

The background of the entire page is an abstract painting consisting of numerous brushstrokes in various shades of blue and white. The strokes are thick and textured, creating a sense of movement and depth. The colors range from deep navy blue to light sky blue, with white highlights. The overall effect is a dynamic, organic pattern that fills the entire frame.

Verhoogde stollingsneiging als mogelijke oorzaak voor hart- en herseninfarcten bij jonge vrouwen

verschillen, overeenkomsten en implicaties

Bob Siegerink

Het is de gok niet, maar het wagen
Het is de man, en niet het paard
Niet het antwoord, maar het vragen
Het is de route, niet de kaart

- De Dijk -

TEN GELEIDE

Voor u ligt de Nederlandse samenvatting van mijn proefschrift “Prothrombotic factors and the risk of myocardial infarction and ischaemic stroke in young women; differences, similarities and implications” geschreven naar aanleiding van het onderzoek verricht op de afdeling Klinische Epidemiologie en het Eindhoven Laboratory for Experimental Vascular Medicine, beide onderdeel van het Leids Universitair Medisch Centrum. Dit onderzoek heb ik mogen verrichten onder de leiding van mijn promotores prof. dr Ale Algra en prof. dr F.R. Rosendaal. Het volledige proefschrift is te vinden op www.bobsiegerink.com.

In deze samenvatting bespreek ik de achtergronden van cardiovasculaire ziekten, met nadruk op trombose. De oorzaken van trombose zijn nog niet geheel duidelijk. Verschillen in oorzaken tussen verschillende vormen van trombose, zoals het hart- en herseninfarct, kunnen gevolgen hebben voor behandeling en preventie van deze ziekten. Om inzicht te krijgen in hoe deze aandoeningen ontstaan zijn verscheidene deelonderzoeken verricht binnen het RATIO onderzoek, alle gericht op de rol van een verhoogde stollingsneiging. Tot slot bespreek ik de overeenkomsten en verschillen tussen deze ziekten en leg ik de verbinding met mogelijke implicaties voor preventie- en behandelingstrategieën voor deze twee ziekten en het onderzoek daarnaar.

Rest mij mijn dank uit te spreken voor de hulp van velen bij de totstandkoming van mijn proefschrift en deze bijbehorende samenvatting. Daarbij wil ik in het bijzonder de vrouwen noemen die aan de basis staan van het beschreven onderzoek, de vrouwen die hebben deelgenomen aan het RATIO onderzoek.

Bob Siegerink

Den Haag, 30 november 2012

Cardiovasculaire ziekten

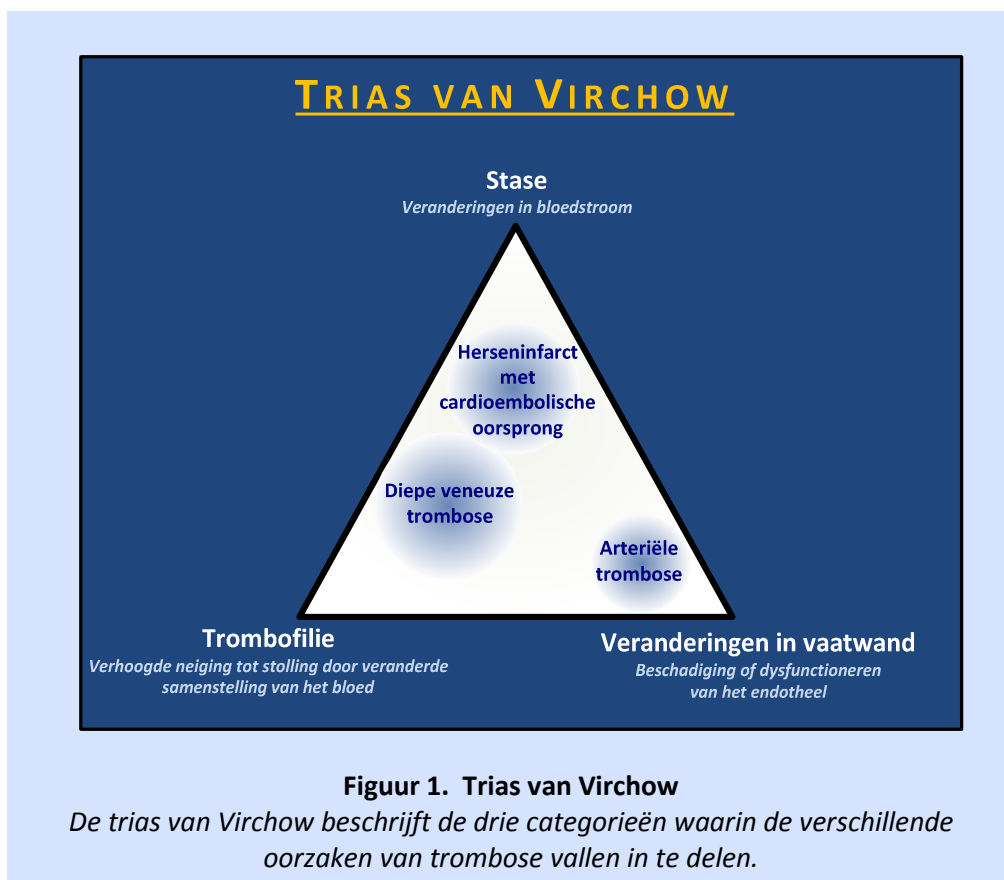
Cardiovasculaire ziekten hebben een grote invloed op de gezondheid in Nederland. Door de oorzaken van de verschillende presentaties van deze ziekten te onderzoeken is het mogelijk dat er aangrijpingspunten worden gevonden voor nieuwe preventie- en behandelingsstrategieën die de invloed van deze ziekten verminderen met een zo klein mogelijke kans op bijwerkingen. Hierbij is het van groot belang dat de verschillende cardiovasculaire ziekten een andere wijze van ontstaan kunnen hebben met directe gevolgen voor deze behandelingsstrategieën. Veel cardiovasculaire ziekten zijn het gevolg van trombose, waarbij een bloedstolsel ontstaat dat de bloeddoorstroming bemoeilijkt. Als zich een bloedstolsel vormt in een slagader spreekt men van arteriële trombose: zuurstofrijk bloed kan niet meer doorstromen naar de organen waardoor er een zuurstofcrisis ontstaat en het weefsel kan afsterven. Voorbeelden van arteriële trombose zijn het hart- en herseninfarct. Het is ook mogelijk dat een bloedstolsel ontstaat in een ader: zuurstofarm bloed kan dan niet meer ongehinderd terugstromen naar het hart en de longen, met stuwingsgevolge. De meest voorkomende vorm van veneuze trombose, i.e. trombose van het been, heeft in de meeste gevallen niet een even sterk acuut en potentieel dodelijk effect als arteriële trombose. Echter, wanneer dit bloedstolsel in het been afbreekt, kan het in de longen of zelfs de hersenen terecht komen met mogelijk dodelijke afloop.

Trombose

Het is duidelijk dat het mechanisme dat leidt tot trombose een afwijking betreft: normaliter stolt het bloed alleen wanneer er sprake is van een beschadiging van een bloedvat, bijvoorbeeld bij een wondje opgelopen bij het scheren. Er zijn echter omstandigheden die de kans op een trombose vergroten. Al in 1865 heeft de Duitse patholoog Rudolph Virchow een drietal '*Formen der Trombose*' geformuleerd. Dit heeft uiteindelijk geleid tot de 'trias van Virchow', een concept dat gebruikt wordt om de oorzaken van trombose in te delen in drie categorieën, te weten i) veranderingen in de bloedstroom, ii) verandering in de samenstelling van het bloed en iii) veranderingen aan de vaatwand. Op het eerste gezicht lijken de verschillende manifestaties van trombose dan ook toe te schrijven aan één van de drie onderdelen van de trias van Virchow, zoals is weergegeven in figuur 1. Zo zijn veel, maar niet alle, bekende oorzaken van een trombosebeent terug te leiden tot verandering in de samenstelling van het bloed dat leidt tot een verhoogde stollingsneiging. Dit gebeurt bijvoorbeeld door een genetische variatie zoals Factor V Leiden die aanwezig is bij ongeveer 5% van de Nederlandse bevolking. Bij een herseninfarct met een cardio-embolische oorsprong ligt de oorzaak veelal in boezemfibrilleren, een conditie waarbij het hart niet op de juiste manier pompt, wat leidt tot abnormale wervelingen en lokale stilstand van het bloed. Hierdoor ontstaat vaak een bloedstolsel dat kan afbreken, en vervolgens meegevoerd wordt naar de hersenen. Bij arteriële

trombose is de algemene opvatting dat de oorzaak primair ligt in atherosclerose, ofwel slagaderverkalking, wat leidt tot beschadigingen van de vaatwand waardoor op die plek een bloedstolsel kan ontstaan.

Trombotische ziekten zijn zogenaamde *multi-causale ziekten*, waarbij verschillende factoren samen leiden tot het ontstaan van een bloedstolsel: bijna geen enkele geïsoleerde risicofactor is een noodzakelijk voldoende oorzaak van trombose. Daarom is de voorstelling van verschillende typen van trombose met een eenduidig en makkelijk te classificeren ontstaansmechanisme, zoals weergegeven in figuur 1, een grove vereenvoudiging van de werkelijkheid. Toch heeft een dergelijke grafische weergave zin: het laat zien hoe in de klinische praktijk slechts op algemene kenmerken onderscheid gemaakt kan worden in diagnose en behandeling van trombose.

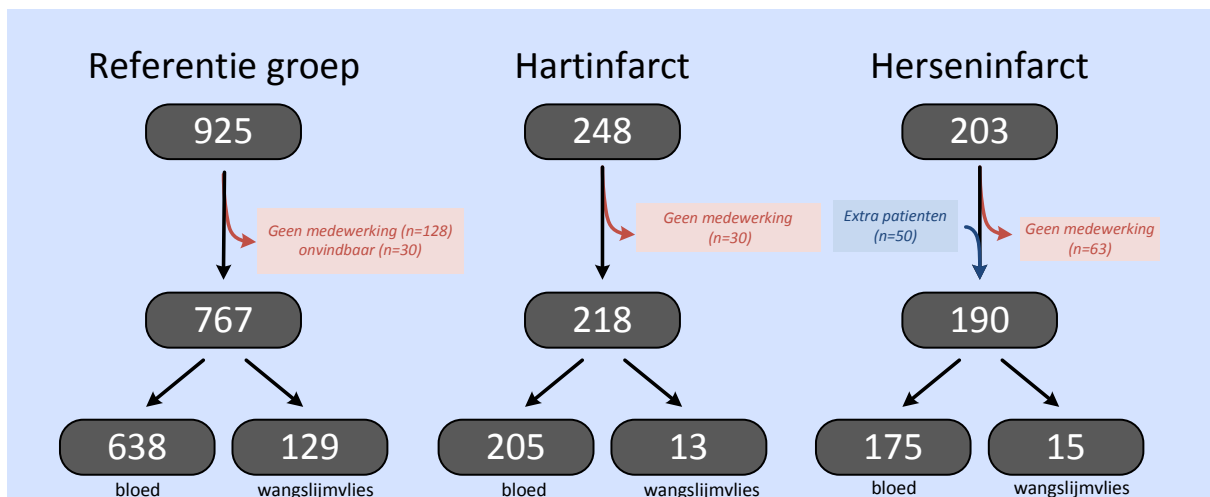


Er wordt vaak, zowel expliciet als impliciet, gesproken over hart- en herseninfarcten alsof het één ziekte betreft, te weten een vorm van arteriële trombose ten gevolge van slagaderverkalking. De huidige standaard behandeling van deze twee ziekten is dan ook grotendeels gelijk, maar voor beide ziekten niet optimaal. Als bij nader inzien deze twee ziekten toch verschillende ontstaansmechanismen blijken te hebben, kan het zijn dat nieuwe gedifferentieerde behandeling- en preventiestrategieën meer ziekte en sterfte kunnen voorkomen dan momenteel het geval is. Hoewel wordt aangenomen dat arteriële trombose zijn oorsprong vooral vindt in slagaderverkalking en de bijkomende vaatwandbeschadigingen, is het nog onduidelijk in hoeverre een verhoogde stollingsneiging ook een rol speelt in het ontstaan van deze multicausale ziekten. De centrale vraag van verschillende deelonderzoeken verricht binnen het RATIO onderzoek is dan ook of er een verschil is in de rol van een verhoogde stollingsneiging bij het ontstaan van hart- en herseninfarcten bij jonge vrouwen.

Het RATIO onderzoek

Het RATIO onderzoek is begonnen om de rol van orale anticonceptie, ook wel bekend als 'de pil', bij het ontstaan van arteriële trombose te onderzoeken: er werd aan vrouwen die een hart- of herseninfarct hadden doorgemaakt gevraagd of zij de pil hadden geslikt. De frequentie hiervan kan dan worden vergeleken met de frequentie in een referentiegroep, bestaande uit vrouwen van dezelfde leeftijd die verder vergelijkbaar waren met de vrouwen uit de algemene bevolking. Verschil in deze frequenties kan duiden op een causale rol van pilgebruik in het ontstaan van deze ziekten. De resultaten lieten dan ook zien dat onder vrouwen met een hart- dan wel herseninfarct pilgebruik vaker voorkwam dan onder de vrouwen van de referentiegroep. Dit verschil in frequentie kwam overeen met ongeveer een verdubbeling van het risico op deze ziekten. In een later stadium werden hen verzocht om een bloedmonster af te staan zodat onderzocht kon worden of de samenstelling van het bloed ook een oorzaak kan zijn van deze ziekten. Deze bloedafname bood de mogelijkheid om te onderzoeken of een verhoogde stollingsneiging ook vaker voorkomt onder vrouwen met een hart- of herseninfarct dan onder de vrouwen uit de referentiegroep (zie ook figuur 2). Het RATIO onderzoek is uniek omdat het zich richt op vrouwen onder de 50 jaar. Omdat leeftijd een sterke risicofactor is voor deze ziekten, is het mogelijk dat in onderzoek dat zich richt op oudere vrouwen het effect van hun hogere leeftijd de effecten van de te onderzoeken factoren overschaduwde. Door relatief jonge patiënten te onderzoeken, zal het effect van leeftijd beperkt blijven en is het mogelijk om bijzondere oorzaken van deze ziekten makkelijker te onderscheiden. Daarnaast geeft dit onderzoek de mogelijkheid om na te gaan of een verhoogde stollingsneiging en het gebruik van de pil elkaar beïnvloeden wat betreft het risico op zoete, een fenomeen bekend uit onderzoek naar oorzaken van trombosebenen.

Het RATIO onderzoek is een zogenaamd observationeel onderzoek, een onderzoeksopzet waarbij, in tegenstelling tot bij een experiment, geen manipulatie van factoren die de ziekte kunnen beïnvloeden door de onderzoeker plaatsvindt. Een dergelijke onderzoeksopzet heeft enkele aspecten die, indien niet ondervangen, de conclusies kunnen invalideren: omdat de bloedmonsters worden verzameld na het hart- of herseninfarct is het mogelijk dat de bloedspiegels een gevolg zijn van de ziekte (zie ook figuur 2). Deze verwarring van oorzaak en gevolg, bekend als *reverse causation*, kan leiden tot foutieve conclusies over het ontstaansmechanisme. Tevens kan er in de studieopzet een systematische fout aanwezig zijn waardoor onvergelykbaarheid optreedt tussen de patiëntengroep en de referentiegroep, een fenomeen bekend als *bias*. Een voorbeeld hiervan is dat patiënten een vragenlijst anders invullen dan de controlepersonen of dat alleen gezondheidsbewuste mensen willen deelnemen aan de controlegroep. Daarnaast clusteren risicofactoren zich vaak binnen de patiëntengroep, waardoor het mogelijk is dat de effecten van twee risicofactoren met elkaar worden verward. Dit fenomeen staat bekend als *confounding*. De aanwezigheid van *bias* en *confounding* moet altijd overwogen worden bij observationeel onderzoek. Derhalve zijn er verschillende methoden ontwikkeld om *bias* en *confounding* tegen te gaan, en zo de kans op onjuiste conclusies te verkleinen.



Figuur 2. Stroomdiagram van RATIO deelnemers

De deelnemers van het RATIO onderzoek zijn in twee fasen benaderd: in de eerste fase beantwoorden zij een vragenlijst en in de tweede fase werd er een bloed- of wangslimvliesmonster afgenomen.

Samenvatting van resultaten

Hoofdstuk 2 begint met de bespreking van een positieve familieanamnese als indicator van een verhoogd risico op het krijgen van een hart- of herseninfarct bij jonge vrouwen: als vrouwen een zij eerstegraads familielid (i.e. ouders, broers of zusters) hadden die een hartinfarct of een beroerte hadden gekregen voor hun zestigste levensjaar, was het risico op een hartinfarct bij hen zelf 3.5 maal verhoogd, terwijl het risico op een herseninfarct niet anders was dan het risico van de vrouwen die geen aangedane familieleden hadden. In de formele zin van het woord is het niet mogelijk om hier te spreken van een causaal verband: louter een positieve familieanamnese is niet direct een oorzaak van het krijgen van een ziekte. Wel is het mogelijk een 'familieanamnese' te zien als een indicator van de aanwezigheid van risicofactoren. Als ziekten clusteren in families kan dat erop wijzen dat er sprake is van een erfelijke aanleg, dan wel een door de familieleden gedeelde ongezonde levensstijl die leidt tot een hogere incidentie van die ziekte. Toch valt er een voorzichtige causale conclusie te trekken uit deze resultaten: als hart- en herseninfarcten precies dezelfde oorzaken hebben, zou ook de relatie tussen een positieve familieanamnese en het risico op deze twee ziekten ongeveer gelijk moeten zijn. Onze resultaten geven een eerste indicatie dat deze twee ziekten, ondanks gedeelde eigenschappen, verschillende oorzaken hebben.

Het onderzoek in hoofdstuk 3 tot 6 richt zich direct op een causaliteitsvraagstuk: zij beschrijven het onderzoek naar de eiwitten van het intrinsieke stollingssysteem als mogelijke oorzaken van zowel hart- als herseninfarcten bij jonge vrouwen. Deze eiwitten hebben de bijzondere eigenschap dat zij niet essentieel lijken te zijn voor een normale bloedstolling: mensen bij wie de functie van deze eiwitten drastisch verminderd is, vertonen slechts een milde neiging tot bloeden (in het geval van stollingsfactor XI) of hebben in het geheel geen verhoogde bloedingsneiging (in het geval van stollingsfactor XII, prekallikreïne en co-factor hoog moleculair gewicht kininogeen, afgekort als HMWK). Daarnaast suggereren verschillende onderzoeken met diermodellen wel dat deze eiwitten een rol spelen in het ontstaan van een bloedstolsel.

Van deze eiwitten zijn verschillende eigenschappen onderzocht, grofweg te beschrijven als de **aanwezigheid**, de **activiteit** en de **activatie** van een eiwit. De **aanwezigheid** van een eiwit wordt doorgaans gemeten door het antigeenniveau te bepalen. De meting van deze antigeenniveaus wordt verricht met behulp van zogenaamde antilichamen, van origine onderdelen van het immuunsysteem die andere eiwitten kunnen herkennen en binden. Door deze specifieke binding is het mogelijk om de hoeveelheid eiwit te kwantificeren, bijvoorbeeld uitgedrukt als percentage van een referentie plasma. De **activiteit** van een eiwit kan gemeten worden met behulp van een activiteitsmeting waarin het te onderzoeken plasma 1:1 wordt gemengd met een referentieplasma. De stollingstijd

van dit mengsel na maximale activatie wordt uitgedrukt als percentage van de stollingstijd van het referentie plasma. De **activatie** van een eiwit kan op verschillende manieren worden gemeten. Hierbij wordt, omdat deze eiwitten in het bloed in het merendeel in inactieve vorm aanwezig zijn en pas werkbaar zijn na activatie, nagegaan of deze geactiveerde eiwitten, of sporen daarvan aanwezig zijn. De techniek die in dit proefschrift is gebruikt, is gebaseerd op antigeenniveaus, net als bij de bepaling van de aanwezigheid van een eiwit. Omdat de intrinsieke stollingseiwitten na activatie direct worden gekoppeld aan een remmer (inhibitor), kunnen antilichamen gericht tegen een dergelijk eiwit-inhibitor complex gemeten worden als mate van activatie. Normaliter wordt een stollingseiwit alleen geactiveerd in het geval van een bloeding. De eiwit-inhibitor complexen die gemeten zijn in dit proefschrift zijn geen maat voor deze tijdelijke eiwitactivatie, maar zijn indicatief voor een lage maar constante eiwitactivatie, hetgeen aangeeft dat er een proces op de achtergrond gaande is waarbij deze eiwitten worden geactiveerd.

In **hoofdstuk 3** wordt beschreven dat de activatie van de intrinsieke stollingseiwitten een verhoogd risico geeft op het krijgen van een herseninfarct. Dit effect was groter onder pilgebruikers dan onder niet-pilgebruikers. Het risico op een hartinfarct blijft onveranderd bij een verhoogde maat van activatie. **Hoofdstuk 4** richt zich specifiek op stollingsfactor XI: een verhoogde aanwezigheid van dit eiwit verhoogt het herseninfarctrisico, terwijl het hartinfarctrisico opnieuw niet verandert. Dit effect is onafhankelijk van de activatiegraad van het eiwit, zoals gemeten door de eiwit-inhibitorcomplexen. Ook is dit effect onafhankelijk van de activiteit van stollingsfactor XI. **Hoofdstuk 5** is gericht op stollingsfactor XII. Uit het RATIO deelonderzoek blijkt dat een verhoogde aanwezigheid van stollingsfactor XII en prekallikreine geen sterke invloed heeft op het risico van zowel hart- en herseninfarcten. In **hoofdstuk 6** wordt beschreven dat vrouwen met een verhoogde aanwezigheid van HMWK wel een verhoogd risico hebben op het krijgen van een herseninfarct. Het hartinfarctrisico is echter vergelijkbaar met het risico van de vrouwen met niet verhoogde HMWK antigeenniveaus. Uit deze hoofdstukken valt in zijn algemeenheid te concluderen dat deze eiwitten, met name stollingsfactor XI, een oorzakelijke rol spelen bij het ontwikkelen van herseninfarcten bij jonge vrouwen. Om het ontstaansmechanisme in meer detail te begrijpen is echter meer onderzoek nodig.

In de volgende hoofdstukken wordt een genetische aanpak gebruikt om de rol van het stollingssysteem bij het ontstaan van hart- en herseninfarcten te onderzoeken. In **hoofdstuk 7** wordt beschreven hoe genetische verschillen tussen mensen gebruikt kunnen worden om specifieke eigenschappen van een eiwit te onderzoeken teneinde problemen als *confounding* en het verwarren van oorzaak en gevolg te omzeilen. Bij deze methode wordt genetische variatie die geassocieerd is

met bijvoorbeeld het antigeenniveau van een eiwit, en niet via een andere weg een effect heeft op het optreden van de ziekte, onderzocht op een relatie met ziekte. Deze methode wordt ook wel Mendeliaanse randomisatie genoemd, een naam die verwijst naar Gregor Mendel (1822-1884), één van de grondleggers van de moderne genetica, die stelde dat genetische variaties onafhankelijk van elkaar overerven. In het verlengde van deze waarneming ligt de basis van deze methode, namelijk dat genetische variatie in grote populaties niet samenhangt met mogelijk versturende factoren zoals levensstijl, omgevingsfactoren en sociaal economische status. De gedachte is dat genetische variatie, analoog naar een gerandomiseerd geneesmiddelenonderzoek waarbij deelnemers willekeurig de nieuwe of de controlebehandeling krijgen toegewezen, gerandomiseerd zijn bij conceptie waardoor er geen *confounding* kan optreden.

Hoewel in potentie een krachtige methode, dienen een aantal nadelen van Mendeliaanse randomisatie genoemd te worden: Mendeliaanse randomisatie steunt sterk op enkele aannames die per definitie niet empirisch te controleren zijn, omdat zij uitgaan van de afwezigheid van enkele associaties. Bovendien vereist het getrapte karakter van de formele analyses behorende bij deze methode (dat wil zeggen: genetische variatie → antigeen niveau → risico op ziekte) grote aantallen deelnemers om fout-negatieve resultaten te voorkomen. Helaas heeft het RATIO onderzoek niet voldoende deelnemers om formele Mendeliaanse randomisatie analyses uit te voeren. Desalniettemin, de gedachten onderliggend aan deze formele analyses kunnen wel gebruikt worden bij het wegen van bewijs over causale vraagstukken. Dit gebeurt dan ook in **hoofdstuk 8**. Hierin wordt de rol van fibrinogeen bij het ontstaan van hart- en herseninfarcten onderzocht. Fibrinogeen is de voorloper van fibrine, het belangrijkste bestanddeel van bloedstolsels. En hoog fibrinogeenniveau is in eerdere onderzoeken geassocieerd met een verhoogd risico op zowel hart- als herseninfarcten, maar mogelijk waren deze resultaten vertekend door *confounding* en *reverse causation*. In het RATIO onderzoek zijn 2 kleine genetische variaties, zogenaamde Single Nucleotide Polymorphisms (SNP's), in de fibrinogeen genen onderzocht op hun relatie met fibrinogeenniveaus alsmede het risico op hart- en herseninfarcten. Beide SNP's waren geassocieerd met een verandering van het herseninfarctrisico, terwijl het risico op hartinfarcten onveranderd blijft. De richting van het effect op het herseninfarctrisico was overeenkomstig met het effect op fibrinogeen niveaus: de SNP geassocieerd met hogere fibrinogeen niveaus geeft een hoger herseninfarctrisico, terwijl de SNP geassocieerd met lagere fibrinogeen niveaus een verlaging van het herseninfarct risico geeft. Van de onderzochte SNP's is bekend dat zij naast een kwantitatief effect mogelijk ook een kwalitatieve verandering van het fibrinogeen geven: de structuur van bloedstolsels is iets anders waardoor het risico op herseninfarcten ook verhoogd kan zijn. Het is dus niet mogelijk om het onderliggend mechanisme op grond van deze bevindingen precies te duiden. Desondanks is uit deze resultaten wel

te concluderen, ondersteund door resultaten van andere onderzoeken, dat fibrinogeen een rol speelt bij het ontstaan van herseninfarcten maar niet van hartinfarcten.

De resultaten uit **hoofdstuk 9** hebben ook betrekking op de structuur van bloedstolsels. Nadat fibrinogeen wordt omgezet tot fibrine ontstaat er een netwerk van fibrinemoleculen. Stollingsfactor XIII speelt een belangrijke rol bij het ontstaan van dit netwerk, omdat dit eiwit de kruisverbindingen tussen fibrinemoleculen tot stand brengt. Een eerdere analyse van vier SNP's in de genen van FXIII hebben laten zien dat FXIII een rol speelt bij het ontstaan van herseninfarcten, met het hoogste risico voor vrouwen die ook orale contraceptiva gebruikten.¹⁵ Deze SNP's hebben mogelijk een effect op het ontstaan van de kruisverbindingen, zowel kwalitatief als kwantitatief, en verhogen daarmee het risico op trombose. Deze SNP's bleken echter geen verhoging te geven van het hartinfarctrisico, waaruit geconcludeerd kan worden dat de rol van FXIII verschilt bij mechanismen onderliggend aan hart- en herseninfarcten.

De volgende hoofdstukken richten zich niet zozeer op individuele factoren van het stollingsstelsel, maar onderzoeken andere maten gerelateerd aan een verhoogde stollingsneiging. Zo wordt in **hoofdstuk 10** de rol van Von Willibrand Factor (VWF) besproken. VWF is gebonden aan FVIII in bloedplasma, en wordt opgeslagen in bloedplaatjes en in de cellen van de vaatwand. Na activatie wordt VWF uitgescheiden en ontvouwt het zich als een lange draad in het bloedvat waarop bloedplaatjes afremmen, binden en vervolgens activeren. Eenmaal geactiveerd kunnen deze bloedplaatjes stollingsprocessen activeren of versnellen. Naast normale activatie kan VWF ook worden uitgescheiden door disfunctionerende cellen van de vaatwand, waarmee VWF naast een mogelijke oorzaak ook een gevolg kan zijn van vroege arteriosclerose. De lengte van VWF bepaalt in belangrijke mate de efficiëntie van zijn werking. Het eiwit ADAMTS13 reguleert de lengte, en daarmee de werkzaamheid van VWF: hoe minder ADAMTS13 hoe langer het VWF. Uit resultaten van het RATIO onderzoek blijkt dat hoge niveaus van VWF-antigeen het risico op zowel hart- als herseninfarcten verhoogt. Lage antigeenniveaus van ADAMTS13 verhogen echter alleen het herseninfarctrisico, waardoor de vraag opkomt of de associatie tussen VWF en hartinfarctrisico niet gedeeltelijk verklaard kan worden door beschadigingen van de vaatwand.

Hoofdstuk 11 onderzoekt de rol van het fibrinolytische systeem. De eiwitten in dit systeem voorkomen dat bloedstolsels ongebreideld blijven groeien. Een verlaagde capaciteit van dit systeem is daarmee mogelijk debet aan een verhoogde stolselvorming, hetgeen kan leiden tot trombose. Een verlaagde fibrinolytische capaciteit bleek dan ook het hartinfarctrisico bij jonge vrouwen te verhogen. De resultaten voor de analyses van het herseninfarct risico lieten echter het

tegenovergestelde zien: een verhoogde fibrinolytische activiteit, theoretisch leidend tot een verminderde stolselvorming, verhoogt het herseninfarctrisico bij jonge vrouwen. Wat kan een dergelijk contra-intuïtief resultaat verklaren? Mogelijk ligt het antwoord bij PAI-1, één van de belangrijkste eiwitten binnen het fibrinolytische systeem: naast een groot effect op de fibrinolytische capaciteit beïnvloedt PAI-1 mogelijk ook de overlevingskansen van hersencellen bij een infarct. Omdat het niet mogelijk is om met deze test voor fibrinolytische capaciteit alleen het effect van bijvoorbeeld PAI-1 te onderzoeken, is het niet mogelijk om vergaande conclusies te trekken uit de resultaten. Maar ook ander onderzoek geven een onduidelijk beeld. Extra onderzoek is derhalve nodig om antwoord te krijgen de precieze rol van het fibrinolysesysteem bij het ontstaan van een herseninfarct. Overigens worden de tegenstrijdige resultaten misschien wel veroorzaakt doordat er verschillende subtypen herseninfarct werden onderzocht. Nieuw onderzoek moet dan ook zo worden opgezet dat deze verschillende typen zo goed mogelijk te onderscheiden zijn. Ondanks de onduidelijkheden over de precieze interpretatie van de gebruikte test om de fibrinolytische capaciteit te meten, suggereren de resultaten dat de rol van het fibrinolytische systeem en zijn componenten anders is bij het ontstaan van een hartinfarct dan bij een herseninfarct.

In het volgende hoofdstuk wordt de relatie tussen het antifosfolipide syndroom en het risico op hart- en herseninfarcten onderzocht. Dit auto-immuunsyndroom wordt gekarakteriseerd door ziekten als gevolg van trombose, zoals hart en herseninfarcten maar ook zwangerschapscomplicaties en veneuze trombose. Er wordt echter alleen van het antifosfolipide syndroom gesproken als er naast een dergelijke ziekte ook nog antifosfolipiden antilichamen of aanwijzingen daarvan (vastgesteld met een positieve lupus anticoagulans test) herhaaldelijk worden aangetoond in het bloed van de patiënt. Alhoewel deze 'biomarkers' onderdeel zijn van de definitie van het syndroom was het niet bekend welke risicoverhoging de aanwezigheid van deze markers met zich meebrengt. De resultaten in **hoofdstuk 12** waren de eerste die een schatting gaven voor deze risicoverhoging: een positieve lupus anticoagulans test verhoogde het risico op een hartinfarct ongeveer 5 maal, terwijl het risico op een herseninfarct 40 maal werd verhoogd. Pilgebruik verhoogde deze risico's nog verder. Ook al is deze 5-voudige verhoging van het hartinfarctrisico vele malen groter dan de die van andere risicofactoren beschreven in dit proefschrift, er is opnieuw een opmerkelijk verschil in grootte van de hart- en herseninfarctrisicoverhoging. Van de overige biomarkers die getest zijn lijken antilichamen gericht tegen β_2 -glycoproteïne I een directe rol te hebben in de pathofysiologie van dit syndroom. De aanwezigheid van β_2 -glycoproteïne I antilichamen verdubbelt het herseninfarctrisico, maar leidt niet tot een verandering van het hartinfarctrisico. Ook al is het onderliggende mechanisme nog niet bekend het is wel duidelijk dat deze biomarkers een maat zijn voor een verhoogde stollingsneiging. Derhalve is ook uit deze resultaten te concluderen dat een verhoogde stollingneiging een sterk

verhoogd risico geeft op een herseninfarct, terwijl het hartinfarctrisico veel minder sterk is aangedaan.

Verschillen en overeenkomsten

Samen met resultaten uit eerdere RATIO-deelonderzoeken geven de resultaten beschreven in dit proefschrift een overzicht van de rol van een verhoogde stollingsneiging in het ontstaan van hart- en herseninfarcten. Met een dergelijk overzicht valt dan ook makkelijker een antwoord te vinden op de vraag die eerder is gesteld: is er een verschil in de rol van een verhoogde stollingsneiging in het mechanisme dat leidt tot deze ziekten?

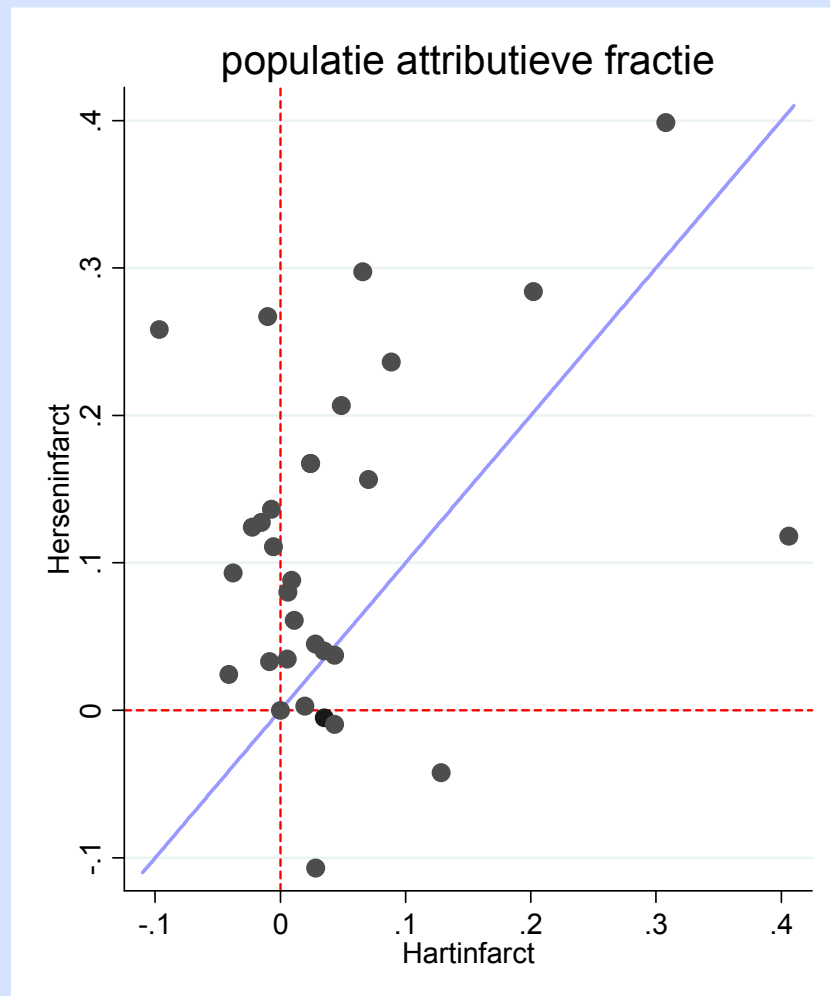
Om dat overzicht te geven, kan men gebruik maken van de populatie attributieve fractie: dit is de fractie van het aantal zieken in een onderzochte populatie dat voorkomen had kunnen worden als een bepaalde oorzaak van die ziekte in zijn geheel niet had bestaan. Dit getal is een zuiver theoretisch getal en heeft geen directe implicaties voor het bepalen van de oorzakelijkheid van een bepaalde factor binnen één patiënt, maar dit getal is wel een goede maat voor het totale effect van een bepaalde factor op het vóórkomen van een bepaalde ziekte.

In figuur 3 staan deze populaties attributieve fracties weergegeven voor zowel hartinfarct (op de x-as) en herseninfarct (op de y-as). Als het effect van een verhoogde stollingsneiging voor beide ziekten gelijk was, zouden alle punten op de blauwe diagonale lijn moeten liggen. Dit is echter niet het geval: vele factoren hebben geen noemenswaardige invloed op het hartinfarctrisico terwijl ze wel het herseninfarctrisico wel degelijk vergroten en liggen daarmee rond de verticale rode lijn, de nullijn van de x-as. Er zijn geen factoren die een uitgesproken effect hebben op het hartinfarctrisico terwijl zij dat niet hebben op het herseninfarctrisico. Er zijn wel factoren die het risico op beide ziekten lijken te verhogen, maar het herseninfarct risico is bij deze factoren bijna altijd groter dan het hartinfarctrisico. Kortom, figuur 3 geeft antwoord op onze oorspronkelijke vraag: een verhoogde stollingsneiging is een onderdeel van het ontstaansmechanisme van herseninfarcten, en heeft geen belangrijke rol bij het ontstaan van hartinfarcten.

Implicaties

Betekenen deze resultaten nu dat de bloedstolling geen rol speelt bij de ontstaansmechanismen van hartinfarcten, maar wel bij herseninfarcten? Nee, beide ziekten zijn immers acute vormen van arteriële trombose waarbij een bloedstolsel ervoor zorgt dat de toevoer van zuurstofrijk bloed naar achterliggend weefsel vermindert. Deze resultaten willen wel zeggen dat een verhoogde stollingsneiging alleen onderdeel is van het ontstaansmechanisme van herseninfarcten en niet bij

hartinfarcten. Misschien is het wel zo dat het ontstaan van hartinfarcten primair ligt in een abrupte beschadiging van de vaatwand; als de vaatwand eenmaal beschadigd raakt is de activatie van het stollingssysteem zo sterk dat er altijd een bloedstolsel gevormd zal worden, ongeacht of de patiënt in kwestie een iets verhoogde stollingsneiging heeft.



Figuur 3 Impact van een verhoogde stollingsneiging op het vóórkomen van hart- en herseninfarcten onder jonge vrouwen

Elke punt in deze grafiek geeft de impact van een bepaalde mate van verhoogde stollingsneiging op het vóórkomen van hart- en herseninfarcten onder jonge vrouwen. De blauwe diagonaal geeft de plaats aan waar de verschillende punten zouden staan als een verhoogde stollingsneiging een even grote impact op beide ziekten zou hebben; de grafiek laat echter zien dat een verhoogde stollingfactor vooral een grote impact heeft op het herseninfarctrisico.

Zijn zogenoemde antistollingsmedicijnen dan alleen geschikt voor het behandelen en voorkomen van herseninfarcten? Dit zou wellicht zo zijn als deze medicijnen een verhoogde stollingsneiging weer zouden normaliseren. Dit is echter niet het geval: antistollingsmedicatie verlaagt de stollingsneiging in zeer sterke mate, zo sterk dat er gesproken kan worden van een verlaagde stollingsneiging, niet zelden gepaard gaand met ernstige bloedingscomplicaties. Door deze verlaagde stollingsneiging zal ook de stollingsreactie bij vaatwandbeschadigingen minder uitgesproken zijn: antistollingsmedicatie zal dus het risico op een hartinfarct verlagen, maar wel met bloedingscomplicaties tot mogelijk gevolg. De uitdaging bij het doseren van antistollingsmedicatie is dan ook om de stollingsneiging van een persoon wel te verlagen, zonder een al te grote kans op bloedingscomplicaties. Nieuwe vormen van antistollingsmedicatie zullen daarom gericht zijn op het normaliseren van de stollingsneiging om ziekte te voorkomen en ondertussen de kans op bloedingen niet of nauwelijks te verhogen. Het is daarmee mogelijk dat deze nieuwe antistollingsmedicatie de kans op een hartinfarct iets verlaagt, maar vanwege de verschillen in causaal mechanisme is het waarschijnlijk dat deze nieuwe medicatie een sterk effect zal hebben op het herseninfarctrisico.

In verschillende hoofdstukken van dit proefschrift staat beschreven dat de gevonden risico's sterker waren bij vrouwen die de orale anticonceptiva gebruikten. Dit is op zich geen nieuw verschijnsel: van pilgebruik is bekend dat het het risico op tromboseziekten ongeveer twee- tot driemaal verhoogt. Deze nadelige risicoverhoging weegt in de praktijk niet op tegen de tegen het voordeel van pilgebruik, vooral omdat het basisrisico van deze ziekten onder jonge vrouwen bijzonder laag is (zo treedt een herseninfarct op bij 14 per 100.000 vrouwen per jaar). Maar verscheidene onderzoeken laten zien dat het effect van pilgebruik synergie vertoont met andere risicofactoren: de risicoverhoging bij vrouwen die zowel de pil gebruiken als zijn blootgesteld aan een bepaalde tromboserisicofactor is dan hoger dan verwacht mag worden op basis van de afzonderlijke effecten. Bijvoorbeeld, het herseninfarctrisico is bij vrouwen die alleen blootgesteld zijn aan pilgebruik ongeveer twee tot driemaal verhoogd, vrouwen blootgesteld aan hoge niveaus van geactiveerd kallikreïne hebben een 5-voudige verhoging van het risico op een herseninfarct, terwijl vrouwen blootgesteld aan beide risicofactoren zijn blootgesteld aan een 23-keer verhoogd risico hebben. Met een dergelijke synergie rijst de vraag of het mogelijk is om met een nieuwe screeningsstrategie bij vrouwen die de pil willen gaan gebruiken die vrouwen te identificeren bij wie deze synergie kan gaan optreden. Echter, vanwege het lage voorkomen van herseninfarcten bij jonge vrouwen leidt dit tot meer dan 15.000 te screenen vrouwen per jaar. Van deze vrouwen moet 10% vervolgens niet starten met het gebruiken van de pil om één herseninfarct te voorkomen. Kortom, de aanwezigheid van synergie tussen het effect van een bepaalde risicofactor en het effect van pilgebruik op het risico van

hart- en vaatziekten zal niet snel klinische consequenties hebben in de vorm van een screeningsstrategie. Desalniettemin is dergelijke kennis nuttig: het kan inzicht geven in een specifiek mechanisme dat belangrijk is bij het ontstaan van de onderzochte ziekten.

Samenvattend kan worden gesteld dat niet alle vormen van arteriële trombose eenzelfde ontstaansmechanisme hebben: bij jonge vrouwen blijkt een verhoogde stollingsneiging een oorzaak te zijn van herseninfarcten, maar geen effect te hebben op het hartinfarctrisico. Deze resultaten roepen direct een andere vraag op: hebben alle herseninfarcten wel eenzelfde ontstaansmechanisme? Het antwoord op deze vraag is waarschijnlijk nee. Herseninfarct is een zeer heterogeen ziektebeeld waarbij het zeer goed mogelijk is dat een verhoogde stollingsneiging vooral invloed heeft op het risico van bepaalde typen herseninfarcten. Dit kan dan, analoog aan de hartinfarct-herseninfarctdifferentiatie, gevolg hebben voor de effectiviteit van nieuw te ontwikkelen preventie- en behandelingsstrategieën. Nieuw onderzoek, met oog voor de verschillende typen herseninfarcten is nodig om meer inzicht te krijgen in deze mogelijke verschillen.

Stellingen behorende bij dit proefschrift

1. Een verhoogde stollingsneiging is geen belangrijke oorzaak van het hartinfarct.
- dit proefschrift -
2. Stollingsfactor XI is op verscheidene manieren onderdeel van het causale mechanisme onderliggend aan het herseninfarct en biedt daarmee aanknopingspunten voor nieuwe, en mogelijk veiligere antistollingsmedicatie.
- dit proefschrift -
3. Het ontbreken van een sterke relatie tussen het ADAMTS13 antigeenniveau en het hartinfarctrisico, suggereert dat de gevonden relatie tussen het VWF antigeenniveau en het hartinfarctrisico niet toe te schrijven is aan de activiteit van VWF als oorzaak van deze ziekte.
- dit proefschrift -
4. Ondanks synergie tussen het effect van gebruik van orale anticonceptie en het effect van bepaalde risicofactoren, is een screeningsprogramma waarbij bloedwaarden de basis vormen voor het besluit of vrouwen kunnen starten met de pil niet wenselijk.
- dit proefschrift -
5. Het gebruik van verzamelvariabelen, zoals '*combined endpoints*' en '*aggregate measures*', bemoeilijkt causale inferentie, maar maakt dat niet onmogelijk.
6. Een ratio is altijd informatiever dan een enkel getal; twee getallen zijn altijd informatiever dan hun ratio.
7. Methoden gebaseerd op het concept van instrumentele variabelen zijn niet de droom van elke epidemioloog, wel van elke epidemiologiedocent.
Hernán M A, Robins JM. Instruments for causal inference: an epidemiologist's dream? Epidemiology. 2006; 17:360–72.
8. Het gebruik van de '*rare disease assumption*' als rechtvaardiging voor het gebruik van de patiënt-controle studieopzet bemoeilijkt het inzichtelijk maken van de functie van de referentiegroep.
Vandenbroucke JP, Pearce N. Case-control studies: basic concepts. Int J Epidemiol. 2012; 41:1480–1489.
9. Ter verbreding van de opleiding, alsmede ter voorkoming van tunnelvisie en wetenschappelijk wangedrag, dient elke onderzoeker ten minste in twee onderzoeksgroepen werkzaam te zijn geweest gedurende zijn opleiding tot onafhankelijk onderzoeker.
10. Je snapt iets pas als je het kan uitleggen.
11. (Het is) niet het antwoord, maar het vragen; het is de route, niet de kaart.
Huub van der Lubbe / De Dijk - 2008 - uit 'Niet de lijnen, maar de bocht'-

<http://www.bobsiegerink.com>
<http://www.mendeley.com/bsiegerink>

Het onderzoek beschreven in deze samenvatting is mede mogelijk gemaakt door financiële ondersteuning door de Hartstichting, het Praeventiefonds en de Leducq stichting.

