

LA HEPARINA PROTEGE LA CONFORMACIÓN NATIVA DE LA ANTITROMBINA, EVITANDO LOS CAMBIOS CONFORMACIONALES Y FUNCIONALES INDUCIDOS POR AGENTES DESNATURALIZANTES: NUEVO PAPEL ANTITROMBÓTICO

J. Corral, A. Ordóñez, A. Miñano, D. Hernández-Espinosa, R. González-Conejero y V. Vicente

Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia

Introducción: Durante varias décadas se han utilizado diferentes formas de heparina en el tratamiento anticoagulante por su capacidad para potenciar la actividad de la antitrombina (AT). Ciertamente, la unión de la heparina a la AT aumenta casi 1000 veces la capacidad anticoagulante de esta serpina. En este trabajo mostramos una nueva función de las heparinas que contribuye a su potente efecto anticoagulante.

Métodos: AT plasmática y purificada fueron tratadas *in vitro* con tres agentes desnaturizantes que, de acuerdo con resultados de nuestro grupo afectan la estructura y función de la AT: calor, oxidación y glicación no enzimática en presencia y ausencia de diferentes dosis de heparina. Empleamos dos tipos de heparinas: no fraccionada y de bajo peso molecular (Bemiparina). Determinamos los efectos conformacionales, bioquímicos y funcionales.

Resultados: Las tres condiciones evaluadas provocan una pérdida de actividad anti-FXa de la AT. El calor y la oxidación, mediante transformación a forma latente o polimérica. La glicación no enzimática mediante afectación del sitio de unión a heparina. Sin embargo, en todos los casos, las dos heparinas empleadas en el estudio protegen significativamente y de forma similar la actividad anticoagulante de la AT tanto plasmática como purificada. La protección es completa para la oxidación, y parcial para el calor y la glicación no enzimática. Desde el punto de vista estructural, la unión de heparina evita la glicación no enzimática de los residuos lisina del dominio de unión a heparina. Sin embargo, el efecto protector ante la oxidación es diferente, ya que la unión de heparina no evita la oxidación de la molécula, pero impide el cambio conformacional asociado a esta modificación post-traducciona. El efecto de las heparinas ante el calor es similar.

Conclusiones: Hemos identificado un nuevo papel de la heparina que puede contribuir a su potencial anticoagulante. La unión de la heparina a la AT impide estéricamente la modificación química de algunos residuos cruciales del dominio de unión a heparina. Pero además, el ligero cambio conformacional que induce la heparina (extensión de la hélice D), provoca el cierre del shutter. Esta modificación, además de expulsar completamente el centro reactivo de la serpina, la protege ante estímulos desnaturizantes que provocan la apertura de las láminas b-A, y por tanto, dificulta la transformación de la forma nativa con 5 láminas a formas con 6 láminas. En definitiva, la heparina impide la transformación de la AT a polímeros o forma latente. Este efecto es dependiente exclusivamente de la unión del pentasacárido a la serpina, ya que el efecto es similar para heparina no fraccionada y de muy bajo peso molecular.

Trabajo realizado con una ayuda a la investigación de Laboratorios Rovi S.A.