prospectieve studies worden geïnitieerd.

(NED TIJDSCHR HEMATOL 2023;20:150-61)

SUMMARY

In more than half of the individuals who are referred to hemostasis experts with a clinically relevant bleeding tendency, no cause can be found after extensive laboratory testing. These persons are diagnosed with an unexplained bleeding tendency or 'bleeding disorder of unknown cause' (BDUC). BDUC definitions used in the current literature are heterogeneous, but all comprise two main criteria: 1) there is an increased bleeding tendency, based on the clinical view of the physician and/or an increased bleeding score, and 2) no abnormalities can be found with the currently available hemostasis labo-

ratory tests. Hereby, it is important to exclude other, non-hemostatic and acquired causes of a bleeding tendency. The bleeding phenotype of individuals with BDUC is generally compared to the bleeding phenotype of individuals with inherited bleeding disorders such as von Willebrand disease or platelet function disorders. The lack of a clear diagnosis in individuals with BDUC is difficult for the individual and his/her environment, as well as for the treating physician as there are no clear guidelines regarding treatment and follow-up. Research on the diagnostic value of new laboratory tests in individuals with BDUC has already been performed, such as thrombin generation, thromboelastography and flow chamber testing. However, until now this has not resulted in recommendations. The BDUC study group is a nationwide initiative to answer diagnostic, therapeutic and fundamental research questions about the pathophysiology behind the bleeding tendency in these individuals. To achieve this, collaborative and interdisciplinary retrospective studies in existing research cohorts will be conducted and prospective studies will be initiated.

INLEIDING

Internist-hematologen, kinderarts-hematologen en internisten vasculaire geneeskunde beoordelen poliklinisch regelmatig personen die worden doorverwezen voor een analyse bloedingsneiging. Nadat diegenen die in de ogen van de medisch specialist geen klinisch relevante bloedings-

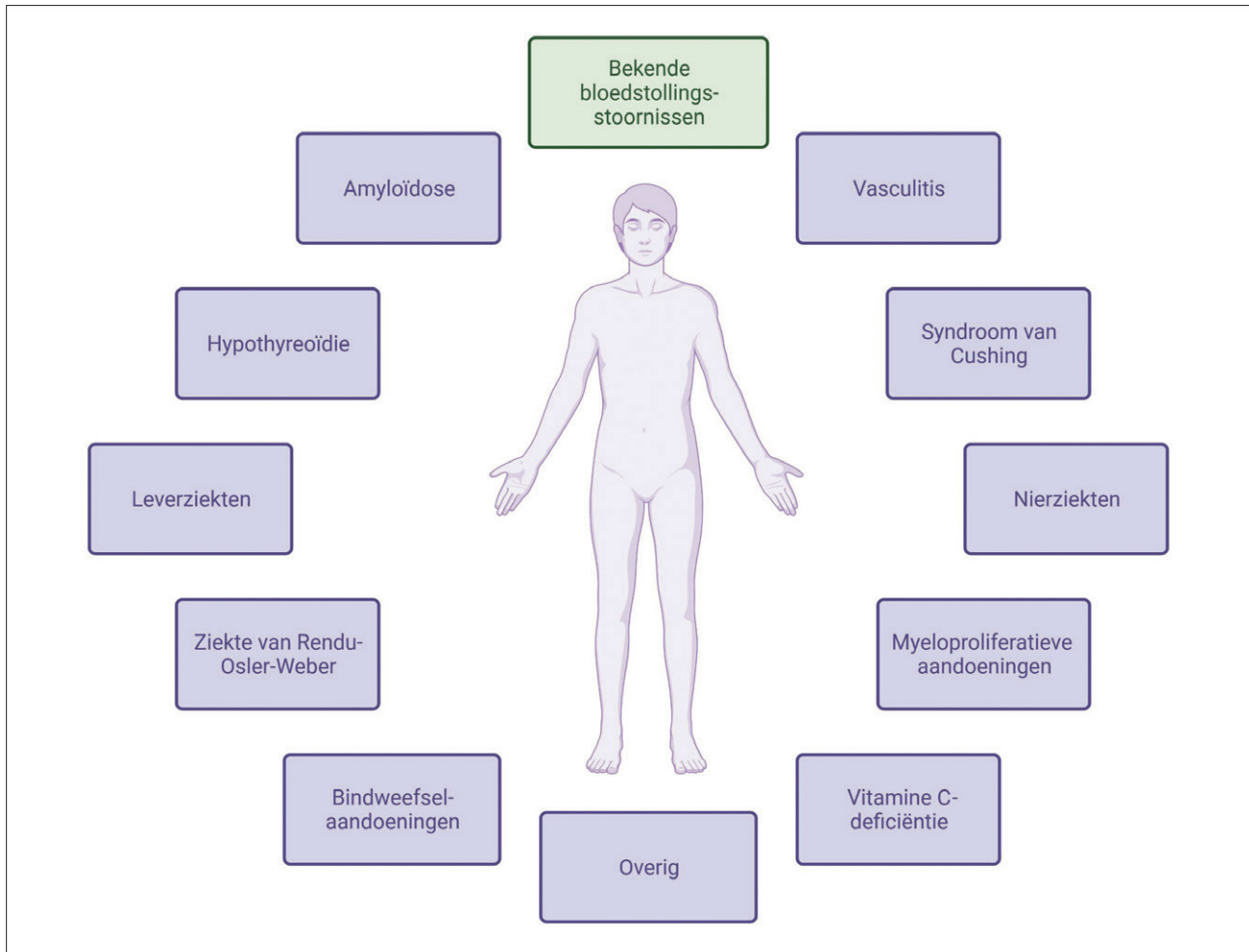
neiging hebben worden terugverwezen, worden bij 40-70% van de resterende groep met een klinisch relevante bloedingsneiging met de huidige beschikbare hemostaselaboratoriumtesten geen afwijkingen gevonden en kan geen diagnose worden gesteld.¹ Er wordt dan gesproken van een onverklaarde bloedingsneiging of 'bleeding disorder of

CSL Behring, vergoedingen voor deelname aan studietoelagen voor Bayer, AstraZeneca en Octapharma, en vergoeding voor consultatie voor Uniqure ontvangen. Alle betalingen gaan naar het instituut. M.J.H.A. Kruijper heeft een onderzoeker-geïnitieerde onderzoeksbeurs ontvangen van de Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek (NWO), Nederlandse Organisatie voor Gezondheidsonderzoek en Zorginnovatie (ZonMw), Trombosestichting Nederland, Sobi en sprekersvergoeding van Roche, Sobi en BMS. De beurzen en vergoedingen gaan naar het Erasmus MC als instelling. Y.M.C. Henskens is hoogleraar klinische chemie, in het bijzonder hemostase. In deze functie werkt zij samen met en test zij reagentia en apparatuur van IVD-bedrijven op het gebied van hemostase (Werfen, Siemens, Roche, Nodia, Stago). Daarnaast is zij adviseur bij Promicol. I. van Moort heeft onderzoeksfinanciering van de Professor Heimburger Award (CSL Behring) ontvangen. De vergoeding gaat naar het Erasmus MC als instelling. R.E.G. Schutgens heeft onderzoeksgeld ontvangen van Bayer, CSL Behring, Hemab, NovoNordisk, Novartis, Octapharma, Sanofi en Sobi (alles naar instituut). Alle andere auteurs hebben geen belangenverstrengeling met betrekking tot de inhoud van dit manuscript. Correspondentie graag richten aan: mw. drs. A.L.L. Monard, arts-onderzoeker, afdeling Interne Geneeskunde – Hematologie, Maastricht UMC+, P. Debyelaan 25, 6229 HX Maastricht, tel.: 0032 479 06 54 19/043 387 66 86, e-mailadres: amaury.monard@mumc.nl; mw. drs. C.M.A. Mussert, arts-onderzoeker, afdeling Hematologie – Kinderhematologie, Erasmus MC – Sophia Kinderziekenhuis, Wytemaweg 80, 3015 GE Rotterdam, tel.: 06 25 10 05 74, e-mailadres: c.mussert@erasmusmc.nl

Trefwoorden: bloedingsfenotype, hemostaselaboratoriumtesten, onverklaarde bloedingsneiging

Keywords: bleeding disorder of unknown cause, bleeding phenotype, hemostatic tests

ONTVANGEN 23 FEBRUARI 2023, GEACCEPTEERD 6 APRIL 2023.



FIGUUR 1. Differentiaaldiagnose bloedingsneiging (gebaseerd op Baker et al. 2021).²¹ Figuur gemaakt met BioRender.com.

unknown cause' (BDUC). Doordat er geen diagnose en tot op heden weinig kennis is over de onderliggende pathofysiologie van BDUC, is er geen richtlijn voor de behandeling van bloedingen en/of preventieve maatregelen rondom operatieve en tandheelkundige ingrepen en bevallingen.² De diagnose BDUC leidt bij patiënten en hun omgeving vaak tot onzekerheid of angst met betrekking tot het bloedingsrisico en de consequenties voor familieleden en het nageslacht. Studies laten zien dat dit leidt tot een verminderde kwaliteit van leven.³ Daarnaast kan het gebrek aan een diagnose het verrichten van ingrepen vertragen en het onnodige gebruik van hemostatische middelen vergroten, leidend tot morbiditeit en mogelijk hogere zorgkosten.⁴ Belangrijk is dat BDUC een diagnose *per exclusionem* is en andere oorzaken voor een bloedingsneiging bewust moeten worden uitgesloten (zie *Figuur 1*). Zowel internationaal als binnen de Nederlandse hemofiliebehandelcentra zijn er momenteel verschillende definities van BDUC, maar ook verschillende diagnostische en therapeutische benaderingen met betrekking tot deze groep. Dit verklaart de huidige

heterogeniteit van de behandelplannen en de gevoelde urgentie om meer uniformiteit na te streven. De wens is om nationaal en op termijn ook internationaal consensus te bereiken over de definitie van BDUC, welke diagnostische stappen minimaal moeten zijn verricht om tot deze diagnose te kunnen komen en vervolgens welke therapeutische maatregelen worden aanbevolen.⁵

Dit artikel geeft een samenvatting van de huidige literatuur omtrent BDUC en beschrijft waarom een nadere definitie en duidelijke diagnosestelling urgent is. Tot slot wordt de BDUC-iN-studiegroep geïntroduceerd die beoogt onderzoeksvragen te beantwoorden om de zorg voor deze personen te verbeteren. De BDUC-iN-studiegroep werkt nauw samen met het SYMPHONY NWO-NWA-consortium, dat tot doel heeft een behandeling op maat te orkestreren voor alle patiënten met een bloedstollingsstoornis, met en zonder diagnose.⁶

PROBLEEMSTELLING

Er is behoefte aan een eenduidige definitie voor de term

TABEL 1. Definities uit de literatuur voor 'bleeding disorders of unknown cause' (BDUC).

Studies	Definitie BDUC
Quiroga et al. 2007	Geen identificeerbare ziekte, zelfs na herhaaldelijk testen
Gebhart et al. 2017	Patiënten die zijn verwezen voor analyse bloedingsneiging met normale resultaten in de hemostaselaboratoriumtesten
Hofer et al. 2019	Patiënten met een milde tot matige bloedingsneiging bij wie geen onderliggende bloedstollingsstoornis kan worden geïdentificeerd
Relke et al. 2019	Patiënten met mucocutane bloedingsymptomen bij wie geen onderliggend coagulatiedefect wordt gevonden, ondanks uitgebreid laboratoriumonderzoek
Rodeghiero et al. 2019	Een bloedstollingsstoornis die past binnen de definitie van een mild tot matig bloedingsfenotype (maar mogelijk ook ernstig in sommige gevallen) die niet kan worden geassocieerd met een hemostatische of genetische afwijking na uitgebreid onderzoek met de huidige beschikbare technieken. Het kan niet worden uitgesloten dat toekomstige nieuwe technieken wel nieuwe ziekte-entiteiten zouden kunnen identificeren binnen deze categorie.
Zegers et al. 2019	Patiënten zonder een uiteindelijke diagnose (na een diagnostisch traject) en een hoge BAT-score (≥ 3 voor mannen en ≥ 5 voor vrouwen)
MacDonald et al. 2019	Ongeclassificeerde bloedstollingsstoornis: patiënten met een bloedingsneiging, maar normale standaard laboratoriumtesten
Veen et al. 2020	Patiënten met een klinisch relevant bloedingsfenotype zonder een diagnose na routine diagnostische laboratoriumtesten
Thomas et al. 2020	Een onverklaarde bloedingsneiging wordt gedefinieerd als een verhoogde bloedingscore met een normale diagnostische 'work-up' en een significante bloedingsanamnese, zonder reproduceerbare afwijkingen in de standaard hemostasetesten
Mehic et al. 2021	Patiënten met een milde tot matige bloedingsneiging die geen diagnose krijgen na grondig hemostatisch onderzoek van de plasmatische stolling en de bloedplaatjesfunctie
Baker et al. 2021	BDUC is een diagnose per exclusionem; het zijn patiënten met een bloedingsfenotype en geen afwijkingen in eerste- en tweedelijns hemostasetesten
Heubel-Moenen et al. 2022	Abnormale ISTH-BAT-score en normale standaard coagulatie testen
Valke et al. 2022	Een Tosetto-BAT-score ≥ 10 en geen definitieve diagnose na het uitvoeren van primaire en secundaire coagulatie testen

BAT='bleeding assessment tool', BDUC='bleeding disorder of unknown cause', ISTH-BAT='International Society on Thrombosis and Haemostasis - bleeding assessment tool'.

BDUC.¹ De huidige definities zijn heterogeen en worden niet uniform toegepast (zie *Tabel 1*). BDUC wordt onder andere gedefinieerd als de aanwezigheid van een milde tot matige bloedingsneiging, in sommige gevallen zelfs ernstig, waarbij geen onderliggende bloedstollingsstoornis kan worden gevonden na uitgebreid onderzoek met de huidige beschikbare hemostasetesten.^{2,4,7,8}

Om te kunnen spreken van een BDUC is het dus belangrijk om te definiëren wanneer sprake is van een verhoogde bloedingsneiging en om consensus te bereiken over welke laboratoriumtesten minimaal moeten zijn verricht voordat de diagnose BDUC kan worden gesteld. Ook moeten andere relevante oorzaken bewust worden uitgesloten (zie *Figuur 1*).

TABEL 2. Voorbeeldvragen van de ISTH-BAT-score. Voor het bepalen van de ISTH-BAT-score worden verschillende bloedingssymptomen beoordeeld met een score van 0-4. De som van de scores van de verschillende bloedingssymptomen resulteert in de uiteindelijke ISTH-BAT-score. Een ISTH-BAT-score van ≥ 4 voor mannen, ≥ 6 voor vrouwen en ≥ 3 voor kinderen wordt als afwijkend beschouwd (gebaseerd op Rodeghiero et al. 2019).^{2,13}

Symptomen	0	1	2	3	4
Epistaxis	Geen/ triviaal	- >5 /jaar of - Langer dan 10 minuten	Alleen consultatie	Afdrukken of cauterisatie of antifibrinolytica	Bloedtransfusie of 'replacement'-therapie of desmopressine
Chirurgische ingreep	Geen/ triviaal of geen ondergaan	In $\leq 25\%$ van de procedures, geen interventie	In $>25\%$ van de procedures, geen interventie	Chirurgische hemostase of antifibrinolytica	Bloedtransfusie of 'replacement'-therapie of desmopressine
Hevig menstrueel bloedverlies	Geen/ triviaal	Alleen consultatie of - Maandverband vaker dan om de 2 uur vervangen - Stolsels en vloeien - PBAC-score >100	- Afwezigheid op school/werk >2 /jaar of - Antifibrinolytica of hormonale of ijzertherapie	- Combinatie van antifibrinolytica en hormonale therapie nodig of - Aanwezig sinds menarche en >12 maanden	- Acute menorrhagie waarbij hospitalisatie en kritieke zorg nodig is of - Bloedtransfusie, 'replacement'-therapie of desmopressine nodig of - Dilatatie en curretage of endometriale ablatie nodig

PBAC='pictorial blood loss assessment chart'.

Bij het beoordelen van bloedingssymptomen moet onderscheid worden gemaakt tussen triviale bloedingssymptomen en symptomen die kunnen wijzen op een onderliggende bloedstollingsstoornis. Dit onderscheid is om meerdere redenen complex, onder andere door de subjectieve aard van de rapportage van bloedingen en omdat bloedingssymptomen ook in de gezonde populatie regelmatig worden gerapporteerd.⁹⁻¹¹ Er zijn verschillende vragenlijsten en scores ontwikkeld om bloedingssymptomen objectiever te kwantificeren, de zogenoemde 'bleeding assessment tools' (BAT). Een veel gebruikte BAT, ontwikkeld door de 'International Society on Thrombosis and Haemostasis' (ISTH), is de ISTH-BAT, waarbij een abnormale bloedingsscore is gedefinieerd als een score van ≥ 4 bij mannen, ≥ 6 bij vrouwen en ≥ 3 bij kinderen.^{12,13} Enkele voorbeeldvragen uit de ISTH-BAT-score worden weergegeven in Tabel 2.

Hoewel in de literatuur verschillende definities voor BDUC worden gebruikt waarbij een verhoogde BAT-score vaak als harde eis geldt, kan een BAT tekortschieten in het vaststellen van een verhoogde bloedingsneiging.^{1,14,15} De BAT-

score kan onterecht laag zijn bij bijvoorbeeld kinderen en jongvolwassenen, die meestal nog niet zijn blootgesteld aan momenten waarop maximale hemostase benodigd is (operaties, tandheelkundige ingrepen, trauma's, bevalling). Dit kan ook het geval zijn bij families waarin al generaties lang een verhoogde bloedingsneiging voorkomt en hevige bloedingssymptomen, zoals bij menstruaties, als normaal worden beschouwd.^{9,16,17} Daarnaast wordt de familieanamnese niet meegenomen in de BAT-score. Een belangrijke tekortkoming is ook dat vooral de ernst van de bloedingen wordt geëvalueerd en niet de bloedingsfrequentie. In bovenstaande gevallen is de klinische blik van een arts met expertise van belang. De expert bepaalt in de dagelijkse praktijk of er, ondanks een lage BAT-score, sprake is van een abnormale bloedingsneiging die klinisch relevant is of interfereert met het dagelijks leven van de patiënt ('nuisance bleeding'). Tot slot kan het voorkomen dat er een verhoogde BAT-score is op basis van een enkele zeer hevige bloeding na een operatie of bevalling, waarbij een chirurgische of andere klinische verklaring voor de bloeding aannemelijker is.¹ Voor het vaststellen van een

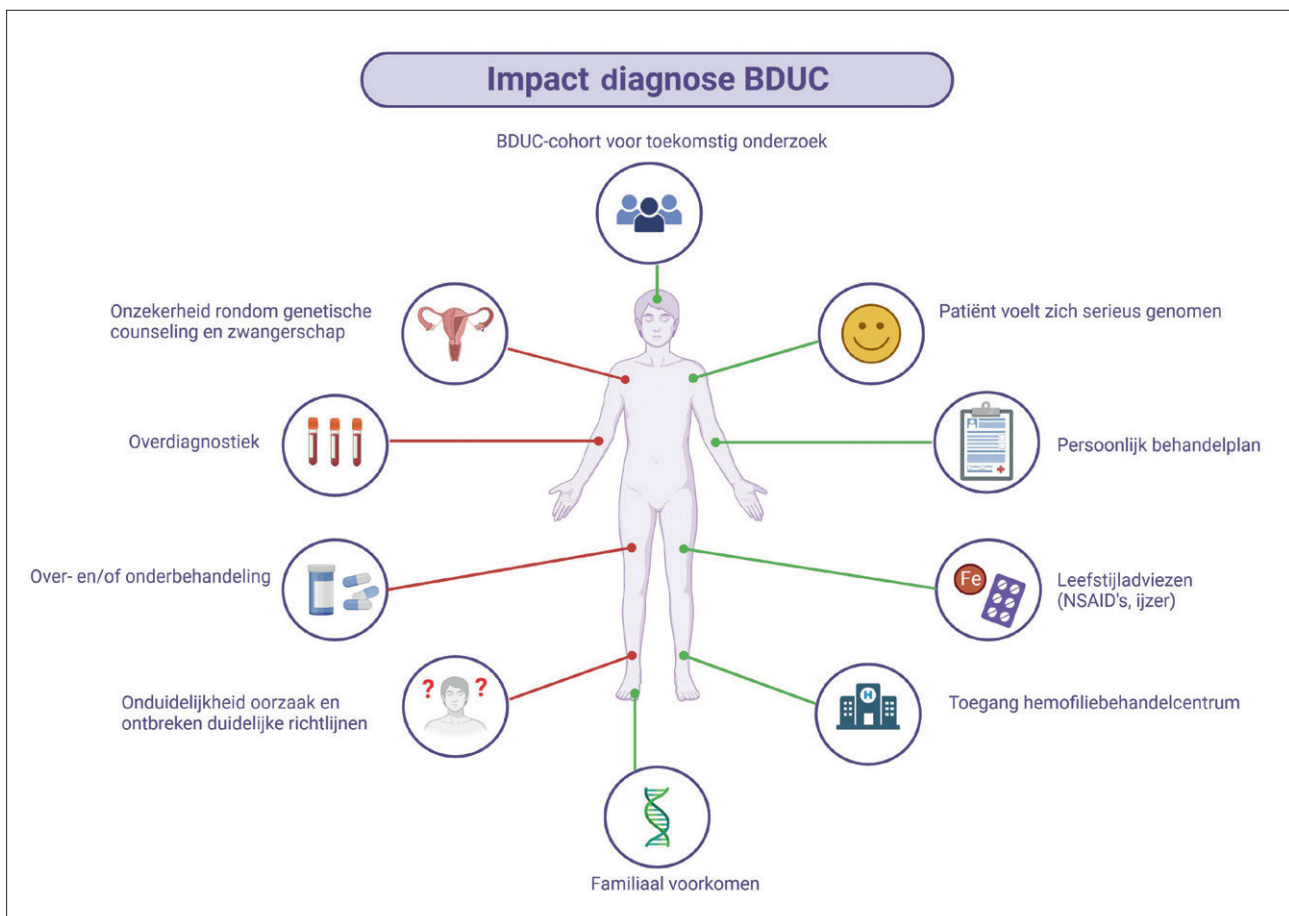
abnormale bloedingsneiging is het daarom belangrijk om niet alleen te kijken naar de BAT-score, maar ook het klinisch oordeel van de arts mee te nemen. Een arts met expertise kan namelijk alle factoren meewegen die de waarschijnlijkheid op een bloedstollingsstoornis beïnvloeden (familieanamnese, andere oorzaken voor bloedingen, medicatiegebruik, leeftijd en medische voorgeschiedenis).²

PATIËNTKARAKTERISTIEKEN, BLOEDINGSFENOTYPE EN KLINISCHE RELEVANTIE

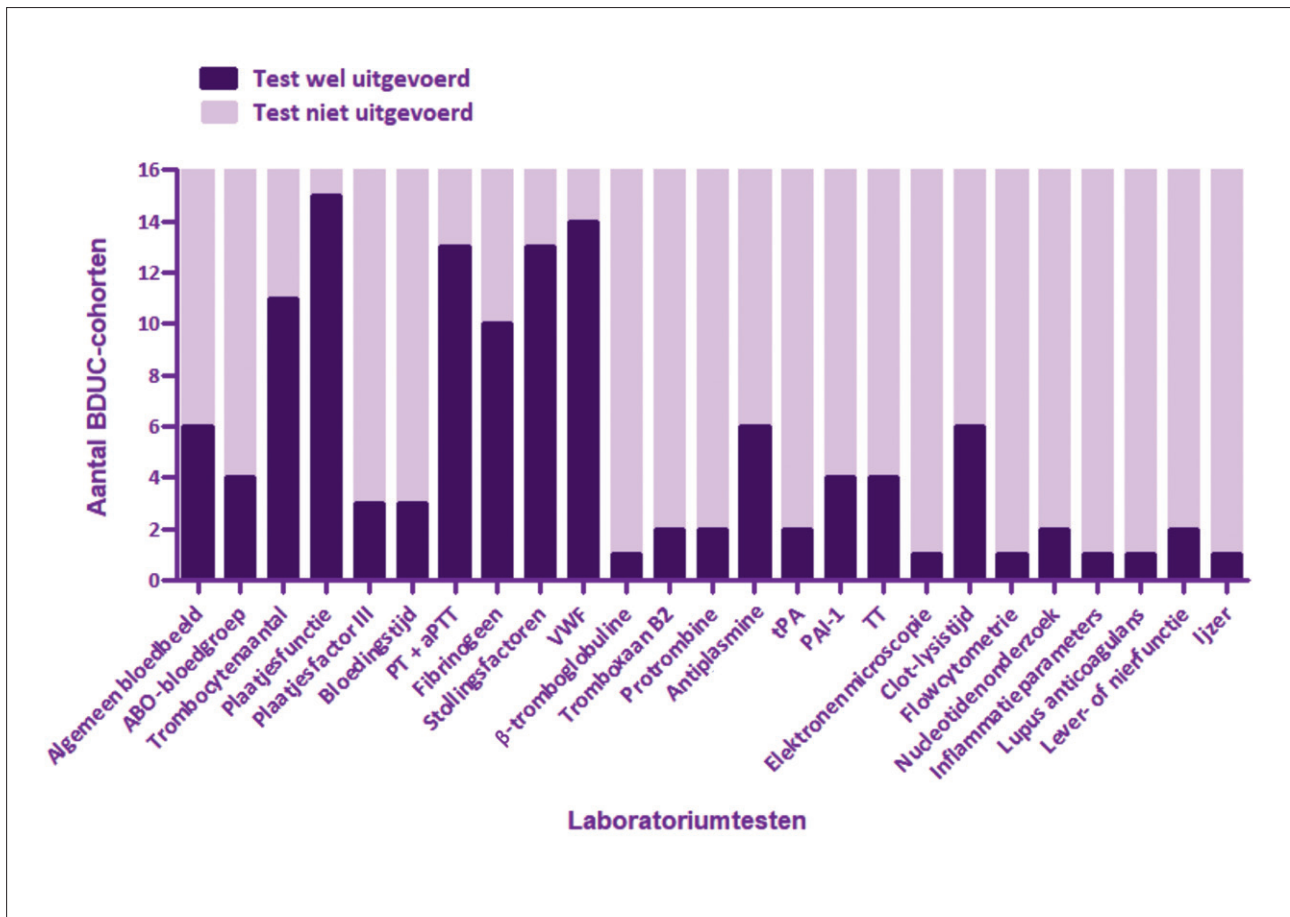
Meer dan 60% van de personen met BDUC is vrouw en de diagnose wordt doorgaans gesteld bij een leeftijd van 30 tot 40 jaar.^{1,11,18} Een mogelijke verklaring voor het grote percentage vrouwen is dat door hevig menstrueel bloedverlies en postpartumbloedingen een verhoogde bloedingsneiging zich bij hen vaker en op jongere leeftijd presenteert.¹ Postpartumbloedingen worden door ongeveer 65% van de personen met BDUC gerapporteerd en zijn dus hoog prevalent.¹¹ Daarnaast is opvallend dat 30-40% van

de personen met BDUC een positieve familieanamnese heeft.¹ Dit maakt een onderliggende genetische achtergrond bij deze patiëntengroep aannemelijker. Tevens is het opmerkelijk dat het familiair voorkomen van BDUC niet wordt opgenomen in de definities die tot op heden worden gebruikt.

Studies laten zien dat het bloedingspatroon van personen met BDUC wordt gekenmerkt door mucocutane bloedingen, zoals menorrhagie, hematomen en epistaxis, als ook bloedingen rondom operaties en tandheelkundige ingrepen.¹¹ Daarnaast komen spontane bloedingen voor bij personen met BDUC. In een retrospectief onderzoek van Relke et al. ontwikkelde 58% van de 90 geïncludeerde BDUC-studiepersonen met een verhoogde ISTH-BAT-score bij diagnose een spontane bloeding tijdens follow-up.¹⁹ Het bloedingspatroon, de ernst van de bloedingen en de BAT-score bij BDUC verschilt weinig tot niet met personen bij wie wel een duidelijke diagnose wordt gesteld, zoals von-willebrandziekte, bloedplaatjesfunctiestoornissen en stollingsfactordeficiënties.¹¹ Daarom is het niet verbazingwekkend dat,



FIGUUR 2. Consequenties van de diagnose ‘bleeding disorder of unknown cause’ (BDUC). De groene lijnen representeren de mogelijke voordelen die de diagnose BDUC met zich meebrengt en de rode lijnen representeren de mogelijke nadelen (gebaseerd op Baker et al. 2021).²¹ Figuur gemaakt met BioRender.com.



FIGUUR 3. Laboratoriumdiagnostiek die in 16 verschillende cohorten is uitgevoerd om bekende oorzaken van een verhoogde bloedingsneiging uit te sluiten.

aPTT=geactiveerde partiële tromboplastinetijd, PAI-1=plasminogeenactivator inhibitor-1, PT=protrombinetijd, tPA=weefsel plasminogeenactivator, TT=trombinetijd, vWF=von-willebrandfactor.

net als bij personen met een diagnose, er sprake kan zijn van een verhoogde morbiditeit en een verminderde kwaliteit van leven, onder andere door onzekerheid en onrust rondom het bloedingsrisico en het beleid rondom bloedingen en ingrepen.²⁰ Ook is het gebrek aan een (internationale) richtlijn voor diagnostiek en behandeling rondom risicomomenten, als ook ten behoeve van erfelijkheidsadviezen een gemis.^{4,19} Toch is het van belang BDUC als entiteit te erkennen en te diagnosticeren. Zo wordt de persoon geregistreerd en, indien geïndiceerd, ook eventueel in nauwe samenwerking na diagnosestelling en het opstellen van een behandelplan vervolgd. Op deze manier is er een contactpunt voor de patiënt bij problemen, kan een behandelplan worden opgesteld wanneer ingrepen of andere risicovolle situaties plaatsvinden en kunnen leefstijladviezen worden gegeven. Daarnaast ontstaat binnen families bewustwording van de aanwezigheid van de bloedstollingsstoornis.^{2,21} Hier tegenover staat dat deze diagnose ook kan leiden tot overdiagnostiek en overbehandeling,

waarover bovendien geen duidelijke consensus is.⁴ De consequenties die de diagnose BDUC kunnen hebben worden weergegeven in *Figuur 2*.

LABORATORIUMDIAGNOSTIEK

In het diagnostisch proces van een bloedstollingsstoornis is laboratoriumonderzoek onmisbaar. De diagnose BDUC wordt gesteld indien de uitgevoerde hemostaselaboratoriumtesten geen afwijkingen laten zien, bij een klinisch relevante bloedingsneiging zonder andere oorzaak. In de literatuur worden verschillende diagnostische algoritmes beschreven voor het te verrichten laboratoriumonderzoek. Over het algemeen is er sprake van een stapsgewijze benadering, waarbij wordt gestart met screenende hemostasetesten voor de primaire en secundaire hemostase, zoals respectievelijk 'platelet function analyzer' (PFA), geactiveerde partiële tromboplastinetijd (aPTT) en de protrombinetijd (PT).^{2,4,14} Met deze screenende testen kunnen milde afwijkingen worden gemist. Ook kan de hoeveelheid fibri-

nogeen worden gemeten. Daarnaast kan als screening een algemeen bloedbeeld worden bepaald, inclusief trombocytenaantal. Voor het opsporen van von-willebrandziekte kan de von-willebrandfactoractiviteit en -antigeen worden gemeten.

Aanvullende laboratoriumtesten kunnen in een volgende stap worden uitgevoerd op basis van screeningstuitlagen, maar ook op basis van het klinisch oordeel van de arts of de bloedingscore (ISTH-BAT-score) en de waarschijnlijkheid van een onderliggende bloedstollingsstoornis. Om een stollingsfactordeficiëntie aan te tonen kunnen de individuele factoren worden gemeten (FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI en FXIII), zoals ook wordt geadviseerd in de richtlijn voor zeldzame bloedstollingsstoornissen.²² Voor von-willebrandziekte kan op indicatie ook een multimerentest worden uitgevoerd en een collageen bindingsassay (specificiteit voor type 2M).²³ Voor de diagnose van plaatjesfunctiestoornissen is lichttransmissieaggregometrie (LTA) de gouden standaard. Om uitgebreider onderzoek te doen naar 'storage pool'-ziekten kan onder andere gebruik worden gemaakt van een ATP-'release'-meting of elektronenmicroscopie.²⁴ Tot slot kan gebruik worden gemaakt van flowcytometrie.

Er is ook een aantal aandoeningen die gepaard gaan met een verhoogde bloedingsneiging zonder dat er afwijkingen zijn in de stollingscascade, zoals bindweefselaandoeningen, lever- en nierziekten en hypothyreoïdie.⁴ Om overige oorzaken te kunnen uitsluiten, kunnen aanvullende laboratoriumtesten worden uitgevoerd, zoals een C-reactief proteïne-meting, nier- en leverfunctie bepaling en een meting van het schildklierstimulerend hormoon (TSH) en vrij T4 (FT4). Ten slotte kan een hypermobilitetsscreening worden gedaan en moet worden gedacht aan (non-accidenteel) trauma. Een overzicht van de gebruikte laboratoriumtesten voor het uitsluiten van BDUC in verschillende studiecohorten wordt weergegeven in *Figuur 3*.

NIEUWE LABORATORIUMTESTEN

Naast de hierboven beschreven meest gebruikelijke hemostaselaboratoriumtesten, hebben verschillende onderzoeksgroepen gekeken naar de waarde van nieuwe en experimentele testen om personen met BDUC nader te karakteriseren en mogelijke mechanismen te ontdekken die ten grondslag liggen aan de bloedingsneiging in deze groep. Publicaties betreffen vooral de waarde van globale hemostasetesten, zoals trombinegeneratie (TG) en trombo-elastografie, maar ook het beter meten van fibrinolyseparameters, het toepassen van flowkamertesten en genetisch onderzoek. Voor al deze 'nieuwe' testen geldt dat er nood is aan harmonisatie en standaardisatie van de testmethoden.

TROMBINEGENERATIE (TG)

Onderzoek naar TG laat wisselende resultaten zien, waarbij enkele studies een verlengde 'lag time', een verlengde 'time to peak' en/of een verminderde maximale trombinegeneratie laten zien bij personen met BDUC in vergelijking met een groep gezonde vrijwilligers.^{7,8,25} Dit wordt niet bevestigd in andere studies.^{26,27} Tevens zijn geen klinisch relevante correlaties aangetoond tussen TG-parameters en de ernst van de bloedingen die worden gerapporteerd.^{7,25,28} Mogelijk spelen bij deze verschillende uitkomsten de heterogeniteit van de TG-methoden die zijn gebruikt een rol.¹

FIBRINOLYSE

De fibrinolyse is in studies onderzocht door het meten van verschillende fibrinolyseparameters, zoals fibrinogeen, 'tissue plasminogen activator' (tPA), 'thrombin activatable fibrinolysis inhibitor' (TAFI) en $\alpha 2$ -antiplasmine. Een (recente) studie van Valke et al. laat zien dat 21% van de personen met BDUC, uit een cohort van 160 geselecteerde BDUC-patiënten, een toegenomen 'euglobuline clot lysis time' (ECLT)-ratio hebben en dat 16% van deze patiënten een verlaagd PAI-1-antigeen en PAI-1-activiteit hebben.²⁹ Uitkomsten uit eerdere studies laten geen vergelijkbare resultaten zien.^{7,25,26,30}

TROMBO-ELASTOGRAFIE

Studies die trombo-elastografie door middel van 'rotational thromboelastography' (ROTEM) hebben toegepast, vonden met deze test ook geen afwijkingen.²⁵ Alleen bij de 'non-activated thromboelastometry' (NATEM)-assay, waarbij volbloed wordt gerecalcificeerd zonder bijkomende activatie, zijn bij een klein aantal personen met BDUC mild afwijkende waarden gezien.⁸ Het evalueren van de NATEM-assay in een grotere groep personen met BDUC zou meer informatie kunnen geven over de waarde van de gevonden afwijkingen.

GENETISCH ONDERZOEK

In een groot cohort van 619 personen met BDUC wordt met DNA-analyse door middel van 'high-throughput sequencing' bij slechts 3,2% van de personen een diagnose gesteld, terwijl dit in groepen met stollingsfactordeficiënties en bloedplaatjesfunctiestoornissen bij respectievelijk 63,6% en 26,1% het geval is.³¹ Bij de selectie van deze personen met BDUC is geen rekening gehouden met het al dan niet aanwezig zijn van een positieve familieanamnese voor bloedingsneiging. Ook deze testmethode levert geen grote diagnostische opbrengst op, al moet rekening worden gehouden met het feit dat een vast panel genen, waarvan bekend is dat zij een rol spelen bij bloedstollingsstoornissen

of tromboseneigingen, wordt getest.³¹ Daarnaast zijn heterozygote klasse 4- en 5-varianten niet meegenomen, waardoor mogelijk relevante informatie ontbreekt.

FLOWKAMERPROEVEN

Tot slot wordt flowkameronderzoek verricht met onder andere de 'Maastricht Flow chamber'. Bij een kleine groep personen met een verhoogde en onverklaarde bloedingsneiging en enkel een afwijkende PFA-test werd een verminderde plaatjesadhesie en trombusvorming gezien ten opzichte van een controlegroep. Ook werd minder integrine-activatie, fosfatidylserineblootstelling en P-selectine-expressie gezien, suggestief voor een verminderde plaatjesactivatie. Deze resultaten suggereren dat bij deze personen sprake is van een 'shear'-afhankelijke bloedplaatjesfunctiestoornis.³² Ook binnen verschillende SYMPHONY 'workpackages' (WP3 en WP12) wordt hemostaseonderzoek gedaan door middel van flowkamermodellen. In WP12 wordt de rol van endotheelcellen onderzocht door middel van een bloeding-op-een-chipmethode.³³ In deze flowkamer worden endotheelcellen van de patiënt gekweekt, die de binnenbekleding van het bloedvat nabootsen. Nadat bloed door deze kleine flowkamer stroomt, kan de endotheellaag worden beschadigd door een pneumatisch systeem en wordt een bloeding geïnduceerd.

PATHOFYSIOLOGIE

Het uitblijven van een duidelijke oorzaak voor de bloedingsproblematiek bij BDUC-patiënten uit verschillende onderzoekscohorten ondersteunt de hypothese dat binnen deze patiëntengroep sprake is van een heterogene groep van afwijkingen als onderliggend mechanisme voor de toegenomen bloedingsneiging. Hierbij kan het gaan om zeldzame monogene aandoeningen of polygene oorzaken voor bloedingen.^{1,18} Het is dus heel onwaarschijnlijk dat één diagnostische test de pathofysiologische oorzaak van de bloedingsneiging van alle BDUC-patiënten zal kunnen verklaren. Een individuele diagnostische aanpak voor BDUC-patiënten lijkt dan ook meer aangewezen.¹

BEHANDELING

Momenteel is er geen eenduidige richtlijn of consensus beschikbaar voor het opstellen van een behandelplan bij personen met BDUC, omdat kennis over de onderliggende pathofysiologische oorzaak voor de bloedingsneiging ontbreekt. Bij deze groep personen is een bloedingsrisico aanwezig, met name rondom operaties, tandheelkundige ingrepen en zwangerschappen en bevallingen. Hiervoor wordt in hemofiliebehandelcentra over het algemeen een behandelplan opgesteld, met daarin een behandeladvies

voor risicovolle situaties.⁴ In een retrospectieve studie is in een cohort van 124 personen met BDUC gekeken naar het beleid rondom operatieve ingrepen. Vijfentachtig personen ondergingen, voordat zij de diagnose BDUC kregen, een operatieve ingreep. Bij maar liefst 75% was sprake van een postoperatieve bloeding.⁸ Bij deze ingrepen werd mede in verband met het ontbreken van een (BDUC-)diagnose geen profylactische hemostatische therapie gegeven. In een andere observationele studie werd gekeken naar de uitkomst van operatieve ingrepen en bevallingen bij personen met BDUC in vergelijking met personen met een bekende bloedstollingsstoornis.³⁴ In deze studie traden meer grote bloedingen op indien geen preventieve interventies en maatregelen waren voorgeschreven dan bij personen met BDUC die wel een interventie kregen voorgeschreven. Ondanks de preoperatieve interventies werden in beide groepen echter alsnog veel grote bloedingen gezien (respectievelijk 25% en 20%).³⁴ Dit suggereert dat de profylactische behandeling, die voor de meeste personen met BDUC bestaat uit tranexaminezuur en/of desmopressine, niet altijd adequaat is. Baker et al. doen in een recent overzichtsartikel suggesties voor een stapsgewijs behandelplan voor BDUC op basis van de bloedingsneiging en het optreden van perioperatieve bloedingen in het verleden.⁴ Gebaseerd op minimale beschikbare data en literatuur wordt geadviseerd om personen met BDUC te behandelen met antifibrinolytische middelen (zoals tranexaminezuur), desmopressine (DDAVP), trombocytentransfusies en/of recombinant geactiveerd FVII (Novoseven®).⁴ Tranexaminezuur, al dan niet in combinatie met DDAVP, wordt gebruikt bij kleine en grote chirurgische ingrepen. Trombocytencentraten worden zowel preventief als therapeutisch toegepast. Het advies is om recombinant geactiveerd FVII als 'last resort'-middel te gebruiken in het geval van een bloedingscomplicatie, vanwege het verhoogde trombotische risico.⁴ Bovendien dient te worden opgemerkt dat deze kostbare therapie voor deze indicatie niet geregistreerd is. Naast het onderzoeken van onderliggende pathofysiologische bloedingsmechanismen zou een gerandomiseerde studie naar verschillende behandelingen een stap kunnen zijn naar een meer 'evidence-based' behandelrichtlijn voor deze patiëntengroep.

LANDELIJKE STUDIEGROEP NAAR 'BLEEDING DISORDER OF UNKNOWN CAUSE' (BDUC-iN) EN SAMENWERKING MET HET SYMPHONY NWO-NWA-CONSORTIUM

De landelijke studiegroep 'Bleeding Disorder of Unknown Cause in the Netherlands' (BDUC-iN; hoofdonderzoeker

TABEL 3. In- en exclusiecriteria, gebruikte BDUC-definities en laboratoriumtesten in de drie verschillende cohorten.

	ProBe-AHP	Crescendo	TiN
In- en exclusiecriteria	- Leeftijd ≥ 18 jaar - Patiënten met verdenking verhoogde bloedingsneiging	- Alle leeftijden - Patiënten met een verdenking op een bloedingsneiging en geen definitieve diagnose na routinetesten	- Leeftijd ≥ 18 jaar - Patiënten met een verdenking op een erfelijke plaatjes-functiestoornis
BDUC-definitie	ISTH-BAT ≥ 4 bij mannen, ISTH-BAT ≥ 6 bij vrouwen + geen abnormaliteiten in screenings- en additionele testen	Onevenredige bloedingen na trauma, chirurgie en kleine wonden; gemakkelijke hematoomvorming; mucosale bloedingen en/of menorrhagie zonder routine laboratorium-abnormaliteiten, gebaseerd op gekende laboratoriumdefinities voor gekende bloedstollingsstoornissen	
Laboratoriumtesten	Volledig bloedbeeld, PT, aPTT, TT, PFA, MPV, 'euglobuline clot lysis', fibrinogeen, FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI, FXIII, vWF act/ag, LTA, ATP-'release', PAI-1 ag/act, $\alpha 2$ -antiplasmine, plasminogeen, antitrombine, 'thrombogenomics HTS gene panel test', proteïne C, proteïne S, 'multiplate', IPF, tPA, plasminogeneratie, lysis timer, ROTEM (tPA-ROTEM), trombinegeneratie	PT, aPTT, trombocytenaantal, MPV, PFA, fibrinogeen, FVII, FVIII, IX, XI, XII, vWF ag/act/co-binding/multimeren, LTA, elektronenmicroscop, ADP/ATP-ratio, TPO, PAI act, $\alpha 2$ -antiplasmine, D-dimeer, PAP-complex, TAFI, IPF, massaspectometrie, granulocytenfunctietest, rodebloedcelafwijkingen, eiwitsecretietest, IPS, flowcytometrie, DNA-tests, tPA, ROTEM, 'plasma clot lysis assay', trombinegeneratie	Volledig bloedbeeld, MPV, morfologie, PT, aPTT, vWF:Rco, LTA, ADP/ATP-inhoud en -ratio, NGS, plaatjesactivatietest (FACS), elektronenmicroscop, massaspectometrie voor proteomics, MYH9 immunofluorescentieanalyse, RNA-diagnostiek en perfusiestudies

ADP=adenosinedifosfaat, aPTT=geactiveerde partiële tromboplastinetijd, ATP=adenosinetrifosfaat, IPF='immature platelet fraction', IPS='induced pluripotent stem cell', ISTH-BAT='International Society on Thrombosis and Haemostasis – bleeding assessment tool', LTA=lichttransmissieaggregometrie, MPV='mean platelet volume', NGS='next generation sequencing', PAI-1=plasminogeen activator inhibitor-1, PAP-complex= $\alpha 2$ -antiplasmine-plasminocomplex, PFA='platelet function analyzer', PT=protrombinetijd, ROTEM='rotational thromboelastometry', TAFI='thrombin activatable fibrinolysis inhibitor', tPA=weefsel plasminogeenactivator, TPO=trombopoëtiene, TT=trombinetijd, vWF=von-willebrandfactor, vWF:act=von-willebrandfactoractiviteit, vWF:Ag=von-willebrandfactorantigeen, vWF:Rco=von-willebrandfactor ristocetinecofactoractiviteit.

dr. Floor Heubel-Moenen) is een recentelijk opgestarte samenwerking tussen alle zes hemofliebehandelcentra in Nederland (UMC Utrecht, Erasmus MC, Amsterdam UMC, LUMC-Haga Ziekenhuis, UMCG, Radboudumc-Eindhoven-Maastricht/NEM). De stuurgroep van dit project bestaat uit afgevaardigden uit ieder centrum en werkt in nauwe samenwerking met het SYMPHONY NWO-NWA-consortium, waarin diagnostische, klinische en fundamentele wetenschappers vanuit alle academische centra en Sanquin samenwerken om een behandeling op maat te

orkestreren door het ontrafelen van de interindividuele variatie in bloedingsneiging, voor alle patiënten met een bloedstollingsstoornis, met en zonder diagnose (www.symphonysortium.nl).⁶

BDUC-iN is een landelijk initiatief om zowel diagnostische, therapeutische als fundamentele onderzoeksvragen naar de pathofysiologie achter de bloedingsneiging van deze individuen te beantwoorden, met als doel de zorg voor deze patiëntengroep te verbeteren. Om dit te verwezenlijken zullen gezamenlijk en interdisciplinair retrospectieve

AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1** Bij een groot deel van de personen die worden verwezen voor een analyse bloedingsneiging kan geen duidelijke diagnose worden gesteld. Dan wordt gesproken van een onverklaarde bloedingsneiging ofwel 'bleeding disorder of unknown cause' (BDUC).
- 2** Er is behoefte aan een eenduidige definitie van BDUC en duidelijke richtlijnen voor exclusiecriteria, laboratoriumdiagnostiek en effectieve behandeling.
- 3** Met de landelijke multicenter BDUC-iN-studiegroep wordt in nauwe samenwerking met het SYMPHONY-consortium beoogd definiëring te bewerkstelligen en de onderliggende mechanismen die de bloedingsneiging veroorzaken en/of beïnvloeden in BDUC te doorgronden.

studies in bestaande onderzoekscohorten worden verricht en zullen prospectieve studies naar onderliggende bloedingsmechanismen en optimale behandeling worden geïnitieerd.

Drie Nederlandse cohorten met BDUC-patiënten uit Rotterdam, Maastricht en Utrecht zullen worden samengevoegd. Het cohort uit Rotterdam komt uit de Crescendo-studie en het cohort uit Maastricht komt voort uit de ProBe-AHP-studie. Uit Utrecht zullen patiënten uit de TiN-studie worden geselecteerd, waarbij geen trombocytopathie werd gevonden. Er is een aantal verschillen tussen deze cohorten in onder andere de in- en exclusiecriteria, de gebruikte definitie voor BDUC en de verrichte laboratoriumtesten (zie *Tabel 3*, pagina 159).

CONCLUSIE EN AANDACHTSPUNTEN

Een groot deel van de personen die zich presenteert met een verhoogde bloedingsneiging krijgt na uitgebreide analyse de diagnose BDUC. Het ontbreken van een duidelijke oorzaak voor deze symptomatologie zorgt voor veel onzekerheid en onrust bij personen met BDUC, hun omgeving en behandelaren. Reeds uitgevoerd onderzoek naar nieuwe laboratoriumtesten en genetische analyses leiden vooralsnog tot weinig aangrijpingspunten. De BDUC-iN-studiegroep wil in samenwerking met het SYMPHONY-consortium de zorg voor deze groep verbeteren door definities en richtlijnen met betrekking tot diagnostiek en behandeling te uniformeren en onderliggende mechanismen die de bloedingsneiging bij BDUC veroorzaken en/of beïnvloeden te doorgronden.

REFERENTIES

1. Thomas W, Downes K, Desborough MJ. Bleeding of unknown cause and unclassified bleeding disorders; diagnosis, pathophysiology and management. *Haemophilia* 2020;26:946-57.

2. Rodeghiero F, Pabinger I, Ragni M, et al. Fundamentals for a systematic approach to mild and moderate inherited bleeding disorders: an EHA consensus report. *Hemasphere* 2019;3:e286.
3. Sanders YV, De Wee EM, Meijer K, et al. [Von Willebrand disease in the Netherlands: the WiN study]. *Ned Tijdschr Geneesk* 2014;158:A6518.
4. Baker RI, O'Donnell JS. How I treat bleeding disorder of unknown cause. *Blood* 2021;138:1795-804.
5. Favaloro EJ. Investigating people with mucocutaneous bleeding suggestive of primary hemostatic defects: a low likelihood of a definitive diagnosis? *Haematologica* 2007;92:292-6.
6. Crossen MH, Van Moort I, Reitsma SH, et al. SYMPHONY consortium: orchestrating personalized treatment for patients with bleeding disorders. *J Thromb Haemost* 2022;20:2001-11.
7. Hofer S, Ay C, Rejto J, et al. Thrombin-generating potential, plasma clot formation, and clot lysis are impaired in patients with bleeding of unknown cause. *J Thromb Haemost* 2019;17:1478-88.
8. MacDonald S, Wright A, Beuche F, et al. Characterization of a large cohort of patients with unclassified bleeding disorder; clinical features, management of haemostatic challenges and use of global haemostatic assessment with proposed recommendations for diagnosis and treatment. *Int J Lab Hematol* 2020;42:116-25.
9. Rydz N, James PD. The evolution and value of bleeding assessment tools. *J Thromb Haemost* 2012;10:2223-9.
10. Mauer AC, Khazanov NA, Levenkova N, et al. Impact of sex, age, race, ethnicity and aspirin use on bleeding symptoms in healthy adults. *J Thromb Haemost* 2011;9:100-8.
11. Quiroga T, Goycoolea M, Panes O, et al. High prevalence of bleeders of unknown cause among patients with inherited mucocutaneous bleeding. A prospective study of 280 patients and 299 controls. *Haematologica* 2007;92:357-65.
12. Elbatarany M, Mollah S, Grabell J, et al. Normal range of bleeding scores for the ISTH-BAT: adult and pediatric data from the merging project. *Haemophilia* 2014;20:831-5.

13. Rodeghiero F, Tosetto A, Abshire T, et al. ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *J Thromb Haemost* 2010;8:2063-5.
14. Zegers SA, Smit Y, Saes JL, et al. Diagnostic work up of patients with increased bleeding tendency. *Haemophilia* 2020;26:269-77.
15. Moenen F, Nelemans PJ, Schols SE, et al. The diagnostic accuracy of bleeding assessment tools for the identification of patients with mild bleeding disorders: a systematic review. *Haemophilia* 2018;24:525-35.
16. O'Brien SH. Bleeding scores: are they really useful? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:152-6.
17. Quiroga T, Mezzano D. Is my patient a bleeder? A diagnostic framework for mild bleeding disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012:466-74.
18. Gebhart J, Hofer S, Panzer S, et al. High proportion of patients with bleeding of unknown cause in persons with a mild-to-moderate bleeding tendency: results from the Vienna Bleeding Biobank (VIBB). *Haemophilia* 2018;24:405-13.
19. Relke N, Kuthiala S, Grabell J, et al. The bleeding score: useful in predicting spontaneous bleeding events in adults with bleeding of unknown cause? *Haemophilia* 2020;26:e31-3.
20. Sanders YV, De Wee EM, Meijer K, et al. [Von Willebrand disease in the Netherlands: the WIN study] *Ned Tijdschr Geneesk* 2014;158:A6518.
21. Obaji S, Alikhan R, Rayment R, et al. Unclassified bleeding disorders: outcome of haemostatic challenges following tranexamic acid and/or desmopressin. *Haemophilia* 2016;22:285-91.
22. Mumford AD, Ackroyd S, Alikhan R, et al. Guideline for the diagnosis and management of the rare coagulation disorders: a United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organization guideline on behalf of the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol* 2014;167:304-26.
23. (NVHB) NVvH. Richtlijn diagnostiek en behandeling van hemofilie 2020. 2021. Te raadplegen via <https://hematologienederland.nl/wp-content/uploads/2021/02/Richtlijn-Diagnostiek-en-Behandeling-van-Hemofilie-2020-geautoriseerde-versie-20210206-2.pdf>.
24. Gresele P, Falcinelli E, Bury L. Laboratory diagnosis of clinically relevant platelet function disorders. *Int J Lab Hematol* 2018;40:34-45.
25. Veen CS, Huisman EJ, Cnossen MH, et al. Evaluation of thromboelastometry, thrombin generation and plasma clot lysis time in patients with bleeding of unknown cause: a prospective cohort study. *Haemophilia* 2020;26:e106-15.
26. Alves GS, Orsi FA, Santiago-Bassora FD, et al. Laboratory evaluation of patients with undiagnosed bleeding disorders. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2016;27:500-5.
27. Ay C, Haselbock J, Laczkovics C, et al. Thrombin generation in patients with a bleeding tendency of unknown origin. *Ann Hematol* 2011;90:1099-104.
28. Holm E, Zetterberg E, Lovdahl S, et al. Patients referred for bleeding symptoms of unknown cause: does evaluation of thrombin generation contribute to diagnosis? *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2016;8:e2016014.
29. Valke L, Meijer D, Nieuwenhuizen L, et al. Fibrinolytic assays in bleeding of unknown cause: Improvement in diagnostic yield. *Res Pract Thromb Haemost* 2022;6:e12681.
30. Gebhart J, Kepa S, Hofer S, et al. Fibrinolysis in patients with a mild-to-moderate bleeding tendency of unknown cause. *Ann Hematol* 2017;96: 489-95.
31. Downes K, Megy K, Duarte D, et al. Diagnostic high-throughput sequencing of 2396 patients with bleeding, thrombotic, and platelet disorders. *Blood* 2019;134:2082-91.
32. Heubel-Moenen F, Brouns SL, Herfs L, et al. Multiparameter platelet function analysis of bleeding patients with a prolonged platelet function analyser closure time. *Br J Haematol* 2022;196:1388-400.
33. Sakurai Y, Hardy ET, Ahn B, et al. A microengineered vascularized bleeding model that integrates the principal components of hemostasis. *Nat Commun* 2018;9:509.
34. Veen CS, Huisman EJ, Romano LG, et al. Outcome of surgical interventions and deliveries in patients with bleeding of unknown cause: an observational study. *Thromb Haemost* 2021;121:1409-16.