

EL RECEPTOR ENDOTELIAL DE LA PROTEÍNA C INHIBE LA VÍA EXTRÍNSECA DE LA COAGULACIÓN: BASES BIOQUÍMICAS PARA EL DESARROLLO DE NUEVAS MOLÉCULAS ANTICOAGULANTES

J. López-Sagaseta^a, C. Puy^a, E. Molina^a, R. Montes^a, J. Hermida^{a,b}

^aLaboratorio de Trombosis y Hemostasia, División de Ciencias Cardiovasculares, Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Universidad de Navarra, Pamplona, España ^bDepartamento de Hematología, Clínica Universitaria/Facultad de Medicina, Universidad de Navarra, Pamplona, España.

Fundamentos: El receptor endotelial de la proteína C inhibe la vía extrínseca de la coagulación: bases bioquímicas para el desarrollo de nuevas moléculas anticoagulantes. El factor VIIa interacciona con el receptor endotelial de la proteína C (EPCR) a través de su dominio Gla. Planteamos como hipótesis que el EPCR al unirse al factor VIIa inhibe la vía extrínseca de la coagulación. La caracterización del sitio de unión del EPCR nos permitirá generar péptidos con acción igualmente anticoagulante.

Métodos: El tiempo de protrombina (TP) se determinó en una mezcla de diez plasmas normales con concentraciones crecientes de sEPCR o en presencia de péptidos análogos. Generamos 17 formas mutadas del sEPCR reemplazando por alanina los aminoácidos elegidos. El análisis de la unión del factor VIIa al EPCR soluble (sEPCR) y sus variantes se realizó mediante *Surface Plasmon Resonance* (SPR) capturando el sEPCR con un anticuerpo no inhibidor. La compatibilidad de la unión simultánea del factor VIIa al factor tisular soluble (sFT) y al sEPCR se estudió también por SPR capturando factor VIIa inhibido y biotinilado y comparando su unión al sEPCR en presencia o ausencia de una inyección previa de sFT a 500 nM.

Resultados: El sEPCR alarga el TP de una forma dosis dependiente. El anticuerpo inhibidor RCR-252 es capaz de revertir el efecto. El efecto anticoagulante del EPCR no se debe a que la unión del sEPCR al factor VIIa lo desplace del factor tisular. Las variantes L82A, E86A, R87A, F146A, Y154A, T157A y R158A tienen una capacidad de interaccionar con el factor VIIa prácticamente nula. La interacción es posible pero más débil en el caso de las variantes R81A, V83A, Q85A, Q150A, R156A, Q159A y E160A. Las variantes P22A y Q149A se unen al factor VIIa con total normalidad.

Conclusiones: El sEPCR inhibe la vía extrínseca de la coagulación, sin afectar al FT, al unirse al factor VIIa. El sitio de unión del sEPCR al factor VII está formado por dos grupos de residuos: el primero formado por Leu 82, Glu 86 y Arg87 y el segundo por Gln150, Tyr154 y Thr157. La Arg156 también tiene una implicación, aunque menor. Hemos sintetizado un grupo de péptidos, basado en la secuencia de aminoácidos del EPCR, que tiene un efecto inhibidor de la vía extrínseca de la coagulación.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado parcialmente por las ayudas PI020125, PI051178 y Red Temática de Investigación RECAVA RD/0014/0008 del Instituto de Salud Carlos III.