

---

---

## **Fibronectina. Estructura y funciones asociadas a la hemostasia. Revisión.**

*Sara Lucena, Carmen Luisa Arocha Piñango y Belsy Guerrero.*

Laboratorio de Fisiopatología, Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela.

Correo electrónico: bguerrer@ivic.ve.

**Palabras clave:** Fibronectina, proteínas adhesivas, cicatrización de heridas, hemostasia, plaquetas, integrinas.

**Resumen.** La fibronectina es una glicoproteína adhesiva presente en forma soluble en plasma e insoluble en la matriz extracelular de la mayoría de los tejidos. La concentración de esta proteína en plasma es de aproximadamente  $300 \pm 100 \mu\text{g/mL}$ . Es sintetizada y secretada por una gran variedad de células, por lo tanto es uno de los componentes de mayor distribución en el cuerpo, que participa en las reacciones bioquímicas de diversos procesos fisiológicos y patológicos. Debido a la presencia de dominios multifuncionales en su estructura, la fibronectina interacciona con diversos componentes de la coagulación y fibrinólisis. Es capaz de unirse a colágeno, fibrinógeno, fibrina, heparina, factor XIII y plaquetas, entre otros, regulando procesos de importancia en la hemostasia como: adhesión y agregación plaquetaria, remodelación de tejidos durante la cicatrización de la lesión, y activación de la fibrinólisis mediada por los activadores del plasminógeno.

### **Fibronectin. Structure and functions associated to hemostasis. Review.**

*Invest Clín 2007; 48(2): 249 - 262*

**Key words:** Fibronectin, adhesive proteins, wounds healing, hemostasis, platelets, integrins.

**Abstract.** Fibronectin is an adhesive glycoprotein present in a soluble form in plasma and in an insoluble form in the extracellular matrix of many tissues. The human plasma level of this protein is about  $300 \pm 100 \mu\text{g/mL}$ . It is synthesized and secreted by a wide variety of cells, consequently is one of the components of greater distribution in the body that participates in the

biochemical reactions of diverse physiological and pathological processes. Due to the presence of multifunctional domains in its structure, fibronectin interacts with diverse components of the coagulation and fibrinolysis. It may bind to collagen, fibrinogen, fibrin, heparin, factor XIII and platelets, among others, regulating processes of importance in hemostasis such as: platelet adhesion and aggregation, tissue remodelling during wound healing, and activation of fibrinolysis by the plasminogen activators.

*Recibido: 23-03-2006. Aceptado: 21-09-2006.*

## INTRODUCCIÓN

La fibronectina es una proteína adhesiva, que se encuentra libre en el plasma y constituye uno de los principales componentes de la matriz extracelular. Esta proteína ha sido ampliamente estudiada por su capacidad de interactuar con diversas células y macromoléculas, influyendo en el comportamiento celular y en las reacciones bioquímicas de diversos sistemas, así como en una gran variedad de procesos fisiológicos como fagocitosis, proliferación, adhesión y migración celular. Entre sus principales funciones está la de intervenir en la remodelación de los tejidos durante la embriogénesis y participar en el proceso de cicatrización de una lesión vascular después de la formación de un coágulo de fibrina, formado por la activación del sistema hemostático (1).

En condiciones fisiológicas la hemostasia tiene como función mantener el flujo normal de la sangre y la integridad del endotelio vascular. En caso de lesión de un vaso sanguíneo con pérdida de la continuidad de la pared vascular, la hemostasia actúa limitando la extravasación de sangre al formar un tapón plaquetario, el cual es consolidado por una malla de fibrina que se forma durante la activación de la coagulación. La fibrina formada en conjunto con la fibronectina, que es incorporada en forma covalente al coágulo por acción del factor XIIIa, sirve como matriz provisional durante el proceso de reparación tisular para la adhe-

sión y migración celular dentro del tejido lesionado (2, 3).

Una vez formado el coágulo y cumplida su función hemostática, éste es disuelto por acción del sistema fibrinolítico para restaurar el flujo sanguíneo. El funcionamiento de las proteínas involucradas en el mecanismo de la fibrinólisis, es de vital importancia para que se den de forma apropiada los procesos de fibrinólisis, cicatrización y regeneración vascular (3, 4).

## CARACTERÍSTICAS GENERALES

La fibronectina es una glicoproteína formada por una molécula asimétrica que consiste de dos subunidades similares de 220 kDa, unidas por puentes disulfuro cerca de su región carboxi-terminal. Se encuentra en forma soluble principalmente como un dímero y en forma insoluble formando multímeros de alto peso molecular mantenidos por enlaces covalentes, los cuales son organizados en un componente fibrilar en la matriz extracelular (5-7). La Tabla I muestra las características generales de la fibronectina.

Estudios bioquímicos realizados con la fibronectina plasmática y celular han demostrado que ambas formas son similares: en la composición de aminoácidos y carbohidratos, en la estructura secundaria y terciaria; así como en los dominios estructurales específicos y su organización. Sin embargo, entre estas dos formas existen ligeras diferencias tales como: tamaño de los

**TABLA I**  
CARACTERÍSTICAS DE LA FIBRONECTINA

Subunidades	220 kDa, unidas por puentes disulfuro, formando un dímero
p.I	5.5-6.3
Carbohidratos	5-9% complejo oligosacárido unido a asparagina
Grupos sulfidrido	1-2 en la región C-terminal
Uniones disulfido	20 por subunidad. Región N-terminal es rica en disulfido intracadena y cerca de región C-terminal uniones intersubunidades
Estructura secundaria	No $\alpha$ hélice, probablemente algunas estructuras $\beta$
Estructura terciaria	Asimétrica y elongada con dominios globulares
Asociaciones	Forma complejos unidos por disulfido y fibrillas
Tipos	Soluble (plasmática) e insoluble (celular y matriz extracelular)
Concentración plasmática	$300 \pm 100 \mu\text{g/mL}$
Funciones en la Hemostasia	Adhesión plaquetaria, cicatrización de la lesión y fibrinólisis
Otras funciones	Fagocitosis, embriogénesis, transformación oncogénica, organización del citoesqueleto, migración y diseminación celular

dominios específicos, punto isoelectrico (pI), solubilidad y número de subunidades unidas por puentes disulfuro (6). Funcionalmente estas dos formas de fibronectina participan de igual manera en las interacciones moleculares descritas y en modular la unión celular; sin embargo, difieren en los cultivos, en la capacidad de normalizar la morfología de los fibroblastos transformados y en la aglutinación de eritrocitos de oveja, siendo la fibronectina plasmática la menos activa en este respecto. Ha sido reportado que las preparaciones de fibronectina que contienen proteoglicanos, son más activas en corregir la morfología de células transformadas, que aquellas que carecen de estos; lo cual indica la necesidad de excluir la presencia de proteoglicanos como contaminantes que alteren los resultados (6, 7).

Los niveles de fibronectina en plasma son aproximadamente de  $300 \pm 100 \mu\text{g/mL}$ . Las variaciones fisiológicas observadas entre individuos normales están relacionadas con la edad y el sexo, reportándose valores ligeramente inferiores en las mujeres en

comparación a los hombres y en los jóvenes adultos con edades comprendidas entre 20 y 30 años, en comparación con grupos de mayor edad (8-10). La concentración de fibronectina plasmática requerida para su función normal no es bien conocida. Mosher y Williams (9, 11) encontraron en pacientes con enfermedades como malignidad e infección, que la tasa de mortalidad era más alta en aquellos que presentaron menos del 50% de la concentración normal de fibronectina ( $< 150 \mu\text{g/mL}$ ); en comparación a los que presentaron niveles normales.

Furcht y col. (1, 8-10) describieron el caso de un paciente con un desorden del tejido conectivo (Síndrome de Ehlers-Danlos), caracterizado por presentar alteración en la cicatrización de las lesiones y agregación plaquetaria anormal; defectos que fueron corregidos con la administración de fibronectina proveniente de plasma normal. En este paciente, los niveles de fibronectina, determinados por métodos inmunológicos, fueron encontrados normales, lo que sugiere una deficiencia funcional. Hasta el pre-

sente, no han sido descritas otras anormalidades cuantitativas o cualitativas de esta proteína.

### METABOLISMO

La fibronectina es una de las principales proteínas del cuerpo, localizada en la mayoría de los espacios extracelulares de los tejidos; además se encuentra en el plasma y en los fluidos: amniótico, seminal, cerebrospinal y articular. La forma insoluble es un componente de las estructuras fibrilares extracelulares y de las membranas basales de todos los tejidos, con la posible excepción del sistema nervioso. Aunque diversos tipos de células tienen la capacidad de sintetizar y secretar fibronectina, la mayor cantidad circulante proviene de los hepatocitos; en los tejidos la mayor fuente la constituyen los fibroblastos y las células endoteliales (1, 5, 6, 12).

La fibronectina recién sintetizada no se une directamente a las fibrillas preformadas en la superficie celular. El ensamblaje a la matriz extracelular es mediado por células y ocurre de una manera secuencial: inicialmente la forma soluble se une al receptor de la superficie celular a través de una interacción con la región amino-terminal de la molécula de fibronectina; este primer paso es saturable y reversible. En el siguiente paso, la fibronectina dimérica unida a las células es convertida en multímeros estabilizados por uniones disulfuro, a través de las interacciones intermoléculas; es probable que los receptores de ensamblaje de matriz, entre los que se encuentra la integrina  $\alpha_5\beta_1$ , permitan que las moléculas de fibronectina se unan en una orientación apropiada para facilitar las interacciones fibronectina-fibronectina y el intercambio de disulfuro, importante para la formación de las fibrillas. En el paso final, el sitio de unión de la fibronectina sobre la superficie celular o receptor queda libre (1, 12-15).

Estudios del metabolismo de la fibronectina realizados en humanos y en modelos animales, han demostrado que esta proteína presenta un comportamiento muy similar en las diferentes especies. El tiempo de vida media ha sido estimado entre 24 y 72 horas. Se ha encontrado que gran parte de la proteína soluble es eliminada de la circulación de una manera compleja, posiblemente por la acción del sistema reticuloendotelial; la otra parte se redistribuye en el compartimiento intravascular (1, 12, 16, 17).

### DOMINIOS FUNCIONALES

El tratamiento de la fibronectina con proteasas específicas como la termolisina y el uso de cromatografía de afinidad sobre diversos ligandos, han permitido identificar y purificar sus dominios funcionales y por ende determinar las características estructurales de la molécula. Estos estudios han demostrado que la fibronectina tiene la capacidad de interactuar con una amplia variedad de macromoléculas, entre estas: gelatina, colágeno, fibrina, factor XIIIa, heparina y proteoglicanos. En adición, la fibronectina tiene la capacidad de asociarse con una gran variedad de células (5, 6, 9). La Fig. 1 muestra un esquema de la molécula de fibronectina con sus múltiples dominios funcionales.

#### Dominio de unión al colágeno

En la región amino-terminal de la molécula de fibronectina se ha identificado un dominio con una masa molecular entre 30 y 42 kDa, el cual tiene afinidad por gelatina y colágeno tipo I. Ha sido demostrado que a través de este dominio la fibronectina media la unión de fibroblastos normales a colágeno en cultivos. Adicionalmente se ha encontrado que la fibronectina es entrecruzada en forma covalente a colágeno tipo I y III por acción del factor XIIIa plasmático. La

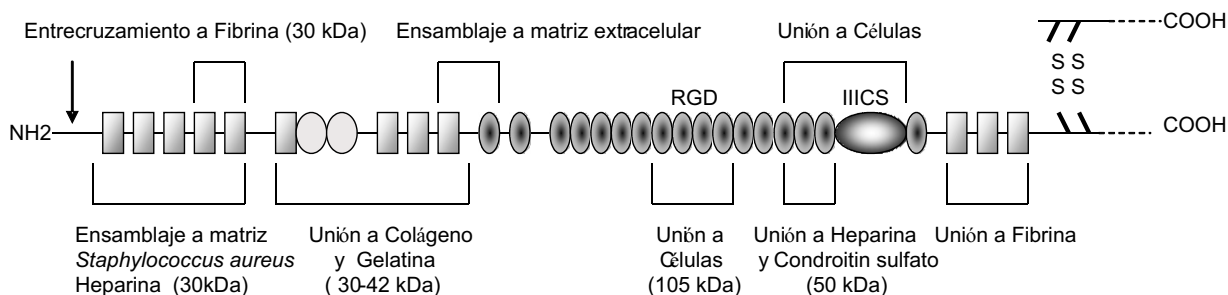


Fig. 1. Esquema de la Fibronectina con sus múltiples dominios funcionales.

unión de colágeno y fibronectina, bien sea por los dominios adhesivos o por reacciones de entrecruzamiento, puede ser de importancia fisiológica en la regulación de diversos procesos tales como cicatrización de una lesión, embriogénesis, reparación de tejidos, organización del tejido conectivo y quimiotaxis, entre otros (18-23).

#### Dominios de unión a glicosaminoglicanos

Bajo condiciones fisiológicas, cada monómero de fibronectina presenta al menos dos dominios de unión a heparina: uno de baja afinidad localizado en la región amino-terminal de la molécula, con una masa molecular aproximada de 30 kDa que es fácilmente inhibido por sales; y otro de mayor afinidad, localizado cerca de la región carboxi-terminal con una masa molecular aproximada de 50 kDa, el cual es menos sensible a la presencia de sales. La fibronectina puede igualmente unirse a otros glicosaminoglicanos como heparán sulfato y ácido hialurónico. Los sitios de unión al ácido hialurónico son de moderada afinidad y no son modulados por concentraciones de sal, ni están relacionados con los dominios de unión a la heparina. El ácido hialurónico puede también unirse a otras moléculas de la matriz extracelular, como colágeno; lo que sugiere que este glicosaminoglicano puede funcionar como puente entre la fibronectina y otros componentes de la matriz involucrados en los procesos de reparación tisular (5, 18).

#### Dominios de unión a fibrina

Hasta el presente en la molécula de fibronectina se han identificado tres dominios de unión a fibrina: uno de alta afinidad ubicado en la región amino-terminal de 30 kDa; otro hacia la región carboxi-terminal; y un tercero adyacente al sitio de unión al colágeno (5, 18).

El entrecruzamiento covalente de la fibronectina a la fibrina es mediado por el factor XIIIa; específicamente entre los residuos de glutamina en posición 3 y 4 de la fibronectina y los residuos de lisina ubicados en la región carboxi-terminal de la cadena de la fibrina. Este entrecruzamiento es importante en el estado inicial de la cicatrización de una lesión; a este respecto se ha demostrado que los fibroblastos (la principal célula involucrada en la restauración de un tejido lesionado), se adhieren muy bien a la fibronectina entrecruzada a la fibrina. También puede ocurrir entrecruzamiento de la fibronectina al colágeno y éste a su vez a la fibrina en formación, reacción que puede ser importante en el anclaje de la fibrina al tejido subendotelial, lo que facilita el proceso de cicatrización de las heridas (5, 18, 19).

#### Dominios de unión celular

Numerosos estudios han reportado que la fibronectina promueve la adhesión y/o diseminación de células sobre una variedad de matrices que incluyen colágeno, gelatina y fibrina; así las células que la sintetizan no

necesitan de proteínas adhesivas exógenas para su adhesión y diseminación (5).

En la región central de la fibronectina se ha identificado un dominio de unión celular de 105 kDa, el cual contiene la secuencia arginina (R), glicina (G) y ácido aspártico (D). La importancia funcional de este dominio ha sido evaluada con compuestos formados por péptidos sintéticos que contienen la secuencia RGD, los cuales ejercen un efecto inhibitorio de la adhesión a la fibronectina de diversos tipos celulares tales como fibroblastos, plaquetas y células epiteliales y a la vez, interrumpen la migración celular en cultivos de tejidos y durante procesos de desarrollo. También se ha encontrado que estos compuestos inhiben la metástasis experimental lo que evidencia la participación de esta proteína adhesiva tanto en procesos fisiológicos como patológicos (18).

En la fibronectina se ha encontrado otro sitio de unión celular llamado región IIIICS, necesario para la especificidad y para la afinidad por su principal receptor celular, la glicoproteína GPIIb-IIIa (51) (18). Winters y col., han demostrado la presencia de un tercer sitio de unión celular de 45 kDa, por medio del cual la fibronectina también se une a gelatina (24).

En ensayos de diseminación y unión celular, se ha demostrado que alteraciones en las regiones RGD o IIIICS producen una disminución de hasta un 95% de la propiedad adhesiva de la fibronectina (18, 25, 26).

En el sistema vascular las interacciones células-proteínas adhesivas ocurren en la interfase entre la sangre y la pared vascular. Estas interacciones se pueden presentar en diversas situaciones como la formación fisiológica del tapón hemostático y en procesos patológicos como la aterotrombosis. En la hemostasia, la función adhesiva de mayor relevancia de la fibronectina está relacionada con la capacidad de promover la

adhesión de las plaquetas al subendotelio expuesto, después de una ruptura de la capa endotelial (27-29).

## FIBRONECTINA Y CICATRIZACIÓN

Una importante función de la fibronectina a nivel del tejido conectivo, es la formación de fibrillas en áreas de remodelación de tejidos tal como ocurre en la cicatrización de una lesión, donde es requerida una matriz provisional para la unión y diseminación celular (1, 12-14).

El proceso de cicatrización de las lesiones discurre en fases que se solapan en el tiempo y que no pueden ser dissociadas unas de otras. Por regla general este proceso se puede dividir en cuatro fases: inflamación, epitelización, granulación y neovascularización. Esta subdivisión está orientada según las modificaciones morfológicas básicas que se producen durante el proceso de reparación (30).

Las lesiones severas de los tejidos causan ruptura de la pared vascular, con una concomitante extravasación de los componentes sanguíneos. El proceso de la coagulación de la sangre en conjunto con la adhesión y agregación de las plaquetas, genera un coágulo de fibrina que cubre el vaso dañado, permitiendo de esta manera la continuidad en el área del tejido lesionado. A su vez este coágulo provee una matriz provisional, formada por la fibrina y las proteínas adhesivas (incorporadas en forma covalente a ésta, tales como vitronectina, colágeno y fibronectina) importantes para la migración celular y el influjo de monocitos, fibroblastos y células endoteliales (4, 30).

La habilidad de la fibronectina para unir fibroblastos en el área de la cicatrización, alterando su expresión génica y su fenotipo, son reacciones de destacada relevancia en este proceso. A este respecto, Corbett y col. (31), demostraron que la sola presencia de fibronectina no es suficiente

para una eficiente unión y diseminación de los fibroblastos; esta proteína debe estar entrecruzada en forma covalente con la fibrina para proveer un efectivo sustrato adhesivo. Es probable que esta incorporación covalente, induzca cambios conformacionales en la molécula que faciliten el reconocimiento por las células, de sus dominios adhesivos. La Fig. 2 representa el papel de la fibronectina en el proceso de cicatrización y regeneración.

### FIBRONECTINA Y ADHESIÓN CELULAR

Entre los procesos de adhesión celular de importancia en la hemostasia, se encuentra la adhesión de las plaquetas, elementos formes de la sangre que desempeñan un papel crucial desde los primeros momentos de la activación del sistema hemostático (32-37).

El potencial adhesivo de las plaquetas es expresado cuando el endotelio sufre da-

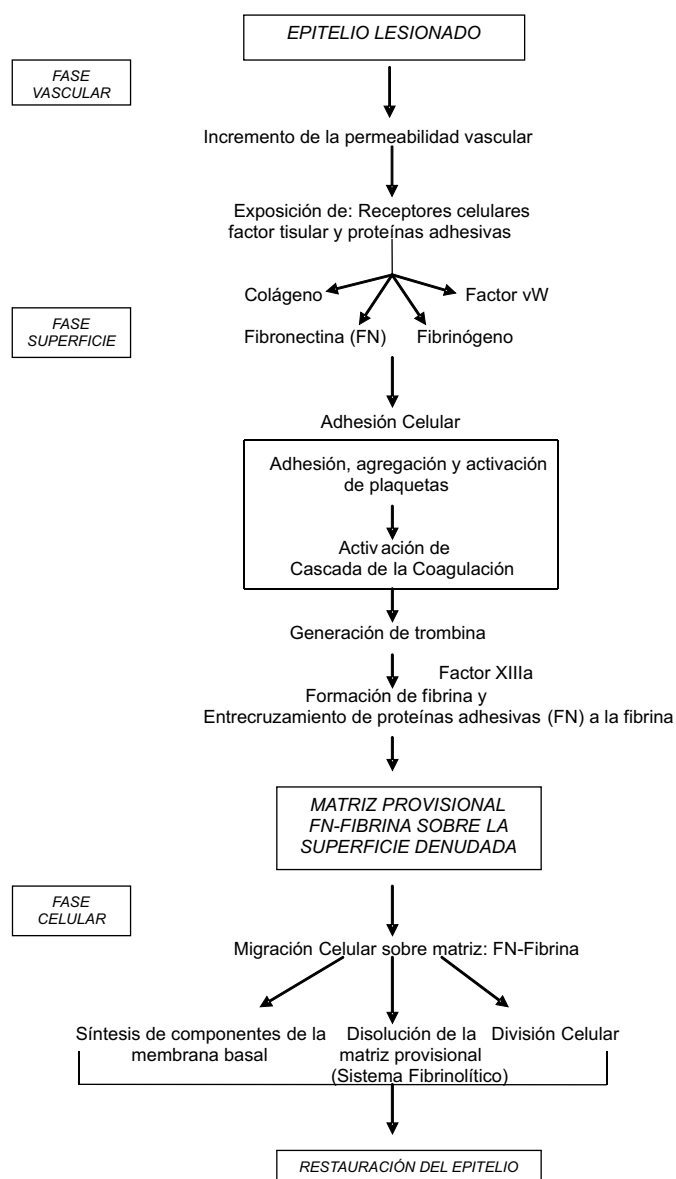


Fig. 2. Matriz de Fibrina=Fibronectina: Su participación en el proceso de cicatrización de la lesión.

ños causados por lesiones o alteraciones de la pared vascular. Bajo estas condiciones, componentes de la matriz extracelular como fibronectina, laminina, colágeno y factor von Willebrand son expuestos sobre la superficie luminal de la pared vascular, con el consiguiente reconocimiento de estas proteínas por receptores específicos de las plaquetas. Adicionalmente, algunas proteínas adhesivas como fibronectina y factor von Willebrand, son liberadas de los gránulos seguido a la activación plaquetaria. Esta interacción plaquetas-proteínas de matriz, es la responsable del proceso inicial de adhesión plaquetaria a la pared vascular lesionada. Adicionalmente, varios estímulos como ADP y tromboxano A<sub>2</sub> (producidos y liberados por las plaquetas activas), favorecen los procesos de adhesión, al exponer o activar receptores sobre la superficie celular, que permiten el reclutamiento de nuevas células dentro del tapón en crecimiento y las uniones plaquetas-plaquetas importantes para que ocurra el proceso de agregación plaquetaria (35, 36).

Las interacciones de las plaquetas son mediadas principalmente por los receptores de adhesión llamados integrinas, los cuales son proteínas transmembrana formadas por complejos proteicos heterodiméricos de cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ . Estas cadenas presentan una zona intracitoplasmática que asocia a las integrinas con el citoesqueleto, seguida de una zona hidrofóbica que cruza la membra-

na, y terminan en un segmento extracelular, a nivel del cual las dos subunidades conforman el sitio activo del receptor. Estos complejos se encuentran sobre la superficie de casi todas las células adherentes de mamíferos, aves, anfibios, hongos e invertebrados (32, 37-40).

Ciertos agonistas como trombina y nucleótidos de adenina, activan las integrinas plaquetarias. Esta activación parece ser mediada por la unión a receptores celulares, que inducen la activación de la fosfolipasa C a través del sistema de transducción de señales y de la proteína G, la cual genera cambios en el contenido de calcio citoplasmático; además de la activación de una vía dependiente de las proteínas quinasas (38-40).

La función de las integrinas plaquetarias está íntimamente relacionada con su capacidad de mediar la adhesión celular, a través de su interacción con una variedad de glicoproteínas extracelulares que funcionan como ligandos, tales como fibronectina, laminina, colágeno, vitronectina, fibrinógeno y factor von Willebrand. Para mediar estos procesos, las plaquetas contienen cinco miembros de la familia de receptores tipo integrinas:  $\text{II}_b\text{b}_3$ ,  $\alpha_v\beta_3$ ,  $\alpha_2\beta_1$ ,  $\alpha_5\beta_1$ ,  $\alpha_6\beta_1$ , cada uno de los cuales está involucrado en mayor o menor extensión, en la formación del tapón hemostático (41,42). La Tabla II muestra los receptores involucrados en el proceso de adhesión plaquetaria.

**TABLA II**  
PRINCIPALES RECEPTORES INVOLUCRADOS EN LA ADHESIÓN PLAQUETARIA

Receptores	Proteínas adhesivas
GPIb-IX-V, $\alpha\text{II}_b\beta_3$ , $\alpha\nu\beta_3$	Factor von Willebrand
GPVI, GPIb, $\alpha_2\beta_1$ , $\alpha\text{II}_b\beta_3$	Colágeno
$\alpha\text{II}_b\beta_3$ , $\alpha\nu\beta_3$	Fibrinógeno/fibrina
$\alpha_5\beta_1$ , $\alpha\text{II}_b\beta_3$ , $\alpha\nu\beta_3$	Fibronectina
$\alpha_6\beta_1$ , $\alpha\text{II}_b\beta_3$	Laminina
$\alpha\nu\beta_3$ , $\alpha\text{II}_b\beta_3$	Vitronectina



Bajo condiciones de bajas tasas de cizallamiento, como las encontradas en los grandes vasos sanguíneos, la adhesión de las plaquetas a los elementos del subendotelio expuesto, es mediada principalmente por la interacción del factor von Willebrand con el receptor no integrina GPIb-V-IX. En condiciones de altas tasas de cizallamiento como las encontradas a nivel de la microvasculatura, arteriolas y en éxtasis sanguíneo, tres receptores adicionales, las glicoproteínas: GPIIb-IIIa ( $\alpha_{IIb}\beta_3$ ), GPIc-IIa ( $\alpha_5\beta_1$ ) y GPIa-IIa ( $\alpha_2\beta_1$ ), han sido implicadas en la adhesión plaquetaria. La GPIIb-IIIa actúa como un receptor ambiguo, ya que es capaz de reconocer a una gran variedad de ligandos como factor von Willebrand, colágeno, fibrinógeno, fibronectina y vitronectina; este receptor funciona en los eventos en que las plaquetas son activadas. En ausencia de activación, las integrinas GPIc-IIa y GPIa-IIa pueden mediar la adhesión plaquetaria en fase sólida, funcionando como receptores para fibronectina y colágeno, respectivamente. Existe un tercer

receptor, llamado  $\alpha_v\beta_3$  o VNR (receptor para vitronectina) capaz de reconocer también a la fibronectina, su función fisiológica no ha sido completamente determinada. Es probable que este receptor, al igual que la GPIc-IIa, pueda mediar en parte la adhesión de las plaquetas no estimuladas a la matriz extracelular (35, 36, 38, 41-43). La Fig. 3 muestra el proceso de adhesión plaquetaria, señalando las principales integrinas involucradas.

Moon y col. (44), demostraron que la fibronectina tiene un efecto inhibitor sobre la agregación plaquetaria inducida por el colágeno. Esta inhibición fue evidenciada por un incremento en el tiempo de retardo y por una disminución en la velocidad y extensión de la agregación plaquetaria. Adicionalmente demostraron en ratas, que la inyección intravenosa de colágeno tipo I preincubado con fibronectina, previene en parte la trombocitopenia y el consumo de fibrinógeno, observados por la inyección de colágeno en ausencia de fibronectina. Estos resultados sugieren que la fibronectina

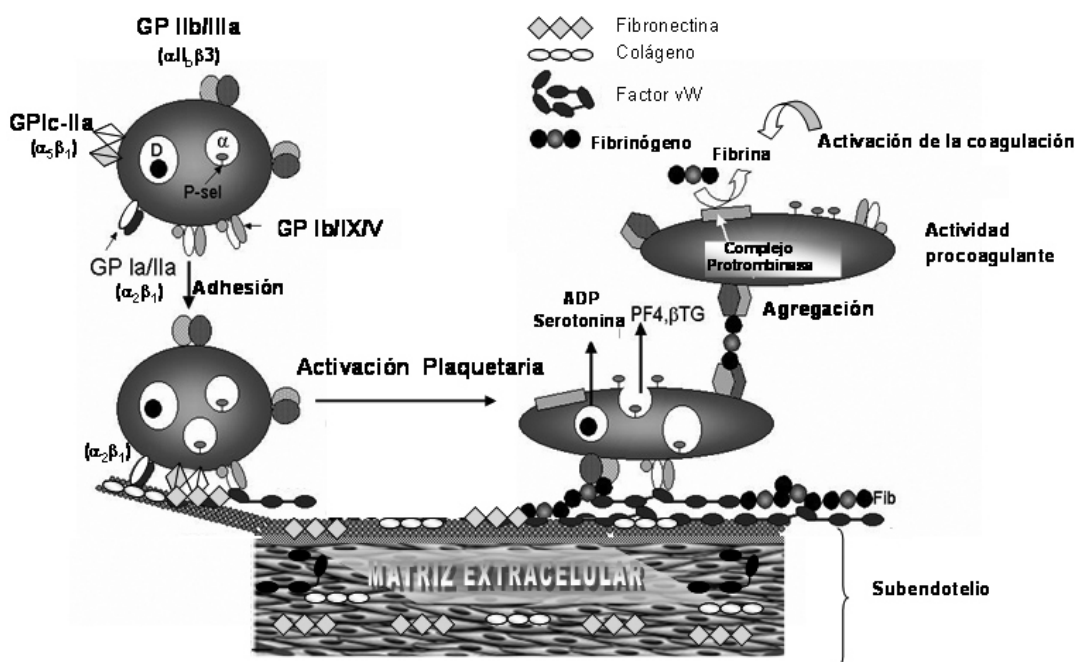


Fig. 3. Adhesión y agregación plaquetaria: Interacción con la matriz extracelular.

plasmática puede jugar un importante papel antitrombótico a nivel fisiológico, al inhibir o limitar las interacciones colágeno-plaquetas o la activación plaquetaria.

En estudios recientes (45-49) se ha demostrado *in vitro* que la fibronectina puede tener un papel protrombótico, al promover el crecimiento y estabilidad de los trombos arteriales. Esta idea ha sido reforzada por estudios genéticos realizados en ratones (heterocigotos o con una completa deficiencia de fibronectina plasmática), que indican que esta proteína es importante para la función plaquetaria y la formación de trombos, posiblemente al contribuir en las interacciones plaqueta-plaqueta o plaqueta-vaso sanguíneo (45-47).

Los mecanismos sugeridos para el aumento de la trombogénesis por la fibronectina, están relacionados con la capacidad que tiene esta proteína de entrecruzarse a la fibrina en forma covalente por acción del factor XIIIa, conformando una estructura que puede servir de sustrato para promover la adhesión y formación de agregados plaquetarios. En adición, la fibronectina plasmática ensamblada en fibrillas sobre la superficie de estas plaquetas puede contribuir al reclutamiento de nuevas células, y por ende al aumento de los trombos (45, 46, 48).

### FIBRONECTINA Y FIBRINÓLISIS

La fibrina formada en la pared de los vasos sanguíneos lesionados, una vez cumplida su función hemostática e iniciado el proceso de regeneración del endotelio, es eliminada por acción del sistema fibrinolítico, el cual actúa como principal defensa contra los depósitos de fibrina a nivel vascular (3, 50, 51).

En el sistema fibrinolítico participa la plasmina, enzima formada a partir del plasminógeno por acción de sus activadores, entre los cuales se encuentran los activadores fisiológicos tipo tisular (t-PA) y tipo

uroquinasa (u-PA). El control de este sistema es realizado por los inhibidores de los activadores del plasminógeno (PAIs); los inhibidores directos de la plasmina, especialmente la antiplasmina; los moduladores como lipoproteína (a), vitronectina y fibronectina; así como por los receptores a nivel celular tanto de los activadores como del plasminógeno (50-51).

En varios estudios se ha demostrado que la fibronectina a concentraciones fisiológicas es capaz de aumentar la actividad fibrinolítica. A este respecto Iwanaga y col. (52), demostraron *in vitro* un aumento significativo de la activación del plasminógeno por uroquinasa en presencia de fibronectina; y una reducción en el tiempo de lisis del coágulo de fibrina cuando se incrementó la concentración de fibronectina en relación al fibrinógeno. Estos resultados los llevaron a sugerir que la fibronectina o los productos de degradación de esta proteína producidos por la plasmita, pueden tener un efecto estimulador sobre la velocidad inicial de activación del plasminógeno por uroquinasa.

Giilboa y col. (53), demostraron que la fibronectina aumenta la actividad amidolítica de t-PA y de plasmina, recorta el tiempo de lisis del coágulo inducido por t-PA y uroquinasa e incrementa la activación del Lys-plasminógeno mediada por ambos activadores.

### FIBRONECTINA Y SECRECIONES DE ANIMALES

Es evidente la importancia del estudio del efecto de proteasas de venenos sobre proteínas de matriz extracelular, entre estas la fibronectina, para tratar de identificar nuevos agentes que a través de su capacidad de controlar los procesos adhesivos, faciliten el estudio de procesos patológicos, donde las interacciones adhesivas entre proteínas de matriz e integrinas, sean cla-

ves para establecer los diversos mecanismos involucrados.

En la literatura hay reportes que demuestran la degradación de la fibronectina por enzimas aisladas de secreciones de animales. A este respecto, Maruyama y col. (54), demostraron que las Jararafibrasas I y II, metaloproteasas aisladas del veneno de la serpiente *Bothrops jararaca*, degradan a la fibronectina en fragmentos de 140, 66, 36, 31 y 28 kDa. Adicionalmente se ha demostrado que la Jararagina, otra proteína aislada de este veneno, altera la función plaquetaria, por un efecto proteolítico contra receptores plaquetarios o contra proteínas adhesivas como fibronectina y fibrinógeno; además hay una acción tipo desintegrina presente en esta proteína, la cual interactúa con los receptores plaquetarios inhibiendo la unión a sus respectivos sustratos (55).

La oruga *Lonomia achelous*, lepidóptero distribuido en algunos países de América del Sur, induce un síndrome hemorrágico en las personas en contacto con sus espinas. Una característica clínica resaltante es que las heridas cicatrizadas recientemente, se abren y sangran de nuevo. Lucena y col. (datos no publicados) han demostrado que la Lonomina V, una proteasa aislada de la hemolinfa de esta oruga, produce degradación de la fibronectina con formación de fragmentos de 120, 66, 45, 40 y 29 kDa. Estos fragmentos pierden parte de la capacidad de entrecruzarse con fibrina y de adherir plaquetas. Estos hallazgos aunados al efecto fibrinogénolítico que estos compuestos presentan (56-59), explican parte del síndrome hemorrágico y la dehiscencia de las heridas, observados en personas en contacto con estas orugas.

En conclusión la fibronectina es una de las principales proteínas encontradas en el plasma y en el tejido conectivo, en asociación con la membrana basal y la superficie celular.

Por su amplia distribución se encuentra asociada a una gran diversidad de procesos fisiológicos y patológicos. Se conoce que esta proteína tiene un importante papel en la regulación de la hemostasia: interviene en la adhesión de plaquetas al subendotelio expuesto; inhibe *in vitro* la agregación plaquetaria inducida por colágeno; y participa en el proceso de cicatrización de las heridas, al entrecruzarse en forma covalente con la fibrina por acción del factor XIIIa. También se ha demostrado *in vitro* su participación en el sistema fibrinolítico al incrementar la actividad de los activadores del plasminógeno.

La fibronectina es una proteína controversial, ya que a pesar de su amplia distribución en los órganos y tejidos del cuerpo humano, y de las diversas actividades a las que ha sido asociada, aparte del caso reportado por Furcht y col. (1,8-10) no se conoce hasta el momento, ninguna patología causada por alteraciones cualitativas o cuantitativas de esta proteína. Sin embargo en diversos estudios, entre estos la regulación de procesos que se llevan a cabo en la hemostasia, se ha puesto de manifiesto su importancia.

Finalmente, el estudio de las interacciones entre la fibronectina y diversos ligandos (células, heparina, colágeno, fibrina, entre otros) y de los cambios estructurales inducidos por estímulos externos, como venenos de animales, es de gran importancia para el avance en el conocimiento de la hemostasia y en procesos patológicos que inducen a la activación endotelial e inflamación.

## REFERENCIAS

1. **Mosher DF.** Physiology of fibronectin. Ann Rev Med 1984; 35:561-575.
2. **Makogonenko E, Tsurupa G, Ingham K, Medved L.** Interaction of fibrinogen with fibronectin: Further characterization and localization of the fibronectin-binding site. Biochem 2002; 41:7907-7913.

3. **Sidelmann J, Gram J, Jespersen J, Kluft C.** Fibrin clot formation and lysis: Basic mechanisms. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26:605-618.
4. **Weisel J.** Fibrinogen and fibrin. *Advance in Protein Chemistry* 2005; 70: 247-299.
5. **Hynes R, Yamada K.** Fibronectins: Multifunctional modular glycoproteins. *J Cell Biol* 1982; 95: 369-377.
6. **Ruoslahti E, Hayman E, Pierschbacher M, Engvall E.** Fibronectin: Purification, immunochemical properties, and biological activities. *Methods Enzymol* 1982; 82:803-831.
7. **Mosher D F, Fogerty F J, Chernousov M A, Barry E.** Assembly of fibronectin into extracellular matrix. *Ann NY Acad Sci* 1991; 614:167-180.
8. **Mosesson M W, Amrani D L.** The structure and biologic activities of plasma fibronectin. *Blood* 1980; 56:145-158.
9. **Mosher DF.** Fibronectin. *Prog Hemostasis Thromb.* 1980; 5: 111-151.
10. **Stathakis NE, Fountas A, Tsianos E.** Plasma fibronectin in normal subjects and in various disease states. *J Clin Pathol* 1981; 34:504-508.
11. **Mosher D F, Williams E.** Fibronectin concentration is decreased in plasma of severely ill patients with disseminated intravascular coagulation. *J Lab Clin Med* 1978; 91:729-735.
12. **Mosher DF.** Fibronectin-relevance to hemostasis and thrombosis En: Colman Robert, Hirsh Jack, Marder Victor J, Salzman Edwin W. (eds). *Hemostasis and Thrombosis.* Philadelphia: J.B. Lippincott; 1982. P 210-218.
13. **Magnusson MK, Mosher DF.** Fibronectin: Structure, assembly, and cardiovascular implications. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 8:1363-1370.
14. **Singer Irwin I.** Fibronectin-cytoskeleton relationships En: Mosher Deane F. (ed). *Fibronectin.* California: Academic Press, Inc. 1989. P 139-161.
15. **Wierzbicka-Patynowski I, Schwarzbauer J.** The ins and outs of fibronectin matrix assembly. *J Cell Sci* 2003; 116:3269-3276.
16. **Sherman L, Lee J.** Fibronectin: Blood turnover in normal animals and during intravascular coagulation. *Blood* 1982; 60: 558-563.
17. **Pussell B, Peake P, Brown M, Charlesworth J.** Human fibronectin metabolism. *J. Clin Invest* 1985; 76:143-148.
18. **Yamada K M.** Fibronectin domains and receptors En: Mosher Deane F. (ed). *Fibronectin.* California: Academic Press, Inc; 1989. P 47-121.
19. **Engvall E, Ruoslahti E.** Binding of soluble form of fibroblast surface protein, fibronectin to collagen. *Int J Cancer* 1977; 20:1-5.
20. **Mosher DF, Schad PE.** Cross-linking of fibronectin to collagen by blood coagulation factor XIIIa. *J Clin Invest* 1979; 64:781-787.
21. **Balian G, Click E M, Bornstein P.** Location of a collagen-binding domain in fibronectin. *J Biol Chem* 1980; 255: 3234-3236.
22. **Furie M, Frey A, Rifkin D.** Location of a gelatin-binding region of human plasma fibronectin. *J Biol Chem* 1980; 255: 4391-4394.
23. **Pagett A, Campbell I, Pickford A.** Gelatin binding to the <sup>9</sup>F1<sup>1</sup>F2<sup>2</sup>F2 fragment of fibronectin is independent of module-module interactions. *Biochemistry* 2005; 44: 14682-14687.
24. **Winters K, Walsh J, Rubin B, Santoro S.** Platelet interactions with fibronectin: divalent cation-independent platelet. Adhesion to the gelatin-binding domain of fibronectin. *Blood* 1993; 81:1778-1786.
25. **Yamada K.** Adhesive recognition sequences. *J Biol Chem* 1991; 266:12809-12812.
26. **Miyamoto S, Katz B, Lafrenie R, Yamada K.** Fibronectin and integrins in cell adhesion, signaling, and morphogenesis. *Ann NY Acad Sci* 1998; 3:119-129.
27. **Hawiger J.** Adhesive interactions of blood cells and the vascular wall En: Colman Robert, Hirsh Jack, Marder Victor J, Clowes Alexander, George James, (eds). *Hemostasis and Thrombosis.* Philadelphia: J.B. Lippincott; 2001. P 639-656.
28. **Houdijk PM, Sixma JJ.** Fibronectin in artery subendothelium is important for platelet adhesion. *Blood* 1985; 65:598-604.

29. **Ginsberg MH, Plow E.** Fibronectin: A contender in platelet adhesive functions. En: Mosher Deane F. (ed). *Fibronectin*. California: Academic Press, Inc; 1989. P 273-293.
30. **Clark-Richard AF.** Fibrin and wound healing. *Ann NY Acad Sci.* 2001; 936: 355-67.
31. **Corbett S, Lee L, Wilson C, Schwarzbauer J.** Covalent cross-linking of fibronectin to fibrin is required for maximal cell adhesion to a fibronectin-fibrin matrix. *J Biol Chem* 1997; 272:24999-25005.
32. **González RJ, García V.** Glicoproteínas de membrana plasmática de plaqueta. En: Antonio López Borrasca, Carmen L. Arocha P, Celso C. Campos G., Antonio Parreira, Santiago Pavlovsky, Guillermo Ruiz A., Jesús F. San Miguel (eds). *Enciclopedia Iberoamericana de Hematología*. Salamanca: Ediciones Universidad Salamanca; 1992. P 83-98.
33. **Apitz-C R.** Plaquetas, fisiología y fisiopatología. En: Pérez Requejo J.L (ed). *Hematología*. Caracas: Disinlimed 1995. P 773-794.
34. **Monroe D, Hoffman M, Robert H.** Platelets and thrombin generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:1381-1389.
35. **McMichael M.** Primary hemostasis. *J Vet Emerg Crit Care.* 2005; 15: 1-8.
36. **Nieswandt B, Offermanns S.** Pharmacology of platelet adhesion and aggregation. *HEP* 2004; 165:437-471.
37. **Ruggeri Z.** Platelets in atherothrombosis. *Nat Med* 2002; 8:1227-1234.
38. **Faull JR, Xiaoping D, Ginsberg HM.** Receptors on platelets. *Methods Enzymol* 1994; 245: 183-194.
39. **Bennett SJ.** Integrin structure and function in hemostasis and thrombosis. *Ann NY Acad Sci* 1991; 614:214-228.
40. **Ginsberg HM, Xiaoping D, O'Toole T, Loftus J, Plow E.** Platelet integrins. *Thromb Haemost* 1993; 70:87-93.
41. **Martínez J.** Integrinas del sistema endoplaquetario. En: Antonio López Borrasca, Carmen L Arocha P, Celso C. Campos G, Antonio Parreira, Santiago Pavlovsky, Guillermo Ruiz A, Jesús F. San Miguel (eds). *Enciclopedia Iberoamericana de Hematología*. Salamanca: Ediciones Universidad Salamanca; 1992. P 58-67.
42. **Shattil S, Ginsberg M, Brugge J.** Adhesive signaling in platelets. *Current Biology* 1994; 6:695-704.
43. **Kunicki T.** Platelet membrane glycoproteins and their function: An overview. *Blut* 1989; 59:30-34.
44. **Moon DG, Kaplan JE, Mazurkewicz JE.** The inhibitory effect of plasma fibronectin on collagen-induced platelet aggregation. *Blood* 1986; 67: 450-457.
45. **Cho J, Mosher D.** Enhancement of thrombogenesis by plasma fibronectin cross-linked to fibrin and assembled in platelet thrombi. *Blood* 2006; 107:3555-3563.
46. **Cho J, Degen J, Coller B, Mosher D.** Fibrin but not adsorbed fibrinogen supports fibronectin assembly by spread platelets. *J Biol Chem* 2005; 280:35490-35498.
47. **Matuskova J, Chauhan A, Cambien B, Astrof S, Dole V, Piffath C, Hynes R, Wagner D.** Decreased plasma fibronectin leads to delayed thrombus growth in injured arterioles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:1391-1396.
48. **Ni H, Yuen P, Papalia J, Trevithick J, Sakai T, Fässler R, Hynes R, Wagner D.** Plasma fibronectin promotes thrombus growth and stability in injured arterioles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:2415-2419.
49. **Mccarty O J, Zhao Y, Andrew N, Machesky L M, Staunton D, Frampton J, Watson P.** Evaluation of the role of platelet integrins in fibronectin-dependent spreading and adhesion. *J Thromb Haemost* 2004; 2:1823-1833.
50. **Dobrovolsky AB, Titaeva EV.** The fibrinolysis system: regulation of activity and physiologic functions of its main components. *Biochemistry (Mosc)* 2002; 67: 99-108.
51. **Elhasade Amal S, Perkowska-Francka A, Szmídt J, Gaciong Z.** Physiology of fibrinolysis. *Med Sci Monit* 1998; 4:555-563.
52. **Iwanaga S.** Bovine plasma cold-insoluble globulin: gross structure and function. *Ann NY Acad Sci* 1978; 312: 56-73.

53. **Giiboa N, Kaplan J E.** Plasma fibronectin enhances fibrinolytic system *in vitro*. *Thromb Haemost* 1985; 54: 639-644.
54. **Maruyama M, Sugiki M, Yoshida E, Shimaya K, Mihara H.** Broad substrate specificity of snake venom fibrinolytic enzymes. Possible role in haemorrhage. *Toxicon* 1992; 30:1387-1397.
55. **Kamiguti AS, Hay C, Theakston D, Zuzel M.** Insights into the mechanism of haemorrhage caused by snake venom metalloproteinases. *Toxicon* 1996; 34: 627-642.
56. **Arocha-Piñango CL.** Fibrinólisis producida por contacto con orugas: comunicación preliminar. *Acta Cient Venez.* 1967; 18: 136-139.
57. **Arocha-Piñango C L, Guerrero B.** Síndrome hemorrágico producido por contacto con orugas. Estudios clínicos y experimentales. Revisión. *Invest Clin* 2003; 44:155-163.
58. **Arocha-Piñango C L, Blumenfeld-Bosch N, Nouel Al, Torres A, Perales J, Alonso ME, Rodríguez S, Carvajal Z, Ojeda A, Tasayco M L, Chitty W.** Fibrinolytic and procoagulant agents from a saturninae moth caterpillar in: Pirkle H. and Markland Fs, (eds). *Marcel Dekker Inc. Pub. Hemostasis and animal venoms.* New York, 1998; P 223-240.
59. **Arocha-Piñango CL, Marsh NA, Robinson D.** Fibrinolysis following contact with a saturninae caterpillar. Problems related to fibrinolysis. *J Clin Pathol.*1972; 25:614-656.