

## EL RECEPTOR ENDOTELIAL DE LA PROTEÍNA C ES ESENCIAL PARA LA ACTIVACIÓN DE LA PROTEÍNA C *IN VIVO*

E. Bonet, P. Medina, S. Navarro, L. Martos, A. Estellés, R.M. Bertina, F. España  
 Hospital Universitario La Fe. Valencia. Leiden University Medical Centre. Leiden (Holanda)

La completa  $\gamma$ -carboxilación del dominio Gla de la proteína C (PC) es esencial para su unión al receptor endotelial de la PC (EPCR), pero se cree que no lo es para su activación por el complejo trombina/trombomodulina. Por otra parte, el tratamiento anticoagulante oral (TAO) induce la formación de PC subcarboxilada.

**Objetivo:** Analizar el papel del EPCR en la activación de la PC *in vivo*.

**Métodos:** El nivel de PC activada (APC) circulante se cuantificó en plasma de pacientes con historia de trombosis que estaban en (N=20) y sin (N=10) TAO, y en sujetos sanos (N=10), midiendo los niveles del complejo formado por la APC con su principal inhibidor, el PCI (APC:PCI), en dos tubos de citrato: a uno de ellos se le añadió un inhibidor del APC circulante (por lo que en él se miden los complejos circulantes *in vivo*), y al otro heparina, para forzar a toda la APC circulante a formar complejos APC:PCI (por lo que en él se miden los complejos circulantes *in vivo* más los formados a partir de la APC circulante). El plasma de los dos tubos se incubó con tampón o con Cl2Ba. Este último forma citrato de bario, que adsorbe las moléculas de PC y APC normalmente carboxiladas, pero no las subcarboxiladas, que quedan en el plasma sobrenadante. Tras centrifugación, en el sobrenadante se midió con sendos ELISA los niveles de PC y APC:PCI, que reflejan las moléculas de APC ó PC subcarboxiladas.

**Resultados:** Los pacientes con TAO tenían entre un 16% y un 31% de la PC subcarboxilada (media,  $22,6\% \pm 3,9\%$ ), mientras que la gran mayoría de los pacientes sin TAO ( $0,4\% \pm 0,9\%$ ) y de los controles ( $0,5\% \pm 0,9\%$ ) no tenían PC subcarboxilada. La adsorción con citrato de bario eliminó casi todos los complejos APC:PCI del plasma, tanto en los pacientes tratados con TAO como en los no tratados y en los controles. Así, solamente dos de los 20 pacientes con TAO tenían un 10% y 7% de APC:PCI en el sobrenadante tras la adsorción con citrato de bario, mientras que en el resto de ellos y en todos los pacientes sin TAO y los controles no se detectaron complejos APC:PCI.

**Conclusiones:** La mayoría del APC y de los complejos APC:PCI circulantes en los pacientes con TAO está normalmente carboxilada, puesto que casi todos los complejos APC:PCI fueron adsorbidos por el citrato de bario. Ello sugiere que el dominio Gla es esencial para la activación de la PC y que las moléculas de PC subcarboxiladas no se activan *in vivo*. Puesto que el dominio Gla no es esencial para la activación de la PC por trombina/trombomodulina, nuestros resultados sugieren que el EPCR es esencial para la activación de la PC *in vivo*.

(FIS PS09/00610, CP09/00065, RECAVA RD06/0014/0004 y Fundación para la Investigación Hospital La Fe)