

# Weefsel-specifieke factor-VIII-synthese en regulatie van de factor-VIII-spiegel

**Auteur** M.J. Hollestelle

**Trefwoorden** factor VIII, stolling, von Willebrand-factor, weefsel-specificiteit

## Samenvatting

Op 17 december 2004 promoveerde mw. ir. M.J. Hollestelle aan de Universiteit van Amsterdam op het promotieonderzoek getiteld 'Factor VIII expression and regulation in health and disease'

onder begeleiding van de promotor prof. dr. K. Mertens en copromotor dr. J.A. van Mourik. Hieronder volgt een samenvatting van het proefschrift. (*Ned Tijdschr Hematol* 2005;2:236-8)

## Inleiding

Factor VIII is een plasma-eiwit dat, als cofactor van de stollingscascade, een essentiële rol speelt in het hemostaseproces. Een factor-VIII-tekort kan een ernstige bloedingsneiging tot gevolg hebben (hemofilie A). In de circulatie komt factor VIII voor als een niet-covalentgebonden complex met von Willebrand-factor (VWF). Deze interactie, waarbij factor VIII tegen proteolytische inactivering en klaring wordt beschermd, speelt een belangrijke rol bij de regulatie van het plasmafactor-VIII-niveau. De klaringreceptor 'low density lipoprotein receptor-related protein' (LRP) is betrokken bij de cellulaire opname en afbraak van factor VIII en reguleert daarmee, evenals VWF, het factor-VIII-niveau.<sup>1,2</sup> Een belangrijk aspect van het onderzoek betrof een gedetailleerde analyse van de weefsel-specificiteit van de factor-VIII-synthese. Tevens werd onderzoek verricht naar de rol van VWF en LRP bij de regulatie van factor-VIII-niveaus onder diverse klinische omstandigheden.

## Weefsel-specifieke factor-VIII-synthese

Met behulp van een kwantitatieve RT-PCR-techniek is vastgesteld dat factor VIII, behalve in de lever, ook in verschillende andere organen en weefsels wordt gesynthetiseerd. De hoogste factor-VIII-mRNA-niveaus werden gevonden in de lever en de nieren.<sup>3</sup> In alle geanalyseerde weefsels werden relatief hoge factor-VIII-mRNA-spiegels aangetoond, in tegen-

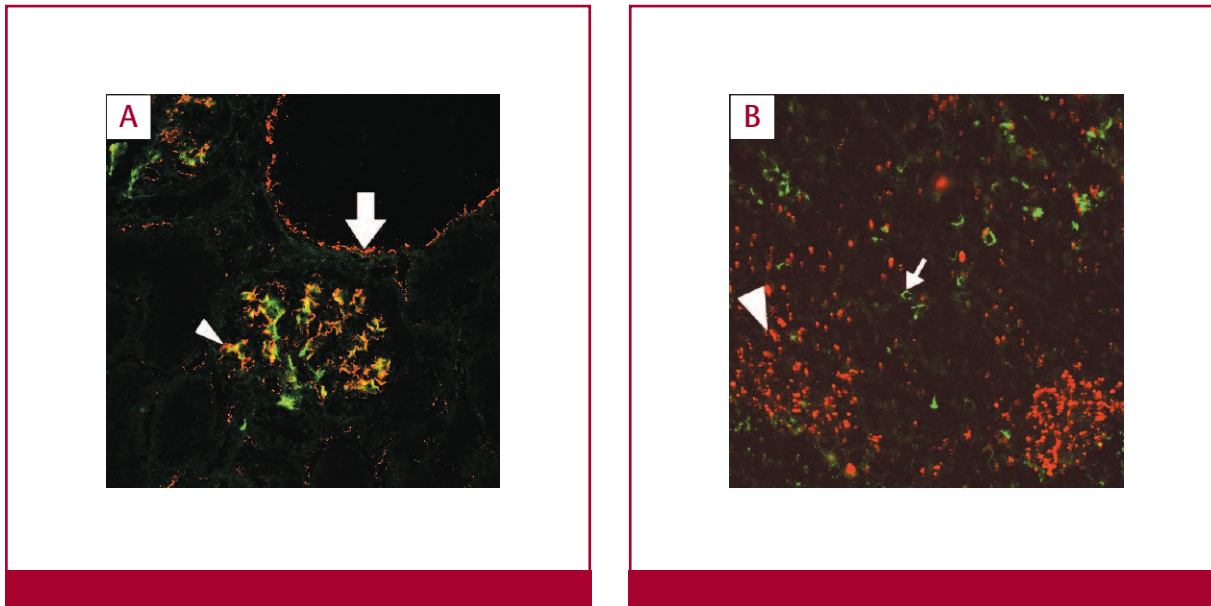
stelling tot de mRNA-niveaus van andere hemostatische eiwitten zoals proteïne-C, tPA of VWF. Dit is opmerkelijk, omdat de concentratie van factor VIII in plasma juist erg laag is.

Er lijkt geen verband te bestaan tussen factor-VIII-mRNA-niveaus en factor-VIII-eiwitspiegels. Op cellulair niveau werd zowel factor-VIII-mRNA als -eiwit in sinusoidale endotheelcellen van de lever aangetoond. Niet zozeer de hepatocyten, maar sinusoidale endotheelcellen blijken factor VIII te synthetiseren. Dit werd al eerder vermoed, maar nooit bewezen.

## Factor-VIII-synthese bij leverziekte

Dat behalve de lever ook andere organen een rol spelen bij de factor-VIII-synthese blijkt uit de volgende waarnemingen. Bij patiënten met chronische leverziekte, zoals levercirrose, worden vaak verhoogde factor-VIII-niveaus in het plasma geconstateerd. Ondanks de verhoging van de factor-VIII-spiegel, bleken de factor-VIII-mRNA-niveaus in het aange-taste leverweefsel juist verlaagd te zijn.<sup>4</sup> Daarentegen werden in het cirrotische weefsel verhoogde VWF-mRNA-spiegels gevonden.

Immunohistochemische analyses bevestigden deze bevindingen. In cirrotisch leverweefsel worden een groot aantal nieuwe vaatjes gevormd, waardoor waarschijnlijk de synthese van VWF plaatselijk wordt verhoogd. Een gevolg is dat er verhoogde stabilisatie van factor VIII is en daardoor ook van verhoogde



**Figuur 1.** Immunohistochemische analyse van factor-VIII-eiwit (groen) en von Willebrand-factor (VWF)-eiwit (rood) in de nier (A) en milt (B) van een varken. A. In de nier werd zowel factor VIII als VWF gedetecteerd in glomerulaire endothelcellen (klein pijlhoofd). Verder was VWF ook aanwezig in endothelcellen van de grotere vaten (grote pijl). B. In de milt werd factor VIII aangetoond in reticulaire cellen (kleine pijl). Verder werd VWF gedetecteerd in bloedplaatjes (groot pijlhoofd) en in endothelcellen. De figuur is met toestemming van Blackwell Publishing overgenomen uit Hollestelle MJ, Poyck PP, Hollestelle JM, Marsman HA, Mourik JA, Gulik TM. Extra-hepatic factor VIII expression in porcine fulminant hepatic failure. *J Thromb Haemost* 2005;3:2274-80.<sup>5</sup>

factor-VIII-spiegels, ondanks de verlaagde factor-VIII-synthese in de zieke lever. Behalve factor-VIII-mRNA bleek ook het LRP-mRNA-gehalte van cirrotisch leverweefsel verlaagd te zijn. In het proefschrift is gepostuleerd dat de verhoogde factor-VIII-spiegel bij leveraandoeningen mede het gevolg is van verlaagde LRP-synthese in de lever, waardoor er een verminderde factor-VIII-klaring plaatsvindt.

### Factor-VIII-synthese bij varkens na hepatectomie

Transplantatiestudies hebben aangetoond dat extra-hepatische weefsels in staat zijn om factor VIII te synthetiseren. Het was echter niet duidelijk in welke mate andere organen dan de lever bijdragen tot factor-VIII-synthese. Tijdens het promotieonderzoek is deze vraagstelling bestudeerd door bij varkens de lever te verwijderen.

Er werd 24 tot 36 uur na totale hepatectomie een verhoogde factor-VIII-spiegel waargenomen.<sup>5</sup> De gemiddelde verblijfstijd van toegediend (humaan) factor VIII was licht verlengd na hepatectomie. De factor-VIII-mRNA-niveaus in onder andere nier, long en milt waren echter niet verhoogd na totale

hepatectomie. Zowel voor als na hepatectomie werd factor-VIII-eiwit gedetecteerd in de nieren en de milt, respectievelijk de glomerulaire endothelcellen en de reticulaire cellen (zie *Figuur 1*).

Er werden duidelijke veranderingen in factor-VIII-eiwitlokalisatie gezien, met name in de nier, waarbij na hepatectomie factor-VIII-houdende vesicles in tubulaire cellen werden waargenomen. Dit verschijnsel hangt vermoedelijk samen met een verhoogde klaringsfunctie van de nier. Deze waarnemingen geven aan dat, naast de lever, ook de nieren en de milt een rol spelen bij de factor-VIII-synthese. Dit is echter nog niet bewezen.

### Beenmerg en factor VIII

De mogelijke rol van beenmerg bij de biosynthese van factor VIII is bestudeerd bij factor-VIII-deficiente muizen die een transplantatie van gezond beenmerg hebben ondergaan. Na transplantatie werden lage, maar aantoonbare plasmafactor-VIII-niveaus aangetoond. De cellulaire bron van plasmafactor VIII was moeilijk te identificeren.

Na transplantatie was factor-VIII-mRNA niet alleen aanwezig in het beenmerg, maar ook in de long, milt

en nieren. Vermoedelijk heeft deze uitzaaiing van factor-VIII-producerende cellen te maken met stamcelplasticiteit. Dit onderzoek toonde ondubbelzinnig aan dat ook beenmergcellen in staat zijn tot factor-VIII-synthese.

### VWF-propeptide in malaria

Tijdens het promotieonderzoek is aangetoond dat *plasmodium falciparum*-malaria gepaard gaat met acute stijgingen van VWF-spiegels en VWF-propeptidespiegels. Dit beeld is kenmerkend voor acute endotheelcelactivering, een fenomeen dat ook gezien wordt bij andere acute vasculaire aandoeningen zoals trombotische trombocytopenische purpura (TTP).<sup>6</sup>

De hoogste VWF-spiegels en VWF-propeptidespiegels werden gezien bij patiënten met cerebrale en ernstige *falciparum*-malaria. Deze waarnemingen suggereren dat de mate van endotheelcelactivering mede bepalend is voor de ziekteactiviteit. Evenals bij vele aandoeningen zoals ontstekingen, maligniteiten of leveraandoeningen, werden ook bij *plasmodium falciparum*-infecties sterk verhoogde factor-VIII-spiegels vastgesteld. In het algemeen worden dit soort fluctuaties van factor-VIII-niveaus toegeschreven aan stijgingen van VWF-spiegels.

Daling van VWF-spiegels ten gevolge van behandeling van de malaria-infectie ging echter niet gepaard met een daling van de factor-VIII-spiegel. Deze waarnemingen tonen aan dat de factor-VIII-stijging niet alleen het gevolg is van VWF-stijgingen, maar ook toegeschreven kan worden aan een toename van de novo factor-VIII-synthese.

### Conclusie

Er bestaat geen twijfel over de rol van de lever bij de biosynthese van factor VIII. Het hier beschreven onderzoek heeft laten zien dat de sinusoidale endotheelcellen hiervoor verantwoordelijk zijn en niet, zoals algemeen wordt verondersteld, de hepatocyten. Factor-VIII-synthese blijkt niet beperkt te zijn tot sinusoidale endotheelcellen in de lever. Ook andere weefsels en organen spelen een duidelijke rol bij de factor-VIII-synthese, vooral onder pathofysiologische omstandigheden. Renale, glomerulaire endotheelcellen en de reticulair cellen in de milt zijn belangrijke kandidaten voor extrahepatische factor-VIII-synthese. In het proefschrift wordt gepostu-

leerd dat de bij het promotieonderzoek vergaarde kennis over weefselspecifieke factor-VIII-synthese van wezenlijk belang is voor adequaat genterapeutisch handelen bij hemofilie A.

### Referenties

1. Lenting PJ, Van Mourik JA, Mertens K. The life cycle of coagulation factor VIII in view of its structure and function. *Blood* 1998;92:3983-96.
2. Schwarz HP, Lenting PJ, Binder B, Mihaly J, Denis C, Dorner F, et al. Involvement of low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) in the clearance of factor VIII in von Willebrand factor-deficient mice. *Blood* 2000;95:1703-8.
3. Hollestelle MJ, Thinnis T, Crain K, Stiko A, Kruijt JK, Van Berkel TJ, et al. Tissue distribution of factor VIII gene expression in vivo - a closer look. *Thromb Haemost* 2001;86:855-61.
4. Hollestelle MJ, Geertzen HGM, Straatsburg IH, Van Gulik TM, Van Mourik JA. Factor VIII expression in liver disease. *Thromb Haemost* 2004;91:267-75.
5. Hollestelle MJ, Poyck PP, Hollestelle JM, Marsman HA, Mourik JA, Gulik TM. Extra-hepatic factor VIII expression in porcine fulminant hepatic failure. *J Thromb Haemost* 2005;3:2274-80.
6. Van Mourik JA, Boertjes R, Huisveld IA, Fijnvandraat K, Pajkrt D, Van Genderen PJ, et al. Von Willebrand factor propeptide in vascular disorders: A tool to distinguish between acute and chronic endothelial cell perturbation. *Blood* 1999;94:179-85.

Ontvangen 14 april 2005, geaccepteerd 21 juni 2005.

### Correspondentieadres

Mw. dr. ir. M.J. Hollestelle, post-doc

Universitair Medisch Centrum Utrecht  
Afdeling Metabole en Endocrine Ziekten  
Divisie Biomedische Genetica  
KE 03.139.2  
Postbus 85090  
3508 AB Utrecht  
Tel.: 030 250 49 87  
E-mail: m.j.hollestelle@azu.nl

Belangenconflict: geen gemeld.  
Financiële ondersteuning: geen gemeld.