

Resultaat onderzoek 2000

- Project 95.001 "Onderzoek naar de oorzaken en het trombose risico van de tot nu toe onbegrepen vormen van APC-resistentie"
- Project 97.003 "Karakterisatie van bloedplaatjes exosomen"
- Project 98.001 "Effects on hemostasis and fibrinolysis of prostagens used in second and third generation oral contraceptives"
- Project 99.001 "Verlengde werkingsduur en effectiviteit van aan albumine en aan erythrocyten geconjugeerde heparine in experimentele trombose"
- Project 99.002 "Definitie van optimale INR target bij de behandeling van veneuze tromboembolie"

Project 95.001 "Onderzoek naar de oorzaken en het trombose risico van de tot nu toe onbegrepen vormen van APC-resistentie"

A. Vraagstelling onderzoek

Naast de APC-resistentie (ongevoeligheid van plasma voor het antistollende eiwit APC) die het gevolg is van een mutatie in het factor V gen (factor V Leiden, FVL; n-APC-SR < 0.70) bestaan er andere vormen van APC resistentie waarvan wij tot op heden de moleculaire achtergronden en de eventueel geassocieerde risico's voor trombose niet kennen. Doel van dit onderzoek is de moleculaire basis van deze vormen van APC-resistentie te identificeren, zodat vervolgens onderzocht kan worden wat het risico van deze afwijking(en) op veneuze trombose is.

B. Welke delen van de vraagstelling werden in het verslagjaar beantwoord?

Het onderzoek werd begonnen met een nadere analyse van het tromboserisico dat geassocieerd is met een verlaagde gevoeligheid voor geactiveerd proteïne C (APC) in de afwezigheid van de FVL mutatie. Analyses werden uitgevoerd in de Leiden Thrombophilia Studie (LETS), een patiënt-controle onderzoek naar veneuze trombose met 474 opeenvolgende patiënten met een eerste diep-veneuze trombose en 474 gezonde controles die voor leeftijd en geslacht gematcht zijn met de patiënten. De gevoeligheid voor APC werd bepaald met behulp van een APTT (activated partial thromboplastin time) gebaseerde test en uitgedrukt in de genormaliseerde APC sensitivity ratio (n-APC-SR). Een verlaagde gevoeligheid voor APC (in de afwezigheid van FVL bleek geassocieerd te zijn met een verhoogd tromboserisico. Verder bleek er een verband te bestaan tussen spiegels van stollingsfactor VIII en de n-APC-SR; Hoge factor VIII spiegels leidden tot een lagere n-APC-SR. Hoog factor VIII is zelf een risicofactor voor veneuze trombose. Na correctie voor factor VIII spiegels nam het tromboserisico weliswaar af, maar verdween niet (ref 1).

Nadat was aangetoond dat een verlaagde gevoeligheid voor APC zonder de FVL mutatie een risicofactor is voor veneuze trombose werd op zoek gegaan naar mogelijke oorzaken van zo'n verlaagde gevoeligheid. Als eerste werd het HR2 haplotype onderzocht, dat gedefinieerd wordt door verschillende polymorfismen in stollingsfactor V. Uit analyses van dit haplotype in de LETS bleek dat dit haplotype geen risicofactor is voor het krijgen van een eerste veneuze trombose. Verder bleek dat dubbelheterozyoten voor de FVL mutatie en het HR2 haplotype een verlaagde APC ratio hebben in vergelijking met mensen die alleen de FVL mutatie bezitten. In individuen die de FVL mutatie niet bezitten wordt de gevoeligheid voor APC echter niet beïnvloed door de aanwezigheid van het HR2 haplotype. Het haplotype bleek ook geassocieerd te zijn met verlaagde factor V spiegels (ref 2). Het HR2 haplotype werd ook nog bekeken in een patiënt-controle onderzoek naar myocardinfarct. Dragerschap van het HR2 haplotype bleek geen invloed te hebben op het krijgen van een myocardinfarct (ref 3).

Ceruloplasmine is een eiwit dat qua structuur veel gelijkenis vertoont met stollingsfactoren V en VIII. Binding van ceruloplasmine aan APC zou de binding van factoren V en VIII aan APC kunnen verminderen en op deze manier leiden tot APC resistentie. Deze mogelijkheid werd onderzocht in de LETS. Er bleek een matig verband te zijn tussen ceruloplasmine spiegels en de n-APC-SR. Nadere analyse wees uit dat dit verband voor een groot deel verklaard werd door de effecten van geslacht en pilgebruik op zowel ceruloplasmine als op de n-APC-SR. Na correctie voor factor VIII spiegels, waarvan eerder aangetoond was dat ze de n-APC-SR beïnvloeden, verdween het verband tussen ceruloplasmine en n-APC-SR volledig.

In theorie bestaat de mogelijkheid dat hoge factor X spiegels leiden tot een verlaagde gevoeligheid voor APC. Daartoe werden in de LETS factor X spiegels gemeten. Ook werden een aantal polymorfismen in de factor X promotor bekeken. Het bleek dat de bestudeerde polymorfismen geen invloed hadden op de factor X spiegels, dat factor X spiegels de n-APC-SR niet beïnvloeden en dat verhoogde factor X spiegels geen risicofactor zijn voor veneuze trombose wanneer rekening wordt gehouden met andere vitamine K-afhankelijke stollingsfactoren (ref 4).

In de LETS werden mogelijke determinanten van twee APC resistentie-testen onderzocht. Dit waren testen gebaseerd op de APTT (activated partial thromboplastin time) en op de ETP (endogenous thrombin potential). Het bleek dat de APTT-gebaseerde test vooral beïnvloed wordt door factor VIII spiegels, zoals al eerder was aangetoond. De ETP-gebaseerde test werd beïnvloed door vrije proteïne S spiegels, pilgebruik en geslacht.

Een hoge factor VIII spiegel is een veel voorkomende risicofactor voor veneuze trombose en het leidt tot een verlaagde gevoeligheid voor APC. In een linkage studie werd onderzocht of de factor VIII locus en de Von Willebrand factor (VWF) locus respectievelijk factor VIII en VWF spiegels beïnvloeden. VWF is het dragereiwit van factor VIII in plasma en er is een sterke correlatie tussen factor VIII en VWF spiegels. Na correctie voor de bekende invloed van VWF spiegels en leeftijd bleek dat de factor VIII locus de factor VIII spiegels niet beïnvloedt. Er waren wel aanwijzingen voor een effect van de VWF locus op VWF spiegels, na correctie van VWF spiegels voor het bekende effect van leeftijd en ABO bloedgroep.

C. Welke aspecten van de kennis over trombose worden met het onderzoek gediend?

Via dit project wordt een bijdrage geleverd aan het identificeren van (nieuwe) risicofactoren voor veneuze trombose en het vaststellen van de grootte van het risico dat met deze afwijkingen gepaard gaat. Met name richten wij ons op vormen van ongevoeligheid voor geactiveerd proteïne C waarvan nog niet precies bekend is wat de oorzaak is van deze ongevoeligheid. Eén van deze vormen van APC-resistentie komt voor bij 10% van alle trombose patiënten, en wordt in belangrijke mate veroorzaakt door hoge factor VIII spiegels: Van alle patiënten met een n-APC-SR < 0.84 (en die niet drager zijn van factor V Leiden), heeft 63% een hoge factor VIII spiegel (>150 iu/dl). Een hoge factor VIII spiegel is een frequent voorkomende risicofactor voor veneuze trombose.

D. Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

1. A reduced sensitivity for activated protein C in the absence of factor V Leiden increases the risk of venous thrombosis. M.C.H. de Visser, F.R. Rosendaal, R.M. Bertina. Blood 1999; 93: 1271 - 1276

2. The HR2 haplotype of factor V: Effects on factor V levels, normalized APC sensitivity ratios and the risk of venous thrombosis. M.C.H. de Visser, J.F. Guasch, P.W. Kamphuisen, H.L. Vos, F.R. Rosendaal, R.M. Bertina. Thrombosis and Haemostasis 2000; 83: 577-582

3. The HR2 haplotype of factor V is not associated with the risk of myocardial infarction
C.J.M. Doggen, M.C.H. de Visser, H.L. Vos, R.M. Bertina, V. Manger Cats, F.R. Rosendaal.
Thrombosis and Haemostasis 2000; 84: 815-818

4. Factor X levels, polymorphisms in the promoter region of factor X, and the risk of venous thrombosis. M.C.H. de Visser, S.R. Poort, H.L. Vos, F.R. Rosendaal, R.M. Bertina. Thrombosis and Haemostasis 2001; 85: 1011-7

Project 97.003 "Karakterisatie van bloedplaatjes exosomen"

A. Vraagstelling onderzoek

De bedoeling van het project is om bloedplaatjes exosomen te karakteriseren op eiwit- en lipide samenstelling, en vervolgens hun functie te testen in functionele assays, om zodoende inzicht te krijgen in de rol van bloedplaatjes exosomen in de hemostase en in de activatie van andere cellen.

B. Welke delen van de vraagstelling werden in het verslagjaar beantwoord?

Als bloedplaatjes na beschadiging van de vaatwand in contact komen met weefsel componenten worden ze direct geactiveerd. Aktivatie gaat gepaard met het uitstoten van adhesieve eiwitten uit intracellulaire organellen, een proces dat belangrijk is ter ondersteuning van de bloedstelping. Tevens worden kleine membraan vesicles (exosomen) uitgescheiden, waarvan de samenstelling en functie nog onbekend zijn. In dit onderzoek zijn de exosomen geïsoleerd en is de eiwit- en lipide samenstelling van deze populatie membranen bestudeerd. Gebleken is dat exosomen naast het tetraspan eiwit CD63, ook CD36 bevatten. Beide eiwitten zijn met name geassocieerd met de interne membranen van lysosomale- en sekretie granule, en komen dus vrij in het plasma na activatie. De hoeveelheid lipide van gezuiverde exosoom fracties bleek te laag om betrouwbare uitspraken te doen omtrent de lipide samenstelling. Uit bindings proeven met anti-CD63 antilichamen bleek echter wel dat CD63 gedeeltelijk resistent was voor detergent extractie, hetgeen een aanwijzing is voor verrijkte aanwezigheid van cholesterol en sphingolipiden. Door gebruik te maken van een toxine (perfringolysine O) dat specifiek aan cholesterol bindt, kon met behulp van immuno electronen microscopie cholesterol op exosomen worden aangetoond. Met betrekking tot de extracellulaire functie van exosomen kon worden vastgesteld dat in tegenstelling tot de membranen afkomstig van het celoppervlak, exosomen geen pro-thrombine en factor X binden (twee belangrijke stollings factoren). Exosomen waren ook niet in staat om de activatie van factor X te kunnen ondersteunen. Deze waarnemingen suggereren dus dat exosomen niet direct betrokken zijn bij de stolling en de vorming van trombine. De aanwezigheid van met name CD63 op exosomen is een mogelijke aanwijzing voor een rol in de signaal overdracht. Om dit te testen werden bloedplaatjes geïnkubeerd met exosomen en de phosphorylering van p38MAP kinase gemeten (een indicatie voor de pre-aktivatie van bloedplaatjes). De eerste experimenten tonen aan dat geïsoleerde exosomen in vitro p38MAP kinase kunnen activeren in bloedplaatjes, en dat deze activatie is te remmen met antilichamen tegen CD63. Verdere studies zullen moeten uitwijzen in hoeverre exosomen afkomstig van bloedplaatjes in staat zijn om andere cellen te activeren.

C. Welke aspecten van de kennis over trombose worden met het onderzoek gediend?

Plaatjes activatie en de release reactie zijn essentieel voor Hemostase en Trombose. In dit onderzoek werd aangetoond dat exosomen afkomstig van bloedplaatjes weinig stollings activiteit bezitten. De selectieve aanwezigheid van CD36 en CD63 op exosomen, is een mogelijke indicatie voor een rol in signaal overdracht. Uit de eerste in vitro experimenten is gebleken dat interactie van exosomen met bloedplaatjes kan leiden tot een overgevoeligheid van de bloedplaatjes voor verdere activatie (priming). Het begrijpen van de extracellulaire functie en de mogelijke interacties tussen exosomen en bloedplaatjes en of andere cellen zal bijdragen

in de algemene kennis over de rol die exosomen spelen in bloedplaatjes aktivatie en trombose.

D. Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

1. Heijnen, H. F.G., A. E. Schiel, R. Fijnheer, H. J. Geuze, and J. J. Sixma. 1999 Activated platelets release two types of membrane vesicles: microvesicles by surface shedding and exosomes derived from exocytosis of multivesicular bodies and a-granules. *Blood* 94: 3791-3799.

2. Denzer K., M. J. Kleijmeer, H. F. G. Heijnen, W. Stoorvogel, H. J. Geuze. 2000. Exosome: from internal vesicle of the multivesicular body to intercellular signaling device. *J Cell Sci.* 19:3365-3374.

Project 98.001 "Effects on hemostasis and fibrinolysis of prostagens used in second and third generation oral contraceptives"

A. Vraagstelling onderzoek

1. Hebben tweede en derde generatie progestagenen, in doses zoals ze normaal in anticonceptiva voorkomen, verschillende effecten op de hemostase en fibrinolyse?
2. Hebben tweede en derde generatie anticonceptiva verschillende effecten op de hemostase en fibrinolyse?
3. Worden deze effecten beïnvloed door de aan- of afwezigheid van de Factor V Leiden mutatie?

B. Welke delen van de vraagstelling werden in het verslagjaar beantwoord?

Nadat orale anticonceptiva ("de pil") in de jaren zestig op de markt waren geïntroduceerd werd al snel een verband gelegd tussen het gebruik van de pil en het optreden van arteriële en veneuze trombose. Epidemiologische onderzoeken in de jaren '60 en '70 toonden aan dat pilgebruiksters een hoger risico op hart- en vaatziekten hadden dan vrouwen die de pil niet gebruikten. Dit leidde enerzijds tot de ontwikkeling van andere typen oestrogenen en progestagenen, en anderzijds tot pillen met een lagere dosering. Eind 1995 en begin 1996 toonden vier epidemiologische onderzoeken echter aan dat het gebruik van zogenaamde derde generatie anticonceptiepillen (die de progestageen typen desogestrel of gestodene bevatten) leidt tot een hoger risico op veneuze trombose in vergelijking met pillen die het progestageen levonorgestrel of norgestimaat bevatten (tweede generatie anticonceptie pillen). Het mechanisme dat dit verhoogde risico bewerkstelligt is tot op heden nog niet volledig opgehelderd. Het doel van ons onderzoek was daarom meer inzicht te verkrijgen in de vasculaire effecten van tweede en derde generatie orale anticonceptiva.

C. Welke aspecten van de kennis over trombose worden met het onderzoek gediend?

Anticonceptiepillen veroorzaken belangrijke veranderingen in de concentratie van stollingsfactoren en de fysiologische remmers van dit systeem. Tot op heden was het niet mogelijk te bepalen of het verschil in risico op veneuze trombose tussen tweede en derde generatie pillen veroorzaakt wordt door de anti-oestrogene werking van levonorgestrel, die de door oestrogeen veroorzaakte veranderingen te niet doet, of dat desogestrel zelf een trombotische werking heeft, die leidt tot een verhoogd risico op veneuze trombose. Bovendien zijn sommige vrouwen wellicht gevoeliger voor veranderingen in het stollingsmechanisme als gevolg van pilgebruik, en hebben zij daarom misschien een verhoogd risico op trombose. Een voorbeeld hiervan zijn vrouwen met de factor V Leiden mutatie, een genetische afwijking in de stollingsfactor V. Bij deze afwijking inactiveert het geactiveerde proteïne C (een stollingsremmer) de geactiveerde stollingsfactor V in mindere mate dan normaal. Dit wordt ook wel APC-resistentie genoemd. Om meer inzicht te verkrijgen in het biologische mechanisme waardoor het gebruik van de pil leidt tot een verhoogd risico op veneuze trombose, hebben wij een dubbelblind, gerandomiseerd

onderzoek uitgevoerd bij zowel vrouwen met als zonder de factor V Leiden mutatie. Hierin hebben we de effecten onderzocht van tweede en derde generatie progestagenen, zowel alleen als in combinatie met ethinyloestradiol, op het anticoagulatie systeem, het procoagulatie systeem en de fibrinolyse.

We vonden dat desogestrel, vergeleken met levonorgestrel, de trombotische werking van ethinyloestradiol minder effectief reduceert. Vooral bij vrouwen met de factor V Leiden mutatie bleek dit het geval te zijn. Dit resulteerde in een verstoorde anticoagulatie en een verhoogde activiteit van het procoagulatie systeem, die niet werden gecompenseerd door een toegenomen fibrinolyse. Mogelijk verklaart dit het verhoogde risico op veneuze trombose bij het gebruik van derde generatie orale anticonceptiva, vergeleken met tweede generatie preparaten.

Naast de effecten op het stollingsmechanisme, hebben we ook de effecten van desogestrel en levonorgestrel, alleen en in combinatie met ethinyloestradiol, op het lipiden metabolisme bestudeerd bij zowel vrouwen met als zonder de factor V Leiden mutatie. Oorspronkelijk zijn derde generatie pillen ontwikkeld om de androgene bijwerkingen (zoals een ongunstig effect op het cholesterolgehalte), die optreden bij het gebruik van de oudere preparaten te verminderen. Men hoopte dat de verminderde androgene activiteit van derde generatie progestagenen, resulterend in een stijging van het HDL en een daling van het LDL gehalte, zou leiden tot een verminderd risico op arteriële trombose. Zoals eerdere onderzoeken reeds beschreven, toonde ook ons onderzoek aan dat beide progestagenen dezelfde androgene werking hebben wanneer ze alleen worden gebruikt. In combinatie met oestrogenen blijkt desogestrel de effecten van ethinyloestradiol echter minder tegen te werken dan levonorgestrel. Met deze resultaten bevestigden we dat derde generatie preparaten een gunstiger effect hebben op het lipiden profiel vergeleken met tweede generatie pillen. De veranderingen in de concentratie van vrijwel alle onderzochte lipiden parameters bleken bij het gebruik van de progestagenen tegengesteld te zijn aan die bij het gebruik van de combinatie preparaten.

Conclusie

Derde generatie anticonceptie pillen zijn ontwikkeld om de androgene bijwerkingen die optreden bij het gebruik van oudere preparaten, te verminderen. Dit blijkt echter te resulteren in veranderingen in het anticoagulatie en procoagulatie systeem die niet worden gecompenseerd door een verhoogde fibrinolyse. Dit is een mogelijke verklaring voor het verhoogde risico op veneuze trombose bij gebruik van deze pillen. Met name vrouwen met de factor V Leiden mutatie blijken een risicogroep te vormen. Derde generatie preparaten blijken wel een gunstiger effect te hebben op het lipiden profiel vergeleken met tweede generatie pillen.

D. Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

Kemmeren, J. M., Algra, A., Meijers, J. C., Bouma, B. N., and Grobbee, D. E. Effect of second and third generation oral contraceptives on the coagulation system in the absence or presence of the factor V Leiden mutation. Accepted by Thrombosis and Haemostasis.

Kemmeren, J. M., Algra, A., and Grobbee, D. E. Effect of second and third generation oral contraceptives on lipid metabolism in the absence or presence of the factor V Leiden mutation. *J Int Med* 2001;250:441-448.

Kemmeren, J. M., Algra, A., Meijers, J. C. M., Tans, G., Bouma, B. N., Curvers, J., Rosing, J., and Grobbee, D. E. Effect of second and third generation oral contraceptives on the protein C system in the absence or presence of the factor V Leiden mutation.

Submitted. Kemmeren JM, Algra A, Meijers JC, Bouma BN, Grobbee DE. Effect of second and third generation oral contraceptives on fibrinolysis in the absence or presence of the factor V Leiden mutation. Submitted.

Project 99.001 "Verlengde werkingsduur en effectiviteit van aan albumine en aan erythrocyten geconjugeerde heparine in experimentele trombose"

A. Vraagstelling onderzoek

1. Wat is het antistollende effect van heparine gekoppeld aan albumine of aan rode bloedcellen en hoe lang is de overlevingsduur in het lichaam?
2. Hoe is de biologische beschikbaarheid (opbrengst) en de verdeling over het lichaam van aan albumine dan wel aan rode bloedcellen geloppeld heparine?
3. Wat is het antitrombotische effect van heparine gekoppeld aan albumine of aan rode bloedcellen in een experimenteel trombosemodel in het konijn?

B. Welke delen van de vraagstelling werden in het verslagjaar beantwoord?

Het onderzoek had een voorgestelde duur van 1 jaar en binnen dit jaar werd inderdaad het gehele project afgesloten. Hierbij werden alle bovengenoemde vraagstellingen beantwoord (zie verder). Tevens werd binnen het verslagjaar het onderzoek uitgebreid door ook aan albumine gekoppeld RGD-peptide (een stof met een anti-bloedplaatjes aggregerende werking) te onderzoeken. Tevens werden de experimentele technieken, met name de experimentele modellen in muis en konijn, geoptimaliseerd en werden de gekoppelde heparine-verbindingen hierin onderzocht om een meer compleet beeld van de werking in het intacte lichaam te verkrijgen. In juli 2001 is mevr. dr. J. Dorffler-Melly o.a. op dit onderzoek gepromoveerd bij de Universiteit van Amsterdam. De bevindingen van haar onderzoek zijn in wetenschappelijke artikelen, deels gepubliceerd en deels aangeboden voor publicatie, samengevat.

C. Welke aspecten van de kennis over trombose worden met het onderzoek gediend?

Het huidige projectvoorstel had als (langere termijn) doel antithrombotische therapie te optimaliseren. Heparine is één van de meest gebruikte antithrombotische geneesmiddelen in de huidige klinische praktijk. In een aantal klinische situaties (bijvoorbeeld acute coronaire syndromen of recidiverende veneuze thrombo-embolie) kan het van belang zijn langdurige heparine toediening te bewerkstelligen. In het hier voorgestelde onderzoek werd de mogelijkheid onderzocht om heparine zodanig te modificeren dat een langduriger werkingsduur wordt verkregen.

Hiertoe werd heparine gekoppeld aan lichaamseigen stoffen (rode bloedcellen of het lichaamseiwit albumine) met een veel langere overleving dan op zichzelf toegediend heparine. In eerste instantie werd onderzocht of het antistollende effect van heparine behouden bleef na de koppeling aan rode bloedcellen of albumine. Hiertoe werden geschikte laboratoriumtesten ontwikkeld en aangepast. De resultaten van de experimenten met deze methodes toonden dat inderdaad na koppeling van heparine aan rode bloedcellen of aan albumine het antistollende effect (b.v. het effect op het verlengen van de stollingstijd of het direct gemeten heparine effect op stofactor X) intact was gebleven. Hierop werden deze stoffen gelabeld met een radioactieve stof en toegediend aan muis of konijn, om de levensduur in het lichaam en de verdeling van de gekoppelde cellen en eiwitten na te kunnen gaan. Het bleek dat de heparine-conjugaten een veel langere eliminatietijd hadden (dus langer aantoonbaar waren) dan niet-gekoppelde heparine. Wel was de circulatietijd korter dan niet-gekoppelde rode bloedcellen of albumine. Desalniettemin was de aanwezigheid in het lichaam met vele dagen verlengd ten opzichte van de 'kale' stof, hetgeen zoals hiervoor is vermeld, van groot voordeel kan zijn. De laatste serie experimenten dienden om het effect van de gekoppelde heparine preparaten op experimentele trombose te onderzoeken. Hiertoe werd de behandeling van kunstmatige trombose in konijnen en muizen onderzocht.

Uit deze experimenten bleek dat het antithrombotische effect van aan albumine of rode bloedcellen gekoppelde heparine net zo goed was als die van heparine alleen maar dat het effect inderdaad veel langer aanhield.

Al met al lijkt deze wijze om de levensduur van heparine te verlengen een goede methode. Of de klinische bruikbaarheid in mensen net zo goed is als de experimenten tot nu toe beloven, zal worden uitgezocht in aanvullende experimenten die binnenkort zullen aanvangen.

D. Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

1. Dorffler-Melly J, Schwarte LA, Ince C, Levi M: Application of mouse models of focal arterial and venous thrombosis. *Basic Res Cardiol* 2000;503-9.

2. Levi M, Dörffler J, Johnson GJ, Drouet L, Badimon L. Usefulness and limitations of animal models of venous thrombosis. *Thromb Haemostas* 2001; 86:1331-3.

3. Dörffler-Melly J, Friederich PhW, Bakhatiari K, de Bruin C, Müller M, Beer JH, Haeberli A, Büller HR, Levi M. Conjugates of heparin in experimental thrombosis. *Thromb Haemostas* 2001; 86: 1017 (abs). Dörffler-Melly J, de Jonge E, de Pont AC, Meijers JC, Büller HR, Levi M. Lack of systemic bioavailability after low molecular weight heparin in critically ill patients. *Lancet* 2002, in press.

4. Dorffler-Melly J. Novel antithrombotic strategies in thrombotic disease. Thesis, University of Amsterdam, 2001.

5. Dörffler-Melly J, Friederich PhW, Bakhatiari K, de Bruin C, Müller M, Beer JH, Haeberli A, Büller HR, Levi M. LMW heparin-coated erythrocytes attenuate thrombus growth and thrombin generation in a rabbit jugular vein thrombosis model. Submitted.

Project 99.002 "Definitie van optimale INR target bij de behandeling van veneuze tromboembolie"

A. Vraagstelling onderzoek

Wat is, gelet op zowel de incidentie van bloedingcomplicaties als recidief veneuze tromboembolieën, de optimale therapeutische INR range bij de lange termijn behandeling van een veneuze tromboembolie met vitamine K antagonist.

B. Welke delen van de vraagstelling werden in het verslagjaar beantwoord?

De resultaten van dit onderzoek laten zien dat voor patiënten zonder onderliggende maligniteit de kans op een recidief veneuze tromboembolie bijna 7 keer is verhoogd gedurende de eerste week na het meten van een INR lager dan 2.3. Bij patiënten met een onderliggende maligniteit wordt een dergelijke duidelijke risico verhogende grens niet gevonden. Ten aanzien van bloedingen is het helaas onmogelijk een dergelijke grens vast te stellen, aangezien de meeste bloedingen optraden bij patiënten met een maligniteit, over de gehele INR range, en slechts een beperkt aantal bij patiënten zonder maligniteit. Er kan geconcludeerd worden dat om recidieven te voorkomen gestreefd moet worden naar een ondergrens van de INR van tenminste 2.3 in plaats van de naar de huidige gehanteerde therapeutische range van 2.0 tot 3.0.

Bij patiënten met een veneuze tromboembolie en een INR onder de 2.3 dient gestreefd te worden naar een snelle verhoging van de INR, mogelijkerwijs dient aanvullende tijdelijke antistolling (b.v. heparine) overwogen te worden.

C. Welke aspecten van de kennis over trombose worden met het onderzoek gediend?

De resultaten van dit onderzoek leiden tot een betere definitie van therapeutische range

waarnaar gestreefd zou moet worden. Daarbij wordt een periode gedefinieerd gedurende welke patiënten een extra hoog risico lopen op een recidief, en gedurende welke extra preventieve maatregelen overwogen kunnen worden.

D. Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

Prins MH, Hutten BA, Büller HR. The relation between achieve INR and risk of recurrent venous thromboembolism. Objective evidence for the target theory [abstract]. Thromb Haemost 2001: Supplement July