



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Venous and arterial thrombosis : associations and risk factors

Roshani, S.

Citation

Roshani, S. (2012, January 12). *Venous and arterial thrombosis : associations and risk factors*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/18334>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/18334>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

Dit hoofdstuk vat het onderzoek beschreven in dit proefschrift samen.

Deel I

In deel I hebben we gezocht naar nieuwe risicofactoren voor veneuze trombose door analyse van de genetische linkage signalen voor veneuze trombose en voor intermediaire fenotypen die waargenomen zijn in de GENES studie (**hoofdstuk 2, 3 en 4**). Verder worden de implicaties van trombofilieonderzoek voor de diagnose en de preventie van veneuze trombose besproken (**hoofdstukken 5 en 6**).

Nieuwe risicofactoren voor veneuze trombose

veneuze trombose is een multifactoriële ziekte die een geïndividualiseerde prognostische en diagnostische aanpak nodig heeft. Dit wordt bemoeilijkt door het feit dat nog lang niet alle genetische risicofactoren bekend zijn. Vooruitgang in DNA-technologie in de laatste decennia heeft de identificatie van nieuwe genetische risicofactoren door genoom-wijde linkage studies en genoom-wijde associatie studies vergemakkelijkt, alhoewel elk van deze onderzoeksvormen zijn eigen beperkingen heeft. Genoom-wijde linkage studies worden belemmerd wanneer er veel heterogeniteit is in de genetische variaties die tot ziekte predisponeren. Dit betekent dat de bevindingen in de ene familie misschien niet toepasbaar zijn in andere families, laat staan in de algemene bevolking. Bovendien wordt de statistische power van dit soort onderzoeken mede bepaald door het aantal aangedane personen in een familie, en dit aantal is vaak niet groot. Populatie-gebaseerde genoom-wijde associatie studies hebben deze beperkingen niet doordat studie deelnemers geen bloedverwanten van elkaar zijn. Echter, confounding door een ongelijke verdeling van etniciteiten over patiënten en controles, vals-positieve associaties, en het onvermogen om zeldzame genetische variaties te bestuderen, behoren tot de beperkingen van genoom-wijde associatie studies.

Naar aanleiding van het resultaat van een eerder uitgevoerd genoom-wijd linkage onderzoek, wordt in **hoofdstuk 2** het effect van genetische variaties in drie genen (*PROCR*, *THBD* en *FOXA2*) op de plasmaspiegel van proteïne C (PC) in een grote stamboom, en ook in de controlepopulatie van LETS (Leiden Trombofilie Studie) ,bestudeerd. Er werd een verband gevonden tussen haplotype 3 (H3)

van *PROCR* en hogere spiegels van PC in leden van de stamboom en ook in de LETS controles. Deze bevinding is in overeenstemming met het resultaat van een recent verschenen genoom-wijde associatie studie. Hogere circulerende EPCR spiegels bij H3 dragers, iets dat ook eerder beschreven is, kunnen de hogere PC spiegels niet verklaren. Hoewel de affiniteit van PC om te binden aan circulerende EPCR hetzelfde is als de affiniteit voor endotheel-gebonden EPCR, is de absolute PC spiegel in molairen in H3 dragers veel hoger dan de sEPCR spiegel. We veronderstelden dat de hoeveelheid endotheel-gebonden EPCR in H3 dragers misschien laag is en als gevolg hiervan de hoeveelheid PC gebonden aan deze fractie kleiner is, zodat er meer PC voor de circulatie beschikbaar is. Flowcytometrie van uit bloed gekweekte endotheelcellen bevestigde deze hypothese niet. We zagen geen verschil in de expressie van EPCR tussen de cellen van de H3 dragers en niet-dragers. Kortom, een hogere PC spiegel in H3 dragers moet nog vanuit biochemisch oogpunt verklaard worden. In tegenstelling tot onze verwachtingen biedt H3 dragerschap met zijn inherente hoge PC spiegel geen bescherming tegen veneuze trombose.

In **hoofdstuk 3** is het effect van verschillende haplotypes van *NQO1* op de spiegel van factor (F) V en FII onderzocht. We zagen een negatieve associatie tussen FV en *NQO1* H4 in de stamboom maar niet in controles van de LETS, hetgeen wijst in de richting van een andere genetische variatie op chr16 die verantwoordelijk is voor de linkage signalen in de GENES studie. In de LETS controles hadden H4 dragers een lagere spiegel van vitamine K afhankelijke stollingsfactoren, in het bijzonder trombine en totaal proteïne S, wat aannemelijk is wetende dat H4 dragers een lagere of niet detecteerbare activiteit van het enzym NQO1 hebben.

In **hoofdstuk 4** is de relatie bestudeerd tussen het risico op veneuze trombose of de spiegel van vitamine K-afhankelijke stollingsfactoren met verschillende haplotypes van de genen die coderen voor enzymen die betrokken zijn bij de vitamine K-cyclus (*VKORC1*, *GGCX* en *NQO1*). In overeenstemming met eerdere observaties vonden wij geen verband tussen haplotypes van *VKORC1* en het risico op veneuze trombose in LETS. Tevens was er geen verband met haplotypes van *GGCX* en *NQO1*. De plasmaspiegel van een panel van stollingsfactoren (proteïne C, proteïne S, proteïne Z, FII, FVII, FIX en FX) was lager in dragers van het *VKORC1**2B haplotype, hetgeen waarschijnlijk te wijten is aan de lagere expressie van *VKORC1* in de lever van de dragers. Het sterkste

effect betrof de FIX spiegel met een daling van 3.26 U / dl voor elk allel van *VKORC1*2B*.

Klinische aspecten van trombofilie

In **hoofdstuk 5** worden erfelijke en verworven vormen van trombofilie en de indicaties voor trombofilie onderzoek besproken. Het accent lag daarbij op de invloed van de testresultaten op primaire en secundaire preventie van trombose en op familie screening. Routinematige trombofilie screening is niet gerechtvaardigd, aangezien de meeste mensen met trombofilie geen veneuze trombose zullen ontwikkelen. Het nut van trombofilie onderzoek bij secundaire preventie van veneuze trombose is deels afhankelijk van de invloed van de uitslagen op het klinische management wat betreft dosis en duur van behandeling met anticoagulantia, en deels afhankelijk van de afweging tussen risico en baten van profylaxe in risicovolle situaties. Sommige auteurs hebben voorgesteld om trombofilie onderzoek alleen te verrichten bij patiënten met trombose voor hun vijftigste levensjaar, bij recidiverende trombose, bij een positieve trombose familiegeschiedenis of bij trombose op ongebruikelijke plaatsen. Een recente 'evidence-based' richtlijn adviseert om geen trombofilie onderzoek te verrichten in bovengenoemde situaties. Familie onderzoek is omstreden omdat het risico op trombose in eerste graads familieleden van patiënten met trombofilie weliswaar twee tot tien keer verhoogd is, maar het absolute risico op veneuze trombose laag blijft, zelfs in hoog-risico situaties.

Zwangerschap is geassocieerd met een vijfmaal verhoogd risico op veneuze trombose. Het risico is nog sterker verhoogd ($\pm$ 20-maal) in de 6 tot 12 weken postpartum. Een kwart van de gevallen betreft recidief trombose. Omdat het recidief risico sterk daalt door profylaxe met anticoagulantia, wordt aan zwangere vrouwen met een voorgeschiedenis van trombose geadviseerd profylaxe te gebruiken in de postpartum periode. Trombofilie op zichzelf is geen indicatie voor profylaxe tijdens de zwangerschap of postpartum bij vrouwen zonder een voorgeschiedenis van veneuze trombose, met als mogelijke uitzondering, patiënten met een positieve familiegeschiedenis voor trombose die homozygoot zijn voor factor V Leiden of protrombine G20210A mutaties of gecombineerde heterozygositeit voor beide mutaties. De optimale dosering van LMWH tijdens de

zwangerschap ter vermindering van recidief trombose, gebalanceerd tegen het risico van postpartum bloeding is niet duidelijk. Het toenemende aantal meldingen van falen van lage dosering profylaxe onderstreept de noodzaak van gerandomiseerde klinische studies om de effectiviteit en veiligheid van een hoge dosis LMWH als profylaxe tijdens zwangerschap aan te tonen.

Hoofdstuk 6 toont aan dat postpartum bloeding (PPH) niet vaker voorkomt bij vrouwen die worden behandeld met therapeutische doses LMWH dan bij vrouwen die niet met LMWH werden behandeld (RR: 0.8, 95% CI: 0.5 tot 1.4). Het mediane bloedverlies bleek vergelijkbaar te zijn tussen behandelde en onbehandelde vrouwen behalve in de subgroep met een normale vaginale bevalling waar de hoeveelheid bloedverlies iets lager was in de LMWH gebruikers (mediaan verschil: -100, 95% CI: -156 tot -44). Een mogelijke verklaring hiervoor is het preferentiële gebruik van oxytocine in LMWH gebruikers.

Deel II

In deel II hebben we de relatie tussen veneuze en arteriële trombose bestudeerd. We hebben getracht om de “shared risk factors” hypothese te testen en dit komt aan bod in **hoofdstukken 7, 9 en 10**. Verschillende studies hebben aangetoond dat ontsteking de ontwikkeling van atherosclerose en hart- en vaatziekten bevordert. In **hoofdstuk 8** werden inflammatoire markers bestudeerd als risicofactor voor recidief veneuze trombose.

Mensen die veneuze trombose hebben gehad hebben een verhoogd risico op arteriële trombose. Of deze associatie uitsluitend gebaseerd is op ‘shared risk factors’ is onwaarschijnlijk, omdat het bijbehorende risico niet afhankelijk is van leeftijd of aanwezige cardiovasculaire risicofactoren. Een analyse in de Beethoven studie, een grote cohort studie van families met trombofilie (**hoofdstuk 7**), toonde eenzelfde verhoogd risico voor arteriële trombose bij mensen met eerdere veneuze trombose laten zien, hoewel het effect niet statistisch significant was. Wij onderzochten of gemeenschappelijke risicofactoren dit verband konden verklaren, door het berekenen van een zogenaamde propensity score gebaseerd op leeftijd, de aanwezigheid van cardiovasculaire risicofactoren en de aanwezigheid van één of meer trombofilie afwijkingen. Op grond van dit onderzoek kwamen wij tot de conclusie dat ‘shared risk factors’ het verband tussen veneuze trombose en arteriële hart- en vaatziekten niet voldoende kunnen verklaren.

In het algemeen hebben conventionele cardiovasculaire risicofactoren een gering effect op de ontwikkeling van veneuze trombose. Ook atherosclerose verhoogt het risico op toekomstige veneuze trombose niet. Tevens blijft de rol van trombofilie in de pathogenese van arteriële trombose klein. Dit geldt vooral voor de rol van zeldzame trombofilie afwijkingen zoals antitrombine deficiëntie, proteïne C deficiëntie of proteïne S deficiëntie. Echter, een klein effect op myocardinfarct is toegeschreven aan FVL en protrombine G20210A. Het effect van gecombineerde heterozygositeit of homozygositeit voor FVL of protrombine G20210A was vanwege de lage prevalentie van deze mutaties niet bekend. In een post-hoc analyse van de Beethoven studie (**hoofdstuk 8**) zagen we dat familieleden die dubbel heterozygoot of homozygoot voor FVL of protrombine mutatie G20210A waren een 1.6 maal hoger risico (niet significant) op arteriële trombose hadden in vergelijking met heterozygoten voor de afzonderlijke mutaties. Na uitsluiting van familieleden met andere trombofilie factoren bedroeg het relatieve risico voor dubbel heterozygoten of homozygoten zelfs 5.1 (95% CI: 1.2 tot 22.9) ten opzichte van heterozygoten voor iedere mutatie afzonderlijk.

Wat de relatie tussen veneuze en arteriële trombose betreft, is veneuze occlusie in het netvlies (Retinal Vein Occlusion: RVO) een interessante ziekte. Risicofactoren voor RVO betreffen voornamelijk dezelfde als voor arteriële hart- en vaatziekten zoals hypertensie, hyperlipidemie en diabetes mellitus, terwijl de rol van trombofilie omstreden is. In **hoofdstuk 10** hebben we de rol van trombofilie afwijkingen, bloedplaatjes receptor polymorfismen en fibrinolyse bij RVO bestudeerd in een patiënt-controle onderzoek van 101 patiënten met idiopathische RVO en gezonde controle personen. De enige suggestieve associatie die gevonden werd was voor polymorfisme rs5918 in een bloedplaatjes receptor met een dosisafhankelijk effect op het risico van idiopathische RVO (OR voor heterozygoten: 1.7, 95% CI: 0.8 tot 3.3 en voor de homozygoten: 2.8, 0.5-15.9). Er werd geen verband waargenomen tussen RVO en trombofilie of clot lysis tijd. Ontsteking, geïnitieerd door veneuze trombose, kan mogelijk bijdragen aan het risico op arteriële trombose. Het gevormde trombine induceert ontsteking van het endotheel door het activeren van neutrofielen en het induceren van de productie van selectines, cytokines en cellulaire adhesiemoleculen. Ontstoken endotheel heeft verminderde antitrombotische en fibrinolytische eigenschappen en het wordt nog meer trombogeen door de uitscheiding van Von Willebrand-factor,

tissue factor, plasminogeen activator inhibitor en factor V. Het lijkt er niet op dat chronisch verhoogde spiegels van CRP of IL6 het risico op eerste veneuze trombose beïnvloeden. In **hoofdstuk 9** is het verband tussen inflammatoire biomarkers en D-dimeer en het risico op recidief veneuze trombose in de LETS geëvalueerd. Het risico op recidief trombose, gecorrigeerd voor leeftijd, geslacht en BMI, was 2.2 (95% CI: 1.3 tot 3.8) keer toegenomen bij een CRP spiegel hoger dan 3 mg/L. Er kon geen verband vastgesteld worden tussen cytokine spiegels en het risico op recidief trombose. De reden hiervoor is mogelijk de hogere detectielimiet van beads assays ten opzichte van ELISA assays wat heeft geleid tot een lager aantal mensen met een detecteerbare spiegel. Zoals eerder aangetoond hangt een D-dimeer spiegel boven 250 ng/ml samen met een hoger risico op recidief trombose (HR: 1.7, 95% CI: 0.9 tot 3.4). Verder was er een additief effect tussen de spiegels van D-dimeer en CRP. Dus mensen met een hoge D-dimeer of CRP en mensen met zowel hoge CRP als D-dimeer hadden een hoger recidief risico in vergelijking met patiënten met een lage CRP en D-dimeer spiegels (HR 1.9, 95% CI 1.1 tot 3.5 en 3.1, 1.4 tot 7.2 respectievelijk).

Toekomstperspectieven

Ondanks de vooruitgang in de kennis van de etiologie en predictie van veneuze trombose is de incidentie onveranderd gebleven wat wijst op de noodzaak om nieuwe risicofactoren te identificeren voor zowel het eerste event als het recidief van veneuze trombose. In deze context lijken de genoom-wijde associatie studies bij het vinden van nieuwe genetische risicofactoren veelbelovend te zijn. Dit geldt in het bijzonder voor sommige vormen van trombose zoals veneuze trombose in het netvlies waar nog steeds veel onduidelijkheden zijn omtrent de risicofactoren. Interessant is dat soms de resultaten van dergelijke onderzoeken overeen komen met genoom-wijde linkage studies, zoals de studie die eerder genoemd is over het effect van variaties op chromosoom 20 op de spiegel van proteïne C.

Na een episode van veneuze trombose stijgt het risico van arteriële trombose. Het is onduidelijk of het “shared risk factors” of chronische ontsteking zijn, die hieraan ten grondslag liggen.

