

EFFECTO CONFORMACIONAL DEL ESTRÉS OXIDATIVO GENERADO EN LA CIRROSIS BILIAR SOBRE SERPINAS HEPÁTICAS

D. Hernández-Espinosa^a, M.C. Ortiz^b, A. Alcaraz^b, A. Miñano^a, R. Mota^c, J. García-Estañ^b, V. Vicente^a
J. Corral^a

^aCentro Regional de Hemodonación. ^bDepartamento de Fisiología, Facultad de Medicina.

^cDepartamento de Cirugía Experimental, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca.
Universidad de Murcia.

La cirrosis biliar, como todas las cirrosis, se asocia a fenómenos hemorrágicos, y trombóticos en menor medida. Se ha demostrado que este tipo de cirrosis se asocia con niveles exacerbados de especies reactivas de oxígeno (ROS), con alta capacidad oxidante que pueden alterar el plegamiento proteico. Nuestro grupo demostró *in vitro* las consecuencias conformacionales y funcionales de la oxidación de la antitrombina (AT).

Objetivo: Determinar el efecto de la cirrosis biliar, los niveles de ROS, y la acción protectora de antioxidantes (vitamina E y L-NAME) sobre serpinas hemostáticas: antitrombina (AT) y #a-1 antitripsina (#a1-AT).

Métodos: Generamos una cirrosis biliar en ratas Sprague Dawley mediante la ligación del conducto biliar durante 7, 14 ó 21 días. Este modelo también se realizó en ratas previamente tratadas con vitamina E y L-NAME. Empleamos dos controles: ratas en las que se expuso el conducto biliar sin ligamiento (sham) y no intervenidas. Tras su sacrificio se obtuvieron muestras de plasma y de hígado. En todos los casos, determinamos los niveles de ROS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico), los niveles, actividad y características conformacionales de la AT. Evaluamos las características intracelulares de AT, #a1-AT, y proteínas nitrotirosiladas, mediante inmunocitoquímica y westernblot.

Resultados: La cirrosis biliar provoca un aumento tiempo-dependiente de niveles de ROS y de proteínas nitrosiladas tanto circulantes como en hígado. Esta situación se asocia con una significativa agregación y retención intracelular de AT que explica la deficiencia circulante de esta serpina. Además de una deficiencia tipo I, la cirrosis biliar se asocia con un ligero aumento de la forma latente de AT en plasma. El tratamiento previo con antioxidantes, especialmente con L-NAME reduce los niveles de ROS, lo que se traduce en una reducción de los agregados intracelulares, una menor deficiencia circulante y menores niveles de AT latente en plasma. Los resultados fueron similares para la a1-AT.

Conclusiones: El estrés oxidativo causado por la cirrosis biliar sólo causa una pequeña modificación de la AT circulante, probablemente porque los niveles de ROS no sean suficientes para afectar a la proteína madura. Sin embargo, estos niveles parecen suficientes para tener importantes consecuencias conformacionales sobre serpinas hepáticas, induciendo la formación de agregados intracelulares que son retenidos. Estos acúmulos intracelulares pueden ser tóxicos y contribuir al desarrollo de la cirrosis. Además, explican la deficiencia tipo I circulante que contribuye a generar un estado protrombótico. El empleo de agentes antioxidantes como el L-NAME reducen los efectos nocivos y por tanto pueden ser potenciales agentes terapéuticos en estas situaciones.