



“BIBLIOTECA VIRTUAL”

www.carpermor.com

PROTEÍNA C Y PROTEÍNA S RESISTENCIA A LA PROTEÍNA C ACTIVADA
QFB.DANIEL RAZO. Laboratorio de Hematología

En condiciones fisiológicas, existe un equilibrio entre los mecanismos procoagulantes y anticoagulantes naturales. La hemostasia es una función que requiere de una regulación anti-trombótica para impedir que un coágulo se extienda mas allá de las necesidades fisiológicas. Debe autolimitarse, estar localizada y ser transitoria. Para ello existen sistemas que se encargan de la regulación anti-trombótica.

Mecanismos antitrombóticos fisiológicos

Mediadores antiplaquetarios

Prostaciclina (prostaglandina I₂)
Factor relajante derivado del endotelio
Ecto-ADPasa

Mediadores anticoagulantes

Antitrombina III
Cofactor II de heparina
Sistema de proteína C, proteína S, trombomodulina
Inhibidor de la vía del factor tisular
Heparán sulfato, dermatán sulfato

Mediadores fibrinolíticos

Plasminógeno
Activador tisular del plasminógeno
Activador del plasminógeno tipo urokinasa
Receptores de la superficie celular para los activadores del plasminógeno

Los estados trombofílicos se pueden dividir en:

1. Trombofilia primaria. Deficiencias hereditarias de los inhibidores naturales, antitrombina III, proteína C, proteína S y plasminógeno.
2. Trombofilia secundaria. Trastornos (adquiridos) en los que existe riesgo de trombosis por otros mecanismos en donde no hay defecto genético en la síntesis.

Carpermor
Laboratorio de Referencia Internacional
MEXICO



“BIBLIOTECA VIRTUAL”

www.carpermor.com

TROMBOFILIA PRIMARIA

Es una condición clínica en donde existe incremento a la tendencia para desarrollar trombosis por defecto en la función o en la síntesis de los anticoagulantes naturales.

Actualmente las causas de trombofilia pueden ser explicadas por deficiencias y defecto familiares las cuales se resumen en la siguiente tabla.

Resistencia a la proteína C activada	20-40 %
Anormalidades de la fibrinólisis	10-15 %
Deficiencia de FII	10 %
Deficiencia de Proteína C	2-5 %
Deficiencia de Proteína S	2-5 %
Deficiencia de Antitrombina III	2-4 %
Anticuerpos antifosfolípidos	2-3 %
Deficiencia de plasminógeno	1-2 %
Deficiencia de cofactor II de heparina	1 %
Anormalidades del fibrinógeno	1 %

TROMBOFILIA ADQUIRIDA

Las enfermedades tromboembólicas que ocurren en pacientes mayores de 50 años se asocian a factores de riesgo como cáncer, obesidad, insuficiencia cardíaca, traumatismos en miembros inferiores, inmovilización prolongada y cirugía entre otros. Además se agrega factores de riesgo como la edad, sobrepeso, extensión y duración de la cirugía, tipo de tumor y antecedentes trombóticos.

PROTEÍNA C Y S

En 1960 Mammen y col. demostraron que un inhibidor de la coagulación sanguínea, llamado autoprotrombina IIa, se generaba por acción de la trombina. En 1976 Stenflo aisló una nueva proteína dependiente de vitamina K a la cual llamó proteína C. Subsecuentemente Seegers y col. mostraron evidencias inmunológicas de que el componente descrito como autoprotrombina IIa y el designado como proteína C era la misma proteína.

Carpermor
Laboratorio de Referencia Internacional
MEXICO



“BIBLIOTECA VIRTUAL”

www.carpermor.com

ESTRUCTURA DE LA PROTEÍNA C

La proteína C humana es una glicoproteína del plasma vitamina-K dependiente con un peso molecular (PM) de 62,000d. La proteína C consiste de una cadena pesada con PM 41,000d y una cadena ligera de PM 21,000d las cuales están unidas por un solo puente disulfuro. Es sintetizada por el hígado y circula en el plasma humano a una concentración de aproximadamente 4 $\mu\text{g/mL}$. Se ha identificado que el zimógeno de una sola cadena constituye casi el 20% del total de la proteína C circulante en el humano. Esto sugiere que el zimógeno inicialmente es sintetizado como un polipéptido de cadena simple y subsecuentemente es cortado para generar una estructura de dos cadenas. Existen dos formas de la molécula de la proteína C, α y β las cuales están formadas por diferentes cantidades de carbohidratos. Todas las formas pueden ser activadas y presentan acción anticoagulante.

Tanto la proteína C como la proteína C activada tienen residuos de ácido γ -carboxiglutámico, en la región amino terminal de la cadena ligera. Estos residuos se requieren para el enlace dependiente de calcio a la membrana celular.

Para realizar su función anticoagulante, la proteína C humana es convertida a un componente con actividad de proteasa de serina, la proteína C es activada por la trombina unida a trombomodulina en el endotelio vascular en presencia de iones calcio. El sitio activo de residuo de serina en la proteína C activada se encuentra sobre la cadena pesada. De manera similar a otras proteasas de tripsina, la proteína C activada tiene especificidad por residuos que contienen arginina como el factor VIIIa y el factor Va.

ESTRUCTURA DE LA PROTEÍNA S

La proteína S humana es una glicoproteína vitamina-K dependiente con un PM 70,000d que es sintetizada por los hepatocitos, células del endotelio vascular y megacariocitos. La proteína C forma un complejo con la proteína S sobre las plaquetas o las membranas de las células endoteliales, así entonces el complejo cataliza la inactivación de factor VIIIa y factor Va. En el plasma humano la proteína S se encuentra normalmente a una concentración de 20 a 25 $\mu\text{g/mL}$. Aproximadamente el 60% de la proteína S se enlaza

Carpermor
Laboratorio de Referencia Internacional
MEXICO



“BIBLIOTECA VIRTUAL”

www.carpermor.com

reversiblemente a un componente regulador de la vía clásica del complemento, la proteína transportadora de C4b, el otro 40% se encuentra libre. Solo la forma libre de la proteína S funciona como un cofactor para la proteína C activada.

La proteína transportadora de C4b (PM 570,000d) está presente en el plasma normal a una concentración aproximadamente de 150 µg/mL. Es una proteína multimérica con apariencia de telaraña en el análisis de microscopía electrónica. La proteína S unida a la proteína transportadora C4b retiene la habilidad de interactuar con la proteína C activada, por tanto inhibe competitivamente la actividad anticoagulante de la proteína S libre.

En contraste a otras proteínas vitamina-K dependientes la proteína S no es un zimógeno.

	Peso molecular	Concentración plasmática
Proteína C	62,000d	4 mg/mL
Proteína S	70,000d	20-25 mg/mL
C4b-bp	570,000d	150 mg/mL
Trombomodulina	100,000d	Proteína del endotelio

MECANISMO DE GENERACION DE PROTEÍNA C ACTIVADA

La trombina es la única proteasa de serina que es importante fisiológicamente que convierte cantidades importantes de proteína C a proteína C activada. Sin embargo la velocidad de generación de proteína C activada es extremadamente lenta cuando la sangre coagula *in vitro*. Esto permitió demostrar la presencia de un cofactor en la microcirculación coronaria que acelera la activación de proteína C trombina-dependiente hasta 20,000 veces. En cultivo de células endoteliales también se demostró que hay un sitio de alta afinidad para la trombina, que mejora la conversión de proteína C a proteína C activada hasta 30 veces comparándola con trombina libre. La proteína de la célula endotelial posteriormente se purificó y se le llamó trombomodulina.

La trombomodulina (PM 100,000d) forma un complejo 1:1 con la trombina, permitiendo entonces la rápida conversión de proteína C a proteína C activada.

Carpermor
Laboratorio de Referencia Internacional
MEXICO



“BIBLIOTECA VIRTUAL”

www.carpermor.com

La interacción de trombina con trombomodulina induce un cambio conformacional reversible en la enzima que permite activar a la proteína C rápidamente en presencia de iones calcio. Además el complejo trombina-trombomodulina disminuye la habilidad de coagular al fibrinógeno, activar al factor V o disparar la activación plaquetaria. De esta manera la trombomodulina tiene la habilidad para acelerar la velocidad de la conversión de proteína C dependiente de trombina así como inhibir parcialmente la actividad procoagulante de la enzima.

MECANISMO DE ACCION DE LA VIA ANTICOAGULANTE DE LA PROTEÍNA C Y S

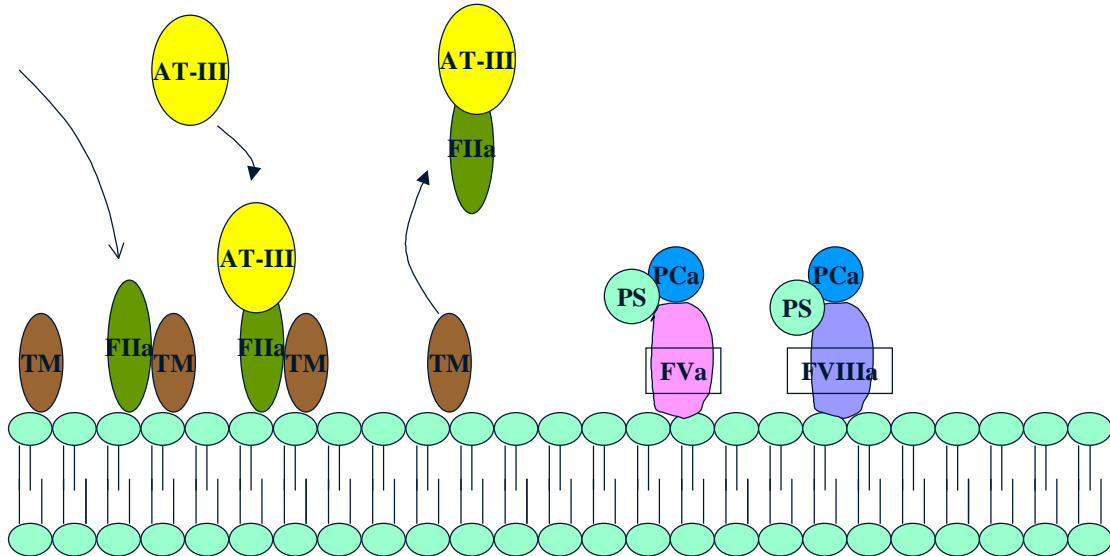
Hay aproximadamente 100,000 moléculas de trombomodulina por célula endotelial vascular. En los microvasos, la superficie del endotelio en contacto con la sangre es considerablemente mayor que en los vasos grandes. De esta manera la activación de la proteína C ocurre primariamente en la microvasculatura. La trombina enlazada a la trombomodulina forma complejos mas rápidamente con antitrombina-III que con trombina libre. Después que la trombina interactua con antitrombina-III, el complejo se disocia de trombomodulina permitiendo que se enlace mas trombina. Se ha evidenciado que la trombina unida a trombomodulina es internalizada por la célula, pero es controversial aun la importancia de esta acción.

Carpermor
Laboratorio de Referencia Internacional
MEXICO



“BIBLIOTECA VIRTUAL”

www.carpermor.com



Una vez que es activada la proteína C puede inactivar a dos cofactores de la coagulación, el factor VIIIa y Va mediante proteólisis. Los factores no activados (VIII y V) son relativamente resistentes a la proteólisis.

La proteína S esta involucrada en la destrucción de factor V y factor VIII dependiente de proteína C activada, mejorando el enlace de la proteína C activada a las membranas, aumentando la acción enzimática hasta cuatro veces. Se requiere de proteína S libre para que la proteína C tenga actividad anticoagulante en el plasma. La proteína C y S forman un complejo 1:1 en presencia de calcio y una superficie de fosfolípidos. Se ha identificado recientemente que algunos pacientes presentan resistencia a la acción de los efectos anticoagulantes de la proteína C activada. En estos se ha encontrado que hay un defecto molecular en el factor V (posición arg506) el cual le confiere resistencia a la acción de la proteína C activada.

Carpermor

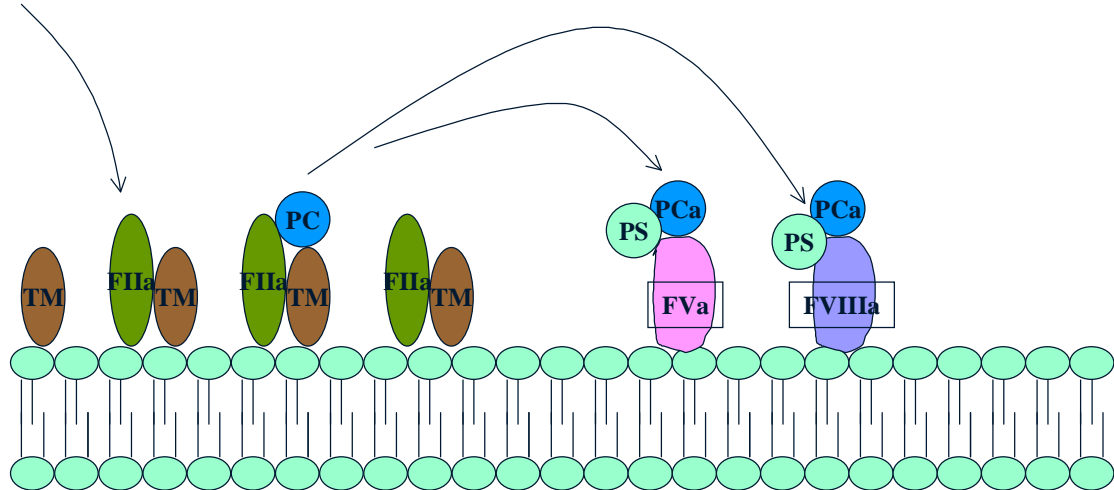
Laboratorio de Referencia Internacional

MEXICO



“BIBLIOTECA VIRTUAL”

www.carpermor.com



La proteína C activada es eliminada de la circulación en aproximadamente 15 minutos. Es neutralizada por varias proteasas en el plasma humano, un inhibidor de proteasa (PM 57,000d) llamado inhibidor de proteína C, α 1-antitripsina, α 2-macroglobulina, α 2-antiplasmina y PAI-1. Estos inhibidores neutralizan a la proteína C activada de manera lenta, aunque la actividad de la proteína C se mejora con la presencia de altas concentraciones de heparina. Los complejos proteína C-inhibidor son capturados por receptores hepáticos y catabolizados enzimáticamente en el hígado.

DEFICIENCIA DE PROTEÍNA C

La deficiencia de proteína C heterocigota es heredada en forma autosómica dominante, mientras que las formas más severas de deficiencia de proteína C son desordenes autosómicos recesivos.

Los dos mayores subtipos de deficiencia de proteína C heterocigota se han delineado utilizando pruebas inmunológicas y funcionales.

Carpermor

Laboratorio de Referencia Internacional

MEXICO



“BIBLIOTECA VIRTUAL”

www.carpermor.com

Resultados de pruebas en deficiencia de proteína C heterocigota

Tipo	Antígeno	Actividad	
		Amidolítica	Coagulante
I	Bajo	Baja	Baja
II	Normal	Baja	Baja
	Normal	Normal	Baja

La deficiencia I es la forma más común y se caracteriza por la reducción, de la actividad biológica e inmunológica (antígeno) hasta por un 50% de lo normal. Los estudios en los defectos genéticos en las deficiencias familiares han demostrado un gran número de diferentes mutaciones en el gen de la proteína C.

**RESISTENCIA A LA PROTEÍNA C
ACTIVADA**

La resistencia a la proteína C activada es un defecto heredado autosómico dominante, es el desorden de la coagulación más comúnmente heredado.

La observación original se hizo en una persona de sexo femenino nacida en 1942 y con múltiples episodios de trombosis venosa profunda.

La principal causa de resistencia a la proteína C activada es una mutación puntual en el gen del factor V de la coagulación. Esta mutación resulta del cambio de arginina por ácido glutámico en la posición 506 del factor V activado, precisamente este es el sitio de acción de la proteína C activada, esto evita la degradación de factor V.

Durante los últimos 25 años ha habido considerables progresos en el diagnóstico tratamiento y prevención de la trombosis venosa.

La trombosis venosa frecuentemente no presenta síntomas clínicos y no se descubre hasta que hay daño secundario. Se pueden presentar trastornos

Carpermor
Laboratorio de Referencia Internacional
MEXICO



“BIBLIOTECA VIRTUAL”

www.carpermor.com

circulatorios y o úlceras en las piernas. Un trombo móvil puede llegar a producir embolismo que puede llevar a la muerte al paciente.

La trombofilia usualmente se presenta como trombosis venosa o trombosis venosa recurrente en pacientes menores a 45 años. En estos pacientes es necesario documentar la historia clínica personal y familiar.

A los pacientes con posible anomalía trombofílica se les debe realizar los siguientes estudios de laboratorio además de la historia clínica:

	TIPO DE PRUEBA	CODIGO DE LA PRUEBA
PRUEBAS DE INICIO	TIEMPO DE SANGRADO	
	TIEMPO DE PROTROMBINA	17032
	TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA	17035
	TIEMPO DE TROMBINA	17036
	FIBRINÓGENO	17011
PRUEBAS ADICIONALES	RESISTENCIA A LA PROTEÍNA C ACTIVADA	17079
	ANTICOAGULANTE LÚPICO	17048
	ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS	22124
	PLASMINÓGENO	17067
	PROTEÍNA C	17053
	PROTEÍNA S	17054
	ANTITROMBINA III	17052

Bibliografía

Bertina MR, Koeleman PC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, De Ronde H, Van der Velden PA, Reitsma PH: Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. Nature Vol. 369, 1994: págs. 64-67.

Beutler E, Lichtman MA, Coller SB, Kipps TJ: Williams. Hematology, McGraw Hill. Fifth Edition 1995, págs. 1531-1540, 1243-1246.

Dahlbäck B: Inherited thrombophilia: Resistance to activated protein C as a pathogenic factor of venous thromboembolism. Blood, Vol. 85 No. 3, 1995. Págs. 607-614.

Carpermor

Laboratorio de Referencia Internacional

MEXICO



“BIBLIOTECA VIRTUAL”

www.carpermor.com

De Ronde H. Bertina RM: Laboratory diagnosis of APC-Resistance: A critical evaluation of the test and the development of diagnostic criteria. Thrombosis and haemostasis. Vol 72 No. 6, 1994. Pags. 880-886.

Martinez-Murillo C, Quintana-Gonzalez S: Manual de Hemostasia y trombosis. Editorial Prado. 1996, págs. 333-347.

Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP, Reitsma PH: High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (Activated protein C resistance). Blood Vol. 85 No. 6, 1995: pags. 1504-1508.

THROMBOPHILIA: Mayor steps towards understanding. CHROMOGENIX, 1997.

Vase M, Leduc O, Borg JY, Crétien MH, Monconduit M: Resistance to activated protein C: Evaluation of tree functional assays. Thrombosis Research Vol. 76, No. 1, 1994. pags. 47-59.

“El mundo no es un parque de diversiones, sino un ambiente de trabajo.

No es un día festivo que se nos dio para descansar, sino un curso intensivo de aprendizaje.”

*Minutos de sabiduría
C. Torres Pastorino*

Carpermor
Laboratorio de Referencia Internacional
MEXICO