

uncomplicated pregnant women. In contrast, significantly elevated total ($p < 0.01$) and ionised ($p < 0.001$) magnesium serum concentrations are found in women with pre-eclampsia relative to uncomplicated pregnant women. A causative relation can be speculated since magnesium is involved in blood pressure

regulation through an intracellular inhibition of NO synthase in endothelial cells.

It can be concluded that for the group of patients studied here the total magnesium concentration in serum can be used to demonstrate an abundance of magnesium.

Bloedcellen en hun omgeving

Organisator en voorzitter: Dr. J. Lindemans, Rotterdam

Bloedsamenstelling en roken tijdens de zwangerschap

J.W.J. VAN WERSCH

Hematologisch laboratorium, De Wever Ziekenhuis, Heerlen

Van de Nederlandse vrouwen in de vruchtbare levensfase rookt 30%, een derde van de Nederlandse vrouwen blijft roken tijdens de zwangerschap. Roken wordt geassocieerd met een dosisafhankelijke afname van bevruchting en vruchtbaarheid bij vrouwen en heeft negatieve effecten op het verloop van de zwangerschap en op het zwangerschapsresultaat. De hier gepresenteerde resultaten hebben betrekking op de effecten van het roken op de bloedsamenstelling bij moeder en kind en kunnen als volgt samengevat worden:

- Cotinine, de belangrijkste metaboliet van nicotine, wordt gemakkelijk getransporteerd naar de foetus en de neonat. Dat lijkt met name het geval wanneer de moeder meer dan 10 sigaretten per dag rookt.
- Zwangerschap veroorzaakt een stijging van het aantal leukocyten. Roken tijdens de zwangerschap leidt tot een verdere toename van het aantal leukocyten.

- Roken tijdens de zwangerschap veroorzaakt een daling van het aantal erythrocyten en een toename van het gemiddelde celvolume (MCV) en heeft geen klinisch relevant effect op het aantal reticulocyten en de subfracties daarvan.

- Bij zwangere vrouwen die roken, wordt de geactiveerde coagulatie niet gecompenseerd door een toename van de fibrinolyse. Bij niet-rooksters is dat wel het geval.

- Roken tijdens de zwangerschap veroorzaakt een daling van het aantal neutrofielen bij de pasgeborene. Bij mannelijke pasgeborenen is dit in hogere mate het geval dan bij vrouwelijke.

- Bij pasgeborenen blijkt het evenwicht tussen coagulatie en fibrinolyse niet verstoord als hun moeders tijdens de zwangerschap rookten.

Interactie tussen bloedplaatjes en lipoproteïnen

J.W.N. AKKERMAN

Afdeling Hematologie, Academisch Ziekenhuis, Utrecht

Epidemiologische studies tonen een correlatie tussen het optreden van hart- en vaatziekten en een verhoogd gehalte aan "Low-density lipoprotein" (LDL), terwijl een hoog "high-density lipoprotein" (HDL) dit juist zou tegen gaan. Bloedplaatjes spelen een centrale rol bij de vorming van een trombus en dragen bij tot het ontstaan van atherosclerose. Recent onderzoek toont aan dat lipoproteïnen de functie van plaatjes beïnvloeden.

Plaatjes hebben specifieke bindingsplaatsen voor LDL (ca. 3000/plaatje; $K_d = 37 \text{ nM}$) en HDL (ca. 1500/plaatje; $K_d = 31 \text{ nM}$). Bij patiënten met APO B/E receptordeficiëntie is LDL binding aan plaatjes normaal en ook de kinetische eigenschappen van LDL-plaatjes interactie wijzen op een afwijkend receptor type. In concentraties tussen 1-2 g/l versterkt LDL de binding van fibrinogeen aan plaatjes gestimuleerd door ADP, aggregatie en tromboxaan A_2 productie en bevordert LDL de gevoeligheid voor adrenaline. Bij hogere concentraties ($> 3 \text{ g/l}$) induceert LDL aggregatie

en secretie in afwezigheid van een plaatjes-agonist. De stimulatie van tromboxaan productie wijst op versnelling van de fosfolipase A_2 weg die leidt tot mobilisatie van arachidonzuur en synthese van endoperoxiden/tromboxaan die beide via positieve "feed back" plaatjesfuncties versnellen. Mogelijk speelt hierbij de fibrinogeen receptor (glycoproteïne IIb/IIIa of integrine $\alpha_{IIb}\beta_3$) een grote rol omdat remming van ligand-binding aan dit complex het effect van LDL blokkeert. Echter, remmers van de fosfolipase A_2 weg blokkeren stimulatie door LDL onvolledig, zodat een tweede mechanisme een rol moet spelen. Resultaten van incubaties met totaal HDL zijn minder duidelijk en variëren van remming of geen effect tot stimulatie van plaatjesfuncties. Deze tegenstrijdigheden worden wellicht verklaard door de tegengestelde effecten van HDL2 (plaatjesremming) en HDL3 (plaatjes-activatie) en de sterk wisselende verhouding tussen beide subfracties in plasma's van verschillende individuen.

Methodologie en klinische relevantie van geactiveerde bloedplaatjes in de circulatie

R. NIEUWLAND

Afdeling Klinische Chemie, Academisch Ziekenhuis Leiden

Excessieve activatie van bloedplaatjes speelt een pathofysiologische rol bij o.a. arteriële cardiovasculaire aandoeningen. Verhoogde plaatjesactivatie *in vivo* is met diverse methoden onderzocht, door verbindingen in bloed, plasma of urine te meten die worden gesecreteerd door geactiveerde bloedplaatjes (β -tromboglobuline, plaatjesfactor 4 en tromboxaan B₂). Meer recent wordt flowcytometrie toegepast. Tijdens de activatie versmelten de membranen van de secretiegranula, die unieke eiwitten bevatten, met de plasma membraan. Daardoor brengen geactiveerde bloedplaatjes eiwitten op het celoppervlak tot expressie die afwezig zijn op rustende cellen, die kunnen worden gemeten met behulp van flowcytometrie. Omdat de expressie van deze eiwitten of hun unieke conformatie een in hoge mate dynamisch proces is, is het noodzakelijk het bloed en dus de trombocyten te fixeren. Eigen onderzoek laat zien dat een milde fixatie optimaal is. Bij patiënten die een PTCA ondergingen bleek de verhoogde activatie status een voorspellende waarde te hebben voor reocclusie. Ook kan met deze techniek de interactie tussen bloedplaatjes en leukocyten worden gemeten. Deze interactie is verhoogd in

patiënten met instabiele- versus stabiele angina pectoris en is mogelijk van pathofysiologisch belang. Wij hebben een verhoogde activatie van bloedplaatjes bij preeclampsie aangetoond. Met flowcytometrie kunnen ook 'microparticles', kleine blaasjes die van cellen worden afgesnoerd na activatie worden aangetoond. Zelf hebben wij flowcytometrie gebruikt om de herkomst vast te stellen van micropartikels, die in verhoogde concentraties voorkomen in bloed van patiënten die een open hartoperatie ondergaan. De micropartikels waren afkomstig van erythrocyten, monoccyten en bloedplaatjes. Ook kon annexine V binding worden aangetoond, hetgeen wijst op expressie van fosfatidylserine door de micropartikels. Dit is een voorwaarde voor het katalyseren van tenase- en protrombinasecomplexvorming. De *in vivo* ontstane micropartikels bleken sterk stollingsbevorderend te zijn en deze activiteit was afhankelijk van zowel factor VII/VIIa als weefselfactor, maar was onafhankelijk van factor XII. Concluderend is flowcytometrie een gevoelige en betrouwbare techniek voor de meting van verhoogde bloedplaatjes activatie, interactie met leukocyten en micropartikels.

Ontwikkelingen in de Rhesusdiagnostiek en hun klinische implicaties

D.J. van RHENEN

Rode Kruis Bloedbank Rotterdam en Afdeling Hematologie, Academisch Ziekenhuis Rotterdam

Het Rhesus bloedgroepsysteem is het meest polymorfe systeem van de rode bloedcellen. Tot nog toe zijn 44 verschillende antigenen geïdentificeerd. Van de 5 meest frequent voorkomende antigenen, D, C, c, E en e, is het D antigeen klinisch het meest belangrijk. Traditioneel werden deze bloedgroepen geïdentificeerd met van donoren of patiënten afkomstige polyclonale reagentia. Het successievelijk beschikbaar komen van monoclonale antistoffen en van moleculair biologische technieken heeft de diagnostiek van de Rhesus bloedgroep drastisch veranderd.

Het meest uitgebreid onderzocht is de Rhesus D bloedgroep. Recent onderzoek met monoclonale antistoffen suggereert dat alleen het D-antigeen al opgesplitst kan worden in tenminste 36 epitopen. Bij moleculair biologisch onderzoek is gebleken dat de Rhesus bloedgroep wordt gecodeerd door twee sterk homologe RH-genen. Het RHCE-gen codeert voor de

C/c-polyptides en voor de E/e-polyptides. Het RHD-gen codeert voor de D-polyptides. Bij RhD negatieve individuen is het D-gen grotendeels of volledig gedeleteerd. Het RHD-gen blijkt meer dan voorheen gedacht werd variatie te vertonen. Dit kan gebeuren doordat stukken van het RHCE-gen het corresponderende deel van het RHD-gen innemen (genconversie), ook zijn puntmutaties beschreven.

Het blijkt dat door deze DNA-veranderingen ook de expressie van de D-epitopen verandert. In de praktijk spreekt men van partieel D. Van klinisch belang is dat door deze veranderingen in het RH gen dan wel polypeptide diagnostische methoden (PCR, testen met monoclonale antistoffen) geïnvalideerd kunnen worden.

In deze voordracht zal een overzicht gegeven worden van de stand van zaken met betrekking tot de Rhesusdiagnostiek.