

Wetenschappelijk jaarverslag

In het verslagjaar rondden de wetenschappers twee projecten af (zie 'afgeronde projecten'). Tien projecten werden nog uitgevoerd (zie 'lopende projecten'). In onderstaande eind- en voortgangsverslagen hebben de wetenschappers het resultaat of de voortgang van de gesubsidieerde projecten weergegeven.

Afgeronde projecten

Projectnummer: 2010-1

Titel project: The Role of the Protein C System in Renal Thrombotic Microangiopathy
Onderwerp: De ontwikkeling van een diermodel voor de aandoening APS
Projectleider: dr. J.J.T.H. Roelofs
Instelling: Academisch Medisch Centrum (AMC)

Vraagstelling van het onderzoek

Het antifosfolipidensyndroom (APS) is een aandoening die de bloedvaten aantast. De aandoening ontstaat als gevolg van de aanmaak van antistoffen die binden aan bepaalde eiwitten in het bloed. Deze eiwitten zijn gekoppeld aan fosfolipiden (vetachtige stoffen), vandaar de naam antifosfolipidensyndroom. Als de antistoffen binden aan de eiwitten in het bloed kunnen er gemakkelijk bloedstolsels ontstaan. Deze bloedstolsels belemmeren de doorbloeding van de organen waarin zij ontstaan. Hierdoor kunnen tal van lichamelijke klachten ontstaan, variërend van een herseninfarct tot diepe veneuze trombose en van niet genezende huidzweren tot hartklachten.

Ook de nieren kunnen bij mensen met APS aangetast raken door de vorming van bloedstolsels. Na verloop van tijd zijn de nieren dan niet meer in staat het bloed te ontdoen van afvalstoffen.

Het doel van dit onderzoeksproject is APS na te bootsen in proefdieren. Met behulp van deze proefdieren kan vervolgens de aandoening APS verder in detail worden bestudeerd. Met name de rol die het eiwit proteïne C speelt bij APS staat daarbij centraal.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

In het verslagjaar hebben de onderzoekers de in muizen opgewekte APS nader bestudeerd. De lichamelijke afwijkingen die bij de muizen ontstaan na het inspuiten van APS-antistoffen komen tot in detail overeen met die bij mensen. Deze muizen vormen daardoor een goed model om meer kennis op te doen over de ziekte.

Inspuiten van proteïne C blijkt de vorming van bloedstolsels in de nier bij muizen met APS te remmen en de lichamelijke afwijkingen die zijn ontstaan te herstellen. De onderzoekers gaan nu verder uitzoeken hoe proteïne C dit precies teweegbrengt.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Over de exacte manier waarop de antistoffen die het lichaam aanmaakt bij APS de stolling van het bloed beïnvloeden is nog veel onbekend. Het proefdiermodel voor APS dat in dit onderzoeksproject is opgezet, biedt de mogelijkheid veel fundamentele vragen over APS te onderzoeken en te beantwoorden. Dit kan mogelijk leiden tot effectieve behandelingen van de aandoening.

Literatuurpublicaties

Geen.

Projectnummer: 2010-2

Titel project: Identificatie van oncologie-patiënten met een verhoogd risico op veneuze trombo-embolie

Onderwerp: Opsporen van kankerpatiënten met een verhoogde kans op trombose

Projectleiders: dr. R. Nieuwland

Instelling: Academisch Medisch Centrum (AMC)

Vraagstelling van het onderzoek

Bij ongeveer 1 op de 10 mensen die worden behandeld wegens kanker ontstaat veneuze trombose, de spontane vorming van een bloedstolsel in een ader. Het trombo-serisico is afhankelijk van het type kanker, het stadium waarin de ziekte zich bevindt en de wijze van behandeling. Patiënten die worden behandeld wegens kanker krijgen momenteel niet standaard bloedverdunners toegediend om veneuze trombose te voorkomen omdat bij behandeling van alle patiënten geldt dat het risico op een spontane bloeding groter is dan het beschermende effect tegen trombose. De balans tussen voor- en nadelen van het toedienen van bloedverdunners kan verschuiven als het mogelijk is die patiënten op te sporen bij wie de kans op trombose is verhoogd. De bloedstolling wordt gestart door het eiwit weefselfactor. Weefselfactor is meetbaar als stollingsactiviteit in het bloed van sommige patiënten met een tumor, en dit weefselfactor is dan aanwezig op blaasjes die afkomstig kunnen zijn van de tumorcellen of bloedcellen. Dit project gaat na of een verhoogde stollingsactiviteit van weefselfactor in het bloed een voorspellende waarde heeft voor het ontstaan van trombose bij mensen die behandeld worden wegens kanker. Andere vragen zijn of de tumorcellen de bron zijn van weefselfactor en of het aanwezige weefselfactor daadwerkelijk is betrokken bij de verhoogde stollingsneiging van het bloed van de kankerpatiënten.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

De onderzoekers hebben bij 361 kankerpatiënten de stollingsactiviteit van weefselfactor gemeten met behulp van een stollingstest. Van deze patiënten kregen er 23 (6,4%) binnen een half jaar trombose. Van de patiënten bij wie de stollingstest een verhoogde uitslag gaf, kreeg 12% trombose, van de patiënten zonder verhoogde uitslag 3,5%.

De cellulaire herkomst van weefselfactor bij de patiënten blijkt verschillend. Bij de meeste patiënten was weefselfactor afkomstig van de tumorcellen, maar een ander deel vertoont kenmerken van bloedcellen. De hoeveelheid gemeten weefselfactor in het bloed toont weinig verband met de mate van stollingsactiviteit van het bloed.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Het onderzoek ondersteunt het idee dat het meten van de activiteit van weefselfactor met behulp van een stollingstest kan worden gebruikt om te voorspellen welke patiënten die behandeld worden wegens kanker een verhoogde kans hebben op trombose. Het onderzoek zal worden voortgezet tot gegevens bekend zijn van 600 patiënten om de voorspellende waarde van de stollingstest verder te onderbouwen. In een vervolgstudie zullen kankerpatiënten met een verhoogd risico op trombose preventief met bloedverdunnende medicijnen worden behandeld.

Slechts enkele patiënten hebben een meetbare hoeveelheid weefselfactoreiwit, dat van meerdere typen cellen afkomstig lijkt te zijn. Deze intrigerende bevinding wordt mogelijk veroorzaakt doordat blaasjes eiwitten onderling en met cellen uitwisselen.

Het meten van weefselfactor-afhankelijke stollingsactiviteit is veel gevoeliger dan het meten van de aanwezigheid van het eiwit weefselfactor. Omdat bij sommige patiënten wel weefselfactoreiwit maar geen weefselfactor-afhankelijke stollingsactiviteit meetbaar is, is dit weefselfactor mogelijk betrokken bij andere processen die een rol spelen bij tumorgroei, zoals het stimuleren van vaatnieuwvorming.

Literatuurpublicaties

Cellular origin and procoagulant activity of tissue factor-exposing microparticles in cancer patients. A. Kleinjan, R.J. Berckmans, A.N. Böing, A. Sturk, H.R. Büller, P.W. Kamphuisen, R. Nieuwland.

Poster; International Society of Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, Japan; juli 2011.

Cellular origin and procoagulant activity of tissue factor-exposing microparticles in cancer patients. A. Kleinjan, R.J. Berckmans, A.N. Böing, A. Sturk, H.R. Büller, P.W. Kamphuisen, R. Nieuwland.

Presentatie; International Conference on Thrombosis and Haemostasis Issues in Cancer, 20-22 april, Bergamo, Italië.

Lopende projecten

Projectnummer: 2008-3

Titel project: Vorming en verankering van Von Willebrand Factor-strengen op het oppervlak van endotheelcellen

Onderwerp: De vorming van een vangnet voor bloedplaatjes

Projectleiders: dr. J. Voorberg

Instelling: Stichting Sanquin

Vraagstelling van het onderzoek

Als een bloedvat beschadigd raakt, stroomt het bloed eruit. Om het bloedverlies zo klein mogelijk te houden, is het belangrijk dat het ontstane gat in de wand van het bloedvat snel wordt gedicht. Dit start met de vorming van een netwerk van kleverige draden over het gat. Het zo ontstane vangnet slibt vervolgens dicht met bloedplaatjes uit het langstromende bloed doordat de bloedplaatjes vastplakken aan de kleverige draden. Verantwoordelijk voor de vorming van deze draden zijn de cellen die de binnenkant van de bloedvaten bekleden, de endotheelcellen. Zodra er schade aan de bloedvatwand ontstaat lozen endotheelcellen het in de cellen opgeslagen eiwit 'Von Willebrand Factor' buiten de cel. De vrijgekomen Von Willebrand Factor-eiwitten klitten meteen als spaghetti aan elkaar en vormen een netwerk van lange, kleverige draden.

Het is van groot belang dat het vrijkomen van Von Willebrand Factor-eiwitten en de vorming van het kleverige netwerk hieruit op de juiste manier gebeurt. Verloopt het proces te gemakkelijk, dan ontstaan er klonters van bloedplaatjes in het bloed die met name in kleine bloedvaten de bloedstroom kunnen blokkeren (trombose). Verloopt het proces te moeizaam, dan ontstaat er bij iedere verwonding veel bloedverlies.

Doel van dit project was meer inzicht te krijgen in de details van de vorming van eiwitstrengen uit Von Willebrand Factor-eiwitten.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

In het verslagjaar hebben de onderzoekers bestudeerd hoe de eiwitstrengen aan elkaar vasthechten tot een kleverig netwerk. De aanwezigheid van het aminozuur cysteïne op bepaalde delen van de eiwitten – het D3-domein en het D4-domein – blijkt hierbij van belang. Onderzoek bij patiënten met de ziekte van Von Willebrand, een aandoening waarbij de vorming van de kleverige eiwitstrengen niet goed verloopt, ondersteunt deze waarneming. Bij deze patiënten hebben de onderzoekers veranderingen aangetroffen in het D3-domein van de Von Willebrand Factor-eiwitten. Als gevolg van deze veranderingen verloopt de vorming van de eiwitstrengen minder efficiënt.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Het is belangrijk dat de vorming van de kleverige strengen uit Von Willebrand Factor-eiwitten correct verloopt. Verloopt het proces niet snel en efficiënt genoeg, dan treedt er bij een verwonding onnodig veel bloedverlies op. Er zijn echter ook ziektebeelden waarbij het proces te snel en heftig verloopt. Dat leidt tot onnodige vorming van bloedklonters. Deze kunnen de doorstroming van het bloed in de kleine bloedvaten blokkeren (trombose). Meer kennis van de details van de vorming van kleverige strengen uit vrijgekomen Von Willebrand Factor-eiwitten kan leiden tot een betere behandeling bij of een betere preventie van trombose.

Literatuurpublicaties

Dragt B, Gijzen KA, de Laat HB and Voorberg J. (2010) Hämostaseologie 30: A65 (meeting abstract) Flow-induced changes in the distribution of Weibel-Palade bodies in endothelial cells. (Awarded with poster prize).

Dragt B, Dienava I, de Laat HB and Voorberg J. (2011) BIC-meeting, Bari. Multiple domains mediate lateral incorporation of VWF into ULVWF strings on the surface of endothelial cells.

Pos W, Sorvillo N, Luken BM, Kremer Hovinga JA and Voorberg J. (2011) Humoral response to ADAMTS13 in acquired TTP. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 9: 1285-1291.

Van Breevoort D, van Agtmaal EL, Dragt BS, Klein Gebbinck J, Dienava-Verdoold I, Horrevoets AJ, Valentijn KM, Eikenboom JC, Fernandez-Borja M, Meijer AB and Voorberg J. (2012) Proteomic screen identifies IGFBP7 as a novel component of endothelial cell-specific Weibel-Palade bodies. J. Proteome Res. In press.

Van Agtmaal EL, Bierings R, Dragt BS, Leyen TA, Fernandez-Borja M, Horrevoets AJ and Voorberg J (2012) The shear stress-induced transcription factor KLF2 affects dynamics and content of Weibel-Palade bodies. Submitted for publication.

Wang JW, Valentijn JA, Valentijn KM, Dragt BS, Voorberg J, Reitsma PH and Eikenboom J (2012) Formation of functional von Willebrand factor strings on non-endothelial cells. Submitted for publication.

Dragt BS, van Agtmaal EL, de Laat B and Voorberg J (2012) Effect of laminar shear stress on the distribution of Weibel-Palade bodies in endothelial cells. Submitted for publication.

Projectnummer: 2009-1

Titel project: New insights in the potential role of α 2-antiplasmin in arterial and venous thrombosis
Onderwerp: Variaties in het eiwit α 2-antiplasmine
Projectleider: dr. D.C. Rijken
Instelling: Erasmus Medisch Centrum Rotterdam (EMC)

Vraagstelling van het onderzoek

De stolling van het bloed komt tot stand via een subtiel samenspel tussen diverse eiwitten en andere stoffen in het bloed. Sommige van die stoffen bevorderen de vorming van bloedstolsels, andere werken de stolling juist tegen door het bloedstolsel weer op te lossen. Het eiwit α 2-antiplasmine (α 2AP) behoort tot de eerstgenoemde categorie: het bevordert de stolling van het bloed. α 2AP draagt bij aan de stolling van het bloed door te binden aan een reeds gevormd bloedstolsel en in dat stolsel de activiteit van het eiwit plasmine te remmen. Plasmine is een eiwit dat het stolsel afbreekt. In het bloed komt α 2AP in twee vormen voor. Ongeveer 30 procent van het α 2AP in het bloed bestaat uit het complete α 2AP-eiwit. De overige 70 procent bestaat uit α 2AP-eiwit dat een stukje van zijn voorkant mist. Deze korte vorm van α 2AP bindt sneller aan een bloedstolsel en beschermt het beter tegen afbraak door plasmine dan de lange vorm van α 2AP. Dat betekent dat de korte vorm van α 2AP de stolling van het bloed meer bevordert dan de lange vorm van het eiwit. Dit maakt de korte vorm - in theorie - een grotere risicofactor voor het ontstaan van arteriële en veneuze trombose dan de lange vorm van α 2AP.

Het doel van dit project is na te gaan in hoeverre de aanwezigheid van meer 'kort' α 2AP daadwerkelijk het risico op trombose vergroot. Daarbij wordt ook onderzocht in hoeverre de genetische variaties van het eiwit α 2AP die tussen mensen bestaan het risico op trombose beïnvloeden.

Ten slotte hopen de onderzoekers een antwoord te krijgen op de vraag waarom na de vorming van een stolsel niet alle aanwezige α 2AP aan het stolsel bindt, maar slechts 30 tot 40 procent.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

Het project is in het verslagjaar gestart met het opzetten van een meetmethode die het mogelijk maakt onderscheid te maken tussen de verschillende vormen van α 2AP in het bloedplasma. Deze meting wordt nu ingezet om de hoeveelheid van beide vormen van α 2AP te bepalen in plasma afkomstig van mensen met een arteriële trombose en plasma afkomstig van gezonde controles (allen deelnemers aan de ATTAC-studie).

Bij mensen ouder dan 55 jaar uit de Rotterdam Studie is een analyse gestart van de genetische variatie in α 2AP. Met behulp van zuivere preparaten van beide vormen van α 2AP bestuderen de onderzoekers de binding van α 2AP aan het stolsel in detail. Dit zal inzicht moeten geven in de vraag waarom niet alle moleculen α 2AP aan het stolsel binden.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Het onderzoek zal inzicht geven over de precieze rol die de verschillende varianten van α 2AP spelen in de stolling van het bloed. Daarbij zal ook duidelijk worden in hoeverre de (genetische) varianten een risicofactor zijn voor het ontstaan van trombose. Deze kennis over de stolling van het bloed kan bijdragen aan het ontwikkelen van nieuwe medicijnen die kunnen ingrijpen in de stolling van het bloed.

Literatuurpublicaties

S Uitte de Willige, FWG Leebeek, DC Rijken. Development of ELISAs to detect full-length and C-terminally intact alpha-2-antiplasmin. Journal of Thrombosis and Haemostasis 2012; 10: e10. Abstract for the congress of the International Society of Fibrinolysis and Proteolysis 2012, oral presentation.

Projectnummer: 2009-3

Titel project: Modulation of coagulation by glycoprotein Iba – a study using nanodisc technology
Onderwerp: Het eiwit glycoproteïne Iba als doelwit voor antistolling
Projectleider: prof. dr. J.A. Lisman
Instelling: Universitair Medisch Centrum Groningen (UMCG)

Vraagstelling van het onderzoek

Als een bloedvat beschadigd raakt, ontstaat op de plaats van de beschadiging een bloedstolsel dat het gat in de bloedvatwand afdicht. Dit bloedstolsel bestaat uit het eiwit fibrine en bloedplaatjes, een bepaald type cellen in het bloed. De bloedplaatjes dienen onder andere als 'ondergrond' waarop diverse stollingsfactoren vanuit een inactieve vorm worden omgezet in een actieve vorm. Doordat het oppervlak van de bloedplaatjes negatieve elektrische lading bevat, kunnen de stollingsfactoren goed hechten aan de bloedplaatjes (zoals plusjes blijven vastplakken op een – ouderwets - beeldscherm). Toch is waarschijnlijk niet alleen de negatieve elektrische lading van de bloedplaatjes verantwoordelijk voor het vastplakken van de stollingsfactoren op het oppervlak van de

plaatjes. Dit project onderzoekt in hoeverre ook het eiwit glycoproteïne Iba α , een eiwit op het oppervlak van de bloedplaatjes, betrokken is bij het laten vastplakken van de stollingsfactoren aan de bloedplaatjes.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

Om de rol van glycoproteïne Iba in het stollingsproces goed te kunnen bestuderen, is het nodig de effecten van glycoproteïne Iba op de stolling te kunnen onderscheiden van die van andere eiwitten op het oppervlak van de bloedplaatjes. Om dit te bereiken hebben de onderzoekers 'kunstmatige' bloedplaatjes gemaakt in de vorm van vetbolletjes met een negatieve elektrische lading. Aan die vetbolletjes kunnen zij naar believen een hoeveelheid glycoproteïne Iba toevoegen. Door het verloop van de bloedstolling te vergelijken in de aanwezigheid van vetbolletjes mét en vetbolletjes zónder glycoproteïne Iba kunnen de onderzoekers de precieze rol van glycoproteïne Iba nagaan.

Uit de experimenten is gebleken dat de negatieve lading op de bloedplaatjes weliswaar essentieel is voor het op gang komen van de stollingsreacties, maar dat de aanwezigheid van glycoproteïne Iba uiteindelijk het tempo van de stollingsreactie bepaalt. In aanwezigheid van glycoproteïne Iba verloopt de stolling sneller dan zonder glycoproteïne Iba.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Dit betekent dat glycoproteïne Iba een nieuw doelwit zou kunnen zijn van nieuwe medicijnen om de bloedstolling te beïnvloeden. Middelen die de werking van glycoproteïne Iba blokkeren, vertragen de bloedstolling en zijn dus – in theorie – te gebruiken als antistollingsmedicijnen.

Literatuurpublicaties

Geen

Projectnummer: 2009-4

Titel project: Effectiever antistollen door de remming van de intrinsieke route van de bloedstolling

Onderwerp: Op zoek naar betere antistollingsmedicijnen

Projectleider: prof. dr. J.C.M. Meijers

Instelling: Academisch Medisch Centrum (AMC)

Vraagstelling van het onderzoek

Wereldwijd gebruiken miljoenen mensen medicijnen die de stollingsneiging van het bloed verminderen

(ook wel antistollingsmiddelen of anticoagulantia genoemd). Zij doen dit omdat ze een verhoogde kans hebben op de spontane vorming van stolsels in het bloed (trombose). Deze medicijnen werken over het algemeen goed, mits ze in de juiste dosering worden gebruikt.

Het probleem daarbij is dat het doseren van deze medicijnen erg nauw luistert. Een beetje te veel medicijn leidt gemakkelijk tot spontane bloedingen, terwijl bij een beetje te weinig medicijn de kans op trombose snel oploopt. Vandaar de zoektocht naar medicijnen waarbij de dosering minder nauw luistert.

De stolling van het bloed komt tot stand door een geraffineerd samenspel tussen tal van eiwitten en andere stoffen in het bloed. Velen hiervan vormen – in theorie – een doelwit om mate en de snelheid van de stolling te beïnvloeden. Stollingsfactor XI is één van die eiwitten. Er zijn aanwijzingen dat het remmen van de activiteit van stollingsfactor XI het risico op bloedingen vermindert zonder dat de stolling hieronder te lijden heeft. Medicijnen die dit stollingseiwit als 'doelwit' hebben, bestaan nog niet. Dit project onderzoekt hoe de activiteit van stollingsfactor XI op een zo effectief en veilig mogelijke manier te beïnvloeden is.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

In het verslagjaar zijn de onderzoekers verder gegaan met het in kaart brengen van de eigenschappen van de verschillende delen van stollingsfactor XI. Tegen de verwachting in bleken sommige delen van het eiwit in stollingsproeven de activiteit van stollingsfactor XI slechts licht te remmen. Nader onderzoek wees uit dat dit waarschijnlijk te wijten was aan de testomstandigheden. In het verslagjaar is toestemming verkregen om bij muizen de werking te testen van diverse antistoffen tegen stollingsfactor XI. Deze antistoffen remmen de activiteit van stollingsfactor XI. Deze proeven zullen uitgevoerd worden in 2012.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Dit onderzoek kan bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe antistollingsmedicijnen die veiliger en daardoor effectiever zijn dan de reeds bestaande antistollingsmedicijnen. Daarnaast levert het onderzoek nieuwe, fundamentele kennis op over de biochemische interactie tussen diverse stollingsfactoren.

Literatuurpublicaties

Van Montfoort ML et al. Stollingsfactor XI als nieuw aangrijpingspunt voor antistolling. *Trombnibus* 2011;3:45

Van Montfoort ML et al. Inhibition of thrombin generation using antibodies against coagulation factor XI Abstract ISTH 2011

Projectnummer: 2010-3

Titel project: Role of SNARE protein genes in the regulation of von Willebrand Factor concentration and the pathogenesis of arterial thrombosis

Onderwerp: Genen die een rol spelen bij de aanmaak en activiteit van Von Willebrand factor

Projectleider: prof. Dr. F.W.G. Leebeek

Instelling: Erasmus Medisch Centrum (EMC)

Von Willebrand Factor (VWF) is een eiwit in het bloed dat een belangrijke rol speelt bij de stolling van het bloed. Bij mensen met een tekort aan VWF stolt het bloed niet goed. Hierdoor lopen zij kans op spontane bloedingen en veel bloedverlies bij een verwonding of operatie. Bij mensen met te veel of te sterk werkend VWF stolt het bloed juist te gemakkelijk. Dit kan leiden tot het ontstaan van bloedstolsels. Deze kunnen een bloedvat afsluiten waardoor een hart- of herseninfarct kan ontstaan. Recent zijn twee genen ontdekt die mogelijk een rol spelen bij de aanmaak en activiteit van VWF. Doel van dit project is meer duidelijkheid te krijgen over de relatie tussen deze genen en de risico's op het ontstaan van bloedingen of de vorming van bloedstolsels.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

De onderzoekers hebben variaties in de bewuste genen – respectievelijk STXBP5 en STX2 geheten – onderzocht bij gezonde mensen en bij mensen die een hart- of herseninfarct hebben gehad. Hierbij werd duidelijk dat bij mensen die een hart- of herseninfarct hebben gehad de twee genen betrokken zijn bij zowel de (overmatige) aanmaak als de (overmatige) activiteit van VWF.

De genetische variatie in STX2 is ook gekoppeld aan de kans een hart- of herseninfarct te krijgen.

Bij mensen met Von Willebrand-ziekte, bij wie er juist sprake is van een tekort aan (goed werkend) VWF, houdt de genetische variatie in STX2 ook verband met het hoeveelheid VWF in het bloed.

Een onderzoek onder 105 gezonde vrijwilligers die een uitputtende fietsproef ondergingen, wees uit dat sterke lichamelijk inspanning het gehalte aan VWF in het bloed met 55% doet stijgen. Variaties in STXBP5 en STX2 spelen hierbij echter geen rol. De toename aan VWF is afhankelijk van de maximale inspanning en van de conditie van de proefpersoon.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Aangezien een verhoogde hoeveelheid en/of activiteit van VWF kan leiden tot hart- en herseninfarcten is het belangrijk te weten hoe de aanmaak en activiteit van VWF precies worden geregeld. Dit onderzoek toont aan

dat variaties in de genen STXBP5 en STX2 van belang zijn voor de VWF-waarden in het bloed en dat variaties in STX2 verband houden met de kans op een hart- of herseninfarct. Hoe STXBP5 en STX2 precies de aanmaak van VWF beïnvloeden is nog niet duidelijk. Meer inzicht daarin kan in de toekomst mogelijk leiden tot preventie van hart- en herseninfarcten.

Literatuurpublicaties

Van Loon JE, Leebeek FWG, Deckers JW, Dippel DWJ, Poldermans D, Strachan DP, Tang W, O'Donnell ChJ, Smith NL, De Maat MPM. Effect of genetic variations in Syntaxin Binding Protein-5 and Syntaxin-2 on Von Willebrand Factor concentration and cardiovascular risk. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010;3(6):507-12.

Van Loon JE, Sanders YV, De Wee, EM, Kruijff MJHA, De Maat MPM, Leebeek FWG. Effect of genetic variation in STXBP5 and STX2 on von Willebrand Factor and bleeding phenotype in type 1 von Willebrand disease patients. *PlosOne*.2012;7:e40624..

Projectnummer: 2010-4

Titel project: A new perspective on delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage – the role of cerebral microthrombosis

Onderwerp: Een herseninfarct na een hersenbloeding

Projectleider: prof. dr. J.C.M. Meijers

Instelling: Academisch Medisch Centrum (AMC)

Vraagstelling van het onderzoek

Ieder jaar krijgen in Nederland ruim 1000 mensen een subarachnoïdale bloeding (SAB). Dit is een hersenbloeding die optreedt als een hersenslagader openbarst, meestal als gevolg van een zwakke, uitpuilende plek (aneurysma) in de hersenslagader. Bij mensen die de hersenbloeding hebben overleefd, bestaat een grote kans dat (een deel van) hun hersenen in de weken erna te kampen krijgt met zuurstofgebrek. De oorzaak van het ontstaan van deze zogeheten cerebrale ischemie of herseninfarct is onbekend. Mogelijk speelt het ontstaan van kleine bloedstolsels (microtrombose) in de bloedvaten van de hersenen hierbij een rol.

Het doel van dit project is de rol van microtrombose bij het ontstaan van cerebrale ischemie na een SAB nader te bestuderen aan de hand van proefdieren (muizen). Hierbij zal onder andere bekeken worden wat de bijdrage is van stollingsfactoren, ontstekingsfactoren en van de cellen aan de binnenkant van de bloedvaten (endothelcellen) aan het ontstaan van microtrombose na een SAB.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

Bij het opzetten van het proefdiermodel voor SAB stuiten de onderzoekers op tegenslag. Er trad een onverwacht hoge sterfte op onder de muizen. Het aanpassen van de manier waarop bij de muizen kunstmatig een SAB wordt veroorzaakt, bracht helaas geen oplossing voor de hoge sterfte. Een werkbezoek door een van de laboranten aan een laboratorium in Toronto, waar veel ervaring is met het opwekken van een SAB bij deze muizen, leverde inzicht in enkele 'kneepjes van het vak'. Gewapend met deze extra kennis – en extra apparatuur om aanvullende metingen te kunnen uitvoeren – gaan de onderzoekers nu in Nederland opnieuw van start met de metingen.

Intussen is ook ervaring opgedaan met het uitvoeren van MRI-metingen bij de proefdieren. Deze techniek zal worden ingezet om de gevolgen van de SAB in de hersenen in beeld te brengen.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Als er meer bekend is over de manier waarop microtrombose ontstaat na een SAB en in hoeverre microtrombose een rol speelt bij het ontstaan van cerebrale ischemie na een SAB, kan die mogelijk leiden tot het ontwikkelen van behandelingen die kunnen voorkomen dat mensen na het overleven van de SAB een herseninfarct krijgen.

Literatuurpublicaties

Geen

Projectnummer: 2010-5

Titel project: Age-adjusted D-dimer cut-off levels to rule out pulmonary embolism: a prospective outcome study
Onderwerp: Verbetering van de diagnostiek van longembolie bij ouderen
Projectleider: dr. P.W. Kamphuisen
Instelling: Academisch Medisch Centrum (AMC)

Vraagstelling van het onderzoek

Ieder jaar krijgen ongeveer 50.000 mensen in Nederland longembolie. Hierbij sluit een bloedstolsel een slagader in de longen af. Dit veroorzaakt pijn op de borst en kortademigheid. Longembolie kan in ernstige gevallen zelfs de dood tot gevolg hebben.

De behandeling bestaat uit een (langdurige) behandeling met stolseloplossende medicijnen. Aangezien deze behandeling risico's met zich meebrengt (verhoogde kans op bloedingen) is het nodig dat met zekerheid kan

worden vastgesteld dat de klachten veroorzaakt worden door longembolie.

Dit gebeurt momenteel aan de hand van de aanwezigheid van risicofactoren bij de patiënt en de aanwezigheid van zogeheten D-dimeren in het bloed. D-dimeren zijn afbraakproducten van fibrine, een belangrijk eiwit in gestold bloed. Ligt de hoeveelheid gemeten D-dimeren beneden een bepaalde waarde (500 microgram per liter) en zijn er geen risicofactoren bij de patiënt aanwezig, dan is dit reden om ervan uit te gaan dat er geen sprake is van longembolie. De klachten zijn dan met grote waarschijnlijkheid het gevolg van een andere aandoening. Kan longembolie niet worden uitgesloten op grond van de risicofactoren en de D-dimeermeting, dan volgt nader onderzoek (CT-scan).

Bij gezonde ouderen is de D-dimeerwaarde vaak verhoogd, ook als er geen sprake is van longembolie. In de praktijk betekent dit dat bij het hanteren van de normale drempelwaarde voor D-dimeer (500 microgram per liter) 90% van de ouderen met verdenking op longembolie wordt doorgestuurd voor nader onderzoek. Terwijl achteraf maar 20% daadwerkelijk longembolie blijkt te hebben.

Doel van dit onderzoek is na te gaan of bij het doorverwijzen van ouderen met verdenking op longembolie niet beter een andere, leeftijdsafhankelijke drempelwaarde voor D-dimeer gehanteerd kan worden. Uit eerder onderzoek blijkt het hanteren van een drempelwaarde op basis van 10 x de leeftijd (voor een 60-jarige dus 600 microgram per liter) veel meer patiënten terecht niet werden doorgestuurd voor nader onderzoek.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

In dit project wordt het effect van het hanteren van een leeftijdsafhankelijke drempelwaarde voor D-dimeer op grote schaal onderzocht, namelijk bij 2400 patiënten in 11 ziekenhuizen (6 Nederlandse, 2 Belgische, 2 Franse en 1 Zwitsers). Het onderzoek is gestart in augustus 2010. In het verslagjaar waren in totaal ruim 1800 patiënten opgenomen in het onderzoek. Voorlopige resultaten wijzen uit dat het hanteren van de leeftijdsafhankelijke drempelwaarde voor D-dimeer in Nederland circa 100 CT-scans per jaar kan besparen.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Als het hanteren van de leeftijdsafhankelijke drempelwaarde voor D-dimeer veilig en betrouwbaar is (geen patiënten ten onrechte niet doorverwezen voor verder onderzoek) kan de diagnostiek van longembolie bij ouderen veel efficiënter verlopen. Minder onterechte

doorverwijzingen betekent voor de patiënten minder ongemak door aanvullende onderzoek. Bovendien spaart dit kosten uit.

Literatuurpublicaties

J. van Es, V.E.A. Gerdes, P.W. Kamphuisen.
De Resist studie: behandeling van een veneuze trombo-embolie onder antistollingstherapie.
Ned. Tijdschr v Hematologie. 2012 Jan

J. van Es, I.C.M. Mos, R.A. Douma, M.V. Huisman, P.W. Kamphuisen. Performance of four clinical decision rules in patients with malignancy and suspected pulmonary embolism, *J Thromb Haemost* 2011 Dec 7.

E.S. Eerenberg, J. van Es, M.K. Sijpkens MK, H.R. Büller, P.W. Kamphuisen. New anticoagulants: Moving on from scientific results to clinical implementation. *Ann Med.* 2011 Dec;43(8):606-16.

J. van Es, I.C.M. Mos, R.A. Douma, P. Erkens, M. Durian, T. Nizet, A. van Houten, H. Hofstee, H. Ten Cate, E. Ullmann, H.R. Büller, M.V. Huisman, P.W. Kamphuisen. The combination of four different clinical decision rules and an age-adjusted D-dimer cut-off increases the number of patients in whom acute pulmonary embolism can safely be excluded. *Thromb Haemost.* 2011 Nov 10;107(1).

J. van Es, E.S. Eerenberg, P.W. Kamphuisen, H.R. Büller. How to prevent, treat, and overcome current clinical challenges of VTE. *J Thromb Haemost.* 2011 Jul; 9 Suppl 1:265-74. J. van Es, R.A. Douma, V.E.A. Gerdes, P.W. Kamphuisen, H.R. Büller Acute pulmonary embolism. Part 2: treatment. *Nat Rev Cardiol.* 2010 Nov; 7 (11):613-22. J. van Es, E.S. Eerenberg, P.W. Kamphuisen, H.R. Büller.

How to prevent, treat, and overcome current clinical challenges of VTE. *J Thromb Haemost.* 2011 Jul; 9 Suppl 1:265-74.

CTPA bij mogelijke longembolie. NTVG 2012.

Vraagstelling van het onderzoek

De stolling van het bloed beschermt mens en dier tegen overmatig bloedverlies bij verwonding. Stolling van het bloed vindt plaats via een cascade van biochemische reacties waarbij diverse eiwitten en andere stoffen betrokken zijn. Veel van deze reacties kunnen alleen verlopen als de betrokken eiwitten contact maken met een negatief geladen oppervlak, zoals het oppervlak van de bloedplaatjes. Hoe dit negatieve oppervlak in detail bijdraagt aan het activeren van de reacties die tot stolling van het bloed leiden, is onbekend. Doel van dit project is hierin meer inzicht te krijgen.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

Voor het beantwoorden van de onderzoeksvraag maken de onderzoekers gebruik van een speciaal eiwit afkomstig uit de Australische 'common brown snake'. Deze slang maakt gebruik van een gif dat sterke overeenkomsten vertoont met de menselijke stollingsfactor V, een van de eiwitten in de stollingscascade. Een belangrijk verschil is echter dat het 'slangenfactor V' geen negatief geladen oppervlak nodig heeft om geactiveerd te raken.

De onderzoekers gaan nu diverse vormen van menselijk factor V maken waarin telkens andere delen vervangen worden door stukjes 'slangenfactor V'. Dit zal informatie geven over hoe het negatief geladen celoppervlak de activering en functie van factor V beïnvloedt en welke stukjes van het factor V-eiwit hierbij betrokken zijn.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Ofschoon inmiddels veel bekend is over de verschillende componenten van de cascade aan reacties die leidt tot stolling van het bloed, zijn veel details van het proces nog onduidelijk. Het gebrek aan deze detailkennis maakt dat afwijkingen in de stolling, zoals trombose, nog niet goed begrepen worden. Dat maakt op zijn beurt effectieve behandeling of preventie van trombose moeilijk. Meer kennis van de rol die activering van factor V door contact met een negatief oppervlak speelt in de stollingscascade wijst mogelijk de weg naar nieuwe vormen van therapie om trombose te behandelen of te voorkomen.

Literatuurpublicaties

Geen

Projectnummer: 2011-1

Titel project: Molecular regulation of blood coagulation factor V: from snakes to humans

Onderwerp: Lessen uit slangengif

Projectleider: dr. M.H.A. Bos en dr. P.H. Reitsma

Instelling: Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC)

Projectnummer: 2011-2

Titel project: Modulation of thrombin generation and activity by total fibrinogen and fibrinogen γ'

Onderwerp: Hoe fibrinogeen γ' de activiteit van trombine in toom houdt

Projectleider: dr. E. Castoldi

Instelling: Universiteit Maastricht

Vraagstelling van het onderzoek

Bij de vorming van een bloedstolsel speelt de vorming van fibrinedraden een belangrijke rol. Deze draden vormen het netwerk dat stevigheid verleent aan de bloedprop die ontstaat als bloedplaatjes aan elkaar hechten op de plaats van een verwonding.

De fibrinedraden ontstaan als het eiwit fibrinogeen wordt omgezet in fibrine. Deze omzetting gebeurt met behulp van het enzym trombine.

Fibrinogeen komt in twee vormen voor in het bloed: fibrinogeen γA en fibrinogeen γ' . De γ' -vorm, goed voor ongeveer 10 procent van het fibrinogeen in het bloed, wordt niet alleen door trombine omgezet in fibrine, het oefent zelf een remmende werking uit op de activiteit van trombine. Het houdt de activiteit van trombine als het ware enigszins in toom, hetgeen al te sterke fibrinevorming tegengaat.

Die functie van fibrinogeen γ' wordt goed zichtbaar bij mensen die als gevolg van een erfelijke afwijking – FGG H2 geheten - weinig fibrinogeen γ' maken. Zij hebben een verhoogde kans op trombose.

Hoe fibrinogeen γ' precies de activiteit van trombine onderdrukt is niet duidelijk. Doel van dit project is hier meer zicht op te krijgen.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

Om de werking van fibrinogeen γ' in detail te kunnen bestuderen, hebben de onderzoekers een test opgezet. Deze trombinegeneratietest meet de vorming en activiteit van trombine in de tijd. De eerste experimenten laten zien dat het toevoegen van het deel van fibrinogeen γ' dat bindt aan trombine de vorming en activiteit van trombine onderdrukt. Hoe meer fibrinogeen γ' wordt toegevoegd aan de test, des te minder is trombine in staat het bloed te stollen.

Fibrinogeen γ' remt de stolling door te binden aan exosite II, één van de twee plaatsen waarmee het trombine-eiwit interacties kan aangaan met andere componenten van de bloedstolling.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Het onderzoek levert ondersteuning voor het idee dat fibrinogeen γ' de stolling van het bloed onderdrukt door

op een specifieke plaats te binden aan trombine en zo de stollingsbevorderende werking van trombine te remmen. Dit verklaart waarom mensen met weinig fibrinogeen γ' (patiënten met FGG H2) een verhoogde kans hebben op trombose.

Mogelijk kan fibrinogeen γ' de basis vormen voor nieuwe medicijnen die de stolling van het bloed tegengaan.

Literatuurpublicaties

Omarova F, Uitte de Willige S, Dirven RJ, Ariëns RAS, Rosing J, Bertina RM, Castoldi E. Total fibrinogen and fibrinogen γ' modulate thrombin generation in plasma. Mondelinge presentatie bij de "XXII International Fibrinogen Workshop". Brighton (UK), 4-6 juli 2012

Projectnummer: 2011-3

Titel project: Magnetic Resonance Direct Thrombus Imaging (MRDTI) bij patiënten met klinische verdachte diepe veneuze trombose van de arm

Onderwerp: Bloedprop opsporen met MRI

Projectleider: dr. M.V. Huisman

Instelling: Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC)

Vraagstelling van het onderzoek

Er bestaan verschillende manieren om de aanwezigheid van een bloedstolsel (trombus) in een bloedvat in een arm aan te tonen. Zeer nauwkeurig is de flebografie, een techniek waarbij contrastvloeistof in de bloedvaten van de arm wordt ingespoten waarna een röntgenfoto duidelijk moet maken of er een bloedprop in een van de vaten zit. Nadeel van deze techniek is dat de patiënt wordt blootgesteld aan röntgenstraling en dat er een allergie kan ontstaan tegen de contrastvloeistof.

Een minder belastende techniek is echografie, beeldvorming met behulp van geluidsgolven. Deze methode is echter minder nauwkeurig; met name een trombus in een bloedvat onder het sleutelbeen is met echografie moeilijk op te sporen.

Doel van dit project is na te gaan wat de klinische waarde is van MRI bij het opsporen van trombose in de arm. Hiervoor is een methodiek, Magnetic Resonance Direct Thrombus Imaging ontwikkeld.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

De eerste maanden van het project zijn besteed om het onderzoek te starten in het LUMC en het Ottawa

Hospital in Canada. In het laatstgenoemde ziekenhuis is veel tijd geïnvesteerd in het opzetten en testen van de MRDTI, aangezien deze techniek daar nog niet voor handen was. Bij twee patiënten is de techniek inmiddels met succes toegepast.

In Nederland hebben twee ziekenhuizen (HAGA ziekenhuis, VUmc) aanvragen gedaan bij hun medisch ethische commissie om aan te mogen sluiten bij het onderzoek.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?

Een betrouwbare en patiëntvriendelijke methode om met hoge mate van zekerheid de aanwezigheid van een stolsel in een bloedvat van de arm aan te tonen, kan bijdragen aan een betere diagnostiek van dit klinisch belangrijke probleem.

Literatuurpublicaties

Geen