

Deficiencia de la antitrombina III, la proteína C la proteína S y resistencia a la proteína C activada en pacientes con trombosis venosa profunda

Mauricio Orrego, Leonor Alvarez, Francisco Cuéllar · Medellín, Colombia

Objetivo. Establecer la frecuencia de la deficiencia de la antitrombina III (Ant III), proteína C, proteína S y de la resistencia a la proteína C activada (RPCA) en pacientes con trombosis venosa profunda (TVP).

Diseño. Estudio prospectivo descriptivo desde julio de 1995 a julio de 1997.

Lugar. Salas de medicina interna y consulta de anticoagulación del Hospital San Vicente de Paúl.

Pacientes. Se estudiaron 17 pacientes menores de 45 años con TVP confirmada por dúplex o pletismografía venosa. Los criterios de exclusión fueron: ser mayor de 45 años, tener síndrome nefrótico o hepatopatía, o estar anticoagulado.

Intervención. Se hizo medición cuantitativa de la Ant III (valor de referencia (VR): 88-131%), la proteína C (VR: 66-129%) y la proteína S (VR: 61.9-145.3%). La RPCA se determinó por la medición del tiempo de coagulación en el plasma en respuesta a la proteína C activada. El APTT se determinó en presencia y ausencia de la proteína C activada. El resultado se expresó como una razón entre dos tiempos de coagulación (APTT1/APTT2) y se consideró la presencia si dicha razón era menor o igual a 2.

Resultados. La edad promedio fue de 32.05 años. El 70.5% fueron mujeres.

La frecuencia de la deficiencia de la Ant III y de la proteína C en 17 pacientes fue de 5.88%. En 16 pacientes la frecuencia de la deficiencia de la proteína S fue de 6.25% y de la RPCA 37.5%.

Conclusiones. La RPCA fue la causa más común de trombofilia en los pacientes estudiados. Las frecuencias de las deficiencias de estas proteínas y la RPCA concordaron con lo publicado en la literatura.

En nuestro medio se deberían estudiar los pacientes para trombofilia heredada si la TVP ocurre en personas menores de 45 años, especialmente la RPCA. (*Acta Med Colomb* 199;24:84-88).

Palabras clave: Antitrombina III, proteína C, proteína S, resistencia a la proteína C activada, frecuencias.

Introducción

La trombosis venosa profunda (TVP) es una entidad frecuente, con una incidencia anual de 1 por 1.000 en la población general (1), con factores de riesgo bien reconocidos como son la edad avanzada, el reposo prolongado, la historia previa de trombosis, una cirugía reciente, el embarazo, las neoplasias malignas, el trauma tisular y los estados trombofílicos heredados como son las deficiencias de antitrombina III (Ant III), proteína C o proteína S, la resistencia a la proteína C activada (RPCA), y las adquiridas que incluyen el síndrome antifosfolípido (SAF) y otras menos frecuentes (2, 3, 8, 9, 10, 16).

Los déficit de antitrombina III, proteína C y proteína S se consideraron hasta hace unos años como la forma más frecuente de las trombofilias heredadas (1, 11, 12, 13, 14). La prevalencia de estas anomalías de la coagulación en

Dr. Mauricio Orrego: Internista, Docente Ocasional; Lic. Leonor Alvarez: Bacterióloga, Sección de Hematología; Dr. Francisco Cuéllar: Internista Hematólogo, Profesor Titular. Departamento de Medicina Interna, Universidad de Antioquia, Medellín. Fuentes de financiación: Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) Universidad de Antioquia.

Ganador del premio "Al mejor trabajo de investigación clínica realizado por residentes" otorgado durante el XV Congreso Colombiano de Medicina Interna, Cartagena de Indias, octubre 1998.

pacientes con TVP, sin criterios de selección previos, es del 10.5%; cuando hay historia familiar de trombosis se aumenta al 14-15%, y cuando se inicia antes de los 45 años y existe historia familiar es del 18-20% (4).

En un estudio cooperativo uruguayo se reportó una incidencia de 7.7% en la deficiencia de Ant III, 26.3% en la deficiencia de la proteína C y 7% en la deficiencia de proteína S, en eventos tromboticos en general (5).

En nuestro medio se informó la frecuencia de la deficiencia de Ant III en el 6.8%, en una población con fenómenos tromboembólicos (6)

Desde 1993 la RPCA se describió como un factor de riesgo para trombosis (17). Varios estudios han mostrado una prevalencia entre 20% y 60% en los pacientes con trombosis (7, 14,15,16, 20).

Nuestro objetivo fue determinar la frecuencia del déficit de Ant III, proteína C, proteína S y de RPCA en pacientes con diagnóstico de TVP en nuestro medio.

Metodología

Se realizó un estudio descriptivo prospectivo a dos años iniciando la evaluación en julio de 1995 y finalizando en julio de 1997, en pacientes de salas de medicina interna y de la consulta de anticoagulación del Hospital Universitario San Vicente de Paúl de Medellín.

Se estudiaron pacientes menores de 45 años con TVP confirmada. Se excluyeron pacientes con TVP que estuvieran anticoagulados con heparina o warfarina, pacientes con síndrome nefrótico o hepatopatía y pacientes mayores de 45 años.

Los pacientes incluidos fueron sangrados sin torniquete; se recogió la muestra de 9 cc de sangre con 1 cc de anticoagulante (Citrato de Na 0.1 M), se centrifugó a 3.500 rpm durante 10 minutos y se almacenó a -20 grados centígrados en un refrigerador localizado en el servicio de hematología.

La medición de los niveles plasmáticos de antitrombina III, proteína C y proteína S se realizó por método cuantitativo en el ACL 200 (Automated Coagulation Laboratory) con los reactivos de Instrumentation Laboratory (IL). Las mediciones se hicieron en plasma citratado congelado, pobre en plaquetas, el cual fue descongelado a 37 grados centígrados esperando 15 minutos antes de realizar la prueba.

La medición de Ant III se hizo con base en una prueba cromogénica, que determina el cofactor II de la heparina. Se consideró como rango normal entre 88 y 131% de acuerdo con un estudio de casos sanos (18).

La medición de la proteína C se basa en la prolongación de la prueba de APTT. El rango normal con este método en casos sanos se estableció entre 66 y 129%(18).

La actividad de la proteína S libre se hizo por la medición del tiempo de coagulación en un sistema que incluye tromboplastina bovina, proteína C activada y calcio. En sujetos sanos se considera normal en un rango entre 61.9 y 145.3% (18).

La RPCA es determinada por la medición de la prolongación del tiempo de coagulación en el plasma en respuesta a la proteína C activada. En esta prueba, el APTT es determinado en la presencia (APTT 1) y en ausencia (APTT2) de la proteína C activada. El resultado es expresado como una razón de dos tiempos de coagulación (APTT1/APTT2). Se utilizó el ACTICLOT APC de American Diagnostica Inc. Se consideró como normal si el promedio era mayor de 2 y la presencia de la resistencia si era menor o igual a 2 (19, 21).

Resultados

Se estudiaron 17 pacientes durante un período de dos años, todos con TVP de miembros inferiores confirmada. Se obtuvo la muestra de pacientes hospitalizados en salas de medicina interna y de la consulta de anticoagulación, todos con consentimiento escrito para participar en el trabajo.

La edad osciló entre 19 y 43 años con una media de 32.05. Doce fueron mujeres (70.5%) y el resto hombres (29.5%). Durante el evento trombotico agudo se estudiaron los niveles plasmáticos de Ant III y proteína C en seis pacientes y de proteína S en cinco pacientes; posteriormente se repitieron cuando fue posible, y necesariamente después de haber cumplido con el tratamiento anticoagulante por espacio de tres meses como mínimo. Once pacientes se estudiaron en el periodo posttrombotico que osciló entre uno y siete años y todos sin anticoagulación.

Se encontró un nivel plasmático bajo de Ant III sólo en uno de los pacientes analizados (Tabla 1).

Se detectaron niveles plasmáticos bajos de la proteína C en dos pacientes durante el fenómeno trombotico agudo. Cuando se midieron los niveles después de la trombosis no se encontraron bajos en ninguno de ellos. Un paciente estudiado en el periodo posttrombotico tuvo niveles bajos de esta proteína (Tabla 2).

Durante el evento trombotico agudo se observaron niveles plasmáticos bajos de proteína S en dos pacientes. Hubo mejoría de los niveles en un paciente cuando se analizaron

Tabla 1. Niveles plasmáticos de Ant III en porcentaje. (Valor de referencia: 88-133%).

Trombosis	Posttrombosis
144	-
138	-
147	138
133	-
131	136
101	-
-	138
-	87
-	123
-	133
-	134
-	132
-	135
-	96
-	107
-	126
-	103

Tabla 2. Niveles plasmáticos de proteína C en porcentaje. (Valor de referencia: 66-129%).

Trombosis	Posttrombosis
222	-
77	-
48	96
73	-
38	98
80	-
-	122
-	63
-	112
-	75
-	98
-	102
-	83
-	93
-	113
-	93
-	94

después de la trombosis. La otra paciente no se pudo estudiar posteriormente porque se le detectó un anticoagulante lúpico y necesitó continuar anticoagulada. En los pacientes posttrombosis no se encontró anomalía en los niveles plasmáticos de proteína S (Tabla 3).

El análisis de la RPCA se hizo en el periodo posttrombótico en 16 pacientes. El otro no se pudo estudiar porque estaba anticoagulado. Se detectaron seis casos de RPCA, demostrando una frecuencia de 37.5% (Tabla 4).

Los factores de riesgo encontrados en el grupo estudiado fueron: reposo en tres pacientes (17.6%), el embarazo incluyendo el puerperio en tres pacientes (17.6%), antecedente de ingesta de anticonceptivos en cuatro pacientes (23.52%) y trombofilia adquirida representada por un anticoagulante lúpico en un paciente (5.88%). No hubo antecedentes personales de TVP. En la evaluación de los antecedentes familiares sólo un paciente tuvo un antecedente de TVP en miembros inferiores en un familiar de primer grado (5.88%).

No se encontraron anomalías en la evaluación de las transaminasas ni se detectó proteinuria en rango nefrótico en ninguno de los pacientes.

La TVP se confirmó por medio de dúplex venoso en 10 pacientes (58.82%) y por pletismografía venosa en siete (41.17%).

Discusión

La TVP es una entidad frecuente, con una incidencia anual de 1 por 1.000 en la población general (1). Por lo menos el 80% de los pacientes con trombosis tiene una causa definida. El 50% de éstos tiene una condición clínica que lleva a trombosis y el otro 50% tiene un defecto proteico adquirido o hereditario que causa trombosis.

A pesar de los grandes progresos en el entendimiento de la coagulación, la causa de la TVP en pacientes menores de 45 años no se identifica en la mayoría de los casos (1,4).

Pretendimos analizar la frecuencia de las deficiencias de Ant III, proteína C, proteína S y de la RPCA en un grupo de pacientes con TVP de miembros inferiores, menores de 45 años y en un período de dos años, bien sea durante la hospitalización con la trombosis aguda y luego ambulatoriamente, o después del evento trombótico en un tiempo variable.

La edad promedio fue de 32.05; esto podría indicar que se pueda encontrar más frecuentemente en esta población una trombofilia congénita (7).

La frecuencia de la deficiencia de Ant III fue del 5.88%. La paciente con esta deficiencia no se estudió durante el fenómeno trombótico agudo, lo que descarta un posible consumo por la trombosis; no tenía compromiso hepático ni renal. A pesar de que había tomado anticonceptivos cuando tuvo su trombosis, los había suspendido hacía varios años cuando se analizaron los niveles plasmáticos de Ant III lo que descartaría otra posible causa secundaria. No tuvo antecedentes personales ni familiares de trombosis, dos condiciones que nos sugieren causas heredadas de trombofilia. La

Tabla 3. Niveles plasmáticos de la proteína S en porcentaje. (Valor de referencia: 61.9-145.3%).

Trombosis	Posttrombosis
27	-
-	-
55	68
108	-
74	64
113	-
-	89
-	108
-	140
-	94
-	69
-	77
-	120
-	112
-	85
-	76
-	77

Tabla 4. Resistencia a la proteína C activada.

Promedio tiempo de coagulación (<2)
2.05
-
2.69
2.74
1.35
2.36
2.12
2.60
1.46
1.90
1.67
1.28
2.08
2.68
2.18
2.13
1.66

edad al momento de su trombosis fue 34 años, condición que puede sugerir una causa congénita.

Con todo el análisis anterior se puede pensar que se trata de una causa primaria, probablemente congénita. Para una mejor evaluación se debe estudiar a la familia y hacer un análisis cuantitativo de la Ant III para una clasificación de su deficiencia.

La frecuencia de la deficiencia de la proteína C fue del 5.88%. Se observó como hubo disminución de los niveles plasmáticos de esta proteína durante el evento trombótico agudo en dos pacientes con mejoría en la evaluación posttrombótica. Esto nos reafirma que puede existir consumo de estas proteínas durante una trombosis aguda (7) y por esto es necesaria la evaluación posterior para evitar falsos positivos. Se detectó la deficiencia en la misma paciente con la deficiencia de Ant III; la paciente no tenía causas secundarias aparentes.

Se debería realizar, para una mejor evaluación, un estudio familiar y un análisis cuantitativo para una clasificación de la deficiencia.

Está descrito también que algunos pacientes pueden tener deficiencias congénitas asociadas de estas proteínas y generalmente con fenómenos trombóticos más severos (15). Observamos una paciente con deficiencia de la proteína C y Ant III combinadas.

La frecuencia de la deficiencia de la proteína S fue de 6.25%. Se detectó un caso durante el evento trombótico agudo con mejoría posterior a la trombosis. El otro caso se evidenció durante el fenómeno trombótico agudo sin lograrse estudiar posteriormente porque el paciente necesitó continuar anticoagulado debido a la presencia de un anticoagulante lúpico. Este caso se consideró como positivo pero queda el interrogante si en realidad se trata de una deficiencia primaria o secundaria, pues no se pudo estudiar posteriormente al fenómeno y pudo haber consumo de esta proteína durante la trombosis. Además, tenía un anticoagulante lúpico como parte de un síndrome antifos-

folípido primario que pudo haber contribuido a la trombosis o ser su desencadenante.

Se recomienda realizar un estudio familiar para determinar una posible causa hereditaria.

La frecuencia de estas deficiencias está de acuerdo con lo descrito en la literatura en pacientes jóvenes con TVP (4, 5), pero no se pueden considerar como causas primarias hasta que no se haga una mejor evaluación.

La RPCA se detectó en seis pacientes con una frecuencia 37.5%. Esta frecuencia está de acuerdo con lo descrito en la literatura (15).

De los pacientes afectados uno tenía un antecedente de TVP en un familiar de primer grado, lo que apoya una posible causa hereditaria en este paciente.

Dos pacientes tenían historia de ingesta de anticonceptivos cuando presentaron la trombosis. Es conocido el aumento del riesgo de trombosis en las pacientes que toman anticonceptivos orales y tienen una RPCA (15).

Una paciente estaba en el puerperio temprano cuando sufrió la trombosis. También se ha descrito que el embarazo aumenta el riesgo de trombosis en las pacientes con RPCA (15).

En estos pacientes con RPCA se debería confirmar si existe la mutación por análisis del DNA por PCR (reacción de cadena de polimerasa), ya que se ha notado una asociación del 90-95% en pacientes con trombosis y RPCA, y la presencia de la mutación en el alelo del factor V:Q (15).

En la evaluación clínica no se demostraron estigmas de hepatopatía en ninguno de los pacientes estudiados. No se evidenció una alteración en las transaminasas y tampoco hubo prolongación del TP, como tampoco se detectó proteinuria en rango nefrótico en ningún paciente. Lo anterior nos da una idea de la baja probabilidad de un compromiso hepático y la exclusión de una causa secundaria de deficiencia de estas proteínas estudiadas.

En conclusión, no se deberían estudiar los pacientes durante el fenómeno trombotico agudo porque hasta un 17.6% puede tener deficiencias transitorias de proteínas C y S como demostramos en nuestro estudio.

Para una mejor caracterización de los pacientes con las deficiencias encontradas se recomienda estudiar la familia y los niveles antigénicos de éstas para clasificar el tipo de deficiencia.

La RPCA se encontró asociada en un alto porcentaje con trombofilia en los pacientes estudiados (oscila entre un 20 a un 60% en los pacientes con trombosis) según datos recientes.

En los pacientes con RPCA, el embarazo y el uso de anticonceptivos se encontraron como factores de riesgo circunstanciales hasta en un 50%. Esto sugiere que se puede tener la predisposición al fenómeno trombotico y otras condiciones favorecen la trombosis.

Lo ideal sería conocer nuestros rangos de referencia para el análisis de las deficiencias de estas proteínas y de la resistencia a la proteína C activada.

Creemos que en nuestro medio se debería estudiar a los pacientes para trombofilia heredada si la trombosis venosa ocurre antes de los 45 años, ya que a pesar del poco número de pacientes encontramos unas frecuencias muy cercanas a lo descrito. Esto especialmente referido al estudio de la RPCA.

Summary

Objective: to establish the frequency of Antithrombin III (ANT III), protein C, protein S and the activated protein C resistance (APCR) in patients with deep venous thrombosis (DVT).

Type of study: prospective descriptive study from July 1995 to July 1997.

Patients: we studied 17 patients under the age of 45, with DVT that was confirmed by venous duplex or pletismography. The exclusion criteria were: older than 45 years old or equal, nephrotic syndrome or hepatic disease, or to be under anticoagulation therapy.

Intervention: ANT III (normal value (nv):88-131%), protein C (nv:66-129%), protein S (nv:61.9-145.3%) levels were quantitatively measured. The APCR was determined by the measurement of the coagulation time in plasma as a response to the activated C protein. The APTT was determined in the presence and absence of activated C protein. The results were expressed as a ratio of two coagulation times (APTT1/APTT2) and it was considered present if the ratio was less than or equal to 2.

Results: the average age was 32.05 years. 70.5% were women. The frequency of ANT III and protein C deficiency in 17 patients was of 5.88%. In 16 patients the frequency of protein S deficiency was 6.25% and 37.5% of APCR.

Conclusions: APCR was the most common cause of thrombophilia in the patients studied. The frequencies of deficiencies of the APCR and these proteins were similar to those published in the literature.

We suggest the screening of patients for hereditary thrombophilia if DVT occurs in those under the age of 45 and especially in the presence of APCR.

Key words: Antithrombin III, protein C, protein S, Resistance to the activated C protein.

Agradecimientos

Al Dr Fabián Jaimes por la revisión del trabajo.

Referencias

1. Heijboer H, Brandjes D, Büller H, et al. Deficiencies of coagulation- inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1990;323:1512-1516.
2. Weinmann EE, Salzman EW. Deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1994;331:1630-1641.
3. Coccheri S, Palareti G. Pro-thrombotic states and their diagnosis. *Ann Ital Med Int* 1994;9:16-21.
4. Fonteberta J. Perspectives in the biological study of venous thrombotic diseases (Abstract). *Haemostasis* 1994;24:91.
5. Otero AM, Novoa JC, Steffano B, Zuchi MA, Cotic C, De Bellis R. Thrombotic disease in a population of two hundred young patients. An Uruguayan Cooperative Study (Abstract). *Haemostasis* 1994;24:31.

6. **Cuéllar F, Karduss A, Alvarez L, et al.** Deficiencia de antitrombina m en pacientes con eventos trombóticos (abstract). *Acta Med Colomb* 1994;**19**(4)(supl).
7. **Bick LR.** Hipercoagulability and thrombosis. *Med Clin North Am* 1994;**24**:155-164.
8. **Baker FW, Bick LR.** Deep vein thrombosis. *Med Clin North Am* 1994;**78**:685-712.
9. **Nicoloides AN, Irving D.** Clinical factors and the risk of deep venous thrombosis. In: Nicolaides AN, ed. *Thromboembolisms: etiology, advances in prevention and management*. Baltimore: University Park Press; 1975:193-207.
10. **Eby SC.** A review of the hypercoagulable State. *Hemat Oncol Clin North Am* 1993;**7**:1121-1142.
11. **Thaler F, Lechner K.** Antithrombin III deficiency and thromboembolism. *Clin Haematol* 1981;**10**:369-90.
12. **Deniers C, Ginsberg SJ, Hirsh J, Henderson P, Blaschman M.** Thrombosis in antithrombin III deficient persons. *Ann Intern Med* 1992;**116**:754-761.
13. **Broze GJ, Miletich JP.** Biochemistry and physiology of protein C, protein S and thrombomodulin. In: Colman RW, Hirs J, Mander UJ, Salzmans EW, eds. *Hemostasis and Thrombosis: basic principles and clinical practice*. Philadelphia: J.B. Lippincott; 1994:259-276.
14. **Hillarp A, Zöller B, Dahlbäck B.** Activated protein C resistance as a basis for venous thrombosis. *Am J Med* 1996;**101**:534-540.
15. **Hillarp A, Dahlbäck B, Zöller B.** Activated protein C resistance: from phenotype to genotype and clinical practice. *Blood Rev* 1995;**4**:201-12.
16. **Vicente V, Lozano M, Rivera J.** Estados de hipercoagulabilidad. *Clinicas Médicas de España* 1996;**3**:27-51.
17. **Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ.** Familial thrombophilia due to a previous and unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;**90**:1004-1008.
18. **JF CC Committee report.** *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;**21**:749-760.
19. **Zehnder JL, Benson RC.** Sensitivity and specificity of the APC resistance assay in detection of individuals with factor V Leiden. *Am J Clin Pathol* 1996;**106**:107-111.
20. **Hirsch DR, Mikkola KM, Mauks PW.** Pulmonary embolism and deep venous thrombosis during pregnancy or oral contraceptive use: prevalence of factor V Leiden. *Am Heart J* 1996;**131**:1145-8.
21. **Dahlbäck B.** Inherited resistance to activated protein C, a major cause of venous thrombosis, is due to a mutation in the factor V gene. *Haemostasis* 1994;**24**:139-51.