

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

"VALORES DE FIBRINOGENO EN RECIEN NACIDOS"

**Estudio prospectivo en 500 Recién Nacidos,
Departamento de Pediatría, Hospital Roosevelt,
mayo-julio de 1985.**

MARIA ENRIQUETA SCHAART RODAS

CONTENIDO

	<i>Página</i>
1. INTRODUCCION	1
2. DEFINICION Y ANALISIS	3
3. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	5
4. REVISION BIBLIOGRAFICA	9
5. MATERIAL Y METODOS	25
6. PRESENTACION DE RESULTADOS	29
7. ANALISIS Y DISCUSION	35
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	39
9. RESUMEN	43
0. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	45
1. ANEXOS	49

INTRODUCCION

El fibrinógeno es la proteína más importante para que se lleve a cabo el proceso de coagulación de la sangre (8). Si existe alguna deficiencia en su concentración sérica pueden presentarse procesos hemorrágicos que en algún momento pongan en peligro la vida.

En la actualidad se ha descrito claramente la concentración sérica de fibrinógeno en adultos y niños mayores, sin embargo, no hay estudios acerca de la concentración de fibrinógeno para recién nacidos de nuestro medio.

Esto nos motivó a realizar la presente investigación en la sección de Recién Nacidos del Hospital Roosevelt tomando 500 neonatos de 37 a 40 semanas de edad gestacional y establecer en ellos su valor promedio y rango de oscilación de fibrinógeno, según edad gestacional, así como utilizar en el laboratorio clínico la técnica del método turbidimétrico de Parfentjev modificado en recién nacidos, método cuantitativo que precipita al fibrinógeno y deja las demás proteínas en solución. (16).

A los datos obtenidos se les efectuó pruebas de significancia estadística las cuales demostraron que los valores no presentaron curvas de distribución normal y que sí existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores promedios encontrados para cada edad gestacional. En base a esto, no se pudo dar el promedio como representativo siendo el valor de la mediana y los percentiles 25 y 75 los que representan a cada edad gestacional.

Esta investigación se llevó a cabo durante el período comprendido del 15 de mayo al 15 de julio de 1985.

DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

Muchos signos en el período neonatal, solos o en unión con manifestaciones clínicas de anomalías en otros sistemas pueden sugerir un problema de tipo hematológico. (2,7). La palidez, ictericia, presencia de petequias, sangrado del cordón umbilical, sangrado gastrointestinal o de cualquier otro sitio de punción, hepatoesplenomegalia, taquicardia, taquipnea, apatía o anorexia, pueden dar al clínico la sospecha de una enfermedad de tipo hemorrágico. (4).

En la actualidad en la sección de Recién Nacidos y en la unidad de Hematología del Hospital Roosevelt se desconocen los valores normales de fibrinógeno sérico de los neonatos, así como en el Laboratorio Clínico no se lleva a cabo la técnica de laboratorio para cuantificarle por carecer del dato anterior. También carecemos de información acerca de fibrinógeno plasmático en Recién Nacidos guatemaltecos contando solamente con valores que la literatura reporta los cuales muchas veces han sido obtenidos mediante la utilización de otras técnicas de laboratorio.

En el presente estudio de tesis se pretende establecer el valor promedio y rango de oscilación de fibrinógeno según edad gestacional de 500 neonatos tomados al momento de nacer de la población que asiste al Hospital Roosevelt para atención del parto, durante el período comprendido entre el 15 de mayo y el 15 de julio de 1985, productos de parto eutócico simple, entre 37 y 40 semanas de edad gestacional, mayores de 2,500 gramos de peso, sin antecedentes maternos de enfermedad hemorrágica ni otro patológico durante el prenatal ni de ingesta de medicamentos anticoagulantes. Así mismo que no presentaran ningún tipo de patología asociada.

Las muestras sanguíneas obtenidas fueron procesadas en el Laboratorio Clínico utilizando la técnica del método de Parfentjev modificado para la cuantificación del fibrinógeno expresada en mas por 100

JUSTIFICACION

Actualmente para el Departamento de Pediatría y la unidad de Hematología del Hospital Roosevelt, no se han establecido los valores normales de fibrinógeno en recién nacidos, encontrándose además que no contamos con estudios donde se establezcan estos valores en niños guatemaltecos.

La importancia de conocer estos valores en una muestra de recién nacidos del Hospital Roosevelt estriba en que serán la base para compararlos con valores encontrados en niños con problemas de tipo hemorrágico, séptico o de CID (coagulación intravascular diseminada), en los cuales esta proteína se encuentra disminuida (2,7,9).

Por otro lado, la realización de este estudio permitirá establecer adecuadamente la técnica del método de Parfentjev modificado para el Laboratorio Clínico del Hospital Roosevelt.

OBJETIVOS

Establecer el valor promedio normal de fibrinógeno para una muestra de recién nacidos normales del Hospital Roosevelt, así como el rango de fluctuación de los mismos, según edad gestacional.

Proporcionar al laboratorio clínico del Hospital Roosevelt la técnica del Método de Parfentjev modificado, como un método cuantitativo para la determinación de fibrinógeno en recién nacidos.

REVISION BIBLIOGRAFICA

HEMOSTASIA

El término hemostasia significa prevención de la pérdida de sangre. (8). El mecanismo hemostático per se es complejo y ha sido plenamente delineado primariamente en niños de mayor edad y en adultos. Envuelve tanto reacciones locales de las paredes de los vasos sanguíneos, las múltiples actividades de las plaquetas y la interacción de factores de la coagulación específicos que circulan en la sangre. (13).

— **Componente vascular:** El endotelio vascular es la primera barrera contra la hemorragia. Al ser seccionadas las paredes de vasos pequeños, ocurre una vasoconstricción activa y aumenta la presión tisular local con lo cual se controlan las áreas de sangrado en minutos, aún sin ninguna movilización del proceso de coagulación.

— **Reacción plaquetaria:** Al romperse el endotelio vascular, resulta exposición de la membrana basal y del colágeno subendotelial en el lumen del vaso. Las plaquetas circulantes se adhieren al colágeno expuesto desarrollando subsecuentemente edema, degranulación y liberación de Difosfato de Adenosina, aminas vasoactivas, fosfolípidos y otras sustancias trombogénicas. El difosfato de Adenosina (ADP) media la agregación plaquetaria en un coágulo oclusivo, las catecolaminas mantienen la contracción vascular y los fosfolípidos plaquetarios (especialmente PF3) catalizan dos pasos en la secuencia de la coagulación. (1).

— **Coagulación:** En 1905-06, P. Morawitz publicó su teoría de la coagulación sanguínea en la cual dividía la coagulación en dos fases. (10). Más tarde, Mcfarlane en 1965, se basó en la activación de proteínas inactivas que eran modificadas para transformarse en enzimas proteolíticas activas. (3). En la actualidad, el clásico esquema de coa

gulación se ha proyectado en tres fases: en la fase I, una substancia hipotética llamada Tromboplastina es formada por la interacción del plasma, plaquetas y el líquido tisular; en la fase II, la protrombina es convertida a trombina por la tromboplastina y el calcio; y en la fase III, la trombina convierte el fibrinógeno soluble en el coágulo visible de fibrina. (4, 8, 9, 13, 14, 15, 19). Sin embargo, éste simple esquema que envuelve solamente 6 substancias, ha sido expandido en tal forma que ahora se han definido una docena de factores, reteniendo que el concepto de la reacción básica de 3 fases todavía tiene mérito considerable. (14). (Cuadro No. 1).

En la fase I, en adición a un aumentado número de factores, se han reconocido dos sistemas: el sistema intrínseco y el extrínseco.

El sistema intrínseco desempeña el papel primario en la prevención de la hemorragia. Se inicia cuando se forma en la pared de un vaso un agregado de plaquetas, el cual interactúa con el colágeno o con microfibrillas que se encuentran debajo del endotelio dañado o en la región de la herida. Envuelve en sí la conversión enzimática sucesiva de las formas inactivas de los factores XII, XI y IX. El factor IX activado interactúa con el factor VIII, PF3 y calcio para activar al factor X. El factor X activado actúa con el factor V en la generación de un activador plasmático llamado protrombinasa que convierte la protrombina en trombina.

El sistema extrínseco depende de factores tisulares extraños en la sangre. (19). Envuelve la conversión del factor VII inactivado a su estado activo por la tromboplastina tisular derivada al ocurrir el daño. Este factor activado directamente activa al factor X. (11, 14, 15).

En la fase II, se comprende la división enzimática de la protrombina inactiva en pequeñas moléculas, una de las cuales es la trombina activada. Esta trombina activada tiene varias funciones, entre ellas:

1. Desdobla los fibrinopéptidos A y B de los extremos N terminal de las cadenas A alfa y B beta de la molécula de fibrinógeno para formar los monómeros de fibrina.
2. Activa al factor XIII a XIII activado, que favorece las uniones transversales entre los polímeros de fibrina y
3. Favorece la agregación plaquetaria por un mecanismo independiente del sistema de prostaglandinas. (11). Este paso requiere al factor II como sustrato así como también al factor X, factor V y calcio.

Finalmente, en la fase III, la trombina desdobla el fibrinógeno en 4 pequeños péptidos los cuales espontáneamente se polimerizan ambos lado a lado para formar la fibrina. El factor XIII activado facilita la unión lateral por un péptido específico que sirve de eslabón entre los péptidos de fibrina y forman un coágulo tridimensional estable. (Fig. 1).

El mecanismo de coagulación también interactúa con otros sistemas, como el de la calicreína y sistemas fibrinolíticos.

La calicreína formada favorece un sistema de retroalimentación que activa al factor XII a XII activado. Este último también puede activar el sistema del complemento provocando el clivaje de los componentes: C1, C2, C4 y C3'. La calicreína también provoca la activación del kininógeno para formar el péptido vasoactivo bradicinina que es broncoconstrictor e induce vasodilatación y permeabilidad vascular. (11).

Los sistemas fibrinolíticos previenen el desarrollo de coagulación intravascular inapropiada y el consumo excesivo de los factores de la coagulación. Entre éstos, los más importantes son los anticoagulantes de la sangre que extraen trombina de la misma. Los dos más poderosos

son los hilos de fibrina formados durante el proceso y una globulina alfa denominada antitrombina III. Las proteínas plasmáticas contienen una euglobina denominada plasminógeno o profibrinolisisina que, una vez activada, se transforma en la plasmina o fibrinolisisina. La plasmina digiere los anillos de fibrina y substancias como el fibrinógeno, factor V, Factor VIII, protrombina y factor XII. (8).

TEST PARA EVALUAR LOS MECANISMOS HEMOSTATICOS:

Los test de laboratorio son de considerable valor en el diagnóstico de problemas hemorrágicos, pero la importancia de la historia clínica, incluyendo la historia familiar y el examen físico no deben ser descartados. (4, 13, 19).

El recuento de plaquetas, el test del torniquete y el tiempo de sangrado son los más usados para asegurar la integridad de las paredes de pequeños vasos. El tiempo de sangrado de IVY evalúa las fases vascular y plaquetaria de la hemostasia. Siempre es esencial un recuento plaquetario en la evaluación de todo paciente en quien se sospeche un desorden hemostático. (14).

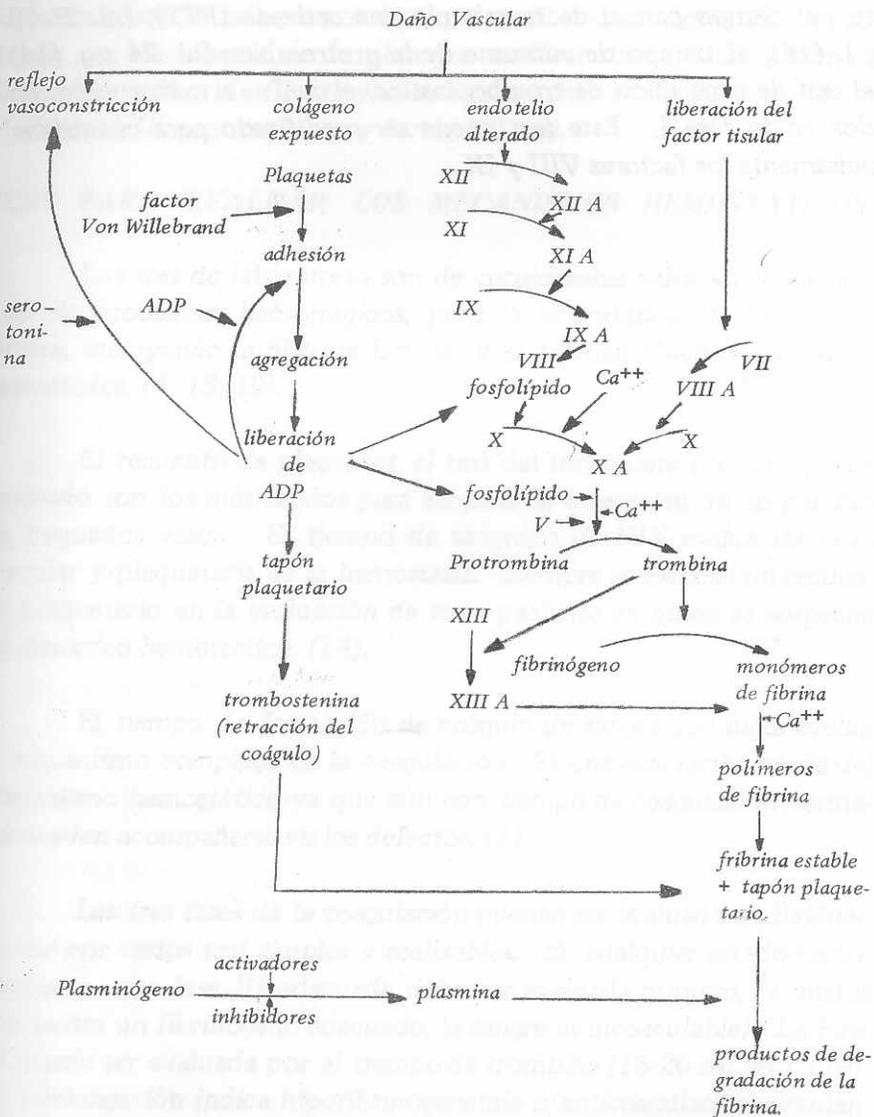
El tiempo de formación de coágulo de sangre completa evalúa el mecanismo completo de la coagulación. Es una evaluación cruda del mecanismo hemostático ya que aún con tiempo de coagulación normales pueden acompañarse varios defectos. (1).

Las tres fases de la coagulación pueden ser evaluadas individualmente por varios test simples y realizables. En cualquier estado hemorrágico, una fase III adecuada debe ser evaluada primero, (a menos que exista un fibrinógeno adecuado, la sangre es incoagulable). La Fase III puede ser evaluada por el tiempo de trombina (15-20 seg. nl.). (14). Su prolongación indica hipofibrinogenemia o anticoagulación circulante. El fibrinógeno puede ser medido por métodos químicos o inmunológicos. La fase II enteramente es evaluada por el tiempo de pro-

trombina. (nl. 12-15 segl). (14). Finalmente, la fase I, la parte más compleja del mecanismo de coagulación, puede ser evaluada por varios test: el tiempo parcial de tromboplastina activada (PTT), (nl. 25-40 seg.). (14), el tiempo de consumo de la protrombina (nl. 24 seg. (14) y el test de generación de tromboplastina, el cuál es el más sensitivo de todos en la fase I. Este test puede ser modificado para cuantificar precisamente los factores VIII y IX.

MECANISMO HEMOSTATICO

(fig. 1.) (14,15)



CUADRO No. 1

Factores de la coagulación con la nomenclatura reconocida actualmente, (14).

Número Internacionales	Sinónimos
Factor I	Fibrinógeno
" II	Protrombina
" III	Tromboplastina
" IV	Calcio
" V	Factor lábil, proacelerina.
" VI	Factor lábil activado, acelerina. (no muy diferente del factor V).
" VII	Factor estable. Proconvertina.
" VIII	Factor antihemofílico o globulina antihemofílica.
" IX	Factor Christmas, componente tromboplástico del plasma.
" X	Factor Stuart-Prower.
" XI	Antecedente tromboplástico del plasma.
" XII	Factor Hageman.
" XIII	Factor estabilizador de la fibrina.

DESARROLLO DE LA HEMOSTASIA EN EL FETO Y EN EL RECIÉN NACIDO

La hemorragia perinatal casi siempre atemoriza al clínico y muchas veces es fatal para el infante. Una de las razones en la falla de prevenir o controlar la hemorragia neonatal es el conocimiento fragmentado de la hemostasia perinatal normal.

Cualitativamente, la hemostasia en el recién nacido difiere en muchas formas de la hemostasia en el individuo más grande, cuantitativamente estas diferencias no se han estandarizado plenamente y no han sido revisadas completamente. (1).

Hemostasis en el embrión y feto:

— **Componente vascular:** Nada se sabe de la función vascular y plaquetaria en embriones y fetos humanos más que unas pocas observaciones en especímenes obtenidos de abortos terapéuticos. Se ha notado constricción de las venas embriónicas durante la disección tisular y no aparece la formación de coágulos. (1).

— **Reacción plaquetaria:** Se ha dicho que las plaquetas no aparecen en la circulación sanguínea hasta la segunda parte de la gestación, sin embargo, se han observado células tardías en fetos de 10 a 12 semanas de edad gestacional. Se pueden localizar megacariocitos en el tejido hematopoyético del hígado y el bazo por la 10 semana de gestación y por microscopía electrónica se observan gránulos densos similares a los encontrados en plaquetas maduras. Alrededor de la 30 semana de edad gestacional, la actividad megacariocítica en la médula ósea está instituida plenamente y la cuenta plaquetaria se aproxima a valores del adulto. (1).

— **Coagulación:** Se ha descrito que la sangre de embriones y fetos menores de 10 a 11 semanas no coagula. Antes de ésta edad, el tiempo de coagulación de sangre completa es infinito y rápidamente asume niveles comparables o algo más cortos que los valores del adulto. El fibrinógeno es sintetizado por el hígado tan temprano como la 5a. semana de gestación y alcanza niveles substanciales en el plasma alrededor de la 15 semana. La actividad fibrinolítica es detectable por la 10 a 11 semanas de gestación y esta activa a través del final de la gestación. Aunque el tiempo de lisis del coágulo tiende a aumentar durante la vida fetal temprana, la comparación simultánea del tiempo de lisis del coágulo y el tiempo de coagulación de la sangre completa en varias edades gestacionales sugieren que el grado de fibrinólisis es linealmente proporcional al tiempo de coagulación. En otras palabras, la fibrinólisis está activa al mismo tiempo que la sangre empieza a coagular. Sin embargo, la formación definitiva del coágulo no se desarrolla hasta después de la 11 semana cuando ambos factores de coagulación y plaquetas están presentes. La maduración del mecanismo hemostático continúa a través de la gestación y puede o no ser completa al tiempo del nacimiento. (1).

Hemostasis en el recién nacido a término:

Por medio del tromboelastógrafo se ha demostrado que la sangre completa de infantes recién nacidos a término y normales coagula más rápidamente que la sangre adulta, describiéndola por algunos autores como "hipercoagulable". (1, 9). Por otro lado, la reacción plaquetaria es inmadura, muchos factores de la coagulación tienen baja actividad y los coágulos presentan la fuerza tensil y la resistencia a la fibrinólisis aumentadas.

— **Componente vascular:** La permeabilidad vascular y la fragilidad capilar son normales y el tiempo de sangrado es el mismo que en adultos.

— **Reacción plaquetaria:** El recuento de plaquetas es normal. El tiempo de sangrado normal sugiere que la función plaquetaria está gruesamente intacta, pero se han demostrado varias diferencias cualitativas. Se ha descrito disminución de la adhesión de las plaquetas inducida por el ADP, colágeno y trombina. Además las plaquetas del recién nacido aparecen más susceptibles a inhibidores medicamentosos, (ASA, Prometacina). (1). También se ha observado pobre retracción del coágulo y disminución de PF3.

— **Coagulación:** El tiempo de coagulación de sangre completa es normal o acelerado, el tiempo parcial de tromboplastina activada está moderadamente prolongado y logra alcanzar niveles normales de adulto en 2 a 9 meses de vida extrauterina. El tiempo de protrombina está moderadamente prolongado y alcanza nivel normal en 3 a 4 días después del nacimiento. El tiempo de trombina está variablemente prolongado. La actividad combinada de los factores XII, XI y IX es baja así como la determinación individual de los factores XII y XI. La actividad del factor IX está particularmente baja y ambos con disminución de los factores XII y XI probablemente acontecen la prolongación del tiempo parcial de tromboplastina. (1). Los factores dependientes de vitamina K (II, VII, IX, X) también presentan disminución fisiológica lo cual origina prolongación del tiempo de protrombina en una etapa. (1). El factor VIII y el factor V alcanzan valores del adulto antes del final de la gestación, el factor XII en 10 a 14 días después del nacimiento, el factor XI en 1 a 2 meses y los factores dependientes de la vitamina K en 2 a 12 meses. (1).

Al nacimiento la concentración del fibrinógeno es escasamente menor que los niveles del adulto, (1, 2, 13, 14, 17, 18), pero alcanza dichos niveles en los primeros 2 a 4 días de vida. (1, 17). En 1950, Burstein y asociados postularon la existencia de un fibrinógeno fetal especial. Esta observación se basa en que aunque la concentración está normal, el fibrinógeno del recién nacido difiere cualitativamente del fibrinógeno adulto. Coagula más lentamente aún con la adición de

exceso de trombina (tiempo de trombina prolongado) particularmente a un PH alcalino (12). Forma un coágulo de fibrina caracterizado por menor densidad óptica, comprensibilidad disminuida, fuerza tensil aumentada y alta resistencia a la fibrinólisis. Aunque tienen el mismo peso molecular con el del adulto, igual talla, propiedades inmunológicas y composición de aminoácidos, se ha demostrado diferencias en cargas eléctricas por columna cromatográfica, y por inmunoelectroforesis. (1, 12).

En resumen, la hemostasia del recién nacido a término se caracteriza por una función plaquetaria inmadura, con moderada actividad de los factores XII, XI, IX, VII y X y formación retardada de fibrina.

Aparte de estas diferencias, la fragilidad vascular, el tiempo de sangrado y sobre todo la coagulación aparece normal. El tiempo de sangrado de sangre completa es casi siempre corto en comparación de la sangre del adulto.

FIBRINOGENO

El fibrinógeno es el precursor soluble de la proteína formadora del coágulo, la fibrina. Esta sustancia ha sido designada como el factor I por el Comité Internacional para la Nomenclatura de los factores de la Coagulación. (3, 10).

El fibrinógeno es una proteína del plasma con un peso molecular aproximado de 340,000 y una vida media de 2 a 3 días. (3). Se ha establecido por métodos inmunológicos, estudios inmunofluorescentes y por incorporación de aminoácidos radiactivos en hepatocitos aislados que la célula del parénquima hepático es el sitio principal de síntesis, encontrándose que las células del Sistema retículo endotelial únicamente son de utilidad para la remoción de los productos de degradación del mismo. (12). Asimismo también se ha aislado la síntesis de fibrinógeno en los megacariocitos; éste fibrinógeno constituye

el 15o/o del total de la proteína plaquetaria. Sin embargo, el fibrinógeno plaquetario no es completamente coagulado por la trombina y su contenido en carbohidratos, coeficiente de sedimento y viscosidad intrínseca son totalmente diferentes del fibrinógeno plasmático. Estas diferencias podrían explicar la degradación parcial del fibrinógeno plaquetario. (13).

El fibrinógeno consiste en una molécula dimérica en la cual cada uno de los dímeros contiene 3 cadenas polipeptídicas individuales. Se les denomina cadenas A alfa, B beta y Gamma y están unidas por puentes disulfuro en varios sitios. Algunas uniones próximas a los grupos N terminal son estables y varias otras son inestables. (3). Mediante la acción de la trombina, los péptidos se desdoblán. En condiciones ordinarias, los monómeros se polimerizan para formar un coágulo de fibrina. La fibrina polimerizada existe en dos formas: en presencia del factor XIII activado, de trombina y de calcio, el polímero de fibrina forma enlaces cruzados y el coágulo resultante no es soluble en urea. En ausencia del factor XIII, fracasa la formación de los enlaces cruzados de los filamentos de fibrina y el coágulo resultante es soluble en urea y en los ácidos débiles. (3, 10).

El fibrinógeno es esencial para la formación del coágulo sanguíneo, puesto que es la sustancia a partir de la cual se forma el coágulo. Se ha estimado que mientras el fibrinógeno esté presente a niveles de 100 mg/100 ml o más, las pruebas de coagulación de una fase no serán muy prolongadas (18).

Se han encontrado tres tipos diferentes de déficit congénito de fibrinógeno:

1. **La Afibrinogenemia congénita:** En la que no puede medirse nada de fibrinógeno, Estudios familiares indican que el trastorno se transmite por un gen recesivo autosómico. Al parecer los sujetos más afectados son homocigotos.

2. **La hipofibrinogenemia congénita:** En que el fibrinógeno está presente pero en cantidades menores a 100 mg/100 ml. Se considera el estado heterocigoto de la afibrinogenemia. Al parecer también se transmite por un gen autosómico recesivo. La hipofibrinogenemia adquirida acontece en trastornos hepáticos o por un aumento del catabolismo. El tratamiento consiste en la reposición con plasma o concentrado de fibrinógeno para detener la hemorragia. La vida media del fibrinógeno transfundido es igual al sintetizado por el organismo.
3. **La disfibrinogenemia congénita:** Es en la que el fibrinógeno está disminuido al determinar su reacción con la trombina, pero existe en cantidad normal cuando se mide inmunológicamente. Son casos hereditarios como rasgo autosómico dominante y se han encontrado tanto heterocigotos como homocigotos. La mayoría se caracterizan por una prolongación del tiempo de protrombina debida a la estructura anormal o a la liberación lenta de los fibrinopéptidos y por ende a una polimerización lenta. (10). El 50o/o de éstos casos no tienen anomalías clínicas pero se ha observado una deficiente curación de heridas, hemostasia anormal y tendencia trombótica. (13, 14, 19).

DIAGNOSTICO DE LA DEFICIENCIA DEL FIBRINOGENO:

Una tendencia a sangrar, clínicamente evidente, puede darse por una deficiencia congénita de un síndrome de coagulación intravascular, de enfermedad hepática o de una fibrinólisis activa. Aunque el fibrinógeno puede estar bastante bajo, en general la hemorragia no amenaza con la vida en la variedad congénita y el diagnóstico se hace sobre la base de una prueba cuantitativa del fibrinógeno. El verdadero nivel del fibrinógeno sólo puede determinarse cuando el paciente no esté sangrando intensamente o no haya recibido transfusiones durante 3 o 4 semanas por lo menos. (3, 4,).

Para explicar la diferencia funcional del fibrinógeno adulto y fetal, se han realizado estudios orientados a demostrar las diferencias estructurales, del contenido de amino ácidos y hexosa, de la composición peptídica y del comportamiento electroforético. En base a este último, se han clasificado en anódicos y catódicos. Los fibrinógenos catódicos carecen de identidad inmunológica con el adulto, los anódicos las comparten. Esto ha presentado cierta relación con el "fibrinógeno fetal" que hace que exista hipercoagulabilidad en la sangre del neonato en relación a la del adulto. (11, 12, 13, 19).

En la actualidad existen una gran variedad de métodos para la determinación cuantitativa del fibrinógeno. Entre ellos están el método del peso del coágulo (clot-weight) (17), el de Fauré-Gilly (18), el método de Stirland (10), el método inmunológico (10), el que mide el tiempo y título de trombina (10), el método de Ratnoff y Menzie (3), el método de Warner Chilcott (3) y el método de Parfentjev modificado (5, 16), entre otros. La mayoría son procedimientos complicados y difíciles. Los basados en la precipitación han probado ser muy seguros y exactos, sin embargo tienen la desventaja de difícil estandarización de los mismos.

El reactivo de Parfentjev (sulfato de amonio y cloruro de sodio en solución) precipita el fibrinógeno y deja todas las demás proteínas en solución. El fibrinógeno es caracterizado como una proteína que precipita por 20o/o de saturación con sulfato de amonio o puede ser coagulada y separada del plasma a una temperatura de 55o C. Además, es la única que es convertida en fibrina por la acción enzimática de la trombina.

La validez del método de Parfentjev modificado depende de la precipitación completa de la proteína pura en una solución específica de sulfato de amonio. Utilizando éste criterio, se ha establecido que a una solución con 12 o/o de sulfato de amonio con 22.8 o/o de saturación asegura una completa precipitación de la proteína.

La turbidez producida por el sulfato de amonio 12o/o es específica para el plasma y deja el suero completamente claro. El uso preferencial de sol al 12o/o en contraste a 10.5o/o con 20o/o de saturación es justificada por la clara separación del fibrinógeno en soluciones extremadamente diluidas (16). El grado de turbidez alcanzado está en relación con la concentración del fibrinógeno. El procedimiento es cuantitativo y la prueba completa se lleva a cabo en menos de 5 minutos. (5, 16).

El material biológico necesario son de 2 a 5 ml de sangre venosa colocada en un tubo con 0.5 ml de oxalato de sodio 0.1 M. Los reactivos necesarios son: cloruro de bario 0.096 N; ácido sulfúrico 0.2 N; reactivo de Parfentjev. Este último se prepara con:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	133.33 gm
Na Cl	10.00 gm

Merthiolate	0.025 gm
-------------	----------

diluidas en	1,000 ml con
agua destilada y ajustada a pH 7.00	con NaOH 10 M.

La técnica consiste en separar el plasma por centrifugación a 2,000 r.p.m. durante 3 minutos. Luego se rotulan los tubos según el número de muestras que se tengan y se les coloca: 1 ml de plasma y 9 ml del reactivo de fibrinógeno. Se mezclan por rotación y se dejan en reposo durante 4 minutos. El espectrofotómetro se calibra a una longitud de onda de 520 mn. con un Blanck de agua destilada, a 100o/o de transmitancia o a 0 de densidad óptica. Si hubiera una muestra muy turbia se hace un blanck con 1 ml de plasma del paciente y 9 ml de solución salina. Luego el resultado (o/o de transmitancia) se busca en la tabla respectiva para conocer la concentración de fibrinógeno. Para realizar la tabla de transmitancia y concentración de fibrinógeno, se utilizan los siguientes reactivos: cloruro de bario 0.096 N, (éste se prepara con 1.66 gm disueltos en 100 cc de agua destilada); y ácido sul-

fúrico 0.2 N (preparado con .50 ml de ácido sulfúrico concentrado y agua suficiente para 100 ml).

Con éstos reactivos se prepara un Stock con:

97 ml de ácido sulfúrico 0.2 N

3 ml de cloruro de bario 0.096 N

Luego se realiza una curva con 4 estandares de la siguiente manera:

Estándar	Stock	Agua destilada	Concentración en mgs o/o
1	1 cc	9 cc	144
2	2 cc	8 cc	227
3	3 cc	7 cc	312
4	4 cc	6 cc	400

Estos estandares leídos en el espectrofotómetro a 520 nm dan una transmitancia de 89o/o; 76o/o; 67o/o; 61o/o respectivamente, valores que son ploteados en papel no logaritmico para la obtención de la curva (ver anexo). (*)

(*) Comunicación personal Dr. Carlos Valdez Kunze, Patólogo Clínico y Anatómopatólogo, Jefe del Laboratorio Clínico del Hospital Roosevelt.

MATERIAL Y METODOS

RECURSOS:

1. Humanos: — Médicos asesores y revisores.
— Recién Nacidos a término.
2. Materiales: — equipo de laboratorio (ultracentrífuga, cubetas, pipetas, espectrofotómetro, gotero).

— compuestos químicos: oxalato de sodio 0.1 M, reactivo de Parfentjev, cloruro de bario 0.096 N, ácido sulfúrico 0.2 N, agua destilada, solución salina.

— frascos para transporte de muestras sanguíneas con oxalato de sodio 0.1 M

— Boletas de recolección de datos (ver anexo 2).

— Instalaciones del Hospital Roosevelt.

— Libros y revistas de diferentes bibliotecas

— Equipo de escritorio.

CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA:

Fueron 500 recién nacidos que presentaron las siguientes características: Producto de Parto Eutócico Simple, entre 37 y 40 semanas de edad gestacional por Dubowitz (calculada por el pediatra que rota por el servicio de Labor y Partos), mayores de 2,500 gramos, que no evidenciaron ningún tipo de patología (dificultad respiratoria, cianosis, etc), que la madre no refiriera antecedentes patológicos en el prenatal

ni de ingesta de medicamentos anticoagulantes y de otro tipo. (ver boleta en anexo 2).

METODOLOGIA:

Antes de iniciar el estudio, se revisó la tabla para fibrinógeno usando los estandares descritos en la revisión bibliográfica. Posteriormente se procesaron 20 muestras para conocer y practicar claramente el desarrollo de la técnica. Luego, a cada recién nacido que llenó los requisitos anteriores, se le extrajeron 2 ml de sangre del cordón umbilical luego de ser cortados y anudados de los extremos fetal y placentario. Las muestras fueron colocadas en frascos que contenían 0.25 ml de oxalato de sodio 0.1 M. En el laboratorio, se hizo la determinación de la concentración de Fibrinógeno, expresada en mgs/100 ml.

La técnica del método de Parfentjev modificado utilizada fué la siguiente:

- a— centrifugación de la muestra a 2,000 r.p.m. por 3 minutos.
- b— rotulación de los tubos con el número de muestras obtenidas diariamente colocando: 4.5 ml de reactivo de Parfentjev y 0.5 ml de plasma.
- c— mezcla de los tubos dejandoles en reposo por 4 minutos exactamente.
- d— calibración del espectofotómetro Coleman 44 a una longitud de onda de 520 usando agua destilada como Blanck, (no se utilizó blanck para cada muestra ya que claramente no eran turbias), a 100o/o de transmitancia.
- e— Búsqueda del resultado obtenido de transmitancia en la tabla para fibrinógeno. (ver anexo 1).

TRATAMIENTO ESTADISTICO:

A los datos obtenidos en el trabajo, se les efectuaron 3 pruebas de normalidad: Shapiro Wilk, Bondad de Ajuste y D'Agostino para cada edad gestacional, el test de D'Agostino para todos los datos. Luego se les aplicó el análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis y finalmente la variación del test de Newmann-Keul como medidas de significación estadística. A cada grupo de edad gestacional se les obtuvo valores de tendencia central y de dispersión: media, mediana, desviación standard y percentiles.

CUADRO 1

RESULTADOS DE FIBRINOGENO OBTENIDOS DE 500 MUESTRAS SANGUINEAS DE RECIEN NACIDOS ENTRE 37 y 40 SEMANAS DE EDAD GESTACIONAL.

(expresadas en mgs por 100 ml.).

R. N. 37 S		R. N. 38 s		R. N. 39 s		R. N. 40 s.	
valor	frec.	valor	frec.	valor.	frec.	valor	frec.
95	3	60	1	75	1	75	3
100	6	75	2	80	1	80	1
110	6	80	1	95	5	95	4
120	2	95	12	100	21	100	18
130	3	100	29	110	20	110	20
140	5	110	20	120	26	120	21
150	2	120	16	130	17	130	17
160	3	130	13	140	13	140	10
170	1	140	9	150	15	150	9
180	3	150	13	160	20	160	9
200	1	160	7	170	5	170	10
235	1	170	5	180	6	180	10
		180	9	190	2	190	1
		190	2	200	7	200	5
		235	2	210	1	225	2
		245	1	225	1	245	2
		265	2	235	1	265	2
		285	2	245	1	285	2
				252	1	300	2
				285	3		
				300	1		
				350	1		
				362	1		
Total:	36		146		170		148

500

Fuente: Datos obtenidos de la hoja de control de datos.

CUADRO 2

MEDIDAS DE DISPERSION Y DE TENDENCIA CENTRAL OBTENIDAS PARA CADA GRUPO DE EDAD GESTACIONAL

Edad gestacional	Media	DE*	Mediana	Percentil 25	Percentil 75
37 semanas	133.33	43.46	128.33	105	155
38 semanas	131.06	39.99	125	107.06	155
39 semanas	142.78	46.07	132.90	115.87	160.07
40 semanas	141.45	44.41	131.05	113.25	164.16

*DE: Desviación Estandar.

Fuente: datos obtenidos de procesamiento estadístico. (**)

CUADRO 3

RESULTADOS DE TEST DE NORMALIDAD OBTENIDOS POR EDAD GESTACIONAL. (Shapiro Wilk, Bondad de Ajuste y D' Agostino)

Edad gestacional	Shapiro Wilk		Bondad de Ajuste valor de la cola	D' Agostino valor D	GL
	Valor G	p			
37 semanas	-2.64	0.004	0.096	0.27236	35
38 semanas	-4.44	0.000	1*	0.254276	145
39 semanas	-3.06	0.000	0*	0.246248	169
40 semanas	-2.92	0.002	-2.74	0.258587	147

* Se presentó sobrecarga de datos en la computadora, por lo tanto no se tienen los valores reales.

Fuente: datos obtenidos del procesamiento estadístico. (**)

(**) Procesamiento estadístico asesorado pro Lic. Rafael Flores, unidad de planificación, INCAP y Dr. Ronal Quan Má, catedrático principal Facultad de Ciencias Médicas, USAC.

RESULTADO DE LA PRUEBA DE NORMALIDAD DE D'AGOSTINO A TODOS LOS DATOS:

$$D = 0.253482 \quad GL = 499 \quad 0.05 \quad D_{0.05,500} = 0.2791, 0.2843$$

RESULTADOS OBTENIDOS DEL ANALISIS DE VARIANZA NO PARAMETRICO DE KRUSKAL-WALLIS:

$$H_c = 9.9130 \quad \chi^2_{0.05,3} = 7.815$$

CUADRO 4

RESULTADOS OBTENIDOS DE LA VARIANTE DEL TEST DE NEWMANN-KEULS PARA RELACIONAR VALORES PROMEDIOS DE LAS VARIANTES:

Edades gestacionales relacionadas	valor "q" obtenido	"q" 0.05	p
39 y 40 semanas	6.42	2.772	
38 y 39 semanas	8.47	3.314	
37 y 39 semanas	14.39	3.633	
38 y 40 semanas	6.54	2.772	
37 y 40 semanas	19.41	3.314	
37 y 38 semanas	23.16	2.772	

Fuente: datos obtenidos del procesamiento estadístico.

ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS

En el cuadro 1 se presenta el número total de recién nacidos que entraron al estudio correspondiendo el 7.2o/o a neonatos de 37 semanas, 29.2o/o de 38 semanas, 34o/o de 39 semanas y 29.6o/o de 40 semanas respectivamente. Existen diferencias entre el número total de casos de cada edad gestacional ya que éstos fueron tomados en una forma aleatoria durante el tiempo que duró la investigación sin establecer un número exacto para cada uno de ellos. En el cuadro 2 se presentan los valores de tendencia central y de dispersión para cada grupo de edad, notando que existen claras diferencias entre los mismos, sin embargo los datos obtenidos son evidentemente menores a los reportados en la literatura (4,6,9,11,13,14,17,18,19). Estas diferencias pueden ser debidas a diversos factores, podemos mencionar entre ellos, el método utilizado para la cuantificación del fibrinógeno y talvez el estado nutricional de la madre que no fué tomado en cuenta, ya que los estudios reportados corresponden a tipos de población completamente diferentes al de nuestro medio.

Para conocer si estos valores tendían a presentarse en curvas de distribución normal, se les efectuó 3 pruebas estadísticas a cada uno de ellos, presentándose los resultados obtenidos en el cuadro 3. Para el test de Shapiro Wilk, si los valores se salen de -1.96 , $+ 1.96$, éstos ya no presentan una tendencia normal representado por el valor que corresponden al valor alfa. Según esta prueba, los 4 grupos de edades no presentan una distribución normal. Esto se confirmó para las edades de 38, 39 y 40 semanas con la prueba de D'Agostino, donde el valor D se sale del valor esperado según los grados de libertad para la tabla específica. En la tercera prueba, de Bondad de Ajuste, para recién nacidos de 37 semanas reveló que son de distribución normal ya que el valor de la cola no sobrepasa el valor de alfa que generalmente es de 0.05. También la prueba D'Agostino reportó a este grupo con distribución normal. Esto pudo ser debido al escaso número de datos que se tomaron en cuenta para esta edad. Para las edades de 38 y 39 semanas

con el test de Bondad de Ajuste no se pudo establecer su valor ya que hubo sobrecarga de la computadora y por último, con el grupo de 40 semanas, ésta prueba demostró que no corresponde a una distribución normal.

Finalmente se reunieron todos los datos realizándoseles la prueba de D'Agostino, demostrando que el valor D se sale del valor esperado para un alfa de 0.05, por lo tanto todos los datos reunidos no presentan una curva de distribución normal. Esto nos es de utilidad para reconocer que el valor promedio y la desviación estándar no son representativos de los datos para cada edad gestacional, sino que el valor de la mediana, que divide a la población exactamente en dos partes iguales, representa el valor medio, con los percentiles 25 y 75 para rango de fluctuación.

Normalmente, cuando se trata de establecer valores para una población se espera que éstos se presenten en curvas de distribución normal, sin embargo, el hecho de que no la presenten no significa que no deben ser tomados en cuenta, sino que al contrario, existen valores estadísticamente significativos para decir que ésta población que entró al estudio no presentan distribuciones normales. Esto puede deberse a otros factores que no fueron tomados en cuenta y que podrían influir en la forma de presentación de los datos, por ejemplo: el grado de madurez hepática del recién nacido, la concentración sérica de otras proteínas, de otros factores de la coagulación y otros más, es decir, factores propios del neonato, ya que está demostrada plenamente la existencia de una barrera placentaria completa para el fibrinógeno (2) y se sabe que su síntesis inicia en el feto a partir de la 5a. semana de gestación. (1).

No se les realizó análisis de varianza habitual a los datos por la forma de presentación de los mismos, por que se les efectuó el test de Kruskal Wallis, análisis de varianza no paramétrico que sirve para evidenciar si los promedios de cada edad gestacional presentan alguna

igualdad estadística entre sí, sin embargo, el resultado obtenido nos demuestra que sí existen diferencias significativas, por lo tanto, los promedios de las diferentes edades gestacionales no son iguales. Esto es importante para reconocer que un neonato de 37 semanas en cierta forma, no puede tener un valor de fibrinógeno de un neonato de 40 semanas. Para demostrar si existía igualdad entre alguno de todos los promedios, se les efectuó una variante del test de Newmann Keuls. Los resultados se presentan en el cuadro 4 y éstos nos indican que el valor obtenido de "q" es mayor que el valor de "q" esperado, por lo tanto, esto nos dice que no existe ninguna relación estadística entre alguno de los valores promedios.

CONCLUSIONES

1. Existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores promedios de cada edad gestacional, por lo tanto no puede darse un valor promedio representativo de todo el grupo de niños de la muestra tomada del Hospital Roosevelt.
2. El valor que representa a cada grupo de edad gestacional es el valor de la mediana con su percentil 25 y percentil 75 respectivamente, siendo éstos expresados en mgs/100 ml:

	P ₂₅	P ₅₀	P ₇₅
Recién nacidos de 37 semanas EG	105	128	155
" " " 38 " EG	107	125	155
" " " 39 " EG	115	133	160
" " " 40 " EG	113	131	164

3. Todos los valores obtenidos de fibrinógeno en este estudio son menores a los reportados por la literatura.
4. La técnica del Método de Parfentjev modificado es un método turbidimétrico sencillo para cuantificar concentraciones de fibrinógeno.

CONCLUSIONES

Existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de fibrinógeno de cada edad gestacional, por lo tanto no puede hacerse un valor promedio representativo de todo el grupo de niños de la muestra tomada del Hospital Roosevelt.

El valor de fibrinógeno a cada grupo de edad gestacional es el valor de la mediana con un percentil 25 y percentil 75 respectivamente, siendo el promedio en mg/dl 100 mg/dl.

Edad gestacional (semanas)	Mediana (mg/dl)	P25 (mg/dl)	P75 (mg/dl)
30	102	75	125
32	107	80	132
34	112	85	140
36	118	90	144

Los valores de fibrinógeno en este estudio son inferiores a los reportados por la literatura.

La técnica del método de Parzenfar modificada es un método sustitutivo sencillo para cuantificar concentraciones de fibrinógeno.

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios que establezcan valores de fibrinógeno en recién nacidos pre-término y de bajo peso al nacer, ya que en ellos su sistema de coagulación aún no está plenamente desarrollado y por lo tanto son los más afectados por deficiencia en estos factores.
2. Relacionar estos valores de niños a término con valores que se encuentren en neonatos de la misma edad gestacional pero que presenten problemas sépticos, de CID o de tipo hemorrágico.
3. Establecer por medio de otros estudios, si procesos sépticos maternos durante la gestación puedan influir en cierta forma con la concentración de fibrinógeno en sus neonatos.
4. Realizar estudios similares en otras áreas para poder dar valores normales para la población guatemalteca, mediante la misma técnica de laboratorio utilizada en este estudio.

RESUMEN

Se tomaron 500 muestras sanguíneas del cordón umbilical de neonatos entre 37 y 40 semanas de edad gestacional, mayores de 2,500 gramos de peso, productos de parto eutócico simple, sin patologías ni antecedentes maternos patológicos en el prenatal ni de ingesta de medicamentos anticoagulantes. Las muestras se procesaron por la técnica del método turbidimétrico de Parfentjev modificado para establecer la concentración de fibrinógeno.

Por pruebas estadísticas se estableció que los valores no se presentaron en curvas de distribución normal y que sí existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores promedios de cada edad gestacional, por lo tanto el valor representativo de cada grupo fué el valor del percentil 50 con rango de oscilación entre el percentil 25 y el percentil 75 correspondiendo estos valores:

Para recién nacidos de 37 semanas: 128 mgs o/o, oscilación entre 105-155 mgs o/o

Para recién nacidos de 38 semanas: 125 mgs o/o, oscilación entre 107-155 mgs o/o

para recién nacidos de 39 semanas: 132 mgs o/o, oscilación entre 115-160 mgs o/o

Para recién nacidos de 40 semanas: 131 mgs o/o, oscilación entre 113-164 mgs o/o

Estos valores obtenidos son claramente más bajos que los reportados por la literatura.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Bleyer, W. A. et al. The development of hemostasis in the human fetus and newborn infant. *J Pediatr* 1973 Jun; 82(6): 1028-1032
2. Cade, J. F. et al. Placental barrier to coagulation factors: its relevance to the coagulation defect at birth and to haemorrhage in the newborn. *Br Med J* 1969 May 3; 2(5652): 281-283
3. Davidsohn, I. y J. B. Henry. **Todd-Sanford, diagnóstico clínico por el laboratorio.** 5a. ed. Barcelona, Salvat, 1972. 1287p. (pp. 389-391; 516; 408-409)
4. Evans, H. E. and L. Glass. Hematologic patterns and bilirubin metabolism. In his: **Perinatal medicine.** Maryland, Harper & Row 1976. 604p.(pp.155-191)
5. Fowell, A. H. Turbidimetric methods of fibrinogen assay. *Am J Clin Path* 1955 Mar; 25(3):340-342
6. Gralnick, H. Congenital disorders of fibrinogen. In: Williams, W. et al. **Haematology.** 2nd. ed. New York, Mc Graw-Hill Book, 1977 1755p.(pp.1423-1433)
7. Gray, O. P. et al. Intracranial haemorrhage and clotting defects in low-birth-weight infants. *Lancet* 1968 Mar 16; 1(7542): 545-548
8. Guyton, A.C. Hemostasis y coagulación de la sangre. En su: **Tratado de fisiología médica.** 5a. ed. México, Interamericana, 1976. 1159p.(pp.97-109)

9. Hathaway, W. E. Coagulation problems in the newborn infant. *Pediatr Clin North Am* 1970 Nov; 17(4):929-942
10. Lynch, M. J. et al. *Métodos de laboratorio*. 2a. ed. México, Interamericana, 1972. 1522p.(pp.809-811; 836-837; 215-217)
11. McMillan, C. W. and M. W. Hilgartner. Hemostasis: general considerations, platelet and vascular disorders and coagulation disorders. In: Miller, D. R. et al. *Smith's blood diseases of infancy and childhood*. 4th. ed. St. Louis, Mosby, 1978. 888p.(pp.679-832)
12. Munguia, L. et al. Immuno-electrophoretic and functional evidence in various infants of a transient variant of the fibrinogen. (fetal fibrinogen?). *Bol Med Hosp Infant Mex* 1980 Mar-Apr; 37(2):289-299
13. Nathan, D. G. and F. A. Oski. *Hematology of infancy and childhood*. 2nd. ed. Philadelphia, Saunders, 1981. 904p. (pp.565-566; 583; 608-610; 1229; 1250).
14. Nelson, et al. Hemorrhagic diseases. In his: *Textobooks of pediatrics*. 12 ed. Philadelphia, Saunders, 1983. 1899p.(pp. 1240-1242)
25. Nossel, H. L. Hemorragia. En: Thorn, G. W. et al. *Medicina interna Harrison*. 5a. ed. México, Fournier, 1981. t.1(pp. 345-352)
16. Parfentjev, I. A. et al. Determination of plasma fibrinogen by turbidity with ammonium sulfate. *Arch Biochem Biophys* 1953, Oct; 46(2):470-480

17. Reid, H. L. Plasma fibrinogen levels in Nigeria (IBOS): normal adults, pregnancy and in fetal cord blood. *East Afr Med J* 1982 Aug; 59(8):523-528
18. Sell, W. J. et al. Platelet counts, fibrinogen concentrations and factor V and factor VIII levels in healthy infants according to gestational age. *J Pediatr* 1973 June; 82(6):1028-1032
19. Willoughby, M. L. Coagulation disorders. In his: *Paediatric haematology*. London, Cox & Wyman, 1977. 434p.(pp. 309-334)

ANEXO 1

"TABLA DE FIBRINOGENO"

Método de Parfentjev.
Colorímetro Coleman 44
Longitud de onda 520

Transmitancia	mgs o/o	Transmitancia
100	000	67
99	4	66
98	12	65
97	20	64
96	30	63
95	40	62
94	48	61
93	55	60
92	60	59
91	75	58
90	80	57
89	95	56
88	100	55
87	110	54
86	129	53
85	130	52
84	140	51
83	150	50
82	160	49
81	170	48
80	180	47
79	190	46
78	200	45
77	210	44
76	225	43
75	235	
74	245	
73	252	
72	265	
71	275	
70	285	
69	300	
68	310	

C/Valdez
H/Franco.

ANEXO 2

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA
SECCION DE RECIEN NACIDOS
SERVICIO: LABOR Y PARTOS
HOSPITAL ROOSEVELT/-----

HOJA DE CONTROL DE DATOS:

1. DATOS DE LA MADRE:

- a. Nombre: _____
- b. Número de registro: _____ Edad: _____
- c. Tuvo control prenatal: ? SI NO
- Dónde? _____
- d. Tuvo alguna enfermedad durante su embarazo? SI NO
-Cuál? _____
- e. Durante los últimos 3 meses de embarazo tomó algún medicamento en forma constante? SI NO
-Cuál? _____

2. DATOS DEL RECIEN NACIDO:

- a. No. de registro: _____
- b. Sexo: Masc Fem
- c. Fecha de nacimiento: _____ Hora: _____
- d. Tipo de parto: _____
- e. Peso: _____
- f. Edad gestacional: _____
- g. Valor de fibrinógeno (por laboratorio): _____

3. OBSERVACIONES:

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS CIENCIAS
DE LA SALUD
(C I C S)

INFORME:

[Signature]
Dr. Carlos R. Rosendo Z.
ASESOR.

CARLOS ROSENDO Z.
MEDICO Y CIRUJANO

SATISFECHO:

[Signature]
Dr. Elfrid Cifuentes M.
REVISOR.

Dr. Elfrid Cifuentes M.
Médico y Cirujano
Colegiado No. 1526

ELABORADO:

[Signature]
DIRECTOR DEL CICS



[Signature]
Dr. Mario René Moreno Cámara
DECANO
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS.
U.S.A.C.

Guatemala, 18 de septiembre de 1985