

De invloed van genetische variatie op de concentratie van von-willebrand-factor in het bloed en het risico op een herseninfarct

The influence of genetic variation on von Willebrand factor levels and the risk of stroke

M.C. van Schie

Samenvatting

Op 9 mei 2012 promoveerde mw. dr. M.C. van Schie aan de Erasmus Universiteit Rotterdam op haar promotieonderzoek, getiteld 'The influence of genetic variation on von Willebrand factor levels and the risk of stroke', onder begeleiding van promotor dhr. prof. dr. F.W.G. Leebeek en co-promotor mw. dr. M.P.M. de Maat. Hieronder zijn de belangrijkste bevindingen van het onderzoek weergegeven. (*Ned Tijdschr Hematol* 2013;10:36-9)

Summary

The 9th of May, 2012, M.C. van Schie defended her thesis entitled 'The influence of genetic variation on von Willebrand factor levels and the risk of stroke' at the Erasmus University Rotterdam under supervision of promotor professor F.W.G. Leebeek, MD, PhD, and co-promotor M.P.M. de Maat, PhD. The most important findings of her investigation are summarized in this report.

Inleiding

Hart- en vaatziekten (HVZ), zoals het herseninfarct, is een van de belangrijkste veroorzakers van morbiditeit en mortaliteit in de wereld. In Nederland overlijden iedere dag gemiddeld 51 mannen en 57 vrouwen aan de gevolgen van hart- en vaatziekten. De pathogenese van hart- en vaatziekten is complex. Zowel genetische als omgevingsfactoren dragen, via complexe interacties, bij aan het ontstaan van atherosclerose en plaqueruptuur met vervolgens stolselvorming en vasculaire occlusie.

In het verleden zijn risicofactoren voor het ontstaan van HVZ, zoals roken, diabetes mellitus en hypercholesterolemie, geïdentificeerd. Omdat von-willebrand-factor (VWF) een belangrijke rol speelt in de primaire hemostase, is ook de rol van VWF in het ontstaan van HVZ onderzocht. Uit eerdere studies komt

naar voren dat een hoge VWF-plasmaconcentratie is geassocieerd met het risico op een hartinfarct. Omdat VWF door endotheel wordt gesynthetiseerd en wordt uitgescheiden als gevolg van endotheelactivatie, is het echter niet duidelijk of VWF een pathogene rol speelt in het ontstaan van een hartinfarct of meer een marker is van atherosclerose. Over de relatie tussen de VWF-plasmaconcentratie en het risico op een herseninfarct is weinig bekend.

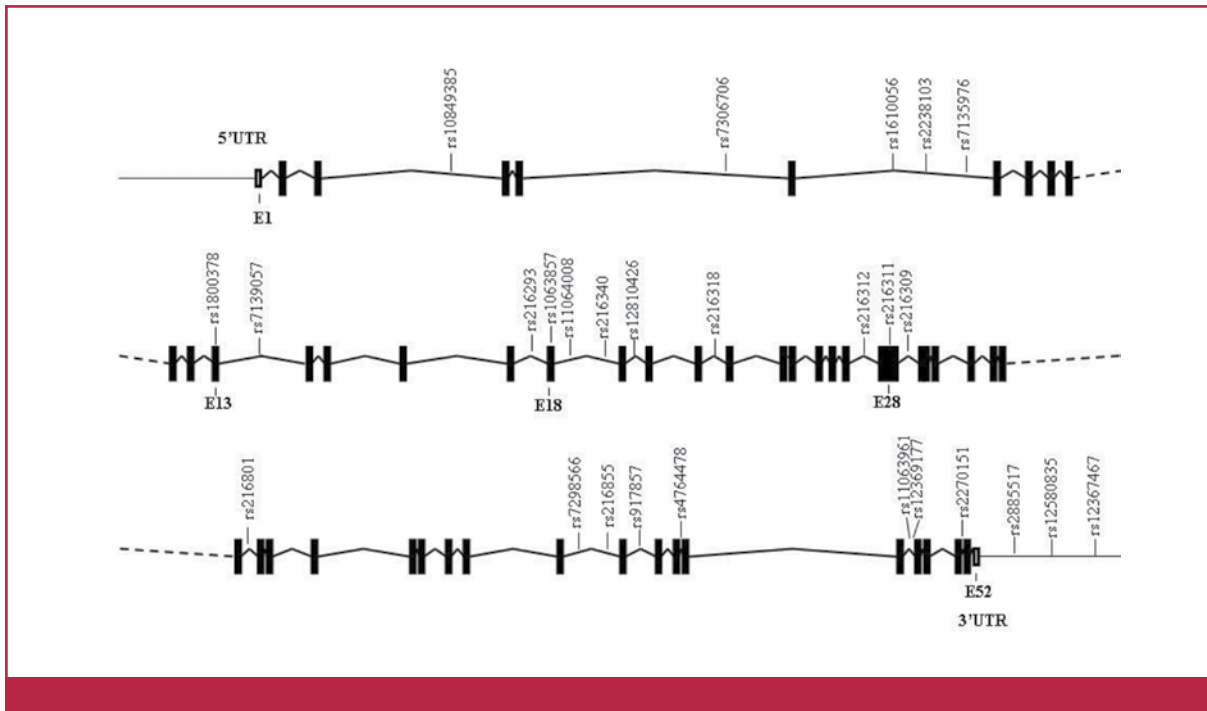
De concentratie van VWF in het bloed wordt beïnvloed door omgevingsfactoren, maar is voor een groot deel erfelijk bepaald. Deze erfelijkheid ligt tussen 53 en 75%. Ook het risico op HVZ wordt bepaald door erfelijke factoren. Het identificeren van genetische varianten die zowel zijn geassocieerd met VWF-plasmaconcentratie als met het risico op HVZ

Auteur: mw. dr. M.C. van Schie, internist in opleiding, afdeling Hematologie, Erasmus Medisch Centrum/Erasmus Universiteit Rotterdam, 's-Gravendijkwal 230, 3015 CE Rotterdam, tel.: 010 704 07 04, e-mailadres: m.vanschie@erasmusmc.nl.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: Nederlandse Hartstichting, Novartis en Giles Hondius Foundation hebben bijgedragen in de drukkosten van het proefschrift.

Trefwoorden: beroerte, genetische variatie, herseninfarct, von-willebrand-factor, VWF:Ag-plasmaconcentratie

Key words: genetic variation, ischemic stroke, stroke, von Willebrand factor, VWF:Ag levels



Figuur 1. Schematische representatie van het VWF-gen met de locatie van de ht-SNP's. Zwarte blokjes zijn exons en de zwarte lijnen die de blokjes verbinden zijn introns. De zwarte ingekleurde blokjes zijn de coderende gedeelten van het gen. 5'UTR en 3'UTR zijn het niet-coderende begin en einde van het gen. E staat voor exon.

is belangrijk bewijs voor het bestaan van een pathogene rol van VWF in het ontstaan van HVZ en kunnen deels de erfelijkheid van HVZ verklaren.

In dit proefschrift worden studies beschreven waarin de relatie tussen genetische variatie, de VWF-plasmaconcentratie en HVZ wordt onderzocht. De focus ligt op de relatie tussen variatie in het VWF-gen, de VWF-antigeen (VWF:Ag)-plasmaconcentratie en het risico op een herseninfarct. In dit artikel worden enkele hoofdstukken van het proefschrift belicht.

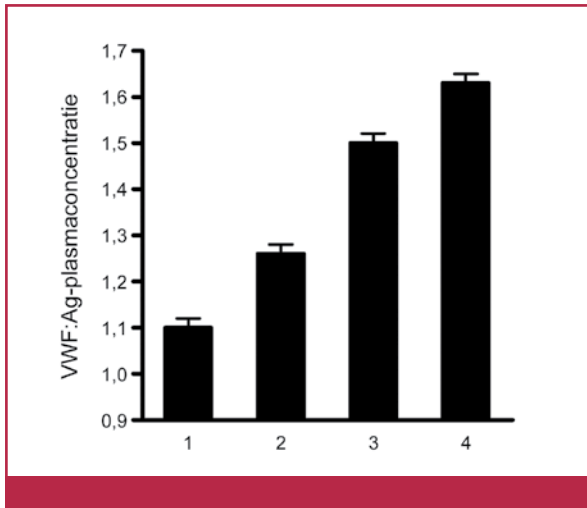
Belangrijkste bevindingen

In het eerste hoofdstuk van het proefschrift wordt een overzicht gegeven van studies waarin de invloed van genetische varianten op de VWF:Ag-plasmaconcentratie, VWF-activiteit en HVZ is bestudeerd.¹ Uit de studies komt naar voren dat naast varianten in het VWF-gen, ook varianten in *ABO-bloedgroep-gen*, *ADAMTS13-gen* ('a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motive') en *thrombospondin-1-gen* (*TSP-1*) zijn betrokken bij de regulatie van de VWF-plasmaconcentratie. Over de bijdrage van deze genetische varianten aan het ontstaan van HVZ zijn de studies niet eenduidig. Dit kan worden veroorzaakt

door een verschil in studieopzet, doordat onderzoek werd gedaan in heterogene studiepopulaties en werd gekeken naar verschillende eindpunten. Hiernaast was een deel van de studies 'underpowered'.

De relatie tussen VWF en het risico op een beroerte is niet vaak onderzocht. Slechts in 1 longitudinale cohortstudie met voldoende 'incident stroke cases' is de relatie tussen VWF en het risico op een beroerte onderzocht en aangetoond. Omdat de populatie relatief jong was bij aanvang van de studie, namelijk 45-64 jaar, is het belangrijk te onderzoeken of VWF ook is geassocieerd met het risico op een beroerte bij ouderen, de populatie met het grootste risico op een gebeurtenis.

In het tweede hoofdstuk van het proefschrift wordt de relatie tussen VWF en het risico op een beroerte onderzocht in de Rotterdam-studie, een groot bevolkingsonderzoek bij ouderen (>55 jaar).² Voor de analyses werden in totaal 6.250 personen geïncludeerd, allen zonder beroerte in de voorgeschiedenis bij aanvang van de studie. Tijdens de follow-upperiode van gemiddeld 5 jaar kregen 290 participanten een eerste beroerte. Hiervan waren er 197 een herseninfarct. De resultaten van deze studie laten zien dat het



Figuur 2. VWF:Ag-plasmaconcentratie. De figuur laat het gemiddelde VWF:Ag-plasmaconcentratie zien in IU/ml (+SE) per quartiel van de genetische score (trend $p < 0,01$). Quartiel 1 vertegenwoordigt de laagste en quartiel 4 de hoogste genetische score.

risico op een beroerte toeneemt naarmate de VWF:Ag-plasmaconcentratie hoger is. De voor leeftijd en geslacht gecorrigeerde hazardratio (HR) per standaarddeviatie toename van de VWF-plasmaconcentratie was 1,12 (95%-betrouwbaarheidsinterval (BI) 1,01-1,25) voor een beroerte en 1,13 (95%-BI 0,99-1,29) voor een herseninfarct. Correctie voor additionele ‘confounders’ verzwakte de associatie minimaal. Eerder onderzoek liet zien dat het risicoprofiel voor het ontwikkelen van een beroerte verschillend is voor mannen en voor vrouwen. In onze studie werd echter geen verschil gevonden tussen mannen en vrouwen. Uit deze studie concluderen wij dat een hoge VWF-plasmaconcentratie zijn geassocieerd met een hoger risico op een beroerte bij ouderen.

Informatie over de bijdrage van veel voorkomende genetische varianten in het VWF-gen aan de VWF-plasmaconcentratie en het risico op HVZ is beperkt. Daarom werden voor de derde studie in dit proefschrift 27 ‘haplotype-tagging single nucleotide polymorphisms’ (ht-SNP’s) geselecteerd die de totale, veel voorkomende genetische variatie in het VWF-gen vertegenwoordigen (zie *Figuur 1*, pagina 37). Deze 27 SNP’s werden gegenotypeerd in een studie van 421 jonge patiënten met een eerste hart- of herseninfarct en 409 gezonde controlepersonen (mannen ≤ 45 jaar en vrouwen ≤ 55 jaar). Er werd gekozen

voor een jonge studiepopulatie, omdat uit eerder onderzoek is gebleken dat de bijdrage van genetisch variatie aan het ontstaan van HVZ groter is bij jongere mensen dan bij ouderen. De relatie tussen de veel voorkomende VWF-genvarianten, de VWF:Ag-plasmaconcentratie, VWF-collageen-‘bindings’ (VWF:CB)-activiteit en HVZ werd onderzocht.³ Twee nieuwe associaties werden gevonden. Voor ht-SNP-rs4764478 (intron 45) was de toename in VWF:Ag-plasmaconcentratie en VWF:CB-activiteit per allel met de laagste frequentie respectievelijk 0,082 ($\pm 0,026$) IU/ml ($p = 0,001$) en 0,096 ($\pm 0,030$) IU/ml ($p = 0,002$). Ht-SNP-rs216293 (intron 17) was geassocieerd met een hoger risico op HVZ (odds-ratio (OR) 1,44; 95%-BI 1,12-1,86 per allel met de laagste frequentie). Er werd geen relatie gevonden tussen deze SNP- en de VWF-plasmaconcentratie, waardoor het niet duidelijk is via welk mechanisme ht-SNP-rs216293 het risico op HVZ vergroot. Het allel met de laagste frequentie van ht-SNP-rs1063857 was ook geassocieerd met een verhoogd risico op HVZ. Omdat ht-SNP-rs1063857 in verschillende eerdere studies was geassocieerd met de VWF-plasmaconcentratie, kan dit betekenen dat VWF een pathogene rol speelt in de ontwikkeling van HVZ. Naar aanleiding van de resultaten van deze studie concluderen wij dat verschillende veel voorkomende genetische varianten in het VWF-gen zijn geassocieerd met de VWF-plasmaconcentratie en met het risico op HVZ.

Een eerdere meta-analyse van 5 grote ‘genome-wide association studies’ identificeerden associaties tussen SNP’s en de VWF-plasmaconcentratie in 8 verschillende genetische loci, waaronder het VWF-gen en het ABO-bloedgroep-gen. Of deze SNP’s ook zijn geassocieerd met het risico op een beroerte was nog niet onderzocht. Daarom hebben we in de volgende studie de associatie tussen enkele van deze genetische determinanten van de VWF-plasmaconcentratie en het risico op een beroerte onderzocht.⁴ Het onderzoek is uitgevoerd in de Rotterdam-studie. Deze studie werd in dit artikel eerder beschreven. In totaal waren 5.763 participanten zonder beroerte in de voorgeschiedenis bij aanvang van de studie geschikt voor analyse. De VWF:Ag-plasmaconcentratie werd bepaald bij 3.379 participanten. In ieder van de 8 genetische loci werd de SNP die het sterkst was geassocieerd met de VWF:Ag-plasmaconcentratie geselecteerd. Eerst werd de associatie tussen deze 8 individuele

SNP's en het risico op een beroerte onderzocht. Hierna werd een genetische score gebaseerd op deze 8 SNP's geconstrueerd, waarbij het aantal 'VWF-plasmaconcentratie verhogende allelen' per individu werden gescoord en bij elkaar werden opgeteld, gewogen naar de grootte van hun effect op de VWF-plasmaconcentratie. De associatie tussen deze score, de VWF:Ag-plasmaconcentratie en het risico op een beroerte werd onderzocht. Tijdens de gemiddelde follow-upperiode van 10 jaar ontwikkelden 588 personen een beroerte. Geen van de 8 individuele SNP's waren geassocieerd met het risico op een beroerte, ook niet in de subgroep van herseninfarcten (348 individuen). Een hogere genetische score was sterk geassocieerd met de VWF:Ag-plasmaconcentratie (zie *Figuur 2*), maar niet met het risico op een beroerte. Ook niet in de herseninfarctsubgroep. Uit deze studie kan worden geconcludeerd dat de 8 SNP's die in sterke mate de VWF-plasmaconcentratie bepalen niet zijn geassocieerd met het risico op een beroerte, zowel niet individueel als gecombineerd in een genetische score. Hoewel we eerder lieten zien dat een hoge VWF-plasmaconcentratie is geassocieerd met een toegenomen risico op een beroerte, suggereren de resultaten van deze studie dat er geen sterk causaal verband is tussen VWF en het ontwikkelen van een beroerte.

Conclusie

Het uitgevoerde onderzoek laat zien dat een hoge VWF-plasmaconcentratie een onafhankelijke risicofactor is voor het ontstaan van een beroerte en toont enig bewijs voor een direct pathogene rol van VWF in het ontwikkelen van HVZ. Grote prospectieve 'population based' cohortstudies met goed gedefinieerde homogene studie-eindpunten en een lange follow-upperiode zijn echter nodig om de rol van VWF volledig op te helderen.

Referenties

1. Van Schie MC, Van Loon JE, De Maat MP, et al. Genetic determinants of von Willebrand factor levels and activity in relation to the risk of cardiovascular disease: a review. *J Thromb Haemost* 2011;9:899-908.
2. Wieberdink RG, Van Schie MC, Koudstaal PJ, et al. High von Willebrand factor levels increase the risk of stroke: the Rotterdam study. *Stroke* 2010;41:2151-6.
3. Van Schie MC, De Maat MP, Isaacs A, et al. Variation in the von Willebrand factor gene is associated with von Willebrand factor levels and with the risk for cardiovascular disease. *Blood* 2011;117:1393-9.
4. Van Schie MC, Wieberdink RG, Koudstaal PJ, et al. Genetic determinants of von Willebrand factor plasma levels and the risk of stroke: the Rotterdam study. *J Thromb Haemost* 2012;10(4):550-6.

Ontvangen 29 augustus 2012, geaccepteerd 18 september 2012.