

## LOS NIVELES DE RECEPTOR ENDOTELIAL DE LA PROTEÍNA C SOLUBLE (SEPCR) Y UNIDO A LA MEMBRANA DE LA CÉLULA ENDOTELIAL (MEPCR) ESTÁN ASOCIADOS A DOS HAPLOTIPOS DEL GEN DEL EPCR

P. Medina, V. Martínez-Sales, S. Navarro, A. Estellés, F. España

*Centro de Investigación. Hospital Universitario La Fe. Valencia*

**Introducción:** El receptor endotelial de la proteína C (EPCR) estimula la activación de la proteína C por el complejo trombina-trombomodulina. El gen del EPCR tiene 4 haplotipos (H). El H1 se asocia con niveles elevados de proteína C activada (APC) y reducción del riesgo trombótico y el H3 con mayores niveles de sEPCR y con un aumento de dicho riesgo.

**Objetivo:** El objetivo fue comprobar si estos haplotipos, caracterizados por los polimorfismos 4678G/C y 4600A/G respectivamente, son funcionales.

**Métodos:** Para ello cultivamos células endoteliales de cordón umbilical humano (HUVEC) y, tras tratarlas o no con trombina, medimos el nivel de EPCR liberado al medio de cultivo y en el extracto celular. También genotipamos las células para los dos polimorfismos del EPCR. El EPCR del extracto celular, mEPCR, da una estimación del nivel de expresión, mientras que el del liberado simula el sEPCR observado en plasma, en condiciones basales.

**Resultados:** De las 50 HUVEC analizadas, 14 tenían el genotipo 4600AA/4678GG (H2/H2), 18 eran AA/GC (H1/H2), 12 eran AA/CC (H1/H1), 2 eran AG/GG (H2/H3), 3 eran AG/GC (H1/H3) y 1 era GG/GG (H3/H3). El nivel de mEPCR aumentó al incrementarse el número de haplotipos H1 (alelo 4678C) presentes, tanto en células no estimuladas como en las estimuladas con trombina ( $p < 0,001$ ). Así, el nivel de mEPCR aumentó desde 4,6 ng/ml en los 14 HUVEC H2/H2 hasta 11 ng/ml para las 12 H1/H1. La estimulación con 1 U/ml de trombina redujo en todos los casos la concentración de mEPCR y aumentó la de sEPCR, siendo los cambios mayores en las células con H3. Estos resultados concuerdan con nuestra previa observación *in vivo* según la cual el nivel de APC circulante aumenta al aumentar el número de alelos 4678C (H1) presentes. Por otra parte, el nivel de sEPCR aumentó a medida que se incrementaba el número de haplotipos H3 (alelo 4600G) presentes, tanto en células no estimuladas como en las estimuladas con trombina. De esta forma, el cociente sEPCR/sEPCR+mEPCR fue de alrededor del 54% para los genotipos 4600AA, mientras que aumentó hasta el 65% y 88% para los 4600AG y GG., lo cual también concuerda con la observación *in vivo* de que los individuos portadores del alelo 4600G tenían niveles sEPCR más elevados que los no portadores.

**Conclusiones:** Estos datos demuestran que el haplotipo H3, muy posiblemente debido al alelo 4600G, es responsable de las elevadas concentraciones de sEPCR en plasma, y sugieren que el haplotipo H1 es el responsable del aumento de los niveles de APC circulante, al estar asociado con mayores niveles de EPCR unido a la membrana. Sin embargo, puesto que existen al menos 10 polimorfismos específicos del haplotipo H1, se requieren experimentos adicionales para comprobar cuál de estos polimorfismos asociados al H1 es el responsable del aumento de la expresión de EPCR y por tanto de los niveles de APC circulante.

*Ayudas del Ministerio de Sanidad y Consumo (FIS PI050844, PI050799 y Red RECAVA RD06/0014/0004), de la Fundación Mutua Madrileña y de la Conselleria de Sanitat (AP-031/07).*