

INSTITUTO DE HEMATOLOGIA E INMUNOLOGIA

Antitrombina III. Algunas consideraciones generales

Lic. Alina Díaz Concepción

Díaz Concepción, A.: *Antitrombina III. Algunas consideraciones generales.*

Se plantea que la ATIII es el principal inhibidor fisiológico de la trombina en el plasma, además Inhibe a los factores Xa, IXa, XIa, XIIa, a la plasmina y la calicreína plasmática. Se informa que la ATIII es una glicoproteína de peso molecular entre 58 000 y 67 000 daltons, compuesta por una sola cadena polipeptídica. Se indica que la capacidad inhibitoria de la ATIII es acelerada en presencia de heparina. Se plantea que existen varias hipótesis acerca del mecanismo de reacción sustentadas por hechos experimentales. Se señala que hay una correlación entre los niveles reducidos de ATIII y la predisposición a manifestaciones trombóticas, lo que es una evidencia de la importancia de su función regulatoria en el mecanismo hemostático.

INTRODUCCION

Desde principios de siglo se observó que en condiciones fisiológicas en el plasma debe estar presente un inactivador específico de la trombina, o sea, una antitrombina; posteriormente se demostró que la heparina era un potente anticoagulante y que sólo era efectiva en presencia de un componente plasmático denominado cofactor heparina. En años sucesivos, el término ATM se usó para describir este inhibidor de la trombina en el plasma y el término ATIII para aquella sustancia inactiva a la trombina independientemente de la presencia de heparina; ya actualmente se conoce que la ATII y la ATIII son una misma proteína.

La ATIII es capaz de inhibir un gran número de enzimas de los sistemas de la coagulación y fibrinolítico, tales como la trombina, los factores Xa, IXa, XIa, XIIa, así como la plasmina y la calicreína plasmática. La interacción de la heparina y la ATIII con las serie proteasas de los sistemas de la coagulación y fibrinolítica, representa un proceso altamente específico para la inactivación de las enzimas generadas en el mecanismo hemostático. La velocidad y selectividad de este mecanismo inhibitorio son de gran importancia en la modulación de este proceso.¹

CARACTERISTICAS MOLECULARES

La ATIII es una glicoproteína cuyo peso molecular se encuentra entre 58 000 y 67 000, según lo informado por varios autores utilizando diferentes técnicas.²⁴

En 1978, *Danisheisky y colaboradores*¹⁵ estudiaron la composición de carbohidratos de la ATIII y encontraron que contenía N-acetil-glucosamina, manosa, galactosa y ácido siálico en una relación molar aproximada de 1:1:0,6:1. Al liberar el ácido siálico con una enzima específica se encontró que la ATIII retenía la capacidad de inhibir la trombina y unirse a la heparina. Además, la ATIII aislada por métodos diferentes estaba asociada a un glicolípido (a-glucosilceramida) en una relación de 4 unidades glicolípido por cada cadena polipeptídica. Se postuló la posibilidad de que en el sistema circulatorio la ATIII se encuentra asociada a este glicolípido, que además de su función anticoagulante la ATIII sea un transportador de glucosilceramida y que esto sea importante en el mantenimiento de la estructura de la ATIII.

Posteriormente *Koide*⁶ purificó ATIII de diferentes especies: humana, porcina, de conejo y de rata, mediante un método que incluye una cromatografía de afinidad utilizando agarosa-heparina. Este autor hizo un estudio comparativo de la ATIII de las especies señaladas en cuanto a su peso molecular, composición de aminoácidos, aminoácido terminal, contenido de carbohidratos y otros aspectos (tabla).

Tabla. Estudio comparativo de antitrombina III en diferentes especies

Características de la ATIII	Especie		
	Humana	Porcina Conejo	Rata
Contenido de carbohidratos	17%	16% 14%	15%
Peso molecular (por electroforesis en poliacrilamida-SDS)	59 000	58 000 63 000	63 000
N-terminal	His	His His	Asn
K _d (T-ATIII)	1.2 x 10 ⁻¹⁰ M	5 x 10 ⁻¹⁰ M 1,4 x 10 ⁻⁷ M	2,8 x 10 ⁻⁸ M

La ATIII humana, porcina y de conejo demostró ser una glicoproteína compuesta por una cadena polipeptídica y que contiene hexosa, glucosamina y ácido siálico, además los estudios inmunológicos revelaron una identidad inmunológica parcial entre la ATIII humana y porcina.

Este mismo autor determinó que la ATIII humana tenía como extremo C-terminal el aminoácido Lys y la porcina Cys. En ambas proteínas la secuencia más cercana al extremo C-terminal era similar. Al comparar esta secuencia con la secuencia cercana al extremo C-terminal de la «i-antitripsina se observó que eran homologas; basándose en esta observación y en que los

inhibidores tienen algunas especificidades de inhibición en común, se sugirió la posibilidad de que la secuencia homóloga se encuentre localizada alrededor de los sitios reactivos de dichos inhibidores y que los mismos estén en la región cercana al extremo C-terminal.⁷

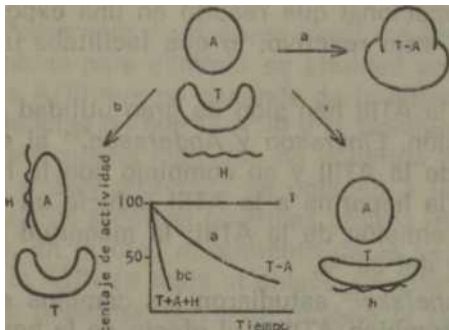
ALGUNAS CARACTERISTICAS DE LA REACCION

*Rosenberg y Damus*² indicaron la formación del complejo proteasa-inhibidor en una relación estequiométrica 1:1; sin embargo, *Blinder*⁸ propuso otra relación en la que utilizó componentes del suero normal, la cual consistía en moléculas de ATIII y 2 moléculas de trombina o una molécula de ATIII y 4 moléculas de trombina.

La heparina actúa como un catalizador en el proceso. La velocidad de inactivación de la trombina es lenta en ausencia de la heparina. Se considera que la velocidad de neutralización de la enzima se incrementa hasta un máximo de 2 300 veces al aumentar la concentración de heparina hasta que el inhibidor se satura con la heparina. Un incremento posterior en la concentración de heparina resulta en una reducción de la velocidad de neutralización de la enzima, lo que parece deberse a la formación de complejos heparina-trombina.⁹ La cantidad de trombina inactivada depende de la cantidad inicial de trombina y no se altera considerablemente por la acción de la heparina.

La interacción de la trombina con la ATIII requiere la presencia de la serina del centro activo de la enzima y un residuo arginina del inhibidor, ya que una modificación química de estos residuos inhibe la formación del complejo en ausencia y presencia de heparina, por lo que se sugiere que ocurre una interacción entre el centro activo de la trombina y un residuo arginina situado en el centro reactivo del inhibidor;² *Owen*¹⁰ informó que en la inhibición de la trombina por la ATIII se forma un éster carboxílico precedido por la ruptura de un enlace peptídico en el centro reactivo de la ATIII.

En este sistema de 3 componentes, heparina, antitrombina y proteasa, generalmente se plantea 2 hipótesis para explicar el mecanismo de la reacción; una de ellas es que la heparina se une inicialmente a la antitrombina; la otra hipótesis le da una importancia primaria a la interacción trombina-heparina, producto de la cual se plantea que ocurre un cambio conformacional en la molécula de trombina que la hace más susceptible a la acción ATIII (figura 1).



Fuente: Hematología 14: 339, 1981.

Figura 1. Hipótesis para la acción de la heparina. La reacción a representa la interacción lenta entre la trombina (T) y la antitrombina (T-A). Las reacciones b y c representan las hipótesis planteadas para el modo de acción de la heparina.

Ambas hipótesis han sido sustentadas por diferentes hechos experimentales. *Machovich*,¹¹ en 1975, sugirió la posibilidad de que la heparina primeramente se enlaza a la trombina y planteó 2 mecanismos de acción alternativos para la acción de la heparina en la reacción ATIII/trombina:

1. La heparina induce un cambio conformacional en la trombina y facilita la formación del complejo entre la trombina y la ATIII.
2. La heparina enlaza la trombina con la ATIII. Como el complejo puede formarse sin heparina se cuestiona si una o varias moléculas de heparina se necesitan para acelerar la formación del complejo.

*Griffith*⁴ planteó que el efecto acelerador de la heparina en la reacción parece correlacionarse con el enlace de la heparina a la trombina y sugirió que ésta es la primera etapa en el mecanismo de acción, lo cual concuerda con lo planteado anteriormente. Este mismo autor realizó un experimento en el que modificó covalentemente la trombina con fosfato de piridoxal para estudiar la interacción de la heparina y la trombina, demostró que el fosfato de piridoxal se unía a 2 sitios diferentes de la molécula de trombina y planteó que el segundo sitio se encontraba adyacente al sitio de unión de la heparina a la trombina ya que la heparina era capaz de bloquear la modificación de este sitio con el fosfato de piridoxal, pero al hacer reaccionar la trombina previamente modificada con la heparina se observó que en estas condiciones la heparina podía unirse a la trombina, aunque se señaló que la modificación con el fosfato de piridoxal disminuía la sensibilidad a la heparina en la reacción ATIII/trombina.¹²

Smith y Sunboom,¹³ al estudiar el efecto de la heparina en la reacción de la ATIII con algunas proteasas como la trombina, la plasmina y la tripsina, concluyeron que el mecanismo del efecto catalítico de la heparina en la reacción ATIII/trombina es diferente del mecanismo de la reacción ATIII/plasmina, en la cual la aceleración de la reacción sólo ocurre una concentración de heparina de 10 *v/ml*, y señalaron que el mecanismo de la reacción ATIII/trombina procede por la vía del complejo heparina-trombina, mientras que la inactivación de la plasmina procede por la vía del complejo heparina-ATIII.

Sin embargo, existen evidencias en favor de una interacción inicial heparina-ATIII. *fiosenberg y Damus*² postularon que la heparina se unía al inhibidor y causaba un cambio conformacional que resultó en una exposición más favorable de la arginina del sitio reactivo, lo que facilitaba una interacción rápida con la trombina.

Las características espectrales de la ATIII han sido de gran utilidad en el estudio del mecanismo de la reacción. *Einarsson y Andersson*,⁴ al estudiar las propiedades fluorescentes de la ATIII y su complejo con la heparina, encontraron que el enlace de la heparina a la ATIII inducía un incremento marcado en el espectro de emisión de la ATIII; la magnitud de este incremento fue aproximadamente del 30 %.

Posteriormente, *Villanueva y Danishefsky*¹⁵ estudiaron los cambios espectrales que ocurren en la reacción trombina/ATIII y el efecto de la heparina en esta interacción mediante

espectroscopia, dicroísmo circular y dispersión óptica rotatoria; estos estudios indicaron que el complejo trombina-ATIII formado en presencia de heparina, difiere en su conformación del formado en su ausencia; en ambos casos hay un cambio conformacional en la molécula de ATIII como se demuestra por el incremento en la exposición de los grupos cromóforos. Estos autores plantearon que el efecto de la heparina en la conformación del complejo puede deberse a su enlace a la ATIII, a la trombina o a ambos componentes; sin embargo, ya que el enlace de la heparina a la ATIII estaba acompañado de perturbaciones espectrales de los residuos triptófanos en la molécula de ATIII mientras la adición de la heparina a la trombina no tenía estos efectos, era probable que la acción de la heparina en la formación del complejo se debía a su enlace con la ATIII aunque esto no excluía la posibilidad de otra interacción con la trombina.

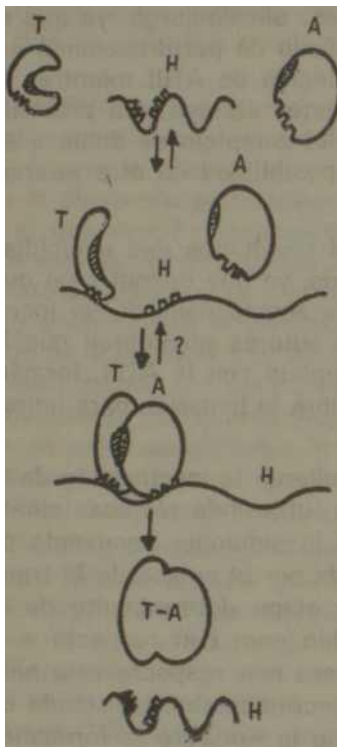
En 1979, *Jordán y colaboradores*⁹ obtuvieron resultados que coincidían con lo planteado anteriormente por otros autores, ya que encontraron que la formación del complejo ATIII/heparina estaba acompañada de un incremento de la fluorescencia del inhibidor; estos autores plantearon que la heparina es rápidamente desplazada de su complejo con la ATIII, formándose el complejo enzima-inhibidor y quedando libre la heparina para unirse a otras moléculas de ATIII.

Recientemente, *Pletcher y Nelsestuen*¹⁶ estudiaron la inactivación de la trombina por la ATIII en presencia de heparina, utilizando técnicas cinéticas; los resultados obtenidos concuerdan con la siguiente secuencia de reacción, la heparina se enlaza a la ATIII seguida por el enlace de la trombina; bajo las condiciones experimentales, la etapa determinante de la velocidad de la reacción demostró ser de orden cero con respecto a la trombina y variaba de primer orden a orden cero con respecto a la antitrombina, cuando la concentración de ésta se incrementaba. Utilizando un modelo cinético de saturación se determinó que la K_m para la formación del complejo heparina-ATIII era de 12×10^{-8} M.

Una posibilidad interesante acerca de la interacción ATIII, trombina, heparina, es el enlace simultáneo de ambas proteínas a la molécula de mucopolisacárido; esta posibilidad ha sido estudiada por diferentes autores.

*Pomerantz y colaboradores*¹⁷ modificaron químicamente a la ATIII y a la trombina para eliminar su afinidad por la heparina sin afectar la actividad de la ATIII que no depende de la heparina; con este sistema se obtuvieron evidencias de que la ATIII y la trombina se enlazan a sitios independientes de una misma molécula de heparina y la catálisis de la reacción requiere que ambas proteínas se enlacen a la heparina. Posteriormente, *Griffith*¹⁸ utilizando técnicas cinéticas obtuvo resultados que concuerdan con un modelo, en el cual el aumento de la velocidad de inhibición de la trombina por la ATIII se debe al enlace simultáneo de ambas proteínas a la molécula de heparina, con este modelo la reacción es de primer orden con respecto a la concentración del complejo ternario con una constante aparente de velocidad de $800 \text{ ml/n}^{\circ}\text{K}$

*Machovich y Horvart*⁹ plantearon un mecanismo para la reacción siguiendo la hipótesis de un enlace primario de la trombina y la heparina, en el que se incluye a la formación de un complejo ternario entre las especies participantes en la reacción (figura 2).



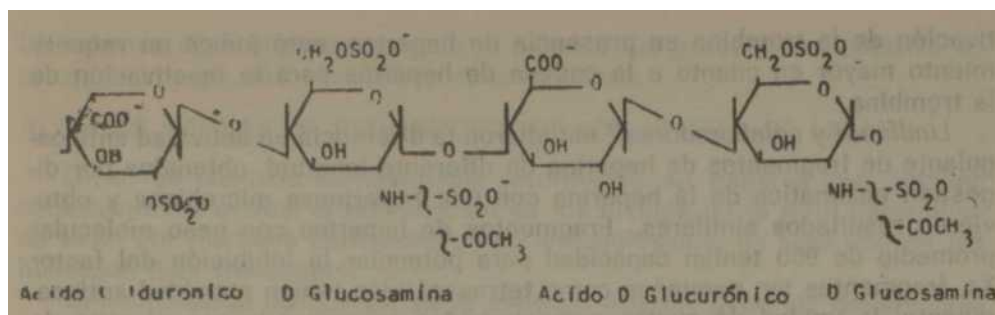
Fuente: Hematología 14: 33S, 1981.

Figura 2. Mecanismo de acción de la heparina en la reacción entre la trombina y la ATIII. La trombina (T) se une a un sitio de enlace no específico en la heparina (A A A), lo que resulta en un cambio conformacional en ambas moléculas, esta reacción torna al sitio activo de la enzima más susceptible al inhibidor. La ATIII se enlaza a un sitio específico de enlace en la molécula de heparina (O DDJ y reacciona con la trombina formándose un complejo ternario. Posteriormente el complejo trombina/ATIII (T-A) es liberado. En el complejo la enzima es inactivada. La heparina liberada puede volver a reaccionar con nuevas moléculas de trombina.

Se plantea que la trombina se enlaza a un sitio no específico de la molécula de heparina, lo que resulta un cambio conformacional tanto de la trombina como de la heparina. Esto hace que el centro activo de la enzima sea más susceptible a la acción del inhibidor. La ATIII se enlaza a un sitio específico de la molécula de heparina y se forma un complejo ternario; posteriormente el complejo trombina-ATIII es liberado y la heparina puede reaccionar con una nueva molécula de trombina actuando como catalizador.

Otros investigadores han centrado su atención en la relación existente entre la estructura de la heparina y su actividad anticoagulante.

La heparina es un mucopolisacárido que tiene la siguiente estructura (figura 3).



Fuente: J Biol Chem 257: 3401, 1982.

Figura 3. Representación esquemática de la estructura de la heparina.

Las características estructurales esenciales de los compuestos de la familia de la heparina son:

1. El enlace intersacárido es exclusivamente 1 → 14.
2. El ácido urónico incluye los ácidos D-glucurónico y L-idurónico.
3. El ácido idurónico normalmente está sulfatado en posición 2 y el ácido glucurónico no se encuentra sulfatado.
4. La glucosamina es exclusivamente D-glucosamina.
5. La glucosamina se encuentra sulfatada en posición 6 y normalmente en la posición N-2, aunque en algunas moléculas de heparina una pequeña porción de grupos amino está acetilada.

La heparina no es una entidad química homogénea, sino es una mezcla de moléculas con pesos moleculares que varían desde 5 000 hasta 40 000. *Rosenberg y Larr*²⁰ encontraron que existía una especie de heparina con mayor actividad específica y responsable fundamental de la actividad anticoagulante y otra con una menor actividad específica. Estos autores relacionaron la actividad anticoagulante de la heparina con la presencia de una secuencia específica de cuatro monosacáridos en su molécula, esta secuencia es: ácido L-idurónico N-acetil D-glucosamina 6 sulfato → ácido D-glucurónico → N sulfato D-glucosamina 6 sulfato; se encontró que la secuencia estaba en menor proporción en el mucopolisacárido de menor actividad y se sugirió que éste es el sitio crítico responsable de la actividad anticoagulante.

*Thunberg y colaboradores*²¹ investigaron la inactivación de la trombina y el factor Xa en presencia de fragmentos de heparina de diferente peso molecular y con alta afinidad por la ATIII; además encontraron que la capacidad de la heparina de potenciar la inactivación de cualesquiera de los dos factores por la ATIII, se incrementaba al aumentar la longitud de la cadena del mucopolisacárido, esto podía ser explicado, según dichos autores, por la hipótesis de que la máxima inactivación de las serín proteasas requiere del enlace de ambas moléculas de proteína a la misma cadena de heparina. Por debajo de una longitud mínima la cadena de heparina sólo podía acomodar una molécula de proteína, los fragmentos más pequeños tienen mayor capacidad para la inactivación del factor Xa que para la inac-

tivación de la trombina en presencia de heparina, esto indica un requerimiento mayor en cuanto a la cadena de heparina para la inactivación de la trombina.

*Lindhardt y colaboradores*²² estudiaron la diferencia en actividad anticoagulante de fragmentos de heparina de diferente longitud, obtenidos por digestión enzimática de la heparina con una heparinasa microbiana y obtuvieron resultados similares. Fragmentos de heparina con peso molecular promedio de 900 tenían capacidad para potenciar la inhibición del factor Xa, fragmentos tan pequeños como tetrasacáridos tenían actividad anticoagulante, la unidad de cuatro monosacáridos corresponde con el sitio de enlace propuesto por *Rosenberg y Larr*²⁰ y es considerablemente menor a la propuesta por *Lindahl y colaboradores*,²³ por otra parte, la pérdida de la capacidad anticoagulante de la heparina al ser degradada extensivamente indicó que para la inhibición de la trombina se requiere de un fragmento de heparina mayor que para la inhibición del factor Xa, lo que se relaciona con lo informado por otros autores acerca del enlace simultáneo de la trombina y la ATIII a una misma molécula de heparina.^{17,18}

Otro trabajo en ese sentido fue realizado previamente por *Dosta y colaboradores*,²⁴ quienes trabajaron con fragmentos de heparina de 6, 8 y 10 monosacáridos y demostraron que éstos poseían una capacidad significativa para acelerar la neutralización del factor Xa por la ATIII pero no la inactivación de la trombina; se planteó que la estructura esencial para acelerar la interacción factor Xa-ATIII está muy relacionada con la estructura requerida para formar el complejo ATIII/heparina. Estos autores analizaron la habilidad de varios fragmentos de heparina para acelerar las interacciones factor IXa-ATIII y factor XIa-ATIII, los resultados obtenidos con los hexasacáridos, octasacáridos y deca-sacáridos indicaron que estos fragmentos tienen una actividad anticoagulante mínima, sólo ligeramente superior a la observada con la trombina y que se requieren fragmentos de 16 monosacáridos o mayores para acelerar la reacción. Basándose en estas observaciones se propuso un modelo que postula que en la molécula de heparina existen múltiples sitios funcionales y que además existe heterogeneidad funcional en la región de activación del mucopolisacárido.

De todo lo anteriormente expuesto se evidencia que aún permanecen muchos puntos oscuros en el conocimiento de la interacción de la heparina, la ATIII y las diferentes proteasas que ella inactiva. Un informe reciente, en el que se utilizan técnicas de fluorescencia para el estudio de estas reacciones, plantea que la heparina se enlaza más firmemente a la trombina que a la ATIII, pero el complejo heparina-trombina no es la especie primaria activa y puede desempeñar un papel inhibitorio en la reacción.²⁵

Independientemente de que la interacción primaria tenga lugar entre la heparina y la trombina o entre la heparina y la ATIII, al parecer en la reacción ocurre la formación de un complejo ternario entre los reaccionantes, en el que la enzima es inactivada y la heparina es liberada y puede volver a reaccionar.

La existencia de evidencias contradictorias acerca del mecanismo de las reacciones en que interviene la ATIII, hace que numerosos investigadores se encuentren trabajando para lograr un conocimiento profundo de las mismas cuya importancia para el balance del proceso hemostático en el organismo ya se ha señalado anteriormente.

ALGUNAS CAUSAS DE DISMINUCION DE LOS NIVELES DE LA ATIII

Entre los cambios hemostáticos informados en mujeres que reciben contraceptivos orales, la disminución de los niveles de la ATIII determinada tanto por métodos biológicos como inmunológicos, ha sido uno de los hallazgos más frecuentes.

La disminución de la ATIII tiene especial interés, pues las deficiencias congénitas de ATIII se asocian con episodios trombóticos repetidos como fue descrito inicialmente por *Egeberg*,²⁶ por lo que se ha relacionado esta disminución con el incremento de episodios trombóticos en mujeres que reciben contraceptivos orales.

Se ha visto que esta disminución ha sido más marcada en suero que en plasma y esto se ha explicado por un incremento en la neutralización de la ATIII secundario a un aumento en la generación de trombina, por lo tanto, se ha planteado que los contraceptivos orales inducen un aumento en la capacidad de generación de trombina y una disminución de la capacidad de neutralizarla, por lo que esta combinación de factores puede contribuir a las complicaciones trombóticas.²⁷

El efecto trombogénico de los estrógenos se ha expresado más comúnmente como tromboembolismo venoso, menos frecuentemente como isquemia cerebral y trombosis aguda de la arteria coronaria. La incidencia de tromboembolismo puede estar relacionada con la dosis, por lo que algunos autores han realizado estudios relacionando el contenido de estrógenos de la píldora contraceptiva con el nivel de disminución de la ATIII y concuerdan en que los contraceptivos con contenidos más bajos de estrógeno inducen una disminución menor en los niveles de ATIII.

En 1982, *Nagasawa y colaboradores*²⁸ publicaron un trabajo que en cierta medida explica los hallazgos anteriores, estos autores realizaron experimentos *in vitro* utilizando plaquetas humanas y trombina purificada, se encontró que después de la exposición de la ATIII a una preparación de estrógeno, ésta no era capaz de inhibir la agregación plaquetaria inducida por trombina y que este efecto era dependiente de la dosis de estrógeno. Se demostró que la ATIII actúa con los estrógenos y otros compuestos esteroides de forma tal que ocurre una inhibición de su actividad, pues la misma se redujo por los siguientes compuestos esferoides en orden de efectividad decreciente: colesterol, cortisona, testosterona y progesterona y se encontraron evidencias de un enlace ATIII-estrógeno por cambios detectados en la fluorescencia intrínseca del inhibidor.

Hemos visto una correlación entre los niveles reducidos de ATIII y la predisposición a eventos trombóticos en condiciones adquiridas; sin embargo, la evidencia más convincente del papel de la deficiencia de ATIII como causante de una tendencia trombótica, proviene de los estudios de los defectos congénitos de esta proteína.

Una deficiencia congénita de ATIII asociada con una alta incidencia de tromboembolismo fue descrita por *Egeberg*.²⁶ Esta deficiencia se hereda

de forma autosómica dominante y está caracterizada por una disminución cuantitativa de ATIII, determinada por métodos biológicos e inmunológicos, posteriormente se han informado en la literatura otros casos similares. Sas y colaboradores²⁹ describieron en 1974 el primer caso de un defecto cualitativo de ATIII en una familia con tromboembolismo espontáneo, que se caracterizaba por una disminución de la actividad de la ATIII con una concentración antigénica normal, lo cual se debe a un defecto en la síntesis de la ATIII. Posteriormente se han informado otros casos de deficiencias congénitas de ATIII,³⁰ que se caracterizan por tener disminuida la actividad de la ATIII en presencia de heparina con una actividad progresiva y concentración antigénica normal. Por tanto, según lo informado en la literatura se puede dividir de una forma simplificada las deficiencias congénitas de ATIII en tres tipos:

1. Disminución cuantitativa de ATIII, tanto por métodos biológicos como inmunológicos.
2. Disminución de la actividad de la ATIII con una concentración antigénica normal.
3. Disminución de la actividad de la ATIII en presencia de heparina con una actividad progresiva y concentración antigénica normal.

PAPEL BIOLÓGICO DE LA ATIII

Como ya se planteó anteriormente, la interacción de la heparina y la ATIII son virtualmente todas las serín proteasas que se generan en la coagulación, y la fibrinólisis implica que este mecanismo desempeña una función inhibitoria importante en la modulación de la actividad del proceso hemostático.

La heparina ha sido aislada de varios órganos. El sulfato de heparano que es químicamente similar a la heparina y posee algunas de sus propiedades anticoagulantes, se ha encontrado en varias superficies celulares tales como el endotelio y las plaquetas. La presencia de estas sustancias conjuntamente con las características singulares de esta inhibición, sugieren que el sistema ATIII-heparina puede ser selectivamente activado *in vivo* en estas superficies sanguíneas, donde podría neutralizar las enzimas generadas (trombina y los factores (Xa, IXa, XIa y XIIa), manteniéndose el balance hemostático en la sangre. Así se relacionarían las propiedades de las superficies de arterias, venas, capilares y plaquetas con el mantenimiento de la fluidez de la sangre.

SUMMARY

Díaz Concepción, A.: *Antithrombin III. Some general considerations.*

It is stated that ATIII is the main physiologic inhibitor of plasma thrombin and, besides, inhibits Xa, IXa, XIa and XIIa factors, plasmin and plasma kallikrein. It is reported that ATIII is a glycoprotein with molecular weight ranging between 58 000 and 67 000 daltons, composed by a single polypeptide chain. Inhibitory capacity of ATIII is accelerated in the presence of heparin. There are several hypotheses on the mechanism of reaction, supported by experiments. It is pointed out that there is a correlation between reduced ATIII

levels and predisposition to thrombotic manifestations, which is an evidence of the importance of its regulatory function in the hemostatic mechanism.

RÉSUMÉ

Díaz Concepción, A.: *Antithrombine III. Certaines remarques générales.*

L'antithrombine III (ATIII) est le principal inhibiteur physiologique de la thrombine dans le plasma; elle inhibe, en plus, les facteurs Xa, IXa, XIa, XIIa, la plasmine et la kallibréine plasmatique. L'ATIII est une glycoprotéine à poids moléculaire entre 58 000 et 67 000 daltons, composée par une seule chaîne polypeptidique. La capacité inhibitrice de l'ATIII est accélérée en présence de l'héparine. Il existe plusieurs hypothèses sur le mécanisme de réaction, soutenues par des faits expérimentaux. Il y a une corrélation entre les taux réduits d'ATIII et la prédisposition à des manifestations thrombotiques, ce qui met en évidence l'importance de son rôle régulateur dans le mécanisme hémostatique.

BIBLIOGRAFIA

1. Stead, N. et al.: Inhibition of activated factor XII by antithrombin-heparin cofactor. *J Biol Chem* 251: 6481, 1976.
2. Fjosenberg, ff. D.; P. S. Damus: The purification and mechanism of action of human antithrombin III-heparin cofactor. *J Biol Chem* 248: 6490, 1973.
3. Miller-Andersson, M. et al.: Purification of antithrombin III by affinity chromatography. *Thromb Res* 5: 439, 1974.
4. Griffith, M. J.: Kinetics analysis of the heparin enhanced antithrombin III/thrombin reaction. Reaction rate enhancement by heparin-thrombin association. *J Biol Chem* 254: 12044, 1979.
5. Danishefski, I. et al.: Human antithrombin III carbohydrate components and associated glycolipid. *J Biol Chem* 253: 32, 1978.
6. Koide, T.: Isolation and characterization of antithrombin III from human, porcine and rabbit plasma and rat serum. *J Biol Chem* 254: 1841, 1979.
7. Koide, T. et al.: The C-terminal sequence of human and porcine antithrombin III and its homology with human a-1-proteinase. *Experientia* 36: 516, 1980.
8. Binder, B.: On the complex formation of antithrombin III with thrombin. Gel filtration studies on human plasma and serum. *Thromb Diath Haemorrh* 30: 280, 1973.
9. Jordán, ff. et al.: Fractionation of low molecular weight heparin species and their interactions with antithrombin III. *J Biol Chem* 254: 2902, 1979.
10. Owen, W. G.: Evidence for the formation of an ester between thrombin and heparin cofactor. *Biochim Biophys Acta* 405: 380, 1975.
11. Machovich, ff. et al.: Action of heparin in thrombin-antithrombin reaction. *Biochim Biophys Acta* 379: 193, 1975.
12. Griffith, M. J.: Interaction of thrombin with heparin. *J Biol Chem* 254: 3401, 1979.
13. Smith, G. F.; J. L. Sunboom: Heparin and protease inhibition. II. The role of heparin in the ATIII inactivation of thrombin, plasmin, and trypsin. *Thromb Res* 22: 115, 1981.
14. Einarsson, ff., L. O. Andersson: Binding of heparin to human antithrombin III as studied by measurements of tryptophan fluorescence. *Biochim Biophys Acta* 490: 104, 1977.
15. Villanueva, G.; I. Danishefski: Conformational changes accompanying the binding of antithrombin III to thrombin. *Biochemistry* 18: 810, 1979.
16. Pletcher, C. M.; G. Nelsestuen: The rate-determining step of the heparin-catalyzed antithrombin/thrombin reactions is independent of thrombin. *J Biol Chem* 257: 5342, 1982.
17. Pomerantz, M. W.; W. G. Owen: A catalytic role for heparin. Evidence for a ternary complex of heparin cofactor, thrombin and heparin. *Biochem Biophys Acta* 535: 66, 1978.

18. *Griffith, M. J.*: Kinetics of the heparin-enhanced antithrombin/thrombin reaction. Evidence for a template model for the mechanism of action of heparin. *J Biol Chem* 257: 7360, 1982.
19. *Machovich, fi.; I. Horvart*: Thrombin and hemostasis: regulation of the biological functions of thrombin (facts and perspectives). *Haematologica* 14: 339, 1981.
20. *Rosenberg, fi. D.; L. H. Lam*: Correlation between structure and function of heparin. *Proc Nati Acad Sci USA* 76: 1218, 1979.
21. *Thunberg, L. et al.*: On the molecular weight dependence of the anticoagulant activity of heparin. *Biochem J* 181: 241, 1979.
22. *Lindhardt, fi. J. et al.*: Differential anticoagulant activity of heparin fragments prepared using microbial heparinase. *J Biol Chem* 257: 7310, 1982.
23. *Lindahl, U. et al.*: Structure of the antithrombin-binding site in heparin. *Proc Nati Acad Sci USA* 76: 3198, 1979.
24. *Dosta, G. M. et al.*: Múltiple functional domains of the heparin molecule. *Proc Nati Acad Sci USA* 78: 829, 1981.
25. *Wong, fi. F.; S. fi. Windwer; fi. D. Feinman*: Interaction of thrombin and antithrombin. Reaction observed by intrinsic fluorescence measurements. *Biochemistry* 22: 3994, 1983.
26. *Egeberg, O.*: Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thromb Diath Haemorrh* 13: 516, 1965.
27. *Howie, P. W. et al.*: A method of antithrombin estimation using plasma desfibrinations with ancrod. *Br J Haematol* 25: 101, 1973.
28. *Nagasawa, H. et al.*: Inhibition of thrombin-neutralizing activity of antithrombin III by steroid hormones. *Thromb Haemostasis* 47: 154, 1982.
29. *Sas, G. et al.*: Abnormal antithrombin III (Antithrombin III Budapest) as a cause of a familial thrombophilia. *Thromb Diath Haemorrh* 32: 105, 1974.
30. *Wolf, M. et al.*: A new familial variant of antithrombin III Antithrombin Paris. *Br J Haematol* 51: 285, 1962.

Recibido: 4 de agosto de 1984

Aprobado: 20 de febrero de 1985

Lic. *Alina Díaz Concepción*
 Instituto de Hematología e Inmunología
 Calzada de Aldabó y Calle E
 Altahabana. Apartado 8070
 Ciudad de La Habana
 Cuba