

Cardiovascular abnormalities in familial combined hyperlipidemia

Citation for published version (APA):

Keulen, E. T. P. (2001). *Cardiovascular abnormalities in familial combined hyperlipidemia*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20011220ek>

Document status and date:

Published: 01/01/2001

DOI:

[10.26481/dis.20011220ek](https://doi.org/10.26481/dis.20011220ek)

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.

Summary

Chapter 1 describes the background and aims of the research described in this thesis. Cardiovascular disease (CVD) is a main cause of death in our Western society. Several epidemiological studies have identified many risk factors that are convincingly linked to the development of CVD. Multiple combinations of these cardiovascular risk factors will lead to an exponentially increased risk of early CVD¹⁻³. In Familial Combined Hyperlipidemia (FCHL), an increased risk of premature (i.e. before age 60 years) CVD is present. Although FCHL is now known for more than 25 years, most of the research has focussed upon the pathophysiology of lipid abnormalities and insulin resistance observed in FCHL. However, little is known about early manifestations of vascular abnormalities in FCHL, and about the natural history of such vascular abnormalities. Furthermore, there is the consideration that the observed lipid abnormalities and insulin resistant state can not solely explain the known high risk of developing CVD in FCHL.

Chapter 2 addresses the collection of Dutch FCHL families and the criteria used to diagnose and ascertain a family with FCHL. Furthermore, several historic, environmental, anthropometric and clinical data obtained in 35 Maastricht FCHL families are described. In these Dutch FCHL families, 39% (143 out of 362 relatives) were diagnosed with hyperlipidemia. Moreover, the prevalence of hyperlipidemia among FCHL relatives steeply increased from 15% (13 out of 86 subjects) under age 30 years, to 71.4% (25 out of 35 subjects) in the age-category 60 to 69 years ($p < 0.01$ for trend). A striking observation was that in FCHL subjects, hyperlipidemia occurred almost 20 years earlier than in the spouse population. In addition, a significant clustering of the main cardiovascular risk factors (hyperlipidemia, hypertension, obesity and current smoking) in FCHL family members was observed compared to spouses ($p < 0.05$ for trend). The above-mentioned abnormalities together clearly indicate an unfavourable atherogenic risk profile in FCHL. This is underlined by the high prevalence of CVD found in hyperlipidemic relatives compared to spouses.

Chapter 3 reviews our current pathophysiological and genetic understanding of FCHL. Although FCHL was delineated about 25 years ago, the complex FCHL phenotype is not fully understood at present. Several studies have shown abnormalities in lipoprotein metabolism, including hepatic hypersecretion of apolipoprotein B (apo B) containing lipoproteins^{4,5} and delayed clearance of atherogenic lipoprotein remnants⁶. Except for the above-mentioned abnormalities in lipid metabolism, insulin resistance of adipose and muscular tissue has been documented in FCHL^{7,8}. Furthermore, FCHL affected subjects often report some increase in body weight, body mass index, waist to hip ratio and waist-circumference, all together representing an increased adipose tissue mass, and, perhaps, reduced muscle mass. Increased free fatty acid (FFA) flux from visceral fat to the liver can contribute to the hypersecretion of triglyceride-

rich very low-density lipoproteins from the liver, a hallmark of FCHL. The observed abnormalities in liver, adipose tissue and muscle in FCHL provide us with interesting target tissues for differential gene expression studies, as will be reviewed in the near future⁹. It is generally believed that the complex FCHL phenotypes result from a defect in one or more major genes in combination with multiple modifier genes and gene-environment interaction. Several modifier genes are subsequently described at the end of **chapter 3**.

Chapter 4 reports on the simultaneous occurrence of hypertension and hyperlipidemia in FCHL. One-third of 27 FCHL-families was diagnosed with Familial Dyslipidemic Hypertension. Significantly more relatives (27.2%) were diagnosed with dyslipidemic hypertension, compared to spouses (14.2%). Furthermore, in FCHL women (affected as well as non-affected relatives, without antihypertensive medication) systolic and diastolic blood pressures were higher compared to spouses. Multiple linear regression analysis showed that age, FCHL-affected status and waist-circumference significantly contributed to systolic blood pressure in females. The present study indicates that visceral adipose tissue strongly contributes to the high prevalence of dyslipidemic hypertension in FCHL families. Reduction of visceral fat versus treatment of hyperlipidemia and hypertension should be tested as potential therapeutic interventions in FCHL-affected individuals.

Chapter 5 describes the heart rate corrected QT-interval (QTc) as measured in all leads of a 12-lead electrocardiogram in 76 FCHL-affected subjects and 92 healthy controls. QTc interval was significantly prolonged in FCHL-affected women, but not in men, compared to healthy controls (difference of 7.8 msec, age-corrected $p < 0.01$). The observed significantly positive correlations in women between QTc and logTG, log insulin and HOMA, and the negative correlation with HDL-cholesterol were in line with the previously suggested relationship between QTc and the insulin resistance syndrome (IRS)¹⁰. Multivariate regression analyses revealed that plasma insulin, systolic blood pressure, HDL-cholesterol, body mass index and FFA were independent predictors of QTc. In conclusion, in FCHL, prolonged QTc was specifically found in hyperlipidemic FCHL women and associated with components of IRS. QTc prolongation may either relate to the genetic susceptibility to FCHL in women, or represent an adaptation mechanism to insulin resistance. QTc prolongation may also add to the risk of developing cardiovascular events in FCHL.

Chapter 6 reports on several endothelium-derived proteins of the coagulation and fibrinolytic systems in FCHL. In 70 hyperlipidemic FCHL subjects and 57 healthy controls, fasting plasma concentrations of von Willebrand factor (vWf: pro-coagulant), Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) and thrombomodulin (both anti-coagulant), tissue type plasminogen activator (t-PA; pro-fibrinolytic) and plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1; anti-fibrinolytic) were determined. FCHL affected subjects showed significantly higher PAI-1 and t-PA levels than healthy controls (PAI-1: 18 (3-38) vs. 10 (1-29) U/mL; $p < 0.001$, and t-PA: 10.8 ± 3.8 vs. 7.5 ± 3.9 ng/mL; $p < 0.001$). In addition, vWf was significantly higher in

FCHL subjects compared to healthy controls (110.0 ± 35.4 % vs. 94.3 ± 36.8 %, $p > 0.05$). Surrogate markers of insulin resistance explained 50% of the variation in plasma PAI-1 levels. The observed findings indicate a pro-coagulant, anti-fibrinolytic state of the endothelium, that is dependent on insulin resistance, and potentially contributes to the risk of premature cardiovascular disease found in FCHL. The increased plasma concentrations of the studied endothelium-derived proteins also indicate a dysfunctional endothelium. Further studies to the contribution of PAI-1 and vWf to the risk of cardiovascular disease in FCHL, and the potential treatment of these elevated levels, are warranted.

Chapter 7 describes abnormalities in capillary structure and function observed in FCHL-affected subjects and the possible role of remnant-like lipoprotein cholesterol (RLP-C) concentrations. In 23 (12 men) FCHL-affected subjects and 27 (14 men) healthy controls, capillary density was measured just above the finger nailfold, before and after 4 minutes of arterial occlusion. During the same test, skin blood flow was also measured using laser Doppler fluxmetry. Basal (BC) and post-occlusive (POC) number of capillaries were significantly lower in FCHL men compared to healthy men, 113.7 ± 15.1 vs. 132.0 ± 18.0 ; $p = 0.02$, and 123.0 ± 19.1 vs. 142.3 ± 18.3 ; $p = 0.03$, respectively. Multivariate regression analyses revealed that log RLP-C was the only significant, independent contributor to POC. Laser Doppler post-occlusive reactive hyperaemia (LDPRH) was higher in FCHL women compared to healthy females: 537 (239-800) % vs. 327 (39-365) %; $p < 0.05$. In men no differences in LDPRH were observed. In conclusion, in FCHL men a reduction in structural and functional skin capillaries was observed, and associated with increased atherogenic lipoprotein concentrations. Whether this reduction in capillary surface can be implicated in the pathophysiology of FCHL and its high risk of cardiovascular events, or is the result of adaptation to hyperlipidemia in FCHL, remains to be elucidated.

The increase in LDPRH in FCHL women was an unexpected finding. Previous studies have suggested a reduced LDPRH could be a hallmark of insulin resistance^{11,12}, a metabolic state that is also frequently observed in FCHL. It should be noted however, that the increased hyperaemic response in FCHL women was associated with normal capillary density, but that in FCHL men, the normal hyperaemic response was associated with reduced capillary density. These data combined might suggest that arteriovenous shunt flow be increased in FCHL.

Chapter 8 reports on non-invasive ultrasound measurements of intima media thickness (IMT) in 58 FCHL-affected subjects and 55 age- and gender-matched healthy controls. IMT was measured at the left and right common carotid artery approximately 10-20 mm proximal to the carotid bulb. FCHL-affected subjects without a previous history of cardiovascular disease ($n = 46$) had a significantly increased IMT compared to healthy controls, with a difference of $57 \mu\text{m}$ (age- and gender-corrected $p < 0.01$). A significant positive, age- and gender-corrected, Pearson correlation coefficient was observed between IMT and total cholesterol, non-HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, logTG, apo B, fasting insulin, calculated insulin resistance (HOMA), BMI and waist-circumference, respectively.

Multivariate regression analyses revealed that age, gender, apo B, and BMI were independent positive predictors of IMT, explaining a large proportion, 50%, of the observed variation ($p < 0.001$). In conclusion, IMT of the common carotid artery is increased in FCHL-affected subjects (mean age of 48.5 years) and in the present study it corresponded to an acceleration of silent atherosclerosis by approximately 5-9 years. The present finding show the important contribution of atherogenic lipoprotein particles to the development of increased IMT in FCHL.

Finally, **chapter 9** sets the results of this thesis in perspective and addresses some points of attention in further research.

Samenvatting

Risicofactoren voor hart- en vaatziekten en vaatafwijkingen in patiënten met Familiäre Gecombineerde Hyperlipidemie.

Hart- en vaatziekten (HVZ) zijn heden ten dage de belangrijkste doodsoorzaak in de Westerse samenleving. Gedurende de afgelopen decennia is er een scala aan cardiovasculaire risicofactoren beschreven. Een combinatie van deze risicofactoren leidt tot een sterkere verhoging van het cardiovasculaire risico dan uit het risico van een enkele factor zou kunnen worden afgelezen. Bij een aantal ziektebeelden vindt er tevens een clustering van cardiovasculaire risico factoren binnen een familie plaats. Een belaste familie anamnese betreffende HVZ is eveneens een erkende risico factor.

Familiair Gecombineerde Hyperlipidemie (FGH) is een familiale aandoening die gekenmerkt wordt door wisselend verhoogde cholesterol en triglyceride waarden in het bloed. Aangedane personen uit deze families hebben een sterk verhoogd risico op het ontwikkelen van cardiovasculaire aandoeningen, zoals een myocard infarct of een herseninfarct, voor hun 60^e levensjaar. Binnen de FGH onderzoekswereld is gedurende de afgelopen 25 jaar met name veel aandacht uitgegaan naar de pathofysiologische oorzaken die leiden tot de beschreven afwijkingen in de lipidenstofwisseling en de rol van insuline resistentie daarin. In **hoofdstuk 3** worden de huidige opvattingen en inzichten omtrent deze pathofysiologische oorzaken samengevat. Bij FGH is er sprake van een overproductie van apolipoproteïne B (apo B) bevattende lipoproteïnen door de lever, met daarbij een vertraagde klaring van deze lipoproteïnen. Een toename in vrije vetzuur flux van het viscerale vet naar de lever wordt als belangrijkste oorzaak gezien voor de overproductie van lipoproteïnen door de lever bij personen met FGH. Daarnaast zijn personen met FGH vaak insuline resistent op zowel spier- als vetniveau. Een toename in vetmassa, met name abdominaal gelokaliseerd, wordt eveneens vaak waargenomen bij individuen met FGH.

Echter, de beschreven pathofysiologische afwijkingen in de lipidenstofwisseling en insuline resistentie binnen het FGH ziektebeeld zijn niet in staat het hoge cardiovasculaire risico volledig te verklaren. Daarnaast zijn er weinig gegevens bekend over vroege vaatafwijkingen bij personen met FGH en de eventuele rol die lipiden hierin kunnen spelen. In het onderzoek beschreven in dit proefschrift is aan beide vragen aandacht besteed.

Op dit moment is er nog geen unieke marker beschikbaar om FGH binnen een individu te kunnen aantonen. Daarom is een uitgebreid familie onderzoek nog steeds noodzakelijk. **Hoofdstuk 2** beschrijft de huidige strategie en de criteria die gebruikt zijn om de diagnose FGH in een familie vast te stellen. Daarnaast worden enkele epidemiologische gegevens beschreven betreffende 35 FGH families uit Maastricht en omgeving. Uit onze gegevens bleek dat bij 39% (143 van de 362) van de familieleden sprake was van een hyperlipidemie. Verder bleek de prevalentie van de hyperlipidemie sterk toe te nemen met de leeftijd:

van 15% (13 van de 86) bij familieleden onder de 30 jaar tot ruim 71% (25 van de 35) bij familieleden met een leeftijd tussen de 60 en 70 jaar ($p < 0.01$ voor trend). De hyperlipidemie trad ongeveer 20 jaar eerder op in FGH familieleden vergeleken met onze controle populatie. Daarnaast werd er een significante clustering van cardiovasculaire risicofactoren (hyperlipidemie, hypertensie, obesitas en roken) gevonden bij familieleden met FGH. De hoge prevalentie van HVZ bij familieleden met FGH onderstreepte nogmaals het hoge cardiovasculaire risico binnen deze patiëntenpopulatie.

In de **hoofdstukken 4 tot en met 6** staan een aantal mogelijke cardiovasculaire risicofactoren beschreven die, indien afwijkend, zouden kunnen bijdragen aan het hoge risico op HVZ binnen de FGH populatie. **Hoofdstuk 4** beschrijft het gezamenlijk voorkomen van hyperlipidemie en hypertensie in een FGH populatie. Eenderde van de 27 onderzochte FGH families voldeed naast de criteria voor FGH tevens aan de criteria voor de diagnose Familiaire Dyslipidemische Hypertensie. Tevens werd de clustering van hypertensie en hyperlipidemie significant vaker waargenomen bij FGH familieleden dan in de controle populatie (27.2% vs. 14.2%, $p < 0.01$). Zowel aangedane als niet-aangedane vrouwelijke familieleden hadden een hogere systolische en diastolische bloeddruk ten opzichte van vrouwelijke controle personen. Multi-pele lineaire regressie analyse bij vrouwen toonde aan dat de hoogte van de systolische bloeddruk met name afhankelijk was van leeftijd, aanwezigheid van hyperlipidemie and taille omtrek. Hieruit werd geconcludeerd dat visceraal vetweefsel een belangrijke bijdrage kan leveren aan de prevalentie van hyperlipidemie en hypertensie in FGH families. Nader onderzoek dient uit te wijzen of reductie in de viscerale vetmassa een mogelijke therapeutische interventie is ter behandeling van hyperlipidemie en hypertensie bij personen met FGH.

Een verlenging van het hartfrequentie gecorrigeerde QT-interval (QTc) is geassocieerd met plotselinge hartdood, zowel in patiënten die al een myocard infarct hebben doorgemaakt als in de algemene bevolking. In **hoofdstuk 5** werd daarom onderzocht of QTc eventueel verlengd was in een FGH populatie en zo mogelijk zou kunnen bijdragen aan het verhoogde cardiovasculaire risico binnen FGH. QTc werd automatisch gedetecteerd in een 12-afleidingen ECG bij 76 personen met FGH en 92 gezonde controle personen. FGH vrouwen hadden een significante verlenging van QTc vergeleken met controle vrouwen (verschil 7.8 msec, leeftijd-gecorrigeerde $p < 0.01$). Er werd geen verschil tussen de mannelijke populaties gevonden.

Eerder onderzoek suggereerde dat QTc verlenging mogelijk onderdeel zou zijn van het insuline resistentie syndroom. De significante positieve correlaties tussen QTc en logTG, log insuline en HOMA (berekende waarde voor insuline resistentie) en de negatieve correlatie met HDL-cholesterol, die in ons onderzoek werden gevonden bij vrouwen, zijn in overeenstemming met bovenstaande suggestie. Multivariate regressie analyse toonde het verband tussen QTc verlenging en componenten van het insuline resistentie syndroom nogmaals aan.

Concluderend lieten FGH vrouwen een verlengd QTc interval zien, dat geassocieerd was met componenten van het insuline resistentie syndroom. Het blijft de vraag of deze QTc verlenging een gevolg is van de genetische gevoeligheid van vrouwen voor FGH of meer een adaptatie mechanisme voor insuline resistentie. QTc verlenging kan verder mogelijk bijdragen aan het verhoogde cardiovasculaire risico binnen personen met FGH, maar toekomstig follow-up onderzoek zal dit moeten bevestigen.

In de literatuur is de associatie tussen een versterkte stolling en/of onderdrukte fibrinolyse en het optreden van hart- en vaatziekten uitvoerig beschreven. Een versterkte stolling en/of onderdrukte fibrinolyse zou ook kunnen bijdragen aan het hoge cardiovasculaire risico bij personen met FGH. Diverse componenten van het stollings- en fibrinolyse systeem werden onderzocht in 70 hyperlipidemische FGH personen en 57 gezonde controle personen (**hoofdstuk 6**). FGH personen hadden significant hogere plasma concentraties van plasminogeen activator inhibitor 1 (PAI-1) en tissue type plasminogeen activator (t-pa) dan de controle populatie (PAI-1: 18 (3-38) vs. 10 (1-29) U/mL; $p < 0.001$, en t-pa: 10.8 ± 3.8 vs. 7.5 ± 3.9 ng/mL; $p < 0.001$). Tevens was de concentratie van de von Willebrand factor (vWf) significant toegenomen bij FGH personen ten opzichte van de controle onderzoeksgroep (110.0 ± 35.4 % vs. 94.3 ± 36.8 %, $p < 0.05$). Een aantal componenten van het insuline resistentie syndroom (log TG, log insuline, glucose en apo B) verklaarde 50% van de variatie in PAI-1. Het pro-coagulante, anti-fibrinolytische karakter van het endotheel kan mogelijk bijdragen aan het hoge cardiovasculaire risico bij personen met FGH. Toekomstige studies zullen de precieze rol van PAI-1 en vWf in het cardiovasculaire risico bij personen met FGH ophelderen.

In **hoofdstuk 7** worden veranderingen in de capillaire dichtheid bij personen met FGH en de potentiële rol van remnant-achtige lipoproteïnen (RLP-C) concentraties beschreven. RLP-C bestaan uit chylomicron remnants, apo E verrijkte very low-density lipoprotein (β -VLDL) en intermediate density lipoprotein (IDL), allen pro-atherogene remnants. Capillaire dichtheden werden gemeten bij 23 (12 mannen) personen met FGH en 27 (14 mannen) gezonde controle personen. Door middel van capillaire microscopie werd het aantal capillairen proximaal van de nagelriem van de rechter ringvinger in beeld gebracht, voor en na 4 minuten van arteriële occlusie. Tijdens deze test werd eveneens de huiddoorbloeding gemeten met laser Doppler fluximetrie. Het aantal capillairen in FGH mannen was zowel in de basale (BC) als in de post-occlusieve (POC) meting verminderd ten opzichte van controle mannen (BC: 113.7 ± 15.1 vs. 132.0 ± 18.0 ; $p = 0.02$, en POC: 123.0 ± 19.1 vs. 142.3 ± 18.3 ; $p = 0.03$). In multivariate regressie analyse bleek logaritmisches getransformeerd RLP-C de enige significante onafhankelijke factor te zijn die bijdroeg aan POC. De conclusie was dat in FGH mannen een afname in structurele en functionele huidcapillairen werd waargenomen, die geassocieerd was met een toename van atherogene lipoproteïnen concentraties. Toekomstig onderzoek dient uit te wijzen of de afname van capillairen een rol speelt in de pathofysiologie van FGH of meer als een adaptatie aan de hyperlipidemie gezien moet worden.

Daarnaast was de laser Doppler post-occlusieve reactieve hyperaemie (LDPRH) significant hoger in FGH vrouwen dan in controle vrouwen: 537 (239-800) % vs. 327 (39-365) %; $p < 0.05$. Deze toename in LDPRH bij FGH vrouwen was een onverwachte bevinding. Eerder onderzoek suggereerde een relatie tussen een afgenomen LDPRH en insuline resistentie. Aangezien insuline resistentie ook frequent gezien wordt bij personen met FGH werd op voorhand een afname in LDPRH verwacht. Een duidelijke verklaring voor onze bevinding is vooralsnog niet voorhanden. De combinatie van beide metingen (capillaire dichtheden en fluxmetrie) suggereert wel dat er mogelijk er een toegenomen arterioveneuze shunt flow aanwezig is bij personen met FGH. De toegenomen hyperaemische respons bij FGH vrouwen ging namelijk samen met een normale capillaire dichtheid, terwijl bij FGH mannen een normale hyperaemische respons werd waargenomen bij een afgenomen capillaire dichtheid.

Intima-media dikte (IMT) werd gemeten in 58 personen met FGH en 55 leeftijd- en geslacht-gematchte gezonde controle personen (**hoofdstuk 8**). IMT werd in de arteria carotis communis, 10 tot 20 mm proximaal van de bulbus carotis gemeten middels non-invasieve ultrageluid techniek. FGH personen met een blanco cardiovasculaire voorgeschiedenis ($n=46$) hadden een significante toename van de IMT vergeleken met de controle populatie (verschil $57 \mu\text{m}$, leeftijd en geslacht gecorrigeerde $p < 0.01$). Significant positieve, leeftijd en geslacht gecorrigeerde, Pearson correlaties werden gevonden tussen IMT en totaal cholesterol, non-HDL cholesterol, LDL-cholesterol, logTG, apo B, nuchter insuline, HOMA (maat voor insuline resistentie), BMI en taille-omtrek. Na multivariate regressie analyse bleven leeftijd, geslacht, apo B en BMI over als onafhankelijke positieve voorspellers van IMT. Deze 4 factoren tesamen verklaarden meer dan 50% van de variatie in IMT ($p < 0.001$). De toename in IMT bij personen met FGH komt overeen met een acceleratie van vroege atherosclerose van ongeveer 7 jaar. De huidige bevindingen onderstrepen de belangrijke rol van atherogene lipoproteïnen deeltjes in IMT toename bij personen met FGH.

Hoofdstuk 9 plaatst bovenstaande bevindingen verder in perspectief en draagt mogelijkheden voor verder onderzoek aan. Tevens wordt er nog kort ingegaan op de problemen met het diagnostiseren van FGH in de kliniek, die inherent zijn aan de huidige wetenschappelijke definities.