

El sistema de la proteína C en la sepsis

J.A. LORENTE^a y L. LANDÍN^b

^aServicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario de Getafe. Madrid. ^bServicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. España.

En condiciones normales, la formación de trombos intravasculares se encuentra altamente regulada por un equilibrio entre los mecanismos protrombóticos y antitrombóticos. Los principales mecanismos antitrombóticos dependen de la acción de la proteína C, la antitrombina y el inhibidor de la vía del factor tisular (*tissue factor pathway inhibitor* [TFPI]).

La trombina, formada en el proceso de la coagulación, está íntimamente implicada en la activación de la proteína C, iniciando un mecanismo de retroalimentación negativa que inhibe la formación de la misma trombina. La activación de la proteína C requiere la formación de un complejo entre la trombina y la trombomodulina, una proteína de membrana presente en la superficie endotelial¹. El complejo trombina-trombomodulina cataliza la activación de la proteína C a proteína C activada. Este proceso está acelerado si sucede en la proximidad de otra proteína de membrana, el receptor endotelial de la proteína C (*endothelial protein C receptor* [EPCR]). La proteína C activada en unión a su cofactor, la proteína S, hidroliza los factores Va y VIIIa, inhibiendo así la formación de complejos factor IXa-VIIIa (factor Xasa) y factor Xa-Va (protrombinasa), respectivamente¹.

Se entiende así que el equilibrio entre la hemostasia normal y la situación patológica (caracterizada por una formación anormal de trombos) está determinado por la actividad dual de la trombina: procoagulante (formación de fibrina y activación de las plaquetas) y anticoagulante (activación de la proteína C).

El equilibrio entre la formación y la lisis de fibrina se encuentra gravemente alterado en la sepsis. El perfil hemostático de la sepsis se caracteriza por: *a*) una activación de la vía extrínseca de la coagulación (debida a un aumento inducido por citocinas proinflamatorias de la expresión del factor tisular en la superficie de los monocitos y las células endoteliales); *b*) una inhibición de la fibrinólisis (debida a un aumento en la concentración del inhibidor del activador del plasminógeno [PAI]-1, el principal inhibidor de la fibrinólisis)^{2,4}, y *c*) una disminución de los mecanismos anticoagulantes fisiológicos (la antitrombina y la proteína C). Estos cambios conducen a la formación extensa de depósitos intravasculares de fibrina. La trombina (responsable de la formación de la fibrina) conduce a una amplificación de la respuesta procoagulante y proinflamatoria, originando un círculo vicioso que causa daño de la célula endotelial, trombosis microvascular, disminución de la perfusión tisular y disfunción multiorgánica⁵⁻⁷.

El sistema de la proteína C, tan importante para mantener una hemostasia normal, es disfuncionante en la sepsis, favoreciendo la instauración de una situación marcadamente procoagulante. Tres cambios explican la reducción de la función de la proteína C: *a*) disminución de la concentración plasmática de la proteína C por un aumento de su consumo en el proceso de la coagulación; *b*) disminución de la activación de la proteína C debida a una reducción de la expresión de trombomodulina en la superficie de la célula endotelial, y *c*) disminución de la acción de la proteína C debida a un aumento del reactante de fase aguda C4bBP, que se une con gran afinidad a la proteína S, cofactor de la proteína C.

El papel de la proteína C en la sepsis se encuentra apoyado por varias observaciones clínicas. Existe una correlación inversa entre la concentración de proteína C y la mortalidad en pacientes con sepsis y shock séptico⁸. El tratamiento con proteína C activa-

Correspondencia: Dr. J.A. Lorente.
Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario de Getafe.
Ctra. de Toledo, km 12,5. 28905 Madrid. España.
Correo electrónico: jlorente@hugf.insalud.es

Manuscrito aceptado el 14-XII-2002.

da reduce la mortalidad en modelos de sepsis en primates e inhibe la coagulación intravascular diseminada⁹, y la utilización de proteína C parece eficaz en el tratamiento de casos aislados de sepsis meningocócica y púrpura fulminante¹⁰ y de sepsis por grampositivos¹¹. Finalmente, el déficit de proteína C o de proteína S se asocia con púrpura fulminante¹². En estos niños, la administración de concentrado de proteína C previene el desarrollo de trombosis.

Parte de los progresos en el conocimiento de los cambios en la función hemostásica asociados a la sepsis se han realizado en estudios en pacientes con sepsis meningocócica. Esta forma de sepsis es peculiar en cuanto a que se asocia con una gran activación de la inflamación y de la coagulación, dando lugar a una coagulopatía y trombosis microvascular particularmente graves¹³. Entre el 10 y el 20% de los casos presentan púrpura fulminante¹³, con trombosis de vasos de gran calibre en los casos más graves, observándose extensas áreas de infarto en la superficie cutánea.

Recientemente se han aportado pruebas que documentan una activación defectuosa de la proteína C en pacientes con sepsis meningocócica. Faust et al han descrito, mediante la utilización de técnicas de inmunohistoquímica en muestras de tejido cutáneo de 21 pacientes diagnosticados de sepsis meningocócica, una disminución de la expresión de trombo-modulina y del EPCR, tanto en vasos con trombosis como en vasos sin trombosis¹⁴. Los valores plasmáticos de trombo-modulina se encuentran elevados en comparación con los determinados en sujetos control, y los valores plasmáticos de los antígenos de la proteína C, la proteína S y la antitrombina están disminuidos. El tratamiento con proteína C (no activada) en dos pacientes no se siguió de la aparición de valores detectables de proteína C activada en el plasma. La demostración de estos cambios en muestras de tejido de pacientes con sepsis meningocócica, así como la observación de una falta de activación de la proteína C administrada exógenamente, aporta pruebas más directas que las apoyadas en determinaciones en plasma para demostrar una deficiente activación de la proteína C en esta forma particularmente grave de sepsis.

La reducción en la expresión endotelial de trombo-modulina y de EPCR impide una eficaz activación de la proteína C en presencia de trombina, explicando, al menos en parte, la presencia de valores bajos o indetectables de proteína C activada y la ausencia de elevación de la proteína C activada tras la administración de proteína C en pacientes con sepsis meningocócica¹⁴. En el contexto de una marcada activación de la coagulación y una gran formación de trombina, sería esperable la presencia de valores muy elevados de proteína C activada si el proceso de activación de la proteína C fuera normal.

Los valores plasmáticos de trombo-modulina se encuentran elevados en pacientes con sepsis¹⁵. Este hallazgo es compatible con el hecho de que la concentración de trombo-modulina en el sitio requerido

para que ejerza su acción anticoagulante (la superficie endotelial) se encuentre disminuida¹⁶.

La disminución de la expresión de trombo-modulina en la superficie endotelial podría explicarse al menos por dos mecanismos. En primer lugar, diversas citocinas y la endotoxina inducen una disminución de la transcripción del gen de la trombo-modulina¹⁷. En segundo lugar, la elastasa neutrófila podría degradar el complejo de activación de la proteína C¹⁸. Se ha descrito que el meningococo actúa aumentando la expresión de moléculas de adhesión en la superficie endotelial que favorecen la adhesión de neutrófilos al endotelio¹⁹. Los neutrófilos activados, así como otros estímulos inflamatorios, degradan moléculas de glucosaminoglicanos en la superficie endotelial. La trombo-modulina se encuentra unida al endotelio mediante un glucosaminoglicano (heparán sulfato), de forma que en condiciones inflamatorias se produce una liberación de trombo-modulina desde la superficie endotelial a la circulación.

El tratamiento disponible para corregir la coagulopatía en pacientes con sepsis y marcada activación de la coagulación consiste en la administración de factores de la coagulación, plaquetas y fibrinógeno. Esta estrategia resulta con frecuencia insuficiente para detener la progresión de la enfermedad. En niños con sepsis meningocócica, el tratamiento con concentrado de proteína C no activada ha demostrado ser eficaz en los casos comunicados y en series no controladas²⁰. La ventaja teórica de la proteína C es que actúa específicamente donde la coagulación se encuentra activada, en el sitio de formación de trombina (puesto que la activación de la proteína C requiere la formación del complejo trombina-trombo-modulina), cesando su efecto en localizaciones donde no hay activación de la coagulación. Sin embargo, la proteína C requiere que el complejo de activación de la proteína C (complejo trombina-trombo-modulina) se encuentre intacto, y que exista proteína S disponible para fijarse como cofactor a la proteína C activada. Los hallazgos de Faust et al¹⁴ sobre la deficiente activación de la proteína C tienen implicaciones terapéuticas, pues pueden indicar que el tratamiento con proteína C activada puede ser superior al tratamiento con proteína C no activada en pacientes con sepsis^{21,22}.

Las conclusiones de Faust et al¹⁴, basadas en parte en la ausencia de activación de proteína C (no activada) administrada a estos enfermos (150 U/kg/día), ha sido puesta en duda por otro estudio, en el que se encontró un aumento dependiente de la dosis de la concentración de proteína C activada tras la administración de dosis más elevadas de proteína C (200, 400 o 600 U/kg/día) en 27 de 28 niños con sepsis meningocócica²³. Sin embargo, es posible que el amplio intervalo de confianza comunicado en los valores de proteína C activada en este estudio²³ indiquen la posibilidad de una variable e ineficaz activación de la proteína C. De hecho, también en adultos se ha descrito que, en ciertos pacientes con sepsis grave, la proteína C no es activada de forma eficaz³⁴.

En resumen, existen pruebas que indican que la activación de la proteína C es deficiente en la sepsis, contribuyendo a la formación excesiva de depósitos de fibrina en la circulación^{25,26}. La deficiente activación de la proteína C en la sepsis se explica por la disminución de la expresión de la trombomodulina, la degradación del complejo de activación de la proteína C (complejo trombina-trombomodulina), la disminución de la expresión del receptor endotelial de la proteína C, y la formación de complejos proteína S-C4bBP. Estos cambios justifican el interés por administrar proteína C en su forma activada, más que proteína C (inactiva) como tratamiento de la coagulopatía de la sepsis^{27,28}.

BIBLIOGRAFÍA

1. Esmon CT. Molecular events that control the protein C anticoagulant pathway. *Thromb Haemost* 1993;70:29-35.
2. Astiz M, Rackow E. Septic shock. *Lancet* 1998;351:1501-5.
3. Lorente JA, García-Frade L, Landín L, de Pablo R, Torrado C, Renes E, et al. Time course of hemostatic abnormalities in sepsis and its relation to outcome. *Chest* 1993;103:1536-42.
4. Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 1999;341:586-92.
5. Lorente JA, Landín L, de Pablo R, García-Frade LJ, García-Avello A, Jorge P. Alteraciones de la coagulación y de la fibrinólisis en la sepsis experimental. *Med Intensiva* 1992;16:387-91.
6. Vallejo D, García-Frade LJ, Lorente JA, López-Caballero EJ, García-Avello A, Landín L. Valoración tromboelastográfica en un modelo de sepsis experimental. *Med Intensiva* 1993;17:270-5.
7. García-Frade LJ, Lorente JA, Landín L, García-Avello A. PAI levels determine the fibrinolytic response in sepsis. *Am J Hematol* 1992;41:303.
8. Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, et al. Septic shock, multiple organ failure and disseminated intravascular coagulation: compared patterns of antithrombin III, protein C and protein S deficiencies. *Chest* 1992;101:816-23.
9. Taylor FB, Chang A, Peer GT, Mather T, Blick K, Catlett R, et al. DEFR-factor Xa blocks disseminated intravascular coagulation initiated by *E. coli* without preventing shock or organ damage. *Blood* 1991;78:364-8.
10. Rintala E, Kaupilla M, Seppala OP, Voipio-Pulki LM, Pettila V, Rasi V, et al. Protein C substitution in sepsis-associated purpura fulminans. *Crit Care Med* 2000;28:2373-8.
11. Smith K. Purpura fulminans and *S. pneumoniae* sepsis with severe acquired protein C deficiency successfully treated with recombinant human activated protein C. *Thromb Haemost* 1999;731-5.
12. Esmon CT, Ding W, Yasuhiro K, Gu JM, Ferrell G, Regan LM, et al. The protein C pathway: new insights. *Thromb Haemost* 1997;78:70-4.
13. de Kleijn ED, Hazelzet JA, Kornelisse RF, de Groot R. Pathophysiology of meningococcal sepsis in children. *Eur J Pediatr* 1998;157:869-80.
14. Faust SN, Levin M, Harrison OB, Goldin RD, Lockhart MS, Kondaveeti S, et al. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. *N Engl J Med* 2001;345:408-16.
15. Ikegami K, Suzuki Y, Yukioka T, Matsuda H, Shimazaki S. Endothelial cell injury, as quantified by the soluble thrombomodulin level, predicts sepsis/multiple organ dysfunction syndrome after blunt trauma. *J Trauma* 1998;44:789-94.
16. Krafte-Jacobs B, Brilli R. Increased circulating thrombomodulin in children with septic shock. *Crit Care Med* 1998;26:933-8.
17. Moore KL, Andreoli SP, Esmon NL, Esmon CT, Bang NU. Endotoxin enhances tissue factor and suppresses thrombomodulin expression of human vascular endothelium in vitro. *J Clin Invest* 1987;79:124-30.
18. Esmon CT, Xu J, Gu JM, Ou D, Laszik Z, Ferrell G, et al. Endothelial protein C receptor. *Thromb Haemost* 1999;82:251-8.
19. Klein NJ, Ison CA, Peakman M, Levin M, Hammerschmidt S, Frosch M, et al. The influence of capsulation and lipooligosaccharide structure on neutrophil adhesion molecule expression and endothelial injury by *Neisseria meningitidis*. *J Infect Dis* 1996;173:172-9.
20. Rintala E, Seppala OP, Kotilainen P, Pettila V, Rasi V. Protein C in the treatment of coagulopathy in meningococcal disease. *Crit Care Med* 1998;26:965-8.
21. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, La Rosa SP, Dhainaut JF, López-Rodríguez A, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001;344:699-709.
22. White B, Livingstone W, Murphy C, Hodgson A, Rafferty M, Smith OP. An open-label study on the role of adjunctive hemostatic support with protein C replacement therapy in purpura fulminans-associated meningococemia. *Blood* 2000;96:3719-24.
23. Hazelzet JA, Kleijn ED, Groot RD. Endothelial protein C activation in meningococcal sepsis. *N Engl J Med* 2001;345:1776-7.
24. Liaw PCY, Ferrell GL, Esmon CT. Generation and characterization of a monoclonal antibody against human activated protein C: a major advance in the detection of activated protein C in plasma. En: *The XVIIIth Congress of The International Society of Thrombosis and Haemostasis*. Paris, 6-12 de julio, 2001.
25. García-Avello A, Lorente JA, César-Perez J, García-Frade LJ, Alvarado R, Arévalo JM, et al. Degree of hypercoagulability and hyperfibrinolysis is related to organ failure and prognosis after burn trauma. *Thrombosis Res* 1998;89:59-64.
26. García-Frade LJ, Landín L, García-Avello A, Lorente JA, Torrado MC. PAI and D-D dimer levels are related to severity of injury in trauma patients. *Fibrinolysis* 1991;5:253-6.
27. Mathay MA. Severe sepsis: a new treatment with both anticoagulant and antiinflammatory properties. *N Engl J Med* 2001;344:759-62.
28. Lorente JA, Fernández-Segoviano P, Marcos M, Mon E, Guigou N, Pascual T, et al. Disfunción multiorgánica y cambios histológicos en la sepsis experimental. *Med Intensiva* 1996;20:333-9.

