

# Tissue factor pathway inhibitor in patients with Diabetes Mellitus: an epiphenomenon?

## Citation for published version (APA):

Leurs, P. B. (2001). *Tissue factor pathway inhibitor in patients with Diabetes Mellitus: an epiphenomenon?*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20010126pl>

## Document status and date:

Published: 01/01/2001

## DOI:

[10.26481/dis.20010126pl](https://doi.org/10.26481/dis.20010126pl)

## 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](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

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

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Samenvatting

Tissue factor pathway inhibitor (weefselfactor stolweg remmer) in patiënten met diabetes mellitus.

Diabetes mellitus ofwel suikerziekte wordt gekenmerkt door het optreden van vroegtijdige atherosclerose, zich uitend in hart- en vaatziekten. Uit recente internationale studies zoals de DCCT (Diabetes Control and Complication Trial) en UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study) blijkt dat hoe slechter de diabetesregulatie, des te groter de kans is op de ontwikkeling van complicaties. Daarbij spelen processen als endotheelbeschadiging van de vaatwand, stoornissen in de vetstofwisseling en stollingsproblemen een belangrijke rol. Daar diabetes mellitus tot op heden niet te genezen is, is de huidige behandeling van patiënten gericht op een zo optimaal mogelijke regulatie van de bloedglucosespiegels ter voorkoming van complicaties op korte en lange termijn zoals hart- en vaatziekten (macroangiopathie), nierfunctieverlies (nefropathie), aantasting van de netvliesvaatjes van de ogen (retinopathie) en zenuwbeschadiging (neuropathie). Tot nu toe zijn er een aantal zogenaamde endotheelafhankelijke factoren (eiwitten zoals von Willebrand factor (vWF), tissue plasminogen antigeen (t-PA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) en thrombomoduline) bekend, die bij diabetespatiënten met hart- en vaatziekten verhoogd in het bloed aanwezig zijn. De gedachte is dat deze verhoogde spiegels de ontwikkeling en aanwezigheid van complicaties zoals vaatwandschade weerspiegelen. De genoemde factoren spelen alle een rol in het stollingsmechanisme (hemostase) van het bloed.

Halverwege de jaren tachtig werd een nieuw eiwit met een antistollende werking geïdentificeerd, dat essentieel bleek te zijn voor de remming van de zogenaamde extrinsieke stolweg ofwel de door weefselfactor geïnitieerde stolweg (= tissue factor pathway). Het eiwit werd derhalve aanvankelijk EPI (extrinsic pathway inhibitor), later TFPI (tissue factor pathway inhibitor) genoemd. TFPI wordt door de bekleedende endotheelcellen van de vaatwand geproduceerd. Na productie wordt het eiwit grotendeels, waarschijnlijk via glycosaminoglycanen, aan de endotheelcellen gebonden, terwijl een kleiner gedeelte gebonden aan lipoproteïnen en bloedplaatjes in het bloed wordt teruggevonden. Slechts een zeer kleine fractie is ongebonden in het bloed aanwezig. TFPI kan van het vaatendotheel 'losgemaakt' worden door middel van heparine en kan als TFPI activiteit met behulp van een zogenaamde chromogene meetmethode in het bloedplasma gemeten worden. TFPI oefent zijn antistollende werking zowel in het bloedplasma als aan het oppervlak van de endotheelcellaag van de vaatwand uit.

Een van de eerste fases in het ontstaan van atherosclerose is (functionele) schade aan het endotheel van de vaatwand. Men zou daarom kunnen veronderstellen dat

TFPI een merker zou kunnen zijn voor de aanwezigheid van vaatschade. In een eerste studie met patiënten met diabetes mellitus type 1 zonder complicaties hebben wij het mogelijk effect van diabetes op TFPI onderzocht (*Hoofdstuk 3*). Allereerst bleek dat patiënten met diabetes mellitus type 1 hogere TFPI activiteit in hun plasma verbonden dan gezonde proefpersonen. Dit was zowel voor als na toediening van heparine. Bovendien werden bij patiënten, die slecht waren gereguleerd wat betreft de diabetes, een beduidend hogere TFPI activiteit in het plasma gemeten dan in patiënten met een goede metabole controle. Er bestond een duidelijk verband tussen de mate van bloedglucoseregulatie en de hoogte van TFPI activiteit, d.w.z. hoe slechter de bloedglucoseregulatie (gemeten aan de hand van het geglyceerd hemoglobine ofwel  $HbA_{1c}$ ), des te hoger de TFPI activiteit in het plasma van het bloed. Uit deze gegevens lijkt TFPI activiteit een mogelijke merker van (vroeg) endotheelschade te zijn.

Om dit nader te onderzoeken werd TFPI activiteit voor en na heparinetoediening gemeten in diabetespatiënten type 1 met en zonder complicaties (*Hoofdstuk 4*). Patiënten met microalbuminurie (als uiting van dreigende nefropathie) bleken zowel voor als na toediening van heparine een significant hogere TFPI activiteit te hebben in vergelijking tot patiënten zonder complicaties of met alleen retinopathie. Daar microalbuminurie algemeen beschouwd wordt als een uiting van gegeneraliseerd vaatlijden lijken de resultaten van dit onderzoek de hypothese van TFPI als merker voor vaatschade te ondersteunen.

Echter, diabetes wordt onder meer gekenmerkt door een verhoogde stollingsneiging (procoagulante status). Men zou daarom ook kunnen veronderstellen dat een verhoogde TFPI activiteit in diabetespatiënten een reactie zou kunnen zijn op deze procoagulantie. Dit werd nader bestudeerd in gezonde proefpersonen en patiënten met type 1 diabetes (*Hoofdstuk 5*). Ondanks het feit dat een verhoogde stollingsneiging in diabetespatiënten ten opzichte van gezonde vrijwilligers kunnen worden aangetoond, kon geen verband tussen deze procoagulante toestand en TFPI activiteit worden gevonden.

De toestand van een zogenaamde gestoorde glucose tolerantie (IGT) wordt beschouwd als overgangsfase in de ontwikkeling van diabetes mellitus type 2 (vroeger ook wel ouderdomsdiabetes genoemd). Het optreden van zowel IGT als diabetes mellitus neemt toe met de leeftijd. Niet alleen de leeftijd, maar ook IGT en diabetes geven aanleiding tot een verhoogde kans op het optreden van hart- en vaatziekten. In *Hoofdstuk 6* werd de TFPI activiteit in gezonde oudere personen en oudere personen met een gestoorde glucose tolerantie dan wel oudere patiënten met diabetes mellitus type 2 bestudeerd. In dezelfde populatie werd tevens vWF, t-PA, PAI-1 en thrombomoduline nader onderzocht. In de verschillende groepen konden geen verschillen in TFPI activiteit of thrombomoduline spiegels worden vastgesteld. Anderzijds werden ten opzichte van de gezonde ouderen verhoogde waarden van vWF antigeen, t-PA antigeen en PAI-1 activiteit in oudere personen met IGT en

diabetes gevonden. Wel was er een positieve relatie tussen de mate van metabole regulatie enerzijds en TFPI activiteit en vWF anderzijds. Ook de mate van eiwituitscheiding in de urine was gecorreleerd met TFPI activiteit, vWF en PAI-1 activiteit. Geconcludeerd kan worden dat niet alleen in oudere patiënten met diabetes type 2, maar ook in oudere personen met IGT reeds verschillende endotheelafhankelijke factoren zijn verhoogd, hetgeen zou kunnen wijzen op endotheelschade. Daarentegen lijkt TFPI activiteit bij ouderen minder goed bruikbaar als merker voor vaatwandschade.

Om de effecten van diabetes op TFPI activiteit nader te kunnen bestuderen werden experimenten uitgevoerd met gekweekte humane endotheelcellen, die 'onsterfelijk' waren gemaakt (*Hoofdstuk 7*). Nadat endotheelcellen in kweekmedia met verschillende concentraties glucose waren gekweekt, werden deze cellen vervolgens gedurende 10 minuten geïncubeerd met heparine. Hierna werd TFPI activiteit in het supernatant en aan het celoppervlak gemeten. Allereerst bleek hogere heparineconcentraties tot 0.6 U/ml te leiden tot toename in TFPI activiteit. Daarnaast kon worden aangetoond dat met name gedurende de eerste 10 minuten heparine het TFPI van het oppervlak van de endotheelcellaag vrijmaakte. Heparine leidde tot hogere TFPI activiteit in celkweken met hoge glucoseconcentraties, onafhankelijk van het aantal endotheelcellen en osmolariteit. Insuline toegevoegd aan de kweekmedia bleek alleen invloed te hebben op de TFPI activiteit na heparine in geval van kweekmedia met hoge glucoseconcentraties. Een lage insulineconcentratie in combinatie met een hoge glucoseconcentratie resulteerde in verhoogde TFPI activiteit, terwijl een hoge insulineconcentratie leidde tot tegengestelde effecten. Uit deze experimenten blijkt in ieder geval dat hoge glucosespiegels tot veranderde TFPI activiteit leiden.

Geconcludeerd kan worden dat zowel basale TFPI activiteit als ook na toediening van heparine is verhoogd in vivo en in vitro door chronische hyperglycemische condities. Hoewel dit niet specifiek door ons is bestudeerd, hebben wij de hypothese dat deze chronische hyperglycemie zou kunnen leiden tot veranderingen in metabolisme en/of structuur van glycosaminoglycanen, hetgeen zou kunnen resulteren in veranderde bindingskarakteristieken tussen TFPI moleculen en glycosaminoglycanen aan het celoppervlak van het vaatendotheel. Deze veranderingen zouden uiteindelijk een rol kunnen spelen bij het optreden van hart- en vaatandoeningen in diabetespatiënten.

De laatste jaren verschijnen steeds meer publicaties over verhoogde TFPI spiegels in patiënten met cardiovasculaire aandoeningen. Verschillende mechanismen zijn belangrijk voor het optreden van complicaties bij diabetes, zoals verhoogde oxidatieve stress, leidend tot weefselschade. Men heeft aangetoond dat door oxidatie TFPI, gebonden aan LDL-cholesterol, in activiteit inboet, waardoor het evenwicht in hemostase in gevaar komt, hetgeen kan resulteren in een verhoogde

stollingsneiging. Ook de vorming van zogenaamde advanced glycation end products (AGEs) wordt geassocieerd met complicaties in diabetespatiënten. Verschillende studies suggereren dat AGEs via specifieke receptoren de functies van cellen, inclusief de endotheelcellen van de vaatwand, kunnen beïnvloeden.

Is er in de dagelijkse praktijk (reeds) een plaats voor de bepaling van een of meer van de endotheelafhankelijke factoren zoals TFPI, vWF, t-PA, PAI-1 en thrombomoduline? Tot op heden lijkt alleen vWF van voorspellende waarde te zijn waar het de ontwikkeling betreft van micro- en macrovasculaire complicaties in specifieke groepen van diabetespatiënten. Echter, ten aanzien van het vermogen van een factor om in een individuele patiënt de ontwikkeling van complicaties te voorspellen bestaat vooralsnog geen potentiële kandidaat. Eén van de problemen waartegen men aanloopt is dat er verschillende meettechnieken kunnen bestaan voor het meten van een factor. Zo kan TFPI met behulp van een chromogene methode, een stolmethode, en een ELISA gemeten worden. Vooralsnog is het niet duidelijk welke methode het beste is om te gebruiken.

Een mogelijke oplossing ten behoeve van praktische bruikbaarheid van endotheelafhankelijke factoren om complicaties te voorspellen zou de uniforme bepaling van zogenaamde cut-off points zijn, waarmee sensitiviteit, specificiteit, en positieve en negatieve predictieve waarden van de verschillende factoren vastgesteld kunnen worden. Men zou twee of meer factoren kunnen combineren in het kader van risico stratificatie om het vermogen van voorspellen te verhogen. Het vermogen de ontwikkeling van complicaties in een individu met diabetes te voorspellen kan leiden tot optimale preventieve maatregelen.

Resumerend kan gesteld worden dat TFPI activiteit is verhoogd in diabetes mellitus, met name in patiënten met diabetes mellitus type 1 en microalbuminurie. Slechte metabole controle van de diabetes blijkt TFPI activiteit te verhogen. Hoewel de resultaten beschreven in deze thesis suggereren dat TFPI een mogelijke merker van endotheelfunctie, zijn meer (prospectieve) studies nodig om dit te bevestigen. Ook de rol van TFPI bij de ontwikkeling van cardiovasculaire aandoeningen verdient verder onderzoek.