

Verwijdering van vonwillebrandfactor uit het bloed

Auteur C.J.M. van Schooten

Trefwoorden cysteinemutaties, FVIII, FVIII/vonwillebrandfactorcomplex, halfwaardetijd, klaringmechanisme, macrofagen, O-gekoppelde suikers, vonwillebrandfactor, ziekte van von Willebrand

Samenvatting

Op 22 november 2007 promoveerde mevrouw ir. C.J.M. van Schooten aan de Universiteit Utrecht op het promotieonderzoek, getiteld 'Von Willebrand Factor: clearance as regulator of plasma levels', onder begeleiding van promotor prof. dr. Ph.G. de

Groot (Universitair Medisch Centrum Utrecht) en de copromotors dr. P.J. Lenting en mw. dr. H.M. van den Berg. Hieronder zijn de belangrijkste bevindingen van het onderzoek weergegeven.

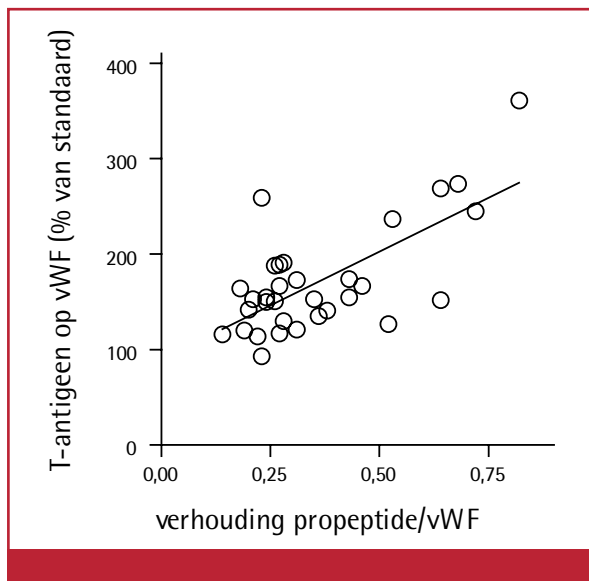
(*Ned Tijdschr Hematol* 2008;5:36-9)

Inleiding

Vonwillebrandfactor (vWF) is een plasma-eiwit dat essentieel is voor de vorming van een bloedplaatjesprop.¹ Dit doet vWF door op de plaats van de verwonding een interactie aan te gaan met zowel de vrijgekomen extracellulaire matrix (zoals collageen) als passerende bloedplaatjes uit de circulatie. Daarnaast fungeert vWF als dragereiwit van stollingsfactor VIII (FVIII). Complexvorming tussen deze 2 eiwitten zorgt voor stabilisatie van FVIII en bescherming tegen afbraak.² Het is van belang dat vWF-plasmaconcentraties nauwkeurig worden gereguleerd; verhoogde concentraties zorgen voor een groter risico op hart- en vaatziekten.^{3,4} Een gebrek aan functioneel vWF kan leiden tot de ziekte van von Willebrand, de meest voorkomende erfelijke bloedingziekte bij de mens. De ernst van de ziekte varieert sterk en is afhankelijk van het type vWF-defect.⁵ Patiënten kunnen worden onderverdeeld in 2 groepen: patiënten met een kwantitatief defect (type 2), of een kwalitatief defect in hun vWF (type 1 en 3).⁵ Deze laatste groep wordt gekenmerkt door lage vWF-plasmaconcentraties, die verklaard kunnen worden door enerzijds een verlaagde vWF-productie, anderzijds een versnelde klaring van het eiwit uit het plasma.

Effect van O-gekoppelde suikers en cysteinemutaties op vonwillebrandfactor-plasmaconcentratie

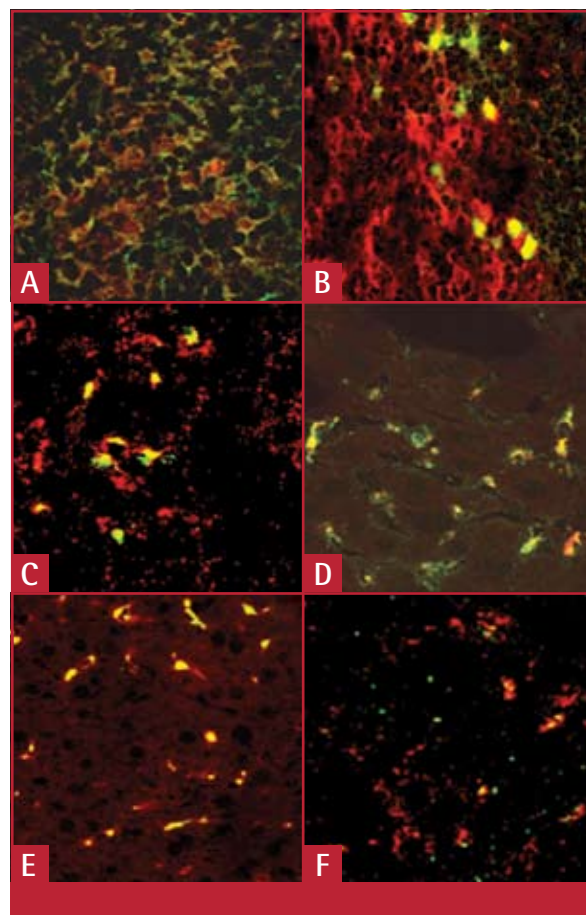
vWF is een glycoproteïne met een zeer complexe structuur en bevat zowel N- als O-gekoppelde suikers. Er zijn aanwijzingen dat suikers die aanwezig zijn op vWF, van invloed kunnen zijn op de vWF-plasmaconcentratie. Zo hebben individuen met bloedgroep O verlaagde vWF-plasmawaarden vergeleken met individuen met een andere bloedgroep.^{6,7} Alle bloedgroepantigenen op vWF maken deel uit van de N-gekoppelde suikers. Andere studies laten zien dat ook de O-gekoppelde suikers op vWF invloed hebben op de vWF-plasmaconcentratie.⁸ De O-gekoppelde suikers op vWF bestaan voor 70% uit het gesialyleerde T-antigeen.⁹ Er werd een methode ontwikkeld om de hoeveelheid T-antigeen die aanwezig is op vWF, te kunnen meten.¹⁰ Met behulp van deze methode werd aangetoond dat vWF van individuen met hogere vWF-plasmaconcentraties minder T-antigeen bevat in vergelijking met individuen met lagere vWF-waarden. Dit fenomeen was ook zichtbaar bij patiënten met extreem hoge (patiënten met levercirrose) of juist lage vWF-plasmaconcentraties (patiënten met type 1 ziekte van von Willebrand). Daarnaast is de



Figuur 1. De relatie tussen de hoeveelheid T-antigeen op vonwillebrandfactor (vWF) en de verhouding propeptide/vWF. Spearman's correlatiecoëfficiënt (R_s) is 0,5 ($p=0,004$).

verhouding tussen de concentratie vWF en propeptide in plasma van patiënten met type 1 ziekte van von Willebrand gemeten. De veronderstelling bestaat namelijk dat het vWF-defect bij een deel van deze patiënten verklaard kan worden door een verlaagde vWF-halfwaardetijd. Propeptide is een eiwit dat samen met vWF wordt gesynthetiseerd en uitgescheiden door endotheelcellen. De verhouding tussen de concentratie van deze 2 eiwitten in het bloed geeft informatie over de halfwaardetijd van vWF. De verhouding propeptide/vWF vertoont een relatie met de hoeveelheid T-antigeen op vWF (zie *Figuur 1*).¹⁰ Dit zou kunnen betekenen dat de hoeveelheid T-antigeen op vWF invloed heeft op de halfwaardetijd van het eiwit.

Een aantal patiënten met de ziekte van von Willebrand vertoont mutaties van cysteïneresiduen in hun vWF. Cysteïnes zijn van groot belang voor de structuur van een eiwit, omdat ze zwavelbruggen met elkaar kunnen vormen. Van 3 van deze mutaties is onderzocht of zij invloed hebben op de overlevingstijd van vWF. De resultaten lieten zien dat de gemuteerde varianten sneller werden geklaard in vergelijking met het normale vWF, zowel bij patiënten als in een muismodel.¹¹ De vWF-mutanten vertoonden geen gezamenlijk functioneel gebrek dat de versnelde klaring zou kunnen verklaren. Het is mogelijk dat deze mutaties de conformatie van het eiwit veranderen, waardoor het sneller uit de circulatie verwijderd wordt.



Figuur 2. Vonwillebrandfactor (vWF), FVIII en het FVIII/vWF-complex binden aan macrofagen in de milt en lever. Detectie van ingespoten eiwitten in de milt (A, B en C) en lever (D, E en F) van vWF-deficiënte muizen. A en D, lokalisatie van macrofagen (rood) en vWF (groen). B en E, lokalisatie van macrofagen (rood) en FVIII (groen). C en F, lokalisatie van macrofagen (rood) en FVIII/vWF-complex (groen). De gele kleur laat overlap zien tussen het rode en groene signaal.

Halfwaardetijd van FVIII en vWF

In het plasma circuleert 95-98% van het totaal aanwezige FVIII in complex met vWF. De FVIII-concentratie in het plasma is dan ook afhankelijk van de vWF-concentratie.² Dit zou kunnen betekenen dat met behulp van de halfwaardetijd van vWF de halfwaardetijd van FVIII voorspeld kan worden. In een groep patiënten met ernstige hemofilie A is de halfwaardetijd van FVIII gemeten. Daarnaast zijn de concentraties vWF en propeptide in het plasma bepaald en is, door gebruik te maken van deze 2 parameters, gekeken of de FVIII-halfwaardetijd voorspeld zou kunnen worden. Dit bleek goed mogelijk, maar er waren verschillen tussen patiënten met bloedgroep O en een andere bloedgroep. Om

de FVIII-halfwaardetijd voor iedere patiënt goed te kunnen voorspellen zijn formules ontworpen voor individuen met een verschillende bloedgroep.

Macrofagen in de lever en milt dragen bij aan de klaring van vWF, FVIII en het FVIII/vWF-complex

Omdat FVIII en vWF een complex vormen in de circulatie, zou het mogelijk kunnen zijn dat deze eiwitten ook gezamenlijk geklaard worden. Kennis over het mechanisme dat verantwoordelijk is voor klaring van vWF, FVIII of het FVIII/vWF-complex zou kunnen leiden tot een verbeterde behandeling van patiënten met de ziekte van von Willebrand en hemofilie A.¹² Eerder onderzoek heeft uitgewezen dat vWF voornamelijk accumuleert in de lever.¹³ Nieuwe analyse van de data liet zien dat ook de milt van belang kan zijn bij de klaring van vWF. Beide organen bevatten onder andere macrofagen. Voor deze studie is vWF, FVIII of het FVIII/vWF-complex ingespoten in vWF-knock-outmuizen. Het ingespoten eiwit was detecteerbaar in zowel de milt als de lever. Resultaten lieten zien dat vWF, FVIII en het FVIII/vWF-complex gebonden waren aan cellen die als macrofaag geïdentificeerd konden worden (zie *Figuur 2* op pagina 37). Daarna is er gekeken naar het effect van macrofagen op FVIII en vWF-plasmawaarden. Hiervoor zijn wild-type muizen behandeld met gadoliniumchloride, wat resulteert in depletie van macrofagen. In de behandelde muizen werden verhoogde FVIII en vWF-plasmaconcentraties gevonden, wat zou kunnen betekenen dat macrofagen inderdaad betrokken zijn bij de klaring van FVIII en vWF uit het plasma. Om te onderzoeken of macrofagen in staat zijn vWF op te nemen en af te breken, is vWF toegevoegd aan primaire humane macrofagen. De resultaten lieten zien dat de cellen in staat waren het vWF op te nemen en af te breken. Dit betekent dat macrofagen een rol zouden kunnen spelen in de klaring van vWF, FVIII en het FVIII/vWF-complex.¹⁴

Conclusie

Dit proefschrift bespreekt enerzijds aspecten die de vWF-concentratie in het plasma beïnvloeden, zoals het T-antigeen en cysteïnemutaties. Daarnaast is het mechanisme dat verantwoordelijk is voor de klaring van vWF bestudeerd. De bevindingen vormen de basis om vast te kunnen stellen welke receptor bijdraagt aan de opname van het complex door deze cellen. Met deze nieuwe informatie

ontstaat een beter begrip hoe de vWF-concentratie gereguleerd wordt en kan hopelijk in de toekomst recombinant vWF met een vertraagde klaring worden geproduceerd. Dit zou de behandeling van patiënten met de ziekte van von Willebrand en hemofilie A kunnen verbeteren.

Referenties

1. Sadler JE. *Biochemistry and genetics of von Willebrand factor*. *Annu Rev Biochem* 1998;67:395-424.
2. Federici AB. *The factor VIII/von Willebrand factor complex: basic and clinical issues*. *Haematologica* 2003;88:3-12.
3. Jager A, Van Hinsbergh V, Kostense PJ, Emeis JJ, Yudkin JS, Nijpels G, et al. *von Willebrand factor, C-reactive protein, and 5-year mortality in diabetic and nondiabetic subjects: the Hoorn Study*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:3071-8.
4. Martinelli I. *Von Willebrand factor and factor VIII as risk factors for arterial and venous thrombosis*. *Semin Hematol* 2005;42:49-55.
5. Sadler JE. *New concepts in von Willebrand disease*. *Blood* 2003;101:2089-93.
6. Gill JC, Endrea-Brooks J, Bauer PJ, Marks WJ, Montgomery RR. *The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease*. *Blood* 1987;69:1691-5.
7. Vlot AJ, Mauser-Bunschoten EP, Zarkova AG, Haan E, Kruitwagen CL, Sixma JJ, et al. *The half-life of infused factor VIII is shorter in hemophilic patients with blood group O than in those with blood group A*. *Thromb Haemost* 2000;83:65-9.
8. Millar CM, Brown SA. *Oligosaccharide structures of von Willebrand factor and their potential role in von Willebrand disease*. *Blood Rev* 2006;20:83-92.
9. Samor B, Michalski JC, Mazurier C, Goudemand M, De Waard P, Vliegthart J F, et al. *Primary structure of the major O-glycosidically linked carbohydrate unit of human von Willebrand factor*. *Glycoconj J* 1989;6:263-70.
10. Van Schooten CJ, Denis CV, Lisman T, Eikenboom JC, Leebeek FW, Goudemand J, et al. *Variations in glycosylation of von Willebrand factor with O-linked sialylated T antigen are associated with its plasma levels*. *Blood* 2007;109:2430-7.
11. Van Schooten CJ, Tjernberg P, Westein E, Terraube V, Castaman G, Mourik JA, et al. *Cysteine-mutations in von Willebrand factor associated with increased clearance*. *J Thromb Haemost* 2005;3:2228-37.
12. Lenting PJ, Van Schooten CJ, Denis CV. *Clearance mechanisms of von Willebrand factor and factor VIII*. *J Thromb Haemost* 2007;5:1353-60.
13. Lenting PJ, Westein E, Terraube V, Ribba AS, Huizinga EG, Meyer D, et al. *An experimental model to study the in vivo survival of Von Willebrand Factor: basic aspects and application to the Arg1205His mutation*. *J Biol Chem* 2004;279:12102-9.
14. Van Schooten CJ, Denis CV, Oortwijn BD, Van den Berg M,

De Groot PG, Lenting PJ. Liver and spleen macrophages contribute to the clearance of Von Willebrand factor and its complex with factor VIII. J Thromb Haemost 2007;5:O-W-017.

Ontvangen 30 november 2007, geaccepteerd 6 december 2007.

Correspondentieadres

Mw. dr. ir. C.J.M. van Schooten

Zeemanlaan 58
3572 ZE Utrecht
E-mailadres: carinavanschooten@hotmail.com

Belangenconflict: geen gemeld.

Financiële ondersteuning: geen gemeld.