

WETENSCHAPPELIJK JAARVERSLAG

JAARGANG I - NUMMER I

EEN BIJLAGE VAN HET JAARVERSLAG TROMBOSESTICHTING NEDERLAND 2004

LOPENDE PROJECTEN IN 2004

Differentiële werking van trombine-receptoren op trombusvorming Identificatie van een receptor betrokken bij fibrine gemedieerde aggregatie van bloedplaatjes onafhankelijk van integrine α IIb β 3 **Nature and relevance of the instability of activated thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor**

AFGERONDE PROJECTEN IN 2004

Hoog factor VIII en trombose: de rol van het vaatwandendotheel Klinische validatie van een nieuw doseer algoritme voor orale antistolling **Microbepalingen van aPTT en PT/INR bij jonge zuigelingen** Identificatie van een endocytische receptor voor anticoagulant proteïne S **Vitronectin as anti-thrombotic target** De bijdrage van intravasculair weefselfactor aan arteriële trombose

Dit wetenschappelijk katern, behorend bij het jaarverslag 2004, doet verslag van de activiteiten op het gebied van het wetenschappelijk onderzoek dat door de Trombosestichting wordt gefinancierd. Aan het einde van het jaar liepen nog drie projecten (2003.1, 2003.3 en 2003.4). In het verslagjaar zijn ook een aantal projecten afgerond (2001.1, 2001.3, 2001.4, 2002.2, 2002.3 en 2003.2). Net zoals ieder jaar heeft het bestuur van de Trombosestichting Nederland een aantal projecten gehonoreerd. Een opsomming vindt u in dit verslag.

Bijzonder hoogleraar trombosebehandeling en trombosepreventie: Prof.dr. J.W.N. Akkerman

VOORSCHOTEN - Prof.dr. J.W.N. Akkerman is in 1997 aangesteld als bijzonder hoogleraar trombosebehandeling en trombosepreventie van de Trombosestichting Nederland. Zijn leerstoel is gevestigd bij de Faculteit der Geneeskunde van de Universiteit Utrecht. Hij is werkzaam bij de afdeling Hematologie van het Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMCU).

Zijn wetenschappelijk onderzoek richt zich op de mechanismen die het activeren en remmen van bloedplaatjes regelt. Het onderzoek vindt plaats binnen de sectie 'Signaaltransductie in bloedplaatjes'. Een deel van het onderzoek vindt plaats aan de zogenaamde megakaryocyten. Dit zijn de cellen in het beenmerg die bloedplaatjes vormen. Het wetenschappelijk onderzoek in 2004 was gericht op de volgende projecten: (I) Beïnvloeding van bloedplaatjes door de insuline/glucose ratio (Steen: Diabetes Fonds Nederland en 'Fonds voor het hart') (II) Plaatjes activering door geoxydeerd LDL (Steen: Nederlandse Hartstichting), (III) Cholesterolrijke domeinen, centrale factoren in plaatjes adhesie en aggregatie (met dr. H.F.G. Heijnen; Steun Nederlandse Hartstichting), Plaatjes preservatie door tijdelijke metabole suppressie (met dr. W.M. Smid, Sanquin bloedbank Noord-West; Steun: Stichting Sanquin). Het afgelopen jaar werd het onderzoek naar het verhoogde risico op trombose bij patiënten met Diabetes Mellitus ondersteund met nieuwe subsidie van het Diabetes Fonds. Insuline remt de signaleringswegen die plaatjes functies starten door binding aan de insuline receptor, activatie van IRS-1 en remming van het GTP-bindende eiwit Gi (inhiberend G-eiwit voor het enzym adenylcyclase). Hierdoor wordt het niveau van de remmer cyclisch AMP minder goed onderdrukt en worden plaatjes gemakkelijker geactiveerd. Bloedplaatjes van patiënten met Diabetes Mellitus type 2 (DM2) zijn ongevoelig geworden voor de remming door insuline en

daardoor hyperactief. In het nieuwe project willen wij onderzoeken of ook andere cellen door insuline worden geremd en of deze remming bij DM2 is verdwenen. Geactiveerde monocyt en endotheelcellen synthetiseren weefselfactor ('Tissue Factor'), de starter van bloedstolling. Tissue factor productie in deze cellen wordt gereguleerd via Gi, het G-eiwit dat in plaatjes door insuline wordt geremd. Tevens zullen wij onderzoeken waarom plaatjes van patiënten met DM2 niet meer gevoelig zijn voor insuline. Dit deel van het onderzoek is gericht op megakaryocyten, de cellen die plaatjes vormen en grotendeels hun functie bepalen. Een verlies aan insuline-gevoeligheid moet dus in de megakaryocyt ontstaan. Wellicht spelen hormonen uit vetcellen een rol. Immers, overgewicht leidt dikwijls tot DM2, dat weer leidt tot plaatjes die ongevoelig zijn voor insuline. Indien normale plaatjes, monocyt en endotheelcellen inderdaad door insuline worden geremd en deze cellen bij DM2 ongevoelig zijn geworden voor deze remming, kan dit de reden zijn voor de verhoogde kans op arteriële trombose en atherosclerose bij DM patiënten.

Werkzaamheden voor de Trombosestichting Nederland

Evenals voorgaande jaren is prof.dr. J.W.N. Akkerman betrokken geweest bij de werkzaamheden van de Trombosestichting Nederland. Hij is onder meer lid van de Wetenschappelijke Adviesraad en wetenschappelijk eindredacteur van het tijdschrift 'Tromnibus'. Dit is een uitgave van de Federatie van Nederlandse Trombosediensten waar de Trombosestichting aan gelieerd is. Ook was hij als voorzitter betrokken bij de organisatie van het lustrumsymposium 'New Antithrombotic Therapies'. Het symposium werd gehouden in het RAI congrescentrum te Amsterdam ter gelegenheid van het 30 jaar bestaan van de Trombosestichting Nederland.

Prof.dr. J.W.N. Akkerman maakte in 2004 deel uit van de volgende promotiecommissies:

- ADP and thrombin during thromboembolism in vivo: a vital imaging approach M. van Gestel, Universiteit van Maastricht, 08-04-2004;
- cAMP targets and their role in proliferation. B. Kuiperij, Universiteit Utrecht, 08-11-2004;
- Platelet procoagulant activity and thrombus formation. J.F.W. Keuren, Universiteit van Maastricht, 10-12-2004;
- Molecular interactions between coagulation factor IX and low density lipoprotein receptor-related protein. J. Rohlena, Universiteit Utrecht, 13-12-2004.

Prof.dr. J.W.N. Akkerman heeft vele manuscripten beoordeeld voor: 'Journal of Thrombosis and Haemostasis' als 'Member Advisory Board'; Hij was 'Member International advisory board XXth International Congress on Thrombosis and Haemostasis'. Dit congres vond plaats in Sydney, Australië; Hij was 'International expert van INSERM' (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, France); Hij was beoordeelaar van manuscripten die ter publicatie zijn aangeboden voor onder andere: American Journal of Clinical Nutrition, Atherosclerosis, Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology, Blood, British Journal of Clinical Pathology, Circulation Research, European Journal of Biochemistry, European Journal of Pharmacology, FEBS Letters, Journal of Biological Chemistry, Platelets.

Publicaties

- Gorter, G. and J.W.N. Akkerman. Serine-threonine kinases. In 'Methods in molecular biology, volume 273: Platelets and megakaryocytes', volume 2 (J.M. Gibbins and M.P. Mahaut-Smith, editors), Humana Press. Totowa, NJ, U.S.A. 2004, 179-199.
- Andrade Ferreira, I.; K.L. Eybrechts, A. Mocking, C. Kroner and J.W.N. Akkerman. IRS-1 mediates inhibition of Ca²⁺ mobilization by insulin in human platelets via the inhibitory G-protein Gi. Journal of Biological Chemistry 2004; 279: 3254 - 3264.
- Hellings, M., Y. Engelborghs, H. Deckmyn, K. Vanhoorelbeke, M.E. Schiphorst, J.W.N. Akkerman and M. de Maeyer. Experimental indication for the existence of multiple Trp rotamers in von Willebrand Factor A3 domain. Proteins 2004; 57: 596-601.
- Heijnen, H.F.G.S. Waaijenborg, J.D. Crapo, R.P. Bowler, J.W.N. Akkerman and J.W. Slot. Colocalization of eNOS and the catalytic subunit of PKA in endothelial cell junctions: a clue for regulated NO production. Journal of histochemistry and cytochemistry 2004; 52: 1277-1285.
- Jedlitschky G., K. Tirschmann, L.E. Lubenow, H.K. Nieuwenhuis, J.W.N. Akkerman, A. Greinacher and H.K. Kroemer. The nucleotide transporter MRP4 (ABCC4) is highly expressed in human platelets and present in granules, indicating a role in mediator storage. Blood 2004; 104: 3603-3610.
- De Lange, D.W., M.L. Hijmering, A. Lorscheyd, W.L.G. Scholman, R.J. Kraaijenhagen, J.W.N. Akkerman and A. van de Wiel. Rapid intake of alcohol (binge drinking) inhibits platelet adhesion to fibrinogen under flow. Alcoholism: clinical and experimental research 2004; 28: 1562-1568.
- Korporaal S.J.A., I.A.M. Relou, M. van Eck, M. Bezemer, G. Gorter, T.J.C. van Berkel, J. Nimpf, J.W.N. Akkerman and P.J. Lenting. Binding of LDL to platelet apolipoprotein E-receptor 2' results in phosphorylation of p38MAPK. Journal of Biological Chemistry 2004; 279: 52526-52534.
- De Lange, D.W., W.L.G. Scholman, R.J. Kraaijenhagen, J.W.N. Akkerman and A. van de Wiel. Alcohol and polyphenolic grape extract inhibit platelet adhesion in flowing blood. European Journal of Clinical Investigation 2004; 34: 818 - 824.
- Akkerman, J.W.N. Nieuwe wegen voor plaatjes-activatie en hun remming. Tromnibus 2004; 32: 4-6.
- Akkerman, J.W.N. Trombose preventie met een goed glas wijn. Tromnibus 2004; 32: 24-25.
- Akkerman, J.W.N. Verslag symposium 'New antithrombotic therapies'. Tromnibus 2004; 32: 40-47.

Projecten gestart in 2004

VOORSCHOTEN - In 2004 is door de Trombosestichting Nederland aan vijf nieuwe projecten subsidie toegekend. Het onderstaande overzicht geeft een opsomming van de projecten met de titel van het onderzoek, de naam van de projectleider en de instelling.

2004.1

'Modulatie van de lisofosfatydaat homeostase in het atheroom: een nieuwe strategie ter preventie van trombotische complicaties na plaqueruptuur'

Projectleider: Dr. E.A.L. Biessen en Prof. dr. Th. C. van Berkel

Instelling: Universiteit Leiden, Afdeling Biofarmacie

Subsidiebedrag: € 198.200,-

Looptijd: 4 jaar

2004.2

'Factor VIII' escape from LRP-dependent clearance: Reappraisal of the role of vWF'

Projectleider: dr. A.B. Meijer

Instelling: Stichting Sanquin
Bloedvoorziening Amsterdam

Subsidiebedrag: € 126.404,-

Looptijd: 2 jaar

2004.3

'Functionele analyse van humane monoclonale antistoffen gericht tegen ADAMTS-13 bij patiënten met trombotische trombocytopenische purpura'

Projectleider: dr. J. Voorberg

Instelling: Stichting Sanquin
Bloedvoorziening Amsterdam

Subsidiebedrag: € 126.404,-

Looptijd: 2 jaar

2004.4

'Selectie van functionele DNA variaties met behulp van mini-gen constructuren'

Projectleider: dr. H.L. Vos

Instelling: Leids Universitair Medisch Centrum

Subsidiebedrag: € 60.158,-

Looptijd: 2 jaar

2004.5

'Activatie van serine proteases bij trombose'

Projectleider: dr. M. Gebbink

Instelling: UMC Utrecht

Subsidiebedrag: € 121.500,-

Looptijd: 2 jaar

- Advertentie -

**GEEF 325.000 MENSEN
EEN CADEAU!**

**TROMBOSESTICHTING
NEDERLAND**

FEDERATIE VAN
NEDERLANDSE
TROMBOSEDIENSTEN

GIRO 302030

Lopende projecten in 2004

2003.1

Differentiële werking van trombine-receptoren op trombusvorming

Projectleider:	Dr. T. Lindhout
Instelling:	Hart- en Vaatziekten Instituut van de Universiteit Maastricht (CARIM)
Subsidiebedrag:	€ 105.000,-
Start van het onderzoek:	1 augustus 2003
Duur van het onderzoek:	2 jaar

Vraagstelling onderzoek:

Trombine speelt een ingewikkelde rol als zich in een bloedvat een bloedpropje (trombus) vormt. Trombine is namelijk betrokken bij het samenklonteren van bloedplaatjes aan de beschadigde vaatwand. Het zorgt dat de trombus door middel van fibrinedraden verstevigd wordt. Tegelijkertijd activeert trombine de bloedplaatjes die op hun beurt weer de vorming van trombine zelf stimuleren. In dit project wordt de wisselwerking tussen trombine en bloedplaatjes bij het vormen van een (levensbedreigende) trombus onderzocht. In dit onderzoek maken we gebruik van zogenaamde synthetische verbindingen die nadat ze zijn opgenomen door vaatwandcellen (endotheel) zorgen dat deze cellen minder gevoelig zijn voor trombine. Als zodanig kunnen deze synthetische verbindingen de groei van een trombus voorkomen of afremmen.

Welke delen van de vraagstelling werden in het jaarverslag beantwoord?

Experimenten zijn gedaan waarin het activeren van bloedplaatjes bij een kapotte vaatwand werd gestimuleerd. Deze experimenten lieten zien dat trombine samen met het vaatwandcollageen wat vrijkomt, bloedplaatjes afhankelijke trombinevorming enorm stimuleert. Dit synergetisch effect van trombine kon volledig worden geremd met het zogenaamde P1pal-12. Dit is een op chemische wijze gesynthetiseerd peptide dat de activering van een bloedplaatje en vaatwandcel door trombine verhindert. Het blokkeert intracellulaire processen, zoals een verhoging van de calcium concentratie in de cel, die het gevolg zijn van een interactie tussen trombine en zijn receptor (PAR-1) op het bloedplaatje. Op grond van deze bevindingen kunnen we voorlopig concluderen dat (intracellulaire) antagonisten van PAR-1 mogelijk zeer interessante middelen zijn tegen trombose. Dit komt omdat ze de trombine afhankelijke groei van een trombus kunnen voorkomen maar het stollen van het bloed door collageen niet tegenhouden.

Deze experimenten werden echter uitgevoerd met geïsoleerde bloedplaatjes, vaste concentraties gezuiverd collageen en trombine. Dit betekent dat de onderzoekers de omstandigheden in het experiment zelf in de hand hadden. Om een natuurlijker benadering te krijgen werd het onderzoek herhaald in stollend bloedplasma waarin veel bloedplaatjes zitten. De mate waarin trombine zich vormde, werd continu gemeten met een zogenaamd fluorogeen substraat. Concentraties van P1pal-12 die een effectieve remming lieten zien in het hierboven beschreven systeem met geïsoleerde bloedplaatjes hadden nu geen effect op de trombinevorming in bloedplaatjes rijk plasma. Ook met bloedplaatjes rijk plasma dat werd samengesteld uit geïsoleerde plaatjes geïncubeerd met P1pal-12 en plasma, werd geen remmend effect op de trombinevorming gezien. Een mogelijke verklaring voor dit verschil moet wellicht gezocht worden in de verschillende hoeveelheden trombine die gevormd worden in beide systemen.

Eén en ander heeft ertoe geleid dat we in afwijking van het oorspronkelijke werkplan, onderzoek hebben gedaan met muizen naar de anti-trombotische werking van de bovengenoemde intracellulaire PAR antagonist. Het onderzoek werd uitgevoerd met muizen waarvan bekend is dat de trombine ontvanger op bloedplaatjes niet PAR-1, maar PAR-4 is. Ook voor deze ontvanger werd een specifieke intracellulaire remmer gesynthetiseerd, namelijk P4pal-10. Trombose werd opgewekt in een halsslagader door het mechanisch verwijderen van het endotheel. P4pal-10 dat toegediend werd via een injectie in een ader voor het creëren van de vaatwand beschadiging, had geen effect op de tijd waarop de eerste plaatjes zich hechten aan de beschadigde vaatwand. Maar in tegenstelling tot de con-

Ander wereldnieuws op:

1

AUGUSTUS 2003

De ontdekking van een nieuwe bacterie

In het Monomeer, in Noord Californie, hebben twee wetenschappers, Richard Hoover en Dr. Elena Pikuta, een nieuwe bacterie ontdekt, genaamd Spirochaeta Americana. Het meer waar de bacterie gevonden is, is uniek vanwege zijn omsloten ligging nabij een vulkaan. Hoover gelooft dan ook dat het veel inzicht kan verschaffen over potentieel leven op Mars. Het micro-organisme, een lange, dunne bacterie, kan overleven in de moeilijkste en zwaarste condities op aarde. Hoewel er verschrikkelijk veel bacteriën bestaan, zijn er op het moment zo'n 6000 onderzocht, beschreven en genaamd. Slechts een heel klein deel daarvan kan overleven in condities waarin elke andere vorm van leven onmogelijk zijn.

trole muis werd geen aangroei

van de trombus in de P4pal-10 behandelde muizen

waargenomen. Deze waarnemingen lijken ons vermoeden te bevestigen dat intracellulaire PAR-1 (bij de mens) en PAR-4 (bij de muis) antagonisten een antitrombotische werking hebben met behoud van een ongestoord haemostase proces. Het in vivo onderzoek zal afgerond worden met een trombosemodel in de micro-circulatie.

In de verslagperiode werd ook een begin gemaakt met het operationeel maken van een in vitro systeem met endotheelcellen (HUVEC) waarmee de effecten van P1pal-12 op de trombine-geïnduceerde expressie van P-selectine kunnen worden bestudeerd. P-selectine speelt een belangrijke rol in de initiatie van trombose in aders en slagaders.

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

Dit project levert een bijdrage aan het identificeren van trombine ontvangers op bloedplaatje die betrokken zijn bij het trombose proces. Het onderzoek richt zich voornamelijk op het beantwoorden van de vragen: "wanneer en in welke mate zijn deze receptoren actief bij trombus vorming als gevolg van het beschadigen van een bloedvat (een ader of een slagader). Belangrijk gereedschap in dit onderzoek zijn de selectieve remmers van de trombine ontvangers afhankelijke activering van bloedplaatjes. Ons doel is om deze remmers te ontwikkelen en te testen in de reageerbuis, dat heet in vitro, maar ook in vivo zoals bijvoorbeeld in muizen. De inzichten die we hierdoor krijgen, kunnen op hun beurt weer gebruikt worden voor het ontwikkelen van effectieve middelen tegen trombose.

Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

Simone JH Wielders, Suzette Béguin, H. Coenraad Hemker, and Theo Lindhout.

Factor XI-dependent reciprocal thrombin generation consolidates blood coagulation when tissue factor is not available. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1138-1142.

Jeffrey FW Keuren, Simone JH Wielders, Edouard M Bevers, Tilman Hackeng, Johan WM Heemskerk and Theo Lindhout. Synergistic Effect of Thrombin on Collagen-Induced Platelet Procoagulant Activity Is Mediated Through Protease-Activated Receptor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 Apr 21; [Epub ahead of print]

2003.3

Identificatie van een receptor betrokken bij fibrine gemedieerde aggregatie van bloedplaatjes onafhankelijk van integrine α IIb β 3

Projectleider:	dr. T. Lisman
Instelling:	Universitair Medisch Centrum Utrecht
Subsidiebedrag:	€ 106.287,-
Start van het onderzoek:	1 januari 2004
Duur van het onderzoek:	2 jaar

wordt. Het blijft dan nog mogelijk de rest van het bloedplaatje op andere manieren te activeren. De functie van het bloedplaatje wordt dus niet volledig lam gelegd. Dit betekent dat de kans op bloedingen die samenhangen met deze anti-trombotische behandeling potentieel lager is ten opzichte van reeds toegepaste behandelingsmethoden.

Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

Weeterings C, Adelmeijer J, Myles T, de Groot PG, Lisman T. Glycoprotein Ib α -mediated platelet adhesion and aggregation to immobilized thrombin under conditions of flow. Een abstract is geaccepteerd voor een posterpresentatie op het ISTH 2005 congres in Sydney, Australië. Het manuscript is aangeboden ter publicatie.

Ander wereldnieuws op:

1
JANUARI 2004

Musharraf president

President Gen Pervez Musharraf heeft de stemming over zijn aanstelling, uitgevoerd door het parlement, gewonnen en is benoemd tot president. De achterhaalde stemming, toegestaan vanwege een nieuw aangenomen wet, legitimeert Musharraf's eerdere presidentschap van 14 maanden. De grootste oppositiepartij, Bond voor herstelling van de Democratie en Kleine oppositiepartijen boycotten de stemming. Musharraf wint de stemming met een meerderheid van 56 procent, op voorwaarde dat hij instemt met het aftreden als legeraanvoerder voordat het jaar om is.

Vraagstelling onderzoek:

Het aan elkaar vast gaan zitten van bloedplaatjes (aggregatie) speelt een essentiële rol in bloedstelping (hemostase) en trombose. Vroeger werd gedacht dat aggregatie van bloedplaatjes uitsluitend verloopt via een eiwit op het oppervlak van het bloedplaatje (receptor) genaamd α IIb β 3. In vooronderzoek hebben we echter laten zien dat er een andere manier bestaat voor aggregatie. Dit gebeurt onafhankelijk van α IIb β 3. Dit is nooit eerder ontdekt omdat voor deze manier van aggregatie de vorming van het enzym trombine nodig is. De aggregatie van bloedplaatjes op de klassieke manier vindt namelijk plaats onder omstandigheden waar trombine zich niet kan vormen. In dit project zoeken we naar de receptor op de bloedplaatjes die verantwoordelijk is voor aggregatie onafhankelijk α IIb β 3.

Welke delen van de vraagstelling werden in het jaarverslag beantwoord?

Door middel van biochemische technieken is geprobeerd de receptor te isoleren die betrokken is bij aggregatie zonder α IIb β 3. Helaas is het tot nu toe nog niet gelukt deze receptor te identificeren. Gedurende onze studies stuitte we echter bij toeval op een ander mechanisme waar trombine bijdraagt aan de vorming van een prop met bloedplaatjes. Trombine vervult een aantal belangrijke functies in trombose en hemostase, zoals het activeren van bloedplaatjes en de vorming van fibrine. Het laatste is een moleculair spinnenweb wat de prop met bloedplaatjes steviger maakt. De combinatie van een prop bloedplaatjes en een fibrine netwerk zorgt dat een beschadigde vaatwand definitief gesloten wordt. In het huidige project hebben we kunnen aantonen dat trombine niet alleen bijdraagt aan het vormen van een prop bloedplaatjes, maar dat trombine ook in staat is om bloedplaatjes te sturen naar de plaats van de vaatwand beschadiging. Wanneer bloed namelijk geleid wordt over een dekglasje waarop trombine geïmmobiliseerd is, zien we de vorming van een stabiele prop bloedplaatjes. Ook trombine gebonden aan fibrine draagt bij aan het verkleven van bloedplaatjes. De observatie dat trombine een adhesief eiwit voor bloedplaatjes is, is nieuw en verassend omdat trombine een oplosbaar eiwit is. Bekende adhesieve eiwitten zijn in het algemeen componenten van de extracellulaire matrix (bijvoorbeeld collageen). We hebben kunnen laten zien dat de adhesieve eigenschappen van trombine veroorzaakt worden door de binding van de receptor glycoproteïne Ib op het bloedplaatje aan het trombine.

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

Een beter begrip van de mechanismen waarmee bloedplaatjes aan een beschadigde vaatwand en aan elkaar hechten is essentieel voor het ontwikkelen van nieuwe medicamenten tegen trombose. In dit onderzoek hebben we laten zien dat trombine in staat is bloedplaatjes aan te trekken via het zogenaamde glycoproteïne Ib dat zich op het bloedplaatje bevindt. We stellen voor dat het blokkeren van de binding tussen trombine en glycoproteïne Ib een mogelijk nieuwe manier van het behandelen van (arteriële) trombose is. Een potentieel voordeel van deze anti trombotische behandeling, ten opzichte van de reeds bestaande behandelingen, is dat slechts één specifiek aspect van het bloedplaatje geremd



Afgeronde projecten in 2004

2003.4

Nature and relevance of the instability of activated thrombin-activatable fibrinolysis Inhibitor

Projectleider:	dr. J.C.M. Meijers
Instelling:	Academisch Medisch Centrum Amsterdam
Subsidiebedrag:	€ 101.070,-
Start van het onderzoek:	1 september 2003
Duur van het onderzoek:	2 jaar

Vraagstelling in het onderzoek:

Een hartinfarct of een beroerte zijn het gevolg van afsluitingen van bloedvaten door bloedstolsels. Deze afsluitingen veroorzaken weefselbeschadiging in het hart of de hersenen. Bij het ontstaan van een stolsel ofwel trombus, speelt het bloedstolling-systeem een belangrijke rol. Onder normale omstandigheden worden stolsels (trombi) opgelost door een natuurlijk voorkomend afbraaksysteem, de fibrinolyse. De bloedstolling en de fibrinolyse moeten dus goed op elkaar zijn afgestemd. Indien dit niet het geval is, dan kan een trombose of juist een bloeding ontstaan. TAFI (Trombine-actieveerbare fibrinolyse remmer) is een eiwit dat deze balans bewaakt. De actieve vorm van TAFI, TAFIa, remt het oplossen van een stolsel. Op deze manier voorkomt het dat een stolsel te vroeg weer afgebroken wordt. TAFIa wordt echter spontaan inactief. Het is alleen niet duidelijk hoe dit gebeurt. Het doel van dit onderzoek is uit te zoeken welk deel van TAFI regelt of TAFIa actief dan wel inactief is.

Welke delen van de vraagstelling werden in het jaarverslag beantwoord?

TAFI circuleert in de bloedstroom als een pro-enzym dat niet actief is. Het wordt pas actief wanneer het bloedstolling-systeem veel trombine heeft gevormd. Trombine knipt een stukje van TAFI af, waardoor het actieve TAFIa overblijft. TAFIa is een labiel enzym. Onderzoek uit het verleden heeft aangetoond dat de activiteit van TAFI verdwijnt als het van vorm verandert. We weten alleen niet wat die vormverandering precies inhoudt en ook niet welke bouwstenen (aminozuren) van TAFI hierbij betrokken zijn.

In het lichaam zijn andere eiwitten aanwezig die erg op TAFI lijken, bijvoorbeeld het carboxypeptidase B (CPB) uit de alvleesklier. Er blijkt echter één groot verschil tussen TAFI en dit CPB te zijn. CPB is, in tegenstelling tot TAFIa, een stabiel enzym. Van CPB is de



driedimensionale structuur opge-

helderd en met deze structuur is een model van TAFI

gemaakt. Berekeningen aan dit model wekten de suggestie dat de aminozuren isoleucine 182 en 183 belangrijk zouden kunnen zijn bij het inactief worden van TAFIa. Daarom hebben we een mutant eiwit gemaakt waarin deze aminozuren veranderd zijn in aminozuren die CPB op diezelfde posities heeft. Dit leidde echter niet tot een stabiel TAFIa, maar wel tot een TAFI vorm die moeilijker geactiveerd kon worden. Blijkbaar zijn aminozuur 182 en 183 betrokken bij het actief worden van TAFI in plaats van het inactief worden van TAFIa.

Daarnaast hebben we gekeken of er gebieden zijn in TAFI die heel anders zijn opgebouwd dan overeenkomende gebieden in CPB. We hebben twee van deze gebieden gekozen. Het zijn aminozuur 293 tot 333 en aminozuur 293 tot 401, het laatste aminozuur van TAFI. In deze gebieden hebben we alle aminozuren van TAFI die afweken van de corresponderende aminozuren van CPB, vervangen door die van CPB. Vervanging van aminozuur 293 tot 333 resulteerde in een nog labiel TAFIa dan normaal. Door aminozuur 293 tot 401 te vervangen door CPB aminozuren konden we inderdaad een stabiel TAFIa maken. We weten nu dus dat het laatste deel van TAFI erg belangrijk is bij het inactief worden van TAFIa.

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

TAFIa is betrokken bij het regelen van de stolselvorming en het afbreken van stolsels. Deze balans kan verstoord zijn. Wanneer een stolsel niet op tijd wordt afgebroken kan het een bloedvat afsluiten zodat bijvoorbeeld hersenweefsel wordt beschadigd of een hartinfarct optreedt. Ook het omgekeerde kan gebeuren. Een stolsel wordt te snel afgebroken waardoor een bloeding kan optreden. Door aan te grijpen op TAFIa kan de gezonde balans weer hersteld worden. Een stabiel TAFIa zal een stolsel beter beschermen tegen afbraak en dus een neiging tot bloeden voorkomen. Het minder stabiel maken van TAFIa kan aan de andere kant gewenst zijn, indien een stolsel te lang blijft zitten, zoals bij trombose het geval is. Het is dan ook uiterst belangrijk dat we goed begrijpen hoe TAFI werkt en hoe het actief en niet actief wordt. Dan kunnen we hierop aangrijpen als het nodig is.

Dit onderzoek heeft niet alleen aangetoond dat de aminozuren 182 en 183 een rol spelen bij het actief worden van TAFI, maar ook dat het laatste deel van TAFI belangrijk is voor de stabiliteit van het actieve TAFIa. Het verder ophelderen van het mechanisme dat leidt tot activiteit en inactiviteit van TAFIa kan belangrijk zijn voor het ontwikkelen van nieuwe behandelstrategieën om een verstoorde balans tussen het stollen van bloed en het afbreken van bloedstolsels te herstellen.

Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

P.F. Marx, S.R. Havik, J.A. Marquart, B.N. Bouma, J.C.M. Meijers (2004) Generation and characterization of a highly stable form of activated thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. *J. Biol. Chem.* 279:6620-6628.

P.F. Marx, S.R. Havik, B.N. Bouma, J.C.M. Meijers (2005) Role of isoleucine residues 182 and 183 in thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. *J. Thromb. Haem.* 3, 1293-1300.

2001.1

Hoog factor VIII en trombose: de rol van het vaatwandendotheel

Projectleider:	dr. J.A. van Mourik, dr. J. Voorberg
Instelling:	Stichting Sanquin Bloedvoorziening Amsterdam
Subsidiebedrag:	€ 199.370,-
Start van het onderzoek:	1 augustus 2002
Duur van het onderzoek:	2 jaar

Ander wereldnieuws op:

1
AUGUSTUS 2002

Vulkaan op Hawaï leeft op

Uit het hoogste punt van de vulkaan Kilavea op Hawaï, Pūʻu Ōʻo, stroomt via ondergrondse tunnels rechtstreeks lava in zee. Het gevolg is dat aan de oostkant van de vulkaan in zee nieuw land ontstaat. Wetenschappers van het Amerikaanse Geological Survey's Hawaiian Observatory (USGS) maken met behulp van digitale camera's en laptops films. Het gehele eiland van Hawaï ligt boven een zogeheten hot-spot, een ideale plek voor deskundigen om studies te doen. De vulkaan Kilavea magmastromen en aardbevingen worden allemaal gemeten. De vulkaan Kilavea is de jongste en actiefste vulkaan van Hawaï. Sinds 1952 is hij al 34 keer uitgebarsten en is continu actief sinds 1983.

Vraagstelling in het onderzoek:

Verhoogde concentraties van plasma factor VIII zijn een belangrijke risicofactor voor veneuze trombose. Op dit moment is niet duidelijk welke mechanismen aan verhoogde factor VIII spiegels ten grondslag liggen. Op theoretische gronden kunnen verhoogde factor VIII spiegels veroorzaakt worden door een verhoogde synthese of verminderde klaring van factor VIII. In de circulatie wordt klaring en/of afbraak van factor VIII gereguleerd door von Willebrand factor (VWF). Dit eiwit wordt gesynthetiseerd door endotheelcellen, die de bekleding van de vaatwand vormen. Activering van endotheelcellen resulteert in een verhoogde synthese van VWF en dit kan op indirecte wijze resulteren in verhoogde factor VIII spiegels. Binnen dit onderzoek is bestudeerd of activering van endotheelcellen een rol speelt bij veneuze trombose.

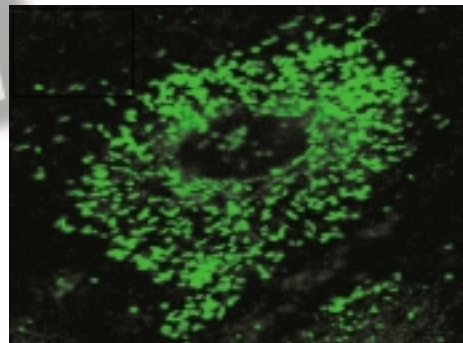
Welke delen van de vraagstelling werden in het jaarverslag beantwoord?

Activering van vasculaire endotheelcellen

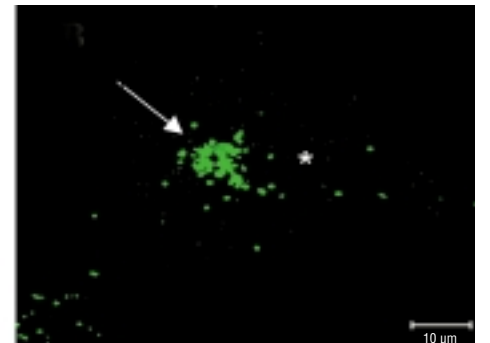
De bekleding van de vaatwand wordt gevormd door vasculaire endotheelcellen. Vasculaire endotheelcellen kunnen worden geactiveerd door trombine en de hormonen adrenaline en vasopressine. Endotheelcellen bevatten opslagorganellen, die Weibel-Palade bodies genoemd worden (zie figuur 1A). Na het activeren van endotheelcellen komt de inhoud van deze opslagorganellen in de bloedbaan terecht. Eén van de eiwitten die zich in de Weibel-Palade bodies bevinden is von Willebrand factor (VWF). Dit eiwit is betrokken bij het samenklonteren van bloedplaatjes aan een beschadigde vaatwand. Een andere belangrijke rol van VWF is de bescherming van factor VIII tegen afbraak en/of klaring. VWF levert op deze wijze een indirecte bijdrage aan de regulering van factor VIII spiegels in de circulatie.

In dit project is het mechanisme van de activering van endotheelcellen door de hormonen adrenaline en vasopressine bestudeerd. Vanuit ons vooronderzoek is bekend dat het kleine GTP bindend eiwit Ral betrokken is bij uitscheiding van VWF vanuit Weibel-Palade bodies. Ral functioneert hierbij als een moleculaire schakelaar die aangezet wordt wanneer endotheelcellen geactiveerd worden door trombine. Als de schakelaar 'aan' staat kan secretie van VWF plaatsvinden. Wanneer echter de schakelaar 'uit' staat vindt geen secretie van VWF plaats. In dit project hebben wij aangetoond dat de moleculaire schakelaar Ral ook na activering van endotheelcellen door adrenaline aangezet wordt.

Verscheidende studies hebben aangetoond dat na een periode van inspanning of stress een verhoogde concentratie van VWF in de circulatie aanwezig is. In dit project hebben wij aangetoond dat na stimulatie van endotheelcellen met adrenaline een deel van de Weibel-Palade bodies niet uitgescheiden worden maar in de endotheelcel aanwezig blijft. In de endotheelcellen worden clusters van deze organellen gevormd die zich vlak bij de kern bevinden (zie figuur 1B). Na stimulatie van endotheelcellen met adrenaline wordt een deel van de Weibel-Palade bodies aan het secretie-proces onttrokken. Hierdoor behouden endotheelcellen de mogelijkheid om adequaat op nieuwe signalen vanuit de bloedbaan te reageren.



Figuur A



Figuur B

(A) Opname van longendothelcel aangekleurd voor VWF. De langwerpige organellen die in groen zijn weergegeven zijn opslag organellen voor VWF, de zogenaamde Weibel-Palade bodies. Na stimulatie met vasopressine en/of adrenaline wordt een deel van de organellen uitgescheiden in de bloedbaan. Een ander deel van de organellen beweegt zich naar een gebied vlakbij de kern van de endotheelcel. In panel B is deze clustering van Weibel-Palade bodies na stimulatie met adrenaline weergegeven. De ontstane clusters (aangegeven met een pijl) bevinden zich vlakbij de kern (aangegeven met een *).

Effect van de bètablokker propranolol op activering van endotheelcellen 'in vivo'

Eerdere studies hebben laten zien dat de bètablokker propranolol een daling van factor VIII spiegels bij patiënten met veneuze trombose geeft. Tot nu toe is er nog geen verklaring gevonden voor dit effect van propranolol. Onze hypothese was dat propranolol de activering van endotheelcellen verhindert waardoor er in de circulatie lagere spiegels van VWF en factor VIII aanwezig zijn. Activering van endotheelcellen kan geïnduceerd worden door toediening van de synthetische vasopressine analoog DDAVP. In dit project is het effect van de bètablokker propranolol op de DDAVP-geïnduceerde activering van endotheelcellen in gezonde vrijwilligers bepaald. Er werden geen significante effecten waargenomen van propranolol op de DDAVP-geïnduceerde stijging van VWF spiegels in plasma. Ook spiegels van factor VIII werden niet beïnvloedt. Deze waarneming geeft aan dat propranolol geen effect heeft op de DDAVP-geïnduceerde activering van endotheelcellen. Verder onderzoek is noodzakelijk om de precieze oorzaak van de propranolol-geïnduceerde daling van factor VIII spiegels bij patiënten met veneuze trombose te achterhalen.

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

Het in het kader van dit project uitgevoerde onderzoek heeft geleid tot een beter begrip van de mechanismen die ten grondslag liggen aan verhoogde spiegels van factor VIII die worden aangetroffen bij patiënten met veneuze trombose. Daarnaast heeft dit onderzoek geresulteerd in uitbreiding van onze kennis met betrekking tot de activering van endotheelcellen.

Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

Rondaj MG, Sellink E, Gijzen K, ten Klooster J-P, Hordijk PL, van Mourik JA, Voorberg J. (2004) Small GTP binding protein Ral is involved in cAMP-mediated release of VWF from endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 24, 1315-1320.

Rondaj MG, Bierings R, Gijzen K, van Mourik JA, Fernandez-Borja M, Voorberg J. Dynein/dynactin complex is involved in protein kinase A dependent clustering of Weibel-Palade bodies. Submitted for publication.

Romani de Wit T, Rondaj MG and van Mourik JA (2004) Weibel-Palade bodies: unique secretory organelles within endothelial cells. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 148, 1572-1577 (review).

Afgeronde projecten in 2004

2001.3

Klinische validatie van een nieuw doseer algoritme voor orale antistolling

Projectleider:	prof. dr. F.R. Rosendaal
Instelling:	Leids Universitair Medisch Centrum
Subsidiebedrag:	€ 103.447,-
Start van het onderzoek:	1 september 2001
Duur van het onderzoek:	3 jaar

Vraagstelling onderzoek:

Onderzoeken hebben aangetoond dat door zogenaamde doseringsalgoritmes te gebruiken een minstens even goede en wellicht hogere kwaliteit van antistollingsbehandeling bereikt kan worden dan met de klassieke handmatige dosering door artsen. De bestaande doseringsalgoritmes hebben echter een groot nadeel. Ze worden namelijk gemaakt met een simpele formule waardoor maar bij zo'n 50% van de patiënten een doseringsvoorstel gedaan kan worden. Een van deze bestaande algoritmes heet TRODIS. Er is nu een nieuw doseringsalgoritme ontwikkeld en dat heet ICAD. Dit algoritme kan aan bijna alle patiënten een doseringsvoorstel geven. De hoofdvraag van dit onderzoek is: "Kan het doseringsalgoritme ICAD een even goede of zelfs hogere kwaliteit van behandeling geven ten opzichte van dosering met het bestaande algoritme TRODIS?"

Welke delen van de vraagstelling werden in het jaarverslag beantwoord?

In totaal hebben 712 patiënten deelgenomen aan dit onderzoek. Loting heeft bepaald dat 353 patiënten een jaar lang zijn gedoseerd met behulp van TRODIS en 359 met behulp van het nieuwe ICAD. De gemiddelde leeftijd van de patiënten was 65 jaar en 67% van hen was man.

De kwaliteit van de antistollingsbehandeling bij het gebruik van ICAD was gelijk aan de kwaliteit van de behandeling met het TRODIS algoritme. Gemiddeld waren patiënten 80% van de tijd binnen de INR-streefwaarden. Beiden groepen verschilden niet wanneer het ging om het vóórkomen van een te hoge of een te lage INR.

Ook is gekeken naar de gemiddelde tijd tussen twee INR controles als maat voor de kwaliteit van de antistollingsbehandeling. Hier is eveneens geen verschil gevonden tussen de beide groepen. Gemiddeld was

Ander wereldnieuws op:

1

SEPTEMBER 2001

Ruud van Nistelrooy

Op 1 september 2001 is Ruud van Nistelrooy officieel aangesteld als ambassadeur van 'FIFA voor SOS Kinderdorpen' in Nederland. De speler van Manchester United en spits het Nederlands elftal, heeft de taak gekregen om het werk van SOS Kinderdorpen dichterbij de wereld van voetbal te brengen. Van Nistelrooy kwam in 1998 voor het eerst in contact met SOS Kinderdorpen toen hij er een bezocht in Roemenie. "Ik was erg onder de indruk door het zien van al die spelende kinderen. Ondanks hun moeilijke verleden zijn ze erg positief." Toen SOS Kinderdorpen hem benaderde of hij de rol van ambassadeur op zich wilde nemen, hoefde hij niet lang na te denken: "Hoewel ik het erg druk heb, maak ik graag een uitzondering voor SOS Kinderdorpen!"

de tijd tussen twee INR controles in de ICAD groep 20 dagen en in de TRODIS groep 19 dagen.

Het ICAD algoritme was in staat om bij 99,3% van de te controleren patiënten een doseringsvoorstel te doen. 97% van de voorstellen werd door de doserend arts goedgekeurd en geaccepteerd. In de TRODIS groep werd minder vaak een doseringsvoorstel gedaan door het algoritme. In 61% van de INR controles deed het doseringsalgoritme een voorstel. In de overige gevallen moest handmatig door de arts gedoseerd worden. Van de voorstellen die het TRODIS doseringsalgoritme deed, werd 5% afgekeurd door de arts.

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

Antistollingsmedicijnen hebben een kleine werkingsbreedte, met een risico op trombose bij een te zwak en een risico op bloedingen bij een te sterk effect. Daarnaast is sprake van grote verschillen in gevoeligheid voor antistollingsmedicijnen tussen patiënten onderling en in patiënten zelf. Deze punten maken het lastig om de goede dosering te bepalen. Een doseringsalgoritme kan de doserend arts helpen om de juiste dosering te bepalen.

Dit onderzoek heeft laten zien dat het mogelijk is om met het ICAD algoritme in bijna alle gevallen een acceptabel doseringsvoorstel te doen. Het ICAD houdt rekening met de halfwaardetijd van het gebruikte antistollingsmiddel en de gevoeligheid van de patiënt. Op deze manier kan het doseren van de antistollingmedicijnen sneller en efficiënter verlopen. Het gebruik van een dergelijk algoritme leidt niet tot een verdere verbetering van de kwaliteit van de antistollingsbehandeling. Het leidt tot een behandeling met dezelfde kwaliteit als met een simpel doseringsalgoritme en handmatig doseren door de arts maar met een hogere efficiency.

Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

Pasterkamp E, Kruijthof CJ, Van der Meer FJM, Rosendaal FR, Vanderschoot JPM. A model-based algorithm for the monitoring of long-term anticoagulation therapy. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 915 - 921.

Andere manuscripten zijn in voorbereiding

2001.4

Microbepalingen van aPTT en PT/INR bij jonge zuigelingen

Projectleider:	dr. M. Peters
Instelling:	Emma Kinderziekenhuis Amsterdam
Subsidiebedrag:	€ 9.117,26,-
Start van het onderzoek:	1 juli 2002
Duur van het onderzoek:	2 jaar

Gemiddelde waarde van de INR bedroeg met:

methode A: 1,34 (SD 0,6);

methode B: 1,02 (SD 0,4) en

methode C: 1,4 (SD 0,8).

De correlatie tussen methode A en B was zeer goed en bedroeg 0,96. De proportie van twee bepalingen die binnen 0,5 INR eenheden lag was 91,3%. De bias is $0,31 \pm 0,5$.

De correlatie tussen methode A en C was goed en bedroeg 0,889. De proportie van twee bepalingen die binnen 0,5 INR eenheden lag was 82,9%. De bias is $-0,07 \pm 0,7$.

2. aPTT test (screening test en test om heparine te monitoren)

Methode A: Routine bepaling uit 1,3 ml veneus bloed.

Methode B: Microbepaling uit 50uL veneus bloed.

Gemiddelde waarde van de aPTT bedroeg met:

methode A: 42,3 sec. (SD 15,5 sec) en

methode B: 35 sec (SD 17,3).

De correlatie tussen deze 2 bepalingen was goed en bedroeg 0,88. De bias is $7,3 \pm 15,9$.

3. PT test (screening test)

Methode A: Routine bepaling uit 1,3 ml veneus bloed.

Methode B: Microbepaling uit 50ul veneus bloed

Methode C: Microbepaling uit 50ul capillair bloed via vinger of hielprik

Gemiddelde waarde van de PT bedroeg met:

methode A: 14,7 (SD 2,7);

methode B: 12,1 (SD 1,8) en

methode C: 13,2 (SD 4,4).

De correlatie tussen methode A en B was zeer goed en bedroeg 0,8. De bias is $2,6 \pm 3,6$.

De correlatie tussen methode A en C was redelijk en bedroeg 0,67. De bias is $1,5 \pm 6,4$.

Conclusie

Het geteste apparaat (Rapidpoint Coag) heeft een acceptabele accuraatheid voor het meten van INR en PT in een kleine hoeveelheid volbloed verkregen via een hiel- of vingerprik. Hierdoor kunnen nu ook bij jonge zuigelingen die een antistollingsmiddel gebruiken, de noodzakelijke en frequente bloedcontroles zonder technische problemen en zonder ongemak voor de baby verricht worden. Ook het thuis controleren van antistolling is hierdoor mogelijk. Dit onderzoek laat verder zien dat de algemene stollingstesten (aPTT/INR/PT) uit slechts 50uL veneus citraat bloed betrouwbaar bepaald kunnen worden met microbepalingen. Het grote voordeel is dat deze testen bij ernstig zieke zuigelingen, direct aan het bed verricht kunnen worden. Indien afwijkingen worden gevonden, kan uit het restant van het bloed een uitgebreid stollingsonderzoek ingezet worden zonder dat de zuigeling nog een keer geprikt hoeft te worden. Binnenkort wordt deze methode geïmplementeerd op de Neonatale Intensive Care afdeling van het AMC.

Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

Geen

Ander wereldnieuws op: **1**

JULI 2002

Botsing tussen twee vliegtuigen boven Uberlingen
Op 1 juli 2002 botsten een passagiersvliegtuig van Bashkirian Airlines en een Boeing 757 goederenvliegtuig boven het plaatsje Uberlingen in Zuid-Duitsland op elkaar. 71 mensen kwamen daarbij om het leven.

In het rapport waarin de oorzaak van het ongeluk bekend is gemaakt zijn meerdere aanbevelingen gedaan over het veiliger maken van het regelen van het vliegverkeer. Een groot deel is direct gericht tot de Zwitserse SkyGuide, die het systeem direct verbeterd hebben. Het personeel heeft verzekerd de aanbevelingen op te volgen en uit te voeren, zodat een ongeluk als dit zich nooit meer voordoet.

Vraagstelling onderzoek:

Zijn de uitslagen van de stollingsbepalingen aPTT en PT/INR, verkregen via microbepalingen in bloed uit een vinger- of hielprik, vergelijkbaar met de uitslagen verkregen via de standaardbepalingen bij gezonde en zieke zuigelingen die jonger zijn dan 6 maanden?

Welke delen van de vraagstelling werden in het jaarverslag beantwoord?

Met de huidige routine stollingsbepaling is minimaal 1,3 ml veneus bloed nodig voor de stollingstesten aPTT, PT en INR. Indien een afwijking gevonden wordt, is nogmaals 2-4 ml nodig om onderzoek te doen naar de hoeveelheid stollingseiwitten in het bloed. Dit bloed wordt verkregen via een venapunctie = prik in de ader. Bij zieke kinderen en bij kinderen die behandeld worden met antistollingsmiddelen i.v.m. een trombose of een hartafwijking is frequent onderzoek naar de bloedstolling noodzakelijk. Bij jonge zuigelingen is het doen van stollingsonderzoek een tijdrovend en moeizaam proces. Ten eerste is het technisch moeilijk om bij jonge zuigelingen bloed via een venapunctie te verkrijgen. Ten tweede hebben zuigelingen een gering circulerend bloedvolume, waardoor de hoeveelheid bloed dat afgenomen kan worden, beperkt is. Microbepalingen uit kleine hoeveelheden bloed (50uL), verkregen uit een vinger- of hielprik, heeft voor deze groep patiënten zeer grote voordelen. Bij volwassenen is reeds aangetoond dat deze microbepalingen goed vergelijkbaar zijn met de routine bepalingen. Bij jonge zuigelingen is het noodzakelijk om dit apart te onderzoeken. De samenstelling en de hoeveelheid stollingseiwitten is niet te vergelijken met die bij volwassenen. De betrouwbaarheid zou dan beïnvloed kunnen worden. Eén van de apparaten die microbepalingen kan uitvoeren, is de Rapidpoint Coag. Dit onderzoek maakt gebruik van dit apparaat.

Na schriftelijke en mondelinge toestemming van de ouders zijn 60 zuigelingen (jonger dan 6 maanden) geïnccludeerd in het onderzoek. Van deze groep gebruikten 21 zuigelingen een vorm van antistolling (11 sintromitis en 14 heparine). 17 Zuigelingen werden pre-operatief onderzocht en er waren 22 zieke zuigelingen met sepsis of leverfalen. Bij deze 60 zuigelingen werd met een venapunctie bloed afgenomen en opgevangen in een buisje met citraat. De aPTT, PT/INR werden m.b.v. de conventionele testen in het laboratorium bepaald. Ook werden uit 1 druppel veneus afgenomen citraatbloed, microbepalingen verricht van aPTT, PT/INR met behulp van de Rapidpoint Coag. Verder werd bij deze kinderen bloed afgenomen d.m.v. een hiel- of vingerprik en werd uit volbloed de microbepalingen van aPTT, PT/INR met behulp van de Rapidpoint Coag verricht.

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

De resultaten van het onderzoek zijn als volgt:

1. INR test (test om effectiviteit van orale antistolling te controleren)
 - Methode A: Routine bepaling uit 1,3 ml veneus bloed.
 - Methode B: Microbepaling uit 50ul veneus bloed
 - Methode C: Microbepaling uit 50ul capillair bloed via vinger of hielprik

Afgeronde projecten in 2004

2002.2

Identification of an endocytic receptor for anticoagulant protein S

Projectleider:	dr. P.J. Lenting
Instelling:	Universitair Medisch Centrum Utrecht
Subsidiebedrag:	€ 102.747,-
Start van het onderzoek:	1 februari 2003
Duur van het onderzoek:	2 jaar

Vraagstelling onderzoek:

Als de concentraties van het antistollings-eiwit proteïne S in het bloed te laag zijn, kan dit leiden tot een verhoogde kans op trombose. Een mogelijkheid om te lage concentraties te verhogen, is het mechanisme te blokkeren dat verantwoordelijk is voor het verdwijnen van proteïne S uit het bloed. Door zo'n blokkade kan proteïne S langer in de circulatie blijven, en worden de concentraties opgekrikt. In ons onderzoek zijn we begonnen met de speurtocht naar dit eiwit, en de resultaten hiervan zijn hieronder beschreven.

Welke delen van de vraagstelling werden in het jaarverslag beantwoord?

Proteïne S is een plasma-eiwit dat betrokken is bij het antistollingsmechanisme in het bloed. Wanneer er geen of weinig proteïne S is, dan is er sprake van een verhoogd risico op trombotische complicaties. Hoe de plasmaconcentraties van proteïne S worden gereguleerd is vooralsnog onduidelijk. Het ligt voor de hand dat de verwijdering van proteïne S uit het bloed hier ook een rol in speelt. Ons onderzoek is erop gericht geweest meer inzicht te krijgen in het mechanisme waarmee proteïne S uit het bloed wordt gehaald (dit wordt ook wel het klaringsproces genoemd). Hiervoor hebben we allereerst gebruik gemaakt van een muismodel. Uit deze experimenten met muizen bleek dat vooral het C4b-bindingseiwit (C4BP) een belangrijke rol speelt bij de overleving van proteïne S in het bloed. In de normale circulatie is ongeveer de helft van het proteïne S aan C4BP gebonden. Als gevolg van deze binding kan proteïne S een deel van zijn antistollings-functies niet uitvoeren. Uit onze experimenten is nu echter gebleken, dat de binding aan C4BP de overleving van proteïne S in het bloed ongeveer 4-maal verlengt. Dus, C4BP heeft een beschermende rol. In dezelfde experimenten hebben we ook onderzocht waar proteïne S nu precies uit het bloed wordt verwijderd; welk orgaan is hier nu verantwoordelijk voor? Hoewel in de meeste organen wel kleine beetjes proteïne S konden worden teruggevonden, bleek de lever veruit het belangrijkste orgaan te zijn die proteïne S uit het bloed filtert.

Met behulp van de informatie uit deze proefdierexperimenten hebben we een modelsysteem opgezet, waarin we het wegvangen van proteïne S in het laboratorium konden nabootsen. Hiertoe zijn we een specifieke groep cellen gaan kweken, waarvan we weten dat soortgelijke cellen ook in de lever voorkomen. Deze cellen, macrofagen, staan bekend om hun vermogen om heel veel en heel makkelijk allerlei eiwitten en andere componenten uit het bloed te verwijderen; zeg maar: de afvalcontainers van het bloed. Deze macrofagen bleken ook heel efficiënt proteïne S te kunnen opnemen en afbreken. En net zoals in de muizen, was deze opname en afbraak sterk verminderd wanneer naast proteïne S ook C4BP werd toegevoegd. Dus, we hebben nu een systeem ontwikkeld waarin we zonder proefdieren kunnen nagaan wat de macrofagen nu in staat stelt om proteïne S op te eten.

In aanvulling op de experimenten met proteïne S in het muizenmodel, hebben we ook de mogelijkheid gehad om een relatief veelvoorkomende variant van proteïne S in dit model te testen. Deze variant (ie. proteïne S-Heerlen) komt voor bij 0.5 % van de populatie (ongeveer 1:200 personen). Het omvat een enkele verandering in de aminozuur volgorde van het proteïne S eiwit (een proline in plaats van een serine op positie 460). Van deze variant is bekend dat het een normale interactie met C4BP heeft, maar dat de vrije proteïne S concentraties in het plasma sterk verlaagd zijn. Met behulp van ons muizenmodel, hebben we kunnen aantonen dat proteïne S-Heerlen ruim 3-maal sneller uit de circulatie verdwijnt dan normaal proteïne S. Deze versnelde klaring van proteïne S-Heerlen kan een verklaring zijn voor de verlaagde proteïne S concentraties in individuen met dit specifieke polymorfisme.



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

De hemostase betreft een complex proces waarbij stollings- en anti-stollingsystemen met elkaar in evenwicht zijn. Verstoring van dit evenwicht door het inefficiënt opereren van één van deze systemen kan aanleiding geven tot een bloedingsneiging (dysfunctioneren stollingsysteem) of trombotische complicaties (dysfunctioneren antistollingsstelsel). Het antistollingsstelsel bestaat uit een aantal eiwit-componenten, waaronder Proteïne S. Het is inderdaad bekend dat de verlaagde plasmaconcentraties van proteïne S geassocieerd kunnen zijn met een verhoogde kans op trombose. Het mechanisme dat de plasmaconcentraties van proteïne S reguleert is tot op heden slechts schetsmatig onderzocht, en zodoende weten we er niet zoveel van. De plasmaconcentraties vormen een balans tussen de productie van proteïne S en de afvoer (i.e. klaring) van proteïne S. Ons onderzoek heeft zich gericht op het klaringsproces van proteïne S, en hiervoor zijn twee experimentele benaderingen toegepast. Ten eerste hebben wij een muizenmodel opgezet om de overleving van proteïne S te bestuderen. Dit model is thans toegepast om de effecten van proteïne S mutaties of het dragereiwit C4BP op de overleving te bestuderen, en het zou in de toekomst kunnen worden gebruikt om andere elementen die de overleving van proteïne S kunnen beïnvloeden te onderzoeken. Hierbij zou men kunnen denken aan componenten die de overleving van proteïne S verlengen. Zulke componenten kunnen op termijn worden toegepast om verlaagde proteïne S concentraties te normaliseren, en daardoor het trombose-risico als gevolg van de verlaagde concentraties verminderen. Verder hebben wij een modelsysteem opgezet waarmee de opname van proteïne S in het laboratorium kan worden nagebootst. Niet alleen is een dergelijk systeem belangrijk om het gebruik van proefdieren te verminderen, maar ook om een beter inzicht te krijgen in de receptoren die betrokken zijn bij de opname van proteïne S.

Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

Vooralsnog is een manuscript ter publicatie aangeboden, getiteld 'C4b-binding protein delays the increased clearance of protein S-Heerlen in an experimental mouse model', door C.V. Denis, S.J. Roberts, T.M. Hackeng en P.J. Lenting.

2002.3

Vitronectin as anti-thrombotic target

Projectleider:	Prof. dr. Ph.G. de Groot
Instelling:	Universitair Medisch Centrum Utrecht
Subsidiebedrag:	€ 108.813,-
Start van het onderzoek:	1 augustus 2002
Duur van het onderzoek:	2 jaar

Andere gebeurtenissen op:

I AUGUSTUS

10 v Chr. - De Romeinse keizer Claudius ziet het levenslicht
1137 - Koning Lodewijk VI van Frankrijk overlijdt
1774 - Het element zuurstof wordt ontdekt door Carl Wilhelm en Joseph Priestley
1831 - De London Bridge wordt geopend
1936 - De eerste moderne Olympische Spelen gaan van start in Berlijn
1936 - Mode-ontwerper Yves Saint Laurent wordt geboren
1944 - De laatste dag uit het dagboek van Anne Frank
1965 - Koningin Beatrix (toen nog prinses) kondigt haar verloving met Claus van Amsberg aan
1981 - De eerste uitzending van MTV. De eerste clip die werd uitgezonden is 'Video Killed the Radio Star' van 'The Buggles'

Vraagstelling onderzoek:

Arteriële trombose begint met de hechting van bloedplaatjes aan collageen dat na vaatbeschadiging worden geëxposeerd aan het langsstromend bloed. We hebben recentelijk gevonden dat het plasma eiwit vitronectine een belangrijke rol speelt in het goed functioneren van een bloedplaatje. In dit onderzoek willen we onderzoeken hoe vitronectine precies bijdraagt in het functioneren van een bloedplaatje. Daarnaast willen we graag weten of antistoffen tegen vitronectine of fragmenten van vitronectine in theorie kunnen dienen als bloedplaatje functie remmers, dus als nieuwe antitrombotische geneesmiddelen. Bij het begin van het onderzoek was reeds een remmende antistof (VN-18 beschikbaar).

Welke delen van de vraagstelling werden in het jaarverslag beantwoord?

De vraagstelling bestond uit 4 delen:

1 De rol van vitronectine in de opbouw van een trombus

Vitronectine, gebonden aan één bloedplaatje kan binden aan vitronectine gebonden aan een ander bloedplaatje, en op deze manier als lijm dienen tussen twee bloedplaatjes. Op deze manier wordt een plaatjes trombus gestabiliseerd. Vitronectine uit het plasma of uit de α -granula van bloedplaatjes bindt eerst aan bloedplaatjes via zijn RGD sequentie, waarschijnlijk aan GPIIb/IIIa receptor op bloedplaatjes. Door de binding aan GPIIb/IIIa wordt (plasma) vitronectine ontvouwt en komt de bindingsplaats voor interactie met een ander vitronectine molecuul vrij. Ook de interactie tussen bloedplaatjes en de vaatwand kan door een vitronectine-vitronectine interactie gestabiliseerd worden. Afwezigheid van vitronectine leidt tot instabiele en kleinere thrombi. Dit deel van het onderzoek is gepubliceerd in het tijdschrift 'Blood'.

2. De binding van vitronectine aan vitronectine

De bindingsplaatsen binnen vitronectine zijn gekarakteriseerd door experimenten met peptiden die overeenkomen met bepaalde aminozuurvolgorden in vitronectine (zie Blood artikel).

3. Expressie van vitronectine op het oppervlak van bloedplaatjes

De expressie van vitronectine op het oppervlak van plaatjes na activatie is aangetoond m.b.v. FACs experimenten. De epitoom voor ons remmende antistof VN-18 wordt geëxposeerd op bloedplaatjes, in de vaatwand wordt deze epitoom niet geëxposeerd, daar wordt de volgorde waaraan de VN-18 epitoom bindt geëxposeerd

4. Peptiden met de potentie om plaatjesadhesie te remmen

Peptiden met de sequentie die verantwoordelijk zijn voor de vitronectine-vitronectine interactie activeren vitronectine in het bloed, waardoor vitronectine gaat multimeriseren en precipiteren. Deze peptiden zijn niet te gebruiken om de rol van vitronectine te blokkeren. Het is in de tijd van dit onderzoek niet gelukt om gehumaniseerde anti-vitronectine antistoffen te maken.

Een additioneel aspect is verder onderzocht in samenwerking met de afdeling oncologie

5. De bijdrage van vitronectine in de interactie tussen bloedplaatjes en tumor cellen

Onze antistof VN-18 die de vorming van een trombus remt, remt ook de interactie van colon tumor cellen met plaatjes. Het belang van deze waarneming wordt verder onderzocht in een metastase model.

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

De vorming van een trombus is een gecompliceerd proces. Een aantal jaren geleden dachten we dat we de meeste interacties die hierbij betrokken waren wel in kaart gebracht hadden. Vooral door proeven met knock-out muizen is duidelijk geworden dat er een aantal extra interacties nodig zijn om in vivo tot een stabiele trombus te komen. Voorbeelden hiervan zijn de interactie tussen P-selectine en Glycoproteïne Ib, CD40-CD40L in relatie tot GPIIb/IIIa en ook vitronectine lijkt een rol te spelen. We moeten ons oorspronkelijk beeld over bloedplaatjes en de vorming van arteriële trombose bijstellen. Om tot een stabiele trombus te komen zijn een groot aantal additionele interacties noodzakelijk. Al deze recentelijk gekarakteriseerde interacties kunnen als potentiële aangrijpingsplaats dienen voor interventie. In dit project hebben we de rol onderzocht van vitronectine. We hebben een antistof ontwikkeld die in staat is om in in-vitro perfusie modellen trombus formatie vanuit stromend bloed te remmen. We hebben ontdekt dat hierbij een zogenaamde homotypische interactie van vitronectine een rol speelt, vitronectine gebonden aan het ene plaatje gaat een binding aan met vitronectine op het andere plaatje of met vitronectine in de vaatwand. De antistof die deze interactie remt is in potentie een antitrombotische drug, echter antistoffen zijn duur en peptiden met daarvan afgeleiden peptidometica zijn vaak een goedkoper alternatief. Onze experimenten met peptiden wier aminozuurvolgorde overeenkomt met de bindingsplaatsen in vitronectine voor de interactie tussen twee vitronectine moleculen en die in een ELISA-opzet de binding van vitronectine aan vitronectine remmen, bleken, na toevoeging aan plasma, het daarin aanwezige vitronectine te multimeriseren en precipiteren. Vitronectine is in een niet-geactiveerde vorm aanwezig in plasma, de interactie plaatsen die verantwoordelijk zijn voor de homotypische interactie binden in het plasma aan elkaar binnen hetzelfde molecuul. Toevoeging van de peptide 'opende' de vitronectine moleculen waardoor onderlinge interacties mogelijk waren. We hebben nog geprobeerd via andere technieken gehumaniseerde antistoffen te maken maar dat is tot op heden niet gelukt.

Een tweede en onverwachte ontdekking uit onze onderzoekingen was dat vitronectine ook betrokken is bij de interactie tussen bloedplaatjes en tumor cellen (colon). Antistoffen tegen vitronectine remmen deze interactie bijna volledig. De consequentie hiervan is niet duidelijk, trombose is een zeer veel voorkomende complicatie bij tumoren. In de literatuur zijn aanwijzingen dat bloedplaatjes een belangrijke rol spelen bij metastasering van tumoren. Op dit moment wordt de antistof tegen vitronectine binnen de afdeling oncologie onderzocht in metastase modellen.

Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

Wu, YP, Bloemendaal HJ, Voest EE, Logtenberg T, de Groot PhG, Gebbink MFBG & de Boer HC (2004) Fibrin-incorporated vitronectin is involved in platelet adhesion and thrombus formation through homotypic interactions with platelet associated vitronectin. Blood 104: 1034-1041

Afgeronde projecten in 2004

2003.2

De bijdrage van intravasculair weefselfactor aan arteriële trombose

Projectleider:	dr. A.C. Spek
Instelling:	Academisch Medisch Centrum Amsterdam
Subsidiebedrag:	€ 22.972,-
Start van het onderzoek:	1 september 2003
Duur van het onderzoek:	1 jaar

Vraagstelling onderzoek:

Weefselfactor de initiator van bloedstolling, komt voornamelijk voor als een soort envelop rondom de vaatwand. Hierdoor wordt de bloedstolling ten tijde van beschadiging aan de vaatwand direct geactiveerd. De afgelopen jaren is echter duidelijk geworden dat weefselfactor ook in de bloedbaan voorkomt. De relevantie van deze zogenaamde intravasculaire weefselfactor is controversieel. De doelstelling van dit project is deze controversie weg te nemen door te bepalen of weefselfactor in de bloedbaan betrokken is bij arteriële trombose.

Welke delen van de vraagstelling werden in het jaarverslag beantwoord?

Om het belang van intravasculair weefselfactor in de bloedbaan aan te tonen, was het de bedoeling gebruik te maken van muizen die in hun bloed geen weefselfactor meer tot expressie brengen. Deze muizen moesten vervolgens worden blootgesteld aan een arterieel trombose model. Dit model heeft als specifiek kenmerk dat de expressie van weefselfactor bepaald kan worden. Dit zogenaamde 'real-time intravital microscopy' model is opgezet door dr. Furie in Boston (USA). Ons model is hieraan gelieerd. Helaas bleek dat de gekozen strategie om gebruik te maken van muizen zonder weefselfactor in hun bloed niet optimaal werkte. Slechts een daling tot ongeveer 30% van normale weefselfactor niveaus kon bereikt worden. Vervolgens zijn we teruggevallen op een arbeidsintensieve al eerder beschreven methode om muizen zonder weefselfactor in het bloed te verkrijgen (Schoenmakers et al, Blood Cell Mol Dis. 32: 325-333, 2004). Tijdens die werkzaamheden is dr. Schoenmakers naar het laboratorium van dr. Furie gegaan om het arteriële trombose model te leren. Aan het eind van deze leerperiode bleek dat dr. Furie in samenwerking met dr. Mackman vergelijkbare experimenten uitvoerde met muizen die nog slechts 1% weefselfactor in

hun bloed hebben. De resultaten

van deze experimenten zijn recent beschreven (Chou et al, Blood, 2004). Zij laten zien dat weefselfactor in de bloedbaan wel degelijk een rol speelt bij arteriële trombose. Zo is de grootte van het uiteindelijke bloedstolsel gedeeltelijk afhankelijk van de aanwezigheid van weefselfactor in de bloedbaan.

Conclusie: Het is dus onomstotelijk vastgesteld dat weefselfactor in de bloedbaan van belang is bij arteriële trombose.

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

De doelstelling van dit project was onderzoeken hoe belangrijk weefselfactor in de bloedbaan is tijdens arteriële trombose. Aan het begin van het project werd de veronderstelling dat weefselfactor inactief is en geen fysiologisch belang heeft, breed gedragen. De heersende opinie was dat in de bloedbaan geen functioneel weefselfactor voorkomt. Deze breed gedragen opvatting kwam echter steeds verder onder druk te staan door nieuwe waarnemingen over het bestaan van intravasculair weefselfactor. Mede dankzij het huidige project is duidelijk dat het weefselfactor in de bloedbaan wel degelijk bijdraagt aan het ontstaan van arteriële trombose.

Algemeen werd aangenomen dat vaatwand weefselfactor de eerste starter van de bloedstolling is. Daarnaast heeft het echter ook nog een rol in het versnellen van het stollingsproces. Stolling wordt gestart door het weefselfactor / FVIIa complex op een cel in de beschadigde vaatwand. Vervolgens wordt op dezelfde cel FX geactiveerd dat resulteert in de vorming van het zogenaamde 'initiatie complex'. Vervolgens diffundeert het gevormde FXa richting bloedplaatjes voor de vorming van het 'protrombinase complex'. Dit model is echter niet te combineren met waarnemingen in proefdieren waarin men een bloedvat beschadigt en in het stromend bloed de opbouw van een trombus registreert. Hier blijkt dat direct na beschadiging van de vaatwand een kleine trombus wordt gevormd ten gevolge van het vrijkomen van vaatwand weefselfactor in de wond. Echter het vaatwand weefselfactor wordt hierdoor afgeschermd van het circulerend bloed. De diffusie van FXa wordt ernstig belemmerd en FXa is niet meer in staat de plaatjes die hechten aan het groeiende stolsel te bereiken. Het is dus onwaarschijnlijk dat vaatwand weefselfactor verantwoordelijk is voor de tweede fase in de opbouw van een trombus. Hiervoor moet een alternatieve bron van weefselfactor beschikbaar komen. Aan de eind van het huidige project kunnen we nu met redelijke zekerheid voorspellen dat dit intravasculair weefselfactor is.

Het zo ontstane model is direct van toepassing op het ontstaan van arteriële trombose. Dit proces wordt geïnitieerd door het los raken van een arteriosclerotische plaque waardoor vaatwand weefselfactor in contact komt met bloed. Er ontstaat stolling met depositie van plaatjes. Hierdoor wordt echter vaatwand weefselfactor afgeschermd van het circulerende bloed. Toevoer van intravasculair weefselfactor zorgt voor een nieuw oppervlak dat de verdere groei van de trombus bevordert.

Literatuurpublicaties tot en met het jaarverslag

Geen



De Trombosestichting Nederland zoekt regionale ambassadeurs

VOORSCHOTEN - Trombose kan iedereen overkomen, jong en oud. Bijna de helft van alle sterfgevallen in Nederland wordt primair of secundair veroorzaakt door een trombose. Dit betekent dat in principe één op de twee Nederlanders te maken krijgt met trombose.

Een grote groep Nederlanders is aangewezen op orale antistollingsmiddelen. De mate waarin hun bloed stolt, vormt een risico voor hun gezondheid. In 2004 waren 325.000 patiënten onder behandeling bij de trombose-diensten in Nederland. Het is dan ook bijna overbodig om te zeggen dat wetenschappelijk onderzoek naar de oorzaken van het ontstaan van trombose, het voorkomen van trombose en het verbeteren van behandelmethoden noodzakelijk blijft. Veel is nog onbekend over het ontstaan van trombose en de factoren die daarmee samenhangen. Hoewel we ieder jaar weer een aantal nieuwe subsidieaanvragen kunnen honoreren, blijft een groot aantal goede aanvragen zonder steun. Dit betekent dat fondsen en donateurs altijd meer dan welkom zijn. Trombose en de gevolgen zijn bij de

gemiddelde Nederlander niet zo bekend. De mate waarin andere levensbedreigende ziekten lichamelijke beperkingen geven of een langer ziekteproces met zich meebrengen maken over het algemeen een diepere indruk. Daarom kiest de Trombosestichting Nederland voor een nieuwe manier om de bekendheid met trombose te vergroten. Trombosepatiënten zijn naar onze mening bij uitstek degene die weten wat het hebben van een trombose betekent. Zij kunnen met hun ervaringen anderen vertellen over trombose. Enige tijd geleden is het idee ontstaan om regionale ambassadeurs aan te stellen.

De ambassadeurs vertegenwoordigen de Trombosestichting in hun eigen regio en zijn verantwoordelijk voor informatievoorziening en voorlichting. Tevens dragen zij actief het belang van wetenschappelijk onderzoek en de noodzaak van fondsenwerving uit. Natuurlijk kunnen ook anderen dan trombosepatiënten vol verve voorlichting geven over trombose en de doelstellingen van de Trombosestichting Nederland uitdragen.

Profiel Ambassadeurs Trombosestichting Nederland

Voor de ambassadeurs heeft de Trombosestichting Nederland een profiel opgesteld. Dit betekent dat de stichting in principe de voorkeur geeft aan kandidaten die hieraan voldoen. Ten aanzien van leeftijd en geslacht bestaat geen voorkeur. De volgende voorwaarden acht de Trombosestichting van belang:

- De ambassadeur is bekend met trombose;
- De ambassadeur is gemotiveerd bij te dragen aan het vergroten van de naamsbekendheid van de Trombosestichting Nederland;
- De ambassadeur is gemotiveerd bij te dragen aan fondsenwervende activiteiten voor wetenschappelijk onderzoek;
- De ambassadeur is gemotiveerd en in staat op eigen initiatief activiteiten te ontplooiën en deze individueel of samen met anderen uit te voeren;
- De ambassadeur is in staat deel te nemen aan bijeenkomsten die centraal in Nederland worden georganiseerd;
- De ambassadeur is voor de Trombosestichting Nederland bereikbaar als aanspreekpunt;
- De ambassadeur beschikt bij voorkeur over email.

De organisatie

De Federatie van Nederlandse Trombosediensten (FNT)

De Federatie van Nederlandse Trombosediensten werd in 1971 door 30 trombosediensten in Nederland opgericht (2005: 62 leden trombosediensten, 60 in Nederland en 2 in Spanje). De Federatie heeft als doel het werk van de aangesloten trombosediensten kwalitatief te verbeteren en de belangen van de trombosediensten te behartigen. Daarnaast stelt zij zich ten doel het wetenschappelijk onderzoek te stimuleren. In het kader van de laatste doelstelling werd in 1974 de Trombosestichting Nederland opgericht.

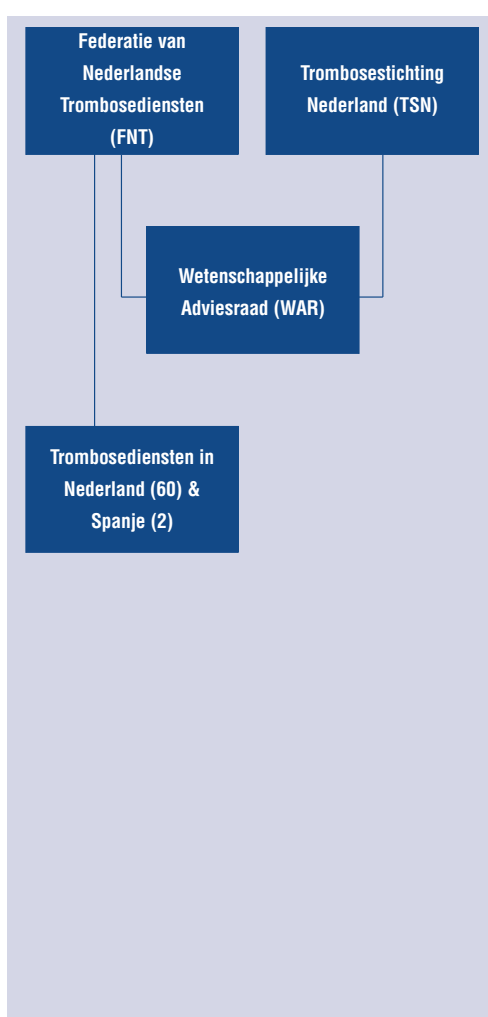
De Trombosestichting Nederland (TSN)

Het bestuur van de Trombosestichting Nederland bestaat uit acht leden. In het bestuur zijn wetenschap, communicatiedeskundigheid en kennis van recht en maatschappij vertegenwoordigd. Een breed samengestelde Wetenschappelijke Adviesraad is verantwoordelijk voor de voortgang en kwaliteit van het wetenschappelijk onderzoek.

De Trombosestichting kent de volgende doelstellingen:

1. Het stimuleren en financieren van (medisch) wetenschappelijk onderzoek op het gebied van trombose;
2. Het geven van voorlichting over trombose en de behandeling daarvan;
3. Het financieel ondersteunen van postacademisch onderwijs om jonge wetenschappers te stimuleren.

De Federatie van Nederlandse Trombosediensten en de Trombosestichting Nederland hebben gezamenlijk de beschikking over een bureau. Het bureau is gevestigd op de eerste verdieping van een bedrijfspand te Voorschoten. Bezoekadres: Krimkade 20a, 2251 KA Voorschoten



Trombose

Daar is heel goed mee te leven!



TROMBOSESTICHTING
NEDERLAND

Het is natuurlijk nooit leuk als je 't hoort. Maar vroeg of laat krijgt een op de twee mensen te maken met een vorm van Trombose. Echter, tegenwoordig is daar heel goed mee te leven. Door het wetenschappelijk onderzoek weten we nu precies hoe we je toch midden in 't leven kunnen laten staan. Met nagenoeg geen beperkingen. De Trombosediensten houden je als het ware mobiel. Zonder dat je jezelf kopzorgen hoeft te maken. Bovendien zijn tal van wetenschappers druk bezig met het vinden van het medicijn om trombose te voorkomen. Want dat is nog altijd beter dan het slikken van antistollings medicijnen. Wilt u meer weten over Trombose en het onderzoek, surf dan gerust binnen op onze site. Belt u liever, geen punt. Wij vertellen u graag alles om zo comfortabel als mogelijk door te gaan met wat u waarschijnlijk 't liefst doet ... leven met een 'smile'.

Meer weten? www.fnt.nl, www.trombosestichting.nl of bel 071 - 56 17 717