

## LA FOSFOLIPASA A2 DEL GRUPO V ES UN NUEVO FACTOR PROTROMBÓTICO QUE INHIBE LAS FUNCIONES ANTICOAGULANTES Y ANTIAPOPTÓTICAS DEL EPCR

C. Puy, J. López-Sagaseta, S.E. Velasco, M. Allende, J. Cerveró, R. Montes, J. Hermida

*Centro de Investigación Médica Aplicada de la Universidad de Navarra (CIMA). Área de Ciencias Cardiovasculares.*

*Laboratorio de Trombosis y Hemostasia. Pamplona*

**Fundamentos:** El receptor endotelial de la proteína C (EPCR) juega un papel crítico en las enfermedades cardiovasculares por su papel anticoagulante y citoprotector que ejerce a través de su unión a la proteína C/proteína C activada (PCA). El EPCR tiene un bolsillo hidrofóbico que alberga un fosfolípido no identificado, pero necesario para su funcionamiento. Se desconoce si la unión de diferentes tipos de lípidos juega un papel relevante en el funcionamiento del EPCR. De ser así, la fosfolipasa A2 del grupo V (sPLA2-V), de expresión endotelial y capaz de generar lípidos bioactivos, podría regular la actividad del EPCR.

**Objetivos:** Identificar el lípido presente en el EPCR y estudiar si puede sustituirse por lisofosfatidilcolina (lysoPC) y platelet activating factor (PAF), lípidos bioactivos generados por sPLA2-V. Comprobar si la función del EPCR se altera en presencia de lysoPC y PAF y, en tal caso, valorar el potencial antitrombótico de la inhibición de sPLA2-V.

**Métodos:** Se empleó la espectroscopía de masas para identificar al lípido unido al EPCR, unión que se analizó por espectroscopía de fluorescencia. La interacción EPCR-PCA se determinó mediante surface plasmon resonance. El efecto de sPLA2-V sobre la función del EPCR en células endoteliales de aorta humanas (HAEC) se analizó estudiando la generación de PCA, la apoptosis inducida por estaurosporina y la unión de PCA. Finalmente, se analizó el efecto antitrombótico de la inhibición de sPLA2-V en un modelo murino de trombosis carotídea inducida por láser.

**Resultados:** Se identificó la fosfatidilcolina (PCh) como el lípido presente en el bolsillo hidrofóbico del EPCR. Sin embargo, la lysoPC y el PAF podían desplazar a la PCh, lo cual dificultaba la unión de la PCA al EPCR (100% en ausencia vs.  $37 \pm 5\%$ ,  $p=0,037$ , y  $47 \pm 5\%$ ,  $p=0,037$ , en presencia de lysoPC y PAF respectivamente). La inhibición de sPLA2-V incrementó la unión de la PCA a las HAEC ( $p=0,037$ ) y, por consiguiente, la activación de la proteína C y el efecto antiapoptótico de la PCA; la adición de sPLA2-V indujo el efecto contrario. La inhibición de sPLA2-V alargó notablemente el tiempo de formación del trombo en los ratones sometidos al estímulo protrombótico: 100% vs.  $152 \pm 91\%$ ,  $p=0,019$ , en presencia y ausencia del inhibidor de sPLA2-V respectivamente.

**Conclusiones:** El EPCR aloja PCh en su bolsillo hidrofóbico. La lysoPC y el PAF, al desplazar a la PCh, impiden la unión de la proteína C al EPCR. sPLA2-V, enzima responsable de la producción de estos lípidos, emerge como una diana de potencial terapéutico para pacientes con enfermedades trombóticas e inflamatorias.