
Wetenschappelijk Jaarverslag 2016



Targeting of extracellular histones by rationally engineered proteases to prevent and treat immunothrombotic disease

Vraagstelling van het onderzoek

Histonen zijn eiwitten die zich in de celkern bevinden. Daar dienen ze als 'klosjes' waar omheen het DNA is opgerold. Als histonen buiten de cel terecht komen, bijvoorbeeld na beschadiging van de cel, kunnen ze aanleiding geven tot diverse klachten waaronder trombose. Deze vorm van trombose heet ook wel immuno-trombose.

Het antistollingseiwit APC (geactiveerd proteïne C) is in staat de histoneiwitten onschadelijk te maken door ze in stukken te knippen. Het doel van dit project is meer inzicht te krijgen in de manier waarop APC de histoneiwitten in stukken knipt, welke factoren van invloed zijn op dit knipproces en wat de effecten ervan zijn op het vermogen van de histonen om trombose te veroorzaken.

Het onderzoek spitst zich toe op de volgende vragen:

- Op welke plaatsen knipt APC de histonen (met name de histonen H3 en H4)?
- Welke factoren zijn van invloed op het knipproces?
- Hoe verandert het knippen de trombose-bevorderende eigenschappen van de histonen?
- Is het mogelijk om APC varianten te maken die specifiek en optimaal de histonen H3 en H4 kunnen splitsen?

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

Het onderzoek is pas kort geleden gestart. Er zijn nog geen onderzoeksvragen beantwoord.

Voortgangverslag

Projectnr

2016-01

Projectleider

Dr. Gerry A.F. Nicolaes

Omschrijving

De rol van histon eiwitten bij het ontstaan van trombose

Instelling

Universiteit Maastricht



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

Het onderzoek zal leiden tot meer inzicht in de precieze rol van histoneiwitten (met name H3 en H4) bij het ontstaan van immuno-trombose en een meer gedetailleerd inzicht opleveren van de manier waarop APC de histonen knipt en wat de gevolgen hiervan zijn voor de trombose-bevorderende eigenschappen van de histonen.

Op grond van deze kennis is het wellicht mogelijk nieuwe varianten te maken van APC die in staat zijn de histoneiwitten zeer effectief te knippen en zo trombose te voorkomen.

Leiden Thrombosis Risk Prediction after plaster cast immobilization and after knee arthroscopy (L-TRiP(cast) and L-TRiP(scopy) studies)

Vraagstelling van het onderzoek

Mensen bij wie het onderbeen enige tijd in het gips moet of die een kijkoperatie van de knie hebben ondergaan, lopen een verhoogd risico op veneuze trombose doordat zij enige tijd weinig beweeglijk zijn. In twee eerdere studies – de POT-CAST en POT-KAST studie – hebben de Leidse onderzoekers aangetoond dat het niet zinvol is al deze mensen uit voorzorg te behandelen met antistollingsmedicijnen.

In dit onderzoek willen de onderzoekers nagaan of het mogelijk is die patiënten te identificeren die mogelijk wel baat hebben bij een behandeling met antistollingsmedicijnen doordat zij op voorhand al een verhoogd risico hebben op trombose. Dit willen de onderzoekers in dit project op twee manieren nagaan. Allereerst gebruiken zij de gegevens van de POT-CAST en POT-KAST studie om na te gaan in hoeverre de kans op trombose na de ingreep bij individuele patiënten betrouwbaar is te voorspellen met behulp van factoren als leeftijd, gebruik van een anticonceptiepil, zwangerschap, een hoge Body Mass Index (BMI), of een familielid met trombose. Daarnaast onderzoeken zij of de kans op trombose bij deze patiënten is te voorspellen op basis van de aanwezigheid van bepaalde (stollingsbevorderende) stoffen in het bloed.

Voortgangsverslag

Projectnr	Projectleider
2016-02	Prof. dr. Suzanne Cannegieter
Omschrijving	Instelling
Meer maatwerk in voorspellen tromboserisico na knieoperatie of onderbeen in gips	LUMC

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

De onderzoekers hebben kunnen vaststellen dat het bij patiënten met een onderbeen in het gips goed mogelijk is de kans op trombose te voorspellen aan de hand van leeftijd, gebruik van een anticonceptiepil, zwangerschap, een hoge Body Mass Index (BMI) en een familielid met trombose. Bij patiënten die een kijkoperatie van de knie hadden ondergaan, is de voorspelling veel beter betrouwbaar als ook een stollingsfactor aan de berekening wordt toegevoegd. Dat betekent dat voor optimale voorspelling bij deze patiëntengroep een bloedafname noodzakelijk is.

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

Het huidige project maakt het mogelijk onder mensen bij wie een onderbeen enige tijd in het gips moet of die een kijkoperatie aan de knie moeten ondergaan, op individuele basis te voorspellen wie van hen gebaat is bij een behandeling met antistollingsmedicijnen om trombose te voorkomen. Dit maakt het mogelijk meer maatwerk te leveren in de medische zorg voor deze patiënten.

Literatuurpublicaties

- Nemeth B, et al. Individual risk assessment for venous thrombosis after lower leg cast immobilisation and knee arthroscopy, a post-hoc validation study in the POT-(K)CAST trial. (artikel in voorbereiding).



The H is for hemostasis: how factor H complements to ADAMTS13 in regulating von Willebrand factor-mediated thrombus formation under flow

Vraagstelling van het onderzoek

Trombotische microangiopathie is een verzamelnaam voor verschillende ziektebeelden met als gezamenlijk kenmerk dat er sprake is van zogeheten microvasculaire trombose. Dat is het ontstaan van bloedstolsels in de kleine bloedvaten van organen. Als gevolg van die stolsels krijgen de organen, bijvoorbeeld nieren, hart of hersenen, te weinig zuurstof waardoor ze niet meer goed werken of zelfs kunnen afsterven. Dit project richt zich op twee vormen van trombotische microangiopathie: trombotische trombocytopenische purpura (TTP) en atypisch hemolytisch uremisch syndroom (aHUS).

Bekend is dat bij het ontstaan van TTP een tekort aan het eiwit ADAMTS13 een rol speelt. Dit eiwit knipt het stollingsbevorderende von Willebrand factor in kleinere stukken en remt zo de stolling. Bij het ontstaan van aHUS speelt onder andere de aanwezigheid van een variant van complement factor H – een bestanddeel van het afweersysteem – een rol. Recent onderzoek heeft aangetoond dat factor H ook aan von Willebrand factor bindt. De twee aandoeningen zijn daardoor mogelijk meer aan elkaar verwant dan tot nu toe werd gedacht.

Het doel van dit project is om na te gaan hoe de binding tussen factor H en von Willebrand factor precies in zijn werk gaat en welke gevolgen dat heeft voor de stolling.

Voortgangsverslag

Projectnr 2016-03	Projectleiders Dr. Brenda Luken en dr. Diana Wouters
Omschrijving De rol van complement factor H bij het ontstaan van trombotische microangiopathie	Instelling Sanquin Research en Academisch Medisch Centrum

Een tweede doel van het project is om in een laboratorium opstelling na te gaan of (experimentele) medicijnen die in ontwikkeling zijn voor aHUS ook effectief zijn om stolling in TTP bloed te voorkomen en vice versa.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

Het onderzoek is in 2017 gestart. De onderzoekers hebben de eerste maanden gebruikt om uit bloedplasma voldoende zuiver factor H te isoleren om alle geplande experimenten mee uit te voeren. Daarnaast hebben zij een laboratorium opstelling ontwikkeld om de binding van bloedplaatjes aan von Willebrand factor in stromend bloed te bestuderen. Dit maakt het mogelijk de invloed van factor H op deze binding na te gaan onder zo ‘natuurlijk’ mogelijke omstandigheden.

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

De huidige kennis over het ontstaan van trombotische microangiopathie is nog verre van volledig. Ook zijn er tot nu toe slechts beperkt effectieve behandelmogelijkheden voor patiënten met een trombotische microangiopathie beschikbaar. Het verkrijgen van meer inzicht in de mechanismen die leiden tot trombotische microangiopathie kan aanknopingspunten opleveren voor de ontwikkeling van nieuwe en meer effectieve vormen van behandeling voor de diverse vormen van trombotische microangiopathie.



It takes two to tango: Neutrophil-extracellular traps and complement activation in the pathogenesis of thrombosis in autoimmune hemolytic anemia

Vraagstelling van het onderzoek

Auto-immuun hemolytische anemie is een zeldzame aandoening waarbij het lichaam afweerstoffen vormt tegen de rode bloedcellen. Dit leidt tot afbraak van de rode bloedcellen en daaruit voortkomende bloedarmoede. Bij een deel van de patiënten met auto-immuun hemolytische anemie (AIHA) ontstaat ook trombose. Onduidelijk is waarom sommige AIHA-patiënten wel en andere geen trombose ontwikkelen. Er zijn inmiddels aanwijzingen dat bij het ontstaan van trombose bij AIHA zowel de vorming van NETs als complement-eiwitten een rol spelen. NETs zijn plakkerige draden die worden uitgescheiden door neutrofielen, een bepaald type afweercellen. Complement-eiwitten zijn eiwitten die betrokken zijn bij afweerreacties tegen bacteriën, parasieten en virussen. Doel van dit project is na te gaan hoe NETs en complement-eiwitten precies betrokken zijn bij het ontstaan van trombose bij AIHA en hoe deze twee 'verdachten' hierbij precies samenwerken.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

Het project is op 1 april 2017 gestart. Er zijn nog geen resultaten.

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

Meer kennis over de manier waarop trombose bij AIHA ontstaat en meer inzicht in de details van de samenwerking tussen NETs en complement-eiwitten

Voortgangverslag

Projectnr

2016-04

Projectleider

Prof. dr. Sacha Zeerleder

Omschrijving

De samenwerking tussen NETs en complement-eiwitten bij het ontstaan van trombose bij mensen met een auto-immuun hemolytische anemie

Instelling

AMC



hierbij kan mogelijk de weg wijzen naar strategieën om trombose bij AIHA te voorkomen en/of beter te behandelen.

Regulating autophagy: a novel antithrombotic strategy?

Vraagstelling van het onderzoek

Bloedstelping is afhankelijk van een subtiële balans tussen factoren die de stolling bevorderen en factoren die de stolling tegengaan. Kort geleden zijn nieuwe spelers ontdekt die deze balans beïnvloeden. Het betreft een groep eiwitten die bekend zijn vanwege hun rol bij de autofagie. Autofagie is het proces waarmee iedere cel overtollige of beschadigde celbestanddelen opruimt. Het remmen van het proces van autofagie blijkt ook het vrijkomen van het stollingbevorderende eiwit 'von willebrand factor' in bloedvaten te verminderen. Bovendien leidt remming van de autofagie tot minder activiteit van de bloedplaatjes, de cellen die een belangrijke rol spelen bij het ontstaan van een bloedstolsel.

Dit onderzoek heeft als doel na te gaan of het remmen van de autofagie in het bloed mogelijk een veilige manier is om trombose te behandelen of te voorkomen. Hiervoor moet allereerst duidelijk worden via welke mechanismen het remmen van de autofagie de bloedstelping beïnvloedt.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

De onderzoekers hebben met drie verschillende testen aangetoond dat remmen van de autofagie leidt tot een afname van de activiteit van de bloedplaatjes. Daarbij is duidelijk geworden dat de remming van de autofagie voorkomt dat in de bloedplaatjes bepaalde stoffen vrijkomen die in de cel zijn opgeslagen in speciale blaasjes. Het vrijkomen van deze stoffen uit de blaasjes is nodig om de bloedplaatjes te activeren. De eerste resultaten van proeven met stoffen die de autofagie remmen laten (in proefdieren) zien dat deze

Voortgangverslag

Projectnr

2015-01

Projectleider

Prof. dr. Ton Lisman

Omschrijving

Trombose tegengaan door autofagie te remmen

Instelling

UMC Groningen



stoffen de ernst van longembolie verminderen. Verder onderzoek moet meer inzicht geven in het mechanisme wat hieraan ten grondslag ligt en in de veiligheid van deze behandeling.

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

Kennis over de manier waarop het remmen van autofagie bijdraagt aan het voorkomen en/of behandelen van trombose kan leiden tot een nieuwe vorm van behandeling en/of preventie van trombose. Dat von willebrand factor de schakel lijkt te zijn tussen autofagie en bloedstelping is interessant aangezien patiënten die (van nature) te weinig von willebrand factor aanmaken slechts een licht verhoogde bloedingsneiging hebben. Hiermee komt de 'heilige graal' van het trombose onderzoek in zicht: het vinden van een medicijn dat effectief is tegen trombose en geen of een kleine kans op spontane bloedingen oplevert.

Uncovering the role of FXa-dependent FV activation in thrombosis or bleeding

Vraagstelling van het onderzoek

Bij de vorming van een bloedstolsel speelt het stollingseiwit factor V een belangrijke rol. Factor V zorgt er samen met factor Xa voor dat eiwit protrombine wordt omgezet in het eiwit trombine. Trombine zorgt vervolgens voor de vorming van fibrinedraden (die het skelet van de bloedprop vormen) en voor activering van de bloedplaatjes, de cellen die in het netwerk van fibrinedraden ophopen.

Voordat factor V zijn werk kan doen, moet het in een actieve vorm worden omgezet. Tot nu toe is niet duidelijk wat de precieze rol is van factor Xa bij de activering van factor V. Ook is niet duidelijk of het contact tussen factor Xa en factor V en de daarop volgende vorming van trombine bij mensen met trombose anders verloopt dan bij gezonde personen.

Het doel van dit project is hierover meer duidelijkheid te krijgen. Daarvoor gaan de onderzoekers allereerst in detail uitzoeken hoe factor Xa en factor V contact met elkaar maken en hoe dit leidt tot de activering van factor V. Dit doen de onderzoekers met behulp van een eiwit dat recent is ontdekt in teken. Dit eiwit, TIX-5 geheten, blokkeert het contact tussen factor Xa en factor V en daarmee de vorming van trombine en de stolling van het bloed.

Met behulp van TIX-5 willen de onderzoekers een goede test opzetten die meet in welke mate de factor Xa-activering van factor V bijdraagt aan de aanmaak van trombine in gezonde personen en of dit anders is bij trombosepatiënten.

Voortgangsverslag

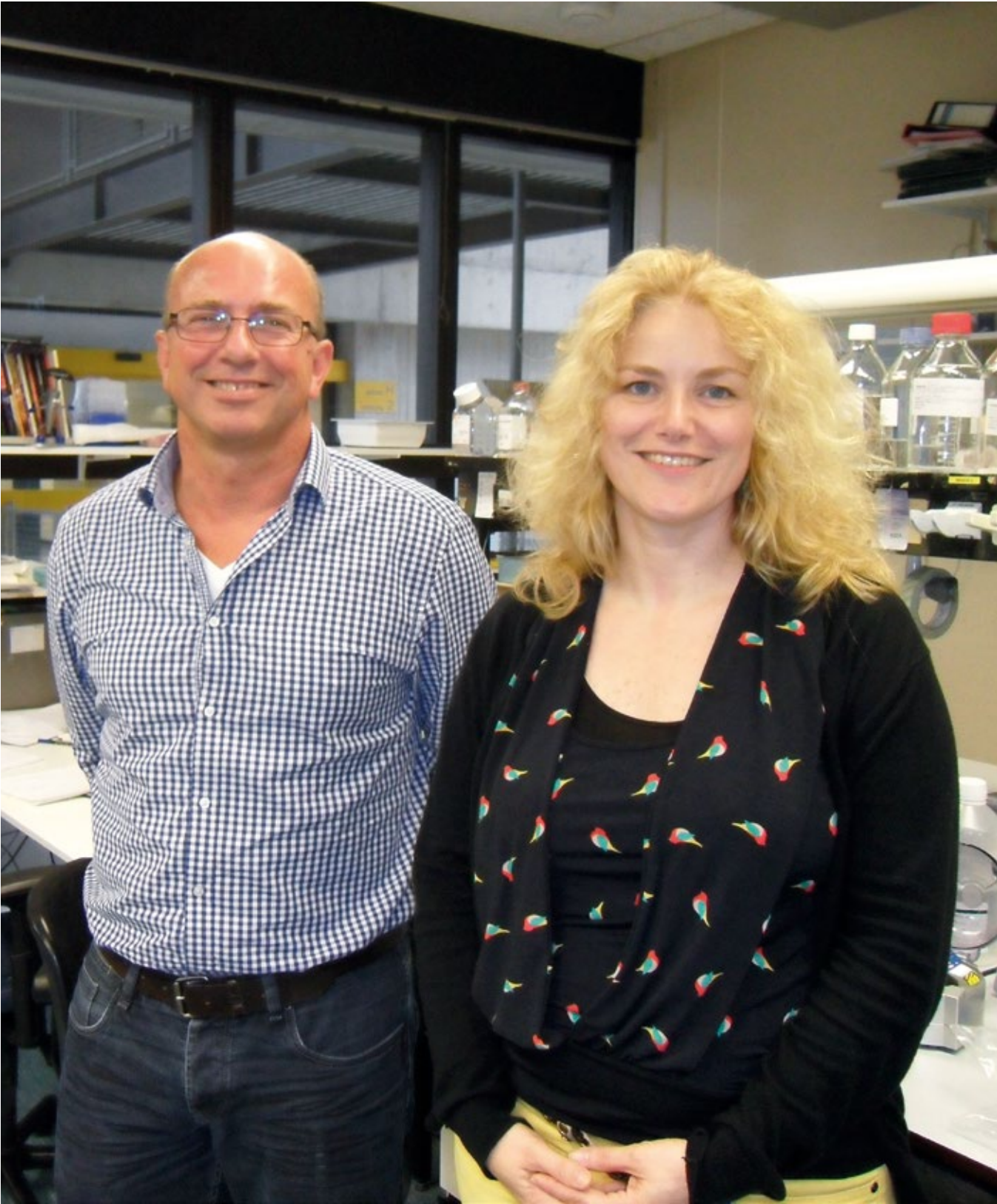
Projectnr	Projectleiders
2015-02	Dr. Kees van 't Veer en dr. Mettine Bos
Omschrijving	Instelling
Een gedetailleerde kijk op de activering van stollingsfactor V door factor Xa	AMC en LUMC

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

De onderzoekers hebben diverse varianten van TIX-5 gemaakt. Elke variant mist een stukje waarmee TIX-5 mogelijk het contact tussen factor Xa en factor V blokkeert. Hiermee hebben de onderzoekers inmiddels aangetoond dat er drie gebieden in het TIX-5 eiwit betrokken zijn bij het remmen van de stolling in stollings-testen die gestart worden met tissue factor, het stollingsbevorderende eiwit dat vrijkomt als er een wond ontstaat. De onderzoekers gaan deze test nu gebruiken om bij zowel gezonde vrijwilligers als trombosepatiënten na te gaan hoe belangrijk de factor V activering door factor Xa is voor de stolling bij deze personen.

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

Dit project kan meer inzicht geven in de precieze bijdrage van factor Xa in de activering van factor V en het daaropvolgende stollingsproces. Mogelijk verschilt deze bijdrage van persoon tot persoon. Mensen bij wie het op gang komen van de stolling sterk afhankelijk is van factor Xa zijn mogelijk gevoeliger voor remmen van de stolling van factor Xa-remmers (DOACs) of vitamine K-remmers. Anderzijds zijn zij gevoeliger voor het ontstaan van spontane bloedingen bij een behandeling met DOACs of vitamine K-remmers. Trombose zou bij hen bij voorkeur niet met een van deze middelen moeten worden behandeld maar met trombineremmers.



Caught in a trap: Unravelling von Willebrand factor extracellular traps

Vraagstelling van het onderzoek
Zodra een bloedvat beschadigd raakt, scheiden de cellen in de bloedvatwand lange ‘slierten’ uit van het eiwit von willebrand factor (VWF). Deze slierten, ook wel VWF strings genoemd, vormen een plakkerig netwerk van draden waaraan voorbij stromende bloedplaatjes blijven plakken als muggen aan een spinnenweb. Op die manier ontstaat een bloedstolsel op de plaats van de beschadiging.

De beschadiging in het bloedvat trekt tevens bepaalde cellen van het afweersysteem aan, de zogeheten neutrofiele cellen. Ook deze cellen kunnen plakkerige draden vormen. In dit geval bestaan de draden uit DNA dat de neutrofiele cellen uitscheiden. Deze plakkerige netwerken heten neutrophil extracellular traps, kortweg NETs.

Recent onderzoek heeft aangetoond dat deze NETs ook betrokken zijn bij de vorming van bloedstolsels. De NETs vermengen zich met de VWF strings. Bloedstolsels bij mensen met trombose bevatten vaak zowel VWF strings als NETs. Dat duidt erop dat bij het ontstaan van trombose een ontspoorde vorming van één of beide netwerken een rol kan spelen.

Het is op dit moment nog onduidelijk welke cellen er precies aan VWF strings kunnen binden, hoe de vermenging van NETs en VWF strings precies tot stand komt en - vooral - waardoor de vorming ervan op gang komt. Het doel van dit project is na te gaan hoe de kluwen van beide netwerken precies ontstaat, welke rol dit speelt bij het ontstaan van trombose en

Voortgangsverslag	
Projectnr 2015-03	Projectleider Dr. Ruben Bierings en prof. dr. Jan Voorberg
Omschrijving Plakkerige draden als spin in het web bij de vorming van een bloedstolsel	Instelling Sanquin

of dit een mogelijk aangrijpingspunt vormt om trombose te behandelen of trombose te voorkomen.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?
De onderzoekers hebben een techniek opgezet die het mogelijk maakt onder de microscoop de vorming van VWF strings te bestuderen in kleine met endotheelcellen (cellen uit de bloedvatwand) beklede microchips. Hierbij is het mogelijk de cellen zodanig te prikkelen dat zij VWF strings uitscheiden terwijl er op hetzelfde moment allerlei soorten bloedcellen uit het bloed over de VWF strings stromen. Dit maakt het mogelijk na te gaan welke soorten cellen er aan de VWF strings blijven plakken. Door bepaalde celtypen weg te laten of juist toe te voegen, is het bovendien mogelijk na te gaan wat de rol van deze cellen is bij de vorming van een bloedstolsel.

Daarnaast hebben de onderzoekers endotheelcellen zodanig genetisch veranderd dat deze cellen niet meer in staat zijn VWF strings te maken. Hiermee is na te gaan welke cellen aan de vaatwand hechten (en onder welke condities) zonder dat daarvoor VWF strings nodig zijn. Deze ‘designer’ endotheelcellen zijn ook geschikt om de rol van VWF bij de vorming van nieuwe bloedvaten te bestuderen.

Welke aspecten van de kennis over trombose zijn met het onderzoek gediend?
Om de behandeling van trombose verder te verbeteren en om beter te kunnen voorspellen wanneer (en bij wie) er trombose zal ontstaan, is het nodig



alle details te begrijpen van de vorming van bloedstolsels. Een van die details is de vorming van kluwen van VWF strings en NETs in de bloedvatwand. Gedetailleerde kennis hierover kan nieuwe kennis

opleveren op basis waarvan nieuwe medicijnen en/of andere behandeling die stolling van het bloed tegen gaan kunnen worden ontworpen.

The role of the Solute Carrier Transporter 44A2 (SLC44A2) Gene in the Pathophysiology of Venous Thromboembolism

Vraagstelling van het onderzoek

Onlangs hebben Leidse onderzoekers een nieuwe erfelijke factor gevonden die bij mensen de kans op het ontstaan van trombose beïnvloedt, het gen SLC44A2. Tot op heden is weinig bekend over dit gen. Het doel van dit project is na te gaan wat de functie van het gen SLC44A2 precies is en waarom veranderingen in het gen kunnen leiden tot een verhoogde kans op trombose. Op basis van de bestaande kennis gaan de onderzoekers er voorlopig vanuit dat SLC44A2 een rol speelt bij de optimale werking van de cellen die de binnenzijde van onze bloedvaten bekleden, de zogeheten endotheelcellen. Mogelijk beïnvloedt SLC44A2 ook de werking van sommige witte bloedcellen.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

De onderzoekers hebben inmiddels aangetoond dat het eiwit SLC44A2 in de endotheelcellen van de bloedvaten op dezelfde plaats lijkt voor te komen als Von Willebrand Factor, een eiwit dat een cruciale rol speelt bij de stolling van het bloed en bij het ontstaan van veneuze trombose. De onderzoekers gaan de functie van SLC44A2 in de endotheelcellen (en de mogelijke rol bij veneuze trombose) nu verder uitzoeken door in endotheelcellen SLC44A2 uit te schakelen en cellen te gebruiken met SLC44A2-varianten die samengaan met het krijgen van veneuze trombose. Via een samenwerking met Amerikaanse onderzoekers beschikken de Leidse onderzoekers nu over muizen waarbij het gen SLC44A2 is uitgeschakeld. Dit biedt de mogelijkheid de rol van SLC44A2 binnen het complexe samenspel van stromend bloed, de bloedvaatwand, en ontstaan van veneuze trombose te

Voortgangsverslag

Projectnr	Projectleider
2015-04	Dr. Bart van Vlijmen
Omschrijving	Instelling
Nieuwe erfelijke aanleg voor trombose	LUMC

onderzoeken. De eerste resultaten hiervan laten zien dat de afwezigheid van SLC44A2 geen invloed heeft op de normale bloedstolling. Na beschadiging van de bloedvaatwand vormen zich bij deze muizen echter stolsels waaruit het fibrine - het eiwit dat de stolsels stevig maakt - opmerkelijk snel verdwijnt. Deze bevinding wijst mogelijk de weg naar meer inzicht over hoe SLC44A2 een rol kan spelen bij het ontstaan van veneuze trombose.

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

Kennis over de rol die SLC44A2 speelt bij de stolling van het bloed kan mogelijk leiden tot nieuwe inzichten in het ontstaan van trombose en tot de identificatie van mensen die een verhoogd risico lopen trombose te krijgen. Kennis over de precieze werking van SLC44A2 kan ook het uitgangspunt vormen voor de ontwikkeling van nieuwe vormen van behandeling van trombose en van medicijnen met minder bijwerkingen (bloedingsrisico).

Literatuurpublicaties

- J. Tilburg, R. Adili, T.S. Nair, M.E. Hawley, B.J.M. van Vlijmen, D.C. Tuk, H.M. Spronk, M. Holinstat, T.E. Carey, C.X. Maracle. *Mice Lacking the Novel Venous.*
- *Thromboembolism Susceptibility Gene Slc44a2 Have Normal Hemostasis, but Reduced Fibrin Accumulation upon Vascular Injury.* ISTH, Berlijn 8-13 juli 2017. Abstract ASY 18.4.



Characterisation of factor V-short: a new player in the TFPI system?

Vraagstelling van het onderzoek

De mate en snelheid waarmee het bloed stolt is afhankelijk van een geraffineerd samenspel tussen tal van bestanddelen in het bloed (stollingsfactoren). Eén daarvan is factor V. Deze factor speelt een dubbelrol in de stolling: het kan de stollingneiging van het bloed zowel laten toenemen als verminderen. De ‘inactieve’ vorm van factor V remt de stolling, onder andere doordat het het antistollende eiwit TFPI meedraagt. Als de stolling op gang komt, knippen andere eiwitten factor V in een aantal stukken. Hierdoor verliest factor V het eiwit TFPI en gaat factor V de stolling van het bloed juist bevorderen. Recent is een variant ontdekt van factor V die iets kleiner is dan het gebruikelijke factor V-molecuul. Dit molecuul, FV-short genoemd, bindt TFPI beter en heeft daardoor een sterkere antistollingswerking dan het gewone factor V molecuul. Bij alle mensen komt FV-short in een kleine hoeveelheid voor in het bloed. Mensen met een genetische variant van het factor V-molecuul maken echter veel meer FV-short aan. Daardoor lopen zij een verhoogde kans op spontane bloedingen. Het doel van dit project is de precieze werking van FV-short in kaart te brengen.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

Het afgelopen jaar hebben de onderzoekers gewerkt aan de productie van FV-short en de zuivering ervan. Hiervoor hebben ze een cellijn gemaakt die FV-short in grote hoeveelheden kan produceren. Inmiddels lukt dit vrij aardig en zijn de onderzoekers in staat bijna volledig zuiver FV-short te verkrijgen. Dit gezuiverd FV-short gaan de onderzoekers nu

Voortgangverslag

Projectnr

2014-01

Projectleider

Dr. Elisabetta Castoldi

Omschrijving

FV-short: het kleine broertje van factor V

Instelling

Universiteit Maastricht

gebruiken om de precieze eigenschappen en werking van FV-short in kaart te brengen. Daarnaast gaan ze aan de slag om antilichamen te maken die specifiek het FV-short, en niet het normale FV herkennen. Met dergelijke antilichamen wordt het mogelijk een test op te zetten om de hoeveelheid FV-short in plasma te meten. Met zo’n test is het mogelijk uit te zoeken in hoe verre hoge of lage FV-short spiegels samenhangen met het krijgen van trombose of bloedingen. Ook is de test te gebruiken om na te gaan of bepaalde genetische kenmerken van invloed zijn op de hoeveelheid FV-short die mensen aanmaken.

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

Over de rol van FV-short bij de bloedstolling is nog weinig bekend. Meer kennis over de (genetische) factoren die een rol spelen bij de aanmaak van FV-short en meer kennis over de eigenschappen van FV-short, zouden kunnen bijdragen tot meer inzicht in de bloedstolling. Ook kan de kennis over FV-short de aanzet geven tot de ontwikkeling van nieuwe medicijnen die de stolling van het bloed kunnen beïnvloeden. Mensen met een hoog risico op trombose zouden mogelijk gebaat zijn wanneer hun FV-short gehalte verhoogd kan worden, terwijl bij mensen met een bloedingsneiging (bijv. hemofilie) het bloedingsrisico wellicht lager wordt indien de hoeveelheid FV-short in het bloed verminderd kan worden.



Literatuurpublicaties

- Van Doorn P, Rosing J, Wielders SJ, Hackeng TM, Castoldi E. The C-terminus of TFPI α inhibits factor V activation by protecting the Arg1545 cleavage site. *J Thromb Haemost*, 2017; 15: 140-9.
- Van Doorn P, Rosing J, Wielders SJ, Hackeng TM, Castoldi E. The C-terminus of TFPI α inhibits factor V activation by protecting the Arg1545 cleavage site. Mondelinge presentatie bij het European Congress on Thrombosis and Haemostasis. Den Haag (Nederland), 28-30 september 2016. Onderscheiden met een Award of Excellence t.w.v. € 1000,-.
- Van Doorn P, Rosing J, Wielders SJ, Hackeng TM, Castoldi E. The C-terminus of TFPI α inhibits factor V activation by protecting the Arg¹⁵⁴⁵ cleavage site. Mondelinge presentatie bij het 58th Annual Meeting of the American Society of Haematology (ASH). San Diego, CA (USA), 3-6 december 2016.

Effects of vitamin K-antagonists, vitamin K and new oral anticoagulants on atherogenesis?

Vraagstelling van het onderzoek

Wereldwijd gebruiken miljoenen mensen medicijnen om te voorkomen dat zij (opnieuw) trombose krijgen. Verreweg de meeste mensen gebruiken hiervoor een zogeheten vitamine K antagonist (VKA). Deze medicijnen blokkeren de werking van vitamine K dat een belangrijke rol heeft bij het opgang brengen van de stolling van het bloed. VKAs kennen echter nadelen. Zo hebben eet- en leefgewoonten en het gebruik van andere medicijnen veel invloed op de werking van de VKAs. Daarnaast is recent gebleken dat VKAs ook de werking verstoren van sommige eiwitten in de wanden van de bloedvaten en dat hierdoor de kans op atherosclerose (‘aderverkalking’) toeneemt. Sinds enkele jaren is er een nieuwe klasse antistollingsmedicijnen in de handel, de zogeheten directe orale anti-coagulantia, kortweg DOACs. Voor zover nu bekend hebben DOACs geen invloed op de werking van de vitamine K-afhankelijke eiwitten in de bloedvatwand. Het doel van dit project is nauwkeurig uit te zoeken hoe en in welke mate het gebruik van respectievelijk VKAs en DOACs op de korte en lange termijn niet alleen de stolling van het bloed, maar ook het ontstaan van aderverkalking beïnvloeden. Een tweede doel van het project is na te gaan in hoeverre het toedienen van vitamine K (dat mogelijk aderverkalking tegengaat) de werking van de DOACs beïnvloedt.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

In het derde jaar hebben de onderzoekers muizen

Voortgangsverslag

Projectnr	Projectleider
2014-02	Dr. Leon Schurgers
Omschrijving	Instelling
De invloed van vitamine K, vitamine K-antagonisten en andere antistollingsmiddelen op het proces van aderverkalking	Universiteit Maastricht

blootgesteld aan verschillende experimentele diëten, inclusief een dieet waarin DOACs gecombineerd worden met vitamine K supplementen. Doordat vitamine K de antistollende werking van DOAC niet beïnvloedt (aangetoond in jaarverslag 2) konden de onderzoekers hiermee nagaan of toedienen van extra vitamine K een gunstige uitwerking heeft op aderverkalking. Dat bleek inderdaad het geval. Alleen bij de muizen die extra vitamine K in het dieet kregen, trad minder aderverkalking op. Het lijkt er dus op dat de combinatie van DOACs met vitamine K het beste in staat is aderverkalking te voorkomen.

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

Sinds enige tijd is bekend dat de stollingsfactoren in het bloed ook betrokken zijn bij het proces van atherosclerose (‘aderverkalking’). Aangezien antistollingsmedicijnen als VKAs en DOACs de werking van de stollingsfactoren beïnvloeden, is het zinvol om na te gaan welke invloed deze medicijnen hebben op de ontwikkeling van aderverkalking. Aangezien sommige eiwitten in de vaatwand voor hun werking afhankelijk zijn van de aanwezigheid van vitamine K, wordt er over gedacht het proces van aderverkalking te remmen door mensen extra vitamine K te laten slikken. Voor mensen die wegens stollingsproblemen een VKA gebruiken is dit niet mogelijk. In dit onderzoek wordt nagegaan of de combinatie DOAC en vitamine K wel mogelijk is. Kennis hierover kan bijdragen aan het verminderen van het voorkomen van aderverkalking.



Literatuurpublicaties

- Van Gorp RH, Schurgers LJ. New Insights into the Pros and Cons of the Clinical Use of Vitamin K Antagonists (VKAs) Versus Direct Oral Anticoagulants (DOACs). *Nutrients*. 2015 Nov 17;7(11):9538-57.
- Brandenburg VM, Schurgers LJ, Kaesler N, Püsche K, van Gorp RH, Leftheriotis G, Reinartz S, Koos R, Krüger T. *Atherosclerosis*. 2015 May;240(1):10-6.
- Orale presentatie op het NvTH symposium (NvTH, Koudekerke) 2015.
- Orale presentatie op het Europees symposium voor Trombose en Hemostase (ECTH, Den Haag) 2016.
- Poster presentatie op het Europees symposium voor Trombose en Hemostase (ECTH, Den Haag) 2016.
- Poster presentatie op het Europees voeding en supplementen beurs (VitaFoods, Geneve) 2016.
- Poster presentatie op het vasculaire congres “International Vascular Biology Meeting” (IVBM, Boston) 2016.
- Orale presentatie op het NvTH symposium (NvTH, Koudekerke) 2017.

Nieuwe en verbeterde diagnostiek naar een terugkerend trombosebeen met MRI: de Theia studie

Vraagstelling van het onderzoek

Een trombosebeen ontstaat als er zich spontaan een bloedstolsel vormt in een ader in het been. Sluit het stolsel de ader volledig af, dan kan het bloed niet meer terugstromen naar het hart. Het been kan in dat geval opzwellen, warm aanvoelen en pijn doen. Deze klachten kunnen echter ook andere oorzaken hebben. Voordat een (levenslange) behandeling met bloedverdunnende medicijnen wordt gestart, moet er eerst zekerheid zijn dat er inderdaad sprake is van een trombosebeen. Aan de bloedverdunnende medicijnen zitten immers ook risico's verbonden, zoals een verhoogde kans op een levensbedreigende bloeding. Normaal gesproken is een trombosebeen gemakkelijk vast te stellen door middel van een echo-onderzoek. Als iemand die al een keer trombose heeft gehad voor een tweede keer klachten ontwikkelt in hetzelfde been die wijzen op trombose, is het lastiger vast te stellen of er echt sprake is van een trombosebeen. Zo is met het echo-onderzoek moeilijk onderscheid te maken tussen achtergebleven stukjes stolsel ('rest-trombose') van het eerdere trombosebeen en een nieuw ontstaan stolsel.

De afgelopen jaren is een nieuwe MRI techniek ontwikkeld om trombose in beeld te brengen: de MR-direct thrombus imaging (MRDTI). Deze techniek is snel uit te voeren en kan wel goed onderscheid maken tussen resttrombose en nieuwe trombose. De Theia studie moet uitwijzen of een 'negatieve' MRDTI inderdaad voldoende is om te concluderen dat er geen sprake is van een terugkerend trombosebeen en dat behandeling niet nodig is.

Voortgangsverslag

Projectnr

2013-01

Projectleiders

Prof. dr. Menno Huisman en
dr. Erik Klok

Omschrijving

Snelle en betere diagnostiek bij
terugkerend trombosebeen

Instelling

Leids Universitair Medisch
Centrum



Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het project?

Om de onderzoeksvraag met voldoende zekerheid te kunnen beantwoorden, moeten er 305 patiënten aan het onderzoek meedoen. De teller staat na 2 jaar op 123 deelnemende patiënten. Er hebben zich tot nu toe geen complicaties voorgedaan.

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

De studie draagt bij aan het verbeteren van de - momenteel nog steeds zeer lastige - diagnostiek van een terugkerend trombosebeen.

Functional three-dimensional architecture of the coronary thrombus in relation to phenotype: in vivo and in vitro thrombus fate?

Vraagstelling van het onderzoek

Een acuut hartinfarct ontstaat wanneer een bloedstolsel één (of meer) slagaderen afsluit die het hart van zuurstofrijk bloed voorzien. De twee meest gebruikte manieren om de bloedstroom door de afgesloten kransslagader(en) weer op gang te krijgen zijn het toedienen van een medicijn dat het stolsel oplost en het mechanisch openen van de slagader tijdens een dotterprocedure. Hoe goed de patiënt herstelt van deze behandelingen hangt voor een deel af van de bouw en samenstelling van het bloedstolsel dat de verstopping van de kransslagader(s) heeft veroorzaakt. Zo lost het ene stolsel gemakkelijker op onder invloed van medicijnen dan het ander. Doel van dit project was uit te zoeken hoe de precieze samenstelling en de driedimensionale vorm van dit stolsel van invloed zijn op het herstel van de patiënt.

Welke delen van de vraagstelling zijn beantwoord in het verslagjaar?

In de voorgaande jaren hebben de onderzoekers aangetoond dat de stolsels en het bloed van patiënten met een acuut hartinfarct netwerken van DNA-draden (zogeheten neutrophil extracellular traps, NETs) en bacteriën bevatten.

Eindverslag

Projectnr	Projectleider
2013-02	Dr. M.P. M. de Maat en dr. H.M.M. van Beusekom
Omschrijving	Instelling
De invloed van stolseigenschappen op het herstel na een acuut hartinfarct	Erasmus MC Rotterdam

In dit verslagjaar hebben de onderzoekers aangetoond dat de vorming van NETs in stolsels in gang is te zetten met behulp van bacteriën. Daarnaast hebben de onderzoekers de invloed van de NETs op stolling van het bloed onderzocht. Hierbij vonden zij dat NETs kunnen binden aan von willebrand factor, een belangrijk stollingsbevorderend eiwit in het bloed. Ook het enzym dat von willebrand factor afbreekt plakt vast aan de NETs.

De onderzoekers hebben in het afgelopen verslagjaar ook een systeem ontwikkeld en getest dat het mogelijk maakt op een gestandaardiseerde manier in een reageerbuis stolsels te laten ontstaan. Hiermee kan van allerlei stoffen, ook medicijnen, worden nagegaan hoe zij de vorming van bloedstolsels beïnvloeden.

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

Meer kennis over de samenstelling en driedimensionale bouw van stolsels en de invloed daarvan op de kans op herstel van de patiënt zal het mogelijk maken de behandeling van patiënten met een acuut hartinfarct af te stemmen op de eigenschappen van het stolsel bij die patiënt. Meer inzicht in hoe de DNA-netwerken binnen de trombus verband houden met de mate van herstel van bloedtoevoer na een dotterbehandeling kan leiden tot meer maatwerk in de behandeling van individuele patiënten die getroffen zijn door een acuut hartinfarct.



Literatuurpublicaties

■ A.S.A. Autar, M. Kurata, E. Regar, M. Valgimigli, F.W.G. Leebeek, F. Zijlstra, M.P.M. de Maat, H.M.M. van Beusekom. Circulating neutrophil extracellular traps levels prior to pPCI predict impaired reperfusion and hyperemic flow in STEMI patients. Nederlandse Vereniging voor Cardiologie voorjaars sessie 2015. (Prijs beste voordracht).

■ M. Kurata, A.S.A. Autar, D. Mensink, D.J. Duncker, H. ten Cate, J. Govers-Riems slag, C. Reutelingsperger, E. Regar, M. Valgimigli, F.W.G. Leebeek, F. Zijlstra, M.P.M. de Maat, H.M.M. van Beusekom. Neutrophil Extracellular Traps Correlate With Impaired Myocardial Reperfusion In Patients With St Elevation Myocardial Infarction After Primary Percutaneous Coronary Intervention. Poster session at the American Heart Association Scientific Sessions 2014.

■ A.S.A. Autar, M. Kurata, D. Mensink, H. Ten Cate, J. Govers-Riems slag, C. Reutelingsperger, F.W.G. Leebeek, E. Regar, M. Valgimigli, F. Zijlstra, H.M.M. van Beusekom, M.P.M. de Maat. Functional architecture of the coronary artery thrombus. Oral presentation at the International Fibrinogen Research Society Workshop 2014, Marseille.

■ A.S.A. Autar, M. Kurata, E. Regar, M. Valgimigli, F.W.G. Leebeek, F. Zijlstra, M.P.M. de Maat, H.M.M. van Beusekom. ‘Neutrophil extracellular traps in coronary artery thrombi in patients with acute myocardial infarction’. Poster presentation at the International Society of Thrombosis and Haemostasis 2015 Congress, Toronto (Canada). Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2015;13,1-997: ISTH15ABS-3813.

■ A.S.A. Autar, M. Kurata, E. Regar, M. Valgimigli, F.W.G. Leebeek, F. Zijlstra, M.P.M. de Maat, H.M.M. van Beusekom. Microvascular obstruction in STEMI patients during pPCI is related to the size of aspirated coronary artery thrombi and prePCI neutrophil extracellular trap levels’. Poster presentation at European Society of Cardiology 2015. European Heart Journal 2015; 226 (36(abstract supplement)):P1456.

■ T. Hoppenbrouwers, A.S.A. Autar, A.R. Sultan, T.E.Abraham, W.A. van Cappellen, A.B. Houtsmuller, W.J.B. van Wamel, H.M.M. van Beusekom, M.P.M. de Maat. (2017) In vitro induction of NETosis: Comprehensive live imaging comparison and systematic review. PLOS ONE 12(5): e0176472.