

870127

14
24

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



"DETERMINACION DE UNIDAD SUB-BETA SERICA
POR METODO INMUNOLOGICO"

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A
ALICIA DE LA PAZ OROZCO

ASESOR: Q.F.B. MARIA DEL SOCORRO PULIDO GARCIA
GUADALAJARA, JAL. 1990

FALLA DE ORIGEN



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.

I N D I C E

CAPITULO 1	
INTRODUCCION.....	1
CAPITULO 2	
REVISION DE LITERATURA.....	2
A) Anatomía y Fisiología	
B) Bioquímica	
C) Fisiopatología	
CAPITULO 3	
MATERIAL Y REACTIVOS.....	30
METODOLOGIA.....	31
CAPITULO 4	
ANALISIS DE DATOS.....	32
CONCLUSIONES.....	36
CAPITULO 5	
BIBLIOGRAFIA.....	38

CAPITULO I

I N T R O D U C C I O N

INTRODUCCION

En los últimos años se realizan en algunos laboratorios el examen de unidad sub-beta en sangre, con el propósito principal de hacer un diagnóstico más exacto y en menor tiempo de amenorrea para el diagnóstico de embarazo. Estos exámenes que generalmente se realizan por radioinmunoensayo (RIA), son costosos y además tardios en reportarse.

Por el método en sí de este examen, pocos laboratorios lo realizan, por el alto costo del equipo para la prueba.

En forma, un tanto por curiosidad se realizó esta prueba por método inmunológico, resultando también positiva, por lo cual se propuso hacer un estudio en un número importante de casos para determinar la validez y utilidad de este método.

Los objetivos principales de este estudio fueron:

- I.- Comparar con el método de RIA, el método inmunológico de Hemaglutinación.
- II.- Evaluar el método inmunológico de Hemaglutinación en la ayuda diagnóstica y en el proceso de trabajo.

CAPITULO II

REVISION DE LITERATURA

- A) Anatomía y fisiología**
- B) Bioquímica**
- C) Fisiopatología**

FISIOPATOLOGIA DE LAS GONADOTROFINAS:

En la adenohipófisis se producen y se secretan dos hormonas con acción específica sobre las gonadas: FSH (hormona folículoestimulante) y LH (hormona luteinizante), que en el varón ejerce una misión estimuladora de las células intersticiales, por lo que antiguamente se le denominaba KSH. Ambas controlan la función de las glándulas masculinas y femeninas y -- tienen como misiones específicas:

- 1.- El desarrollo de las gonadas y el mantenimiento de las secreciones endócrinas.
- 2.- La maduración y liberación de los gametos.

La estructura molecular de la FSH y de la LH son - muy similares. Químicamente son glucoproteínas constituidas - por dos cadenas de aminoácidos: la subunidad ALFA y la BETA. - La subunidad ALFA es similar para ambas, mientras que la BETA - es distinta y es la que les confiere su especificidad. (6)

La FSH tiene una subunidad ALFA constituida por 89 - aminoácidos y una BETA constituida por 115 aminoácidos. Tienen un 18% de componente glucídico y su PM es de 32,000.

La subunidad BETA de la LH está formada por 115 aminoácidos, pero presenta un solo glucídico en posición 30, que constituye un 16% de la molécula, y su peso molecular es de - 30,000. Las acciones son distintas en el varón y en la mujer. -

La concentración plasmática de las gonadotropinas - oscila a lo largo de la vida, según el sexo, y en la mujer, a-

demás, según la fase del ciclo menstrual. Durante la infancia--
ambas gonadotropinas existen, aunque en concentraciones muy ba
jas, para ir aumentando hasta la pubertad en que alcanzan los
valores del adulto.

Su secreción está controlada por el SNC mediante un
factor hipotalámico denominado: hormona productora de gonado--
tropina (G N R H) que es capaz de inducir la producción y libe
ración tanto de la FSH como de la LH, aunque parece ser más es
pecífico de esta última. (6)

La síntesis y liberación de gonadotropinas por parte
de la hipófisis se halla regulada sea por una hormona única
ó por factores humorales, uno de los cuales regularía la sínte
sis y liberación de LH, y el otro la síntesis y liberación de
FSH. Esta sustancia o sustancias, han sido denominadas hormo
nas de liberación de las gonadotropinas (G N R H), hormona -
ó factor luteinizante (LH-RH ó LRF) y también hormona libera
dora de la hormona folículo estimulante (PSH-RH). Estas sustan
cias son liberadas por las fibras nerviosas que tienen su ori
gen en el hipotálamo, y son transportadas al lóbulo anterior -
de la hipófisis através del sistema venoso portal hipofisiario
La formulación de este concepto por parte de Harris se basó --
en los datos experimentales de Marshall, que sugerían la inter
vención del hipotálamo en la regulación de los ciclos reproduc
tivos, y en los estudios de Popa y Fielding que demostraban la
existencia de un sistema portal hipofisiario. (7) (8)

Este concepto fué confirmado al demostrarse que los extractos hipotalámicos de rata, de animales domésticos y también los extractos humanos eran capaces de estimular la secreción de gonadotrofinas.

Recientemente se ha aislado a partir de hipotálamos porcinos, una sustancia que libera la LH y en menor grado, la-FSH. Esta sustancia, denominada G N R H, ha sido caracterizada estructuralmente y sintetizada. La GNRH porcina es un decapepéptido que contiene glicina, histidina, arginina, triptófano, serina, ácido glutámico, prolina, leucina y tirosina. (7) (8)

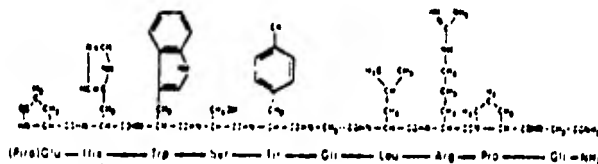


Fig. 3-1. Estructura de la hormona liberadora de gonadotrofinas.

Pocos meses después del aislamiento de la GNRH - porcina, se purificó la GNRH ovina, y a continuación se determinó su secuencia de aminoácidos.

Aunque la GNRH no haya sido todavía identificada estructuralmente, sus características químicas y biológicas parecen similares a las de la GNRH porcina

La observación de que los seres humanos responden a la GNRH porcina va en favor de un parecido entre ambas hormonas. Se han descubierto otros polipéptidos de menor tamaño que poseen actividad GNRH, pero su actividad es solo 1/10,000 o de 1/25,000 la de la GNRH porcina. (7) (8)

EL SISTEMA HORMONAL FEMENINO

El sistema hormonal femenino, como el masculino -- incluye tres jerarquías diferentes de hormonas;

- 1.- Los factores de liberación hipotalámica; factor de liberación de la hormona estimulante del folículo (FRF) y factor -- liberador de la hormona luteinizante (LRF).
- 2.- Las hormonas prehipofisarias, hormona estimulante del fo-- lículo (FSH) y hormona luteinizante (LH) que secretan en res-- puesta al factor ó factores liberadores procedentes del hipotá-- lamo.
- 3.- Las hormonas ováricas, estrógenos y progesterona, secreta-- das por los ovarios, en respuesta a las dos hormonas de la -- prehipófisis.

Las diversas hormonas no se secretan en cantidades-- constantes y uniformes, sino con ritmos muy diferentes según -- las etapas del ciclo menstrual. (1)

CICLO OVARICO MENSUAL:

La duración del ciclo en promedio es de 28 días pug de ser tan breve como 20 días o tan largo como 45 días inclu-- yendo en mujeres completamente normales, aunque los ciclos de-- duración normal suelen asociarse con disminución de la ferti-- lidad. (4)

El ciclo sexual femenino tiene dos resultados impor-- tantes; en primer lugar, normalmente hace que un solo huevo -- maduro sea liberado de los ovarios cada mes, de manera que pug

da empezar a crecer cada vez un solo feto. En segundo lugar -- el ciclo sexual prepara adecuadamente el endometrio del útero para implantarse un huevo fertilizado en el momento adecuado -- del mes. (4)

Normalmente, la menstruación suele ocurrir 14 días después de la ovulación, en el momento en que la mayor parte -- del endometrio secretor del útero se desprende de la pared uterina y es expulsado al exterior. Si este fenómeno ocurriese después de haberse implantado un huevo el embarazo se suspendería. La gonadotropina coriónica evita que así acontezca.

En el momento de la invasión trofoblástica del endometrio por parte del blastocisto en desarrollo, las células trofoblásticas sincitiales secretan gonadotropina coriónica en los líquidos maternos. (4)

La secreción de esta hormona puede empezarse a comprobar 8 días después de la ovulación, precisamente cuando el huevo se implante en el endometrio. Después el ritmo de secreción aumenta rápidamente, para alcanzar el máximo al cabo de -- unas 7 semanas después de la ovulación; y disminuye hasta un -- valor relativamente bajo a las 16 semanas después de la ovulación. (4)

HORMONAS GONADOTROPICAS:

El ciclo sexual depende completamente de las hormonas gonadotrópicas secretadas por la adenohipófisis. (3)

La adenohipófisis secreta dos hormonas diferentes - que se sabe son esenciales para la plena función de los ovarios;

- 1) Hormona estimulante de los folículos (FSH) y .
- 2) Hormona Luteinizante (LH).

Las gonadotropinas, FSH y LH son hormonas protéicas con peso molecular aproximado de 30,000. (3)

Estas hormonas regulan el desarrollo del ovario y-- el testículo. La prolactina (Pr) se considera también como - una gonadotropina; sin embargo ejerce su acción principal sobre la glándula mamaria y aunque puede ser luteotrópica (o sea que sostiene la función del cuerpo amarillo) en especies animales es importante en el hombre. (3)

La secreción de gonadotropinas esta modificada por la producción de hormonas sexuales y por ciertas áreas del hipotálamo. La castración aumenta y los estrógenos disminuyen - la secreción de FSH. La secreción de LH también aumenta por la castración pero es menos sensible a la acción inhibidora de - los estrógenos. La progesterona disminuye la secreción de LH - en algunas especies. La testosterona no es muy efectiva como - inhibidora de la secreción de FSH, pero bloquea la secreción - de LH. (3)

Se ha demostrado con toda claridad que la secreción de LH está regulada por la porción posterior del hipotálamo. - Esta área resulta también importante en la secreción de prolac

tina, probablemente produciendo una hormona que inhibe la formación y liberación de Pr por la hipófisis anterior. Las lesiones en esta área bloquean la secreción de LH y provocan aumento en la secreción de prolactina y lactación patológica. (3)

Las gonadotropinas no se encuentran en la orina antes de la pubertad. A partir de entonces, se descubre siempre durante el resto de la vida en cantidades importantes, con una excreción máxima en el momento de la ovulación y niveles muy aumentados después de la menopausia o de la castración. Aunque relativamente burda, se continúa usando la prueba biológica para la determinación de gonadotropinas urinarias ensayo (FSH) Esta determinación no es específica para la FSH ya que para la acción biológica de esta hormona se hacen necesarias cuando menos cantidades mínimas de LH. En algunas ocasiones se observan bajos niveles urinarios de FSH en individuos normales, haciéndose necesarias varias determinaciones para una cuidadosa evaluación clínica. La mayor disponibilidad de RIA para esta y otras hormonas hipofisiarias, hacen más fidedigno el diagnóstico de las anomalías de las gonadotropinas. (3)

FUNCION DE LA GONADOTROPINA CORIONICA:

La gonadotropina coriónica (HCG) se deriva de la placenta y aparece en grandes cantidades en la orina durante el embarazo. Se cuenta con preparaciones elaboradas con orina de mujer embarazada para uso clínico. (3)

Esta hormona tiene ante todo una acción semejante -

a la LH y se usa clínicamente para estimular el funcionamiento de las células de Leyding y la ovulación. (3)

La gonadotropina coriónica es una glucoproteína -- con peso molecular de 30,000 y una estructura y una función -- muy similares a las de la hormona Luteinizante secretada por -- la hipófisis. Con mucho su función, más importante es evitar -- la involución normal del cuerpo amarillo al final del ciclo -- sexual femenino y, en su lugar hace que el cuerpo amarillo se -- crete mayores cantidades de las hormonas usuales, progesterona y -- estrógenos. A su vez estas hormonas hacen que el endometrio -- siga creciendo y almacenando cantidades de elementos nutriti-- vos, en lugar de perderse con la sangre menstrual. El resulta-- do es que las células pseudodeciduals que se producen en el -- endometrio durante el ciclo sexual femenino normal se vuelvan -- células deciduals verdaderas nutricias poco después que el -- blastocisto se implanta. (1)

Por influencia de la gonadotropina coriónica el cuer-- po amarillo alcanza unas dos veces su tamaño inicial en un -- mes, aproximadamente después de iniciado el embarazo; su secre-- ción continua de estrógenos y progesterona preserva la natura-- leza decidual del endometrio uterino necesaria para el desa-- rrollo de la placenta y otros tejidos fetales. Si el cuerpo se -- extirpa antes de la décimoprimerá semana del embarazo aproxi-- madamente suele producirse aborto; después de dicho tiempo, la -- placenta misma secreta cantidades suficientes de progesterona--

y estrógenos para que continúe el embarazo durante el tiempo - que le corresponde. (1)

La gonadotropina coriónica humana (HCG) comprende dos subunidades. La subunidad alfa tiene una secuencia de aminoácidos muy similar a la de la hormona Luteinizante humana (hLH), la hormona foliculo-estimulante humana (hFSH) y la hormona estimulante de la tiroides humana (hTSH). La subunidad beta tiene una secuencia algo similar a la subunidad beta de la hLH pero la HCG tiene 30 residuos aminoácidos más. (11)

La HCG la produce la placenta durante el embarazo. Está presente a bajos niveles circulantes dentro de los 7 a 10 días después de la concepción, y de allí en adelante aumenta uniformemente hasta alcanzar un máximo a las 7 a 12 semanas después de la última menstruación. En los trastornos de principios del embarazo, tales como el embarazo ectópico y la amenaza de aborto espontánea, la concentración de HCG en un determinado periodo de gestación y su ritmo de ascenso es anormalmente baja.

La HCG también la producen ciertos neoplasmas de origen trofoblástico y no trofoblástico.

La determinación de HCG por RIA puede emplearse cualitativa o cuantitativamente para detectar el embarazo antes o como máximo cuando falla la primera menstruación.

También puede usarse cuantitativamente para investigar sospecha de trastornos al principio del embarazo y para vigilar el tratamiento de pacientes que secretan HCG. (12)

OVARIO:

El ovario tiene dos funciones fundamentales:

- 1) La producción de las hormonas sexuales y
- 2) La ovulación.

Las dos funciones se encuentran íntimamente relacionadas y para que se lleven a cabo es necesario que cíclicamente, bajo la acción de las gonadotropinas, se produzca el crecimiento folicular, la salida de un óvulo y la formación de un cuerpo amarillo. Las hormonas del ovario que se originan durante este ciclo, regulan a su vez, la secreción de gonadotropinas.

En el ovario de la recién nacida existe un gran número de folículos primordiales calculándose éstos en 200,000 - siendo atrésicos aproximadamente la mitad. Ya para entonces se ha presentado una reducción en el número de células germinales que durante la vida intrauterina se calculan en 6,500,000. La disminución en el número de folículos continúa posteriormente y en el momento de la pubertad solo existe alrededor de 10,000 y a la edad de 50 años únicamente quedan unos cuantos folículos o bien ya han desaparecido. En la postmenopausia, el ovario se caracteriza por una disminución de la porción cortical y por consiguiente de folículos y una proliferación del tejido fibroso. (5)

MADURACION FOLICULAR:

Los folículos que aparecen desde la vida fetal, permanecen prácticamente inactivos hasta la pubertad. Los folícu-

los son cuerpos esféricos de aproximadamente 45 micras de diámetro y están formados por un oocito rodeado por una capa epitelial de células aplanadas de núcleo grande y citoplasma pálido granular.

El desarrollo se inicia en las células granulosas - que cambian a células columnares y después, mediante proliferación mitótica, se transforma en un epitelio estratificado. Los folículos con epitelio estratificados se denominan en crecimiento y pronto se forman lagunas de líquido folicular proveniente de las células. Estos folículos se llaman de Von Graaf y miden aproximadamente 0.4 mm. estando toda la cavidad rodeada de células de la granulosa así como el óvulo que protruye dentro - de la cavidad formando el cumulus proligerus o cumulus oforus. En la última parte del proceso de maduración folicular el tejido conjuntivo en contacto con el folículo se organiza para formar la teca interna que es muy vascular y provee de nutrientes a la capa granulosa que es avascular.

Todo este proceso de maduración culmina con la ovulación y consecuentemente con la formación de un cuerpo amarillo. (5)

OVULACION Y CUERPO AMARILLO:

La liberación del óvulo se presenta inmediatamente después de una alza en la concentración sanguínea de FSH y de LH.

Al comenzar cada ciclo ovárico, determinado número-

de folículos primordiales comienzan bajo la acción de la hormona estimulante de los folículos; sin embargo solo uno de estos folículos alcanza madurez completa y únicamente se expulsa un oocito; los demás degeneran y se convierten en folículos atrésicos. En el siguiente ciclo, comienza a crecer otro grupo de folículos y solo uno llega a la madurez; en consecuencia, la mayor parte de los folículos degeneran sin llegar a la madurez completa. Cuando un folículo se torna atrésico, el oocito y las células foliculares adyacentes degeneran y son sustituidos por tejido conectivo, lo cual forma el cuerpo atrésico. Durante la fase de crecimiento folicular se forman abundantes células foliculares y tecaes, las cuales elaboran estrógenos, y estimulan la hipófisis para secretar hormona luteinizante. Esta hormona se necesita para producir la expulsión del oocito, fenómeno llamado ovulación.

Ocurrida la ovulación las células foliculares restantes en la pared de la cavidad que se abrió se vascularizan y se tornan poliédricas. Por acción de la hormona luteinizante en las células aparece pigmento amarillo y se convierten en células luteínicas, estas células forman el cuerpo lúteo o cuerpo amarillo, y secretan progesterona. Esta hormona actuando en conjunto con los estrógenos elaborados por las células tecaes y el tejido ovarico adyacente, hace que la mucosa uterina alcance la fase prostestacional o secretoria como preparación para la nidación del embrión. (5)

HIPOTALAMO:

Como su nombre lo indica, esta estructura de límites mal definidos se encuentra inmediatamente por abajo del hipotálamo. En el sitio de origen del tallo hipofisiario existe una área prominente que se conoce como la eminencia media. El tallo hipofisiario se continúa con la hipófisis. El hipotálamo se conecta directamente con la porción posterior de la hipófisis que no es más que una proyección neural del piso del diencéfalo; así los núcleos supraópticos y paraventricular del hipotálamo envían sus axones que terminan en las células que secretan la hormona antidiurética y la oxitocina. (2)

HORMONAS HIPOTALAMICAS HIPOFISOTROPICAS:

El hipotálamo regula la secreción de la adenohipofisis mediante hormonas que transportadas por el sistema portan van a estimular o inhibir específicamente la secreción de las hormonas tróficas. Así existen hormonas hipotalámicas que tienen un carácter estimulante sobre la secreción de FSH, LH, hormona de crecimiento, tirotropina y corticotropina; y otras hormonas con efecto inhibitor sobre la secreción de prolactin y de la hormona estimulante del melanocito. (2)

ADENOHIPOFISIS:

La adenohipofisis produce dos gonadotropinas: la FSH y la LH. El prolactin que en un tiempo se consideró también como gonadotropina, en la mujer solo se relaciona con la lactancia y el desarrollo mamario. (2)

GONADOTROPINAS:

La FSH y la LH son glucoproteínas de elevado peso molecular y de estructura química aún no bien conocida por estar compuesta de muchas subunidades funcionales.

La FSH contiene aproximadamente un 27 por ciento de carbohidratos con un alto contenido de ácido siálico (7 por ciento) el que aparentemente es necesario para su actividad biológica. La LH tiene un menor contenido de carbohidratos y solo un 2 por ciento de ácido siálico. Las gonadotropinas circulan en forma libre siendo la LH la que más pronto desaparece de la sangre. Hasta la actualidad se desconoce la bioquímica y sitio de degradación de las gonadotropinas; como interés especial se ha observado que la FSH extraída de la orina de mujeres postmenopáusicas tiene una potencia 25 veces menor que la FSH obtenida directamente de la hipófisis sin que se conozcan los procesos responsables del cambio en la actividad de la hormona. (10)

REGULACION DE LA SECRECION DE GONADOTROPINAS:

La secreción de FSH y de LH se encuentra regulada principalmente por tres factores:

- 1) Hormonas hipotalámicas
- 2) Hormonas producidas por los ovarios y
- 3) Las mismas gonadotropinas.

Las hormonas producidas por los ovarios actúan por un mecanismo de retroregulación sobre el hipotálamo y la hipófisis variando la predominancia de acción con el tipo y concen

tración del esteroide sexual.

Se piensa que los estrógenos representan la hormona fisiológicamente más importante en el control de la secreción de gonadotropinas, actuando tanto a nivel hipotalámico como hipofisiario; además dependiendo de su concentración, los estrógenos circulantes pueden desarrollar una acción estimuladora o inhibidora para la secreción de gonadotropinas.

Por otro lado, la progesterona también ejerce su efecto inhibitorio sobre el hipotálamo aunque parece que para que tenga efecto es necesaria la presencia de estrógenos sin embargo también se ha demostrado que produce una secreción de LH en pacientes castradas y menopausicas cuando previamente se ha abatido el nivel de gonadotropinas con la administración de estrógenos. (10)

CICLO MENSTRUAL:

Se entiende por ciclo menstrual el intervalo entre el primer día de flujo menstrual y el día que precede a la siguiente menstruación. Aunque este periodo es muy variable se ha calculado que lo más frecuente es entre 28 + 4 días.

La ritmicidad del ciclo no es más que una manifestación de una interrelación sincrónica entre el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios. Durante este proceso la interrelación hormonal se lleva a cabo con precisión, lo cual se empieza a comprender gracias a que se cuenta con mejores métodos para las determinaciones hormonales.

El ciclo menstrual se puede dividir en tres fases:

- 1).- Folicular o preovulatoria
- 2).- Ovulación, y
- 3).- lútea ó postovulatoria

Estas fases reflejan la actividad ovárica.

FASE FOLICULAR:

El desarrollo del folículo depende de la presencia de FSH y LH. Bajo la acción de gonadotropinas, el ovario responde con una secreción creciente de estrógenos que alcanza su máximo poco antes de la ovulación por otro lado la progesterona es prácticamente indetectable en esta fase. (3) (7) (8)

OVULACION:

El momento de la ovulación determinado por el cambio en la curva de la temperatura basal va precedido 24 a 48 horas de un aumento súbito de LH y FSH. En vista de que no se ha demostrado una alza en la progesterona precedido a la elevación a la LH se cree que los estrógenos son los encargados de estimular al hipotálamo para la secreción de gonadotropina. La elevación y duración del alza de LH tiene una mayor magnitud que el de FSH, por tal motivo se supone que la LH representa un papel más importante en la ruptura del folículo maduro. (3)

FASE LUTEA:

En esta se presenta un descenso en las gonadotropinas posiblemente como un resultado del efecto inhibitorio que-

ejercen los estrógenos y la progesterona producidos en grandes cantidades por el cuerpo lúteo. En igual forma el rápido aumento en FSH y LH que preceden a la aparición del flujo menstrual puede relacionarse con la caída súbita en estrógenos y progesterona que ocurre en este momento. (7) (8) (5)

HORMONA CORIONICA:

Es la primera hormona que se produce durante el embarazo y aparentemente tiene un papel luteotrópico esencial. - Su demostración constituye la prueba más temprana del embarazo y por tal motivo, en esto ha tenido su mayor aplicación además, como la hormona coriónica traduce la actividad del trofoblasto se le ha utilizado tanto en los casos de aborto como en los de mola y de coriocarcinoma. La hormona coriónica se determina tanto en la sangre como en la orina sin que existan ventajas reales entre una y otra detección. Aunque durante mucho tiempo sólo se recurrió a la determinación biológica, en la actualidad la técnica inmunológica es la que más se utiliza, debido a su simplicidad, rapidez y susceptibilidad, refiriéndose los resultados en unidades internacionales. (3)

En algunos casos de aborto se pueden encontrar cifras bajas de la hormona, lo cual puede indicar un trofoblasto defectuoso y por consiguiente, que el aborto es inminente; en cambio en otros casos la hormona coriónica puede estar en cifras normales y sin embargo, el embrión ya está muerto como sucede en presencia de un defecto del plasma germinal. De aquí -

la dificultad y riesgo para predecir el curso de un embarazo - con la sola determinación de la hormona coriónica. No obstante lo anterior se puede decir que el encontrar cifras muy bajas - de esta hormona es prácticamente señal de que el aborto es inminente. Por otro lado valores muy altos de la hormona coriónica hacen pensar como primera posibilidad en una enfermedad del trofoblasto. La prueba constituye, hasta ahora la mejor forma de vigilar a la enferma que ha tenido una mola hidatidiforme - o un carcinosarcoma.

La producción de hormona coriónica es muy reducida - en los dos últimos trimestres del embarazo y por ello se pensó que un nuevo aumento en esta época podría traducir algún trastorno de la gestación. (3)

MEDICIONES HORMONALES (GONADOTROPINAS)

Las gonadotropinas se han podido cuantificar por medio de dos tipos de métodos: bioensayo y radioinmunoensayo como radioinmunoensayo necesita de una referencia gonadotropa - que sirva de unidad para poderse cuantificar. Desafortunadamente no existe una referencia de gonadotropina pura ya que inclusive las preparaciones altamente purificadas son inestables y pierden su potencia al almacenarse.

Al principio la potencia de una gonadotropina se refería en términos de una respuesta en el bioensayo, así la cantidad de gonadotropina requerida para doblar el peso del útero de ratones prepúberes se designó como unidad del útero de

ratón sin embargo, la variación de esta unidad de acuerdo con la especie del animal de un laboratorio a otro y del mismo laboratorio hacia muy difícil comparar los resultados. Por tal motivo significó un gran avance la obtención de una preparación referencia que sirviera para uniformar los resultados y contra la cual se hicieran las determinaciones. (3)

INMUNOENSAYO:

Primeramente se utilizarón las pruebas basadas en la inhibición de la hemoaglutinación para cuantificar LH sin embargo la falta de especificidad y sensibilidad ha hecho que se utilicen poco en la actualidad. En cambio el radioinmunoensayo ha venido a aceptarse como un método muy eficaz debido a su sensibilidad y simplicidad. El radioinmunoensayo se basa en el principio de una competencia entre dos hormonas (una marcada con radioactividad y otra libre que es la que se investiga) por una cantidad limitada de anticuerpos usando a continuación de un segundo anticuerpo se pueden separar las dos fracciones y así calcularlas contra una curva estándar. (1)

Debe recordarse que el método se basa en las propiedades inmunológicas de las hormonas y que hormonas con distinta actividad biológica pueden tener la misma propiedad inmunológica y por consiguiente el método sacrifica especificidad por sensibilidad; además se debe mencionar la dificultad que en ocasiones se tiene para la preparación del anticuerpo específico. (1)

ANTECEDENTES:

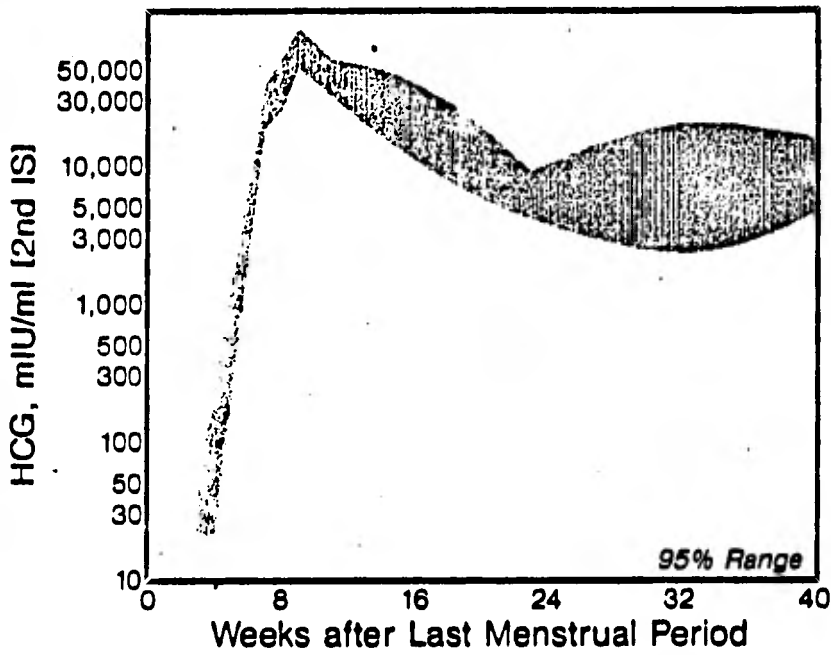
De acuerdo a la literatura, la HCG puede detectarse por radioinmunoensayo subunidad beta específico tan pronto como 8 a 10 días después de la ovulación, alcanzando niveles del orden de 100m IU/ml y 200m IU/ml 14 días después. Un pico de - 50,000 a 100,000m IU/ml es alcanzado en el tercer mes, del cual declina gradualmente hasta permanecer estable. (ver grafica)*

Después del parto, el nivel de HCG, normalmente sufre un rápido descenso, alcanzando concentraciones de no embarazo (usualmente menor a 5m IU/ml), unas dos semanas después. -- Los embarazos ectópicos y embarazos que terminan en aborto espontáneo, tienen valores más bajos a los normales. Valores altos son observados a menudo en embarazos múltiples. (11) (12)

Los radioinmunoensayos "subunidad beta" para HCG, - son llamados así porque utilizan anticuerpos cultivados contra la subunidad beta libre, para lograr un alto grado de discriminación entre HCG y LH, una hormona estructuralmente similar, - la cual ha sido un factor de interferencia en radioinmunoensayo antiguo (basados en anticuerpos basados contra HCG intacta) y en ensayo radioreceptor. (11) (12)

Cuando se emplearon como prueba de embarazo estos - sistemas de ensayo no específicos adoptaron un límite indicado en el orden de 200m IU/ml, para evitar una malidentificación - del pico de LH a mitad del ciclo, como un nivel elevado de HCG. Por este criterio, sin embargo, una gran parte de embarazos ectópicos podrían ser mal diagnosticados.

HCG Values During Pregnancy¹⁷



El procedimiento de HCG anticuerpo de Diagnostic Products Corporation es un radioinmunoensayo subunidad beta específico rápido sin ninguna especificidad y sensibilidad. La ausencia de interferencia significativa de LH es confirmada por datos de reactividad cruzada y por resultados en muestras menopáusicas, las cuales se espera tenga un alto contenido de LH. El procedimiento cualitativo representa una simplificación del procedimiento cuantitativo en el que un solo punto de referencia es utilizado en lugar de una curva estándar amplia. Esto sirve para determinar si una muestra sérica contiene una concentración de HCG superior o inferior a 50m IU/ml y si una muestra de orina contiene una concentración de HCG superior o inferior a 100m IU/ml. Las concentraciones superiores al nivel indicado de altos niveles podrían ser consideradas positivas para embarazo, si las otras causas de altos niveles de HCG han sido descartadas como neoplasias trofoblásticas y no trofoblásticas. Las concentraciones inferiores al límite indicado son esperadas en muestras de individuos en quienes no existe embarazo y también en aquellos en estado temprano de embarazo en el que la concentración de HCG aún no ha alcanzado el nivel necesario para el procedimiento. El examen de otra muestra recolectada dos o más días después, podría decidir el asunto, dado que en un embarazo temprano el nivel de HCG puede esperarse que sea el doble, en este tiempo. También puede ser de interés reexaminar el espécimen original por el método cuantitativo, para determinar exactamente la concentración de HCG. (11) (12)

BIOQUIMICA Y FISILOGIA BASICA

La hormona Gonadotropina Coriónica es una glicoproteína (peso molecular aproximadamente 37,000) producida por el sincitiotrofoblasto de la placenta, está compuesta por dos cadenas diferentes denominadas ALFA Y BETA otras 2 hormonas glicoproteicas llamadas: Hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH), todas ellas tienen origen en la pituitaria, tienen estructuras similares. La HCG es más parecida a la LH; sus cadenas ALFA son fisiológica e inmunológicamente idénticas y hay una extensión homóloga en sus cadenas BETA como quiera que sea, la sub-unidad BETA de la HCG tiene 30 aminoácidos adicionales en su terminación carboxi que no se encuentran presentes en la molécula LH. Funcionalmente, ambas hormonas son gonadotropinas y su acción biológica es indistinguible, solo la hormona intacta, no la sub-unidad BETA o ALFA tiene actividad biológica.

En un ciclo menstrual normal, la ovulación es estimulada por la necesidad de la LH a mitad del ciclo. La secreción de la LH continúa hasta su nivel más bajo después de la ovulación y estimula la producción de progesterona por el cuerpo Lúteo preparando el endometrio para el embarazo. Si la concepción no ocurriera, los niveles de la LH declinan, el cuerpo Lúteo degenera y el endometrio es arrojado. Si la concepción ocurriera, el feto empieza a secretar HCG a los 6 - 8 días, al tiempo aproximado de la implantación, se considera que la función de la HCG es rescatar el cuerpo lúteo del ovario y mante-

ner su producción de progesterona, sin el cual el endometrio sería inutilizable para sostener el embarazo por muchas semanas hasta el desarrollo de la placenta, y además producir hormonas esteroideas.

Los niveles de HCG aumentan rápidamente al inicio del embarazo, llegando a un máximo de 50,000 - 100,000 mIU/ml o más a las 6 - 8 semanas después de la concepción. La concentración de la hormona cae después de la 20ª semana de gestación a un valor de 5,000 - 20,000 mIU/ml por el resto del embarazo. Existe mucha variación al cuantificar la HCG secretada de un embarazo normal de otro en el que no es posible predecir la vitalidad por una cuantificación única de la concentración de HCG.

Es bien conocido que en un embarazo normal la concentración de HCG en suero aumenta exponencialmente, pero la velocidad del incremento declina significativamente con el incremento de la edad gestacional. El tiempo de duplicación para HCG en suero medido al inicio de un embarazo viable intrauterino, oscila entre 1.4 - 3.5 días. La cuantificación de HCG en muestras seriadas de sangre ha sido utilizado para diagnosticar desórdenes al inicio del embarazo pero no es apto para ser preciso hasta que los valores normales de incremento sean establecidos para intervalos cortos de la gestación.

Después de un período normal de liberación, la HCG puede persistir por 1-3 semanas; con un tiempo medio de desaparición de 14 días. Con un aborto inducido en el primer trimes-

tre cuando los niveles de HCG estan al máximo, la HCG persistirá más tiempo con una media de 30 días y un rango de 16-60 -- días. Un número de mujeres hubieran tenido periodos menstruales normales mientras que la HCG permaneciera detectable después - del aborto en el primer trimestre del embarazo normal. La HCG-exóna administrada para inducir la ovulación es detectable durante 5 días.

PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EL EMBARAZO

Ya que la LH es biológicamente indistinguible e inmunológicamente muy similar a la HCG, cualquier prueba debe sacrificar la sensibilidad a ambos para evitar falsos positivos- debido a la LH a mitad del ciclo y en la menopausia o debe ser altamente específica para no reconocer a la LH en presencia de HCG a mitad del ciclo el máximo de la LH es raramente mayor -- que 200 mIU/ml, pero las mujeres menopausicas pueden tener niveles de LH tan altos como * 400mIU/ml. Así para una prueba - de embarazo que no pueda distinguir a la LH de la HCG, el límite práctico de sensibilidad es como de 500mUI/ml (sensibilidad es definida como la mínima concentración detectable que difiere estadísticamente del control).

El primer método de laboratorio utilizado para el - embarazo fué desarrollado en Berlín por ASCHEIM Y ZUNDEN y descrito en 1927. La orina de prueba era inyectada en ratones femeninos inmaduros y los ovarios eran examinados 100 horas después. La prueba como fué descrito era 98% preciso, pero la tar

danza de la prueba fué el principal obstáculo, pronto otros - animales que alcanzaron un demostrable punto final mas rápidamente fueron sustituidos (conejos 48 horas ranas masculinas - 2-4 horas) pero en general el acortamiento del tiempo para - realizar la prueba le restó sensibilidad y especificidad. Estas pruebas eran generalmente positivas 3-5 semanas después de la concepción.

En 1960 HCG había sido suficientemente purificada - así que anticuerpos específicos podían ser incrementados - en animales de laboratorio, de este modo se hizo posible la - moderna era de las pruebas inmunológicas para el embarazo. Estos test estaban basados en reacciones clásicas de Ag-Ac con - una ocasional excepción el principio de inhibición de la aglutinación. Ellos utilizaron ya sea eritrocitos de borrego, partículas látex cubiertas con HCG la orina de prueba es dejada para reaccionar con anticuerpo HCG, la cual es luego adicionada a la HCG cubierta con células rojas sanguíneas o con partículas látex. Si hay suficientemente HCG urinario para neutralizar el anticuerpo las partículas permanecen en suspensión (prueba +) sino, ellos aglutinan (prueba-). Estos tests pueden ser hechos extremadamente sensitivos pero ya que los anticuerpos tienen reacción cruzada con LH, el límite de - sensibilidad se fija mas alto, usualmente como de 500 - 1000 - mIU/ml. Así que una prueba puede ser positivo en la 3-4 semana después de la concepción.

Estas pruebas pueden ser realizados ya sea en porta

objeto (1-5 minutos pero es menos sensible) ó en tubos (1-2 horas más sensible). La mayoría de las pruebas en portaobjetos utilizan partículas látex y la mayoría de las pruebas en tubo usan eritrocitos.

Aunque estas pruebas eran originalmente usadas en orina, algunos han sido modificados para muestras en suero. La concentración de HCG en suero es casi idéntica a la concentración de la primera orina del día.

Comparado con las pruebas biológicas estas han sido reemplazadas, estas pruebas inmunológicas básicas son un poco más sensibles y mucho más conveniente y rápidas así como menos caras.

Un serio problema, en adición a la reactividad cruzada con LH, es la propensión para el anticuerpo para ser neutralizado por alguna proteína en la orina, así que sangre, semen ó las proteínas por si mismas a veces provocan falsos positivos.

Al inicio de 1970 se desarrolló el radioinmunoensayo (RIA) utilizando un anticuerpo muy sensible que, en primer lugar no tiene reacción cruzada con LH ya que tiene alta especificidad para la cadena beta-HCG. Este ensayo fue designado para usarse en suero así como para cuantificar HCG y para la detección cualitativa del embarazo. Su sensibilidad oscila entre 1-5 mIU/ml, pero para una prueba única el límite de positividad era generalmente mayor y oscila entre 25-50 mIU/ml.

El RIA para beta HCG era la primera prueba de labo-

ratorio que era casi siempre positivo an cuando el embarazo -- fuera ectópico. (los niveles de HCG en embarazos ectópi--cos son casi siempre de 50-150 mIU/ml; la mitad de ellos son -- menores de los 500 mIU/ml.

Una potencial desventaja del RIA para la beta HCG -- fué haber reconocido que la sub-unidad beta es inactiva. VAI TUKARTIS señaló, que el tiempo de vida media en plasma de la--hormonas intacta es 100 veces mayor que la de la sub-unidad -- beta. El material medido durante un embarazo normal debe ser -- la hormona intacta biológicamente potente.

También en 1970 se describió un ensayo radiorecep--tor basados como el RIA. En el principio de competitividad de -- las uniones proteicas, pero utilizando una proteína receptor -- aislada de cuerpo lúteo de bovino como la sustancia enlazante.

Este ensayo también era extremadamente sensible -- (5-10 mIU/ml) pero ocasionaba reacción cruzada con la LH.

Durante muchos años la beta-HCG RIA fué el estandar contra el cual otras pruebas de embarazo fueron juzgadas. Los--avances de los 80s nos trajeron otros posibles horizontes. Ahq ra estamos en la era del anticuerpo monoclonal, tecnología a--plicada al ensayo de dos sitios inmunométricos que conserva la extraordinaria sensibilidad y especificidad del RIA además nos da una extraordinaria rapidez en el resultado (1-2 hrs.; 5 min lo más rápido).

La principal ventaja del ensayo con 2 sitios--inmunoradiométricos (IRMA) son:

1) El uso de 2 anticuerpos usualmente monoclonal - cada uno dirigidos a un sitio distinto en la molécula HCG, ambos deben enlazar antes de que ocurra la cuantificación.

2) Inmovilización de uno de los anticuerpos en la fase sólida y

3) Ataque de un radioabel a el segundo anticuerpo.-

Cuando la HCG en suero u orina es adicionada a la fase sólida, se enlaza en el primer anticuerpo; después del lavado; el anticuerpo radioabel es adicionado y enlaza la unión-HCG con el primer anticuerpo así se forma un sandwich.

Fase sólida HCG/ac. radiolabel. La cuantificación - se logra contando el radiolabel después de lavar cualquier residuo del segundo anticuerpo no enlazado.

La concentración de HCG es directamente proporcional a lo enlazado contado por minuto. La positividad para embarazo es determinada por la comparación con un standar, usualmente en el rango de 25 mIU/ml. Las muestras positivas en un rango de 10-25 mIU/ml pueden ser designadas en los límites y - la repetición del ensayo uno ó dos días después debe ser requerido.

CAPITULO III

MATERIAL Y REACTIVOS
METODOLOGIA

MATERIAL

Se usó sueros de pacientes con presencia de la hormona HCG, determinada por el método de RIA. Además se usó el equipo de U C G-BETA STAT, método de hemaglutinación.

METODO

PROCEDIMIENTO CUALITATIVO:

- 1.- Quitar y desechar el tapón del tubo de UCG-BETA STAT y colocar el tubo en la gradilla.
- 2.- Pipetear 0.1 ml. de la muestra de suero dentro del tubo reactivo UCG-BETA STAT.
- 3.- Usando el gotero que se incluye poner dos gotas del diluyente dentro del tubo reactivo de UCG-BETA STAT.
- 4.- Agitar el tubo golpeando suavemente el costado ó haciendo un vórtice para que el reactivo liofilizado se mezcle completamente con el líquido. NO MEZCLAR POR INVERSION EL TUBO.
- 5.- Devolver el tubo a su sitio en la gradilla y dejar que permanezca imperturbado durante 60 min. a temperatura ambiente. Los resultados deben leerse antes de 75 min.

RESULTADOS:



CAPITULO IV

A N A L I S I S

D E

D A T O S

ANALISIS DE DATOS

REGISTRO	FUR	FECHA EN QUE SE PROCESARON	RESULTADO	PROBABLE SEMANA DE EMBARAZO
01	03-NOV-89	11-DIC-89	POSITIVO	3 SEMANAS
02	15-OCT-89	11-DIC-89	POSITIVO	5 SEMANAS
03	04-NOV-89	11-DIC-89	NEGATIVO	3 SEMANAS
04	05-NOV-89	11-DIC-89	POSITIVO	3 SEMANAS
05	29-OCT-89	11-DIC-89	POSITIVO	4 SEMANAS
06	12-OCT-89	11-DIC-89	POSITIVO	7 SEMANAS
07	08-NOV-89	11-DIC-89	POSITIVO	3 SEMANAS
08	01-NOV-89	11-DIC-89	POSITIVO	3 SEMANAS
09	08-NOV-89	11-DIC-89	POSITIVO	3 SEMANAS
10	22-OCT-89	11-DIC-89	POSITIVO	5 SEMANAS
11	15-NOV-89	11-DIC-89	NEGATIVO	2 SEMANAS
12	31-OCT-89	05-ENE-90	NEGATIVO	4 SEMANAS
13	20-NOV-89	05-ENE-90	POSITIVO	4 SEMANAS
14	09-NOV-89	05-ENE-90	POSITIVO	6 SEMANAS
15	25-NOV-89	05-ENE-90	POSITIVO	4 SEMANAS
16	28-NOV-89	05-ENE-90	NEGATIVO	3 SEMANAS

* FUR: Fecha última de regla

ANALISIS DE DATOS

REGISTRO	FUR	FECHA EN QUE SE PROCESARON	RESULTADO	PROBABLES SEMANAS DE EMBARAZO
17	02-NOV-89	05-ENE-90	NEGATIVO	7 SEMANAS
18	11-NOV-89	05-ENE-90	POSITIVO	6 SEMANAS
19	07-NOV-89	05-ENE-90	POSITIVO	7 SEMANAS
20	28-SEP-89	05-ENE-90	POSITIVO	10 SEMANAS
21	22-NOV-89	05-ENE-90	POSITIVO	4 SEMANAS
22	31-DIC-89	06-FEB-90	POSITIVO	3 SEMANAS
23	20-DIC-89	06-FEB-90	NAGETIVO	5 SEMANAS
24	06-ENE-89	07-FEB-90	POSITIVO	3 SEMANAS
1170	28-ENE-89	16-FEB-89	POSITIVO	1 SEMANAS
1172	04-ENE-89	16-FEB-89	POSITIVO	4 SEMANAS
1194	27-ENE-89	21-FEB-89	POSITIVO	2 SEMANAS
1219	24-FEB-89	19-MAR-89	NEGATIVO	1 SEMANAS
1252	06-ENE-89	01-MAR-89	POSITIVO	6 SEMANAS
1253	19-FEB-89	11-MAR-89	NEGATIVO	1 SEMANAS
1284	06-ENE-89	01-MAR-89	POSITIVO	6 SEMANAS
1314	19-ENE-89	10-MAR-89	POSITIVO	4 SEMANAS
1316	30-ENE-89	10-MAR-89	POSITIVO	3 SEMANAS

ANLISIS DE DATOS

REGISTRO	FUR	FECHA EN QUE SE PROCESARON	RESULTADO	PROBABLES SEMANAS DE EMBARAZO
1317	06-ENE-89	20-MAR-89	POSITIVO	4 SEMANAS
1380	13-ENE-89	20-MAR-89	POSITIVO	5 SEMANAS
1541	24-FEB-89	20-ABR-89	NEGATIVO	6 SEMANAS
1546	19 FEB-89	20-ABR-89	POSITIVO	7 SEMANAS
1570	06-MAR-89	22-ABR-89	POSITIVO	5 SEMANAS
1603	07-MAR-89	27-ABR-89	POSITIVO	6 SEMANAS
1618	18-MAR-89	28 ABR-89	POSITIVO	4 SEMANAS
1620	01-MAR-89	28-ABR-89	POSITIVO	6 SEMANAS
1633	29-ABR-89	29-MAY-89	POSITIVO	3 SEMANAS
1646	23-MAR-89	02-MAY-89	POSITIVO	7 SEMANAS
1753	02-ABR-89	18-MAY-89	POSITIVO	4 SEMANAS
1759	28-ABR-89	19-MAY-89	POSITIVO	2 SEMANAS
1785	29-MAR-89	23-MAY-89	POSITIVO	6 SEMANAS
1798	06-ABR-89	24-MAY-89	POSITIVO	5 SEMANAS
1827	19-ABR-89	29-MAY-89	POSITIVO	3 SEMANAS
1556	02-NOV-89	05-ENE-90	POSITIVO	3 SEMANAS
1580	11-NOV-89	05-ENE-90	POSITIVO	6 SEMANAS

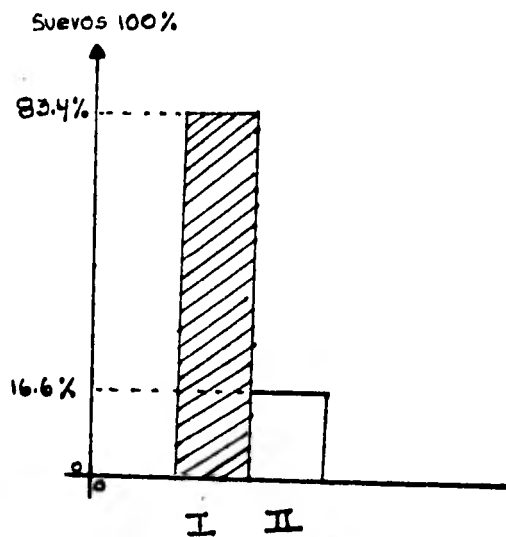
ANALISIS DE DATOS

REGISTRO	FUR	FECHA EN QUE SE PROCESARON	RESULTADO	PROBABLES SEMANAS DE EMBARAZO
1643	07-NOV-89	05-ENE-90	POSITIVO	7 SEMANAS
1732	28-SEP-89	05-ENE-90	POSITIVO	10 SEMANAS
1558	22-NOV-89	05-ENE-90	POSITIVO	4 SEMANAS
1822	31-DIC-89	06-FEB-90	POSITIVO	3 SEMANAS
1667	03-NOV-89	11-DIC-89	POSITIVO	3 SEMANAS
1797	15-OCT-89	11-DIC-89	POSITIVO	5 SEMANAS
1954	04-NOV-89	11-DIC-89	NEGATIVO	3 SEMANAS
1955	05-NOV-89	11-DIC-89	POSITIVO	3 SEMANAS
1956	29-OCT-89	11-DIC-89	POSITIVO	4 SEMANAS
1992	15-NOV-89	11-DIC-89	NEGATIVO	2 SEMANAS

* * * Sueros control de pacientes masculinos * * *

- 01 NEGATIVO
- 02 NEGATIVO
- 03 DUDOSO
- 04 NEGATIVO
- 05 NEGATIVO

LEYENDA: Frecuencia de sueros positivos y negativos por el método de Hemaglutinación.



NOTA: I.- Sueros positivos con Hemaglutinación
II.- Sueros negativos con Hemaglutinación

100 % de 60 sueros (+) con RIA

CONCLUSIONES

Considerando que se pretende obtener ventajas y/o desventajas entre el método de RIA y el método por hemaglutinación, se obtuvieron las siguientes conclusiones:

1) Tomando en cuenta que en este estudio se utilizaron sueros (+) con RIA (mas de 200 mIU/ml); 50 de los 60 - de estos problemas fueron positivos con hemaglutinación (83.4%)

2) Los 10 problemas negativos con hemaglutinación (16.6%) debe de considerarse lo siguiente:

a) Tomando en cuenta que con RIA la elevación de LH a mitad del ciclo puede provocar una reacción cruzada y por lo tanto un falso positivo; en este caso tenemos que el 11.6% (7-casos) se tratarían de falsos positivos con RIA lo cual - no sucede con hemaglutinación. * (17)

b) 3 de los casos negativos los cuales tenían 4 semanas más de probable embarazo serían los falsos negativos con hemaglutinación (5%).

CONCLUSIONES GENERALES

1.- Tomando en cuenta que el método de RIA es un método que implica equipo especial y que no cualquier laboratorio puede tener acceso a este, es una gran ventaja poder realizar el método de hemaglutinación.

2.-Por lo tanto también el costo es menor.

En los casos de falsos negativos ó falsos positivos (reacción cruzada), es prudente realizar un estudio mas en el-

cual se siga la evolución de estas mujeres para precisar la -- exactitud de estos resultados. Así como tomar en cuenta para futuros estudios la edad de las pacientes en vista que la mujer menopáusica * tiene un aumento de LH y por lo tanto puede dar reacción positiva.

Finalmente con el propósito de validar mas nuestro estudio se realizaron 5 estudios en suero del sexo masculino - de los cuales se confirmó 4 de ellos negativos y 1 dudoso.

CAPITULO V

B I B L I O G R A F I A

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Gayton A.C., TRATADO DE FISILOGIA MEDICA, 6 ED., México.- Interamericana, 1984 p 221.
- 2.- Dr. WILLIAM A. SODEMAN, FISIOPATOLOGIA CLINICA, 6 ED., México, Interamericana, 1986.
- 3.- Thorn-Adams-Braunwald, MEDICINA INTERNA DE HARRISON, 5 ED. México, Prensa Médica Mexicana, 1981
- 4.- Dr. Langman Jan, EMBRIOLOGIA MEDICA, 3 ED., México, Intergamericana, 1976
- 5.- Dr. Ramos Meza Ernesto, MANUAL DE ENDOCRINOLOGIA CLINICA.- México, 1962
- 6.- B. Moreno Esteban-J.A.F. Tresguerres, TRATADO DE MEDICINA-PRACTICA, MEDICINE, 2 ED., # 19 JULIO 1986.
- 7.- Loraine A. John, CLINICA ENDOCRINOLOGICA, Volumen 1, # 3,- 1976
- 8.- Loraine A. John, CLINICA ENDOCRINOLOGICA, Volumen 3, # 6,- 1976
- 9.- Macgregos-Castelazo-Zarate Arturo, ENDOCRINOLOGIA GINECOLQ GICA Y DEL EMBARAZO, La Prensa Médica Mexicana.
- 10.- William H. Robert, TRATADO DE ENDOCRINOLOGICA, Salvat.
- 11.- D. R. Bangham and P. L. Standardisation of Humanchorioni - Gonadotropin, HCG Subunits and Pregnancy Test 1982, 390.
- 12.- THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Vol, 248, No. 19, -- ISSVE OF OCTOBER 10, PP. 6810-6827, 1973.

ESTA TESIS NO DEBE
SAUR. DE LA BIBLIOTECA

- 13.- Howan, W. Jones y colaboradores., TRATADO DE GINECOLOGIA,-
10a. Ed., México D.F., Interamericana, 1984.
- 14.- Botella Llusia José., ENDOCRINOLOGIA DE LA MUJER., 6a. Ed.,
1982.
- 15.- Bury-Meyler., FISILOGIA GINECOLOGICA., Pol. y versión es-
pañola de Jaime García Orcoyen, Barcelona Toray-Masson S.A., -
1973.
- 16.- Dr. E. Stewart Taulor., OBSTETRICIN DE BECK., 10a. Ed., In-
teramericana, 1979.
- 17.- Winter, Sara D., M.D. PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EL EMBA-
RAZO Labmedica., Vol. III., No 5., 10-11/1986. *
- 18.- Braunstein GD, Rasor J, Adler D, y Col: SERUM HUMAN CHO--
RIONIC GONADOTROPIN LEVELS THROUGH NORMAL PREGNANCY, Am J. Obs-
tet Gynecol 126: 678-681, 1976.