

HIPERREACTIVIDAD DE LA GLICOFORMA β DE ANTITROMBINA CON METILGLIOXAL: IMPLICACIONES FUNCIONALES Y POSIBLE IMPACTO EN EL RIESGO TROMBÓTICO

M.E. de la Morena-Barrio, I. Martínez-Martínez, J. Navarro-Fernández, A. Miñano, J.A. Guerrero, S. Águila, N. Bohdan, V. Vicente, J. Corral

Centro Regional de Hemodonación. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Universidad de Murcia

La N-glicosilación es una modificación postraducciona crucial en proteínas extracelulares, pues interviene en el correcto tráfico intracelular, plegamiento proteico, funcionalidad y protección extracelular. La antitrombina (AT) tiene 4 sitios de N-glicosilación, uno de ellos (N135) con secuencia consenso menos eficaz (N-X-S), que explica la existencia en plasma de 2 glicoformas: α -AT (90%) con 4 glicanos, y β -AT (10%) sin glicosilación en N135. Sin embargo, observamos que ambas glicoformas se secretan en igual cantidad de 2 líneas celulares (HepG2 con expresión constitutiva y HEK-EBNA transfectada con cDNA de AT). El mayor aclaramiento de la β -AT en plasma se explica en parte por su mayor afinidad por heparán sulfatos. Esta característica sugiere que la β -AT es la glicoforma con mayor capacidad anticoagulante, especialmente en el endotelio vascular. Planteamos que la ausencia de glicano en N135 podría facilitar la interacción de β -AT, además de con heparina, con otras sustancias reactivas que pudieran tener efectos deletéreos y contribuir a la menor cantidad de esta forma en plasma. Para confirmarlo, incubamos con metilglioxal (MG), un agente del metabolismo glucídico, α y β AT purificadas de plasma. El MG, por glicación no enzimática de residuos del sitio de unión a heparina, reducía la afinidad por heparina y la actividad de la α -AT. En el caso de la β -AT, la pérdida de actividad se vio acelerada con MG. Así, tras 15 min con MG 1.8 mM, la β -AT pierde el 30% de su actividad, frente al 2% de la α -AT. Mediante inmunoelectroforesis bidimensional confirmamos que la β -AT glicada seguía uniendo heparina. Esta unión sin embargo, no provocaba cambios en la fluorescencia intrínseca de la β -AT glicada, indicando que la interacción con heparina no la activa, lo que justifica la ausencia de actividad inhibitoria.

Conclusiones: La ausencia de glicosilación en N135 permite la glicación no enzimática diferencial de uno o varios residuos de AT implicados en la activación inducida por heparina. Además, demostramos que la β -AT es especialmente sensible al MG y posiblemente a otros agentes altamente reactivos, perdiendo rápidamente su actividad anticoagulante. Por ello, situaciones con elevados niveles de estas sustancias, como la diabetes, pueden afectar específicamente a esta glicoforma, reduciendo su capacidad anticoagulante. La menor presencia en plasma de β -AT y la ausencia de métodos específicos de cuantificación pueden hacer que estas alteraciones pasen desapercibidas. La pérdida de actividad de β -AT, por su papel hemostático, podría contribuir al riesgo trombótico presente en estas situaciones.

(SAF2009-08993, 04515/GERM/06, AP59372009, RECAVA RD06/0014/0039)