

# Correlations between haemostasis parameters and several cardiovascular risk factors in man

Citation for published version (APA):

Donders, S. H. J. (1992). *Correlations between haemostasis parameters and several cardiovascular risk factors in man*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Rijksuniversiteit Limburg. <https://doi.org/10.26481/dis.19920605sd>

## Document status and date:

Published: 01/01/1992

## DOI:

[10.26481/dis.19920605sd](https://doi.org/10.26481/dis.19920605sd)

## 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.

## Chapter 8

# Summary and conclusions

In this thesis, the correlations between coagulation and fibrinolysis and, among other lipid parameters, lipoprotein(a) are described in patients with hypertension and in patients with diabetes mellitus. In the diabetic patient groups these parameters have been investigated in relation to the urinary albumin excretion rate, whereas Lp(a) has also been studied in relation to coagulation and fibrinolysis parameters in patients with acute deep venous thrombosis.

Chapter 1 gives a review of lipoprotein(a) or Lp(a), which was identified as a distinct lipid fraction in 1963 by K. Berg. In the 1970's Lp(a) was determined as being identical with 'sinking' pre-beta-lipoprotein or pre-beta<sub>2</sub>-lipoprotein, and high Lp(a) plasma levels were associated with coronary artery disease. The distribution of Lp(a) among various populations appeared to be highly skewed, with predominantly low levels. In the 1980's Lp(a) was shown to consist of an LDL-like particle and a unique glycoprotein, apolipoprotein(a) or apo(a), attached to the apo B-100 moiety of the lipid particle by disulphide bridging. Several studies, some including coronary arteriography, confirmed Lp(a) as an independent risk factor for cardiovascular and cerebrovascular disease.

Whether or not Lp(a) has a physiological function is still unknown, but the absence of Lp(a) in plasma has not been reported to cause any kind of disease or noticeable deficiency state. The liver appears to be the major, if not the exclusive, production site of Lp(a). Lp(a) catabolism is reported to occur at constant rates and is not related to Lp(a) concentrations. However, a positive correlation has been assessed between the serum concentration and synthesis rate of Lp(a). Age, gender, diet and drugs (with a few exceptions) appear to have no substantial effect on Lp(a) levels. A race dependency has been demonstrated by high Lp(a) values in a black American population.

The homology of apo(a) with plasminogen at protein and cDNA level discovered by the research groups of Eaton and McLean in 1987 is regarded as an important breakthrough in Lp(a) research. Plasminogen consists of a protease domain and five different sequentially repeated homologous domains called kringles. Kringles are glycopeptides containing approximately a hundred aminoacids with a pretzel-like structural appearance. Apo(a) contains one kringle domain homologous to kringle 5 and up to 37 kringle domains homologous to kringle 4. Furthermore, the serine protease domain of apo(a) is highly homologous to its counterpart in plasminogen. The apo(a) gene is localized to chromosome 6, adjacent to the plasminogen encoding gene. Six

apo(a) isoforms have been found according to their relative electrophoretic mobility compared with apo B-100: F (faster than apo B-100), B (similar to apo B-100) and S1, S2, S3, S4 (slower than apo B-100). Isoforms F, B, S1 and S2 have been associated with low apo(a) molecular weights and high Lp(a) levels, whereas isoforms S3 and S4 have been associated with high apo(a) molecular weights and low Lp(a) values. Each individual expresses either one or two of these isoforms.

The homology of apo(a) with plasminogen, together with the established lack of fibrinolytic capacity due to one amino acid substitution at the cleavage site of the molecule, has given rise to speculations that Lp(a) might interfere with the pro-fibrinolytic function of plasminogen. In vitro studies supporting this hypothesis are rapidly accumulating.

When we focus on the importance of Lp(a) in medical practice in 1992 we have to consider that standardization of plasma Lp(a) determinations has not yet been achieved and that the effects of drug-induced Lp(a) reduction on cardiovascular disease are unknown. Furthermore, the only eventually appropriate Lp(a) reducing drug, nicotinic acid, shows serious side effects. Therefore, routine plasma Lp(a) determinations on a large scale are not indicated at the moment. High Lp(a) levels should be regarded in relation to the overall risk profile of the individual patient and may be used as an additional argument for the treatment of other risk factors.

As has been mentioned above, numerous in vitro studies report an interference of Lp(a) with fibrinolysis but data concerning the effect of Lp(a) on the plasma fibrinolytic system in vivo are scarce. We therefore studied the correlations between Lp(a) and several haemostasis parameters in patients with acute deep venous thrombosis (DVT) and in patients with hypertension or diabetes mellitus, all known to be more or less states typified by an activated coagulation system and reactive fibrinolysis whereas hypertension and diabetes mellitus also predispose to atherogenesis.

In chapter 2 the correlations between Lp(a) and the haemostasis parameters fibrin monomers, thrombin-antithrombin III complexes (TAT), D-dimers, tissue plasminogen activator antigen (t-PA) and plasminogen in 31 patients with acute DVT are reported. The median time span from the onset of symptoms to the confirmation of the diagnosis by real-time B-mode ultrasonography was 2 days (range: 1-7 days). Grossly elevated values for TAT and D-dimer were found in all patients. Elevated values of fibrin monomers, t-PA and plasminogen were found in 97%, 32% and 48% of the patients, respectively. Strong positive correlations were found for fibrin monomers and TAT with D-dimers ( $r= 0.56$ ,  $p= 0.002$  and  $r= 0.68$ ,  $p= 0.0002$ ), TAT and t-PA ( $r= 0.64$ ,  $p= 0.0006$ ), whereas a weaker but nevertheless significant correlation between fibrin monomers and plasminogen ( $r= 0.38$ ,  $p= 0.003$ ) was also found. These data indicate a normally functioning coagulation/fibrinolysis axis in patients with acute DVT. A correlation between Lp(a) and the coagulation and fibrinolysis variables was not found, which suggests that variations in Lp(a) concentrations are not accompanied by parallel changes in coagulation or fibrinolysis parameters.

In chapter 3 the correlations of Lp(a) with other blood lipids (serum cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides), coagulation parameters (fibrinogen, factor VII, factor VIIIc, fibrin monomers, TAT) and fibrinolysis parameters (t-PA, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and D-dimers) are described in 54 patients with essential hypertension, in 65 non-insulin-dependent diabetic patients and in 116 insulin-regulated diabetic patients. Lp(a) values in the hypertensive patients were significantly elevated with a median value of 122 mg/l compared with 44 mg/l in a healthy reference group ( $p < 0.0001$ ). In the diabetic patient groups, Lp(a) values did not significantly differ from those in the reference group. A weak positive correlation between Lp(a) and LDL-cholesterol was found in the hypertensive patients ( $r = 0.25$ ,  $p = 0.04$ ) and in the insulin-regulated diabetic patients ( $r = 0.20$ ,  $p = 0.03$ ), whereas Lp(a) was negatively correlated with triglycerides in the hypertensive patients ( $r = -0.30$ ,  $p = 0.03$ ).

More or less obvious signs of an activated coagulation system and reactive fibrinolysis were encountered in all three patient groups. In the hypertensive patient group and in both diabetic patient groups no correlation could be found between Lp(a) values and the haemostasis parameters investigated.

Chapter 4 describes the haemostasis and lipid parameters in 43 treated and 11 untreated hypertensive patients. The treated hypertensive patients included in this study were still hypertensive despite treatment with antihypertensive drugs. Lipid values (Quetelet-index, serum cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, lipoprotein(a)), coagulation parameters (fibrinogen, F VIIIc, F VIII VWF, F VII, fibrin monomers, thrombin-antithrombin III complex) and fibrinolysis parameters (plasminogen,  $\alpha_2$ -antiplasmin, tissue plasminogen activator (t-PA) antigen and activity, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and D-dimers) did not significantly differ between the treated and untreated patients. The blood lipid profile was disadvantageous with elevated values for serum triglycerides, LDL-cholesterol and lipoprotein(a) in 46%, 28% and 28% of the hypertensive patients, respectively.

In comparison with the values in the reference group, the coagulation parameters VII, VIIIc, fibrin monomers and thrombin-antithrombin III were significantly elevated and compatible with an activation of the coagulation system in these patients. Correlations were found between systolic blood pressure and serum cholesterol ( $r = 0.43$ ,  $p = 0.003$ ), LDL-cholesterol ( $r = 0.34$ ,  $p = 0.02$ ) and triglycerides ( $r = 0.35$ ,  $p = 0.01$ ). The Quetelet-index was correlated with fibrinogen ( $r = 0.37$ ,  $p = 0.02$ ) and thrombin-antithrombin III ( $r = 0.30$ ,  $p = 0.04$ ) whereas triglycerides were correlated with F VII ( $r = 0.34$ ,  $p = 0.03$ ) and fibrin monomers ( $r = 0.29$ ,  $p = 0.04$ ), respectively.

Compared with findings in the reference group the hypertensive patient group showed significantly elevated values for the fibrinolytic variables PAI-1, tissue plasminogen activator antigen,  $\alpha_2$ -antiplasmin and D-dimers. Tissue plasminogen activator activity was grossly decreased in the hypertensive patients. Triglycerides were correlated with tissue plasminogen activator antigen ( $r = 0.44$ ,  $p = 0.003$ ) and with PAI-1 ( $r = 0.47$ ,  $p = 0.004$ ), whereas the Quetelet-

index was correlated with tissue plasminogen activator antigen ( $r= 0.32$ ,  $p= 0.03$ ). Elevated PAI-1 levels and decreased tissue plasminogen activator activity are signs of an inhibited fibrinolysis. These data link hypertension and hyperlipidaemia with increased coagulation activity and inhibition of fibrinolysis, and may hereby contribute to the understanding why these two cardiovascular risk factors facilitate the progression of atherogenesis.

In chapter 5 the results of prothrombin fragment 1.2, factor VII, fibrin monomers and thrombin-antithrombin III (TAT) determinations in the hypertensive patient group mentioned in chapter 4 are reported. Prothrombin conversion to thrombin mediated by the prothrombinase complex (factor Xa, Va, calcium and phospholipid) is the key event in blood coagulation and produces a peptide designated prothrombin fragment 1.2 (F 1.2). The F 1.2 plasma level can be regarded as an indication of the activity of the prothrombinase complex and a recently developed ELISA method has made it possible to determine F 1.2 concentrations. F 1.2 levels were significantly increased in the hypertensive patients with a median value of 1.47 nmol/l versus 0.66 nmol/l in the reference group ( $p < 0.0001$ ). The enhanced values of F 1.2 in these patients were more pronounced than the elevations in TAT or fibrin monomers and might indicate that F 1.2 is a more sensitive indicator of coagulation activity than the two latter parameters. Together with F VII the F 1.2 elevation was of greater magnitude in the male patients than in the females. F 1.2 was correlated with fibrin monomers ( $r= 0.33$ ,  $p < 0.03$ ) but not with other coagulation parameters, blood pressure, age or duration of hypertension. The elevated F 1.2 levels in this hypertensive patient group confirm the presence of an activated coagulation system in hypertension, which might be a primary or a secondary phenomenon.

In chapter 6 the correlations between glycometabolic control, lipid parameters, coagulation parameters and the urinary albumin excretion rate are reported in 65 non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) patients. In comparison with a healthy control group, increased serum triglycerides and slightly decreased HDL-cholesterol values were found in the NIDDM patient group. The coagulation parameters showed increased values for fibrinogen, fibrin monomers, thrombin-antithrombin III, F VIIIc and, in the male patients only, F VII. The HbA<sub>1c</sub> values were only correlated with ATIII ( $r= 0.27$ ,  $p < 0.03$ ), but showed a tendency towards a correlation with lipoprotein(a) levels ( $r= 0.23$ ,  $p < 0.07$ ).

Triglycerides were correlated with the Quetelet-index ( $r= 0.27$ ,  $p < 0.03$ ), HDL-cholesterol ( $r= -0.41$ ,  $p < 0.001$ ) and F VII ( $r= 0.35$ ,  $p < 0.01$ ) whereas serum cholesterol concentrations were correlated with F VII ( $r= 0.27$ ,  $p < 0.04$ ) and fibrin monomers ( $r= 0.29$ ,  $p < 0.03$ ). Twelve patients (18.5%) showed microalbuminuria (a urinary albumin excretion rate between 20 and 200  $\mu\text{g}$  per min). The urinary albumin excretion rate was not correlated with any other parameter studied.

In this NIDDM patient group, glycometabolic control appeared to have no substantial influence on the extent of activation of the coagulation system nor on the presence or degree of microalbuminuria. These results may provide clues to the pathophysiological mechanisms of cardiovascular risk factors NIDDM and

hyperlipidaemia and give circumstantial support for the more stringent control measures advised in the treatment of hyperlipidaemia in NIDDM patients.

Chapter 7 describes the relationship of microalbuminuria with lipid, glycometabolic, coagulation and fibrinolysis parameters in 116 insulin-treated diabetic patients. The urinary albumin excretion rate appeared to be only correlated with HbA<sub>1c</sub> ( $r= 0.23$ ,  $p= 0.008$ ) and D-dimer concentrations ( $r= 0.28$ ,  $p= 0.002$ ). In comparison with the normoalbuminuric diabetic patient group ( $n= 85$ ), HbA<sub>1c</sub> values and D-dimer levels were enhanced in the microalbuminuric diabetic patients ( $n= 31$ ) whereas HDL-cholesterol was decreased. The application of a Receiver Operating Characteristic (ROC) curve for HbA<sub>1c</sub> against microalbuminuria (cut-off level 20  $\mu\text{g}/\text{min}$ ) reconfirmed the association of poor glycaemic control in diabetics with the presence of microalbuminuria. In conclusion, these results show a significantly poorer glycaemic control in the patients with microalbuminuria than in the normoalbuminuric diabetic patients. The presence of lower HDL-cholesterol and elevated D-dimer levels was more pronounced in the micro-albuminuric group. No direct correlation could, however, be found between the coagulation and fibrinolysis factors measured and the degree of microalbuminuria in this insulin-regulated diabetic patient group.

**Based on the results reported in this thesis the following conclusions can be drawn:**

- There is no evidence for an association of lipoprotein(a) concentrations with coagulation or fibrinolysis parameters in vivo in the patient groups with acute deep venous thrombosis, essential hypertension or diabetes mellitus.
- In the hypertensive patient group increased plasma prothrombin fragment 1.2 concentrations were found.
- In the patients with essential hypertension and in the diabetic patient groups the increased values of the coagulation and fibrinolysis parameters measured are indicative of an activated coagulation system and a reactive fibrinolysis.
- Plasma prothrombin fragment 1.2 concentrations might give a more sensitive indication of coagulation activity than fibrin monomers or thrombin-antithrombin III levels.
- The increased plasminogen activator inhibitor-1 concentrations and decreased tissue plasminogen activator activity assessed in the hypertensive patient group are signs of inhibited fibrinolysis in these patients.
- In the hypertensive patient group the correlations between blood pressure, lipid parameters, and coagulation and fibrinolysis factors agree with a multifactorial interaction of cardiovascular risk factors.
- The relation between the level of glycometabolic control, as indicated by HbA<sub>1c</sub> values, and lipoprotein(a) concentrations in diabetic patients is still unclear.

- The extent of activation of the coagulation system in the NIDDM patient group is not substantially affected by glycometabolic control, as indicated by HbA<sub>1c</sub> values.
- In the NIDDM patient group the presence or degree of microalbuminuria is not related to glycometabolic control as indicated by HbA<sub>1c</sub> values and not associated with higher Lp(a) concentrations.
- In the insulin-regulated diabetic patient group microalbuminuria is associated with poorer glycaemic control, lower HDL-cholesterol values and higher D-dimer concentrations.

## Chapter 9

# Samenvatting en conclusies

In dit proefschrift worden de correlaties beschreven tussen verschillende stollings- en fibrinolyseparameters en de lipiden waaronder het lipoproteïne(a) bij patiënten met hypertensie en bij patiënten met diabetes mellitus. Bij de laatste patiëntengroep zijn de genoemde parameters onderzocht in relatie met de albumenuitscheiding in de urine. Bij een patiëntengroep met acute diepe veneuze thrombose is de relatie tussen lipoproteïne(a) en de stollings- en fibrinolyseparameters beschreven.

Hoofdstuk 1 is een overzichtartikel over lipoproteïne(a) of Lp(a), dat in 1963 als een aparte lipidenfractie ontdekt werd door K. Berg. In de jaren zeventig werd vastgesteld dat Lp(a)-identiek was aan het 'sinking' pre-beta-lipoproteïne of het pre-beta<sub>1</sub>-lipoproteïne en werden hoge Lp(a) plasmaconcentraties geassocieerd met coronaire hartziekten (CHZ).

De verdeling van Lp(a)-waarden onder de bevolking bleek asymmetrisch met overwegend lage concentraties. In de jaren 80 werd vastgesteld dat Lp(a) bestaat uit een op LDL gelijkend vetdeeltje met hieraan gekoppeld het apolipoproteïne(a) of apo(a), een uniek glycoproteïne. In grote studies, waarvan sommige gedocumenteerd met coronaire angiografie, werd Lp(a) bevestigd als een onafhankelijke risicofactor voor CHZ en cerebrovasculaire aandoeningen en voor CHZ in grootte vergelijkbaar met LDL-cholesterol.

Een fysiologische rol van Lp(a) is niet bekend, maar onmeetbaar lage Lp(a)-concentraties gaan voor zover bekend niet gepaard met ziekte of merkbare deficiënties. De synthese van Lp(a) lijkt vrijwel geheel te geschieden in de lever. Het Lp(a)-katabolisme is in tegenstelling tot de synthese niet gecorreleerd met Lp(a)-plasmaconcentraties. Leeftijd, geslacht dieet en medicatie (met enkele uitzonderingen) bleken geen duidelijk effect te hebben op plasma Lp(a)-concentraties. Hoge Lp(a)-waarden vastgesteld in een zwarte populatie in Houston in de V.S. duiden wel op interraciale verschillen.

De in 1987 met moleculair-biologisch onderzoek door de onderzoeksgroepen van Eaton en McLean vastgestelde homologie tussen apo(a) en plasminogeen wordt beschouwd als een belangrijke doorbraak in Lp(a)-research. Plasminogeen bestaat uit een serineprotease en 5 aaneengeschakelde verschillende 'kringles'. Kringles zijn glycopeptiden welke rond de 100 aminozuren bevatten die door interne disulfide bruggen een krakeling-achtige ruimtelijke structuur bezitten. Apo(a) bevat 1 kringel gelijkend op kringel 5 en 14 tot 37 kringles gelijkend op kringel 4. Het serineprotease domein van apo(a) is voor 94% homolog aan dat van plasminogeen. Het apo(a)-gen is gelocaliseerd



op chromosoom 6 dichtbij het gen dat codeert voor plasminogeen. Met elektroforese kunnen 6 apo(a)-isovormen onderscheiden worden: F ('faster' dan apo B-100), B (gelijk aan apo B-100) en S1, S2, S3, S4 ('slower' dan apo B-100). Isovormen F, B, S1 en S2 vertonen een laag molecuulgewicht en hoge Lp(a) plasmaconcentraties, terwijl voor de isovormen S3 en S4 het omgekeerde geldt. Per individu worden 1 of 2 isovormen gezien.

De homologie van apo(a) met plasminogeen, tezamen met de afwezigheid van fibrinolytische capaciteit van apo(a) door een aminozuur substitutie ter plaatse van het activeringscentrum van het molecuul, heeft aanleiding gegeven tot de suggestie van een mogelijke interferentie van Lp(a) met het pro-fibrinolytisch vermogen van plasminogeen. Deze hypothese vindt steun in vele recente publicaties van in vitro onderzoek.

Bij het bepalen van de relevantie van het Lp(a) voor de dagelijkse medische praktijk in 1992 blijkt dat er nog geen uniforme gestandaardiseerde Lp(a)-bepaling ter beschikking staat, dat het effect van medicamenteus geïnduceerde Lp(a)-reductie op het voorkomen van CHZ niet bekend is en dat nicotinezuur, het enige hiervoor momenteel geschikt geachte en beschikbare medicament, ernstige en hinderlijke bijwerkingen vertoont. Op grond van deze overwegingen moet geconcludeerd worden dat Lp(a)-bepalingen op grote schaal momenteel nog niet geïndiceerd zijn. Voor de individuele patiënt zou een hoge Lp(a)-plasmaconcentratie bekeken moeten worden tegen de achtergrond van zijn totale cardiovasculaire risicoprofiel als een additioneel argument voor de behandeling van andere risicofactoren.

Zoals boven vermeld zijn er recent veel publicaties verschenen die een interferentie van Lp(a) op de fibrinolyse in in vitro melden. Over de relatie van Lp(a) met het plasma fibrinolytisch systeem in vivo is slechts sporadisch gepubliceerd. Wij hebben daarom naar correlaties gezocht tussen Lp(a) en verschillende haemostasis parameters bij patiënten met acute diepe veneuze thrombose (DVT), bij patiënten met essentiële hypertensie en bij patiënten met diabetes mellitus. Van deze patiëntengroepen is in meerdere of mindere mate een geactiveerd stollingssysteem met een reactief toegenomen fibrinolyse beschreven terwijl hypertensie en diabetes mellitus predisponeren voor het ontstaan van atherosclerose.

In hoofdstuk 2 worden de correlaties tussen Lp(a) en de haemostasis parameters fibrinemonomeren, thrombine-antithrombine III complex (TAT), D-dimeer, weefsel plasminogeen activator antigeen (t-PA) en plasminogeen in 31 patiënten met acute DVT beschreven. De mediane tijdsduur tussen het ontstaan van de symptomen en de bevestiging van de diagnose met real-time B-mode ultrasonografie was 2 dagen (spreiding: 1-7 dagen). Bij iedere patiënt werden sterk verhoogde TAT- en D-dimeerconcentraties gevonden. Fibrinemonomeren, t-PA en plasminogeen waren verhoogd in respectievelijk 97%, 32% en 48% van de patiënten. Sterke positieve correlaties werden vastgesteld voor fibrinemonomeren en TAT met D-dimeer ( $r = 0,56$ ,  $p = 0,002$  en  $r = 0,68$ ,  $p = 0,0002$ ) en TAT met t-PA ( $r = 0,64$ ,  $p = 0,0006$ ). Een zwakkere correlatie bestond tussen fibrinemonomeren en plasminogeen ( $r = 0,38$ ,  $p = 0,003$ ). Deze gegevens

wijzen op een adequaat functionerende stollings- en fibrinolyse-as in patiënten met acute DVT. Er werd geen correlatie tussen Lp(a) en de onderzochte haemostasisparameters gevonden. Aanwijzingen voor een relatie van Lp(a)-concentraties met het fibrinolytisch systeem werden in dit onderzoek niet waargenomen.

In hoofdstuk 3 worden de correlaties beschreven tussen Lp(a) en overige bloedvetten (serum cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol en triglyceriden), stollingsparameters (fibrinogeen, factor VII, factor VIIIc, fibrinemonomeren en TAT) en fibrinolytische parameters (t-PA antigeen, plasminogeen-activator-inhibitor-1 (PAI-1) en D-dimeer) bij 54 patiënten met essentiële hypertensie, bij 65 niet-insuline-afhankelijke diabetes mellitus (NIDDM) patiënten en bij 116 met insuline behandelde patiënten met diabetes mellitus. In vergelijking met een controlegroep bestaande uit 50 gezonde vrijwilligers werden verhoogde Lp(a)-plasmaconcentraties vastgesteld in de hypertensiegroep met een mediane waarde van 122 mg/l tegen 44 mg/l in de controlegroep ( $p < 0,0001$ ). De Lp(a)-waarden in beide patiëntengroepen met diabetes mellitus waren niet significant verschillend van die van de controlegroep. In de patiëntengroepen met hypertensie en insuline gereguleerde diabetes mellitus werden zwakke correlaties gevonden tussen Lp(a) en LDL-cholesterol ( $r = 0,25$ ,  $p = 0,04$  en  $r = 0,20$ ,  $p = 0,03$ ). In de groep hypertensiepatiënten werd voorts een zwakke negatieve correlatie tussen Lp(a) en triglyceriden vastgesteld ( $r = -0,30$ ,  $p = 0,03$ ). In alle patiëntengroepen werden in meerdere of mindere mate aanwijzingen gevonden voor een geactiveerd stollingssysteem met reactieve fibrinolyse. In geen van de beschreven patiëntengroepen werd een correlatie tussen Lp(a) en de onderzochte haemostasisparameters gevonden. Deze resultaten leveren geen aanwijzingen voor het bestaan van een verband tussen Lp(a)-concentraties en stollings- en/of fibrinolyseparameters. Zij bevestigen de aanwezigheid van een geactiveerd stollingssysteem in patiënten met hypertensie of diabetes mellitus.

Hoofdstuk 4 beschrijft vetstofwisselings-, stollings- en fibrinolyseparameters bij 43 medicamenteus behandelde en 11 onbehandelde patiënten met essentiële hypertensie. De met antihypertensiva behandelde patiënten waren ondanks de medicatie hypertensief ten tijde van het onderzoek. Lipiden (Quetelet-index, serum cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceriden en lipoproteïne(a)), stollingsparameters (fibrinogeen, F VIIIc, F VIII VWF, F VII, fibrinemonomeren, thrombine-antithrombine III-complex) en fibrinolyseparameters (plasminogeen,  $\alpha_2$ -antiplasmine, weefsel-plasminogeen-activator (t-PA)-antigeen en activiteit, plasminogeen-activator-inhibitor-1 (PAI-1) en D-dimeer) waren in de behandelde en niet behandelde patiënten niet significant verschillend. De hypertensiepatiënten vertoonden een lipidspectrum met verhoogde waarden voor triglyceriden, LDL-cholesterol en lipoproteïne(a) in respectievelijk 46%, 28% en 28% van de patiënten. Bij de hypertensiepatiënten werden in vergelijking met de referentiegroep voor de stollingsfactoren F VII, F VIIIc, fibrinemonomeren en TAT significant verhoogde waarden gemeten

passend bij een geactiveerd stollingssysteem. Correlaties werden gevonden tussen systolische bloeddruk en respectievelijk het serumcholesterol ( $r= 0,43$ ,  $p= 0,0003$ ), LDL-cholesterol ( $r= 0,34$ ,  $p= 0,02$ ) en triglyceriden ( $r= 0,35$ ,  $p= 0,01$ ). De Quetelet-index correleerde met fibrinogeen ( $r= 0,37$ ,  $p= 0,02$ ) en met TAT ( $r= 0,30$ ,  $p= 0,04$ ). Voorts bestond er een correlatie tussen serumtriglyceriden met F VII ( $r= 0,34$ ,  $p= 0,03$ ) en met fibrinemonomeren ( $r= 0,29$ ,  $p= 0,04$ ).

In vergelijking met de referentiegroep werden bij de hypertensiepatiënten verhoogde concentraties gemeten voor de fibrinolyse parameters PAI-1, t-PA antigeen,  $\alpha_2$ -antiplasmine en D-dimeer terwijl de t-PA-activiteit sterk verlaagd was. Correlaties werden gevonden tussen triglyceriden en respectievelijk t-PA antigeen ( $r= 0,44$ ,  $p= 0,003$ ) en PAI-1 ( $r= 0,47$ ,  $p= 0,004$ ) en tussen de Quetelet-index en t-PA-antigeen ( $r= 0,32$ ,  $p= 0,03$ ). Verhoogde PAI-1-concentraties en verlaagde t-PA-activiteit wijzen op een overheersende remming van het plasmatisch fibrinolytisch systeem.

De resultaten van deze studie wijzen op een associatie van hypertensie met hyperlipidemie, met een activatie van het stollingssysteem en met een remming van de fibrinolyse. Deze toestand van zogenaamde 'hypercoagulabiliteit' zou een bijdrage kunnen leveren aan het atherogene mechanisme van deze cardiovasculaire risicofactoren.

In hoofdstuk 5 worden in dezelfde groep hypertensiepatiënten de stollingsparameters prothrombine fragment 1.2, factor VII, fibrinemonomeren en TAT beschreven. Bij de conversie van prothrombine naar het actieve thrombine onder invloed van het prothrombinase complex (factor Xa, Va, calcium en fosfolipiden) komt het peptide prothrombine fragment 1.2 (F 1.2) vrij. De F 1.2 plasmaconcentratie, welke bepaald kan worden met een recent ontwikkelde ELISA methode, kan beschouwd worden als een indicator van de activiteit van het prothrombinase complex. De F 1.2 concentraties waren significant verhoogd in de groep van hypertensiepatiënten met een mediane waarde van 1,47 nmol/l tegenover 0,66 nmol/l in de controlegroep ( $p<0,0001$ ). De F1.2 concentraties waren, in vergelijking met de waarden gemeten voor TAT en fibrinemonomeren, bij deze patiënten in sterkere mate verhoogd, hetgeen zou kunnen betekenen dat F 1.2 een gevoeliger indicator is voor stollingsactiviteit dan beide andere parameters. In vergelijking met de vrouwelijke patiënten werden bij de mannelijke hypertensiepatiënten hogere concentraties voor F VII en F 1.2 concentraties gezien. Er bestond een correlatie tussen F 1.2 concentraties en fibrinemonomeren ( $r= 0,33$ ,  $p< 0,03$ ) maar niet met de andere onderzochte stollingsparameters, bloeddruk, leeftijd of bekende duur van de hypertensie. De verhoogde F 1.2 concentraties in deze groep hypertensiepatiënten is een bevestiging van de aanwezigheid van een geactiveerd stollingssysteem in hypertensiepatiënten. Het is momenteel nog niet duidelijk of dit een primair dan wel een secundair fenomeen is.

In hoofdstuk 6 worden de correlaties tussen glycometabole controle, lipiden, stollingsparameters en de albumenexcretie in de urine bij 65 patiënten met niet-insuline-afhankelijke diabetes mellitus (NIDDM) beschreven. Alle patiënten werden behandeld met dieet en orale antidiabetica. In vergelijking met de

controlegroep werden verhoogde triglyceriden en licht verlaagde HDL-cholesterol concentraties gemeten. De stollingsparameters toonden verhoogde waarden voor fibrinogeen, fibrinemonomeren, thrombine-antithrombine III complex (TAT), factor VIIIc en, bij de mannelijke NIDDM patiënten, ook verhoogde F VII waarden. Het HbA<sub>1c</sub> bleek alleen gecorreleerd met antithrombine III ( $r = 0,27$ ,  $p < 0,03$ ) en vertoonde een tendens naar een correlatie met lipoproteïne(a)-concentraties ( $r = 0,23$ ,  $p < 0,07$ ). Voorts werden correlaties waargenomen tussen triglyceriden en respectievelijk de Quetelet-index ( $r = 0,27$ ,  $p < 0,03$ ), het HDL-cholesterol ( $r = -0,41$ ,  $p < 0,001$ ) en factor VII ( $r = 0,35$ ,  $p < 0,01$ ) en tussen serum cholesterol concentraties en respectievelijk factor VII ( $r = 0,27$ ,  $p < 0,04$ ) en fibrinemonomeren ( $r = 0,29$ ,  $p < 0,03$ ).

Twaalf patiënten (18,5%) vertoonden microalbuminurie (een albumenexcretie in de urine van 20 - 200 µg/minuut) die niet met een van de andere onderzochte parameters gecorreleerd bleek. Bij deze groep van NIDDM patiënten bleek de glycometabole controle niet gerelateerd aan de mate van stollingsactiviteit of aan de aanwezigheid en/of grootte van microalbuminurie.

Deze gegevens kunnen een bijdrage leveren aan het inzicht in de pathofysiologische mechanismen die ten grondslag liggen aan de micro- en macroangiopathie bij NIDDM tengevolge van de NIDDM zelf en door de hyperlipidemie. Indirect geven zij steun aan de aanbevolen stringente behandeling van hyperlipidemie bij patiënten met diabetes mellitus.

Hoofdstuk 7 beschrijft het verband tussen microalbuminurie en lipiden, glycometabole-, stollings- en fibrinolyseparameters in 116 met insuline behandelde patiënten met diabetes mellitus. De hoogte van de gemeten albumenexcretie in de urine bleek alleen gecorreleerd met HbA<sub>1c</sub> ( $r = 0,23$ ,  $p = 0,008$ ) en D-dimeerconcentraties ( $r = 0,28$ ,  $p = 0,002$ ). In vergelijking met de normoalbuminurische patiënten ( $n = 85$ ) vertoonden de microalbuminurische diabeten ( $n = 31$ ) verhoogde HbA<sub>1c</sub>- en D-dimeerconcentraties en een verlaagd HDL-cholesterol. Toepassing van een Receiver Operating Characteristic (ROC) curve voor HbA<sub>1c</sub> uitgezet tegen microalbuminurie (afkappunt 20 µg/min) bevestigde de associatie van een slechte glycometabole controle met het optreden van microalbuminurie. Concluderend werden bij patiënten met microalbuminurie een slechtere glycometabole controle, lagere HDL-cholesterol waarden en hogere D-dimeerconcentraties gemeten dan bij normoalbuminurische patiënten met diabetes mellitus. Er was echter geen sprake van een correlatie tussen de albumenexcretie in de urine en de onderzochte stollings- en fibrinolyseparameters bij deze groep van met insuline behandelde patiënten met diabetes mellitus.

### **Op grond van de in dit proefschrift beschreven resultaten kunnen de volgende conclusies worden getrokken:**

- Er werden geen aanwijzingen gevonden voor het bestaan van een verband tussen lipoproteïne(a)-concentraties en stollings- en/of fibrinolyseparameters bij patiënten met acute diepe veneuze thrombose, patiënten met essentiële hypertensie en patiënten met diabetes mellitus.

- Patiënten met essentiële hypertensie vertonen een verhoogde prothrombine fragment 1.2 plasmaconcentratie.
- De verhoogde stollings- en fibrinolyseparameters welke gevonden werden bij patiënten met diabetes mellitus en bij hypertensiepatiënten wijzen op het voorkomen van een geactiveerd stollingssysteem met reactieve fibrinolyse bij deze patiëntengroepen.
- Het is mogelijk dat de plasma prothrombine fragment 1.2 concentratie een gevoeliger indicatie geeft van de mate van stollingsactiviteit dan fibrinemonomeren of thrombine-antithrombine III concentraties.
- De verhoogde concentratie van het plasminogeen-activator-inhibitor-1 (PAI-1) en verlaagde weefsel plasminogeen-activator (t-PA)-activiteit in het plasma van hypertensiepatiënten passen bij een overheersende remming van het plasma fibrinolytisch systeem van deze patiënten.
- De correlaties welke in de groep van de hypertensiepatiënten gevonden werden tussen bloeddruk, lipiden en stollings- en fibrinolyseparameters passen bij een multifactorieële interactie van cardiovasculaire risicofactoren.
- De relatie tussen de glycometabole controle met als parameter het HbA<sub>1c</sub> en plasma lipoproteïne(a)-concentraties bij patiënten met diabetes mellitus is nog niet duidelijk.
- De activiteit van het stollingssysteem in de patiëntengroep met een niet-insuline-afhankelijke diabetes mellitus (NIDDM) was niet gerelateerd aan de mate van glycometabole controle met als parameter het HbA<sub>1c</sub>-percentage.
- In de NIDDM patiëntengroep was het optreden of de mate van microalbuminurie niet gerelateerd aan het niveau van de glycometabole controle met als parameter het HbA<sub>1c</sub>-percentage en niet geassocieerd met hogere lipoproteïne(a)-concentraties.
- In de groep van de met insuline behandelde patiënten met diabetes mellitus was het optreden van microalbuminurie geassocieerd met een slechtere glycometabole instelling (HbA<sub>1c</sub>), een lager HDL-cholesterol en met hogere D-dimeerconcentraties.