

## LA HIPERTERMIA INDUCE CAMBIOS CONFORMACIONALES EN LA ANTITROMBINA: JUSTIFICACIÓN DEL ESTADO PROTROMBÓTICO ASOCIADO

D. Hernández-Espinosa<sup>a</sup>, R. Mota<sup>b</sup>, A. Miñano<sup>a</sup>, A. Ordóñez<sup>a</sup>, J. Yélamos<sup>b</sup>, V. Vicente<sup>a</sup> J. Corral<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro Regional de Hemodonación, <sup>b</sup>Departamento de Bioquímica, Biología Molecular B e Inmunología; Cirugía Experimental. Universidad de Murcia.

La hipotermia produce un estado hipercoagulable cuya manifestación más severa es la coagulación intravascular que se observa en el golpe de calor. La base molecular de la inducción de esa situación es desconocida. La antitrombina (AT) es una serpina anticoagulante con alta sensibilidad estructural. Recientemente hemos comprobado *in vitro* que temperaturas > 60°C provocan polimerización de la AT, mientras que temperaturas mas moderadas (37-42°C) inducen la transformación de la forma nativa a su forma latente. Estos cambios causan la pérdida de actividad anticoagulante. Es razonable esperar que estados con hipotermia afecten la conformación y función de la AT, y condicionen mediante este mecanismo la generación de un estado hipercoagulante.

**Objetivo:** Determinar el efecto de tres situaciones con posible hipotermia (sepsis, estados febriles y golpe de calor) sobre la AT circulante e intracelular.

**Métodos:** Empleamos modelos murinos (ratones C57BL6/J). 1) Sepsis con dosis letales de LPS (40 mg/kg). 2) Estado febril sostenido inducido con inoculación subcutánea de aceite de trementina. 3) Golpe de calor introduciendo a los ratones en estufa a 42°C (letal durante 90 minutos, o subletal durante 45 minutos). Determinamos los niveles, actividad y características conformacionales de la AT, y evaluamos las características intracelulares de AT y de  $\alpha_1$ -antitripsina ( $\alpha_1$ -AT), mediante inmunocitoquímica y westernblot.

**Resultados:** Mientras que en el modelo de sepsis en ratón se observa hipotermia, en los otros dos modelos sí se produjo una significativa hipotermia (39° en el modelo febril, y hasta 40° en el golpe de calor). En ambos modelos de hipotermia constatamos un ligero aumento de la forma latente circulante. Más potente fue el efecto intracelular de la hipotermia, ya que induce una retención de agregados de AT (y otras serpinas hepáticas como la  $\alpha_1$ -AT), dependiente de la intensidad (temperatura obtenida) y tiempo, que condiciona una deficiencia de AT tipo I en plasma.

**Conclusiones:** Demostramos por primera vez que la hipotermia tiene consecuencias conformacionales en la AT *in vivo*. El estímulo térmico es moderado, tanto en intensidad como en tiempo, afectando ligeramente a la proteína circulante, incrementando de forma muy sutil la proporción de forma latente de AT. Sin embargo, el aumento de temperatura corporal tiene más trascendencia a nivel intracelular, ya que provoca una agregación de la AT y otras moléculas conformacionalmente sensibles, pese a la respuesta protectora de la célula con caperuzas de estrés térmico. Esta agregación conduce a su retención intracelular y por tanto a una menor secreción, lo que explica la deficiencia tipo I. Estos efectos pueden contribuir significativamente al estado procoagulante observado en situaciones con hipotermia, particularmente en el golpe de calor.