

ORIGINALES

El anticoagulante natural «proteína C» en nefropatías con y sin proteinuria

P. Gómez-Fernández, M. A. Correa *, A. García de la Infanta **, J. L. Guzmán *, R. Pérez Mijares, M. Almaraz y A. León *

Servicios de Nefrología *, Hematología y

** Medicina Intensiva. Hospital General. Jerez de la Frontera

RESUMEN

La proteína C (PC) es un anticoagulante natural que ejerce su efecto mediante la inactivación de los factores V y VIII activados. En este trabajo determinamos la concentración plasmática de la PC antigénica (PC-Ag) y PC funcional (PC-F) en 19 enfermos con proteinuria superior a 3 g/24 horas (grupo I) y en 11 enfermos con insuficiencia renal crónica (grupo II). Comparado con 12 personas sanas, el grupo I tenía niveles plasmáticos elevados de PC-Ag y PC-F (126 ± 30 % y 110 ± 29 % vs 151 ± 47 % y 127 ± 41 %, respectivamente). En 30,8 % de los enfermos del grupo I se demostró PC en la orina. Los niveles plasmáticos de PC se correlacionaron directamente con el Ccr ($r: 0,534$, $p < 0,05$) y colesterolemia ($r: 0,657$, $p < 0,01$) e inversamente con la albuminemia ($r: -0,551$, $p < 0,05$). Los niveles plasmáticos de PC-Ag y PC-F del grupo II (104 ± 23 % y 97 ± 19 %, respectivamente) fueron significativamente inferiores a los del grupo control y grupo I.

Estos resultados demuestran que el estado de hipercoagulabilidad de los enfermos con proteinuria no está producido por la disminución de los niveles plasmáticos de la PC y que en la insuficiencia renal crónica existe una disminución de la PC cuyo mecanismo es desconocido.

Palabras clave: **Proteína C. Proteinuria. Insuficiencia renal crónica.**

THE NATURAL ANTICOAGULANT «PROTEIN C» IN NEPHROPATHIES WITH AND WITHOUT PROTEINURIA

SUMMARY

Protein C is a physiological anticoagulant that inactivates that activated forms of factors V and VIII. We measured the plasma concentrations of the antigenic (PC-AG) and functional protein C (PC-F) in 19 patients with urinary protein excretion > 3 g/24 h. (group I) and in 11 patients with chronic renal insufficiency (group II). In group I, PC-AG and PC-F were found to be high when compared with the 12 healthy controls (151 ± 47 % and 127 ± 41 % vs 126 ± 30 % and 110 ± 29 %, respectively). In 30.8 % of group I patients PC-F was detected in the urine. Plasma concentration of PC demonstrated a significant direct correlation with Ccr ($r: 0.534$, $p < 0.05$) and cholesterol ($r: 0.657$, $p < 0.01$) and a significant inverse

Recibido: 20-I-88.

En versión definitiva: 20-IV-88.

Aceptado: 12-V-88.

Correspondencia: Dr. Pablo Gómez-Fernández.

Servicio de Nefrología.

Hospital de Jerez.

Ctra. de Circunvalación, s/n.

Jerez de la Frontera.

correlation with albumin ($r: -0.551, p < 0.05$). In the group II, PC-AG and PC-F were significantly decreased ($104 \pm 23 \%$ and $97 \pm 19 \%$, respectively) when compared with control and group I. We conclude from our investigations that the hypercoagulable state in patients with proteinuria is not caused by decreased levels of protein C. On the other hand, in chronic renal insufficiency protein C is decreased. The exact mechanism of these findings is unclear.

Key words: *Proteinuria. Protein C. Chronic renal insufficiency.*

Introducción

El síndrome nefrótico se considera un estado de hipercoagulabilidad debido al incremento de las complicaciones trombóticas^{1, 2}. La hipercoagulabilidad implica la existencia de cambios pretrombóticos detectables en la sangre. En el síndrome nefrótico se han descrito múltiples alteraciones de diversos factores de la coagulación, destacando entre ellos un aumento de factores procoagulantes y una disminución de inhibidores de la coagulación, además de trombocitosis y mayor agregación plaquetaria^{1, 3}.

La proteína C (PC) es una proteína vitamina K dependiente que, tras su activación por el complejo trombina-trombomodulina y utilizando como cofactor la proteína S (PS), inhibe la coagulación, inactivando los factores V y VIII, y facilita la fibrinólisis^{4, 5}.

Dado que el peso molecular de la PC (62.000) es similar al de la albúmina, es posible que en los estados proteinúricos existan pérdidas urinarias de PC y posibles alteraciones de sus niveles plasmáticos que contribuyan al estado pretrombótico del síndrome nefrótico.

El propósito de este trabajo fue analizar los niveles plasmáticos y posibles pérdidas urinarias de PC en pacientes con proteinuria y en enfermos con insuficiencia renal.

Material y métodos

Estudiamos 30 pacientes que fueron divididos en dos grupos: grupo I, 19 enfermos con proteinuria superior a 3 g/24 horas; grupo II, 11 enfermos con proteinuria inferior a 3 g/24 horas. Previamente a la inclusión en el estudio se requirió: 1) Ausencia de enfermedad sistémica. No se excluyó la nefropatía secundaria a hipertensión arterial. 2) Función hepática normal comprobada por parámetros analíticos. 3) Ausencia de medicación que pudiese interferir el estudio de coagulación.

El grupo I incluía nueve varones y 10 hembras, de una edad de $36,47 \pm 12,9$ años ($\bar{X} \pm DE$). Los tipos de nefropatía de este grupo eran los siguientes: glomerulosclerosis focal y segmentaria, 5; nefropatía IgA, 4; nefropatía membranosa, 4; cambios mínimos,

2; glomerulonefritis crónica no filiada, 5. El 26 % de los enfermos del grupo I eran hipertensos y el 57,7 % tenían síndrome nefrótico bioquímico. El grupo II incluía seis varones y cinco hembras, de una edad de $43,27 \pm 11,4$ años.

Siete pacientes del grupo II recibían tratamiento con hemodiálisis periódica. Los tipos de nefropatía eran los siguientes: poliquistosis renal del adulto, tres; pielonefritis crónica, dos; nefroangiosclerosis, tres; glomerulonefritis crónica no filiada, tres. El 54 % de los enfermos del grupo II tenían hipertensión arterial. En ningún caso de ambos grupos existía evidencia clínica de trombosis.

En las mujeres con ciclo menstrual, y con la finalidad de homologar el estado hormonal, el estudio se realizó en la primera fase del ciclo. En los pacientes dializados, el estudio se realizó inmediatamente antes de una sesión de hemodiálisis.

Además de los estudios bioquímicos rutinarios se determinaron, por técnicas habituales, los siguientes parámetros de coagulación: tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT), tiempo de trombina, tiempo de reptilase, tiempo de protrombina y fibrinógeno. Los niveles de antitrombina III (ATIII) se midieron por el método de Abilgaard et al.⁶. Los niveles de proteína C antigénica (PC-Ag) se determinaron por electroinmunodifusión según el método de Laurell⁷. La actividad funcional de la proteína C (PC-F) se determinó utilizando plasma deficiente en PC y un activador específico de la PC, según el método de Francis y Seyfert⁸. Los coeficientes de variación interensayo de la PC-Ag y PC-F fueron 3,9 y 4 %, respectivamente. Doce personas sanas, seis varones y seis hembras, con una edad comprendida entre treinta y cuatro y sesenta y un años ($44,83 \pm 9,39$), se utilizaron como grupo control. El manejo estadístico de los datos se hizo con el programa Microstat. Previa comprobación de la distribución, se utilizaron la t de Student de datos no pareados y el Mann Whitney, según los casos, y el coeficiente de correlación lineal.

Resultados

En la tabla I se reflejan los datos analíticos de los grupos estudiados. La proteinuria, criterio de separación de los grupos, fue $5,51 \pm 2,19$ g/24 h. (rango,

Tabla I. Datos analíticos del grupo control (C), enfermos con proteinuria en rango nefrótico (I) y enfermos con insuficiencia renal y proteinuria mínima (II)

Grupo	Creatinina mg/dl.	Albúmina g/dl.	Colesterol mg/dl.	Triglicéridos mg/dl.	Fibrinógeno mg/dl.	ATIII %
C ($\bar{X} \pm SD$) N = 12 ..	1,01 \pm 0,15	4,23 \pm 0,31	210 \pm 39	118 \pm 26	290 \pm 61	114 \pm 15
I ($\bar{X} \pm SD$) N = 19 ..	3,06 \pm 2,09	2,83 \pm 1,02	344 \pm 163	246 \pm 109	521 \pm 153	112 \pm 19
II ($\bar{X} \pm SD$) N = 11 ..	7,78 \pm 3,75	4,34 \pm 0,52	221 \pm 45	198 \pm 88	574 \pm 195	123 \pm 15

AT: Antitrombina. La significación estadística, en el texto.

3-11 g/24 h.) en el grupo I y 0,44 \pm 0,74 g/24 h. (rango, 0-2,1 g/24 h.) en el grupo II. La gran dispersión de este último se debe en parte a que algunos enfermos en hemodiálisis no tenían diuresis residual. Los valores de creatinemia del grupo I (3,06 \pm 2,09 mg/dl.) fueron significativamente inferiores a los del grupo II (7,78 \pm 3,75 mg/dl.) ($p < 0,01$). Seis enfermos del grupo I tenían un Ccr > 80 ml/min/1,73 m². Los restantes pacientes de este grupo (68 %) tenían algún grado de insuficiencia renal. Los enfermos con proteinuria en rango nefrótico (grupo I) tenían una albuminemia (2,83 \pm 1,02 g/dl.) inferior a los enfermos con proteinuria mínima e insuficiencia renal (grupo II) (4,3 \pm 0,52 g/dl.) ($p < 0,001$). La colesterolemia fue más alta en el grupo I (344 \pm 163 mg/dl.) que en el grupo control (210 \pm 39) ($p < 0,001$) y en el grupo II (221 \pm 45) ($p < 0,05$). Los niveles de triglicéridos fueron similares en los grupos I y II (246 \pm 109 y 198 \pm 88 mg/dl., respectivamente). Ambos valores fueron superiores a los de los controles (118 \pm 26 mg/dl.) ($p < 0,01$).

No se observaron diferencias significativas en el APTT, trombina, protrombina y reptilase entre los grupos estudiados. La fibrinogenemia fue, sin embargo, más elevada en los grupos I (521 \pm 153 mg/dl.) y II (574 \pm 195 mg/dl.) que en el grupo control (290 \pm 61 mg/dl.) ($p < 0,001$).

En la figura 1 se reflejan los valores plasmáticos de PC-Ag y PC-F. Los enfermos con proteinuria en rango nefrótico (grupo I) tenían niveles de PC-Ag y PC-F (151 \pm 47 % y 127 \pm 41 %, respectivamente) superiores al grupo control (126 \pm 30 % y 110 \pm 29 %, respectivamente). Pese a que estas diferencias no alcanzaron significación estadística, fueron importantes ($p = 0,055$). Los pacientes con insuficiencia renal y proteinuria mínima (grupo II) tenían un valor de PC-Ag (104 \pm 23 %) inferior al del grupo I ($p < 0,01$) y al de los controles ($p < 0,05$). Los niveles de PC-F del grupo II (97 \pm 19 %) también fueron inferiores a los del grupo I ($p < 0,05$).

En el 46,2 y 30,8 % de los enfermos del grupo I se detectó excreción urinaria de ATIII y PC-F, respectivamente. La concentración urinaria de ATIII fue 12,6 + 24,3 % (rango, 0-88 %), y la de PC-F fue 2,21 + 5,4 % (rango, 0-22 %).

En la tabla II se pueden observar las correlaciones

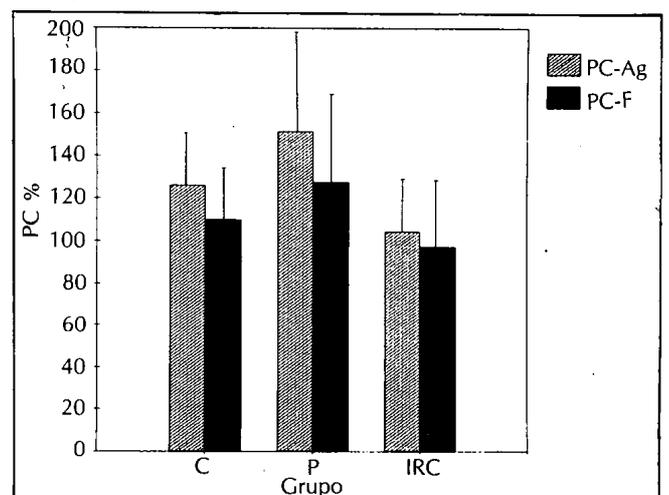


Fig. 1.—Niveles plasmáticos ($\bar{X} \pm SD$) de proteína C antigénica (PC-Ag) y funcional (PC-F) en el grupo control (C), en los enfermos con proteinuria (P) y en los enfermos con insuficiencia renal crónica (IRC).

entre los diversos parámetros analíticos del grupo I. Se advirtió una correlación directa entre PC-Ag y Ccr ($r: 0,534$, $p < 0,05$), PC-Ag y colesterol ($r: 0,657$, $p < 0,05$) e inversa entre PC-Ag y albuminemia ($r: -0,551$, $p < 0,05$) (fig. 2).

Considerados globalmente los 42 casos, se evidenció una correlación directa entre PC-Ag y PC-F ($r: 0,544$, $p < 0,001$) (fig. 3).

Discusión

El síndrome nefrótico es considerado un estado de hipercoagulabilidad. En él se han descrito múltiples alteraciones de la coagulación¹⁻³. Son escasos, sin embargo, los estudios sobre la PC en el síndrome nefrótico^{9, 10}. Este hecho sorprende, ya que la PC, cuyo déficit congénito puede condicionar complicaciones trombóticas¹¹, desempeña una función anticoagulante fundamental^{4, 5}. Por otra parte, el peso molecular de la PC es similar al de la albúmina y ATIII, por lo que son previsibles pérdidas urinarias de PC en estados proteinúricos, como ocurre con aquéllas.

Nuestro estudio demuestra que los enfermos con

Tabla II. Matriz de correlaciones en el grupo con proteinuria

	Creatinina	Ccr	Albúmina	Colesterol	PC-Ag
Ccr	-0,913				
Albúmina	0,346	-0,434			
Colesterol	-0,345	0,410	-0,774		
PC-Ag	-0,555	0,534	-0,551	0,657	
PC-F	-0,623	0,529	-0,221	0,157	0,388

Ccr: aclaramiento creatinina.
 Valor crítico de significación: 0,545.

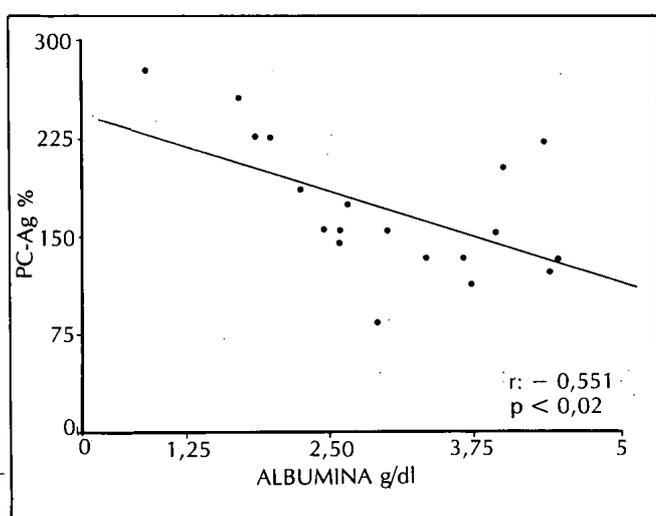


Fig. 2.—Correlación entre la albuminemia y la proteína C antigénica (PC-Ag) en los enfermos con proteinuria.

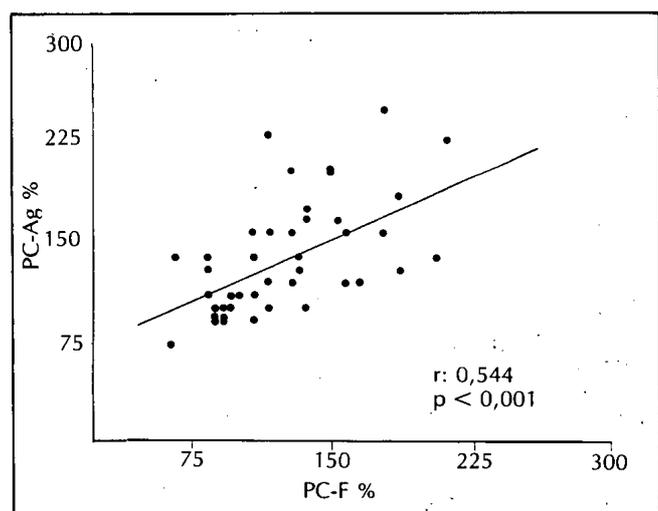


Fig. 3.—Correlación entre proteína C funcional (PC-F) y proteína C antigénica (PC-Ag).

proteinuria en rango nefrótico tienen niveles plasmáticos de PC elevados, mientras que los enfermos con insuficiencia renal crónica severa tienen niveles disminuidos comparados con un grupo control sano. La inclusión en el grupo con proteinuria de pacientes

con insuficiencia renal atenua y retrae la diferencia estadística, ya que, considerados solamente los enfermos del grupo I sin insuficiencia renal (n: 6), los niveles plasmáticos de PC eran muy superiores a los del grupo control (190 ± 40 % vs 126 ± 30 %, $p < 0,001$). Esta argumentación se refuerza por la correlación observada entre PC y Ccr.

Los niveles plasmáticos de PC eran elevados en los enfermos con proteinuria, pese a objetivarse excreción urinaria de PC en el 30,8 % de ellos. Pabinger-Faschin y cols.⁹ han demostrado niveles plasmáticos elevados de PC en pacientes con síndrome nefrótico sin evidenciar pérdidas urinarias, mientras que Mannucci y cols.¹⁰ demostraron también proteína C en la orina de enfermos con síndrome nefrótico. Estos diferentes hallazgos en la orina pueden derivar de variaciones metodológicas y de la población estudiada. En el presente trabajo hemos detectado en la orina PC-F, no PC-Ag, en el 30,8 % de los enfermos, sin encontrar correlación entre el grado de proteinuria y tipo de nefropatía y PC. La explicación de estos hallazgos no está clara. Se podría especular que el ensayo funcional utilizado es más sensible que el inmunológico; que, pese a esto, no tenga la suficiente sensibilidad para detectar PC en orina en todos los casos; que la filtrabilidad glomerular de la PC dependa de otros factores adicionales a la permeabilidad glomerular, o bien que la PC se filtre por el glomérulo y se metabolice a nivel tubular.

El aumento de los niveles plasmáticos de la PC parece relacionarse con la proteinuria, ya que, aunque la correlación entre PC y proteinuria no alcanzó significación estadística ($r: 0,388$), existió correlación significativa entre los niveles plasmáticos de PC-Ag y las consecuencias de la proteinuria: correlación directa entre colesterolemia y PC-Ag, correlación inversa entre albuminemia y PC-Ag. Esta asunción se apoya además en la comprobación reciente de una disminución de la PC plasmática tras remisión de la proteinuria¹². Es posible que el descenso de la albúmina o de la presión oncótica o algún otro factor sea percibido por las células hepáticas, que responderían aumentando la síntesis de diversas proteínas¹³, entre ellas PC y fibrinógeno. El aumento de la PC en el sín-

drome nefrótico podría contrarrestar el estado de hipercoagulabilidad del mismo.

Contrariamente a lo observado con la PC-Ag, la PC-F no mostró correlación significativa con la albuminemia y colesterolemia. Este hecho suscita la posibilidad de que en los estados proteinúricos puedan existir anomalías adicionales de otros componentes del sistema de la proteína C (PS e inhibidor de la PC), no estudiados en el presente trabajo, que pueden modificar la actividad de la PC.

En el presente estudio, los niveles plasmáticos de ATIII, el otro anticoagulante natural importante¹⁴, fueron normales en todos los grupos, incluso en los pacientes con proteinuria, a pesar de constatar pérdidas urinarias de ATIII en el 46,2 % de éstos. Otros autores han observado hallazgos similares¹⁵, mientras que Kauffmann y cols.¹⁶ demostraron niveles plasmáticos reducidos de ATIII en pacientes nefróticos. Nueve de los 48 enfermos de este último estudio tenían evidencia de trombosis y proteinuria entre 8,4-27,9 g/24 h., valores muy superiores a los de los enfermos estudiados por nosotros, lo que podría justificar las diferencias de ATIII.

A diferencia de lo observado en los enfermos con proteinuria en rango nefrótico, los pacientes con insuficiencia renal crónica avanzada tenían niveles plasmáticos reducidos de PC comparados con controles sanos. La explicación de este hecho, que en nuestro conocimiento no ha sido informado previamente, no está clara. Tanto la función hepática como la concentración de otros factores vitamina K dependientes eran similares a la de los otros grupos, por lo que puede descartarse un defecto de síntesis hepática. Probablemente la disminución de los niveles plasmáticos de PC en la insuficiencia renal se debe a un aumento de su consumo. Este último puede estar relacionado con dos características de los enfermos del grupo II. Por una parte, el 54 % tenían hipertensión arterial, en la que se ha objetivado una disminución de los niveles de PC atribuida a consumo por activación de la coagulación secundaria a daño endotelial¹⁷. Por otra parte, la mayoría de los enfermos recibían tratamiento con hemodiálisis, en la que se produce activación de la coagulación¹⁸. Es presumible que activaciones repetitivas de la coagulación puedan promover consumo y descenso de los niveles de PC. Dado que la PC incrementa la actividad del plasminógeno mediante la neutralización de un inhibidor de éste¹⁹, la disminución de la PC podría condicionar un descenso del activador del plasminógeno, hecho comprobado recientemente²⁰ en pacientes con insuficiencia renal crónica, y contribuir así a lo que algunos consideran hipercoagulabilidad urémica²⁰. Es de destacar, no obstante, que los niveles plasmáticos de PC en los enfermos con insuficiencia renal crónica estaban descendidos con relación a los de controles sanos, pero en todos los casos eran

iguales o superiores al 60 %, Desconocemos la repercusión y significado biológico de estas pequeñas alteraciones.

En resumen, de nuestros resultados se concluye que los enfermos con proteinuria importante tienen niveles plasmáticos elevados de PC que podrían contrarrestar la hipercoagulabilidad del síndrome nefrótico. Por el contrario, en la insuficiencia renal crónica existe una disminución de la PC cuyo mecanismo no está aclarado. Son necesarios posteriores estudios de la PC en estas dos situaciones para determinar el significado biológico de estas alteraciones.

Bibliografía

1. Llach F: Hypercoagulability, renal vein thrombosis and other thrombotic complications of nephrotic syndrome. *Kidney Int* 28:429-439, 1985.
2. Vaziri ND: Nephrotic syndrome and coagulation and fibrinolytic abnormalities. *Am J Nephrol* 3:1-6, 1983.
3. Kendall AG, Lohmann RC y Dossetor JB: Nephrotic syndrome, a hypercoagulable state. *Arch Intern Med* 127:1021-1027, 1971.
4. Clouse LH y Comp PC: The regulation of hemostasis: The protein C system. *N Engl J Med* 314:1298-1304, 1986.
5. Esmon ChT: Protein-C: Biochemistry, physiology and clinical implications. *Blood* 62:1155-1158, 1983.
6. Abilgaard V, Lie M y Odegard OR: Antithrombin (heparin cofactor) assay with new chromogenic substrates (S-2238 d chromozym TH). *Thromb Res* 11:549-551, 1977.
7. Laurell CB: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Anal Biochem* 15:45-52, 1966.
8. Francis RB y Seyfert U: Rapyd amidolytic assay of protein C in whole plasma using an activator from the venom of Agkistrodon Contortrix. *Am J Clin Pathol* 87:619-625, 1987.
9. Pabinger-Fasching I, Lechner K, Niessner H, Schmidt P, Balzar E y Mannhalter Ch: High levels of plasma protein C in nephrotic syndrome. *Thromb Haemost* 53:5-7, 1985.
10. Mannucci PM, Valsecchi C, Bottasso B, D'Angelo A, Asati S y Ponticelli C: High plasma levels of protein C activity and antigen in the nephrotic syndrome. *Thromb Haemost* 55:31-33, 1986.
11. Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleis AJ y Wideman C: Deficiency of protein C in congenital Thrombotic disease. *J Clin Invest* 68:1370-1373, 1981.
12. Cosío FG, Harkere C, Batard MA, Brandt JT y Griffin JH: Plasma concentrations of the natural anticoagulants protein C and protein S in patients with proteinuria. *J Lab Clin Med* 106:218-222, 1985.
13. Bernard DR: Metabolic abnormalities in nephrotic syndrome: pathophysiology and complications. En: *Nephrotic syndrome*. Brenner BM, Stein JH. Churchill Livingstone, pp 85-120. New York, 1982.
14. Rosenberg RD, Bleich HL y Boro ES: Actions and interactions of antithrombin and heparin. *N Engl J Med* 292: 146+151, 1975.
15. Kanfer A, Kleinknecht D, Broyer M y Josso F: Coagulation studies in 45 cases of nephrotic syndrome without uremia. *Thromb Diath Haemorrh* 24:562-571, 1970.
16. Kauffman RH, Veltkamp JJ, Van Tilburg NH y Van Es LA: Acquired antithrombin III deficiency and thrombosis in the nephrotic syndrome. *Am J Med* 65:607-613, 1978.

17. Kloczko J, Wojtukiewicz M, Bielawiec M y Borowska M: Reduced protein C levels in patients with essential hypertension. *Thromb Haemostas* 58:793, 1987.
18. Wardle EN y Piercy DA: Studies of contact activation of blood in hemodialysis. *J Clin Pathol* 25:1045-1049, 1972.
19. Van Hinsbergh VW, Bertina RM, Van Wijngaarden A, Van Tilburg NH, Emeis JJ y Haverkate F: Activated protein C decreases plasminogen activator-inhibitor activity in endothelial cell-conditioned medium. *Blood* 65:444-451, 1985.
20. Quereda C, Pardo A, Marcén R, Orofino L, Lamas S, Teruel JL y Ortuño J: Uremia: A hypercoagulable state? *Kidney Int* 32:615-616, 1987.