

ANTITROMBINA III EN ESTADOS NORMALES Y PATOLOGICOS

Rafael Jiménez *

Key Word Index: Antitrombin III, review

Resumen

Este trabajo de revisión analiza los puntos más relevantes que, sobre la importancia práctica de la antitrombina III (AT III), deben conocerse.

Se examinan brevemente las propiedades de esta proteína, así como la patogénesis de su deficiencia, dividiendo las condiciones clínicas, de acuerdo con el grado de riesgo de desarrollar fenómenos trombóticos.

Se discuten los métodos de laboratorio, para cuantificar esta proteína y se dan algunas consideraciones prácticas de utilidad. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1983; 4(2):39—54].

Introducción

El tromboembolismo venoso es una complicación frecuente en diversas condiciones clínicas (36), que puede presentarse espontáneamente por deficiencia de antitrombina (AT) III (60).

En el plasma normal se han descrito seis actividades antitrombóticas diferentes: la AT I, se refiere a la adsorción de la trombina a la fibrina (55). La AT II, es el cofactor plasmático de la heparina y se encuentra localizada en la misma molécula de la AT III (14). El término AT III, ha sido usado para denominar la actividad plasmática que produce la inactivación progresiva e irreversible de la trombina. Sin embargo, esta función está dada normalmente por tres proteínas: una alfa 2 globulina, que neutraliza el 50 por ciento de la trombina; una alfa 2 macroglobulina y una alfa 1 antitripsina, que neutralizan el 50 por ciento restante, en proporciones semejantes (60). El término AT III, será usado en este trabajo como sinónimo de la alfa 2 globulina, lo que algunos autores han abreviado como α_2 AT III (60) para enfatizar que esta proteína es sólo una parte de la actividad antitrombótica progresiva del plasma. El término AT IV es usado por Seegers y colaboradores (97) para describir una actividad contra la trombina que se supone aparece durante el proceso de la coagulación. La AT y, un potente inhibidor de la trombina descrita por Loeliger y Hers (65), se presenta en la artritis reumatoidea y en la macroglobulinemia, y la AT VI, se refiere a la actividad de los productos de degradación del fibrinógeno, que interfieren en la reacción de la trombina con el fibrinógeno.

El objetivo de esta revisión, es analizar la importancia práctica que tiene la proteína plasmática conocida como antitrombina III, dado que, algunas veces, se desconoce o exagera su función.

* Laboratorio de Investigación de Hematología, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera", San José, Costa Rica.

Propiedades de la AT III

Características bioquímicas

La AT III es una alfa 2 globulina, producida en las células endoteliales del hígado, riñones y pulmones (29, 63), se encuentra en el plasma y en algunos espacios extravasculares (43). Su peso molecular (P.M.) es de aproximadamente 65.000 daltons (2). Precipita con sulfato de amonio, en concentraciones de hasta el 50 por ciento de saturación (35) y con alcohol etílico al 20 por ciento a -7,5°C, pH 5,0 y fuerza iónica 0.008 (98), encontrándose en la fracción de Cohn IV/I (68). Se adsorbe con hidróxido de aluminio (78) y con fosfato de calcio (42) pero no con carbonato de bario (35).

La AT III, posee un contenido de carbohidratos del 9 al 15,2 por ciento y el resto lo forma la fracción peptídica (42), que se compone de una cadena sencilla de glicoproteína sin puentes disulfuro. El residuo N terminal de la cadena polipeptídica, corresponde a la histidina (58) y los residuos de arginina, a los sitios activos (104).

Se ha logrado purificar la AT III por varios métodos que incluyen filtración en gel, intercambio iónico, procesos de adsorción y elución, así como afinidad cromatográfica con heparina agarosa (3).

Mediante inmunoelectroforesis bidimensional, usando heparina en el gel, se demostró que la AT III, se compone de tres fracciones diferentes, cuya concentración varía en el plasma y en el suero (93). La fracción 1, es la que predomina en el plasma y la que posee la mayor movilidad electroforética. Los componentes 2 y 3 son los más pesados y predominan en el suero, y podrían ser complejos de AT III, con trombina o con el factor de coagulación Xa (93).

Características biológicas:

La AT III inactiva la trombina de una manera progresiva en ausencia de heparina, y muestra una cinética de primer orden (60), lo que depende de las concentraciones relativas de trombina y de AT III (77). Algunos autores creen que esta reacción es de segundo orden (4). Aunque otros no han podido definir el orden de la reacción (67).

La AT III inactiva la trombina en forma irreversible, formando con ella un complejo estequiométrico inactivo en proporción 1:1, en el cual interaccionan los residuos de serina de la trombina, con los de arginina de la AT III (91). La AT III también neutraliza los factores IXa, Xa, XIa, XIIa, que actúan como proteasas en la coagulación sanguínea (57).

Un mililitro de plasma normal, contiene 300 unidades de protrombina (60) y prácticamente toda pasa a ser trombina durante el proceso de coagulación. Sin embargo es difícil detectar más de 8 a 10 unidades de trombina durante este proceso, por la rápida neutralización que ejerce la AT III sobre ella (60). Por otra parte, un mililitro de plasma normal, neutraliza de 750 a 800 unidades de trombina (9), lo que indica que la capacidad de neutralización de esta antitrombina es el doble de la producción de trombina, y no se recobra nunca la actividad trombinica del plasma, después de haber sido neutralizada por la AT III (60).

Usando AT III purificada, se observó que el complejo entre una molécula de AT III y una de trombina, no es detectado en ningún momento del proceso de coagulación, como sí lo sería un complejo de 190.000 daltons (15), esto sugiere que en el suero normal, el complejo AT III-trombina debe estar formado, ya sea por dos moléculas de AT III y dos de trombina, o por una de AT III y cuatro de trombina. Otros autores han encontrado

evidencia de que, el complejo es 1:1, dado que posee un peso molecular de 100.000 daltons (4).

La unión de heparina a la AT III acelera la inactivación de la trombina (60), observándose que en ausencia de la primera la vida media de la trombina es 40 seg. y en presencia de AT III y heparina es 2 seg. (5)

El cofactor plasmático de la heparina, se ha denominado actividad de AT II, pero hoy se le considera una de las funciones que está presente en la molécula de la AT III (14). Dicha actividad, acelera la neutralización de trombina por AT III en presencia de heparina, pero no por otras antitrombinas, como la alfa 1 antitripsina o la alfa 2 macroglobulina (2). Otros autores mencionan que la AT II y la AT III son componentes distintos (87), y se reportan dos cofactores de la heparina, uno de los cuales es semejante a la AT III (24). Debe recordarse, que la capacidad de neutralizar el factor Xa, también se acelera en presencia de heparina (71).

La heparina interacciona con los residuos de lisina de la AT III, y produce un cambio de conformación, que favorece la exposición de los residuos de arginina de la AT III, los que así interaccionan más fácilmente con la trombina (91) (Fig. 1). La heparina se une también a la trombina (64), al factor Xa (108) aunque no a la protrombina (80).

Es importante destacar que, aunque la concentración plasmática de AT III, es mucho menor que la de alfa 1 antitripsina y la de alfa 2 macroglobulina, es la que neutraliza la mayor cantidad de trombina (51).

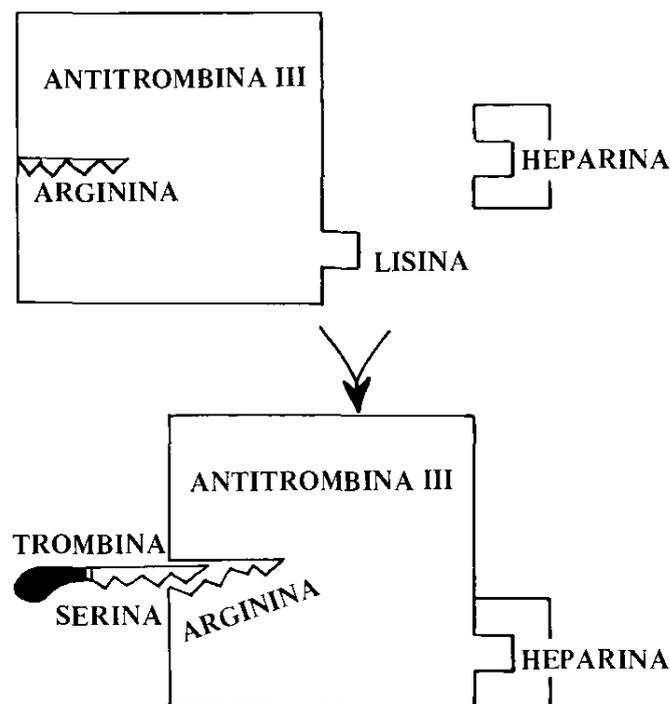


Figura 1. Diagrama que muestra en forma esquemática, la interacción de la heparina con la antitrombina III y la posterior neutralización de la trombina (90).

Actividad de la AT III en estados normales

En recién nacidos y niños:

Normalmente la AT III se encuentra en los recién nacidos en niveles menores que en los adultos (68), debido a un defecto de síntesis por inmadurez hepática (40). Su nivel al nacimiento, varía según la edad gestacional. En los niños de pretérmino, no es sino hasta las tres o cuatro semanas de vida, en que alcanzan los valores del recién nacido a término (40). La alfa 1 antitripsina y la alfa 2 macroglobulina también están disminuidas en esta etapa (51), y los niveles de AT III del adulto, se alcanzan aproximadamente a los 6 meses de edad (103).

El estudio bioquímico y funcional de la AT III en recién nacidos, demuestra que esta molécula es exactamente igual a la del adulto, tanto estructural como funcionalmente. Incluso en su interacción con la heparina (74). La relación entre AT III funcional (que mide la actividad molecular) e inmunológica (que mide la presencia de moléculas funcionales y no funcionales), se ha encontrado adecuada en los neonatos sanos (51, 103).

Aunque el nivel de AT III en el recién nacido sano, es de cerca del 50 por ciento del valor del adulto, no se presentan fenómenos trombóticos debido a la disminución concomitante de los factores dependientes de la vitamina K (51). Por la misma razón, la deficiencia hereditaria de AT III, raramente produce fenómenos trombóticos en esta época. Excepto algunos casos reportados de trombosis aórticas (16).

La concentración de AT III en niños escolares, se ha encontrado semejante a la de los adultos, y no se observan diferencias con relación al sexo (51). Algunos investigadores han encontrado adecuada la correlación entre AT III funcional e inmunológica en escolares (51), pero otros no comparten este criterio (103).

En adultos:

Los niveles de AT III en adultos sanos, presenta poca variabilidad (104); ha sido difícil precisar valores normales debido a la gran variedad de métodos y unidades utilizadas. Sin embargo, transcribimos algunas cifras obtenidas de la literatura: AT III funcional en suero: de 15 a 37 por ciento (54), AT III funcional en plasma: 80—109 por ciento (54). AT III cofactor de la heparina: 71 a 128 por ciento (31), AT III antigénica: 72—128 por ciento (69).

La AT III, es ligeramente más baja en mujeres de edad fértil y en hombres mayores, debido al balance entre estrógenos y testosterona (104). La AT III permanece normal en el embarazo hasta la trigésimosexta semana (34), después de la cual baja hasta el momento del parto, y se eleva rápidamente después del mismo (105).

En el adulto sano existe una buena correlación entre la AT III funcional e inmunológica, así como entre su determinación por los diferentes métodos funcionales (54).

Patogénesis de la deficiencia de AT III

Hay varios mecanismos por los cuales puede producirse deficiencia de AT III (104): una síntesis disminuida, el consumo aumentado y la pérdida urinaria, pero desde el punto de vista práctico, su disminución se dividirá en: 1) estados asociados con riesgo aumentado de trombosis venosa; 2) estados en los que la deficiencia de AT III puede contribuir a

desarrollar fenómenos trombóticos; y 3) estados en los que la disminución de la AT III, no induce a aumentos en el riesgo de trombosis.

Estados asociados con riesgo aumentado de trombosis venosas:

- a. Deficiencia hereditaria:** La AT III se hereda con un patrón autosómico dominante (33). Su deficiencia hereditaria se produce por la depresión total de su síntesis (106) o por mutación de la molécula, lo que produce proteínas afuncionales (92). En la actualidad, se han descrito aproximadamente 55 núcleos familiares con deficiencia hereditaria de AT III (104); sin embargo, el número real se desconoce, ya que constantemente se reportan nuevos casos (72).

La otra posibilidad desde el punto de vista genético es el aumento de la síntesis de la AT III, el que puede producir una diátesis hemorrágica (88).

La prevalencia de la deficiencia hereditaria de AT III se asume de 1 por cada 50.000 habitantes en Noruega (82) y de 1 por 20.000 personas en Estados Unidos de Norteamérica (90). Se ha reportado que, en pacientes con historia de trombosis venosa y embolismo pulmonar recurrentes, su frecuencia es del 2 al 3 por ciento (90).

La proporción entre hombres y mujeres con deficiencia hereditaria de AT III es muy semejante, reportándose de 1,16 a 1(104).

Los problemas trombóticos en pacientes con deficiencia hereditaria de AT III, se presentan en el 10 por ciento de los casos menores de 15 años de edad, a diferencia del 85 por ciento en los mayores de 50 años (104).

Los episodios trombóticos en pacientes con deficiencia hereditaria de AT III, son espontáneos, o se desencadenan por condiciones tales como cirugía, inflamación, embarazo, parto, trauma o anticonceptivos orales (33, 104) y algunos durante la terapia con anticoagulantes orales (72).

Los sitios más frecuentes de los fenómenos trombóticos son las venas ilíacas, venas mesentéricas y embolismo pulmonar (84).

Es difícil de predecir la severidad de las manifestaciones clínicas con base en los niveles plasmáticos de la AT III, debido a que, aún dentro de una misma familia, el gene tiene diferente grado de expresividad (104).

La trombosis arterial, es una complicación poco frecuente de la deficiencia hereditaria de AT III. Se reporta básicamente en pacientes de más de 40 años de edad (104) y algunos pocos casos en niños pequeños (16).

En los pacientes con deficiencia de AT III, tanto hereditaria como adquirida, la tendencia a la trombosis puede ser controlada, mediante el uso de terapia anticoagulante. En la deficiencia hereditaria se han utilizado con éxito, anticoagulantes orales en forma prolongada y en aquellos que requieren operaciones quirúrgicas, la heparina subcutánea ha resultado beneficiosa (9). Si se usa heparina intravenosa, debe tenerse presente que en estos casos los niveles plasmáticos de AT III disminuyen aún más, por lo que es necesario, al suspender la heparina, administrar algún anticoagulante oral para evitar un posible problema trombótico (57). La otra posibilidad, todavía no disponible en todos los centros, es la de administrar concentrados purificados de AT III (9).

Basados en los análisis de laboratorio, Sas y colaboradores (95) clasificaron la deficiencia hereditaria de AT III en dos tipos: la deficiencia clásica de AT III y la variante de la deficiencia clásica de AT III (Cuadro 1).

CUADRO 1
CLASIFICACION DE LA DEFICIENCIA HEREDITARIA DE AT III
CON BASE EN RESULTADOS DE LABORATORIO (95)

TIPO 1

Deficiencia clásica de AT III:

La molécula de AT III es funcionalmente activa pero su síntesis está disminuida.

- a. AT III con movilidad electroforética normal en gel de agarosa heparinizado (mayoría de los casos reportados).
- b. AT III con menor movilidad electroforética en gel de agarosa heparinizado, debido a disminución de la afinidad por la heparina.

TIPO 2

Variante de la deficiencia clásica de AT III:

Se agrupan todas las deficiencias de AT III que muestren diferencia entre los niveles de AT III inmunológicos y funcionales.

FUENTE: Sas colaboradores.

Otras variantes de deficiencia de AT III han sido descritas (8, 81, 92), lo que hace complejo el estudio de las mismas. En algunos casos se ha encontrado hiperagregabilidad (73), o hipoagregabilidad (85) plaquetaria concomitante. Todo esto indica, que la clasificación de la deficiencia hereditaria de la AT III, debe ser reevaluada y depurada a corto plazo.

- b. **Deficiencia adquirida:** dentro de las deficiencias adquiridas de AT III, que cursan con un riesgo alto de trombosis se encuentra el síndrome nefrótico. Está bien comprobado que la excreción urinaria anormal de proteínas, representa una pérdida acelerada de AT III (52), encontrándose una correlación significativa, entre el aclaramiento renal de AT III y el grado de deficiencia sérica de la misma (53). También se ha visto que la pérdida urinaria de AT III, se correlaciona con la excreción anormal de albúmina (53). En los casos de pacientes tratados con glucocorticoides, los niveles plasmáticos de AT III y la pérdida urinaria de esta proteína, no muestran la correlación normalmente observada, además de que los niveles de AT III, son más altos de lo esperado (104), debido al estímulo en su síntesis producida por los glucocorticoides (56). El 20 por ciento de los nefróticos pueden presentar fenómenos trombóticos. En ellos los niveles de AT III son menores del 70 por ciento del valor normal (53). El riesgo real de trombosis en este grupo, puede aumentar debido a la coexistencia —en algunos casos— de factores de la coagulación elevada, y cómputos altos de plaquetas (104).

El riesgo de trombosis en niños con síndrome nefrótico es menor que en los adultos (21), lo que puede explicarse por el aumento de alfa 2 macroglobulina, observada en estos pacientes (18).

Estados en los que la deficiencia de AT III puede contribuir a desarrollar fenómenos tromboticos:

Hay varias condiciones clínicas que pueden cursar con niveles bajos de AT III, unas debido a supresión de la síntesis y otras por consumo aumentado.

La posibilidad de que se produzcan problemas tromboticos dependerá de la condición clínica de fondo, sobre todo, si se encuentran presentes otros factores de riesgo (104).

La AT III se ha encontrado disminuida durante y después de cirugía mayor (1, 10); se ha observado que los pacientes con niveles preoperatorios de AT III menores al 80 por ciento presentan un mayor riesgo de desarrollar fenómenos tromboticos post-operatorios (101), sobre todo en los casos de reemplazo total de cadera (38). A pesar de que la mayoría de los reportes informan niveles de AT III disminuidos, Hedner y Nilsson (41) no encontraron niveles post-operatorios bajos de AT III.

En quemaduras severas complicadas con procesos infecciosos, se ha encontrado disminución de AT III (23). La AT III actúa como proteína de fase aguda en quemaduras, elevándose al inicio y regresando a la normalidad posteriormente, en los casos leves. En los casos severos complicados con procesos infecciosos, se ha encontrado una disminución marcada de la AT III, probablemente por cuadros de coagulación intravascular diseminada (CID) (23).

La AT III se encuentra reducida durante la CID (12.100), además su concentración plasmática disminuye rápidamente. Como su reacción es irreversible, la determinación de esta proteína es de gran ayuda para el diagnóstico de CID (13). La determinación seriada de los niveles de AT III en estos pacientes, sirve también para evaluar la eficacia del tratamiento (12).

Los concentrados de AT III han sido usados experimentalmente para el tratamiento de CID, con resultados aparentemente buenos (12).

La AT III se encuentra disminuida en enfermedades neoplásicas de adultos (66), tales como leucemias mieloides (89), tumores sólidos (76), procesos con metástasis hepáticas (11) y otros problemas malignos (45), aunque algunos autores han reportado valores elevados (11). En niños con diversos problemas neoplásicos la AT III inmunológica es normal (49).

Por otra parte, los anticonceptivos orales que contienen estrógenos, pueden reducir los niveles plasmáticos de AT III del 15 al 21 por ciento de valor inicial (34, 107). En pacientes que ingieren mayores dosis de estrógenos se ha observado un mayor riesgo de trombosis (27). En estas pacientes los fenómenos tromboticos son tanto venosos como arteriales, lo que indica que la AT III, no es la única causa en la patogénesis de fenómenos tromboembólicos (86), pues la disminución de AT III induce más frecuentemente trombosis venosa -

Además, la sepsis, tanto por bacterias gramnegativas como por grampositivas (104), es una complicación clínica que induce a CID y como tal hace que disminuya la AT III (13).

Se ha demostrado que los niños desnutridos severos presentan mayor incidencia de fenómenos tromboticos (47), y que uno de los factores que pueden contribuir a este hecho es la disminución de la AT III (48).

Algunos reportes aislados indican una disminución de la AT III en resecciones masivas de intestino delgado (104), en enteropatías con pérdida proteica (79), en enfermedad inflamatoria intestinal (59) y en traumatismos severos (104), hecho que puede contribuir al desarrollo del fenómeno trombótico, observado en algunos de estos casos.

Estados en los que la disminución de AT III no induce a aumento en el riesgo de trombosis:

La AT III se encuentra disminuida en casi todos los casos de enfermedad hepática aguda o crónica (14, 32); sin embargo, estos pacientes no presentan aumento en el riesgo de trombosis (104), — probablemente por la disminución concomitante de factores plasmáticos de la coagulación y plaquetas— y por el aumento de la alfa 2 macroglobulina (19). Si en los pacientes con enfermedad hepática, se rompe la relación entre fuerzas coagulantes e inhibidores, se pueden producir fenómenos tromboembólicos, tal como sucede en hepatopatías asociadas a CID (20), a ingesta de aspirina (96) o aplicación de asparaginasa (28).

Durante la terapéutica con heparina, se produce una disminución de AT III, que no presenta un aumento en el riesgo de fenómenos trombóticos. Marciniak y Gockerman (70) encontraron que la concentración de AT III disminuye hasta en un 31 por ciento de su valor normal durante la terapia con heparina intravenosa, que se normaliza entre dos y tres días después de terminar el tratamiento. La disminución de AT III no se produce con una sola dosis de heparina, sino durante el tratamiento prolongado de la misma (57). Aunque la mayoría de los estudios no encuentran disminución de la AT III durante la terapia con heparina subcutánea (57, 70), Conrad y colaboradores (26) sí la observaron.

Ya se mencionó que la disminución de la AT III en los primeros meses de vida es normal, y en estos casos, tampoco se producen fenómenos tromboembólicos.

Métodos para determinar la AT III

Los niveles circulantes de AT III, pueden determinarse en el laboratorio evaluando dos propiedades de esta proteína: la capacidad funcional de la molécula, lo cual se hace observando el poder de neutralización sobre la trombina o sobre el factor Xa, y la capacidad inmunológica (Cuadro II).

Los métodos para la determinación cuantitativa de AT III, deben reflejar verdaderamente el nivel circulante de esta proteína, para lo cual, las determinaciones deben realizarse en plasma. En suero la cantidad de AT III es variable, debido a que se desconoce, con exactitud, la cantidad de AT III consumida durante el proceso de coagulación (75).

Capacidad funcional:

La capacidad biológica o funcional de la AT III, puede realizarse añadiendo grandes cantidades de trombina a la muestra, o pequeñas cantidades con incubación corta (17). Para estos casos se requiere la defibrinación de la muestra, ya sea agregando trombina, calentando a 56°C, o utilizando venenos de serpientes (44), todo lo cual dificulta la estandarización de los métodos.

El método de difusión en gel, utiliza trombina incorporada a la agarosa. Después de la difusión radial, se observa la coagulación que se produce sobre el fibrinógeno que se vierte sobre el gel (61).

CUADRO 2
METODOS PARA DETERMINAR LA AT III

A. CAPACIDAD FUNCIONAL

1. Neutralizando la trombina:

- a. Añadiendo trombina en exceso.
- b. Difusión radial en gel de agarosa.
- c. Con sustratos cromogénicos y fluorescentes.
- d. Añadiendo heparina a la muestra (métodos coagulantes y cromogénicos).
- e. Analizando el patrón plasmático de trombosis y pretrombosis.

2. Neutralizando el factor Xa:

- a. Agregando factor Xa en exceso.
- b. Con sustratos cromogénicos y fluorescentes.
- c. Añadiendo heparina a la muestra (métodos coagulantes y cromogénicos).

B. CAPACIDAD INMUNOLOGICA

1. Inmunodifusión radial.

2. Inmunoelectroforesis cruzada.

3. Electroinmunodifusión.

4. Radioinmunoanálisis.

5. Técnicas inmunoenzimáticas.

6. Nefelometría con rayos láser.

Recientemente se han introducido los sustratos cromogénicos y fluorescentes específicos, que utilizan enzimas con las cuales la trombina tiene gran afinidad. Al incubarse plasma con trombina, esta es inactivada por la AT III, y la adición posterior del sustrato cromogénico, resulta en la liberación de una molécula de paranitroanilina del sustrato, producida por la trombina residual no neutralizada. La paranitroanilina coloreada que se libera guarda proporción directa con la trombina neutralizada por la AT III, y su concentración se lee en densidad óptica. Estas determinaciones deben realizarse en material plástico, ya que la trombina se adsorbe al vidrio y puede dar resultados anormales.

Otra forma de evaluar la AT III es determinando la actividad de cofactor de la heparina, o sea observando la neutralización de la trombina en presencia de cantidades pequeñas de heparina. Al respecto existen métodos coagulantes (43) y amidolíticos (cromogénicos) (6).

Una forma práctica y poco difundida para determinar AT III, es aquella que define el patrón plasmático de trombosis y pretrombosis, con base en el análisis concomitante de AT III coagulante sin heparina y con cantidades crecientes de la misma (46). Esta determinación es muy práctica, pues permite conocer si un paciente presenta un patrón plasmático de susceptibilidad a la trombosis. Este método en nuestras manos resultó útil y su uso merece ser difundido (50).

La capacidad biológica de la AT III, también se puede determinar observando el poder de neutralización sobre el factor Xa. Este método se hace agregando factor Xa en exceso (14), se utilizan sustratos cromogénicos (83) o se añade heparina, tanto al método coagulante (39), como al que utiliza sustratos amidolíticos (83).

En la mayoría de los casos hay buena correlación entre los niveles de AT III que se encuentran neutralizando trombina, y los que se obtienen inactivando al factor Xa (48), lo que significa que con cualesquiera de ambos métodos, los resultados son concordantes.

Capacidad inmunológica:

Los métodos inmunológicos para determinar AT III pueden dar resultados discrepantes respecto a los métodos que evalúan su actividad biológica, básicamente por cuatro razones: presencia de moléculas anormales de AT III (92), presencia de complejos AT III-trombina (7), especificidad del antisuero usado (75) e interpretación erróneamente aumentada, de la actividad biológica, si existiera elevación de alfa 1 antitripsina o de alfa 2 macroglobulina (48).

Sin embargo, la mayoría de los trabajos demuestran buena correlación entre los métodos biológicos e inmunológicos (25), excepto en algunas condiciones como la ingesta de anticonceptivos orales (22), la desnutrición severa (48) y algunos casos de deficiencia hereditaria de AT III (92).

Los métodos inmunológicos más rápidos son las técnicas nefelométricas y la electroinmunodifusión (62, 84). El más sencillo es el de inmunodifusión radial (69)- Para la detección de moléculas anormales y de complejos de AT III-trombina, es conveniente utilizar inmunoelectroforesis cruzada (37), con heparina o sin ella, en la corrida inicial (94).

Para la interpretación de cualesquiera de los métodos inmunológicos, es de gran importancia conocer si el anticuerpo reacciona o no con complejos de AT III-trombina, sobre todo, en casos como la CID, debido a que se podrían interpretar esos complejos como niveles de AT III libre (75).

Existen tres métodos novedosos para determinar AT III, con diferentes formas de acción: el radioinmunoanálisis (30), las técnicas inmunoenzimáticas (102) y los métodos nefelométricos con rayos láser (84). De estos métodos, el que presenta mayor sensibilidad es el inmunoenzimático, que se utiliza para determinar niveles urinarios de AT III (102).

Conclusiones prácticas

1. Hay dos cuadros clínicos en los cuales la deficiencia de AT III induce frecuentemente fenómenos trombóticos de tipo venoso: la deficiencia hereditaria y el síndrome nefrótico.
2. La disminución de AT III en otras condiciones clínicas, puede contribuir al desarrollo de problemas tromboembólicos, sin embargo, la deficiencia de AT III es uno de varios factores de riesgo en esos pacientes.

3. La determinación de AT III, es útil para el diagnóstico y seguimiento del paciente con CID.
4. En mujeres con deficiencia conocida de AT III nunca deben usarse anticonceptivos orales.
5. Debe recordarse, que la terapia con heparina es menos efectiva en pacientes que muestren disminución de AT III (99).
6. Cada laboratorio debe tener sus propios valores normales y la definición de las unidades de trabajo, dada la gran variedad de métodos y unidades que existen al respecto.
7. Se piensa que la cuantificación de AT III es una metodología que debe estar presente en todos los laboratorios de coagulación. Aquellos centros que no puedan realizar estas determinaciones, por los métodos funcionales e inmunológicos concomitantemente, deben realizar, de elección, métodos funcionales.

La investigación de los niveles de AT III debe practicarse, obligatoriamente en las siguientes condiciones:

1. Todos los casos con historia familiar de trombosis venosa profunda, o embolismo pulmonar.
2. Pacientes que hayan presentado trombosis venosa profunda espontánea, antes de los 35 años de edad, o en los primeros seis meses del embarazo.
3. Hijos de padres con deficiencia hereditaria de AT III.
4. Todas las condiciones que cursen con proteinuria masiva.
5. Pacientes que hayan desarrollado trombosis durante terapia con separina.

ABSTRACT

The most relevant features about antithrombin III (AT III) are analyzed in this review.

The properties and pathogenesis of AT III deficiency are discussed and clinical conditions are divided according to the increased risk of developing thrombotic complications.

Laboratory methods and practical considerations are also given.

Bibliografía

1. Aberg, M., Nilsson, I. M. y Hedner, R. Antithrombin III after operation. *Lancet*. 1973; 11:1337.
2. Abildgaard, U. Purification of two progressive antithrombins of human plasma. *Scand J. Clin. Lab. Invest.* 1967; 19: 190—195.
3. Abildgaard, U. highly purified antithrombin III with heparin cofactor activity prepared by disc electrophoresis. *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 1968; 21:89—91.
4. Abildgaard, U. Binding of thrombin to AT III. *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 1969; 24:23—27.
5. Abildgaard, U. Heparin cofactor and antithrombin. *Thom. Diath. Haemorrh.* 1974; 33:38—42.
6. Abildgaard, U., Lie, M., Ø degård, O.R. Antithrombin (heparin cofactor) assay with "new" chromogenic substrates. *Throm. Res.* 1977; 11:549—553.
7. Andersson, L. O., Engman, L., Henningsson, E. Crossed immunoelectrophoresis as applied to studies on complex formation. The binding of heparin to antithrombin III and antithrombin III-thrombin complex. *J. Imm. Methods.* 1977; 14:271—281.

8. Barbui, T., Rodeghiero, F. Hereditary dysfunctional antithrombin III (AT III Vicenza) (letter). *Throm. Haemos.* 1981; 45:97.
9. Barrowcliffe, T. W., Johnson, E. A., Thomas, D. Antithrombin III and heparin. *Brit. Med. Bull.* 1978; 34:143—150.
10. Bergstrom, K., Lahnborg, G. The effect of major surgery, low doses of heparin, and thromboembolism on plasma antithrombin. *Throm. Res.* 1975; 6: 223—233.
11. Bick, R. L. Alteration of hemostasis associated with malignancy: etiology, pathophysiology, diagnosis and management. *Sem. Throm. Hem.* 1978; 5:1—26.
12. Bick, R. L., Bick, M. D., Fekete, L. F. Antithrombin III patterns in disseminated intravascular coagulation. *Am. J. Clin. Path.* 1980; 73:577—583.
13. Bick, R. L., Dukes, M. L., Wilson, W. L., Fekete, L. F. Antithrombin III (AT III) as a diagnostic aid in disseminated intravascular coagulation. *Throm. Res.* 1977; 10:721—729.
14. Biggs, R., Denson, K. W. E., Akman, N., Borret, R., Hadden, M. Antithrombin III, antifactor Xa and heparin. *Brit. J. Haemat.* 1970; 19:283—305.
15. Binder, B. On the complex formation of AT III with thrombin. Gel filtration studies on human plasma and serum. *Throm. Diath. Haemorrh.* 1973; 30:280—283.
16. Bjarke, B., Herin, P., Blombäch, M. Neonatal aortic thrombosis. *Acta Paed. Scand.* 1974; 63: 297 —301.
17. Blombäch, B., Blombäch, M., Olsson, P. Studies on thrombin inactivation in normal plasma, serum and plasma fractions, and its relation to heparin. *Throm. Diath. Haemorrh.* 1963; 9:368—386.
18. Boneu, B., Bouissou, F., Abbal, M., Sie, P., Caranobe, C., Barthe, P. Comparison of progressive antithrombin activity and the concentration of three thrombin inhibitors in nephrotic syndrome. *Throm. Haemos.* 1981;46:623—625.
19. Boneu, B., Sie, P., Caranobe, C., Cassigneul, J., Pascal, J. Progressive antithrombin activity and the concentration of three thrombin inhibitors in liver cirrhosis. *Throm. Haem.* 1982; 47:78.
20. Bloom, A. L. Intravascular coagulation and the liver. *Brit. J. Haemat.* 1975; 30:1—5.
21. Bouissou, F., Barthe, P., Boneu, B. Déficits acquis en facteur XII et antithrombine III (AT III) dans les néphroses de l'enfant. *Nouv. Press. Med.* 1980; 9:1778—1782.
22. Bounameaux, H., Duckert, E., Walter, M., Bounameaux, Y. The determination of antithrombin III. Comparison of six methods. Effect of oral contraceptive therapy. *Throm. Hem.* 1978; 39: 607—615.
23. Braunstein, K. M., Dodds, K. A., Stewart, G., Shull, K. C., Eurenus, K. Heparin cofactor activity following thermal injury. *Am. J. Clin. Path.* 1978; 70:632—636.
24. Briginshaw, G. F., Shanberge, J. N. Identification of two distinct heparin cofactors in human plasma. Separation and partial purification. *Arch. Bioch, Biophysics.* 1974; 161:683—690.
25. Collen, D., Schetz, J. De Cock, F., Holmer, E., Verstraete, M. Metabolism of antithrombin III in man: effects of venous thrombosis and of heparin administration. *Eur. J. Clin. Inv.* 1977; 7:27—31.
26. Conard, J., Lecompte, T., Horellou, M. H., Cazenave, B., Samama, M. Antithrombin III in patients treated with subcutaneous or intravenous heparin. *Throm. Res.* 1981; 22:507—511.
27. Conard, J., Samama, M., Salomon, Y. Antithrombin III and the oestrogen content combined oestro-progestagen contraceptives. *Lancet*, 1972; ii: 1148—1149.
28. Conard, J., Teitel, J. M., Rosenberg, R. D. Lasparaginase induced antithrombin III deficiency: evidence against the production of a hypercoagulable state. *Throm. Res.* 1983; 29:437—442.
29. Chan, T. K., Chan, V. Antithrombin III, the major modulator of intravascular coagulation, is synthesized by human endothelial cells. *Throm Haemos.* 1981; 46:504—506.
30. Chan, V., Chan, T. K., Wong, V., Tso, S. C., Todd, D. The determination of antithrombin III by radioimmunoassay and its clinical application. *Brit. J. Haemat.* 1979; 41:563—572.

31. Chockley, M., Penner, J. A. An improved clinical assay for antithrombin III (Heparin cofactor). *Am. J Clin. Path.* 1980; 74:213—217.
32. Damus, P. S., Wallace, G. A. Immunologic measurement of antithrombin III-heparin cofactor and alpha 2 macroglobulin in disseminated intravascular coagulation and hepatic failure coagulopathy. *Throm. Res.* 1975; 6: 27—30.
33. Egeberg, O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Throm. Diath. Haemorrh.* 1965; 14:473—489.
34. Fagerhol, M. K., Abildgaard, U., Bergsjø, P., Jacobsen, J. H. Oral contraceptives and low antithrombin III concentration. *Lancet.* 1970; ii: 1175.
35. Fell, C., Ivanovic, N., Johnson, S. A., Seegers, W. H. Differentiation of plasma antithrombin activities. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1954; 85:199—202.
36. Gallus, A. S. Established venous thrombosis and pulmonary embolism. *Clin. Hemat.* 1981; 10:583—611.
37. Ganrot, P. O. Crossed immunoelectrophoresis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1972; 124:39—45.
38. Gitel, S. N., Salvati, E. A., Wessler, S., Robinson, H. J. Worth, M. H. The effect of total hip replacement and general surgery on antithrombin III in relation to venous thrombosis. *J. Bone Joint Sur.* 1979;61:653—656.
39. Gitel, S. N., Wessler, S. Plasma antithrombin III: a quantitative assay of biological activity. *Throm. Res.* 1975; 1:5—16.
40. Hathaway, W. E., Neumann, L. L., Borgen, C. A., Jacobson, L. J. Immunologic studies of antithrombin III heparin cofactor in the newborn. *Throm. Haem.* 1978; 39:624—630.
41. Hedner, W., Nilsson, I. M. Antithrombin III in a clinical material. *Throm. Res.* 1973; 3:631—641.
42. Heimburger, N., Haupt, H., Schwich, H. G. Proteinase inhibitors of human plasma. Proceedings of the International Research Conference on Proteinase Inhibitors. (Munich) Editores: H. Fritz y H. Tschesche. Editorial W. de Gruyter, Berlín, Alemania. 1970; 1—21.
43. Henson, A., Loeliger, E. A. Antithrombin III: Its metabolism and its function in blood coagulation. *Throm. Diath. Haemorrh.* 1973; 9:1—84.
44. Howie, P. W., Prentice, C. R. M., McNicol, G. P. A method of antithrombin estimation using plasma defibrinated with ancrod. *Brit. J. Haemat.* 1973; 25: 101—110.
45. Innerfield, I., Anrist, A., Benjamin J. W. Plasma antithrombin patterns in disturbances of the pancreas. *Gastroenterology.* 1951; 19:843—848.
46. Innerfield, I., Stone, M. L., Mersheimer, W., Cluass, R. D., Greenberg, J. Antithrombin and heparin antithrombin patterns in pre-thrombosis and thrombosis. *Am. J. Clin. Path.* 1976; 65:384—389.
47. Jiménez, E., Mirambell, F., Muller, F. Trombosis de venas profundas de los miembros inferiores en niños con desnutrición severa. *Acta Ped. Lat.* 1972; 3:5—15.
48. Jiménez, R. A., Jiménez, E., Ingram, G. I. C., Mora, L. A., Atmetlla, F., Carrillo, J. M., Vargas, W. Antithrombin activities in childhood malnutrition. *J. Clin. Path.* 1979; 32:1025—1029.
49. Jiménez, R., Jiménez, E., Mora, L. A., Navarrete, M., Carrillo, J. M., Lobo, F. Alteraciones de la hemostasia en niños con problemas neoplásicos. *Sangre.* 1981; 26:38—46.
50. Jiménez, R., Jiménez, E., Mora, L. A., Vargas, W., Atmetlla, F., Carrillo, J. M. Pretrombosis en la desnutrición infantil. *Arch. Lat. Nut.* 1980; 30:580—589.
51. Jiménez, R., Navarrete, M., Trejos, R., Mora, L. A., Jiménez, E. Actividad antitrombínica total en recién nacidos sanos. *Bol. Méd. Hosp. Inf. (Méx.).* 1982; 39:405—408.
52. Kauffmann, R. H., de Graeff, J., Brutel de la Riviere, G., van Es, L. A. Unilateral renal vein thrombosis and nephrotic syndrome. Report of a case with protein selectivity and antithrombin III clearance studies. *Am. J. Med.,* 1976; 60:1048—1054.
53. Kauffmann, R. H., Vetkamp, J. J., van Tilburg, N.H., van Es, L. A. Acquired antithrombin III deficiency and thrombosis in the nephrotic syndrome. *Am. J. Med.* 1978; 65:607—613.

54. King, P. G., Huang, A. H., Palkuti, H. A., Farris, V. L. An evaluation of antithrombin III laboratory tests. *Am. J. Clin. Path.* 1980; 73:537—540.
55. Klein, P. D., Seegers, W. H. The nature of plasma antithrombin activity. *Blood.* 1950; 5:742— 752.
56. Kobayashi, N, Takeda, Y. Studies of the effects of estradiol, progesterone, cortisol, thrombophlebitis, and typhoid vaccine on synthesis and catabolism of antithrombin III in the dog. *Throm. Haemost.* 1977; 37:111—122.
57. Koneti-Rao, A., Niewiarowski, S., Guzzo, J., Day, H. J. Antithrombin III levels during heparin therapy. *Throm. Res.* 1981; 24:181—186.
58. Kurachi, K; Schmer, G., Davie, E. W. Inhibition of bovine factor IXa and factor Xa₃ by AT III. *Biochemistry.* 1976; 15:373—377.
59. Lake, A. M., Stauffer, J. Q., Stuart, M. J. Hemostatic alterations in inflammatory bowel disease: response to therapy. *Am. J. Digest. Dis.* 1978; 23:897—902.
60. Lane, J. L., Biggs, R. The natural inhibitors of coagulation: Antithrombin III, heparin cofactor and antifactor Xa. IN: Recent advances in blood coagulation, No. 2, Ed. L. Poller, Editorial Churchill Livingstone, Londres, Inglaterra. 1977; 123—149.
61. Lane, J. L., Bird, P., Rizza, C. R. A new assay for the measurement of total progressive antithrombin. *Brit. J. Haemat.* 1975; 30:103—115.
62. Laurell, C. B. Electroimmunoassay. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1972; 29(Suplemento 124): 21—37.
63. Lee, A. K. Y., Chan, V., Chan, T. K. The identification and localization of antithrombin III in human tissues. *Throm. Res.* 1979; 14:209—217.
64. Li, E. H. H., Orton, C., Feinman, R. D. The interaction and localization of antithrombin III in human tissues. *Throm. Res.* 1979; 14:209—217.
65. Loeliger, E. A., Hers, J. F. Chronic antithrombinaemia (antithrombin V) with haemorrhagic diathesis in a case of rheumatoid arthritis with hypergammaglobulinaemia. *Throm. Diath. Haemorrh.* 1957; 1:499—528.
66. Losito, R., Beaudry, P., Valderrama, J.C., Cousineau, L, Longpre, B. Antithrombin III and factor VIII in patients with neoplasms. *Am. J. Clin. Path.* 1977; 68:258—262.
67. Lyttleton, J. W. The antithrombin activity of human plasma. *Biochem. J.* 1954; 58:8—15.
68. Mahasandana, C., Hathaway, W. E. Circulating anticoagulants in the newborn: Relation to hypercoagulability and the idiopathic respiratory distress syndrome. *Ped. Res.* 1973; 7:670— 673.
69. Mancini, G., Carbonara, A. O., Heremans, J. F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry.* 1965; 2: 235—240.
70. Marciniak, E., Grockerman, J. P. Heparin induced decrease in circulating antithrombin III. *Lancet.* 1977; ii:581—584.
71. Marciniak, E., Tsukamura, S. Two progressive inhibitors of factor Xa in human blood. *Brit. J. Haemat.* 1972; 22: 341—351.
72. Martín, A., de la Torre, S, Bailen, A., Moreno, M. J., Siles A., Maldonado, J. Déficit de antitrombina III en una familia española. (Resumen de trabajo presentado en el Congreso Español de Hematología, Zaragoza, 1981). *Sangre.* 1982; 27:280.
73. Matsuo, O. Incidence of thrombosis in inherited antithrombin III deficiency. *Throm. Res.* 1981; 24:509—510.
74. McDonald, M. M., Hathway, W. E., Reeve, E. B., Leonard, B. D. Biochemical and functional study of antithrombin III in newborn infants. *Throm. Haem.* 1982; 47:56—58.
75. McKay, E. J. Immunochemical analysis of active and inactive antithrombin III. *Brit. J. Haemat.* 1980; 46:277—285.
76. Miller, S. P., Sánchez—Avalos, J., Stefanski, T., Suckerman, L. Coagulation disorders in cancer. I Clinical and Laboratory Studies. *Cancer.* 1967; 20:1452—1465.

77. Monkhouse, F. C. Preparation and assay of plasma antithrombin. *Methods in Enzymology*. 1970; 19:915—924.
78. Monkhouse, F. C., France, E. S., Seegers, W. H. Studies on the antithrombin and heparin cofactor activities of a fraction adsorbed from plasma by aluminium hydroxide. *Circulation Res.* 1955; 3:397—402.
79. Muntean, W., Rossipal, E. Verlust von Inhibitoren des Gerinnungssystems bei der exsudativen Enteropathie. *Klin. Paed.* 1979; 191:20—23.
80. Nordenman, B., Björk, I. Studies on the binding of heparin to prothrombin and thrombin and the effect of heparin-binding on thrombin activity. *Throm. Res.* 1978; 12:755—765.
81. Ødegård, O. R., Abildgaard, U. Antifactor Xa activity in thrombophilia. Studies in a family with AT III-deficiency. *Scand. J. Haemat.* 1977; 18:86—90.
82. Ødegård, O., Abildgaard, U. Antithrombin III: Critical review of assay methods. Significance of variations in health and disease. *Haemostasis.* 1978; 7:127—134.
83. Ødegård, O. R., Lie, M., Agildgaard, H. antifactor Xa activity measured with amidolytic methods. *Haemostasis.* 1976; 5:265—275.
84. Parvez, Z., Fareed, J., Messmore, H. L., Moncada, R. Laser nephelometric quantitation of antithrombin III (AT III) development of a new assay. *Throm. Res.* 1981; 24:367—377.
85. Petö, I., Blaskó, G., Sas, G. Platelet functions in different types of congenital antithrombin III deficiencies. *Throm. Res.* 1981; 23:471—472.
86. Poller, L. Oral contraceptives, blood clotting and thrombosis. *Brit. Med. Bull.* 1978; 34:151—156.
87. Porter, P., Porter, M. C., Shanberge, J. N. Heparin cofactor and plasma antithrombin in relation to the mechanism of inactivation of thrombin by heparin. *Clin. Chim. Acta.* 1967; 17:189—200.
88. Prados—madrona, D., Rodríguez—Fernández, J. M., Núñez—Roldán, A., Cañavate Yllescas, M. Exceso de antitrombina III de naturaleza congénita asociado a diátesis hemorrágica. *Sangre.* 1976; 21:387—398.
89. Rodeghiero, F., Barbul, T., Battista, R., Chisei, T., Rigoni, G., Dini, E. Molecular subunits and transamidase activity of factor XIII during disseminated intravascular coagulation in acute leukaemia. *Throm. Haem.* 1980;43:6—9.
90. Rosenberg, R. D. Action and interaction of antithrombin and heparin. *New Engl. J Med.* 1975; 292:146—151.
91. Rosenberg, R. D., Damus, P. S. The purification and mechanism of action of human antithrombin-heparin cofactor. *J. Biol. Chem.* 1973; 248:6490—6505.
92. Sas, G., Blaskó, G., Bánhegyi, D., Jákó, J., Pálos, L. A. Abnormal antithrombin III (antithrombin III “Budapest”) as a cause of a familial thrombophilia. *Throm. Diath. Haemorrh.* 1974; 30:105—115.
93. Sas, G., Pepper, D. S., Cash, J. D. Investigations on antithrombin III in normal plasma and serum. *Brit. J Haemat.* 1975; 30:265—272.
94. Sas, G., Peper, D. S., Cash, J. D. Plasma and serum antithrombin III: Differentiation by crossed immunoelectrophoresis. *Throm. Res.* 1975; 6:87—91.
95. Sas, G., Petö, I., Bánhegyi, D., Blaskó, G., Domján, G. Heterogeneity of the “classical” antithrombin III deficiency. *Throm. Haem.* 1980; 43:133—136.
96. Sbarbaro, J. A., Bennett, R. M. Aspirin hepatotoxicity and disseminated intravascular coagulation. *Ann. Int. Med.* 1977; 86:183—185.
97. Seegers, W. H., Johnson, J. F., Fell, D. An antithrombin reaction related to prothrombin activation. *Am. J. Physiol.* 1954; 176: 97—103.
98. Shimowara, G. Y., Buckley, D. J. Isolation of antithrombin globulin from human blood plasma. *Throm. Diath. Haemorrh.* 1960; 4:17—30.
99. Soloway, H. B., Christiansen, T. W. Heparin anticoagulation during cardiopulmonar bypass in an antithrombin III deficient patient. *Am. J. Clin. Path.* 1980; 73:723—725.

100. Spero, J. A., Lewis, J. H., Hasiba, U. Disseminated intravascular coagulation. Findings in 346 patients. *Throm. Haem.* 1980; 43:28—33.
101. Stathakis, N. E., Papayannis, A. G., Antonopoulos, M., Gardikas, C. Familial thrombosis due to antithrombin III deficiency in a Greek family. *Acta. Haemat* 1977; 57:47—54.
102. Tanaka, M., Kato, K. Determination of antithrombin III by sandwich enzymeimmunoassay. *Throm. Res.* 1981; 22: 67—74.
103. Teger—Nilsson, A. C. Antithrombin in infancy and childhood *Acta Paed. Scand.* 1975; 64:624— 628.
104. Thaler, E., Lechner, K. Antithrombin III deficiency and thromboembolism. *Clin. Hemat.* 1981; 10:369-390.
105. Torner, C., Leroy, B., Fouche, F., Perles, P. Antithrombine III durant la grossesse et après l'accouchement. (Carta) *Nouv. Presse Med.* 1979; 8:46.
106. van der Meer, J., Stoepman-van Dalen, E. A., Jansen, J. M. S. Antithrombin III deficiency in a Dutch family. *J. Clin. Pathol.* 1973; 26:532—538.
107. von Kaulla, E., von Kaulla, K. N. Oral contraceptives and low antithrombin III activity. *Lancet.* 1970; i:36.
108. Ying, E. T., Eisenkramer, L., Buttler, J. V. Heparin interaction with activated factor X and its inhibitor. *Adv Exp. Med. Biol.* 1974; 52:239—242.