

EL EPCR INHIBE EL EFECTO DEL COMPLEJO FACTOR VIIA/FACTOR TISULAR SOBRE EL FACTOR X DE LA COAGULACIÓN

C. Puy¹, J. López-Sagasetta¹, E. Molina¹, N. Díez, J. Hermida^{1,2}, R. Montes¹

1Laboratorio de Trombosis y Hemostasia, División de Ciencias Cardiovasculares, Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Universidad de Navarra, Pamplona, España. 2Departamento de Hematología, Clínica Universitaria/Facultad de Medicina, Universidad de Navarra, Pamplona, España

Fundamentos: Nuestro grupo ha demostrado que el receptor endotelial de la proteína C (EPCR) es capaz de unirse al factor VII/VIIa con alta afinidad y que, además, la adición de EPCR soluble (sEPCR) al plasma es capaz de prolongar el tiempo de protrombina. Planteamos como hipótesis que el EPCR puede inhibir la actividad del factor VIIa sobre el factor X.

Métodos: En primer lugar estudiamos la actividad del factor VIIa sobre los sustratos cromogénicos S-2288 y S-2366 en presencia o ausencia de sEPCR y factor tisular (FT). A continuación analizamos el efecto del sEPCR sobre la activación del factor X por el complejo factor VIIa-FT empleando el sustrato cromogénico del factor Xa S-2765. Para valorar el papel que jugaban los fosfolípidos estudiamos la activación del factor X por el factor VIIa en presencia de FT soluble o sobre la línea celular H727 (expresa FT y expone fosfolípidos en su superficie) en presencia o ausencia de sEPCR. Finalmente, empleando la línea endotelial EA.hy926, estudiamos si el EPCR de membrana era capaz de reducir la activación del factor X por el complejo factor VIIa-FT.

Resultados: El sEPCR inhibe la activación del factor X por el complejo factor VIIa-FT con una constante de inhibición (K_i) de $36,3 \pm 5,4$ nM. Aunque el efecto del sEPCR era ligeramente menor en presencia de fosfolípidos ($K_i = 139,1 \pm 45,1$ nM), el EPCR presente en la superficie de las células endoteliales fue capaz de reducir la generación de factor Xa. El sEPCR incrementó entre dos y tres veces la actividad del factor VIIa sobre sus sustratos cromogénicos. Dicho efecto se debió a un incremento en la eficiencia catalítica (K_{cat}) y no a un cambio en la afinidad sobre sus sustratos (K_m), lo que sugiere que el factor VIIa experimenta un cambio conformacional tras su interacción con el sEPCR, que es el responsable del efecto inhibitorio sobre la generación de factor Xa.

Conclusión: El factor VIIa experimenta un cambio conformacional tras interaccionar con el EPCR, y lo hace peor activador del factor X. Por tanto, describimos un nuevo efecto anticoagulante del EPCR adicional a su capacidad de incrementar la activación de la proteína C.

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 y Beca de la Fundación Española de Trombosis y Hemostasia 2006