

Blood Outgrowth Endothelial Cells (BOECs) en Megakaryocyten (MKs) voor in vitro studies van hemostatische en secretoire functie.

Gepubliceerd: 12-08-2020 Laatste bijgewerkt: 04-07-2024

1. Om geoptimaliseerde technieken op te zetten voor de isolatie en karakterisatie van BOECs, CD34+-gederiveerde MKs, iPSC-ECs en iPSC-MKs. 2. Met behulp van BOECs, bloedplaatjes, CD34+-gederiveerde MKs, iPSC-ECs en iPSC-MK de cellulaire mechanismen...

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving nog niet gestart
Type aandoening	Overige aandoening
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, zonder invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON56840

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

Cellulaire functie in BOECs en MKs

Aandoening

- Overige aandoening
- Stollingsstoornissen en bloedingsdiathesen (excl. trombocytopenische)
- Bloed- en lymfestelselaandoeningen, congenitaal

Synoniemen aandoening

bloedingsneiging ; secretoire functie defecten

Aandoening

inherited platelet function disorders

Betreft onderzoek met
Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Overige ondersteuning: Ministerie van OC&W, NWO Nationale Wetenschapsagenda, Landsteiner Stichting voor Bloedtransfusie Research

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: bloedstolling, endotheelcellen, megakaryocyten, Von Willebrand factor

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

Maximaal zeventig milliliter bloed zal worden afgenomen voor de isolatie van PBMCs, bloedplaatjes, plasma en DNA. Een aantal parameters zal in plasma worden gemeten teneinde het hemostatische en en angiogene profiel te karakteriseren. BOECs, iPSC-ECs/MKs en CD34+-gederiveerde primaire MKs zullen in vitro worden gekarakteriseerd. Eiwit expressie profielen zullen worden bestudeerd met whole proteome massa spectrometrie. DNA zal worden gegenotypeerd voor SNPs en mutaties in VWF en in VWF-geassocieerde genen.

Secundaire uitkomstmaten

n/a

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Achtergrond:

Von Willebrand factor (VWF), een lang multimeer adhesief plasma eiwit, vervult een cruciale rol in de bloedstelping door de adhesie van bloedplaatjes aan de (beschadigde) vaatwand te mediëren en door als chaperone de bloedstollingsfactor VIII (FVIII) in de circulatie te beschermen tegen

premature klaring. Het overgrote deel van het VWF in plasma wordt gesynthetiseerd door endotheelcellen, die het tijdelijk opslaan in zogenaamde Weibel-Palade bodies (WPBs) voordat ze het in het bloed secreteren. Bloedplaatjes slaan VWF ook op in alpha-granules van waaruit ze het secreteren na activatie, wat bijdraagt aan de vorming van een thrombus. De moleculaire mechanismen waarmee secretie van VWF uit endotheelcellen en bloedplaatjes wordt gecontroleerd zijn voor een groot deel nog onbegrepen. Afwijkingen in de secretie functie van bloedplaatjes en endotheelcellen kunnen leiden tot bloedingsproblemen, zoals bijvoorbeeld bij bloedplaatjes Storage Pool Disease (SPD), Von Willebrand Disease (VWD) en in individuen met "laag VWF".

Probleem definitie:

In ~30% van de patiënten met type 1 VWD (gedefinieerd als VWF <50 IU/dL) zijn geen mutaties in VWF aanwezig en wordt het ziektebeeld door mutaties in genetische loci buiten VWF veroorzaakt. Daarnaast is het in ~50% van de patiënten met bloedingsproblemen die naar tertiaire centra worden verwezen niet mogelijk om een moleculaire diagnose van hun klinische bloedingsafwijking te stellen, de zogenaamde Bleeding of Unknown Cause (BUC). Desmopressin wordt therapeutisch toegediend bij patiënten met bloedingsproblemen om bloedplaatjes functie te versterken. Desmopressin verhoogt VWF spiegels in plasma via geïnduceerde secretie van VWF uit in endotheelcellen opgeslagen Weibel-Palade bodies (WPBs). Doot tot nu toe onbegrepen oorzaak leidt desmopressin in ca 25% van de patiënten niet tot een verhoging van VWF/FVIII spiegels.

Onderzoeksvraagstelling

De hypothese van deze studie is dat defecten in componenten van de secretie machinerie van VWF causaal betrokken zijn bij gereduceerde VWF waarden in plasma van patiënten met bloedingsproblemen, bij een gereduceerde desmopressin response en bij bloedingsproblemen bij patiënten met Bleeding of Unknown Cause (BUC). Ten einde nieuwe determinanten van circulerende VWF spiegels en bloedingsfenotype te vinden gaan we de secretie mechanismen in endotheelcellen en bloedplaatjes bestuderen bij patiënten met afwijkingen in hemostatische en/of secretoire functies. Hiervoor zullen we patiënt-gebaseerde ex vivo cellulaire model systemen van endotheel en bloedplaatjes secretie genereren met behulp van blood outgrowth endothelial cells (BOECs), bloedplaatjes, CD34+-gederiveerde megakaryocyten en induced pluripotent stem cell (iPSC)-gederiveerde endotheelcellen (iPSC-ECs) en megakaryocyten (iPSC-MKs).

Doel van het onderzoek

1. Om geoptimaliseerde technieken op te zetten voor de isolatie en karakterisatie van BOECs, CD34+-gederiveerde MKs, iPSC-ECs en iPSC-MKs.
2. Met behulp van BOECs, bloedplaatjes, CD34+-gederiveerde MKs, iPSC-ECs en iPSC-MK de cellulaire mechanismen die de secretie functie van endotheelcellen en bloedplaatjes controleren uitpluizen, teneinde de pathofysiologie van bloedstollingsziekten en de genetische controle van VWF secretie beter te begrijpen.

3. Om in vitro methodes te ontwikkelen om in BOECs of iPSC-MKs met behulp van CRISPR genome editing (ziekte-verwekkende) mutaties in regulatoren van endotheel of bloedplaatjes functie te introduceren of te corrigeren,

Onderzoeksopzet

Deze studie is een basaal wetenschappelijke, experimentele in vitro studie waarvoor afname van bloed bij studie deelnemers noodzakelijk is.

Inschatting van belasting en risico

De studiedoelen kunnen alleen worden gehaald door cellen van patiënten en individuen met hemostatische en/of secretoire afwijkingen te bestuderen. Deelnemers aan deze studie zullen niet direct voordeel halen uit deze studie, echter, het ongemak is minimaal en beperkt zich tot een venepunctie, wat een minimaal risico met zich meebrengt. Deelnemers kunnen, als dit noodzakelijk is, nogmaals worden opgeroepen om bloed af te staan; dit zal beperkt worden tot maximaal 3 bloedafnames.

Contactpersonen

Publiek

Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Dr. Molewaterplein 40
Rotterdam 3015 GD
NL

Wetenschappelijk

Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Dr. Molewaterplein 40
Rotterdam 3015 GD
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Adolescenten (12-15 jaar)

Adolescenten (16-17 jaar)

Volwassenen (18-64 jaar)

Kinderen (2-11 jaar)

65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

Om mee te doen moet men aan de volgende criteria voldoen:

Patiënten:

Historische diagnose van VWD, laag VWF, erfelijke bloedplaatjes functie defecten, bloedingen met onbegrepen oorzaak, of erfelijke aandoeningen waarbij disfunctioneren van secretie mechanismen ten grondslag ligt aan het ziektebeeld.

Voor patiënten ≥ 16 jaar oud; getekend informed consent

- Voor patiënten 12-15 jaar oud; getekend informed consent van zowel de patiënt als van hun ouder(s) / verzorger(s)
- Voor patiënten < 12 jaar oud; getekend informed consent van zowel de patiënt als van hun ouder(s) / verzorger(s)

Familieleden

- 18 jaar of ouder
- Familielid van een patiënt met VWD, laag VWF, erfelijke bloedplaatjes functie defecten, bloedingen met onbegrepen oorzaak, of erfelijke aandoeningen waarbij disfunctioneren van secretie mechanismen ten grondslag ligt aan het ziektebeeld. .
- Familieleden kunnen zelf wel of niet aangedaan zijn door de ziekte.

Gezonde controles

- 18 jaar of ouder
- Niet gediagnosticeerd zijn met VWD, laag VWF, erfelijke bloedplaatjes functie defecten, bloedingen met onbegrepen oorzaak, of erfelijke aandoeningen waarbij disfunctioneren van secretie mechanismen ten grondslag ligt aan het ziektebeeld. .

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

Een potentiële deelnemer die aan de volgende criteria voldoet zal worden uitgesloten van deelname aan deze studie:

- Niet in staat om getekend informed consent te geven.
- Gebruik van medicatie welke de bloedplaatjes functie en/of hemostase kan beïnvloeden.

Onderzoeksopzet

Opzet

Type:	Observationeel onderzoek, zonder invasieve metingen
Onderzoeksmodel:	Anders
Toewijzing:	Niet-gerandomiseerd
Blinding:	Open / niet geblindeerd
Controle:	Geneesmiddel
Doel:	Anders

Deelname

Nederland	
Status:	Werving nog niet gestart
(Verwachte) startdatum:	01-04-2020
Aantal proefpersonen:	700
Type:	Verwachte startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO	
Datum:	12-08-2020
Soort:	Eerste indiening
Toetsingscommissie:	METC Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam (Rotterdam)

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register	ID
CCMO	NL72564.078.20