

Hypercoagulability in cancer : new aspects of Trousseau's syndrome

Citation for published version (APA):

Nijziel, M. R. (2006). *Hypercoagulability in cancer : new aspects of Trousseau's syndrome*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20061103mn>

Document status and date:

Published: 01/01/2006

DOI:

[10.26481/dis.20061103mn](https://doi.org/10.26481/dis.20061103mn)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

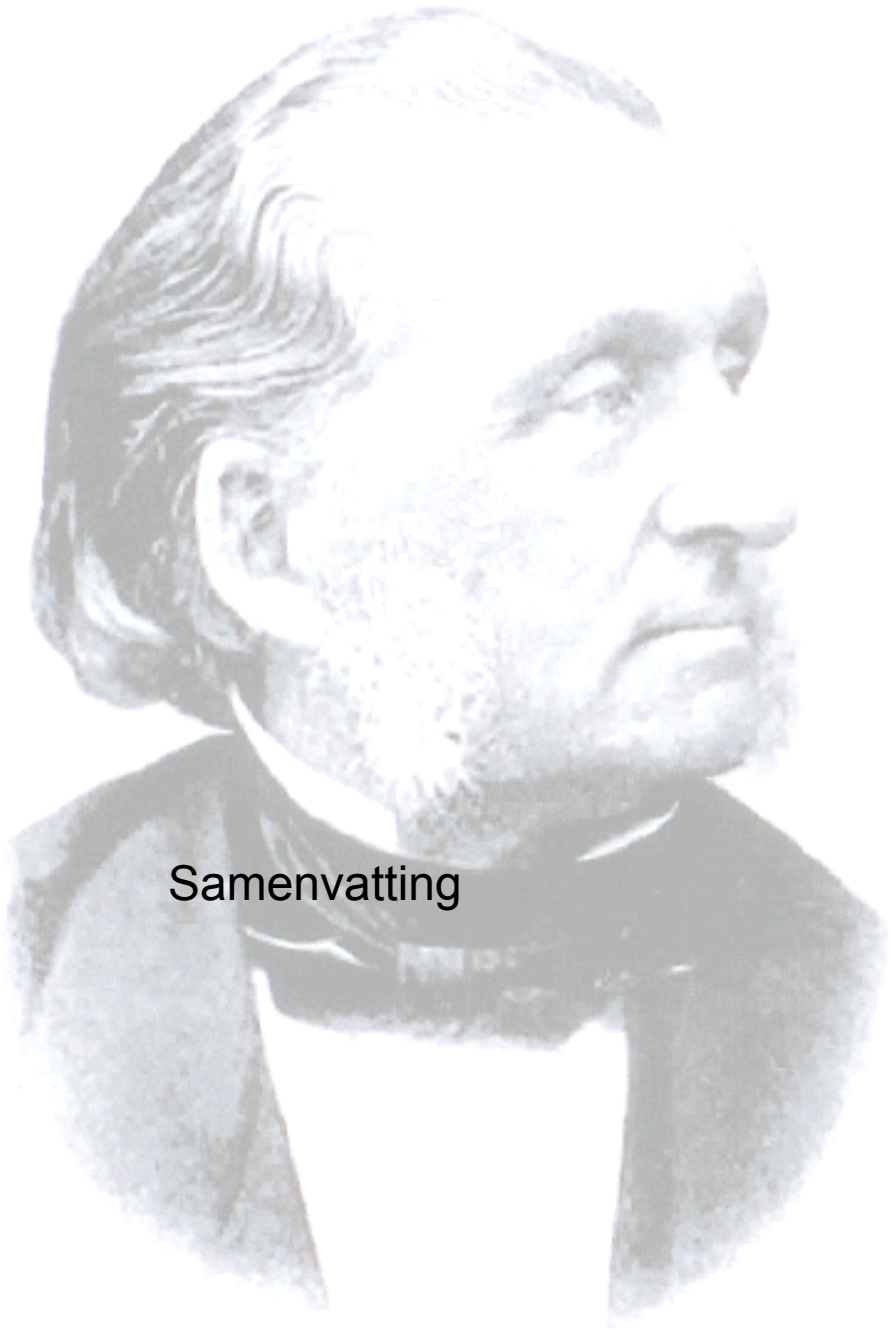
www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.



Samenvatting

Samenvatting

Het klinische probleem en de vraagstellingen

In 1865 beschreef de Franse arts Armand Trousseau (1801-1867) voor het eerst de relatie tussen trombose en kanker. Het viel hem op dat trombosebenen en longembolieën meer voorkwamen bij patiënten met kanker en hij suggereerde een verandering in de samenstelling van het bloed van kankerpatiënten. Ook bijna 150 jaar later in 2006 is trombose een van de meest voorkomende complicaties van kanker. In 10-15% van de patiënten met een bekende maligniteit worden diep veneuze tromboses of longembolieën, samen veneuze tromboembolieën (VTE), gezien. Deze treden spontaan op, of na operaties, tijdens chemotherapie of bij het gebruik van een centrale lijn. De kans op trombose is bij patiënten met kanker ongeveer zes keer zo groot in vergelijking met gezonden en in het geval van metastasen zelfs bijna twintig maal. Van alle patiënten die zich op de eerste hulp van een gemiddeld Nederlands ziekenhuis melden met een spontane VTE ontwikkelt 10-15% binnen twee jaar een manifeste maligniteit. Het wordt steeds meer duidelijk dat dit geen toeval is. Een kankercel gebruikt de stolling namelijk om te groeien.

Tumorcellen kunnen op meerdere niveaus het stollingssysteem activeren, zowel in de primaire hemostase met de activatie van bloedplaatjes en de von Willebrand Factor als in de secundaire hemostase met de expressie van tissue factor leidend tot de vorming van fibrine. Dit fibrine vormt de matrix waarin tumorcellen nieuwe bloedvaatjes maken, de zogenaamde angiogenese. Via deze nieuwe vaatjes verzekert de tumor zich van de aanvoer van zuurstof en voedingsstoffen om te kunnen groeien. Bovendien kunnen de tumorcellen zich verspreiden via de gevormde bloedvaatjes en zo uitzaaien in het lichaam. Verschillende onderdelen van het stollingssysteem spelen een belangrijke rol bij de angiogenese, de groei en de metastasering van tumorcellen. De interactie tussen tumorcellen en het stollingssysteem leidt tot een verhoogde staat van activiteit van het stollingssysteem, hypercoagulabiliteit genoemd. Als afgeleide hiervan zien we in de klinische praktijk een toename van VTE bij kankerpatiënten. De recidiverende tromboflebitis die voorkomt bij kankerpatiënten wordt het syndroom van Trousseau genoemd, naar de eerste beschrijver ervan.

Ondanks het feit dat de relatie tussen stolling en kanker nu al bijna anderhalve eeuw bekend is, is er nog zeer veel onduidelijk. Hoe activeert de tumorcel de stolling nu precies? Is de stolling echt wel zo belangrijk of zijn er veel belangrijker systemen waarvan de stolling slechts een ondergeschikt onderdeel vormt? Heeft het meten van stollingsactivatie bij een patiënt met een maligniteit klinische betekenis en is dit een aanwijzing dat er tumorcellen in het

lichaam aanwezig zijn die de stolling activeren? Heeft stollingsactivatie bij patiënten met een maligniteit waarde in het voorspellen van toekomstige VTE? Heeft stollingsactivatie bij patiënten met een maligniteit voorspellende waarde voor wat betreft overleving? Op een deel van deze vragen probeert dit proefschrift antwoord te geven.

We hebben gekeken naar de mogelijke betekenis van een breed spectrum van stollingsfactoren bij kanker: factoren die rechtstreeks de stolling activeren (procoagulante factoren), factoren die de stolling remmen (anticoagulante factoren), factoren gerelateerd aan de fibrinolyse en factoren gerelateerd aan het endotheel.

Procoagulante factoren: tissue factor activatie van monocyt nader bekeken

Allereerst is gekeken naar factoren die rechtstreeks de stolling activeren, zogenaamde procoagulante factoren. De belangrijkste van deze factoren is het zogenaamde weefselfactor, tissue factor. Tissue factor (TF) is bij gezonden aanwezig in het subendotheel van de bloedvatwand. Bij een letsel van het bloedvat komt het subendotheliale tissue factor in aanraking met het bloed waarna verschillende stollingsfactoren in het bloed worden geactiveerd en uiteindelijk fibrinogeen omgezet wordt in fibrine. De gevormde fibrinedraden dichten mede het gat in de vaatwand. Bij patiënten met een maligniteit wordt een belangrijke rol in de stollingsactivatie toegedicht aan de aanwezigheid van TF op andere plaatsen dan in het subendotheel, zoals op tumorcellen zelf en op monocyt.

Er bestaat geen twijfel over de aanwezigheid van TF op kankercellen zelf. Wat betreft de aanwezigheid van TF op monocyt is er meer twijfel. De theorie is dat tumorcellen de monocyt kunnen aanzetten tot het maken van TF en dat deze TF op de celmembran van de monocyt tot expressie wordt gebracht en zo de stolling kan activeren. Ook is bij niet-kankerpatiënten aangetoond dat monocyt van het ene individu bij stimulatie meer TF activiteit tonen dan monocyt van een ander individu bij dezelfde stimulatie. Dit wordt het hoog- en laagresponder fenomeen genoemd. Dit fenomeen wordt toegeschreven aan het effect op de monocyt van granulocyt, trombocyt en LPS (lipopolysaccharide). Het zou hoog responders meer vatbaar maken voor coronaire hartziekten en trombose. Of dit fenomeen bij kankerpatiënten een rol speelt is nooit onderzocht.

TF op monocyt is bij kankerpatiënten aangetoond, maar vooral door middel van in vitro studies. Geïsoleerde monocyt van kankerpatiënten werden geactiveerd met LPS en lieten meer TF expressie zien dan monocyt van gezonden. Er zijn geen studies waarbij in vivo de TF expressie van monocyt is gemeten en vergeleken is met gezonde controles. Bovendien is stimulatie

met LPS, een stof die vrijkomt bij ernstige infecties, te verdedigen in het geval van onderzoek naar TF expressie op monocytten bij bijvoorbeeld de diffuse intravasale stolling bij een meningococcensepsis, maar is deze niet (fysio)logisch bij patiënten met een maligniteit. Wij hebben twee belangrijke zaken onderzocht. Ten eerste hebben wij de TF expressie gemeten op monocytten direct in het perifere bloed. Ten tweede hebben wij onderzocht of het hoog- en laagresponder fenomeen bij kankerpatiënten aanwezig is en een rol kan spelen in de stollingsactivatie en de toegenomen kans op trombose bij deze patiënten.

Door direct met behulp van flowcytometrie bij patiënten met een gemetastaseerde maligniteit het aantal monocytten te meten dat TF tot expressie brengt werd door ons aangetoond dat slechts 10 % van de monocytten van deze patiënten inderdaad TF op de celmembraan heeft¹. Het is echter bekend dat van de totale hoeveelheid TF in de monocyt maar 10 tot 20 % tot expressie wordt gebracht op de celmembraan en dat 80 tot 90 % in de monocyt zelf zit. Een manier om dit TF toch te meten is bepaling van het totale TF messenger RNA van de monocyt. Wij hebben er echter voor gekozen om de monocytten te lyseren (op te lossen). Op die manier kon met een nieuw ontwikkelde test de totale TF activiteit van de monocyt, zowel in de monocyt als aan de membraan gebonden, worden gemeten. Omdat bij kankerpatiënten LPS geen belangrijke rol speelt, hebben wij de TF activiteit van monocytten in deze test gemeten na stimulatie met plasma zonder LPS. Allereerst werd gekeken bij gezonden. Wij toonden aan dat in de afwezigheid van granulocyten, bloedplaatjes en LPS, plasma een belangrijke regulator is van de monocytten TF activiteit². Twee sets monocytten, geïsoleerd van twee gezonde vrijwilligers, werden gestimuleerd met vele plasmamonsters, in de afwezigheid van granulocyten, bloedplaatjes en LPS, en reageerden identiek. Een plasmamonster dat in de ene set monocytten een hoge TF activiteit gaf deed dat ook in de andere set monocytten. Een plasmamonster dat in de ene set monocytten een lage TF activiteit gaf deed dat ook in de andere set monocytten. Hiermee werd het hoog- en laagresponder fenomeen bevestigd. Antistolling met coumarinederivaten had op het hoog- en laagresponder fenomeen geen effect².

Omdat bij patiënten met een maligniteit diverse veranderingen in plasma eiwitten zijn beschreven was de hypothese onzerzijds dat door deze veranderingen plasma van kankerpatiënten een hogere TF respons van monocytten zou geven dan plasma van gezonde controles. Dit zou een verklaring kunnen zijn voor de hypercoagulabiliteit van kankerpatiënten. Hoewel ook wij verschillen vonden in vele plasma eiwitten, passend bij activatie van de stolling en de fibrinolyse, kon de hypothese niet worden bevestigd. Wel

was ook bij kankerpatiënten het hoog- en laagresponder fenomeen aanwezig, maar kankerpatiënten waren geen hogere responders dan gezonde controles³. Bovendien kon er geen correlatie worden aangetoond met activatie van de stolling.

Samenvattend laten onze studies bij herhaling zien dat bij patiënten met borstkanker en andere maligniteiten TF activiteit van monocytten niet gecorreleerd is met activatie van het stollingsstelsel. Dit alles suggereert dat de stolling bij kankerpatiënten wordt geactiveerd door andere belangrijkere mechanismen dan TF activiteit van monocytten. Recent is gesuggereerd dat tissue factor dragende micropartikels, onder andere afkomstig van monocytten, een rol spelen bij de stollingsactivatie van kankerpatiënten. Deze micropartikels zijn te klein om met beide boven beschreven testen te worden opgemerkt. Daarom is het niet uit te sluiten dat er wel een rol is voor deze tissue factor dragende micropartikels afkomstig van monocytten.

Anticoagulante factoren: resistentie tegen geactiveerd proteïne C

De hypercoagulabiliteit bij kankerpatiënten wordt voornamelijk toegeschreven aan een toename van stollingsfactoren die de stolling activeren. De mogelijkheid dat een afname van factoren die normaal voor remming van de stolling zorgen, ook tot stolling kan leiden, heeft bij patiënten met een maligniteit tot nu toe niet of nauwelijks aandacht gekregen. Deze anticoagulante factoren zorgen er normaal voor dat de vorming van het fibrinestelsel beperkt blijft tot de plaats van de laesie in de vaatwand. Een van deze factoren is het geactiveerde proteïne C (APC). APC remt samen met zijn co-factor proteïne S de geactiveerde stollingsfactoren V en VIII en daarmee de vorming van trombine en fibrine. Een deficiëntie van proteïne C of een resistentie tegen APC zoals bij de factor V Leiden leidt tot een verhoogde trombosevorming. Onze hypothese was dat een resistentie tegen APC een rol zou kunnen spelen in de hypercoagulabiliteit bij kankerpatiënten. Wij hebben de APC resistentie bepaald met een eind jaren negentig in het laboratorium van de biochemie van de Universiteit Maastricht nieuw ontwikkelde test die het effect van APC meet op de trombinevorming geïnitieerd via TF. Omdat dit TF bij kankerpatiënten gezien wordt als belangrijkste activator van de stolling, leek deze test bij uitstek geschikt om bij kankerpatiënten resistentie tegen APC aan te tonen. Uiteraard werden patiënten met een factor V Leiden uitgesloten.

Inderdaad werd bij een grote groep vrouwen met borstkanker een significante resistentie tegen APC gevonden. Zowel vrouwen met borstkanker met metastasen als vrouwen zonder metastasen hadden een resistentie tegen APC. Opvallend was dat de correlatie met proteïne S zoals die bij gezonden aanwezig is, proteïne S is co-factor van APC, bij vrouwen met uitgezaaide

borstkanker geheel verdwenen was⁴. Het mechanisme dat e.e.a. veroorzaakt is vooralsnog onduidelijk. Ons onderzoek is het allereerste geweest bij vrouwen met borstkanker en tevens het eerste bij kankerpatiënten met deze nieuwe test.

Samenvattend zou een verworven APC-resistentie een rol kunnen spelen bij de hypercoagulabiliteit van kankerpatiënten.

Factoren uit de fibrinolyse: de oplosbare urokinase-type plasminogeen activator receptor

In de normale fibrinolyse wordt plasminogeen omgezet in plasmine na activatie door tPA (tissue plasminogeen activator) of uPA (urokinase-type plasminogeen activator). Dit plasmine breekt het gevormde fibrinestolsel af tot de fibrine afbraakproducten fragment D, fragment E en D-dimeren. Plasmine wordt geïnactiveerd door alpha2-antiplasmine door de vorming van plasmine-alpha2-antiplasmine (PAP) complexen. Bij kankerpatiënten lijkt in het bijzonder het urokinase-type plasminogeen activator systeem een rol te spelen. Hierbij bindt uPA aan de uPA receptor (uPAR), die onder andere aanwezig is op monocyten en op tumorcellen. Daardoor wordt plasminogeen omgezet in plasmine. Plasmine is een protease dat niet alleen in staat is om fibrine te splitsen, maar ook direct, of indirect via zogenaamde matrix metalloproteinases, de extracellulaire matrix afbreekt. Daardoor kunnen tumorcellen en monocyten ter plaatse de matrix binnendringen en zich verspreiden. De oplosbare urokinase-type plasminogeen activator receptor (s-uPAR) reflecteert de lokale expressie en uitscheiding van uPAR en kan dus een maat zijn voor de activiteit van uPAR op tumorcellen en/of monocyten. PAP complexen zijn een goede weergave van de plasminevorming, D-dimeren een maat voor de afbraak van fibrine en stollingsfactor XII is een bekende plasminogeen activator.

De s-uPAR was significant hoger in borstkankerpatiënten met metastasen in vergelijking met borstkankerpatiënten zonder metastasen en gezonde controles⁵. Er was geen verschil tussen de patiënten zonder metastasen en de controles. Ook de PAP-complexen en de D-dimeren waren significant verhoogd bij de borstkankerpatiënten met metastasen in vergelijking met de patiënten zonder metastasen en gezonde controles. Er was geen verschil in uPA of stollingsfactor XII tussen de groepen. Deze resultaten suggereren een lokale activiteit en uitscheiding van uPAR zonder toename van uPA in het plasma. Meest logische verklaring is dat lokaal uPA van tumorcellen of monocyten bindt aan de uPAR en daardoor plasminogeen wordt omgezet in plasmine. Ook de sterke toename in PAP-complexen en D-dimeren past hierbij.

Samenvattend lijkt activering van het fibrinolytisch systeem en met name het urokinase-type plasminogeen activator systeem een belangrijke rol te spelen bij onze borstkankerpatiënten.

Factoren gerelateerd aan het endotheel: de von Willebrand Factor

Bij patiënten met een maligniteit wordt interactie van de tumorcel met het endotheel gezien als een van de mechanismen die bijdragen aan de verhoogde stollingsneiging. In het endotheel worden vele belangrijke eiwitten gesynthetiseerd, onder andere eiwitten die een rol spelen in de stolling zoals de von Willebrand Factor (vWF). De vWF is het dragereiwit voor stollingsfactor VIII en bevordert in de primaire hemostase de adhesie van bloedplaatjes aan de vaatwand waardoor een letsel in de vaatwand wordt gedicht door een bloedplaatjesprop. Bij kankerpatiënten zijn verhoogde waarden van de vWF beschreven. Dit wordt toegeschreven aan endotheelschade door tumorcellen met vrijkomen van vWF, endotheelactivatie door tumorcellen met vrijkomen van vWF en aan de angiogenese door tumorcellen zelf. Er zijn aanwijzingen dat vWF de binding van tumorcellen aan bloedplaatjes bevordert waardoor de tumorcellen zijn omgeven door bloedplaatjes en zich kunnen onttrekken aan het immuunsysteem.

Inderdaad was de vWF significant verhoogd bij borstkankerpatiënten met metastasen in vergelijking met borstkankerpatiënten zonder metastasen en gezonde controles. De borstkankerpatiënten zonder metastasen hadden op hun beurt een significant hogere vWF dan gezonde controles⁶. Eerder was al bij dikke darmkanker aangetoond dat de vWF geassocieerd was met het stadium van de tumor en de aanwezigheid van metastasen. Ons onderzoek is het eerste dat dit nu ook bij borstkanker heeft aangetoond.

Parameters uit het stollingssysteem als maat voor tumor activiteit: voorspellende waarde voor overleving, metastasering of VTE?

Onze hypothese was dat als een tumorcel het stollingssysteem en de fibrinolyse activeert omdat deze systemen essentieel zijn voor groei en metastasering van de tumor, een toename of afname van bepaalde factoren uit de stolling of fibrinolyse een aanwijzing zou kunnen zijn dat er levende tumorcellen in het lichaam aanwezig zijn. De geactiveerde stolling zou prognostische betekenis kunnen hebben primair voor het optreden van metastasen en secundair voor de overleving bij al gemetastaseerde patiënten. Bovendien zou de stollingsactivatie een rol kunnen spelen in het krijgen van een VTE. Routine stollingstesten als de APTT en de PT verschillen bij kankerpatiënten niet van gezonden. Daarom hebben wij gekeken naar andere parameters, die meer op detailniveau een rol spelen in stolling of fibrinolyse, zoals trombinegeneratie, APC resistentie, de s-uPAR, PAP-complexen,

stollingsfactor XII, D-dimeren en de vWF. Van al deze parameters werden significant verhoogde waardes gevonden bij patiënten met borstkanker^{4,6}. Alle patiënten uit ons onderzoek werden gedurende vijf jaar vervolgd. Ondanks dat interpretatie van de resultaten bemoeilijkt wordt door de relatief kleine patiëntengroepen zijn er toch opvallende bevindingen.

APC-resistentie. Hoewel de APC-sr bij patiënten met borstkanker significant verhoogd is, wijzende op een verworven APC-resistentie, kon de APC-sr niet discrimineren tussen patiënten met en zonder metastasen. Wel was zeer opvallend dat de APC-sr significant hoger was bij patiënten die na drie jaar follow-up nog in leven waren in vergelijking met de in die tijd overleden patiënten. Dit suggereert dat patiënten met een verdergevoerd stadium van ziekte minder afhankelijk zijn van de stollingsactivatie zoals die veroorzaakt wordt door een APC-resistentie. De APC-sr was niet significant verschillend bij de zes patiënten die gedurende de vijf jaar follow-up metastasen ontwikkelden. Hoewel in de follow-up slechts drie patiënten een VTE kregen hadden alle drie sterk verhoogde APC-sr waardes. Dit suggereert een mogelijke rol van APC-resistentie bij het ontwikkelen van een VTE⁶.

s-uPAR. Een eenmalige meting van de s-uPAR in de follow-up bij borstkankerpatiënten met en zonder metastasen had geen voorspellende waarde voor overleving, het krijgen van metastasen of VTE⁵. Dit dus ondanks het feit dat de s-uPAR significant verhoogd was bij borstkankerpatiënten met metastasen in vergelijking met patiënten zonder metastasen en controles.

Stollingsfactor XII: factor XII was significant verhoogd bij de borstkankerpatiënten met metastasen die na drie jaar follow-up overleden waren. Dit suggereert een rol van factor XII bij progressie van de ziekte. Echter, het ontbreken van een significant verschil tussen patiënten met metastasen, patiënten zonder metastasen en gezonde controles, maakt de waarde van factor XII in de follow-up beperkt. Ook had factor XII geen voorspellende waarde voor het krijgen van metastasen of een VTE⁵.

D-dimeer: Hoe hoger de D-dimeer waarde, des te slechter de overleving. De D-dimeer waardes waren meer dan drie maal zo hoog bij de patiënten die na drie jaar follow-up overleden waren en zijn daardoor sterk gecorreleerd met de overleving. De twaalf patiënten met de hoogste D-dimeer waardes zijn gedurende de follow-up allen overleden. Bij een patiënte zonder metastasen was de D-dimeer waarde sterk verhoogd. Zij ontwikkelde levermetastasen en overleed na 30 maanden follow-up. De sterk verhoogde D-dimeer waarde zou het eerste teken kunnen zijn geweest van de metastasering. Bij de patiënten die een VTE ontwikkelden gedurende de follow-up had de D-dimeer geen voorspellende waarde, hoewel twee van de drie patiënten hoge D-dimeer waardes hadden⁵.

vWF: Hoe hoger de vWF waarde, des te slechter de overleving. De vWF had geen voorspellende waarde voor het krijgen van metastasen gedurende de follow-up. Wel hadden de drie patiënten die een VTE ontwikkelden allen een sterk verhoogde vWF waarde⁶. Hoewel als gezegd de patiëntengroepen relatief klein waren en het aantal patiënten dat een VTE ontwikkelde ook, zou dit kunnen betekenen dat een hoge vWF bijdraagt aan het krijgen van een VTE en een teken is van hypercoagulabiliteit.

Samengevat lijken met name de D-dimeer en vWF waarde veelbelovend voor het voorspellen van de overleving bij borstkankerpatiënten. Bovendien zijn de vWF en de APC-sr mogelijk van voorspellende waarde voor het krijgen van een VTE.

Recent is aangetoond dat laag moleculair gewicht heparine (LMWH) mogelijk levensverlengend kan werken bij patiënten met een gemetastaseerde maligniteit ook zonder een klinisch manifeste VTE. Onze studies suggereren dat kankerpatiënten met een hoge D-dimeer, vWF, s-uPAR en APC-sr een geactiveerde stolling en fibrinolyse hebben. Onze hypothese is dat juist deze patiënten baat hebben bij een behandeling met LMWH. Langzamerhand beginnen we meer te begrijpen van de hypercoagulabiliteit bij kankerpatiënten, waardoor nieuwe mogelijkheden worden geopend voor de behandeling van trombose bij kanker maar ook voor de behandeling van de onderliggende maligniteit. Meer inzicht in de onderliggende mechanismen kan in de toekomst leiden tot de ontwikkeling van nieuwe middelen die ingrijpen in de biologie van de tumor. Wij hopen dat dit proefschrift hier een kleine bijdrage aan geleverd heeft.

References

1. Nijziel MR, van Oerle R, van Pampus ECM, de Vet HCW, Hillen HFP, Hamulyák K. Increased D-dimer levels correlate with binding of activated protein C, not tissue factor expression, on peripheral blood monocytes in cancer patients. *Am J Hematol* 2000;64:282-6.
2. Nijziel MR, van Oerle R, van 't Veer C, van Pampus E, Lindhout T, Hamulyák K. Tissue factor activity in human monocytes is regulated by plasma: implications for the high and low responder phenomenon. *Br J Haematol* 2001;112:98-104.
3. Nijziel MR, van Oerle R, van Pampus ECM, Hillen HFP, Hamulyák K. Tissue factor activity in monocytes of cancer patients: evidence for the high and low responder phenomenon. Thesis: Chapter 5. Submitted.
4. Nijziel MR, van Oerle R, Christella M, Thomassen LG, van Pampus EC, Hamulyak K, Tans G, Rosing J. Acquired resistance to activated protein C in breast cancer patients. *Br J Haematol.* 2003;120:117-22.
5. Nijziel MR, van Oerle R, Hellenbrand D, van Pampus ECM, Hillen HFP, Hamulyák K. The prognostic value of the soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (s-uPAR) in plasma of breast cancer patients with and without metastatic disease. *J Thromb Haemost* 2003;1:982-6.
6. Nijziel MR, van Oerle R, Tans G, Rosing J, Hamulyák K. Increased von Willebrand Factor levels and acquired resistance to activated protein C in breast cancer patients: implications after 3 and 5 years of follow-up. Thesis: Chapter 8. Submitted.