

LA PRUEBA DE OWREN EN EL CONTROL DE LA TERAPEUTICA ANTICOAGULANTE INDIRECTA

JULIO E. NUÑEZ *

El tema tan fascinante de la coagulación de la sangre ha sido objeto de estudio desde muy antiguo, siendo muchos los investigadores que han trabajado sobre el mismo. Alrededor de los últimos veinte años se han sucedido una serie de descubrimientos importantísimos, con beneficios notables desde el punto de vista clínico y terapéutico.

La introducción por Quick (1, 2), del tiempo de protrombina de un estado y su posterior aplicación a la terapia anticoagulante y, por otro lado, la extracción y aislamiento por Link y Campbell (3, 4) del "byshydroxycoumarin" y su utilización, más tarde, en la investigación clínica humana (5, 6), marcan el inicio del empleo de los anticoagulantes orales tan difundido en nuestros días, inclusive en pacientes ambulatorios sometidos a tratamientos de larga duración. El resultado ha sido la prevención de trombosis y embolias en diversos padecimientos cardiovasculares y la prolongación de la vida en la gran variedad de enfermedades tromboembólicas.

Indiscutiblemente el uso de estas drogas supone el conocimiento del mecanismo de la coagulación y de los cambios que tales fármacos inducen en el mismo, recordando siempre que al administrarlas se está actuando sobre uno de los mecanismos homeostáticos más delicados y complejos.

Nadie discute en la actualidad la necesidad del empleo de los anticoagulantes orales; el problema, desde el inicio de su aplicación en la práctica clínica ha sido el peligro de sangrado por sobredosis o de aparición de trombosis primarias o adicionales por dosificación insu-

(*) Esta es una versión abreviada de la tesis presentada por el autor para optar el grado de Bachiller en Medicina en diciembre de 1962.

ficiente. Por ello, la necesidad de un control riguroso ha sido y es el elemento fundamental de esta forma de terapia.

Por muchos años el tiempo de protrombina de Quick ha sido el método de elección en el control de la terapia anticoagulante con cumarinas e indanendionas y, de hecho, es en la actualidad el más ampliamente difundido, en su forma original o con alguna de sus modificaciones.

Sin embargo, el problema de las hemorragias a pesar de encontrar dentro de los niveles terapéuticos para tal método y la necesidad de laboratorios especializados, con la consiguiente imposibilidad de administrar estas drogas en lugares alejados de estos centros, ha movido a los investigadores a continuar sus trabajos con miras al hallazgo de métodos más simples y seguros. La introducción por Owren y Aas (7, a) del tiempo de protrombina y proconvertina (P & P method), logró algunas ventajas sobre el test de Quick, por dar con bastante exactitud una estimación combinada de los factores II (protrombina), VII (proconvertina) y X (factor de Stuart-Prower), ser menos influenciado por la heparina, y poseer una ligera sensibilidad a la depresión de factor IX (P.T.C.). Pero, la dificultad en la preparación de los reactivos y la necesidad de laboratorios bien montados, han sido la causa de que este método no se haya extendido mayormente.

Es así que el Profesor P. A. Owren, del Rikshospitalet de Oslo, dio a conocer en 1959 un nuevo método de control de la coagulabilidad al que llamó "Trombotest" (9, 10, 11), diseñado para salvar esos obstáculos, fundamentalmente por su sensibilidad a factores del sistema intrínseco de la coagulación sanguínea, y por ser posible el empleo de sangre venosa total o capilar, además de plasma.

En nuestro medio, la terapia anticoagulante con drogas protrombinopénicas es bastante limitada y, una de las razones fundamentales es, la dificultad para un control riguroso sostenido y veraz.

En este trabajo nos hemos propuesto la introducción del "trombotest", con el fin de señalar sus características en el control de la terapia anticoagulante, dando a conocer sus ventajas e inconvenientes. Con este objeto se le comparará con el test del tiempo de protrombina de una fase, pero no en su forma original (1, 2, 12), sino, empleando Simplastin que es la forma de tromboplastina comercial de mayor utilización en nuestro medio.

METODOS Y MATERIAL DE ESTUDIO

1. "Trombotest". Este es el nuevo método introducido y llamado así por Owren en 1959 (9, 10, 11), teniendo en cuenta que un control adecuado de la terapia anticoagulante debe incluir una determinación combinada de todos los factores que son deprimidos por esta forma de terapia. Este método se basa en que la coagulación tiene lugar a través de los dos sistemas que ya conocemos, siendo el intrínseco mucho más lento que el extrínseco, y que los dos se deprimen en la terapia anticoagulante indirecta, por reducción del factor IX (P.T.C.) en el primero, del factor VII (proconvertina) en el segundo, y de los factores II (protrombina) y X (Stuart-Prower) en ambos. El reactivo se prepara de modo que, ajustando los dos sistemas de la coagulación se consigue que operen a la misma velocidad durante el test; con este fin se acelera el sistema intrínseco con una preparación activa de cefalina y se retarda el sistema extrínseco con el empleo de una tromboplastina de baja actividad; se emplea, asimismo, plasma bovino absorbido, libre de los cuatro factores a ser determinados y con una concentración alta y constante de todos los otros factores no influenciados por los anticoagulantes; los tres componentes (cefalina cruda, tromboplastina tisular débil y plasma absorbido), además de una concentración óptima de calcio, se mezclan en un reactivo "todo en uno", que se liofiliza y se guarda en ampollitas selladas al vacío, y que es estable hasta por 18 meses, si las temperaturas de almacenamiento no exceden de 20° C. El reactivo así preparado puede emplearse con sangre capilar, sangre venosa citratada o plasma citratado, diluyéndolo con agua destilada en el primer caso, y con cloruro de calcio en solución 3.2 mM. en los otros dos, teniendo la precaución de agitar vigorosamente la mezcla (49) después de reconstituido el reactivo para lograr una buena dispersión, y no sucesivamente como se indica en las informaciones originales de Owren (9, 10); detalle importante también, si se guarda el reactivo diluido en el refrigerador, de un día a otro.

El reactivo reconstituido es estable por 12 horas a temperaturas que no excedan de 20°C, y por tres días, a 6°C. El procedimiento consiste en agregar 0.1 ml. de la muestra, a 0.5 ml. de reactivo a 37°C, y medir el tiempo para la aparición del coágulo de fibrina, que es súbita y fácilmente apreciable. Puede emplearse la mitad y hasta la quinta parte de los dos componentes * (50, 51, 52). Los resultados se expre-

(*) Nosotros hemos empleado las mitades de los volúmenes.

san en porcentaje de actividad, valiéndose de curvas de correlación proporcionadas con el reactivo, preparadas con diluciones seriadas de plasma normal standard de referencia y plasma humano normal absorbido, de las cuales la superior es para sangre venosa o plasma, y la inferior para sangre capilar, y que son diferentes para cada lote de reactivo (fig. 1). Como puede observarse claramente, la mayor sensibilidad de la curva está entre 10% y 43%, valores entre los que se encuentran los niveles terapéuticos de 10% a 25%, aceptados para este método (11). En cambio, en los niveles entre 50% y 100%, la curva es casi horizontal y la sensibilidad es menor, por lo cual, si se necesita

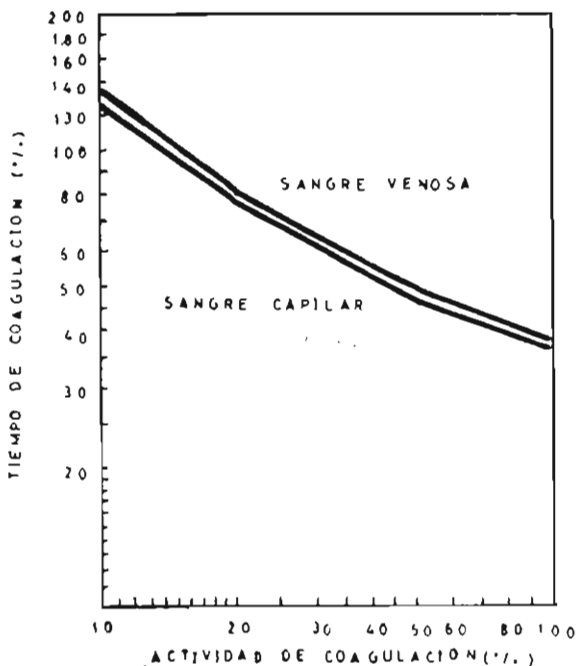


Fig. 1. Curvas de correlación para sangre capilar y sangre venosa, proporcionadas con cada lote de reactivo de "Trombotest".

valores más exactos entre estos niveles, es preciso emplear la quinta parte del volumen de sangre, con lo cual se consigue hacer caer el resultado en la parte declive de la curva, que es la sensible y, multiplicando por una constante, se obtiene el valor real más aproximado (9, 11, 53). Los niveles normales oscilan entre 70% y 130%.

En el presente trabajo se siguieron las normas dadas por Owren (9, 10, 11) y por la firma productora del reactivo (Nyegaard & Co. A/S., "Nycó" - Posboks 4220 T - Oslo), que tuvo la gentileza de proporcionarnos una cantidad suficiente del mismo y el material adecuado de pipetas, tubos y lancetas, que son imprescindibles para realizar el "trombotest". Tal equipo, exclusivo en parte para este método, fue el siguiente:

1. Pipetas especiales para el "trombotest" (H. J. Elliott, Ltd., E-Mil Works, Treforest Industrial State, Pontypridd, Glamorgan, Great Britain), de 2.2 ml., para medir el solvente; de 0.25 ml. para el reactivo disuelto; y, de 0.1 ml., con graduación en 0.05 ml., para la muestra de sangre o plasma.

2. Tubos de prueba, de vidrio no siliconizado, de 4.5 cm. de longitud y 8 mm. de diámetro interior.

3. Tubos de plástico de 6 ml., con una marca circular en X 5 ml., fabricados, unos de "polyethylene" (material opaco, flexible), y los otros de "polystyrene" (material transparente no flexible) y provisto de una tapa de polyethylene".

4. Lancetas adecuadas para sangre capilar, no automáticas ("steril-lance" - A/S. N. C. Nielsen, Vestergade 10, Copenhagen, Denmark). Para sangre venosa, jeringas de 5 y 10 ml. y agujas hipodérmicas Nos. 20 y 21, de 1 a 1.5 pulgadas. Ni las jeringas, ni las agujas, fueron de material siliconizado (11).

5. Baño de agua de 37°C, fabricado de material de vidrio transparente.

6. Cronómetro de mano.

La sangre venosa se extraía con jeringa y aguja, y, de inmediato se depositaba en los tubos de plástico que contenían 0.5 ml. de citrato de sodio dihidratado al 3.13%, enrasando hasta la marca de 5 ml., sin retirar la aguja.

Para la colección de sangre capilar se hacía una puntura en la cara lateral de la yema de los dedos anular o meñique, escogiéndose esta zona por ser menos dolorosa, teniendo cuidado que las gotas de sangre fluyesen libre y espontáneamente, sin presionar el dedo, para evitar la liberación de tromboplastina tisular. En las primeras determinaciones (de las 10 que se eliminaron), había gran dificultad en la obtención de la cantidad suficiente de sangre para completar 0.05 ml., y, a veces, tal colección era demasiado larga, iniciándose la coagulación en la pipeta y falseando los resultados (9, 10, 11); por este motivo se adoptó la maniobra de ligar el antebrazo en el tercio medio, antes

de practicar la puntura, con lo cual fluía la sangre libremente y, cuando esto no ocurría, al deslizar rápidamente, casi siempre podía obtenerse una buena muestra. Los "trombotests" de sujetos normales se efectuaron dentro de la primera hora de extraída la sangre; en tanto que, los de los sometidos a terapia anticoagulante, se hicieron dentro de las tres primeras horas. Dos se repitieron con sangre guardada 24 horas a la temperatura ambiente; y otros dos, a las 48 horas. No se hicieron determinaciones en muestras de plasma citratado y, tampoco se empleó el procedimiento de guardar el reactivo disuelto, en alícuotas y refrigerado, para deshelar en el momento del uso (53).

Se tuvo especial cuidado en los detalles siguientes: En el método capilar se utilizaron las primeras gotas, tanto en los sujetos normales como en los anticoagulados, con el fin de evitar la aceleración de los tiempos de coagulación que se ha observado después de 1 a 2 minutos en los primeros, y después de 5 minutos en los segundos (10, 11); la colección de estas muestras era lo más rápido posible con la pipeta mantenida horizontalmente, efectuándose el test de inmediato, para evitar el inicio de la coagulación en la misma. El enrase de las pipetas de sangre capilar o venosa se hacía contra la palma de la mano, no empleándose algodón ni gasa, que absorberían el plasma. Todas las muestras de sangre venosa citratada se guardaron en los tubos de material plástico para evitar la activación por contacto que ocasiona el material de vidrio (10, 11, 14, 54); la prevención de tal activación con tubos siliconizados o de plástico, es de alrededor de 48 horas para sangre de sujetos anticoagulados, en tanto que, para la de sujetos no tratados, por ser mayor la activación con sangre normal, es de solo 1 hora. Para mezclar la muestra con el reactivo, se mantenía el pico de la pipeta lo más cerca de la superficie del segundo, soplando suavemente, para evitar que parte de la sangre se quedase en las paredes del tubo, retardándose la mezcla. Finalmente, en la determinación del tiempo de formación del coágulo, se dejaba la mezcla en el baño de agua, sin ningún disturbio, durante 30' si se trataba de sujetos normales, y 50" si eran anticoagulados; a partir de este momento, se sacaba suavemente el tubo, imprimiéndole inclinaciones de unos 45° sobre la vertical, y manteniendo estos movimientos, muy delicados, hasta la aparición del coágulo. Los movimientos bruscos, al remover los filamentos de fibrina que recién se forman, pueden prolongar apreciablemente el tiempo de coagulación (11, 49, 55).

Como el "trombotest" es sensible a la heparina, cuando se comienza un tratamiento combinado con aquella, la determinación debe

hacerse después de ocho horas de la última inyección intravenosa de tal anticoagulante (10, 11).

2. *Tiempo de protrombina de un estado ("Quick one-stage"), modificado.* No se empleó la técnica original de Quick (1, 2) sino una modificación, utilizando Simplastin (Warner-Chilcott) como fuente de tromboplastina, que es una mezcla de partes iguales de extractos de pulmón y cerebro de conejo, y que al contener la proporción correcta de calcio, ahorra tiempo (45, 56). La técnica empleada se basó en las indicaciones dadas por los fabricantes del reactivo, con algunas pequeñas variantes. Así, en la colección de las muestras se empleó citrato de sodio como anti-coagulante, en lugar de oxalato, teniendo en cuenta que el mismo Quick, de acuerdo con los trabajos de Neilson y Briggs (12), señala que así el factor V se ve menos afectado y que el precipitado de oxalato de calcio que forma el segundo, actúa como absorbente (11). De este modo, las mismas muestras de sangre, tomadas para el "trombotest" venoso, en tubos de plástico, se emplearon para el tiempo de protrombina, después de la centrifugación requerida, y teniendo cuidado de realizar la prueba dentro de las dos horas de extraídas. Para la adición de plasma citratado se empleó una jeringa de tuberculina. El baño de agua, era de vidrio transparente, (Pyrex). Se escogió la técnica del asa de alambre, teniendo cuidado de flamearla antes de cada determinación.

Los tiempos de protrombina de control, en determinaciones duplicadas y hasta triplicadas, arrojaron consistentemente valores de alrededor de 12", siendo insignificantes las variaciones entre duplicados (fracciones de segundo), motivo por el cual se continuó con determinaciones simples únicamente. Se emplearon las curvas de correlación proporcionadas con el reactivo.

El lavado del material utilizado en ambos métodos, consistía en dejarlo en mezcla sulfocrómica durante 24 horas, para después enjuagarlo con agua corriente y agua destilada, antes de secarlo; parece que la mezcla sulfocrómica da lugar a propiedades semejantes al vidrio silicizado, (11, 54).

Material. Nuestro estudio se efectuó en: 1) Sujetos normales; 2) Enfermos sometidos a terapia anticoagulante indirecta; y, 3) Pacientes hepáticos. El número total de determinaciones fue de 282.

1. En el primer grupo se llevó a cabo el "trombotest" (prueba de coagulabilidad) en 110 sujetos considerados normales, de los cuales se desecharon los primeros 10 (diez determinaciones en sangre capilar, y diez en sangre venosa), por considerar que los resultados estaban li-

gados al error de la falta de práctica. De los 100 restantes, 44 fueron varones, estudiantes de medicina, cuyas edades fluctuaban entre 22 y 30 años; y los 56 restantes eran mujeres, de las cuales, 30 eran estudiantes de enfermería y, 26 eran pacientes hospitalizadas con cifras de hemoglobina por encima de 13 gm. %. Ninguno de estos sujetos presentaba historia que sugiriese alguna forma de diátesis hemorrágica. En todos se efectuó el "trombotest" en sangre venosa y, sólo en 80 se practicaron determinaciones simultáneas del tiempo de protrombina de un estado, empleando Simplastin como fuente de tromboplastina; únicamente en 10, fueron duplicados los tiempos de protrombina, siendo las diferencias insignificantes por lo que se continuó en tests simples únicamente.

En 7 sujetos, los "trombotests" venosos fueron duplicados con reactivo procedente de la misma ampolleta. En 11 se duplicaron los tests venosos con reactivo de un mismo lote pero de ampolletas diferentes; y, en 17, se efectuaron duplicados con reactivo de lotes diferentes. Únicamente contamos con dos lotes: 254 y 255.

En 14 de estos casos normales, se llevaron a efecto "trombotests" en sangre capilar paralelos con venosos, de los cuales se duplicaron 4, con reactivo procedente de la misma ampolleta. No se hicieron duplicados con sangre capilar de una misma puntura.

El número total de determinaciones, tomadas en cuenta en este grupo, fue de 153.

2. El segundo grupo estuvo constituido por 10 pacientes sometidos a terapia anticoagulante indirecta, por afecciones diversas, de los cuales 4 eran enfermos hospitalizados y los 6 restantes, enfermos ambulatorios. De ellos, 8 recibían Tromexan (Geigy) y los dos restantes Marcumar (Roche). En cinco, se estaba administrando cumarínicos más de un año, y en el resto, tal forma de terapia era de inicio reciente. Todas las determinaciones se correlacionaron con tests simultáneos del tiempo de protrombina de un estado, con Simplastin. El número de "trombotests" venosos fue de 96 : 56 simples, 12 duplicados (6 con reactivo del mismo lote y los otros 6 con el de lotes diferentes); y 4 triplicados.

En dos enfermos se repitió el test venoso con sangre guardada 24 horas; y en otros dos, con sangre guardada 48 horas a temperatura de la habitación, inferior a 20°C.

Sólo en 5 de los pacientes con "trombotests" en sangre venosa se hicieron determinaciones en sangre capilar.

3) Finalmente, se efectuaron 8 determinaciones en cinco pacientes hepáticos escogidos arbitrariamente, cuando el tiempo de protrom-

bina con Simplastin era de alrededor de 80% o menos. Sólo en uno se efectuaron el "trombotest" capilar y el venoso, por duplicado; en todos ellos se hizo la correlación respectiva con el tiempo de protrombina, como en los dos grupos anteriores.

RESULTADOS

1. En el grupo de los 100 sujetos aceptados como normales, 87 "trombotests" venosos dieron valores entre los niveles de actividad de 50% a 100%, y los otros 13 por debajo de 50%. En el grupo de 87, se encontraron 50 resultados entre los niveles aceptados como normales, de 70% a 130% y los otros 37 entre 50% y 70%. La distribución de todos estos valores fue la siguiente: 2 dieron lecturas entre 100 y 130 (100% y 102%, respectivamente); 11 arrojaron resultados entre 90% y 100%; 9 entre 80% y 90%; 28 entre 70% y 80%; 18 entre 60% y 70%; y 19 entre 50% y 60%. Entre los 13 sujetos tomados como normales, con lecturas inferiores a 50%, el valor más bajo obtenido fue de 33%. (Tabla N° 1).

TABLA N° 1. Distribución de los porcentajes de actividad encontrados en "Trombotests" venosos de 100 sujetos normales

Porcentajes de Actividad	N° de sujetos		
De 100% a 130%	2		
De 90% a 100%	11	50%	
De 80% a 90%	9		
De 70% a 80%	28		87%
De 60% a 70%	18		
De 50% a 60%	19	37%	
De 40% a 50%	9		
De 30% a 40%	4		13%

Las 7 lecturas duplicadas con reactivo de una misma ampolla, arrojaron excelente correlación en 5, con diferencias de alrededor de 1%. En los otros 2, las diferencias fueron de 9% y 20%, puntualizando que tales porcentajes significaban en tiempo, 2" y 2"5, respectivamente.

En los 11 "Trombotests" venosos duplicados con reactivo del mismo lote pero de ampollas diferentes, se encontró buena correlación en 9 (diferencias insignificantes) y en los otros 2, las diferencias fueron de 3" y 6"3, respectivamente.

De las 17 determinaciones en sangre venosa, duplicadas con reactivos de lotes diferentes, se obtuvo buena correlación en 13, con diferencias entre 1.5% y 5%. En 3 de los restantes las diferencias fueron de 6%, 7% y 9%; y, en el cuarto, de 20%. Debemos recalcar que estos 4 últimos daban lecturas en la parte de la curva con mayor tendencia a la horizontal.

En cuanto al "trombotest" en sangre capilar, en las 4 determinaciones duplicadas con reactivo de la misma ampollita y sangre de punturas diferentes, los resultados fueron muy similares: en 2 casos, las diferencias fueron de menos de 1", entre los porcentajes de actividad de 80% a 100%. (La diferencia en porcentaje era, pues, de alrededor de 6%); en el tercer caso, los resultados difirieron en 2", entre los mismos niveles, lo que significaba una diferencia de 20%; finalmente, en el cuarto sujeto, una diferencia igual, de 2", pero entre los niveles de 50% a 60%, significó solamente 2% de diferencia entre los duplicados.

TABLA N° 2. Comparación entre los resultados del "trombotest" y los del tiempo de protrombina (Simplastin), en los 10 pacientes sometidos a terapia cumarínica. Los "niveles terapéuticos" para el "trombotest" se fijan entre 10% y 30%, y los del tiempo de protrombina, teniendo en cuenta que el tiempo de control normal era de 12", entre 30" y 18" (12.5% a 30%)

Caso N°	N° de deter- mina- ciones	Tiempo de protrombina			"Trombotest"		
		Sobre 30%	Niveles terap. de 12.5%	Debajo de 10%	Sobre 30%	Niveles terap. de 10%	Debajo de 10%
I	10	4	6	—	4	2	4
II	5	1	4	—	1	—	4
III	7	5	1	1	—	3	4
IV	8	6	2	—	1	5	2
V	10	5	3	2	—	2	8
VI	1	1	—	—	—	1	—
VII	15	6	8	1	—	4	11
VIII	2	—	2	—	—	—	2
IX	6	1	5	—	—	—	5
X	8	7	1	—	2	5	1
Totales	72	36	32	4	8	22	42
%	100%	50%	44.44%	5.55%	11.11%	30.55%	58.33%

Los "trombotest" capilares y venosos simultáneos, en los 14 sujetos normales, mostraron buena correlación únicamente en 8, con diferencias entre 1% y 5%. En 3 de los restantes, las diferencias estuvieron entre 8% y 12%, y, en los 3 últimos, entre 20% y 30%. Cabe también destacar aquí, que la correlación era mejor cuando los resultados caían en niveles entre 50% y 60%.

Respecto a los tiempos de protrombina con Simplastin, de los 80 sujetos controlados con este test, 24 dieron lecturas de 100% o más; 52 entre 80% y 100%. De los 80 "trombotests" venosos correspondientes, 72 (90%) se encontraban entre los niveles de 50% a 100%, con 47 sujetos (58.5%) entre los niveles normales de 70% a 100%; y 25 (31.25%) entre 50% y 70%. Los 8 restantes (10%) dieron lecturas inferiores a 50%. En los 4 sujetos con tiempos de protrombina entre 70% y 80%, los valores correspondientes en el "trombotest" fueron de 44.5%, 50%, 78% y 94%. La aparente diferencia entre los porcentajes de estos 80 sujetos con los encontrados en el total de "trombotests" venosos se debe a que los controles con el tiempo de protrombina fueron más frecuentes en los 50 últimos sujetos, en quienes, de hecho, se encontró los mejores resultados, como consecuencia de una mejor técnica resultante de indicaciones directas del profesor Owren (49), y de la Casa Nyegaard, fabricante del reactivo.

2. En el grupo de los 10 pacientes anticoagulados, se encontró una evidente falta de correlación entre el "trombotest" y el tiempo de protrombina utilizando Simplastin; así, cuando los valores del segundo se encontraban dentro de los niveles terapéuticos ($1\frac{1}{2}$ a $2\frac{1}{2}$ veces del tiempo de control normal), los del "trombotest" era marcadamente bajos, inferiores a 10%, y muchas veces por debajo de 5%, y aún de 3%; esto mismo ocurrió en algunos casos en que el tiempo de protrombina estaba moderadamente por encima de los niveles terapéuticos (8 casos: 11.11%). Por el contrario, cuando los valores con el Simplastin eran superiores a los niveles terapéuticos, casi siempre se encontró que los del "trombotest" sí se encontraban dentro de los niveles adecuados para este método; esto último pudo observarse con resultados de 30%, 70% y aún 85%, para el tiempo de protrombina. La tabla N° 3 y las figuras 2 y 3, ilustran estos hallazgos.

En la figura N° 3, se ha considerado los niveles terapéuticos para el tiempo de protrombina, entre 18" y 30" ($1\frac{1}{2}$ a $2\frac{1}{2}$ veces el tiempo de control normal de 12", que encontramos en nuestro estudio), o sea, de 30% a 12.5%. En la figura N° 4, para facilitar el esquema, y tomando en cuenta las consideraciones de Vigran (63), hemos considerado los niveles terapéuticos de ambos métodos, entre 10% y 30%; en esta figura, además de las diferencias entre los valores, puede observarse que hay paralelismo en el cambio direccional, y que las fluctuaciones del trombotest son más estrechas que las del tiempo de protrombina. En ambas figuras puede apreciarse que el porcentaje de valores inferiores a 10%, para el "trombotest", es bastante alto.

Las determinaciones duplicadas y triplicadas, tanto las efectuadas con reactivo del mismo lote, como de lotes diferentes, arrojaron una correlación bastante buena.

En cuanto a los "trombotests" repetidos a las 24 horas con sangre guardada a la temperatura de la habitación, la correlación en porcentaje de actividad fue magnífica; en uno de ellos se obtuvo 179"2 en la muestra original y .184"8 y 191" en la determinación realizada por duplicado a las 24 horas. Como puede apreciarse claramente en las curvas de correlación, la diferencia en porcentaje de actividad es despreciable. En el otro caso, se obtuvo resultados similares, e igualmente con mayor número de segundos en la sangre guardada.

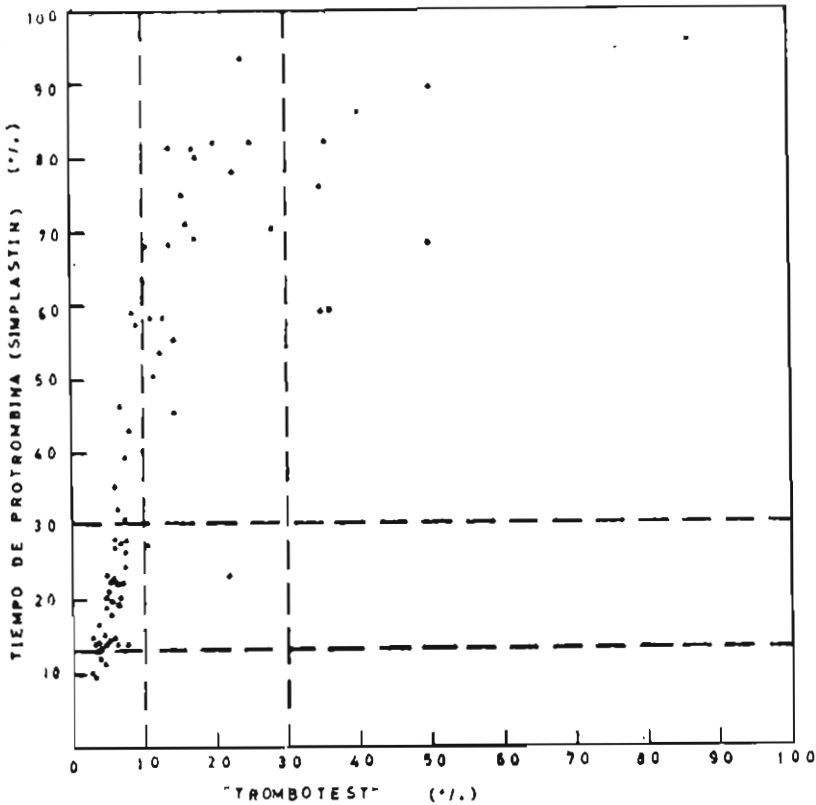


Fig. 2. Comparación de valores de "Trombotest" y Tiempo de Protrombina (Simplastin), determinados simultáneamente. El espacio entre las líneas indica los "niveles terapéuticos" de cada uno.

Con sangre a las 48 horas de extraída, la correlación expresada en porcentaje de actividad fue bastante buena; pero, a diferencia de los casos anteriores, el tiempo fue mayor en la muestra original. En uno de los casos, el número de segundos en la muestra original por duplicado, fue de 142" y 147"; mientras que en la guardada también duplica-

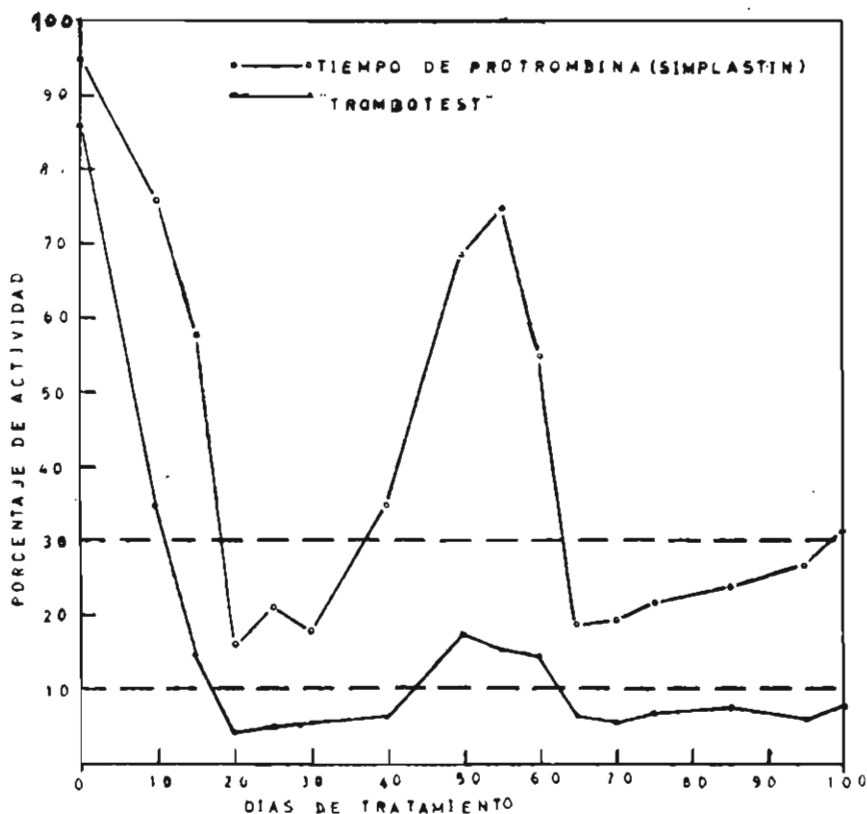


Fig. 3. Representación gráfica de los valores de "Trombotest" y Tiempo de Protrombina en uno de los casos estudiados.

da, se encontró 138" y 139". Las diferencias en porcentaje de actividad son también despreciables. En el otro caso, los hallazgos fueron similares. Debemos señalar que en varios casos, las muestras dejadas 24 ó 48 horas, coagularon en bloque, debiendo advertir que no se empleó tubos nuevos para guardar la sangre.

Los "trombotests" capilares arrojaron una correlación magnífica con los venosos, en los cinco casos que se probaron.

Finalmente, en este grupo de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, observamos dos casos de sangrado. El primero, con gingivorragia, tenía un tiempo de protrombina de 27" (15.2%), mientras el "trombotest" se encontraba en 3%. En el otro caso, el accidente fue de hematuria bastante marcada, precedida de epistaxis moderada. Dos días antes, el tiempo de protrombina se había encontrado en 37" (10%), y el trombotest en 2.3%.

3. En el grupo de los cinco pacientes con insuficiencia hepática que se escogieron, los hallazgos fueron similares a los de los sujetos anticoagulados. Los valores encontrados se encuentran en la siguiente tabla.

TABLA N° 3. Comparación de los valores de "trombotest" y tiempo de protrombina en cinco pacientes con insuficiencia hepática

Caso	"Trombotest" Capilar	"Trombotest" venoso	Tiempo de Protrombina
I	51"5 (45%)	53"5 (44%)	13"5 (81%)
	51" (46%)	54" (43%)	
II	—	149"5 (5.8%)	19"2 (25%)
III	—	51"5 (50%)	13"5 (81%)
IV	—	58"2 (33.5%)	13"6 (80.5%)
V	—	54"5 (40.5%)	13"3 (82%)

En el primer caso puede observarse la magnífica correlación entre duplicados, y entre el método capilar y venoso.

DISCUSION

El problema de las complicaciones hemorrágicas en pacientes mantenidos dentro de los niveles terapéuticos para el tiempo de protrombina de Quick, tanto en su forma original, como en sus modificaciones, es uno de los principales inconvenientes de este método. Felizmente, los accidentes de sangrado son muy raros, pese a encontrarse

por debajo de los niveles aceptados, lo que permite controlar bastante bien a los pacientes sometidos a terapia anticoagulante. Al respecto, no debe olvidarse que las hemorragias no dependen exclusivamente del mecanismo de la coagulación, sino que intervienen otros factores: extravasculares, vasculares, patología local, metabolismo de la droga, etc. (58).

Tratándose del método de Quick, tales complicaciones pueden obedecer, a la calidad de la tromboplastina usada o a marcada depresión de factor IX (P.T.C.), que no es reflejada por el mismo (59). La primera causa es responsable de la imposibilidad de standarización de los resultados de diferentes laboratorios, debido a la diferente sensibilidad a la depresión de los factores del sistema extrínseco (II, VII y X) que presentan los diversos tipos de tromboplastina. El test de Quick es realmente determinado por la concentración de factor VII (12), pero se sabe que en la terapia de larga duración, suele ser el factor X el más deprimido (44, 45); luego, las tromboplastinas insensibles o poco sensibles a estos factores serán las menos adecuadas. Así, se ha señalado que la Trombokinasa de Geigy tiene una sensibilidad muy baja a esos dos factores (45, 60) y que el Simplastin es muy poco sensible al factor X, en tanto que lo es, intensamente, al factor VII (45, 56). En cambio, las tromboplastinas procedentes de tejido cerebral de conejo (como aconseja la técnica original de Quick) o humano, son superiores a las anteriores, por tener una sensibilidad razonable a la depresión de dichos factores (12, 45).

El "trombotest" de Owren fue creado por su autor con miras a disminuir tales desventajas.

Nuestros resultados en sujetos normales, en el 87% de los cuales encontramos valores entre 50% y 100% de actividad guardan alguna relación con los encontrados por Roberts y Mason en Canadá (61), aunque los nuestros son definitivamente más bajos. Como quiera que no hemos empleado el método de dilución para estos niveles (11, 53), estos hallazgos podemos explicarlos teniendo en cuenta que el trombotest ha sido diseñado para la terapia anticoagulante y no para sujetos normales. Su sensibilidad a los niveles mencionados no es buena, debido a la forma de la curva de correlación, cuyo mayor declive, es decir, su mayor sensibilidad, está entre 10% y 43%, siendo la diferencia de tiempo entre estos dos valores de alrededor de 90", mientras que entre 50% y 100%, la curva tiene tendencia a hacerse horizontal, y la diferencia en tiempo es alrededor de 7" solamente. Por tanto, una pequeña variación (de 2" por ejemplo), posible por razones obvias, representa en

porcentaje una diferencia bastante apreciable, la que no ocurre en la parte sensible de la curva, donde diferencias de varios segundos no tienen trascendencia, y un error técnico en la apreciación del tiempo, no varía el porcentaje de actividad.

Una explicación complementaria podría ser la dada por Roberts y Mason (61) quienes, al igual que nosotros, han advertido la presencia de flóculos en el reactivo diluido y han contado con los mismos lotes con que nosotros hemos trabajado. (Nos. 254 y 255) (49). Ellos atribuyen tales flóculos a deterioración del reactivo por fallas en el sellado de las ampollitas o prolongado almacenamiento a temperaturas muy elevadas, lo que podría haber ocurrido en algún momento del transporte del mismo a nuestro país. Sin embargo, Owren (49) refiere haber notado ocasionalmente tales flóculos en esos mismos lotes, pero afirma que no tienen influencia en los tiempos de coagulación si se tiene el cuidado de obtener una buena dispersión, rectificando la indicación de agitar suavemente la dilución, por la de un sacudimiento corto y vigoroso. Recalcamos nuevamente que, gracias a este detalle obtuvimos mayor número de resultados con porcentajes de actividad por encima de 70%. Señala también que es imposible hacer preparaciones que sean sensibles tanto en normales como en pacientes sometidos a terapia anticoagulante.

Nosotros creemos que el tiempo transcurrido desde la fabricación del reactivo podría tener importancia en los resultados bajos que hemos encontrado; como quiera que nuestros trabajos han sido efectuados casi un año después que los de Roberts y Mason, es probable que date de más de 18 meses y que se haya alterado. Desgraciadamente no hemos recibido respuesta sobre la fecha de elaboración de dichos lotes, pero pensamos que es de capital importancia consignar la fecha de expiración del reactivo en las ampollitas.

Explicaciones similares caben en cuanto a los valores de los tests paralelos con sangre capilar y venosa, ya que la correlación de ambos métodos fue mejor en los niveles terapéuticos o cercanos a los mismos. Aceptamos también los mismos argumentos para explicar la falta de correlación de algunos de los duplicados en sangre venosa, con reactivo de la misma ampollita, de ampollitas diferentes del mismo lote, o de lotes diferentes.

En los "trombotests" venosos de sujetos sometidos a terapia anticoagulante, la falta de correlación tan evidente con los valores del tiempo de protrombina, concuerda con los hallazgos de otros autores (44, 58, 60, 61, 59, 63, 64, 65, 66). Más aún, las diferencias entre los por-

centajes de uno y otro método semejan bastante los niveles de equivalencia entre los mismos, señalados por Tat y Lewis (65). Debemos insistir nuevamente en que en este trabajo no hemos empleado el test original de Quick, sino que al igual que Vigran (63), Currens y Grant (64), Roberts y Mason (61) y otros, se ha utilizado Simplastin como fuente de tromboplastina. Si bien este producto no requiere la adición de cloruro de calcio (como el método original de Quick) y los resultados que brinda son perfectamente reproducibles, parece no ser muy recomendable para el control de la terapia anticoagulante, porque, además de carecer por completo de sensibilidad al factor IX (como todas las tromboplastinas utilizadas en este método), tiene una sensibilidad bajísima a la depresión de factor X (45, 56), que puede ser el más intensamente reducido. Además, ya Verstraete (56) al comparar diferentes tromboplastinas señaló que, las mezclas de pulmón y cerebro (caso del Simplastin) tienen una actividad que es intermedia entre las del cerebro y pulmón separadamente. Otra desventaja del Simplastin, que en todo caso actuaría en sentido inverso, es que las curvas de correlación que lo acompañan y que nosotros hemos empleado, son preparadas con solución salina, que no da concentraciones óptimas de factores V y I (fibrinógeno) (18, 56, 67). Quick y otros autores (12, 67, 68) señalan que la correlación entre el tiempo de protrombina y el "trombotest" será buena a condición de utilizar en el primero, plasma absorbido con sulfato de bario en la construcción de la curva, y cerebro de conejo desecado con acetona como fuente de tromboplastina. De esta manera, el mismo Quick y otros, han encontrado una buena correlación entre los dos métodos, en pacientes sometidos a terapia anticoagulante oral (44, 68, 69).

Los valores encontrados en los pacientes hepáticos estudiados, son semejantes a los de los sujetos anticoagulados, mereciendo por consiguiente comentarios similares.

Si bien, no existe discusión sobre la sensibilidad del test de Quick original y el "trombotest", a los factores del sistema extrínseco (VII, X y II), la divergencia de criterio es notable en cuanto a la pregonada sensibilidad del segundo a la reducción del factor IX, verdadero punto neurálgico acerca de la mayor o menor utilidad de estos dos métodos. Muchos autores han dudado y desechado (44, 69, 70, 71, 72) la afirmación de Owren de que el "trombotest" es sensible a la disminución de tal factor por los anticoagulantes orales (9, 10, 11), basándose en valores normales o cercanos a lo normal, en pacientes con deficiencia congénita de ese factor; por otro lado, Rodman y Pastor (66), empleando simultáneamente un reactivo de trombotest desprovisto de ce-

falina (la cual mide el sistema intrínseco, según Owren), y el reactivo proporcionado por la Casa Nyegaard (que sí la contiene), concluyen que el "trombotest" no debe ser sensible al factor IX, ya que los resultados que encontraron fueron muy similares.

Al respecto, es necesario puntualizar que el "trombotest" ha sido diseñado para el control de la terapia anticoagulante, y no para detectar la deficiencia congénita de factor IX (enfermedad de Christmas). Parece que su sensibilidad a la reducción de tal factor, se ve aumentada por depresiones concomitantes de los otros factores que también son deprimidos por las drogas protrombinopénicas (10, 73, 74, 75, 76). Por otra parte, el propio Owren señala que para revelar una enfermedad de Christmas, debería usarse un método que únicamente reflejase cambios en el sistema intrínseco, lo que no ocurre con el "trombotest" que, de acuerdo con su autor, es sensible a ambos sistemas (75); y, por otro lado que, su test no es sensible al factor IX cuando la concentración del mismo está por encima de 10% (10,75), lo que podría explicar los hallazgos normales de Quick (69) y Nour-Eldin (71) en enfermos de este tipo. A pesar de todo, Owren (75) y Lempert y Poller (76), han reportado valores de "trombotest" anormalmente bajos en pacientes con enfermedad de Christmas.

En cuanto a la utilidad del método en advertir el peligro de sangrado existen los reportes de Lempert y Poller (77), Vigran (63) y Tsevrenis y col. (48), quienes piensan que el "trombotest" aventaja al método de Quick en este aspecto. De hecho, los pacientes que sangraron durante el trabajo de Lempert se encontraban dentro de los niveles terapéuticos para el método de Quick y por debajo de 10% para el "trombotest".

De los casos que sangraron durante nuestro estudio, el primero presentaba un tiempo de protrombina de 27" (15.2%) y un "trombotest" de 3%; es decir, se encontraba dentro de los niveles terapéuticos para el primero (18" a 30") empleando Simplastin, con un control normal de 12", en tanto que el segundo se encontraba muy por debajo de los niveles terapéuticos respectivos.

En el otro caso, los resultados de los dos tests se encontraban por debajo de los niveles terapéuticos. Debemos recalcar que casi en todas las determinaciones con el tiempo de protrombina de un estado en niveles terapéuticos, los valores de "trombotest" se encontraban por debajo de 10%, muchas veces de 5%, sin presentación de hemorragias. Creemos necesario insistir en que no hemos empleado la técnica original de Quick, la cual, tal vez podría haber evitado el sangrado en el

primer caso, ya que se le controlaba con el tiempo de protrombina y no con el "trombotest". El segundo caso, no nos es de mucha utilidad por cuanto los resultados de los dos tests se encontraban en nivel peligroso.

La ventaja del "trombotest", con respecto al test de Quick original, en advertir más fielmente el peligro de sangrado, parece guardar relación con la sensibilidad del mismo a la reducción de los factores IX y X.

Aunque Denson (44) no cree que con los anticoagulantes indirectos sea reducido el factor IX a niveles hemorrágicos, con niveles altos de los otros factores, la realidad parece ser otra, ya que se ha encontrado que existe correlación entre el tiempo de sangría secundario (78) y la reducción del factor IX por debajo de 8 a 10% (45, 46, 58, 79). Varios autores han encontrado deficiencia de factor IX en pacientes con terapia anticoagulante (80, 81, 82).

En el período inicial del tratamiento con grandes dosis de cumarinas, los factores VII y IX se reducen en primer lugar, sobre todo, el primero que generalmente es el más disminuido (44, 45, 46, 79); en cambio, en la terapia de larga duración, el factor IX se encuentra regularmente sobre el nivel crítico de 8% a 10%. Sin embargo, esto no es una regla y la combinación de factores resulta en realidad determinada por el factor personal. Así, en una investigación muy interesante, Bachman y col. (citados por Owren: 46), encontraron un buen porcentaje de hemorragias en anticoagulados, con decrecimiento marcado de factor IX, mientras que los niveles de factor X se hallaban por encima de 10% y los valores del test de Quick, dentro de los niveles terapéuticos; tal sangrado, pues, podría deberse a severa reducción de factor IX. Sin embargo, aparte del período inicial de la terapia, es necesario convenir que este factor es generalmente el menos reducido, manteniéndose por sobre 10%, y que algunas complicaciones hemorrágicas podrían obedecer a excepcional reducción de ese factor (45, 46).

En cuanto al factor X y su relación con el sangrado, parece que su reducción es de gran importancia en los episodios hemorrágicos (44). En la terapia anticoagulante de larga duración, tal factor es muchas veces el más reducido, observándose que el tiempo de sangría primaria aumenta rápidamente cuando el nivel de ese factor desciende por debajo de 5% (45, 46). Al respecto, Tsevrenis y col. (48) consideran al factor X como el indicador principal de la inminencia de sangrado, por su evolución paralela con el test de tolerancia a la heparina y señalan que luego de un tratamiento prolongado, el "trombotest" sigue las fluctuaciones de ese factor. Opinión semejante es la de Owren, quien por de-

bajo de 5% de factor X, ha observado casos de sangrado y reporta que en anticoagulados con factor X inferior a 5%-6% los valores del "trombotest" reflejaban tal estado con menos de 10% (45).

El test de Quick, por ser insensible a la depresión de factor IX, fallaría en advertir la sobredosis, si fuera este factor el más reducido. En cuanto al factor X, si se emplease el test original, con cerebro de conejo o con cerebro humano, habría un índice de sobredosis bastante aceptable, aunque Owren señala que pueden errar en reflejar la reducción de este factor si, concomitantemente, el factor VII está en un nivel relativamente alto (45).

En el presente estudio, al haber utilizado Simplastin que, además de ser insensible al factor IX es muy poco sensible a la reducción de factor X (45, 56), podemos esperar que los valores del tiempo de protrombina permanecerían dentro de los niveles terapéuticos, pese a disminuciones severas de dicho factor, sin advertir por consiguiente, el peligro de sangrado.

Teniendo en cuenta nuestros resultados y los de otros autores, observamos que al mantener a los pacientes dentro de los niveles terapéuticos para el "trombotest" (10% a 25%), los resultados para el tiempo de protrombina muchas veces se encuentran por encima de los niveles correspondientes, lo cual, en otras palabras, significaría que, tanto las dosis de inducción como las de mantenimiento serían menores que las hasta ahora empleadas en esta forma de terapia con la consiguiente disminución del peligro de sangrado; el problema sería entonces, determinar si el tratamiento de la enfermedad trombotica sería efectivo con esas dosis (58, 65, 66, 72).

Al respecto, en el IV Congreso Mundial de Cardiología celebrado en México en Octubre del presente año, Sise y col. (83), presentaron un trabajo realizado en 117 pacientes divididos en tres grupos mantenidos durante 15 meses en tiempos de protrombina de 10% a 25%, 30% a 60% y por encima de 60% respectivamente, encontrando que, prácticamente, no había diferencias entre los dos primeros grupos en cuanto a complicaciones tromboembólicas, mortalidad y frecuencia de hemorragias, en tanto que, entre cada uno de éstos y el tercer grupo, las diferencias eran de gran significación. Estos hallazgos les hacen pensar que la depresión de los factores de la coagulación no debe llevarse a extremos tan drásticos como los exigidos al presente. Tendríamos así que, manteniendo a los enfermos con el trombotest en niveles terapéuticos (valores de tiempo de protrombina por encima de los niveles hasta ahora aceptados), habría mayor libertad en el control, las determinaciones po-

drían ser menos frecuentes y se tendría un margen más amplio de seguridad contra el sangrado.

En cuanto al método mismo, el "trombotest" tiene la ventaja de requerir un solo reactivo, el cual es estable y fácil de diluir; no requiere el empleo de centrífuga si se utiliza el método venoso o capilar y evita el empleo de jeringas y agujas hipodérmicas en el segundo caso. Respecto al método capilar, por los resultados obtenidos, observamos que la correlación con el método venoso es buena en niveles inferiores a 50%, por las características mismas de la curva, en tanto que en niveles normales, puede haber discrepancias por la misma razón. Esto, naturalmente, representa una gran ventaja en el control de los pacientes anticoagulados para quienes ha sido creado el método, ya que permite hacerlo en el consultorio particular o a la cabecera del enfermo, con la consiguiente descentralización (10, 11, 53), siendo necesario únicamente contar con lancetas adecuadas y un baño de 37°C. Al respecto, debemos informar que existen baños de agua portátiles que basándose en el mismo principio de los frascos termo, permiten mantener temperaturas constantes por espacio de alrededor de 1½ horas (N. Jacobsens Elektriske Verksted A/S-Oslo). Otra ventaja del método capilar es que se evita el riesgo de confundir las muestras, que existe en el método venoso. Su desventaja, por supuesto, es que es una técnica más dolorosa para los enfermos, sobre todo si las determinaciones son frecuentes, como ocurre al inicio de la terapia, hasta alcanzar la dosis de mantenimiento. Pero como muchas veces resulta imposible encontrar una buena vena para el método venoso, más aún si se tiene en cuenta que el daño en los tejidos debe ser mínimo para evitar la liberación de tromboplastina tisular, resulta entonces que el método capilar es la única forma de llevar a cabo un buen control, recordando la maniobra utilizada por nosotros, de ligar el antebrazo antes de practicar la puntura, para obtener una buena muestra.

El "trombotest" venoso, además de requerir más instrumental, tiene mayor número de factores de error (volúmenes incorrectos de anticoagulante y sangre, activación de contacto que exige el empleo de tubos de material plástico o vidrio silicizado), es un procedimiento más largo y laborioso, y exige necesariamente ser llevado a cabo en un laboratorio especializado. Sin embargo, si no se cuenta con el baño portátil, resultando imprescindible llevar las muestras al laboratorio, el método venoso es el más indicado, máxime si se tiene en cuenta que se elimina el factor doloroso, tan importante en los pacientes y se evita el peligro de liberación de tromboplastina tisular, posible en el método capilar por presión del dedo o de la oreja.

Resulta indudable el valor del método venoso, cuando se tiene que guardar las muestras de sangre antes de llevar a cabo el "trombotest" para enviarlas por correo desde lugares alejados a laboratorios especializados. Aunque Quick parece no estar de acuerdo (12), las determinaciones repetidas a las 24 horas y aún a las 48 horas, con muestras guardadas en tubos de vidrio siliconizado o de material plástico, para evitar la activación por contacto, muestran variaciones ligeras (8, 10, 11, 62). Nuestros resultados sobre este aspecto son bastante demostrativos, pero su reducido número no nos permite concluir definitivamente. En cuanto a las muestras que coagularon en bloque, no encontramos explicación, ya que su proporción fue pequeña, señalando únicamente que este fenómeno también ha sido observado por Palmer y col. (62) y por Matthews y Walker (8).

Finalmente, en cuanto al costo del reactivo, debemos indicar que aunque es mayor que el del tiempo de protrombina de un estado, más aún si se emplea la técnica original de Quick (1, 2, 84) en que uno mismo puede preparar su tromboplastina, éste se ha reducido con la disminución de los volúmenes de sangre y reactivo a la mitad y aún a la quinta parte de los volúmenes originales (47, 50, 51, 52). Al respecto, uno de los problemas radica en que su preparación está encomendada al laboratorio de investigación de una casa comercial y otro, en que el método aún no está grandemente difundido. Frohn y col. obtuvieron buenos resultados con un reactivo preparado por ellos (57), logrando reducir el costo apreciablemente. Al respecto, Owren señala que, si bien esto es posible, es preferible usar el proporcionado por la firma manufacturera, dada la serie de precauciones y cuidados que se deben tener antes de poder utilizar el reactivo (85). Pensamos que, dada la índole de la terapia anticoagulante, y el peligro de caer en la dificultad de no poder standarizar los resultados como ha ocurrido con el método del tiempo de protrombina de un estado, por el empleo de diversos tipos de tromboplastina, es conveniente el empleo del reactivo en la forma aconsejada por Owren, es decir, listo para su uso. No podemos dejar de tomar en cuenta a Alexander (58), quien clama que el costo no interviene en el mérito científico, y que el método, aparte del ahorro de tiempo que significa, disminuirá el monto de aquel con la competencia, si el método se difunde, exigiendo aumento de producción del reactivo.

CONCLUSIONES

1. El "trombotest" de Owren, método diseñado para el control de la terapia anticoagulante indirecta, es un método simple y rápido. En poco tiempo se adquiere la suficiente destreza, si se tiene el cuidado necesario en seguir exactamente las indicaciones pertinentes.

2. Las curvas de correlación son específicas para cada lote de reactivo.

3. Puede llevarse a cabo con sangre capilar, sangre venosa citratada o plasma citratado, teniendo presente que en los dos últimos casos, deben guardarse las muestras en tubos de material plástico o de vidrio siliconizado, salvo que la determinación sea inmediata.

4. Existe buena correlación entre los métodos capilar y venoso, cuando los niveles de actividad de "trombotest" son inferiores a 50%, como ocurre en pacientes sometidos a terapia anticoagulante indirecta, enfermos hepáticos, o estados producidos por deficiencia de vitamina K.

5. Entre los valores de 50% a 100%, la sensibilidad del "trombotest" es muy pobre, y la reproducibilidad puede no lograrse. Por el contrario, en los niveles de 10% a 50% (que comprenden los niveles terapéuticos), su sensibilidad es muy grande, y se obtienen resultados reproducibles.

6. En enfermos con insuficiencia hepática, con tiempos de protrombina disminuidos, los resultados del "trombotest" son semejantes a los obtenidos en pacientes que recibieron anticoagulantes indirectos.

7. Nuestro estudio en pacientes sometidos a terapia cumarínica, no revela buena correlación entre el "trombotest" y el tiempo de protrombina empleando Simplastin, siendo los resultados del primero, marcada y consistentemente más bajos que los del segundo, y sugiriendo, de acuerdo a estos resultados, que las dosis de inducción y mantenimiento deben ser menores que las aceptadas para los niveles terapéuticos del segundo. La correlación en el cambio direccional, fue buena entre los dos métodos, y las fluctuaciones del "trombotest" fueron más estrechas.

8. La utilidad del método en la prevención de hemorragias requiere mayor observación clínica.

9. El método capilar permite la descentralización del control, el cual puede ser hecho por el médico de cabecera o en el consultorio particular.

10. Parece dar resultados similares con muestras guardadas 24 y 48 horas, lo que posibilitaría los envíos de muestras por correo, ampliándose así la descentralización del control.

11. Habiendo tropezado con la dificultad del desconocimiento de la fecha de elaboración del reactivo, pensamos que es conveniente la consignación de la fecha de expiración en el envase del mismo.

12. Desde que no hemos utilizado en este estudio el método original de Quick, y no hemos determinado el factor IX (al que según Owren, es sensible el "trombotest"), además de que la observación ha sido corta y en pocos pacientes, no nos es posible inclinarnos definitivamente a favor de uno u otro método en el control de la terapia anticoagulante.

13. Al ahorrar tiempo, no ser imprescindible su realización en el laboratorio (menos equipo), y ser posible la utilización del método capilar, pensamos que ofrece ventaja sobre el método de Quick desde estos puntos de vista.

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

1. Quick, A. J.: The prothrombin in hemophilia and in obstructive jaundice, *J. Biol. Chem.*, 109 : lxxiii, 1935.
2. Quick, A. J., Stanley-Brown, M., and Bancroft, F. W.: A study of the coagulation defect in hemophilia and in obstructive jaundice, *Amer. J. Med. Sci.*, 190 : 501, 1935.
3. Campbell, H. A., Smith, W. K., Roberts, W.L., and Link, K. P.: Studies on the hemorrhagic sweet clover disease - II The bioassay of hemorrhagic concentrates by following the prothrombin level in the plasma of rabbit blood, *J. Biol. Chem.*, 138 : 1, 1941.
4. Campbell, H. A., and Link, K. P.: Studies on hemorrhagic sweet clover disease: Isolation and crystallization of hemorrhagic agent, *J. Biol. Chem.*, 138 : 21, 1941.
5. Meyer, O. O., Bingham, J. B., and Axelrod, V. H.: Studies on the hemorrhagic agent, 3,3'-methylene-bis (4-hydroxycoumarin). II. The method of administration and dosage, *Am. J. M. Sc.*, 204 : 11, 1942.
6. Butt, H. R., Allen, E. V., and Bollman, J. L.: A preparation from spoiled sweet clover (3,3'-methylene-bis) (4-hydroxycoumarin) which prolongs coagulation and prothrombin time of the blood: Preliminary report of experimental and clinical studies, *Proc. Staff Meet., Mayo Clin.*, 16 : 388, 1941.
7. Owren, P. A., and Aas, K.: The control of dicumarol therapy and the quantitative determination of prothrombin and proconvertin, *Scand. J. Clin. Lab. Investg.*, 3 : 201, 1951.
8. Matthews, J. M., and Walker, W.: Control of anticoagulant therapy; a trial of thrombotest, *Lancet* 2 : 1159, 1959.
9. Owren, P. A.: Ny metode til kontroll av antikoagulasjonsbehandling, *Tidsskrift for den Norske Lægeforening*, 7 : 375, 1959.
10. Owren, P. A.: Thrombotest: A new method for controlling anticoagulant therapy, *Lancet*, II : 754, 1959.
11. Owren, P. A.: The laboratory control of anticoagulant therapy in large groups of patients, *Farmkoterapi*, XV : 92, 1959.
12. Quick, A. J.: Clinical interpretation of the one-stage prothrombin time, *Circulation*, 24 : 1422, 1961.

13. Douglas, A. S.: A present concept of blood coagulation, *Intern. Rec. of Med.*, 173 : 735, 1960.
14. Waaler, B. A.: A current concept of blood coagulation, *Farmakoterapi*, XV : 85, 1959.
15. International Committee for Nomenclature: The nomenclature of blood clotting factors, *J.A.M.A.*, 180 : 733, 1962.
16. Wright, I. S.: The nomenclature of blood clotting factors, *Canad. Med. Ass. J.*, 86 : 373, 1962.
17. Alexander, B. : Coagulation, hemorrhage, and thrombosis, *New Eng. J. Med.* 252, 432, 1955.
18. Krall, G., and Borden, C. W.: The clotting mechanism and the effect of anti-coagulants, *Quart. Bull. Northw. Univ. Med. Sch.*, 35 : 97, 1961.
19. Biggs, R., and Macfarlane, R. C. : Human blood coagulation disorders, 2nd. edition, Charles C. Thomas, 1957.
20. Alexander, B.: Clotting factor VII (proconvertin). Sinonimy, properties, clinical and clinicolaboratory aspects, *New Eng. J. Med.*, 260 : 1218, 1959.
21. De Vries, A., Alexander B., and Goldstein, R.: A factor in serum which accelerates the conversion of prothrombin to thrombin. I. Its determination and some physiologic and biochemical properties, *Blood*, 4 : 247, 1949.
22. Stefanini, M. : Mechanism of blood coagulation in normal and pathogenic conditions, *Am. J. Med.*, 14 : 64, 1953.
23. Owren, P. A.: The coagulation of blood. Investigations on a new clotting factor. Thesis. *Acta med. Scand.*, 128 (suppl. 194) : 327 p., 1947.
24. Duckert, F., Fluckiger, P., Matter, M., and Koller, F.: Clotting factor X. Physiologic and physico-chemical properties, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 90 : 171, 1955.
25. Heugie, C., Barrco, E. M., and Graham, J. B.: Stuart clotting defect. I. Segregation of an hereditary hemorrhagic state from the heterogenous group heretofore called "stable factor" (S.P.C.A., proconvertin, factor VII) deficiencies, *J. Clin. Invest.*, 36 : 485, 1957.
26. Alexander, B., and Wessler, S.: A guide to anticoagulant therapy, *Circulation*, 24 : 123, 1961.
27. Hjort, P. F.: Intermediate reactions in the coagulation of blood with tissue thromboplastin. Convertin, accelerin, prothrombinase. Thesis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 9 (suppl. 27) : 183 p., 1957.
28. Hjort, P. F., Rapaport, S. I., and Owren, P. A.: Evidence that platelet accelerator (platelet factor I) is adsorbed plasma proaccelerin, *Blood*, 10 : 1139, 1955.
29. Marcus, A. J., and Spaet, T. H.: Platelet phosphatides: Their separation, identification and clotting activity, *J. Clin. Invest.*, 37 : 1836, 1948.
30. Ratnoff, O. D., and Colopy, J. E.: Familial hemorrhage trait associate with deficiency of clct promoting fraction of plasma, *J. Clin. Invest.*, 34 : 602, 1955.
31. Alexander B., and Landwehr, G.: Studies of hemophilia. I. The control of hemophilia by repeated infusion of normal human plasma, *J. Clin. Invest.*, 27 : 98, 1948.
32. Graham, J. B., Pinick, and Brinkhous, M.: Utilization of the antihemophilic factor during clotting of canine blood, *Am. J. Physiol.*, 164 : 710, 1957.
33. Pavlovsky, A.: Contribution to the pathogenesis of haemophilia, *Blood*, 2 : 185, 1947.

34. Aggeler, P. M., White, S. G., Glendening, M. B., Page, E. W., Leake, T. B., and Balis, G.: Plasma thromboplastin component (P.T.C.) deficiency. A new disease resembling haemophilia. *Prcc. Soc. Biol. & Med.*, 79 : 692, 1952.
35. Aggeler, P. M., White, S. G., and Spaet, T. H.: Deuterohaemophilia: Plasma thromboplastin factor B deficiency, *Blood*, 9 : 246, 1954.
36. Margolis, J.: Initiation of blood coagulation by glass and related surfaces, *J. Physiol.*, 137 : 95, 1957.
37. Goodman, L. S., and Gilman, A.: *The pharmacological basis of therapeutics*, 2nd. edition, New York, Mc. Millan, pp. 1500, 1960.
38. Lewis, J. H., Ferguson, J. H., Spangh, E., Fresh, J. W., and Zucker, M. B.: Acquired hypoprothrombinemia, *Blood*, 12 : 84, 1957.
39. Owen, C. A., and Bollman, J. L.: Prothrombin conversion factor of dicumoral plasma, *Prcc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 67 : 231, 1948.
40. Sise, H. S., Adamis, D., and Kimball, D. M.: Plasma thromboplastin component (P.T.C.) deficiency produced by prolonged administration of prothrombopenic anticoagulants, *Prcc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 89 : 81, 1955
41. Seaman, A. J.: Present status of anticoagulant therapy, *G. P.*, XXII : 135, 1960.
42. Brinkhouse, K. M.: Plasma prothrombin: vitamin K., *Medicine*, 19 : 329, 1940.
43. Collentine, G. E., and Quick, A. J.: The interrelationship of vitamin K and dicoumarin, *Am. J. M. Sc.*, 222 : 7, 1951.
44. Denson, K. W.: Levels of blood coagulation factors during anticoagulant therapy with phenindione, *Brit. Med. J.*, 1 : 1205, 1961.
45. Owren, P. A.: Critical study of Tests for control of anticoagulant Therapy, *Thromb. Diath. Hemorrh.*, 7 : 284, 1962, Suppl. N° 1.
46. Owren, P. A.: Phenindione and blood coagulation factors, *Brit. Med. J.* 1 : 1769, 1961.
47. Owren, P. A.: Thrombotest metoden modifikasjon med mindre reagensmengde, *Tidsskrift for Den Norske Laegeforening*, 80 : 343, 1960
48. Tsevrenis, H., Mandalaki, T., Symvoulidis, A., et Joannidis, J.: Etude comparative du thrombotest, du temps de Quick, du test de tolerance a l'heparine et du facteur Stuart, *Acta Med. Scand.*, 172 : 331, 1962
49. Owren, P. A.: Comunicacion personal, Sept. 19, 1962.
50. Owren, P. A.: Control of anticoagulant therapy, *Lancet*, 1 : 600, 1960
51. With, T. K.: Control of anticoagulant therapy, *Lancet*, 1 : 550, 1960.
52. With, T. K.: Laboratoriekontrol of anticoagulants and handling, *Nordisk Medicin*, 15 : 548, 1960.
53. Seaman, A. J.: Owren's capillary blood thrombotest for office or bedside control of anticoagulant therapy: an evaluation, *Ann. Int. Med.*, 53 : 914, 1960.
54. Waaler, B. A.: Contact activation in the intrinsic blood clotting system. Studies on a plasma product formed on contact with glass and similar surfaces. Thesis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 11 (suppl. 37) : 133 p., 1959.
55. Gardin, R.: Certain aspects of the thrombotest method for the control of an anticoagulant therapy, *Scand J. Clin. Lab. Invest.*, 12 : 329, 1960.
56. Verstraete, M., Clark, P. A., and Wright, I. S. : Use of different tissue thromboplastins in the control of anticoagulant therapy, *Circulation*, 16 : 213, 1957.
57. Frohn, H., Haanen, C., and Morselt, G. : Thrombotest. *Lancet* 11 : 553, 1960.
58. Alexander, B.: Laboratory tests in control of anticoagulant therapy, *J.A.M.A.*, 180 : 776, 1962.

59. Moore, C. B., and Beeler, M. F.: Thrombotest versus onestage prothrombin time determination, *New Eng. J. Med.*, 264 : 681, 1961.
60. Fichera, C.: Control of anticoagulant therapy. A comparison of the thrombotest, the prothrombin - proconvertin method, and the prothrombin time, *Acta Med. Scand.*, 172 : 363, 1962.
61. Roberts, L. N., Mason, G. P.: A clinical assessment of anticoagulant control, *Canad. Med. Ass. J.*, 85 : 831, 1961.
62. Palmer, H., Sammerfelt, S. Ch., and Berg, R.: Some practical experiences with thrombotest, *Farmakoterapi*, XV : 103, 1959.
63. Vigran, I. M.: A new test for anticoagulant therapy, *J.A.M.A.*, 176 : 188, 1961.
64. Currens, H. C., and Grant, M.: Blood thrombotest versus prothrombin test, *J.A.M.A.*, 178 : 760, 1961.
65. Tat, R. J., and Lewis, A. E.: Levels of equivalence of various measurements of coumarin activity, *J.A.M.A.*, 180 : 744, 1962.
66. Rodman, T. and Pastor, B. H.: Control of anticoagulant therapy with the thrombotest. Comparison with the Quick Test. *J.A.M.A.*, 180 : 739, 1962.
67. Quick, A. J.: Hemorrhagic diseases, London, Henry Kimpton, p. 383, 1957.
68. Marchal, G., and Samama, M.: Le thrombotest d'Owren. *Le Pharmacien Biologiste*, 19 : 311, 1960.
69. Quick, A. J., and Hussey, C. V.: Comparison of the thrombotest with the one-stage prothrombin time, *New Eng. J. Med.*, 265 : 1286, 1961.
70. Nour-Eldin, F.: Christmas factor in thrombotest, *Lancet* 2 : 913, 1959.
71. Nour-Eldin, F.: Christmas factor in thrombotest, *Lancet* 2 : 1091, 1959.
72. Miale, J. B.: Laboratory control of anticoagulant therapy, *J.A.M.A.*; 180 : 736, 1962.
73. Ingram, G.I.C.: Anticoagulant therapy, *Pharmacological Reviews*, 13 : 279, 1961.
74. Owren, P. A.: Christmas factor in thrombotest, *Lancet* 2 : 103, 1959.
75. Owren, P. A.: Christmas factor in thrombotest, *Lancet* 1 : 436, 1959.
76. Lempert, H., and Poller, L.: Christmas factor in thrombotest. *Lancet* 1 : 63, 1960.
77. Lempert, H., and Poller, L.: Evaluation of thrombotest in the control of anticoagulant therapy *Lancet*, 2 : 1115, 1960.
78. Borchgrevink, C. F., and Waaler, B. A.: The secondary bleeding time; a new method for the differentiation of hemorrhagic diseases, *Acta Med. Scand.*, 162 : 361, 1958.
79. Hunter, R. B., and Walker, W.: Control of anticoagulant therapy in myocardial infarction, *Brit. Med. J.*, 2 : 197, 1954.
80. Naeye, R. L.: Plasma thromboplastin component: Influence of coumarin compounds and vitamin K on its activity in serum, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 91 : 101, 1956.
81. Greig, H. B. W.: Christmas factor (factor IX) deficiency produced by concurrent administration of heparin with coumarin drugs, *Lancet* 2 : 25, 1959.
82. Davies, N. E., Wilmer, G., and Brewer, S.: The effects of the coumarins on the clotting mechanism. *J.A.M.A. Georgia* 50 : 234, 1961.
83. Sise, H. S., Moschos, Ch. B., Becker, R., and Langer, R.: Estudio del nivel efectivo de anticoagulación. Resúmenes del IV Congreso Mundial de Cardiología, p.p. 350 - 351, Oct. 1962.
84. Quick, A. J.: Nature of bleeding in jaundice, *J.A.M.A.* 110 : 1658, 1938.
85. Owren, P. A.: Thrombotest, *Lancet* 2 : 931, 1960.