

IMPORTANTE INHIBICIÓN DIRECTA DE TROMBINA, MEDIADA POR UN ARABINANO DE ALGAS VERDES

Fernández PV¹, Ciancia M^{1,2}, Estevez J³, Pol-Fachin L⁴, Verli H⁴, Caramelo J⁵, Quintana I⁶

¹Cát. Química de Biomoléculas-Dpto. Biología Aplicada y Alimentos –FAUBA (BsAs), ² CIHIDECAR, CONICET-Dpto. Qca. Orgánica-FCEN-UBA (BsAs). ³Dpto. de Fisiología, Biología Molecular y Celular-FCEN-UBA- (Bs As). ⁴Programa de Pos-Graduação em Biologia Celular e Molecular-Centro de Biotecnologia-Faculdade de Farmácia-Univ. Federal do Rio Grande do Sul-Brasil. ⁵IIBBA, CONICET- (Bs As). ⁶Lab.de Hemostasia y Trombosis-Dpto. de Química Biológica-FCEN-UBA- Bs As-Argentina. Correo electrónico: vfernand@agro.uba.ar

Investigaciones previas en polisacáridos de *Codium vermilara* nos permitieron identificar a un arabinano (Ab) persulfatado, con importante acción inhibitoria directa sobre la trombina (T). El objetivo de este trabajo fue profundizar los conocimientos sobre este mecanismo de acción anticoagulante. **METODOLOGÍA:** Se determinaron el Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT) y el Tiempo de Trombina (TT) en plasma humano citratado incubado con soluciones de arabinanos (5µg/ml), con diferentes grados de sulfatación (Ab1>Ab2>Ab3). Se realizaron ensayos amidolíticos, en ausencia de inhibidores fisiológicos, con trombina humana (TH) y bovina (TB). La interacción entre T y Ab se evaluó por simulación dinámica molecular (SDM), dicroísmo circular (DC) y espectroscopía de fluorescencia (EF). **RESULTADOS Y DISCUSIÓN:** Ab1 es el arabinano más activo ($APTT_{ensayo}/APTT_{control} = 2,6$; $TT_{ensayo}/TT_{control} >10$). Teniendo en cuenta que Ab2 tiene menor grado de sulfatación y que está sulfatado principalmente en C-4, la menor actividad de este polisacárido muestra la importancia de la cantidad de grupos sulfato y posición de los mismos en el esqueleto hidrocarbonado. Además, la acción inhibitoria de Ab1 resultó mayor sobre TB que sobre TH. **SDM:** Cuando Ab1 se une al exosito 2 de la trombina induce importante cambio conformacional en el sitio catalítico de la enzima. El grupo sulfato en C-2 parece interactuar más fuertemente con T, lo que confirma los resultados experimentales. La energía de interacción entre TB-Ab1 es significativamente mayor (-1017 ± 103 kJ/mol) que entre TH-Ab1 (-756 ± 95 kJ/mol). **DC** (en el UV lejano): Ab1 induce un cambio conformacional en la trombina. **EF:** Existe una unión cooperativa entre T y Ab1, con $K_d = 5,5 \mu M$. **CONCLUSIÓN:** Ab1 mostró importante inhibición directa de T. Este efecto depende del grado de sulfatación del polisacárido y la posición de sustitución de los grupos sulfato. Ab1 induce mayor alteración en la tríada catalítica de la TB que en la de TH, explicando la diferencia en su efecto anticoagulante. Ab1 modula la actividad de T a través de la interacción con el exosito 2 de la enzima.

Apellido y Nombre del Primer Autor: FERNÁNDEZ, PAULA VIRGINIA

Dirección: Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires Ciudad: Buenos Aires (Argentina)

Teléfono: +54 11 4524 8088 Fax: +54 11 4524 8088

E - mail (requisito indispensable): vfernand@agro.uba.ar

Nombre archivo documento del resumen (apellido) FERNÁNDEZ

1. Apellido del primer autor
2. Si el mismo autor presenta más de un trabajo adicionar número correlativo por cada uno.