

Determinanten van plasmaspiegels van vonwillebrandfactor en stollingsfactor VIII

Auteur A.Y. Nossent

Trefwoorden risico, stollingsfactor VIII, veneuze en arteriële trombose, vonwillebrandfactor

Samenvatting

Op 6 februari 2008 promoveerde mw. drs. A.Y. Nossent aan de Universiteit Leiden op het promotieonderzoek, getiteld 'Determinants of plasma levels of von Willebrand factor and coagulation factor VIII'. Zij deed dit onder begeleiding van de promotors dhr.

prof. dr. R.M. Bertina en dhr. prof. dr. F.R. Rosendaal en de copromotor dhr. dr. H.C.J. Eikenboom. Hieronder volgt een samenvatting van de belangrijkste resultaten van het onderzoek.

(Ned Tijdschr Hematol 2008;5:121-3)

Inleiding

Hoge plasmaspiegels van stollingsfactor VIII (FVIII) zijn geassocieerd met een verhoogd risico op het krijgen van trombose.¹ Vonwillebrandfactor (vWF) fungeert als dragereiwit van FVIII; zonder vWF is FVIII zeer instabiel en wordt snel geklaard. De vWF- en FVIII-spiegels fluctueren daarom over het algemeen samen en het is moeilijk om de beide eiwitten apart van elkaar te bestuderen.

De spiegels van vWF en FVIII variëren sterk tussen individuen. Met familiestudies is aangetoond dat vWF- en FVIII-spiegels deels erfelijk worden bepaald.² De ABO-bloedgroep kan ongeveer 30% van de variatie in de vWF- en FVIII-spiegels verklaren. Andere erfelijke factoren die de vWF- en FVIII-spiegels kunnen beïnvloeden, worden echter nog niet goed begrepen. Het belangrijkste doel van het onderzoek dat wordt beschreven in het proefschrift was het begrijpen van de mechanismen die kunnen leiden tot verhoogde plasmaspiegels van vWF en FVIII.

Afgifte van vWF versus klaring van vWF

Om de effecten van de afgifte- en klaringssnelheid van vWF op de vWF- en FVIII-plasmaspiegels, en op het risico voor veneuze trombose te bestuderen, is gebruik gemaakt van het vWF-propeptide. Het vWF-propeptide speelt een belangrijke rol bij de verzameling van vWF-multimeren en bij de opslag van vWF in endotheliale opslagorganellen, de zogenoemde weibel-palade-

lichaampjes. Het propeptide wordt samen met 'mature' vWF in equimolaire hoeveelheden aan het bloed afgegeven, maar wordt voor of direct na afgifte aan het bloed geheel van het 'mature' vWF gescheiden.³ Het propeptide wordt veel sneller geklaard dan het 'mature' vWF, zodat de spiegels van het propeptide geïnterpreteerd kunnen worden als een maat voor de afgiftesnelheid van vWF.⁴ Aannemende dat de halfwaardetijd van het propeptide ongeveer 2 uur is en deze tijd relatief invariabel is tussen individuen, kan, met de plasmaconcentraties van 'mature' vWF en vWF-propeptide, de halfwaardetijd van vWF geschat worden. Zo is er een maat voor zowel de afgifte- als de klaringssnelheid van vWF.⁵

In de Leiden Thrombophilia Study (LETS) leiden zowel een verhoogde afgifte als een vertraagde klaring van vWF tot hogere spiegels van vWF en FVIII. Uitsluitend een verhoogde vWF-afgifte leidt echter ook tot een verhoogd tromboserisico. Dit is verrassend en doet wellicht vermoeden dat de hoge vWF- en FVIII-spiegels een reflectie zijn van een verminderde vaatwandconditie, die de eigenlijke oorzaak van het verhoogde tromboserisico zou kunnen zijn.

Een andere belangrijke vinding van deze studie is dat de afgiftesnelheid van vWF niet afhankelijk is van de ABO-bloedgroep, maar de klaringssnelheid wel. Bovendien konden ABO-antigenen niet worden aangetoond op het vWF-propeptide, terwijl deze wel aanwezig zijn op 'mature' vWF. De ABO-bloedgroep beïnvloedt de vWF- en FVIII-spiegels dus waarschijnlijk via de klaringssnelheid van vWF.⁵

Variaties in het *FVIII*-gen

Een variatie in het B-domein van *FVIII*, *DI241E*, bleek al in 2 eerdere studies geassocieerd met verlaagde *FVIII*-spiegels.^{6,7} In geen van beide studies is echter onderzocht of deze variatie ook geassocieerd is met een verminderd risico op het krijgen van trombose. Bovendien ligt de 'single nucleotide polymorphism' (SNP), die codeert voor deze variant, in 3 verschillende haplotypes: HT1, HT3 en HT5. Het is goed mogelijk dat de eerdere observaties eigenlijk veroorzaakt zijn door een andere variatie die gelinkt is aan *DI241E*.

DI241E en 2 andere SNP's, specifiek voor 2 van de 3 haplotypes, zijn bestudeerd in 3 grote studies: een naar veneuze trombose bij zowel mannen als vrouwen, de LETS, een naar arteriële trombose bij mannen, de Study of Myocardial Infarctions Leiden (SMILE), en een studie naar arteriële trombose bij vrouwen, de Risk of Arterial Thrombosis in Relation to Oral Contraceptives Study (RATIO).

DI241E bleek ook in onze studies geassocieerd met lagere *FVIII*-spiegels, maar slechts bij mannen. Het bleek dat deze associatie alleen duidelijk aanwezig was voor HT1 en niet voor de andere 2 haplotypes. HT1 was bovendien geassocieerd met een verminderd risico op veneuze trombose bij mannen en arteriële trombose bij vrouwen. HT5 was juist geassocieerd met een verhoogd risico op arteriële trombose bij zowel mannen als vrouwen en wellicht ook op veneuze trombose. HT3 was noch met spiegels, noch met risico geassocieerd.

Dit wijst erop dat *DI241E* zelf niet de oorzakelijke SNP is. Verrassend was dat als de associatie tussen HT1 en het risico op veneuze trombose gecorrigeerd werd voor de *FVIII*-spiegels, de associatie weliswaar kleiner werd, maar niet verdween. HT1 beïnvloedt het risico op veneuze trombose dus niet alleen via een verlaging van de *FVIII*-spiegels.^{8,9}

Waterhuishouding en vWF- en *FVIII*-afgifte

De plasmaspiegels van vWF en *FVIII* worden waarschijnlijk voor een deel erfelijk bepaald. Tot nu toe zijn er echter weinig of geen variaties gevonden in de *vWF*- en *FVIII*-genen zelf die geassocieerd zijn met verhoogde spiegels van vWF en *FVIII*. Daarom is gezocht naar variaties in de genen van eiwitten die mogelijk betrokken zijn bij de afgifte van vWF en *FVIII* aan het bloed.

Een 'kandidaatgen' is het gen dat codeert voor de vasopressine-2-receptor (V2R). Deze receptor stimuleert waterretentie in de nieren, maar is ook betrokken bij de afgifte van vWF uit de weibel-paladelichaampjes.

Een variatie in het gen, *G12E*, bleek geassocieerd te zijn met verhoogde vWF- en *FVIII*-spiegels, maar met een verlaagd risico op veneuze trombose bij mannen. Na onderzoek van deze variatie in een in-vitromodel bleek dat de 12E-variant van de receptor een verhoogde bindingsaffiniteit voor de natuurlijke ligand, vasopressine, heeft ten opzichte van de 12G-variant. De discrepantie tussen de effecten van de 12E-variant op de vWF- en *FVIII*-spiegels en op het tromboserisico, kunnen mogelijk verklaard worden via het renine-angiotensinesysteem (RAS).

Verhoogde activiteit van de V2R leidt tot verhoogde afgifte van vWF, maar ook tot een snelle respons op een te lage bloeddruk of een te hoge bloedosmolariteit. Bloeddruk en osmolariteit worden gereguleerd door het RAS, waardoor een snelle correctie zal leiden tot een verminderde RAS-activiteit in het lichaam. RAS heeft naast een bloeddrukverhogende, ook een prothrombotische werking. Daarom kan een verminderde RAS-activiteit leiden tot een lager tromboserisico.

Het lijkt dat de waterhuishouding een rol kan spelen in de regulatie van de vWF- en *FVIII*-spiegels. Dit is de reden dat gekeken is naar de plasmaspiegels van vWF-propeptide, vWF en *FVIII* bij patiënten en dragers van nefrogene diabetes insipidus (NDI). NDI is een erfelijke aandoening die veroorzaakt is door een defect in de V2R of in het door de V2R aangestuurde waterkanaal aquaporine 2 (AQP2).

Vermoedelijk kunnen dragers van de AQP2-defecten overmatig vochtverlies compenseren door upregulatie van de V2R-expressie. Dit zou echter ook leiden tot meer afgifte van vWF. Bij NDI-patiënten met AQP2-defecten kan upregulatie niet compenseren voor overmatig vochtverlies. Bij patiënten en dragers met V2R-defecten is upregulatie van V2R-expressie niet of slechts gedeeltelijk mogelijk.

Inderdaad bleek uit het onderzoek dat AQP2-dragers hogere spiegels van vWF en *FVIII* en met name van vWF-propeptide hebben, vergeleken met AQP2-patiënten, V2R-dragers en -patiënten, en vergeleken met gezonde controlepersonen. Omdat NDI een zeer zeldzame aandoening is, waren de groepen in de studie helaas te klein om definitieve conclusies te trekken.

Naar de effecten van AQP2-genvarianties die wellicht functioneel zijn, maar niet tot een ernstige aandoening als NDI leiden, is ook gekeken. De complete sequentie van het AQP2-gen is bekeken in een selectie van 25 mensen uit de LETS die hoge vWF- en *FVIII*-spiegels hadden, maar jonger waren dan 50 jaar. Bovendien hadden 20 van de 25 mensen bloedgroep O.

De SNP's die bij deze 25 mensen gevonden zijn, zijn bekeken in de hele LETS-populatie. Een deel van de SNP's bleek geassocieerd te zijn met een verhoogd risico op veneuze trombose en waarschijnlijk ook met veranderingen in arteriële bloeddruk. Geen van de SNP's was echter geassocieerd met veranderingen in de vWF- en FVIII-spiegels bij gezonde personen.¹⁰

Conclusie

Naast het hier beschreven samengevatte onderzoek, is ook gekeken naar SNP's in het gen voor de β_2 -adrenerge receptor en de invloed van bloeddruk en antihypertensiva op de FVIII-spiegels. Uit het gehele promotieonderzoek zijn een aantal determinanten van de vWF- en FVIII-plasmaspiegels naar voren gekomen. Het is duidelijk dat zowel de afgifte- als de klaringssnelheid van vWF, de spiegels van vWF en FVIII kunnen beïnvloeden. We hebben aangetoond dat variaties in zowel het FVIII-gen zelf, als in andere genen een effect hebben op de FVIII-spiegels. Verder lijkt het dat de (renale) waterhuishouding een belangrijke rol speelt in de regulatie van de vWF-afgifte. De vWF-afgifte heeft echter wel, maar vWF-klaring niet, een invloed op het tromboserisico. Bovendien kon het verminderde tromboserisico dat geassocieerd is met FVIII HT1, slechts gedeeltelijk verklaard worden door een verlaging van de FVIII-spiegels. Het blijft daarom onduidelijk of de associatie tussen de FVIII-spiegels en het tromboserisico wel geheel causaal is.

Referenties

1. Koster T, Blann AD, Briët E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet* 1995;345:152-5.
2. Kamphuisen PW, Houwing-Duistermaat JJ, Van Houwelingen HC, Eikenboom HC, Bertina RM, Rosendaal FR. Familial clustering of factor VIII and von Willebrand factor levels. *Thromb Haemost* 1998;79:323-7.
3. Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem* 1998;67:395-424.
4. Borchiellini A, Fijnvandraat K, Ten Cate JW, Pajkrt D, Van Deventer SJ, Pasterkamp G, et al. Quantitative analysis of von Willebrand factor propeptide release in vivo: effect of experimental endotoxemia and administration of 1-deamino-8-D-arginine vasopressin in humans. *Blood* 1996;88:2951-8.
5. Nossent AY, Van Marion V, Van Tilburg NH, Rosendaal FR, Bertina RM, Van Mourik JA, et al. von Willebrand factor and its propeptide: the influence of secretion and clearance on

protein levels and the risk of venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2006;4:2556-62.

6. Machiah D, Viel K, Almasy L, Soria J, Porter S, Souto J, et al. A common SNP in the factor VIII (f-VIII) gene encodes a conservative aspartate to glutamate substitution (Asp1241Glu) in the B-Domain that influences f-VIII activity levels. *Blood* 102[11]. 16-11-2003. Abstract.

7. Scanavini D, Legnani C, Lunghi B, Mingozzi F, Palareti G, Bernardi F. The factor VIII D1241E polymorphism is associated with decreased factor VIII activity and not with activated protein C resistance levels. *Thromb Haemost* 2005;93:453-6.

8. Nossent AY, Eikenboom HC, Vos HL, Bakker E, Tanis BC, Doggen CJ, et al. Haplotypes encoding the factor VIII 1241 Glu variation, factor VIII levels and the risk of venous thrombosis. *Thromb Haemost* 2006;95:942-8.

9. Nossent AY, Eikenboom HC, Tanis BC, Doggen CJ, Rosendaal FR. Haplotypes encoding the factor VIII 1241Glu variation and the risk of myocardial infarction. *J Thromb Haemost* 2007;5:619-21.

10. Nossent AY, Vos HL, Rosendaal FR, Bertina RM, Eikenboom HC. Aquaporin 2 gene variations, the risk of venous thrombosis and plasma levels of von Willebrand factor and factor VIII. *Haematologica*. In press 2008.

Ontvangen 14 maart 2008, geaccepteerd 28 maart 2008.

Correspondentieadres

Mw. dr. A.Y. Nossent, postdoc

Universiteit van Kopenhagen
 Faculteit der Gezondheidswetenschappen
 Instituut voor Neurologie en Farmacologie
 Laboratorium voor Moleculaire Cardiologie
 Het Panum Instituut, Gebouw 18.5.32
 Blegdamsvej 3b
 2200 Kopenhagen N
 Denemarken
 Tel.: +45 3532 7600
 E-mailadres: nossent@sund.ku.dk

Belangenconflict: geen gemeld.

Financiële ondersteuning: het onderzoek omschreven in dit proefschrift is gesteund door fondsen van de Nederlandse Hartstichting (NHS 2002T030), de Trombosestichting Nederland (TSN 2005-03) en de 'Leducq Foundation for the development of Transatlantic Networks of Excellence in Cardiovascular Research' (Parijs, Frankrijk).