



**LABORATORIO DE MEDICINA**  
ANÁLISIS CLÍNICOS | Dr. Raul Gutman

## Inhibidores Naturales del Sistema de Coagulación Sanguínea

 11 min.



Los eventos tromboticos se deben, según los autores de este artículo, a diversas causas, este trabajo realizado por la Dra. Susana Ouviaña y las Bioquímicas Aurora Díaz y Eugenia Almagro del sector Hematología y Hemostasia del Laboratorio de Medicina se refieren particularmente al

déficit hereditario de los inhibidores naturales del sistema de coagulación sanguíneo. Destacan la importancia de las pruebas de hemostasia y trombosis que permiten orientar y fundamentar el diagnóstico clínico y un tratamiento adecuado



Susana Ouviaña (1), Aurora Díaz (2), Eugenia Almagro(2)

1. Doctora de la Universidad de Buenos Aires, área Química Biológica, FCEyN.
2. Bioquímica, FFyB, Universidad de Buenos Aires.

Sector Hematología y Hemostasia  
Laboratorio de Medicina



E-mail: [direcciontecnica@labmedicina.com](mailto:direcciontecnica@labmedicina.com)

**GEMATEC**  
equipamiento para medicina 

### Radiometer Analizador de Inmunoensayo AQT90 FLEX

- Equipo Point of Care con calidad de resultados de laboratorio.
- Parámetros medidos: Troponina T, Troponina I, CKMB (masa), Mioglobina, NT-proBNP, PCR, βhCG y Dimer-D.
- Fácil manejo, software intuitivo, pantalla touch screen.
- Carga continua de muestras, tiempo promedio de resultado 10 minutos.
- Aspiración de muestra a partir de tubo cerrado (sange entera, plasma o suero)
- Completa Bioseguridad para el operador.



#### QUÍMICA CLÍNICA



Representante en Argentina

#### INMUNOLOGÍA



#### MEDIO INTERNO



#### HEMATOLOGÍA



Representante en Argentina

**RADIOMETER** 

**mindray**

Int. Avalos 3651 - (1605), Munro - Buenos Aires - Argentina  
Tel/Fax: (54 11) 4794-7575 / 7676 / 3184 - e-mail: [info@gematec.com.ar](mailto:info@gematec.com.ar) - Web: [www.gematec.com.ar](http://www.gematec.com.ar)



## Introducción

La predisposición a sufrir eventos tromboticos en un individuo está dada por múltiples causas: hereditarias, adquiridas, ambientales, hábitos, ingesta continua de ciertas drogas, inmovilización prolongada, embarazo y puerperio, intervenciones quirúrgicas, factores de riesgo tradicionales (hipertensión, obesidad, diabetes, sedentarismo, tabaquismo), enfermedades malignas, etc. (1).

El término trombofilia fue empleado por primera vez por Nygaard y Brown en 1937 para designar una entidad clínica caracterizada por trombosis arterial o venosa, que podía presentarse en distintas regiones corporales, con tendencia a la recurrencia, no asociada a otra enfermedad, sin lesiones en los vasos y asociada a un estado de hipercoagulabilidad (2).

La palabra trombofilia suele aplicarse sólo a una parte de los pacientes que presentan cuadros tromboticos poseedores de ciertas características clínicas como la ocurrencia a una edad temprana de la primera trombosis (menores de 45 años), trombosis a repetición, historia familiar de trombosis, localización inusual de la trombosis (mesentérica, portal, hepática, en miembros superiores), severidad desproporcionada con un estímulo conocido, entre otras (3).

La coagulación sanguínea está cuidadosamente regulada por una serie de inhibidores fisiológicos que limitan la generación de trombina y la formación de fibrina y por el sistema fibrinolítico, que elimina eficazmente los trombos de fibrina (4). Las causas hemostáticas de trombofilia son diversas y para algunas de ellas está claramente establecida su asociación a un riesgo trombotico elevado, como en el caso de déficit hereditario de los inhibidores naturales del Sistema de Coagulación sanguínea como Antitrombina (AT), Proteína C (PC) y Proteína S (PS). La deficiencia hereditaria de estos inhibidores está asociada a cuadros tromboticos principalmente en el sistema venoso (5).

En esta publicación nos referiremos particularmente al déficit hereditario de AT, PC y PS.

## Antitrombina

En 1965 se describió por primera vez una familia con déficit de AT (antiguamente Antitrombina III) en la que se demostró la relación entre un defecto congénito y tendencia trombotica (6). Durante muchos años, esta fue la única causa identificada de trombofilia hereditaria. La AT es una glicoproteína de cadena simple de aproximadamente 58000 Da y constituida por 432 aminoácidos, el dominio amino-terminal contiene el sitio de enlace a la heparina y el dominio carboxi-terminal contiene el sitio de enlace a las serino proteasas (sitio activo). Es sintetizada en el hígado y su concentración plasmática es alrededor de 2,3 mmol/L. Su mecanismo de acción es a través de la formación de un complejo 1+1 Sustrato-AT, su acción inhibitoria es potenciada por la heparina con la cual forma un complejo ternario Sustrato-AT-Heparina, que es la base del uso de Heparina (estándar y de bajo peso molecular) como tratamiento o profilaxis de eventos tromboticos. La molécula de AT posee dos sitios activos bien definidos. Uno de ellos para la unión con la heparina, la cual induce un cambio conformacional en la molécula de AT que hace más accesible el segundo centro activo para el sustrato. En ausencia de heparina la reacción inhibitoria es más lenta (7).

La AT pertenece a la familia de las serpinas, es decir inhibidores de serino proteasas y tiene un amplio espectro de actividad inhibitoria: de forma progresiva e irreversible inhibe serino proteasas como Factor VIIa, Factor IXa, Factor XIIa y fundamentalmente Trombina (Factor IIa) y Factor Xa.

La deficiencia de AT estaría presente en aproximadamente 0.02 – 1.1 % de la población general, y en alrededor del 4% de los pacientes con eventos tromboembólicos.

Existen 2 tipos de deficiencia de AT (8):

- Tipo I: Déficit cuantitativo, niveles plasmáticos de AT funcional e inmunológico bajos.
- Tipo II: Déficit cualitativo, incluye defectos funcionales que provocan disminución de la actividad, pero con nivel inmunológico normal.
  - Subtipo IIa: doble defecto, alteración molecular que disminuye la afinidad por la heparina y la inactivación de la trombina.
  - Subtipo IIb: defecto en la inhibición de la trombina pero afinidad por la

heparina normal.

- Subtipo IIc: defecto en la afinidad por la heparina pero capacidad inhibitoria normal.

La herencia de este defecto es autosómica dominante, tratándose en general de heterocigotas con niveles de AT de un 50 %, aunque el riesgo de trombosis existe a partir de una reducción en la concentración plasmática de un 70 % de lo normal. La deficiencia Tipo I homocigota sería incompatible con la vida, llevando a la muerte fetal.

Los primeros eventos tromboticos ocurren en un 10 % entre los 10 y 35 años, aumentando la frecuencia con la edad, de modo que más del 85 % la han padecido por encima de los 50 años. Se presenta fundamentalmente como trombosis venosa profunda y un 40 % puede complicarse con tromboembolismo pulmonar (9)

En el caso del Tipo II Subtipo IIc, se presenta una menor tendencia trombotica, puesto que la capacidad inhibitoria por parte de la AT ocurre, y en presencia de heparina lentamente.

Para el Tipo I, son más frecuentes cambios simples de nucleótidos, pequeñas inserciones o deleciones, obteniéndose una molécula inestable, que no puede ser secretada o provocar una interrupción temprana de la síntesis de la molécula de AT. Los casos menos frecuentes (10 %) de las deficiencias Tipo I, son las que corresponden a deleciones en el cromosoma 1q23-25. El tipo II es producto de mutaciones puntuales que provocan sustituciones de aminoácidos que conllevan a una proteína no funcional (10).

La determinación de AT se realiza a través de métodos funcionales, coagulométrico o sustrato cromogénico, que detectan la actividad de AT y de métodos inmunológicos, inmunodifusión radial, inmunoelectroforesis o ELISA que detectan el nivel de proteína de AT.

De los métodos funcionales, el de sustrato cromogénico es el más utilizado y consiste en incubar la muestra con exceso de trombina en presencia de heparina, la trombina residual se cuantifica por su acción amidolítica en el sustrato cromogénico CBS 61.50, la p-NO<sub>2</sub> anilina liberada se determina a 405 nm. Se realiza una curva de calibración con calibrador comercial o pool de plasmas normales. La trombina residual, determinada como p-NO<sub>2</sub> anilina,



LABORATORY  
INFORMATION  
SYSTEM®

[www.nextlab.com.ar](http://www.nextlab.com.ar)

## Tecnología Integrada

Flexibilidad y poder de parametrización. Software abierto que puede integrarse con instrumentos de cualquier fabricante. Solución ideal para instituciones públicas y privadas al contemplar facturación e integración con sistemas hospitalarios. NextLAB® LIS se presenta en tres versiones: Lite, Professional y Enterprise.

 **NextLAB®**

SOFTWARE INTELIGENTE

LITE

PRO

ENT

Nicolás de Vedia 1644 1er. Piso "1" C1429EIB  
Nuñez, Buenos Aires, Argentina  
T. [+5411] 60 91 30 94 Rot  
F. [+5411] 60 91 21 00 Ext 3094

es inversamente proporcional a la concentración de AT en la muestra (11). En general el rango de referencia se encuentra entre 80 y 120%, pero cada laboratorio debe establecer sus propios valores. Si el resultado obtenido es bajo, se debe citar nuevamente al paciente y repetir el estudio, en caso de confirmarse el valor, se realiza la determinación inmunológica y se estudia también a la familia.

Pueden observarse niveles disminuidos de AT en enfermedad hepática, síndrome nefrótico, coagulopatía por consumo, sepsis, tratamiento con L-asparaginasa, en recién nacidos.

#### Sistema de la Proteína C

La PC es una glicoproteína de 62000 Da. Se sintetiza en el hígado y posee dos cadenas: una pesada donde se encuentra el sitio activo y una liviana. La síntesis de la PC depende de la vitamina K, que cataliza la carboxilación de un grupo amino de un residuo glutámico, esta carboxilación le confiere la funcionalidad a la molécula. Circula en el plasma como zimógeno y es activada por trombina, que realiza una ruptura proteolítica de un enlace Arg-Leu, exponiendo el sitio activo. El mecanismo es lento, por lo que fisiológicamente es catalizado por la trombomodulina, cofactor localizado en la superficie de las células endoteliales. Para que se produzca una activación adecuada de la PC se deben ensamblar perfectamente las moléculas de PC, trombina y trombosmodulina sobre la superficie de la célula endotelial en presencia de ión calcio. Una vez activada y en presencia de la PS libre desarrolla una potente actividad anticoagulante, al inhibir a los cofactores Va y VIIIa de la coagulación por proteólisis limitada de las cadenas pesadas de ambas moléculas; además aumentaría la actividad fibrinolítica posiblemente por reducción de la actividad de PAI-1 (inhibidor del activador tisular del

plasminógeno) (12).

La deficiencia hereditaria de PC fue descrita por primera vez en 1981 y desde entonces se ha establecido una directa asociación de esta con la enfermedad tromboembólica venosa (13).

Este déficit se transmite como una herencia autonómica dominante, en la mayor parte de los pacientes aparece como heterocigotos. Los homocigotos con niveles de actividad inferior al 5 % presentan manifestaciones clínicas muy severas. La deficiencia de PC lleva al desarrollo de trombosis venosa recurrente. El déficit congénito se ha detectado hasta en un 3,2 % de la población no seleccionada que ha sufrido algún accidente trombótico, mientras que en pacientes con accidentes tromboembólicos venosos recurrentes se presenta en un rango de 1,4 a 8,6 % según diferentes estudios (14). La deficiencia de PC también puede predisponer al desarrollo de necrosis de la piel asociada al tratamiento oral con dicumarínicos, que en general suele presentarse durante el inicio del tratamiento con los anticoagulantes orales.

En el laboratorio se determina la PC mediante ensayos funcionales (coagulométrico y cromogénico) que evalúan la actividad y mediante ensayos inmunológicos (ELISA, inmunoelectroforesis) que evalúan la cantidad de proteína (15).

Existen dos tipos de deficiencia hereditaria de PC:

- Tipo I: deficiencia funcional e inmunológica.
- Tipo II: deficiencia funcional y nivel antigénico normal.

Para el tipo I, la mayoría de las mutaciones conducen a una terminación prematura de la síntesis proteica o ruptura del plegamiento proteico con pérdida de la

estabilidad de la proteína.

La deficiencia adquirida de PC se puede presentar asociada a: deficiencia de vitamina K, anticoagulación oral con compuestos dicumarínicos, enfermedad hepática, coagulación intravascular diseminada, sepsis, síndrome nefrótico.

Los casos poco frecuentes de déficit homocigótico de la PC presentan coagulación intravascular fulminante en el período neonatal y requieren un diagnóstico y tratamiento inmediato con un muy elevado riesgo de mortalidad (16).

En general el rango de referencia para la PC varía entre 70 – 140 %, pero cada laboratorio debe establecer su propio rango de referencia e informar el método utilizado.

Como se describió con la AT, si el resultado obtenido es bajo, debe citarse nuevamente al paciente y repetir el estudio, en caso de confirmarse el valor, se realiza la determinación inmunológica y se estudia también a la familia.

#### Sistema de la Proteína S

Es una glicoproteína de 69 000 Da, cuya síntesis es dependiente de la vitamina K, se sintetiza en el hígado como un precursor de 676 aminoácidos, su forma madura contiene 635. También es sintetizada en las células endoteliales y está presente en las plaquetas (17).

Su concentración plasmática es alrededor de 0,26 a 0,33 mmol/l, tiene un tiempo de vida media de 42 horas. Es un cofactor no enzimático de la función anticoagulante de la PC. Actúa de forma que aumenta la afinidad de la PC activada (PCa) por los fosfolípidos cargados negativamente y forma un complejo unido a la célula

## MEG@NALIZAR

Tecnología y Calidad al servicio de la Salud

- El Megalaboratorio Institucional más completo de Cuyo
- Alta tecnología y bajos costos
- Participación constante en programas de control de calidad Externo

- Endocrinología
- Marcadores Tumorales
- Hematología
- Química Clínica
- Inmunoserología
- Virología
- Inmunología



endotelial PCa-PS.

La PS circula en el plasma tanto libre como unida no covalentemente a la proteína de unión C4b (C4bBP), pero sólo la forma libre (40 %) está involucrada en la actividad anticoagulante de la PCa (18).

La deficiencia hereditaria de PS es causa de tromboembolismo venoso y según los datos disponibles se presenta con una frecuencia similar a la del déficit de PC, siendo la forma de herencia autosómica dominante y las manifestaciones clínicas similares también. El déficit homocigota no llevaría a la gravedad del de la PC (19).

La PS puede evaluarse mediante diferentes métodos:

- Coagulométrico: determina la actividad de la fracción libre de la PS (PS actividad)
- Inmunoturbidimétrico: determina inmunológicamente la fracción libre de la PS (PS libre).
- Inmunológico: determina inmunológicamente (Inmunodifusión radial, inmunoelectroforesis) la PS total.

En base a estos métodos, se distinguen fundamentalmente 3 tipos de deficiencia hereditaria de PS (20):

- Tipo I: PS total, PS libre y PS actividad disminuidas.
- Tipo II: PS total y PS libre normales, PS actividad disminuida.
- Tipo III: PS total normal, PS libre y PS actividad disminuidas

El Tipo I constituye un factor de riesgo establecido para tromboembolismo venoso, mientras que los datos disponibles para Tipo II son contradictorios en cuanto al riesgo de trombosis (21)

La deficiencia homocigota de PS es una condición rara que se manifiesta como

púrpura fulminante neonatal, lo que refleja una coagulación intravascular diseminada severa, también con muy alta mortalidad (22).

Se observa deficiencia adquirida de PS en pacientes con déficit de vitamina K, en tratamiento con anticoagulantes orales (dicumarínicos), anticonceptivos orales, terapia estrogénica, enfermedad hepática, coagulación intravascular diseminada, síndrome nefrótico y durante el embarazo.

Los valores de referencia estarían entre 60-130%, pero como se describió para AT y PC, cada laboratorio debe establecer su propio rango de referencia e informar, en el caso de la PS, que fracción de la misma se determinó y el método utilizado.

### Conclusiones

Si bien el avance tecnológico nos ha permitido, entre otros beneficios, mejorar los métodos y tener un control más estrecho del equipamiento con el que contamos, debemos tener presente que el diagnóstico de deficiencia hereditaria de AT, PC o PS impacta no sólo en la vida del propio paciente, sino también en su descendencia y en el resto de la familia. Las pruebas de hemostasia y trombosis permiten orientar y fundamentar el diagnóstico clínico, es por esto que la solicitud de las pruebas de hemostasia debe basarse en el cuadro clínico del paciente evaluado por el médico especialista. El Laboratorio proporciona información de gran utilidad que debe ser interpretada dentro del contexto clínico, lo que brinda mayor posibilidad de un diagnóstico certero y por lo tanto de un tratamiento adecuado.

Finalmente, el continuo control de las variables que intervienen en todas las etapas del Laboratorio (pre-analítica, analítica, post-analítica) condiciona la obtención de un resultado final confiable

que refleje el estado clínico del paciente y forma parte del programa de control de calidad que deben llevar a cabo todos los laboratorios



### Bibliografía

1. Ageno W, Squizzato A, García D, Inverti D. Epidemiology and risk factors of venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32: 651-658.
2. Nygaard K, Brown G. Essential thrombophilia: Report of five cases. *Arch Int Med* 1937; 59: 82-106.
3. Middeldorp S, Levi M. Thrombophilia: an update. *Semin Thromb Hemost* 2007; 33: 563-572.
4. Roberts HR, Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of thrombin generation. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32(Suppl 1): 32-38.
5. Simioni, Tormene D, Spiezia L, et al. Inherited thrombophilia and venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost*. 2006; 32: 700-708.
6. Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thromb Diath Haemorrh*. 1965; 13: 516-530.
7. Sheffield WP, Wu YI, Blajchman MA. Antithrombin: structure and function. In: High KA, Roberts HA. *Molecular basis of Thrombosis and Hemostasis*. New York, NY, Marcel Dekker Inc; 1995: 355-377.
8. Kottke-Marchant K, Duncan A. Antithrombin deficiency. *Arch Pathol Lab Med*. 2002; 126: 1326-1336.
9. Christiansen SC, Cannegieter SC, Koster T, Vanderbrouke JP, Rosendaal FR. Thrombophilia, clinical factors and recurrent venous thrombotic events. *JAMA* 2005; 293: 2352-61.
10. Kuhle S, Lane DA, Jochmanns K, Male C, et al. Homozygous antithrombin deficiency type II (99 Leu to Phe mutation) and childhood thromboembolism. *Thromb Hemost* 2001; 86: 1007-11.
11. Manucci PM. Laboratory detection of inherited thrombophilia: a historical perspective. *Semin Thromb Hemost* 2005; 31: 5-10.
12. Esmon CT. The Protein C anticoagulant pathway. *Art Thromb* 1992; 12: 135-145.
13. Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleiss AJ, Wideman C. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J Clin Invest* 1981; 68: 1370-1373.
14. Martinelli I, Mannucci PM, De Stefano V, et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. *Blood*. 1998; 92: 2353-2358.
15. Khor B, Van Cott EM. Laboratory test for protein C deficiency. *Am J Hematol*. 2010; 85: 440-442.
16. Adcock DM, Brozna J, et al. Proposed classification and pathologic mechanisms of purpura fulminans and skin necrosis. *Semin Thromb Hemost*. 1990; 16: 333-40.
17. Maurissen LF, Thomassen MC, Nicolaes GA, et al. Re-evaluation of the role of the protein S-C4b binding protein complex in activated protein C catalyzed factor Va-inactivation. *Blood*. 2008; 111: 3034-3041.
18. Norstrom EA, Steen M, Tran S et al. Importance of protein S and phospholipid for activated protein C-mediated cleavage in factor Va. *J Biol Chem* 2003; 278: 24904-11.
19. Foy P, Moll S. Thrombophilia: 2009 update. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2009; 11: 114-128.
20. Van Cott EM, Ledford-Kraemer M, Meijer P, et al. Protein S assays: an analysis of North AMERICAN Specialized Coagulation Laboratory Association proficiency testing. *Am J Clin Pathol*. 2005; 123: 778-785.
21. Favaloro EJ. Diagnostic issues in thrombophilia: a laboratory scientist's view. *Semin Thromb Hemost* 2005; 31: 11-16.
22. Gurgey A, Aytac S, Guler K, et al. Outcome in children with purpura fulminans: Report on 16 patients. *Am J Hem* 2005; 80: 20-25.



LABORATORIOS BACON S.A.I.C.



#### Diagnóstico

##### Screening Neonatal

TSH  
Fenilalanina  
Tripsina  
Galactosa  
17OHProgesterona  
Biotinidasa

##### Ciencia e Investigación

Biología Molecular  
Corticosterona en ratas  
Fast Prep® - 24

##### Tarjetas Reglamentarias para Toma de muestra Neonatal

Autorizadas por ANMAT

##### Kits RIA - IRMA - ELISA

##### SafTEST

Kits Control de calidad:  
- Biodiesel  
- Alimentos

##### Asesoramiento General Servicio Técnico

##### Equipamiento e Insumos

Lectores verticales manuales y automáticos  
Lavadores manuales y automáticos  
Pipetas punto fijo y multicanal  
Microtiras y microplacas alta densidad p/Elisa  
Microplacas Filtrantes Millipore  
Agitador orbital  
Sacabocados para Screening Neonatal

