

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



**DETERMINACION DE LOS VALORES NORMALES
DE ANTITROMBINA - III EN MUJERES DE
LA CIUDAD DE MEXICO**

296

TESIS PROFESIONAL

SUSANA MEDINA CARRAZCO

MEXICO, D. F.

1976



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS 1976

NO. 1
FECHA _____
PAG. 288



QUIMICA

FACULTAD DE QUIMICA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

T E S I S

DETERMINACION DE LOS VALORES NORMALES DE
ANTITROMBINA-III EN MUJERES DE LA CIUDAD DE
MEXICO

Q. Q. 40h
SUSANA MEDINA CARRAZCO

1976

JURADO

ASIGNADO

ORIGINALMENTE

SEGUN

EL

TEMA

Presidente: PROF. MAGDALENA ACOSTA SEGUR.

Vocal: PROF. RAMON GUEVARA ESTRADA

Secretario: PROF. SOCORRO CAO ROMERO

1° Suplente: PROF. MA. ELENA BUSTAMANTE C

2° Suplente: PROF. JOSEFINA PIEDRAS ROSS

Sitio donde se desarrolló el tema:

FACULTAD DE QUIMICA UNAM

Nombre completo del sustentante:

SUSANA MARGARITA MEDINA CARRAZCO

Nombre completo del asesor del tema:

PROF. MAGDALENA ACOSTA SEGURA

Amis padala,
Liberato Medicina Jumanig
Ematua Cassico de M.
Cano una muestra de
Casiud y agradecimiento

Pasa:

Anteud
Sandra Susana
Julian Pablo.

I N D I C E

- I.- INTRODUCCION

- II.- GENERALIDADES SOBRE LA ANTITROMBINA-III

- III.- METODOS PARA LA CUANTIFICACION DE -
ANTITROMBINA-III

- IV.- MATERIAL Y EQUIPO

- V.- RESULTADOS OBTENIDOS

- VI.- RESUMEN, DISCUSION Y CONCLUSIONES

- VII.- BIBLIOGRAFIA

CAPITULO I

INTRODUCCION

Es frecuente en nuestro medio realizar la comparación de los valores encontrados en química clínica con los valores reportados en otros países, sin tomar en cuenta que hay factores de raza, ecológicos, nutricionales, -- etc, que pueden alterar esos valores, por lo que es necesario determinar los valores presentes en individuos clínicamente sanos, en el propio núcleo de población en donde se hacen las -- pruebas.

La literatura recientemente publicada demuestra sin lugar a duda, que la terapia anovulatoria oral no debe aplicarse a mujeres con niveles bajos de Antitrombina-III, por que en ellas es mayor el riesgo de desarrollar trastor- nos de la circulación, que se traducen en la formación de - - trombos, por lo que es fundamental conocer los niveles de esta proteína antes de tomar la decisión de dar a la paciente ano- vulatorios, y para poder juzgar si están bajos los niveles es -

necesario conocer primero cuales son los valores normales en nuestro medio.

Además en mujeres con niveles normales es importante que durante el tratamiento con anticonceptivos orales, se controle frecuentemente la tasa de Antitrombina-III, y cuando ésta disminuya deberá suspenderse esta terapia.

Estas son las razones por las cuales se realizó el presente estudio.

CAPITULO II

GENERALIDADES SOBRE LA ANTITROMBINA-III

La Antitrombina-III, principal inhibi-
dor de la trombina en el plasma y suero, es una globulina con
peso molecular de 64,000, que es sintetizada en el hígado (1).
No se conoce la secuencia de aminoácidos que la integran ni el
mecanismo exacto por el que actúa. Se desnaturaliza por el -
cloroformo, por calentamiento a 80°C., y por pH mayores de
9.6 y menores de 6.0.

Seegers sugiere que la Antitrombina-
III es un sustrato para la trombina (complejo enzima-sustrato)
(1). También se ha sugerido que inactiva a la plasmina, trip-
sina, quimotripsina e inhibe el factor VII. La carencia congé-
nita de Antitrombina-III predispone a los individuos que la pre-
sentan a trombosis (4). Actualmente, se considera a la Anti-
trombina-III como la responsable de la actividad del cofactor-
de heparina.

Se piensa que la Antitrombina-III y

el cofactor de heparina son la misma sustancia, ya que al purificar la Antitrombina-III, no se ha podido separar del cofactor.

INFLUENCIA DE LA EDAD EN LA ANTITROMBINA-III

En la mujer se ha visto que hay una tendencia a su disminución antes de los 30 años y que los valores permanecen constantes de los 30 a los 40. En la menopausia se observa un ligero, pero significativo aumento (10).

En individuos jóvenes se puede observar que los hombres tienen valores más altos que las mujeres, pero al aumentar la edad hay un descenso, lo que coincide con una frecuencia mayor de enfermedades trombóticas en el hombre.

ASOCIACION DE ANTITROMBINA-III CON GRUPOS SANGUINEOS

En diversas investigaciones, debida-

mente comprobadas por Mourant et al., se ha observado un mayor riesgo de enfermedades tromboembólicas en personas con grupo sanguíneo tipo "A". (8).

HIPOANTITROMBINEMIA III

Se encuentran valores disminuídos de Antitrombina-III en las siguientes condiciones:

- a) Coagulación Intravascular Diseminada (CID). En un estudio previo (18) que incluyó a 45 pacientes con CID, la mayoría presentó acortamiento del tiempo de Antitrombina-III; esta entidad, se secundaria a múltiples causas como choque séptico, infección por gram-negativos, daño hepático severo, etc, tiene en común el agrupar estados de trombosis dentro de los vasos y desencadenar mecanismos anormales que incluyen - la inhibición de la trombina en el plasma.
- b) Enfermedades severas del hígado. De un gru-

po de 19 pacientes con diversos tipos de daño hepatocelular que incluyó cirrosis, ca hepático, cirrosis congénita biliar, hepatitis aguda, hepatitis crónica, absceso hepático, necrosis - - post-hepatitis, tuvieron en más del 50% Anti-trombina-III por abajo de 20 segundos (18).

- c) Hemofilia. En 12 pacientes estudiados, con diferentes estados hemofílicos presentaron alteración (disminución) de Antitrombina-III. Correlacionó dicha alteración con la actividad de su padecimiento.
- d) Embolia pulmonar (18). En pacientes con in--farto del miocardio, durante las 2 semanas siguientes al cuadro agudo, se encuentran niveles bajos de Antitrombina-III. Los niveles inferiores se observaron en aquellos que presentaban tromboflebitis previa.
- e) En puerperio.
- f) Tratamiento con estrógenos. (10)

- g) En mujeres embarazadas. Debido a la influencia de las hormonas sexuales. (12)
- h) Durante el tratamiento con anticonceptivos orales (progesterona-estrógeno). Se considera a las mujeres bajo terapia anticonceptiva oral como en estado pretrombótico, (16) debido a que numerosos reportes muestran que los anticonceptivos orales disminuyen los niveles de Antitrombina-III en un 15 a 20% del valor normal. Se sugiere que cuando los niveles de Antitrombina-III disminuyan deberá suprimirse la terapia anticonceptiva oral (9, 10, 17, 18 y 20).

PURIFICACION DE LA ANTITROMBINA-III

Material y método: (2, 3)

El plasma que se emplea en la preparación se obtiene mezclando nueve volúmenes de sangre por un

volumen de anticoagulante (ACD), se centrifuga y se separa el plasma. Una vez separado se le adiciona sulfato de bario para adsorber los factores II, VII, IX y X de la coagulación. Se incubaba a 54°C por tres minutos para desfibrinarlo.

Para adsorber la proteína que nos interesa, al plasma ya desfibrinado se le adiciona una suspensión de hidróxido de aluminio, se centrifuga, se desecha el sobrenadante y el precipitado se lava varias veces con solución salina, después se resuspende en fosfato de amonio.

La proteína así tratada se concentra en columnas cromatográficas:

- a) Sephadex G-200
- b) DEAE Sephadex
- c) Sephadex G-200
- d) DEAE Sephadex

Las fracciones eluidas de las columnas se leen en el espectrofotómetro y se observan varios picos, lo que indica que, además de obtenerse la Antitrombina-III, se obtienen otras proteínas. En este análisis se observa que el pi

co de Antitrombina-III y el cofactor de heparina es el mismo.

Al salir la proteína de la columna se concentra por diálisis o por evaporación y se le hacen pruebas para medir su actividad.

OBTENCION DE SUERO ANTI-ANTITROMBINA-III

Una vez obtenida y purificada la Antitrombina-III se inyecta mezclada con adyuvante de Freud a conejos. (10)

Cuando la Antitrombina-III utilizada en la inmunización no ha sido altamente purificada, se obtienen sueros inespecíficos que contienen anticuerpos frente a α_2 HS -- glucoproteína. La purificación de este suero Anti-Antitrombina-III se lleva a cabo por absorción con sueros de pacientes -- con muy baja concentración de Antitrombina-III pero con un contenido normal de α_2 HS glucoproteína. Mediante este artificio, se obtiene el suero específico Anti-Antitrombina-III.

CAPITULO III
METODOS PARA LA CUANTIFICACION DE
ANTITROMBINA-III

Método de Von Kaulla y Von Kaulla -
(actividad de Antitrombina progresiva 1959).

Electroforesis horizontal en gel de -
almidón (Poulik 1957).

Métodos Inmunoquímicos:

- a) Electroinmunodifusión (Laurell 1966)
- b) Inmunodifusión radial (Mancini, Carbonara y Heremans
1965)
- c) Doble inmunodifusión en gel de agar (Ouchterlony --
1958 y Scheidegger 1955)
- d) Inmunolectroforesis

De los métodos aquí mencionados, -
a continuación se describen los más empleados. El de Von --
Kaulla y Von Kaulla fue empleado para la determinación de An

titrombina-III hasta la aparición de métodos simplificados y -- exactos como la inmunoelectroforesis, la electroinmunodifusión y la inmunodifusión radial.

METODO DE VON KAULLA Y VON KAULLA

Fundamento

Al suero por probar se le adiciona una cantidad en exceso de trombina estandarizada, se incuba 6 minutos y se determina el tiempo de coagulación. Para obtener la actividad remanente de la trombina, se determina el tiempo de coagulación de una solución estándar de fibrinógeno. Los resultados se expresan en "segundos", y valores bajos indican baja actividad de la Antitrombina-III, ya que los productos de degradación de fibrina y fibrinógeno pueden influir en los resultados de la prueba. Los niveles usualmente son determinados en suero, ya que la desfibrinización del plasma puede eliminar parte de la actividad de la Antitrombina-III.

Método:

Se efectúa la punción venosa procu-

rando que sea en el menor tiempo posible, se coloca la sangre en un tubo siliconizado de 12 por 75 mm, se tapa y se mantiene a temperatura ambiente hasta que esté completamente coagulada. Se separa el coágulo con un aplicador de madera y se centrifuga el tubo a 3,000 rpm, durante 10 minutos. Del suero sobrenadante se transfieren 0.6 ml a un tubo de 12 por 75 mm, sin soplar ni resbalar por las paredes del tubo, y se coloca a 37°C. Inmediatamente después, en un tubo siliconizado se prepara una mezcla de 0.15 ml de solución salina y 0.15 ml de trombina glicerinada que se mantiene a temperatura ambiente. De esta mezcla se toman 0.15 ml y se introducen en el tubo de suero precalentado a 37°C, colocando la pipeta hasta el fondo. Se sopla suavemente y simultáneamente se empieza a medir el tiempo con un cronómetro hasta 3 minutos, inmediatamente se retiran 0.2 ml de esta mezcla y se adiciona a un tubo de 10 por 75 mm que contiene 0.1 ml de fibrinógeno precalentado a 37°C, y se inicia así la segunda parte del conteo cronométrico hasta la formación del coágulo; en este momento se detiene el cronómetro y se anota el tiempo; la prueba se repite a los 6 -

minutos después de que se agregó al suero la solución de trombina.

Valores normales:

Para 3 minutos de incubación: De 13 a 67 segundos.

Para 6 minutos de incubación: De 24 a 110 segundos.

Con relación a este método, P. Wolf (1970) (19) opina, que estos parámetros son demasiado amplios para permitir sacar conclusiones definitivas.

INMUNOELECTROFORESIS

En este método (5, 7) se identifican las proteínas tanto por sus propiedades electroforéticas, como antigénicas, y consta básicamente de dos pasos; primero las proteínas son separadas por electroforesis y subsecuentemente, se les hace reaccionar con sus correspondientes anticuerpos, por medio de difusión simple, con lo que resulta la formación de líneas de precipitación individual.

La inmunoelectroforesis se puede --
usar como un método cualitativo, pero puede ser semi-cuanti-
tativo si se corre paralelamente un suero estándar o bien cuan-
titativo si en esas mismas condiciones se lee en un integrador.

En este método se requiere de un --
aparato de electroforesis y una placa de gel de agarosa o una -
tira de acetato de celulosa, a la que se le han practicado pre-
viamente unos cortes circulares, donde se colocan los sueros
y se hace el corrimiento electroforético. Después de la elec-
troforesis se colocan los sueros inmunes en unos canales que -
previamente se han practicado en el gel de agarosa, y así se -
inicia la segunda parte del método.

Esta parte consiste en una doble difu-
sión en dos dimensiones con lo cual se lleva a cabo la inmuno-
precipitación. Para una mejor evaluación es conveniente teñir
estas líneas con cualquier colorante para proteínas.

INMUNODIFUSION RADIAL

Este método, utilizado probablemente

te por primera vez por Petrie en 1932, fue estudiado exhaustivamente en 1965 por Mancini, Carbonara y Heremans. (13).

Por definición, este método de precipitación por difusión radial simple, se lleva a cabo incorporando uno de los dos elementos reaccionantes, generalmente el anticuerpo, en una concentración uniforme, en un gel de agar o en una tira de acetato de celulosa, mientras que el otro reactivo, generalmente el antígeno, se introduce en un pozo o se deposita sobre una marca en la tira, lo que permite que se difunda en el medio en donde va a reaccionar con el otro reactivo.

Mancini, Carbonara y Heremans concluyeron, que cuando se deja que una cantidad desconocida de antígeno se difunda en forma radial desde un pozo o una marca practicada en el medio que contiene los anticuerpos, durante el tiempo suficiente para permitir la combinación del antígeno, se presentan las siguientes relaciones fundamentales:

El tamaño de la zona de inmunoprecipitación es directamente proporcional a la concentración de la sustancia que se difunde e inversamente proporcional a la

concentración del reactivo incorporado al medio.

Tal como sucede en la difusión simple de Oudin, el aumento de la precipitación es directamente -- proporcional a la raíz cuadrada del tiempo al principio del período de difusión en tanto que la concentración del antígeno es directamente proporcional al término de la difusión.

Las diferencias de temperatura no -- tienen ninguna influencia sobre el tamaño final de las zonas de precipitación, pero acelera la reacción pudiendo así llegarse al punto final en un tiempo inversamente proporcional a la temperatura.

Mediante la estandarización de las -- condiciones técnicas para llevar a cabo la prueba, es posible -- utilizar este principio para la determinación inmunoquímica de los antígenos.

Utilizando un patrón en tres diluciones, y empleando el mismo volumen al llenar los pozos, tanto en éstos como en las muestras se obtendrán halos de precipitación comparables, y así se podrá obtener una curva de calibración

ción. Para ello, se miden los diámetros de inmunoprecipitación de las tres diluciones del estándar, con una regla especial, la lectura se eleva al cuadrado y se grafican estos valores situándoles en el eje de las ordenadas de un sistema cartesiano; colocando los valores de las concentraciones en el eje de las abscisas se obtienen tres puntos que al unirse dan la curva de calibración de donde se pueden extrapolar los valores de los problemas. En caso de que se hayan hecho diluciones de las muestras, los valores obtenidos se multiplican por el factor de dilución para tener la concentración final del antígeno.

En base a que existe una relación lineal entre el área de precipitación y la concentración del antígeno, y que la difusión prosigue hasta que todo el antígeno se ha combinado, la inmunodifusión radial es un método muy exacto y adecuado para las determinaciones cuantitativas.

ELECTROINMUNODIFUSION

El fundamento de este método básicamente es el mismo que el de inmunodifusión radial, (7) pero se

hace intervenir corriente eléctrica para acelerar la reacción de inmunoprecipitación. Debido a las cargas eléctricas del antígeno, éste migrará en el gel o en la tira de acetato de celulosa y al reaccionar con el anticuerpo se forman bandas de precipitación de complejo antígeno-anticuerpo en forma paralela que se unen en el punto de equivalencia. La distancia recorrida por el antígeno desde el punto en que se colocó hasta el punto de equivalencia, es directamente proporcional a la concentración de antígeno.

La electroinmunodifusión es un método semi cuantitativo cuando se corre en suero normal para comparar y - - cuantitativo cuando se corre en estándar.

Al igual que en la inmunodifusión radial, se traza una curva de referencia con los valores obtenidos de los estándares. Para trazar esta curva se mide la distancia recorrida por el inmunoprecipitado de complejo antígeno-anticuerpo, hasta el punto de equivalencia y este valor se sitúa en el eje de las ordenadas, en las abscisas se coloca la concentración de los estándares en mg/100 ml. Se unen los puntos y

se obtiene una línea.

Finalmente, para obtener la concentración de los antígenos problema, se mide la distancia recorrida y se extrapola en la curva de referencia.

CAPITULO IV

MATERIAL Y EQUIPO DEL METODO DE INMUNODIFUSION RADIAL EMPLEADOS EN EL PRESENTE ESTUDIO (6)

Centrífuga clínica

Jeringas

Tubos de ensaye de 12 x 75 mm

Tubos de ensaye de 13 x 100 mm

Pipetas serológicas de 1 ml

Pipetas de 0.2 ml graduadas en 0.001 ml

Aplicador con capilares desechables para
medir 5 μ l

Lámpara

Tapones de hule de 00

Gradillas

REACTIVOS:

1. Placas para inmunodifusión Antitrombina-III, las cuales -
consisten en una caja de plástico desechable que tiene una

capa de gel de agar adicionada de suero Anti-Antitrombina-III obtenido en conejo.

2. Estándar de Antitrombina-III
3. Solución salina al 0.85% (SSI)

MATERIAL BIOLÓGICO:

242 plasmas de mujeres clínicamente sanas, agrupadas según su edad:

EDADES	N° DE PLASMAS
15 a 19 años	43
20 a 24 años	52
25 a 29 años	50
30 a 34 años	48
35 a 40 años	49

METODO: (16)

1. Rehidratar el Estándar de Proteínas Plasmáticas (EPP) -- que contenía en este caso 27 mg/100 ml de Antitrombina-III, con exactamente 0.5 ml de agua destilada.

2. Agitar suavemente, para no formar espuma, y esperar a que el polvo se disuelva completamente.
3. Repartir el estándar en 6 tubos de 12 x 75 mm, colocando en tres de ellos 0.1 ml y en los otros tres 0.05 ml. Los tubos que no se vayan a emplear inmediatamente se tapan y se congelan.
4. A un tubo con 0.1 ml de E.P.P., añadir 0.1 ml de solución salina isotónica para obtener la dilución 1:2. A un tubo con 0.05 ml de E.P.P. adicionar 0.15 ml de solución salina isotónica (SSI) para obtener así la dilución 1:4.
5. Abrir las cajas, que contienen el gel de agar adicionado de anticuerpo Anti-Antitrombina-III, y revisar que no haya agua de condensación en los pozos. Si la hay, dejarlas abiertas por unos minutos a temperatura ambiente para que se evapore el agua.

Para la obtención de la curva de referencia, llenar los pozos del 1 al 3 con 5 μ l (0.005 ml) del E.P.P. de las diluciones 1:4, 1:2, 1:1. El resto de los pozos se destina para el exámen de los plasmas problemas, el volumen de las --

muestras es también de 5 μ l.

Los plasmas problema se prueban diluidos 1:2 (0.2 ml de plasma y 0.2 de SSI). Para las mediciones de 5 μ l se usa un aplicador con capilares desechables teniendo cuidado al depositar estos volúmenes en los pozos, de no dañar la capa de gel de agar y de que toda la solución quede dentro de los pozos. Cuando se van a realizar muchas determinaciones a la vez, se pueden emplear 3 placas, suficientes para 33 determinaciones, cargando un pozo de cada placa con una de las tres diluciones del estándar y trazar así una curva de referencia válida para las 3 placas.

6. Después de llenar los pozos, cerrar la caja y dejarla a temperatura ambiente un mínimo de 50 horas.
7. Lectura: Después del período de difusión, se hace la lectura midiendo el diámetro de los anillos de precipitación que se han formado mediante una regla especial y sobre un fondo negro con iluminación lateral.

Las lecturas obtenidas en los estándares, se grafican en papel milimétrico colocando los valores de los diámetros

de los anillos de precipitación elevados al cuadrado en el eje de las ordenadas. En el eje de las abscisas, se situán los valores de las concentraciones de las 3 diluciones del estándar en mg/100 ml. Se unen los 3 puntos así obtenidos, y se obtiene una línea recta, cuyo punto de intersección con el eje de las ordenadas debe estar en 11 ± 2.5 mm. Este es un valor constante que representa un cuarto punto de control; ya que si la línea obtenida no cae dentro de estos valores, la prueba no tiene validez.

Este valor 11 ± 2.5 mm es una constante encontrada experimentalmente que depende del diámetro del pozo, del grosor de la capa de gel de agar anticuerpo y del volumen del antígeno utilizado.

8. Se lee el diámetro de los anillos de precipitación obtenidos en los problemas, se eleva al cuadrado y este valor se sitúa en el eje de las ordenadas. Se traza una línea horizontal en este punto, y en el punto que cruza la línea de referencia se traza una línea vertical cuyo punto de intersección en el eje de las abscisas da el valor de Anti-Antitrombina-

III contenido en la muestra.

9. El valor obtenido deberá multiplicarse por el factor de dilución (2) y el resultado se obtiene en mg/100 ml.

CAPITULO V

RESULTADOS OBTENIDOS

La gráfica N° 1 es la curva de calibración correspondiente a una placa para el método y que permite obtener los valores de Antitrombina-III para cada problema.

Los 242 valores, se distribuyeron en los grupos de edades correspondientes, como lo muestra la tabla de resultados adjunta. (N° 2). Esto se hizo con el fin de obtener los valores normales de Antitrombina-III para cada uno de los 5 grupos de edades.

En esta tabla se tiene la \bar{X} para los 5 grupos y para el grupo de los 242 valores.

Este cálculo se hizo a partir de la fórmula. (15)

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{N}$$

X = Valor de Antitrombina-III

N = Número total de valores

Además se muestra la desviación estándar para los grupos de edades 15-19 años, 20-24 años, 25-29, 30-34 y 35-40, respectivamente.

Para el cálculo de la desviación estándar de estos grupos, se utilizó la fórmula: (15)

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N-1}}$$

Ya que el número de valores de cada grupo es menor de 100.

Para el cálculo de la "S" de los 242 valores se usó la fórmula:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N}}$$

Por ser la muestra mayor de 100.

La gráfica N° 3 muestra la distribución de los 242 valores, (valor central del grupo vs. frecuencia). (14 y 15).

TABLA DE RESULTADOS

E	V	E	V	E	V	E	V
31	27	21	64	24	34	26	31
16	43	19	56	29	38	24	69
29	52	29	56	23	27	25	41
25	34	19	52	40	36	34	60
36	34	17	50	26	27	37	43
30	46	24	64	21	23	38	42
38	50	20	72	20	41	28	56
30	43	25	76	30	31	23	50
38	31	22	72	34	36	24	65
24	33	31	62	18	36	27	62
28	41	20	59	21	31	23	16
25	20	17	52	36	23	24	41
17	37	26	50	16	27	19	56
27	29	23	64	30	28	32	52
24	45	18	62	25	38	16	65
28	33	22	53	36	16	28	53
16	46	27	56	32	56	40	62
23	45	25	77	37	43	38	52
22	19	31	64	30	45	19	46
19	43	26	52	25	36	23	52
27	36	31	62	19	39	26	69
26	31	27	63	29	32	37	64
20	13	21	56	31	52	27	55
21	17	25	45	25	52	32	56
24	20	18	13	33	45	28	46
32	29	30	50	20	45	30	33
16	18	19	41	20	28	24	62
22	24	19	39	20	43	19	56
24	28	32	67	17	32	33	64
26	27	34	52	24	67	38	43
21	30	18	36	39	39	23	63
26	37	27	46	16	56	26	39

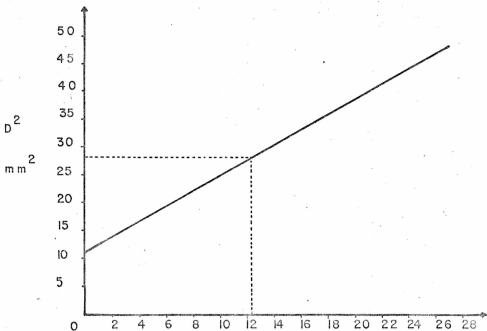
E	V	E	V	E	V	E	V
19	28	23	46	21	65	39	23
20	15	23	46	25	67	40	36
21	40	25	45	28	64	32	28
19	22	20	46	22	52	40	38
21	22	21	46	22	52	30	46
21	25	40	45	39	46	39	32
35	28	19	38	27	41	38	23
33	42	25	32	30	56	39	21
27	46	33	21	20	64	17	41
36	43	19	31	24	52	33	21
33	38	38	36	18	43	32	52
23	46	16	34	28	69	24	33
25	52	34	36	40	52	28	23
38	20	18	20	36	38	35	67
40	43	30	72	40	25	30	64
30	32	30	62	31	31	36	67
40	56	36	72	31	33	33	77
26	20	40	56	40	38	15	15
30	50	40	21	30	31	35	17
25	43	35	23	23	46	37	21
37	36	16	13	26	36	36	42
16	46	39	41	37	31	24	21
30	41	32	52	29	56	32	36
29	52	40	56	40	56	40	73
30	78	27	68	27	56	38	43
40	56	32	60	34	51	18	56
15	52	32	50	16	38	15	43
16	41	15	69	19	43	32	41
16	28	15	52				

E = EDAD

V = VALOR

GRAFICA No. 1

	PRUEBA	CONTENIDO EN mg/100ml	D ² mm ²
1)	DILUCION 1:4	6.75	20
2)	DILUCION 1:2	13.50	29
3)	DILUCION 1:1	27.00	48
4)	P. DEL PACIENTE	<u>12.30</u>	<u>28</u>



mg / 100 ml

TABLA N° 2

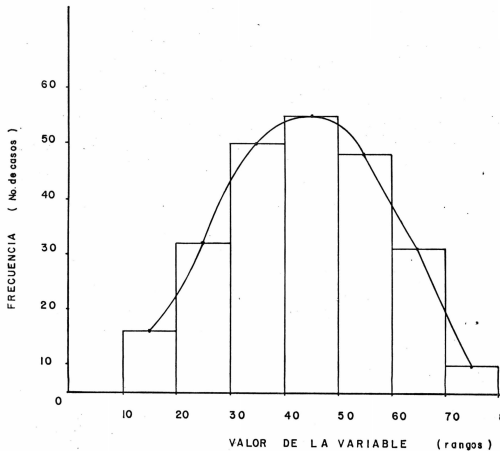
RESULTADOS ENCONTRADOS EN LOS DISTINTOS
GRUPOS DE MUJERES SEGUN SU EDAD

Edad	Valor Medio (\bar{X}) mg/100 ml	Desviación Estándar (S) mg/100 ml
15-19	40.79	± 13.51
20-24	43.36	± 17.17
25-29	46.04	± 13.72
30-34	47.31	± 14.65
35-40	41.38	± 14.87
15-40 (valores de las 242 muestras)	43.84	± 15.15

GRAFICA No. 3

RANGO (valores) VALOR CENTRAL FRECUENCIA

11-20	15	16
21-30	25	32
31-40	35	50
41-50	45	55
51-60	55	48
61-70	65	31
71-80	75	10



CAPITULO VI

RESUMEN

La Antitrombina-III es una globulina con un peso molecular de 64,000 y es el principal inhibidor fisiológico de la trombina en el plasma y suero, así como el responsable de la actividad del cofactor de heparina.

Se observan cambios importantes en la concentración de esta globulina en relación con la edad, con los distintos grupos sanguíneos, con algunas enfermedades como cirrosis hepática, cáncer de hígado, embolia pulmonar, -- etc, en el puerperio y en mujeres que están bajo terapia anti-conceptiva oral.

La determinación de la Antitrombina-III puede realizarse por el método de Von Kaulla, que mide la actividad de la Antitrombina en suero, y por métodos inmunológicos, los cuales cuantifican esta globulina como antígeno.

En este estudio se realizaron 242 - pruebas por el método de inmunodifusión radial, para cuantifi-

ficar la Antitrombina-III a mujeres de la ciudad de México en diferentes grupos de edades. De los cuales se obtuvo la media, la desviación estándar y el valor normal para los distintos grupos de edades y para el grupo de los 242 valores.

DISCUSION

De los resultados obtenidos, se sacaron los valores normales para cada grupo, así como para el grupo de las 242 muestras, que son los siguientes:

Valores en relación con la Edad

Edad	Valor normal (mg/100 ml)
15-19	27-54
20-24	26-61
25-29	32-60
30-34	33-62
35-40	27-56

Valores encontrados en el total de --
muestras 29-59.

Tomando como referencia las cifras normales reportadas por el Instituto Behring que son de 22-39 mg/100 ml y con un valor medio de 30 mg/100 ml, se ve que difieren de las encontradas en este estudio que son: 29-59 mg/100 ml y 43.8 mg/100 ml, respectivamente.

Al comparar entre si estas cifras se observa que los valores normales encontrados en este estudio tienen un rango de variaciones más amplio, lo que significa que los valores están más dispersos de la media.

Además el valor medio encontrado de este estudio; 43.8 es más alto que la cifra del instituto Behring 30.0.

CONCLUSIONES

Los valores obtenidos de Antitrombina-III en el presente estudio, siguen una distribución normal para las 242 mujeres estudiadas, siendo éstos de 29 a 59 mg/100 ml.

Al comparar los resultados de esta -

muestra con los valores normales que reporta el Instituto Behring, se concluye que los niveles de Antitrombina-III son más altos y más dispersos.

Basándose en la literatura revisada se concluye que no deben administrarse anticonceptivos orales sin antes conocer los niveles de Antitrombina-III, ya que si éstos son bajos se expone a la paciente al riesgo de una trombo-
sis.

BIBLIOGRAFIA

1. Abilgaard, U. 1969. Binding of thrombin to antithrombin-III. Scand J. Clin. Lab. Invest. 24, 23.
2. Abilgaard, U. 1968. Highly purified antithrombin-III with heparin cofactor activity prepared by disc - - electrophoresis. Scand J. Clin. Lab. Invest. 21, 89.
3. Abilgaard, U. 1967. Purification of two progressive antithrombins of human plasma. Scand J. Clin. Lab. Invest. 19, 190.
4. Abilgaard, U., M.K. Fagerhol, and O. Egerberg 1970. -- Comparison of progressive antithrombin activity and the concentrations of three thrombin inhibitos in human plasma. Scand J. Clin. - Invest. 26, 349.
5. Barret, J.T. 1972. Inmunología. Introducción a la Inmunoquímica y la Inmunobiología. 1a. Edición - Interamericana. México.

6. Behringwerke A.G. M-Partigen. Immunodifusion plates for quantitative determination of plasma proteins. Laboratory Notes N° 1.
7. Clausen J. 1969. Immunochemical techniques for the identification and estimation of macromolecules.- Laboratory Techniques in Biochemistry Publishing Company. 1a. Edición Amsterdam-London. 430, 437.
8. Fagerhol, M.K., U. Abilgaard, and L. Kornstand. 1971. - Antithrombin-III concentration and ABO blood-groups. Lancet. 2, 664.
9. Fagerhol, M.K. et al. 1970. Oral contraceptives and low - antithrombin-III concentration. Lancet. 1, 1175
10. Fagerhol, M.K., and U. Abilgaard. 1970. Immunological studies on human antithrombin-III. Scand J. Haemat. 7, 10.
11. Hedlin, A.M., and F.C. Monkhouse. 1971. Changes in - spontaneous fibrinolytic activity during use of oral contraceptives. Obstet and Gynaecol. -

37, 225.

12. Howie, P.W. et al. 1970. Effect of combined estrogen--
progestogen oral contraceptives estrogen, and
progestogen on antiplasmin and antithrombin
activity. *Lancet*, 2, 1329.
13. Mancini, G., A.O. Carbonara, and J.F. Heremans. 1965.
Immunochemical quantitation of antigens by -
single radial immunodiffusion. 1a. Edición. -
Immunochemistry Pergamon Press, 2, 235.
14. Murray, R.S., 1969. Estadística. Serie de compendios -
Schaum. Mc. Graw Hill. 2a. Edición Colom
bia.
15. Patiño, G.L. 1970. Control de calidad en el Laboratorio
Clínico. Causas de error. Responsabilidad
del Laboratorio. Reactivos internacionales -
división de Laboratorio sustancia, S.A. Prat
de Llobregat. Barcelona.
16. Von Kaulla, E., and K.N. Von Kaulla 1970. Oral concen
traceptives and low antithrombin-III activity.

Lancet, 1, 36.

17. Von Kaulla, E. et al 1971. Antithrombin-III depression and thrombin generation acceleration in woman - taking oral contraceptives. Amer. J. Obstet. Gynec. 109, 868.
18. Von Kaulla, E., and K.N. Von Kaulla 1967. Antithrombin-III and diseases. Amer. J. Clin. Path., 48, 69.
19. Wolf, P. 1970. Oral contraceptives and low antithrombin-III activity. Lancet, 1, 144.
20. Zuck, T.F. et al 1971. Implications of depressed antithrombin-III activity associated with oral contraceptives. Surgery, Gynaecology and Obstetrics 133, 609.