

2ej
120

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

CUANTIFICACION DE LINFOCITOS T COOPERADORES Y T SUPRESORES COMO INDICADORES INMUNOLOGICOS DEL ESTADO NUTRICIO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
BLANCA ROSA SOLIS PEREYRA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE GENERAL

RESUMEN

I.- INTRODUCCION Y ANTECEDENTES	
A.- Sistema Inmune	1-12
A.1.Desarrollo de la respuesta inmune	1- 5
A.2.Subclases de células T	6- 8
A.3.Regulación Inmune	9
A.4.Activación de los linfocitos	10- 12
B.- La desnutrición Infantil	13- 17
B.1.Naturaleza y clasificación	13- 15
B.2.Cuadro Clínico	15- 17
C.- Relación entre la Inmunidad y la Nutrición	18- 20
D.- Indicadores del estado nutricional	21
E.- Anticuerpos Monoclonales	22- 26
E.1.Diversidad de anticuerpos	22- 23
E.2.Principio del método de obtención de anticuerpos monoclonales	24- 26
II. OBJETIVOS	27
III.METODOLOGIA	
A.- Selección de la población	29- 30
A.1.Población de niños testigo	29
A.2.Población de niños desnutridos	30
B.- Determinación de las medidas antropométricas	30- 32
C.- Indicadores bioquímicos	33- 35
C.1.Determinación de albúmina plasmática (IDR)	33- 34
C.2.Determinación de transferrina plasmática (IDR)	34- 35
D.- Citología Hemática	36- 38
D.1.Determinación de hemoglobina	36- 37
D.2.Determinación del microhematocrito	38
E.- Aislamiento de células mononucleares	39- 40
F.- Cuantificación de linfocitos T, Tcooperadores y T supresores	40- 41
IV. RESULTADOS	42- 73
V.- CONCLUSIONES	74
VI. BIBLIOGRAFIA	75- 81
VII.APENDICES	82

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO 1 : Características Generales de los niños normales	44
CUADRO 2 : Valores de pliegues cutáneos: Abdominal, tricípital, inter escápulo vertebral y perímetros cefálico, del brazo, del muslo y de pierna de los niños normales.	45
CUADRO 3 : Características Generales de los niños con desnutrición a su ingreso	46
CUADRO 4 : Valores de pliegues cutáneos: Abdominal, tricípital, inter escápulo vertebral y perímetros cefálico, del brazo del muslo y de la pierna de los niños con desnutrición	48
CUADRO 5 : Valores de la circunferencia muscular del brazo, area muscular del brazo y area grasa del brazo de los niños normales.	49
CUADRO 6 : Valores de circunferencia muscular del brazo, del área muscular del brazo y del area grasa del brazo de los niños desnutridos	50
CUADRO 7 : Concentración de albúmina en plasma de niños en recuperación nutricia según su peso para la talla y en niños normales	52
CUADRO 8 : Concentración de transferrina en plasma de niños en recupera ción nutricia según su peso para la talla y en niños normales	53
CUADRO 9 : Concentración de hemoglobina en la sangre periférica de niños en recuperación nutricia según su peso para la talla y en niños normales	54
CUADRO 10: Valores del hematocrito de niños en recuperación nutricia se gún su peso para la talla y en niños normales	56
CUADRO 17: Concentraciones de los glóbulos blancos y células mononuclea - res en la sangre periférica de los niños normales	58
CUADRO 18: Concentraciones de los glóbulos blancos y células mononucleares en la sangre periférica de los niños en recuperación nutricia según su peso para la talla.	59
CUADRO 19: Cuantificación Diferencial de las células de la sangre perifé rica de niños normales	60
CUADRO 20: Cuantificación Diferencial de las células de la sangre perifé rica de niños en recuperación nutricia según su adecuación de peso para la talla de 50 - 60 %	61
CUADRO 21: Cuantificación Diferencial de las células de la sangre perifé rica de niños en recuperación nutricia según un peso para la	-

talla de 60 - 70 %	-----	62
CUADRO 22: Cuantificación diferencial de las células de la sangre periférica de los niños en recuperación con adecuación de peso para la talla de 70 - 80 %	-----	63
CUADRO 23: Cuantificación diferencial de las células de la sangre periférica de niños en recuperación según un peso para la talla de 80 -90 %	-----	64
CUADRO 11: Proporción de linfocitos T en la sangre periférica de los niños en recuperación nutricia según su peso para la talla	---	66
CUADRO 12: Proporción de linfocitos T cooperadores en la sangre periférica de los niños en recuperación nutricia según su peso para la talla .	-----	67
CUADRO 13: Proporción de linfocitos T supresores en la sangre periférica de los niños en recuperación nutricia según su peso para la talla.	-----	68
CUADRO 14: Cociente Tc/Ts en la sangre periférica de niños en recuperación nutricia según su peso para la talla.	-----	69
FIGURA 1: Diagrama del sistema linfóide humano	-----	3
FIGURA 2: Diferenciación de los linfocitos	-----	5
FIGURA 3: Estructura de una molécula de inmunoglobulina	-----	23
FIGURA 4: Esquema convencional para la obtención de anticuerpos monoclonales	-----	26
FIGURA 5: Características de los anticuerpos monoclonales utilizados para identificar a los linfocitos T	-----	25
FIGURA 6: Curva estándar de hemoglobina	-----	55
FIGURA 7: Proporción de linfocitos T en la sangre de niños en recuperación nutricia	-----	70

R E S U M E N

Durante la desnutrición se observa inmunodeficiencia secundaria que favorece una mayor morbilidad y mortalidad por infecciones. Por otra parte, ciertas variables inmunológicas como son la prueba del PPD (intradermoreacción), la cuantificación de los componentes del complemento y la medición de los linfocitos T se han propuesto como indicadores funcionales del estado nutricional. Dado el avance de las técnicas para identificar las subpoblaciones de linfocitos T, es conveniente explorar la posible utilidad de la determinación de dichas subpoblaciones como una prueba más sensible para determinar el estado de nutrición. El presente trabajo tuvo como propósito investigar los cambios en las subpoblaciones de linfocitos T en diferentes estadios de la desnutrición, utilizando como modelo el niño desnutrido en recuperación. Se estudiaron longitudinalmente 19 niños desnutridos entre 4-48 meses de edad internados en una sala de recuperación; como grupo testigo se estudiaron transversalmente 19 niños sanos y bien nutridos entre 18-58 meses de edad asistentes a una guardería. Las subpoblaciones de linfocitos T se midieron utilizando anticuerpos monoclonales. El grado de desnutrición se estableció mediante el criterio peso para la talla. En el grupo testigo los linfocitos T representaron el 86.94 ± 4.56 % del total de células mononucleares; de los linfocitos T el 52.38 ± 7.0 eran cooperadores y el 41.94 ± 8.73 % supresores (relación $T_c / T_s = 1.31 \pm 0.21$). Los niños desnutridos de 50-60 % de P/T tuvieron una menor proporción de linfocitos T (63 ± 8.7 p < 0.001), de linfocitos T cooperadores (33.75 ± 8.12 p < 0.005) y de linfocitos T supresores (32.87 ± 7.14 p < 0.01), aunque éstos últimos en menor grado. Conforme se recuperaron de la desnutrición, aumentó la cantidad de linfocitos T (65 ± 3.7 , 74.41 ± 5.38 , 77.57 ± 2.36 % cuando tenían una proporción de peso para talla de 60 - 70, 70 - 80 y 80 - 90 % respectivamente; p < 0.005 en todos los casos en comparación con el grupo testigo), de linfocitos T cooperadores (39.70 ± 8.96 p < 0.005, 47.16 ± 4.70 p < 0.02; 47 ± 7.9 p < 0.005 cuando tenían una proporción de peso para la talla de 60 - 70, 70 - 80 y 80 - 90% respectivamente, en comparación con el grupo testigo), sin cambios aparentes en la proporción de linfocitos T supresores. (28.42 ± 9.42 p < 0.01, 30.20 ± 9.01 p < 0.005, 31.14 ± 8.3 p < 0.01 cuando tenían una proporción de 60 - 70, 70 - 80 y 80 - 90 % de P/T respectivamente, en comparación con el grupo testigo). La relación T_c / T_s aumenta a partir del grupo con 60 - 70 % de P/T. (1.58 ± 0.61 p < 0.005, 1.67 ± 0.6 p < 0.02, 1.54 ± 0.35 p < 0.005 - cuando tenían 60 - 70, 70 - 80 y 80 - 90 % de P/T respectivamente en comparación con el grupo testigo).

I. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

A. SISTEMA INMUNE

El concepto de inmunidad es antiguo, empírico y deriva del estudio de la resistencia a infecciones. Varios siglos antes del descubrimiento de la teoría de los gérmenes para las enfermedades infecciosas ya se sabía que la convalescencia de una enfermedad se acompañaba de una resistencia especial contra la reinfección (1).

La respuesta del sistema inmune destruye y elimina organismos invasores reconocidos como extraños. Debido a ésto es esencial que se realice una respuesta solo a moléculas que son ajenas al huésped y no a componentes propios. La habilidad para distinguir moléculas extrañas de las propias es un elemento fundamental de este sistema; ocasionalmente este mecanismo falla al efectuar la distinción y reacciona contra las células propias, fenómeno llamado reacción autoinmune que puede ser fatal (2).

Las respuestas inmunológicas se hallan clasificadas en dos grupos: inespecíficas y específicas.

Las específicas dependen de la exposición a una configuración determinada que permite que la identificación y la reacción sean mas rápidas en exposiciones posteriores, en cambio las inespecíficas se presentan de la misma manera después de la exposición inicial o secundaria a una configuración extraña y aunque sean selectivas respecto a diferenciar lo propio de lo ajeno no requieren de una identificación molecular específica.

Las respuestas inmunológicas cumplen tres funciones principales:

- Defensa
- Homeostasia
- Vigilancia

La primera se relaciona con la resistencia a infecciones por microorganismos o sustancias tóxicas secretadas por éstos, la segunda con la eliminación de los componentes propios desgastados y la tercera con la identificación y destrucción de las células mutantes.

En la inmunidad específica, los linfocitos desarrollan una "memoria inmunológica" que es utilizada por el huésped en el caso de una reexposición al antígeno (agente extraño), para responder con funciones celulares desarrolladas, como la inmunidad mediada por anticuerpos, la hipersensibilidad, el rechazo a trasplantes e inmunidad a tumores, estas tres últimas son mediadas principalmente por células (1,3).

Sin embargo, la inmunidad inespecífica es la primera línea de defensa - contra los microorganismos; estos mecanismos tienen propiedades constituti - vas del huésped normal e incluyen secreciones naturales como la lizosima de la saliva, de las lágrimas y de los tejidos, la enzima lactoperoxidasa y el pH del estómago; barreras físicas de la piel y membranas mucosas; efecto mecánico lavador; respuestas inflamatorias; el interferón, el sistema proteíni - co del complemento y la fagocitosis, esta última involucra la internalización del microorganismo mediante la invaginación de la membrana del fagocito, lo - que da lugar a la formación de un fagosoma que interactúa con lisosomas pre - sentes en el citoplasma de la célula (fagolisosoma). Este proceso es seguido por una digestión por enzimas especializadas como la mieloperoxidasa y la li - sozima, las que se activan en presencia de un pH ácido dado por una altera - ción de la bomba Na-K-ATPasa. Los componentes obtenidos de la digestión son - transportados al aparato de Golgi para su glicosilación y modificación de ra - dicales para ser expuestos en la membrana o para su liberación al exterior - de la célula contribuyendo de esta manera en la presentación de los compo - nentes del agente extraño a otras células (2-4),

En tejidos traumatizados o en infecciones microbianas, las células dañadas liberan compuestos químicos como la histamina y la serotonina, las que - incrementan la permeabilidad capilar permitiendo la entrada de fagocitos al tejido dañado, mismos que además son fijados en el hígado, en el bazo, en la médula ósea y en los nódulos linfoides por la acción del sistema retículo en - dotelial.

A.1. DESARROLLO DE LA RESPUESTA INMUNE

La función específica del sistema inmune se apoya en dos poblaciones de células derivadas del tejido linfoide; los linfocitos T y los linfocitos B - localizados en diferentes partes del cuerpo (Fig. 1). Observaciones prove - nientes de estudios efectuados por Landstainer y col, determinaron la posibi - lidad de transferir la inmunidad, mediante el intercambio de células viables (inmunidad celular) o de componentes del suero consistentes en moléculas pro - teínicas llamadas anticuerpos (inmunidad humoral), efectos que son atribuí - dos a los linfocitos T y a los linfocitos B respectivamente.

A.1.1. DIFERENCIACION E INTERACCION DE LOS LINFOCITOS

Las células precursoras del embrión llamadas hematopoyéticas pluripoten - ciales migran del saco vitelino a través del bazo hacia la médula ósea, don - de se dividen y diversifican produciendo una variedad de células. Por otra - parte, las células linfoides sufren una diferenciación fuera de la médula -

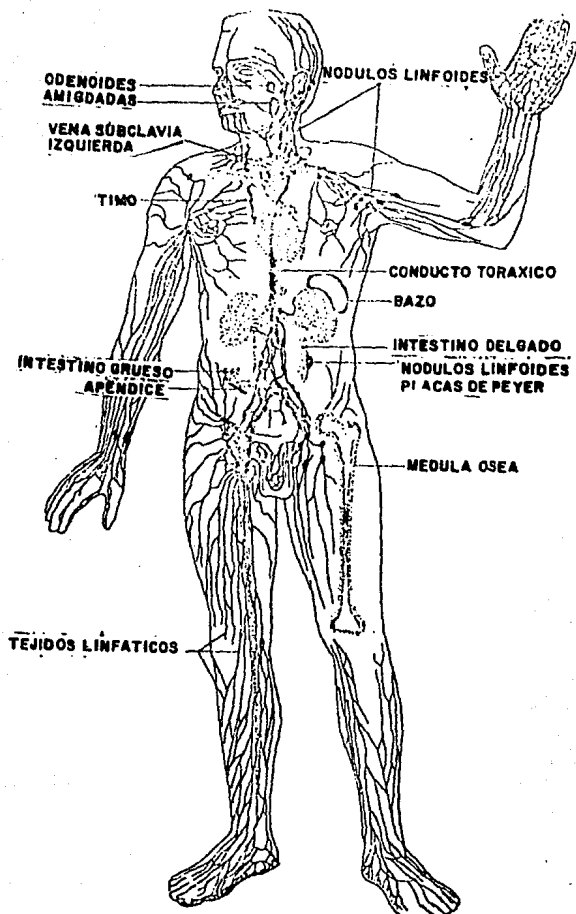


FIG. 1 Diagrama del sistema linfático humano. Este sistema consta de linfocitos circulantes y de órganos linfoides, que incluye el árbol de los vasos linfáticos y los nódulos linfáticos localizados a lo largo de ellos, la médula ósea (localizada en los huesos largos, uno de los cuales se muestra en la figura), el timo, el bazo, las glándulas adenoides, las amígdalas, las placas de Peyer del intestino delgado y la apéndice. Los vasos linfáticos reúnen los linfocitos y moléculas de anticuerpos de los tejidos y de nódulos linfoides y las regresa hacia el torrente sanguíneo y a la vena subclavia (N.K. Jerne, Sci. Am. 229, 52 (1973)).

Ósea: Algunas viajan a través del timo donde son diferenciadas en células T, las que al ser activadas por el antígeno secretan moléculas denominadas linfocinas que participan en el ataque del material antigénico. Las células pluripotenciales que migran a la bursa de Fabricio (en aves) o su equivalente en los mamíferos (bazo, hígado fetal), son inducidas para generar linfocitos B, cuando estas células son estimuladas por el antígeno se dividen repetidamente formando clonas de células plasmáticas que secretan grandes cantidades de anticuerpos (Fig. 2) (4,5).

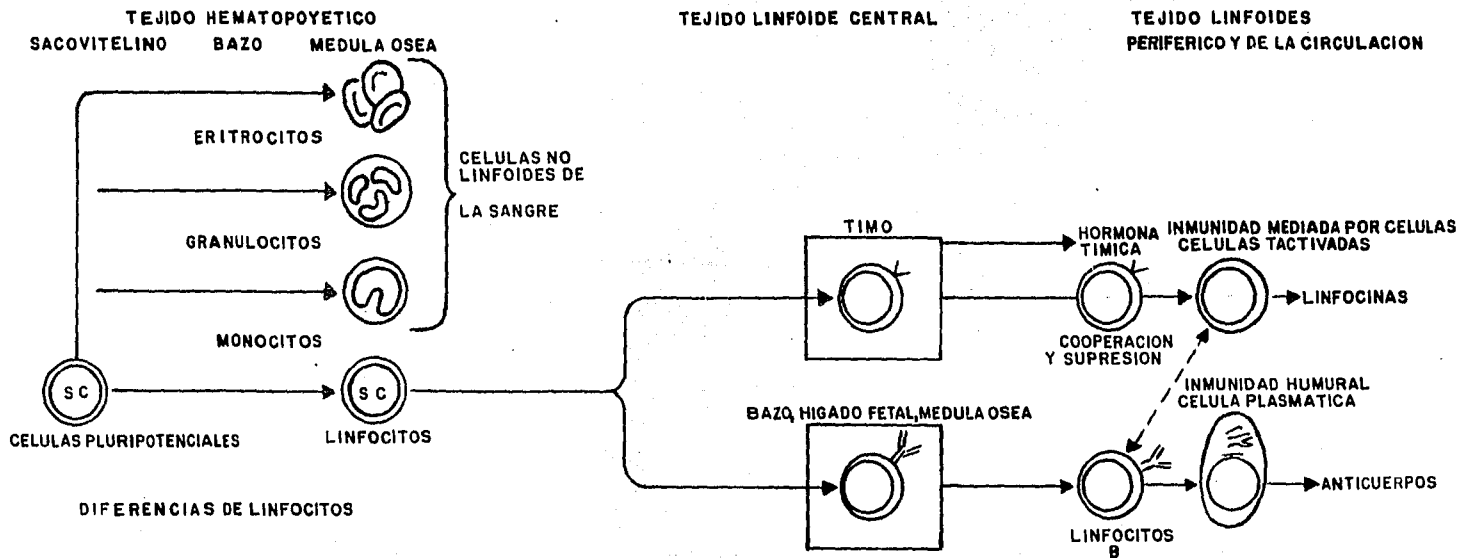


FIG. 2 DIFERENCIACION DE LINFOCITOS

A.2 SUBCLASES DE CELULAS T

A.2.1. RECEPTORES

Durante los primeros estudios efectuados en relación con las células T, se tenía la idea de que éstas células pertenecían a una población homogénea con capacidad de una variedad de funciones inmunológicas que incluyen la activación y supresión de la respuesta inmune. Posteriormente se observó que ciertos estímulos antigénicos determinaban la función que habrían de realizar las células T. Estos hallazgos dieron lugar a la hipótesis que apoya la existencia de subclases especializadas que presentan los componentes bioquímicos necesarios para una función específica; (6-8). A raíz de éstos hallazgos se originaron estudios selectivos de las células, donde se separaron poblaciones de células T periféricas mediante la identificación de glicoproteínas de superficie específicas expresadas sobre algunas de las células provenientes del timo, utilizando anticuerpos específicos ó estudiando sus propiedades funcionales determinadas en pruebas realizadas in vivo e in vitro.

Se encontró que los linfocitos de ratón presentan el antígeno Thy-1 sobre su superficie, éste es uno de los primeros de antígenos de diferenciación que aparece en la ontogenia y consta de dos alelos: Thy-1 y Thy-2 que son codificados por el gen localizado en el cromosoma 9 (9, 10,).

A.2.2. DESCRIPCION DE ANTIGENOS DE SUPERFICIE QUE DIFERENCIAN 2 CLASES DE SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS T EN RATONES.

ANTIGENOS Lyt: Se han descrito tres antígenos de diferenciación Lyt-1 Lyt-2 y Lyt-3 que son controlados por dos regiones genéticas separadas. El antígeno Lyt-1 es controlado por un locus presente en el cromosoma 19 y los antígenos Lyt-2, Lyt-3 son codificados por genes localizados en el cromosoma 6.

El estudio de la expresión de los antígenos Lyt permite identificar 3 clases de linfocitos:

- 1) Los que presentan el receptor Lyt-1 que pertenecen a los linfocitos T que desarrollan función cooperadora y funciones de hipersensibilidad retardada.
- 2) Linfocitos T con función supresora que expresan el antígeno Lyt-2.
- 3) Linfocitos que presentan receptor Lyt-1, Lyt-2 y Lyt-3 y son considerados como un grupo indiferenciado donde se encuentran los precursores de las células Lyt-1 y Lyt-2. (12-16).

Recientemente se han identificado con anticuerpos monoclonales, antígenos de superficie que permiten identificar poblaciones funcionalmente diferentes de linfocitos T en la sangre periférica de seres humanos, (ensayo de cultivo mixto de linfocitos) (20).

Entre los antígenos identificados hasta el momento se encuentran: la glicoproteína T3 que se expresa sobre todos los linfocitos T maduros y es esencial para las funciones de reconocimiento célula-antígeno, así como para efectos regulatorios. Este componente aparece en la ontogenia intratímica retardada y su estructura consta de dos subunidades una de 20 000 daltones y una de 25 000 daltones. (20-24). Dentro de la población de linfocitos que presenta la glicoproteína T3 en la membrana celular, se ponen de manifiesto dos tipos de moléculas glicoproteínicas que dan lugar a dos subpoblaciones de linfocitos T: población supresora-citotóxica y población cooperadora.

Dos terceras partes de la población de células T periféricas comprenden la subclase que induce la reproducción y diferenciación de las células involucradas en la respuesta inmune incluyendo las células B, los monocitos y las células cebadas, presentando además en la superficie una glicoproteína denominada T4 de 62 000 daltones (población T cooperadora la tercera parte restante corresponde a la población con función supresora y citotóxica en la respuesta inmune y presenta en la membrana la glicoproteína T8 de 76 000 daltones (población T supresora) (25).

Las células T8⁺ ejercen el efecto citotóxico, pero generalmente requieren de la interacción con células T4 positivas o de los productos solubles liberados por éstas para realizar su función.

Por otro lado, los linfocitos T reconocen antígenos asociados con productos del MHC (complejo mayor de histocompatibilidad) presentes en la membrana de las células con las que interactúan, dándose el fenómeno de reconocimiento dual que interviene en la activación de células supresoras, citotóxicas y cooperadoras.

Las células T8⁺ pueden interactuar con células que comparten antígenos de la clase I del MHC estimuladas por el antígeno, mientras que las células T4⁺ lo hacen con antígenos de la clase II del MHC (26-27).

A.2.2. ONTOGENIA DE LOS RECEPTORES DE LAS CELULAS T

Durante la diferenciación intratímica se expresan una diversidad de moléculas que representan tres estadios de maduración. En el primero se manifiesta el componente T1 y no se expresan los componentes T3, T4, T6 y T8 que aparecen en etapas posteriores. Las células que son consideradas del segundo estadio son $T11^+$, $T3^-$, $T4^+$, $T6^+$, $T8^+$ las que darán lugar a células $T11^+$, $T3^+$, $T4^-$, $T6^-$, $T8^-$ en el tercer estadio de diferenciación. Esta última población celular representa a las dos poblaciones de células T: La $T11^+$, $T3^+$, $T4^+$, $T6^-$, $T8^-$ que realiza la función cooperadora o inductora y la población $T11^+$, $T3^+$, $T4^-$, $T6^-$, $T8^+$ con función supresora. (24-28).

Por otro lado, un estudio efectuado por Umiel y col. muestra que las células T de leucemia linfoblástica aguda o timocitos de los estadios tempranos I ó II no presentan la molécula T1 (molécula única de una clona) que se observa asociada a la molécula T3 y por lo que aparece en el estadio III de diferenciación. Cabe mencionar que únicamente la población de células del estadio III se manifiestan inmunocompetentes cuando son estimuladas las poblaciones por aloantígenos (29,20).

A.3 REGULACION INMUNE

A.3.1. MODULACION DEL COMPONENTE T3

El componente T3 presente en los linfocitos T maduros es un factor importante en la manifestación de la actividad supresora, citotóxica y cooperadora, pues al bloquearlo con un anticuerpo anti-T3 disminuye la actividad de las células $T8^+$ y $T4^+$ en un 75%, pero cuando éste anticuerpo se elimina, la actividad de las células regresa a los valores originales (22).

Otras de las funciones que se le atribuye al componente T3 es la intervención específica en el reconocimiento del antígeno, pues las clonas de los linfocitos T proliferan cuando son estimuladas con aloantígenos. Sin embargo, esta proliferación disminuye notablemente cuando dichas clonas se tratan con anticuerpos anti T3.

Cabe mencionar que éste efecto se ve invertido cuando las clonas se incuban con interleucina-2 (Factor de crecimiento de células T) además de la adición de anticuerpo anti-T3, pero la interacción de éste componente permanece aún en estudio (20).

A.3.2. RECONOCIMIENTO DEL ANTIGENO POR LAS CELULAS T

Recientemente Oreste Acuto y col; propusieron un modelo de reconocimiento del antígeno por las células T, donde manifiestan que la existencia de una molécula T_i asociada con la glicoproteína T3 es la estructura responsable para un reconocimiento dual entre el antígeno y los componentes del MHC y donde los componentes celulares $T4$ y $T8$ sirven de estructura de unión en la región de antígenos de la clase II para las células $T4^+$ ó clase I para las células $T8^+$ del MHC, dando lugar a elementos estabilizadores que facilitan el contacto célula-célula necesario para la lisis eficiente del agente extraño y particularmente importante para la interacción entre la células destructora y la célula blanco.

Estas interacciones dan lugar al desencadenamiento de una respuesta inmune primaria cuando no se ha efectuado un estímulo previo, en cuyo caso se presenta una selección clonal de alta afinidad en respuesta al antígeno. (20).

A.4 ACTIVACION DE LINFOCITOS

Durante la activación de linfocitos se desencadenan eventos que se estudiaron en sistemas de cultivo de linfocitos in vitro en presencia de mitógenos y pueden desarrollarse en etapas tempranas y etapas tardías.

A.4.1. ETAPAS TEMPRANAS

-Inicialmente, las moléculas receptoras presentes en la superficie del linfocito se unen al ligando estimulante y permanecen acoplados a ellas. Algunas regiones pequeñas de unión entre el receptor y el ligando son más efectivas para la transmisión de la "señal de activación", mientras que las otras porciones de unión no intervienen en la activación pero se encuentran relacionadas con el mecanismo de agrupación e ingestión del ligando.

- Un incremento en la permeabilidad de la membrana hacia los cationes monovalentes produce una despolarización de ésta causando un aumento local de Na^+ responsable de la activación del sistema Na^+-K^+ ATPasa.

-La unión entre el ligando y el receptor ocasiona la activación de una metil transferasa membranaral, debido a ésto la fosfatidil etanolamina recibe más grupos metilo de la s-adenosil-metionina para formar monometil fosfatidil etanolamina que induce un incremento en la fluidéz y en la reorganización local de la membrana, abriéndose canales a través de los cuales los iones Ca^{2+} pueden difundir hacia la célula.

El incremento de éstos iones en la membrana ejerce efectos diversos sobre el sistema de activación linfocítica:

- 1) Ocasiona la activación de la fosfolipasa A_2 que actúa sobre la fosfatidil colina para producir lisolecitina y ácido araquidónico con un aumento asociado en la incorporación de ácidos grasos a lecitina.
- 2) El ión Ca^{2+} desencadena la formación de fosfatidil inositol por una enzima citoplasmática en los linfocitos T, así como la movilización de lípidos - que precede a la síntesis de fosfolípidos.
- 3) Ejerce un papel importante en el incremento en la velocidad de transporte de glucosa minutos después de la estimulación, lo cual suministra los componentes necesarios para satisfacer los requerimientos energéticos.
- 4) La lisolecitina activa a la guanilciclase en presencia de Ca^{2+} , efecto - que ocurre de manera contraria a la activación de la adenil ciclase que disminuye por competir por el ATP con el sistema Na^+-K^+ -ATPasa. Esta activación ocasiona un incremento transitorio en GMP_c local que activa a las proteinquinas que fosforilan diversas enzimas como la acil transferasa de ácidos grasos y las que incrementan de nuevo la síntesis de fosfatidil colina, fosfati-

dil inositol (lípidos de la membrana), otras protein cinasas actúan en el procesamiento de ciertos RNAm (ácido ribonucléico mensajero) y aumento en la actividad de los factores de iniciación, de lo que resulta una traducción selectiva más rápida de los RNAm ya existentes.

5) Conduce a la activación de la ornitín descarboxilasa que es un factor limitante en la síntesis de poliaminas y activa a la estearasa de serina que se requiere para la motilidad observada en los primeros 5 min., desarrollándose cambios en la síntesis de nucleótidos cíclicos.

- La síntesis de proteínas temprana es rápida e incluye la formación abundante de polisomas.

A.4.2. ETAPAS TARDIAS

-La síntesis de RNA mensajero y RNArribosomal comienza en las primeras seis horas y se estabiliza en las siguientes 48 Hrs., ocasionando un aumento en la síntesis proteínica durante las primeras 60 horas.

- Ocurre un incremento de AMPc (adenosin monofosfato cíclico) que produce la fosforilación de proteínas ácidas no histonas, capaces de regular la transcripción y síntesis del ácido desoxiribonucléico, éste proceso comienza a los 3 días y alcanza el máximo aumento a los 4-6 días (30-32).

A.4.3. REGULADORES DE LA ACTIVACION DE LINFOCITOS

La presencia de los macrófagos es indispensable para que se observe la síntesis de ácido desoxiribonucléico (ADN) cuando los linfocitos se estimulan con fitohemaglutinina (PHA), concanavalina A (conca A) ó con antígenos dependientes de T.

Estos agentes tienen propiedades mitogénicas que inducen el aumento en la expresión de la molécula Ia sobre la superficie de los macrófagos, permitiendo de ésta manera la presentación del antígeno a los linfocitos T, que comparten determinantes del MHC y provocan la producción de interleucina I ó Factor Activador de Linfocitos (IL-1 ó LAF), que es un producto soluble secretado por los macrófagos y que estimula a los linfocitos para que éstos produzcan interleucina-2 ó Factor de Crecimiento de células T (IL-2 ó TCGF).

Por otro lado, los ligandos pueden inducir la expresión de receptores de IL-2 en las células T en 5 hrs. aproximadamente, favoreciéndose la unión de IL-2 a la célula y haciendo posible la proliferación de clones de células T en cultivo.

Otros factores como la interleucina-3 funcionan como Factores de re -

producción de células T (IL-3 ó TRF) , que promueven la proliferación de las células B así como la síntesis de inmunoglobulinas IgM e IgG.

Estos estudios permiten la postulación de que los factores de activación actúan como intermediarios para facilitar ó impedir el proceso de diferenciación celular. (30-32).

B. LA DESNUTRICION INFANTIL

B.1. Naturaleza y Clasificación.

Por su frecuencia y por sus consecuencias, la desnutrición infantil merece una atención especial y no es arriesgado asegurar que este es el principal problema de salud pública en el mundo y en nuestro país.

Las investigaciones del Instituto Nacional de la Nutrición, han demostrado que, en promedio, el 65 por ciento de los niños preescolares de las áreas rurales y el 30 por ciento de los de las áreas urbanas de México sufren desnutrición en algunos de sus grados. (75, 76).

Aunque, estrictamente expresado, la desnutrición es el estado biológico ocasionado por la deficiencia de cualquiera de los nutrimentos, en la práctica este término se utiliza para referirse a la deficiencia de energía y proteínas que, por otra parte, casi siempre se combina con la carencia de varias vitaminas y de hierro.

Durante el crecimiento de los niños menos acomodados, se muestran con frecuencia cuatro etapas:

- a) Del nacimiento a los 6 meses de edad: donde el peso de los niños al nacer es generalmente un poco menor que el de los niños que se consideran normales. Las razones pueden variar de una región a otra, pero incluyen la desnutrición materna y el exceso de trabajo durante el embarazo, las infecciones de la placenta, el cuidado prenatal inadecuado y las diferencias hereditarias en diversos grupos humanos. Si el niño es alimentado con el pecho el aumento de peso es usualmente muy bueno durante los primeros 4 ó 5 meses de vida.
- b) Durante los segundos seis meses de vida (6-12 meses), generalmente se continúa la alimentación con el pecho, pero la cantidad ya no es suficiente para el niño más grande; los alimentos adicionales consisten con frecuencia solo en cantidades insuficientes de pastas, carbohidratos y atoles. En este tiempo el niño está perdiendo además de la inmunidad que le pasó su madre a través de la placenta y empieza a ser más susceptible a varias infecciones. Si se alimenta únicamente con el pecho en esta etapa la desnutrición aguda no se observa con frecuencia; sin embargo si falta la lactancia, es probable que se desarrolle la desnutrición.
- c) De 1 a 3 años que es la llamada edad preescolar, se considera como la fase de crecimiento más peligrosa para el desarrollo adecuado del niño. La alimentación con el pecho puede o no continuarse durante parteo la totalidad de este tiempo, pero la cantidad de proteína suministrada en esta forma es pequeña.

El niño además atraviesa por una fase de transición en lo que se refiere a la dieta, la inmunidad a las infecciones y la dependencia psicológica, es una

época de crecimiento rápido y grandes necesidades tróficas, en particular de proteínas para el tejido muscular en pleno desarrollo, en la que debe considerarse que los alimentos deben ser fáciles de masticar y de digerir. La primera señal visible que se manifiesta en la desnutrición es una falla en el aumento de peso.

d) Después de la edad de 3 años, el niño adquiere un cierto grado de resistencia a varias infecciones y puede digerir una variedad más amplia de alimentos de la dieta familiar. Bajo estas circunstancias, aunque puede permanecer con peso y estatura menores de lo normal durante años, empieza a crecer lentamente.

El estado de desnutrición de los niños de corta edad en relación con las proteínas y la energía puede considerarse como una serie descendente interrumpida desde la 'normalidad' pasando por los grados leve y moderado de la desnutrición, hasta los síndromes graves como el kwashiorkor y el marasmo.

(63).

Por su origen, la desnutrición se divide en primaria y secundaria. La desnutrición primaria ocurre por razones generalmente ambientales y ajenas a la patología; como baja disponibilidad de alimento (catástrofes, aislamiento geográfico y escasa capacidad de compra) o barreras de origen cultural (hábitos incorrectos, tabúes, etc.). La desnutrición secundaria es ocasionada por algún padecimiento, en general casi todas las enfermedades son capaces de causar desnutrición en mayor o menor grado, ya que el stress determina un estado catabólico, pero los padecimientos digestivos y metabólicos interfieren además, directamente, sobre el ciclo alimentario en las etapas de ingestión, digestión, absorción transformaciones químicas y excreción. Esta clasificación tiene importancia terapéutica, pero en la práctica, cualquiera que haya sido su origen, la desnutrición acaba por adquirir caracteres mixtos. (77).

La desnutrición se clasifica también por su intensidad. El sistema más difundido internacionalmente es el que se conoce como clasificación de Gómez. Este sistema se basa en el cálculo de un índice ponderal dividiendo el peso real multiplicado por cien entre el peso teórico para la edad que señalan las tablas regionales o nacionales disponibles en muchos países, entre ellos México. Si este índice tiene un valor entre 75 y 90 por ciento, se clasifica como desnutrición de primer grado; entre 60 y 75 por ciento de trata de desnutrición de segundo grado y, cuando es menor de 60 por ciento, la desnutrición se clasifica como de tercer grado.. Cuando hay edema es imposible conocer el peso real y calcular el índice, y como este es un signo de gravedad, su presencia determina automáticamente que se clasifique el caso como de tercer grado.

Existen diversas variantes tanto en la escala como en la metodología para calcular el índice ponderal, como por ejemplo el uso del peso para la talla en vez

del peso para la edad, y la utilización de desviaciones estándar en vez de índices porcentuales. (77).

Las formas de primer grado son las menos graves, más recientes, de mejor pronóstico, de más fácil tratamiento y las más frecuentes en nuestro país, pero al mismo tiempo son las menos evidentes y se necesita por lo menos un examen antropométrico para reconocerlas. De esto se desprende la importancia enorme de establecer y mantener permanentemente un buen sistema masivo de vigilancia del estado nutricional de la población infantil.

Por otro lado, la desnutrición grave de tercer grado puede adquirir dos formas clínicas extremas: el marasmo y el tipo edematoso o kwashiorkor, que con frecuencia se mezclan en formas intermedias.

A.5.2. Cuadro Clínico

Los datos clínicos de la desnutrición infantil son de tres tipos: Universales, que están siempre presentes. Los circunstanciales, que pueden presentarse o no, con diversa intensidad y en diferentes combinaciones. Además son inespecíficos, ya que pueden originarse en muchos otros padecimientos. Los agregados, donde puede injertarse cualquier padecimiento con su propio cuadro clínico.

Estos datos clínicos pueden manifestarse con ciertas diferencias en la -- desnutrición grave. En el kwashiorkor que es un estado patológico debido principalmente a una dieta desequilibrada, formada de carbohidratos en su mayoría y causada en parte por infecciones y parásitos que agravan las deficiencias en la dieta básica. Se manifiestan tres signos a los que puede atribuirse valor diagnóstico: Edema.- Como resultado de un bajo contenido de sólidos en todos los compartimentos, principalmente de proteínas que mantienen la presión osmótica y evitan la salida de fluido de los pequeños vasos sanguíneos hacia los espacios intersticiales. Este puede descubrirse inicialmente en la región anterior de la tibia por la aparición de una depresión bien definida como resultado de una presión moderada ejercida sobre el extremo inferior de la tibia. La atrofia que se expresa más tempranamente y con mayor intensidad en ciertos tejidos como la mucosa intestinal que se aplana notablemente, el páncreas, el bazo, el timo y el hígado. El tejido muscular puede actuar a manera de reserva de proteínas y el niño las consume como emergencia por lo que los músculos se atrofian, mostrándose una capa de grasa subcutánea que refleja la ingestión de energía. La atrofia muscular se manifiesta por reducción del perímetro braquial cuando desaparece el edema.

(63).

Trastorno psicomotor.- El niño que presenta kwashiorkor es apático, triste, inerte, retraído y anoréxico; su desarrollo motor está retrasado. Las alteraciones observadas en el encefalograma sugieren que el cerebro está afectado por trastornos bioquímicos, mientras que los componentes físicos incluyen un descenso en el metabolismo basal así como debilidad e hipotonía debidas a la atrofia muscular intensa. Por otra parte el traumatismo psicológico debido a la separación de la madre asociada al destete es una causa coadyuvante. De esta manera quedan recapitulados brevemente los signos clínicos universales. En cuanto a los datos clínicos considerados como circunstanciales.- por su mayor frecuencia dentro de la desnutrición proteínico-energética vale la pena mencionar los trastornos del cabello, el que representa un indicador indirecto del metabolismo proteínico. En la desnutrición disminuye su grosor y se vuelve quebradizo. Debilitada su implantación, es fácilmente arrancable sin dolor. También pierde su pigmentación pasando de color negro a rojizo, amarillento y finalmente gris o blanco. Los niños con desnutrición de tipo kwashiorkor presentan 'facies lunar', nombre que reciben las mejillas llenas, redondeadas, algo colgantes y abultadas. La anemia presente en estos pacientes, no suele ser grave a menos que concurren otras causas como la anquilostomiasis, paludismo o ka la azar. Como signos clínicos agregados .- pueden presentarse dermatosis en forma de pintura cuarteada, hepatomegalia, lesiones cutáneas como úlceras, fisuras y erupción inguinal, las deficiencias vitamínicas pueden manifestarse como queratomalacia y estomatitis angular y dentro de las infecciones coadyuvantes se incluyen signos pulmonares de tuberculosis, anemia grave en la anquilostomiasis y deshidratación debida a la diarrea aún cuando haya edema periférico.

El marasmo es la otra forma grave de la desnutrición proteínico-energética, se debe a una dieta baja tanto en proteínas como en energía; es de hecho el resultado de la hambruna y puede presentarse tanto en niños como en adultos. Los signos universales del marasmo incluyen el retraso del desarrollo, puesto que el crecimiento es uno de los factores de mayor peso en los requerimientos nutricios y no es una función vital, el organismo infantil, inadecuadamente lo sacrifica, parcial o totalmente; en contraste con la desnutrición de tipo kwashiorkor, la desnutrición de tipo marasmo no presenta edema, las extremidades se muestran muy delgadas, la piel es laxa y los valores de los perímetros y de los pliegues cutáneos son muy pequeños. Otra de las manifestaciones clínicamente importantes son la facies marchita o senil. Dentro de los signos circunstanciales pueden presentarse alteraciones del cabello similares a las de los niños con desnutrición de tipo kwashiorkor, despigmentación de la piel e hipotensión arterial.

Entre los signos clínicos agregados pueden existir deficiencias vitamínicas, deshidratación por diarrea infecciosa o por intolerancia a la lactosa y signos patológicos pulmonares.

Como se ha mencionado anteriormente, la desnutrición es un problema de salud pública presente en nuestro país además de diversas regiones del mundo, donde los niños en edad preescolar son los más afectados. Las alteraciones que suceden en las etapas de la desnutrición son diversas y se han estudiado en humanos y en animales parámetros tanto del metabolismo, como de la evolución y estructura de los órganos.

Los hallazgos más importantes encontrados en relación con la desnutrición abarcan:

- Alteraciones en las proteínas acarreadoras como la albúmina y la transferrina.
- Deformación o pérdida del peso de órganos internos como el hígado, el timo y el bazo.
- Malformaciones óseas.
- Deficiencias hematológicas, de hemoglobina y hematocrito y
- Trastornos inmunológicos. (63,64, 70, 44, 51).

En el presente trabajo, se pretende analizar uno de los aspectos inmunológicos importantes, que se sugiere es afectado de manera temprana por la desnutrición. A continuación se mencionan antecedentes de las alteraciones inmunológicas en la desnutrición.

C. RELACION ENTRE LA INMUNIDAD Y LA NUTRICION

A finales del siglo XIX y principios del siglo XX, se mostró un gran interés en lo que se refiere a los efectos de la mala nutrición sobre el sistema timolinfático.

Simon estudió la estructura y las funciones del órgano timo como indicadores de la desnutrición, Hammar aplicó el término involución accidental para describir los cambios atróficos producidos en el timo por la desnutrición. Por su parte Jackson mencionó los efectos de diferentes grados de desnutrición en diferentes órganos linfoides.

La desnutrición causa cambios en el sistema linfoide del huésped. En diferentes especies se presentan grados variables de atrofia de nódulos linfoides, timo y bazo, los que durante la recuperación manifiestan mejoría en morfología y función (33).

En la década pasada Butterwort y Blackburn revisaron casos de pacientes hospitalizados que presentaban desnutrición secundaria, encontrando que éstos pacientes mostraban intolerancia al stress, alta susceptibilidad a infecciones y que permanecían tiempos más prolongados en el hospital que los pacientes bien nutridos.

Bristian, Hill y Weinsier encontraron en estudios separados que entre un 30 y 50 por ciento de la población hospitalizada mostraba desnutrición energético-proteínica, además de infecciones recurrentes. (43).

Por otro lado, el desarrollo nutricional se utiliza en encuestas epidemiológicas de problemas relacionados con la dieta para la evaluación de programas preventivos ó curativos y como medida indirecta del nivel socio-económico de diversos países.

La ingestión de nutrimentos y la resistencia a infecciones se hayan interrelacionadas, dado que la dieta influye en la inmunocompetencia y es un factor que afecta la incidencia y la severidad de las infecciones. Estudios efectuados en animales muestran que en la desnutrición existe atrofia tímica que puede avanzar a una involución completa llamada timectomía nutricia; los nódulos linfoides muestran disminución del peso y del tamaño; en el timo la zona densa de la corteza y la zona dispersa de la médula no están bien definidas; los corpúsculos de Hassal se encuentran degenerados, expandidos y aglomerados.

Los cambios histomorfológicos se observan más marcados en los pacientes que muestran linfopenia que en aquellos que tienen poca disminución de linfocitos periféricos; en el bazo los grupos periarteriales de los linfocitos son menos abundantes al igual que los nódulos linfoides y centros germinales, los que presentan además menor tamaño.

La patogénesis de los defectos histomorfológicos en la desnutrición - energético-proteínica, es compleja, pues están involucrados diversos factores, como las infecciones bacterianas, virales y fúngicas así como la disponibilidad de minerales y de vitaminas (33, 43).

También se ha estudiado, la producción de interferón en ratones desnutridos y previamente inoculados con virus de neucastle, observandose una deficiente producción de dicha sustancia (35).

La medición directa de la liberación de linfocinas por los linfocitos se utilizó para determinar la hipersensibilidad de tipo retardada a nivel cutáneo, prueba que se considera indicador de la función in vivo del desarrollo de la respuesta inmune mediada por células (36,37).

En México se han realizado investigaciones dirigidas a la evaluación de la respuesta inmune en la desnutrición, donde se demuestra que tanto la respuesta inmune celular como la humoral están afectadas en este padecimiento. (78 - 82); en esta línea de investigación Cravioto y Olarte midieron el título de anticuerpos antitoxina después de estimular con toxoide diftérico, encontrando que en los pacientes con desnutrición existe un título de antitoxina inferior al presentado por los pacientes sanos. (78).

Por otro lado, el sistema biológico de las proteínas del complemento que tiene un papel importante en el inicio y en la amplificación de la respuesta inmune, se ve alterado por disminución de los factores C2, C3 y C4 (34,79) - durante la desnutrición, ésto como resultado de la disminución de la síntesis de proteínas por el hígado y un consumo acelerado de estos componentes debido a la presencia de las infecciones, sin embargo la actividad hemolítica parece no afectarse (79).

Se ha sugerido recientemente que las prostaglandinas (PG) tienen una importancia central en la función normal de las células T y que la formación de prostaglandinas PGE1 es muy susceptible a la ingestión de ácidos grasos indispensables, carbohidratos, piridoxina, zinc, ácido ascórbico y alcoholes, lo que favoreció el diseño de estudios con diferentes técnicas nutriólogicas sobre la función de los linfocitos T.

Existen dos series de prostaglandinas, la PGE1 que deriva del ácido dihogammalinolénico (DGLA) y la serie PGE2 derivada del ác. araquidónico. Ambos precursores se almacenan como lípidos esterificados en casi todas las células del cuerpo.

La PGE1 está presente de manera abundante en el timo, donde provoca un efecto similar al causado por la hormona tímica durante la maduración de los linfocitos T (38). Un estudio efectuado en ratones NZB/W muestra que un estado patológico que se manifiesta por sobreactividad de la función de las células B y alteración de la función de las células T, puede ser tratado con PGE1 exógena y mantener una función normal de células T, inhibiendo la sobreactividad de las células B y de ésta manera se previene el depósito de complejos inmunes en el riñón (42).

Otros hallazgos importantes incluyen:

- El hecho de que la prolactina es útil para desarrollar la formación de PGE1 en el tejido vascular. (39).
- La atrofia tímica se previene suministrando ác. gamma linolénico (41).
- Los glucocorticoides causan atrofia dramática del timo e inhiben la formación de PGE1 (39).
- El zinc es necesario para la movilización del ác. dihogammalinolénico de sus ésteres, contribuyendo así en la formación de PGE1 (39). La deficiencia de zinc provoca atrofia tímica severa en animales y en humanos.
- El ác. ascórbico a concentraciones fisiológicas favorece la conversión de DGLA en PGE1 (40).

Si se considera que las prostaglandinas son importantes en la función de las células T es muy probable que el sistema inmune se module por cambios nutricios que determinen la formación de PGE1.

Estos hallazgos nos proporcionan elementos para comprender la interrelación que existe entre la inmunidad y la nutrición.

D. INDICADORES DEL ESTADO NUTRICIO

La eficacia de una terapia nutricia aplicada a pacientes con desnutrición depende en gran medida de la existencia de métodos que proporcionen información acerca de la evolución del paciente, con éste fin se han diseñado métodos que incluyen la determinación de parámetros antropométricos, bioquímicos e inmunológicos (43).

Como parámetros bioquímicos, recientemente se ha utilizado la determinación de la concentración de varias proteínas viscerales como la albúmina, la transferrina y otras de recambio más rápido como tiroxina unida a prealbúmina (dos días de vida media) y retinol unido a proteína (diez horas de vida media). Estas se han determinado por nefelometría, inmunodifusión radial ó electroinmunodifusión (44-46). Los parámetros inmunológicos explorados incluyen la evaluación de la respuesta de hipersensibilidad retardada (utilizando antígenos proteínicos), cuantificación de los componentes del complemento por inmunodifusión radial, determinación de la proporción de linfocitos T por formación de rosetas E (utilizando eritrocitos de carnero) e inmunofluorescencia y determinación de deoxinucleotidil transferasa terminal (47).

Sin embargo, aunque la recuperación puede ser evaluada adecuadamente por los métodos existentes, el proceso inverso, la desnutrición lo es únicamente durante las etapas tardías de ésta, con lo que se limita el tratamiento oportuno, más efectivo y mediante el cual se podrían evitar secuelas comunes a la desnutrición grave. Estas entre otras razones hacen conveniente la búsqueda de indicadores tempranos de la desnutrición.

El desarrollo de nuevas técnicas inmunológicas permiten en la actualidad cuantificar poblaciones celulares como los linfocitos T cooperadores y los linfocitos T supresores, mismas que han sido estudiadas por diversos investigadores (48, 49, 50), en diferentes padecimientos como en los autoinmunes, de inmunodeficiencias, en la reacción del huésped contra el injerto y en el cáncer; específicamente en la desnutrición existe un solo estudio reportado por Chandra (71) donde se manifiesta que dichas poblaciones de linfocitos están disminuidas en la desnutrición aguda y que alcanzan los valores de referencia cuando son sometidos a la recuperación nutricia. Es conveniente mencionar que dicho estudio fué realizado con seis niños con edades entre los 10 y 32 meses y un peso con respecto a la talla equivalente al 70 por ciento del peso teórico, (etapa que se considera como primer grado de desnutrición), los cuales fueron tratados con una terapia nutricia por un periodo de 4 a 8 semanas.

E. ANTICUERPOS MONOCLONALES

E.1. DIVERSIDAD DE ANTICUERPOS

Los anticuerpos monoclonales forman la clase de proteínas llamadas inmunoglobulinas que se encuentran formadas por una unidad básica consistente en dos cadenas pesadas ó H y dos cadenas ligeras ó L. Las cadenas pesadas se unen a las ligeras por puentes de disulfuro (s-s), así como las dos cadenas pesadas entre sí. Las cadenas pesadas y ligeras están constituidas a su vez por una parte constante C y una parte variable V. (fig. 3).

La gran diversidad que se presenta en los anticuerpos se codifican por tres grupos de genes : Dos de ellos codifican para las cadenas ligeras y son los llamados locus λ y k y uno para la cadena pesada llamado locus H (58). Cada locus se encuentra constituido por diferentes segmentos genéticos que codifican las partes constantes y variables de las inmunoglobulinas.

El arreglo de éstos genes, cuya expresión final es un tipo específico de inmunoglobulina se lleva a cabo durante la diferenciación de los linfocitos, siendo independiente de un linfocito a otro (58). Se ha estimado que un animal es capaz de producir 10^8 moléculas de anticuerpos diferentes, cada una de ellas con cierta especificidad y producida por una clona de linfocitos. Esto se explica debido a la enorme diversidad existente en los genes que codifican para ellos y a las múltiples combinaciones de ensamblaje entre la unión de un solo segmento variable y uno constante, tanto en las cadenas ligeras como en las pesadas; el número de éstas combinaciones aumentan al tomar en cuenta que una cadena ligera puede acoplarse con cualquier cadena pesada para formar diferentes inmunoglobulinas. Más recientemente se ha propuesto un mecanismo denominado de hipermutaciones somáticas que se lleva a cabo en los genes codificantes para las partes variables, ocasionando así una diversidad de anticuerpos aún mayor. Esta se ve reflejada en el suero obtenido de un animal inmunizado contra un antígeno dado, que es de tipo policlonal. La mayoría de los antígenos tienen un gran número de determinantes antigénicos, los cuales provocan la aparición de anticuerpos producidos por clonas celulares diferentes (59). Cada uno de éstos anticuerpos será por tanto monoclonal y los anticuerpos presentes en el suero son la suma de todos los anticuerpos monoclonales dirigidos contra cada determinante antigénico, lo que ocasiona la heterogeneidad del suero. Esta heterogeneidad suele provocar diversos problemas en algunos ensayos inmunológicos.

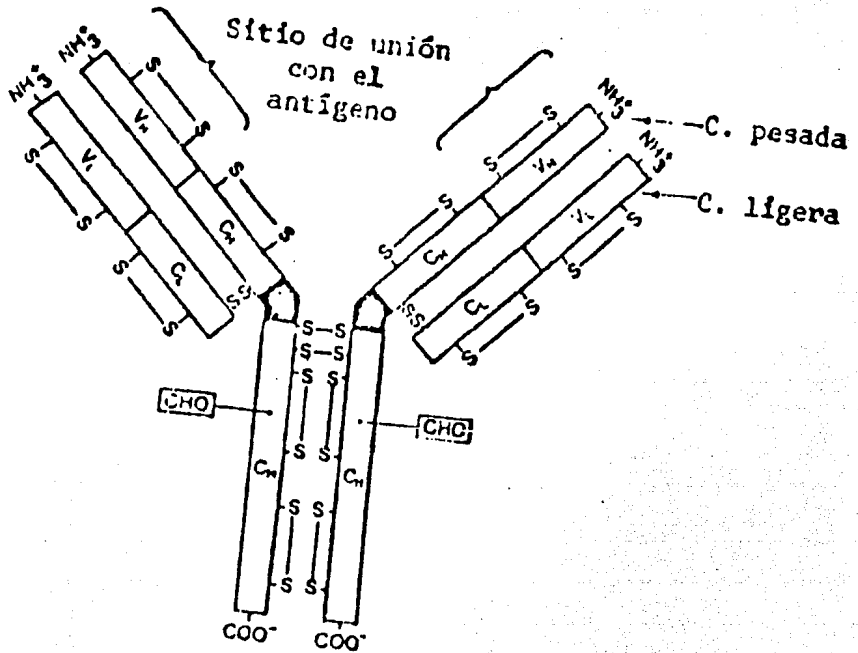


Fig. 3 ESTRUCTURA DE UNA MOLECULA DE INMUNOGLOBULINA

Cadenas pesadas : H formadas por 450 a.a. y con P.M. 50,000

Cadenas ligeras : L formadas por 214 a.a. y con P.M. 25,000

Parte variable de la cadena pesada : V_H

Parte variable de la cadena ligera : V_L

Parte constante de la cadena pesada : C_H

Parte constante de la cadena ligera : C_L

CHO : Cadena de carbohidrato

s-s : Puente de disulfuro.

E.2.PRINCIPIO DEL METODO DE OBTENCION DE ANTICUERPOS MONOCLONALES

Un mieloma es un tumor de las células productoras de anticuerpos, en los que las células sufren una transformación que las lleva a reproducirse de una manera rápida e incontrolable y a producir grandes cantidades de anticuerpos de especificidad desconocida (60). Los mielomas pueden aparecer espontáneamente en el hombre ó en los animales, o bien en éstos últimos pueden ser provocados por medio de virus ó de inyecciones repetidas de aceite mineral; el mieloma obtenido puede transferirse a otros animales de la misma cepa o a un medio de cultivo donde crece y produce la inmunoglobulina. Como cada mieloma es el resultado de la proliferación de una sola clona de células, la inmunoglobulina producida es de tipo monoclonal.

George Kohler y César Milstein fusionaron dos líneas de mieloma productoras de inmunoglobulinas diferentes (61), mediante virus Sendai y cultivaron los híbridos en el medio selectivo HAT (Hipoxantina-aminoptericina-timidina) descrito por Littlefield, con lo que lograron obtener células que producían los anticuerpos de las células padres, así como inmunoglobulinas que eran el resultado de diversas asociaciones entre las cadenas diferentes de las células padres. Posteriormente fusionaron células de mieloma productoras de una inmunoglobulina con células de bazo de un ratón inmunizado con eritrocitos de carnero y encontraron que algunos de los híbridos resultantes, a los que llamaron hibridomas, eran capaces de producir in vivo e in vitro anticuerpos anti-eritrocitos de carnero. Demostraron que los híbridos obtenidos eran el resultado de la fusión entre una célula de mieloma con un linfocito productor del anticuerpo específico, por lo que el anticuerpo secretado era de tipo monoclonal. Este descubrimiento es de gran importancia no solo en el campo de la inmunología, sino en muchas otras áreas. A partir de esto se vislumbró un gran futuro en la obtención de anticuerpos monoclonales hacia un sin fin de antígenos y de hecho a partir de entonces, se obtienen anticuerpos monoclonales para una variedad de antígenos, siguiendo la técnica descrita por -- Kohler y Milstein, la cual se muestra en la fig. 4 (61).

De la misma manera se obtienen anticuerpos monoclonales dirigidos a los componentes antigénicos de la membrana de los linfocitos, lo que permite clasificarlos funcionalmente. A continuación se mencionan algunas de las características de éstos anticuerpos. (62). (FIG. 5).

ANTICUERPO MONOCLONAL	DISTRIBUCION CELULAR	SUBCLASE DE Ig	FIJA COMPLEMENTO
OKT3	95% de linfocitos T periféricos. 20% de timocitos 30% de esplenocitos.	IgG 2a	si
OKT4	65% de linfocitos T periféricos 75% de timocitos 15% de esplenocitos	IgG 2b	si
OKT6	70% de timocitos	IgG 1	no
OKT8	35% de linfocitos T periféricos. 80% de timocitos 15% de esplenocitos.	IgG 2	si
OKT 11	95% de células - formadoras de rosetas E. 95% de timocitos. 10% de linfocitos de médula ósea.	IgG 2	si

FIG.5 Características de los anticuerpos monoclonales utilizados para identificar a los linfocitos T. (62).

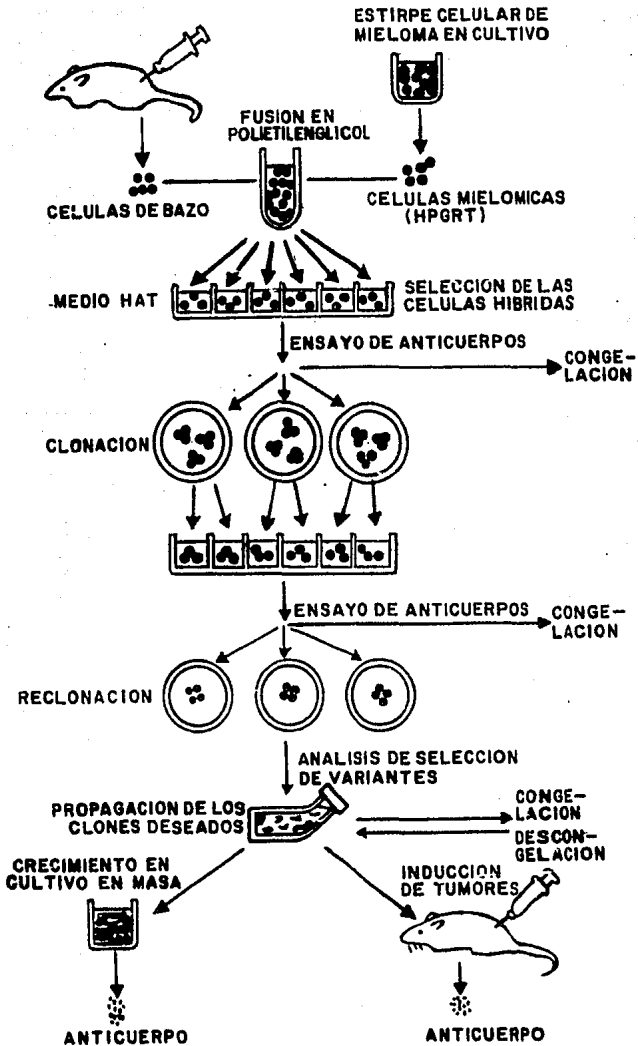


FIG. 4 ESQUEMA CONVENCIONAL PARA LA OBTENCION DE ANTICUERPOS MONOCLONALES

I I O B J E T I V O S

La respuesta inmune es un mecanismo que se encuentra deteriorado en la desnutrición, favoreciendo el agravamiento de las infecciones. Esta alteración se cree que es consecuencia de una modificación en las subpoblaciones de los linfocitos T, dado que ejercen una acción reguladora de dicha respuesta.

Si las subpoblaciones de linfocitos T varían en número en el transcurso de la recuperación de pacientes con desnutrición, entonces es conveniente explorar la posibilidad de utilizarlas como indicadores inmunológicos del estado nutricional. Para lo cual se diseñó el presente estudio con los objetivos siguientes:

- 1) Cuantificar las poblaciones de linfocitos T, linfocitos T cooperadores y linfocitos T supresores durante el proceso de recuperación de niños desnutridos, así como en niños bien nutridos.
- 2) Determinar si existe correlación entre el porcentaje de peso para la talla y las poblaciones de linfocitos T, linfocitos T cooperadores y linfocitos T supresores durante el proceso de recuperación en los niños desnutridos.

DISEÑO DEL ESTUDIO

- 1- Selección de los sujetos.
- 2- Obtención de una muestra de sangre periférica de los niños desnutridos cada quince días desde su ingreso hasta su egreso , para la cuantificación de las poblaciones de linfocitos T, Linfocitos T cooperadores y linfocitos T supresores, así como para la determinación de las concentraciones plasmáticas de albúmina y transferrina.
- 3- Evaluación antropométrica de manera colateral a la cuantificación de linfocitos.
- 4- Determinación de la citología hemática en cada una de las muestras obtenidas de los niños desnutridos.

M E T O D O L O G I A

A. SELECCION DE LA POBLACION

A.1 POBLACION DE NIÑOS TESTIGO

Se eligieron 19 niños bien nutridos entre 18-58 meses de edad, no parasitados, de la guardería del Instituto Nacional de Pediatría (con la participación voluntaria de los padres).

El criterio de selección fué bajo las condiciones siguientes:

- Los niños debían tener un porcentaje de peso con relación a la talla entre 90-110 %, pues es el intervalo de la media presentado por los niños normales de nuestro país (Gómez) (54).
- El porcentaje del peso con relación a la edad debía estar en un intervalo de 95 y 110 %, para eliminar la posibilidad de una desnutrición crónica.
- Las concentraciones plasmáticas de albúmina determinadas por inmunodifusión radial debían estar entre 350 y 550 mg/dl.
- Para comparar los valores de las concentraciones de transferrina plasmática se tomaron como valores de referencia los reportados por Laboratorios Merck (de la misma manera que para los valores de albúmina) y que incluyen un intervalo entre 200 y 400 mg/dl.
- Al evaluar la citología hemática se tomaron como referencia los valores establecidos en el Instituto Nacional de Pediatría, y que se indican en el cuadro siguiente:

EDAD	de 6 a 12 meses	de 24 a 120 meses
<u>INDICADOR</u>		
Hemoglobina	de 11 a 15 g/dl	de 11.5 a 12.5 g/dl
Hematocrito	de 34 a 40 %	de 35 a 39 %
Leucocitos	de 6 a 17 X 10 ³ /mm ³	de 6 a 14 X 10 ³ /mm ³
Linfocitos	de 30 a 65 %	de 30 a 60 %
Segmentados	de 10 a 35 %	de 25 a 50 %
Basófilos	de 0 a 1 %	de 0 a 1 %
Eosinófilos	de 1 a 4 %	de 1 a 4 %
Monocitos	de 4 a 12 %	de 2 a 10 %
Banda	de 5 a 10 %	de 4 a 6 %

A.2 . GRUPO DE NIÑOS DESNUTRIDOS

Se eligieron 19 niños entre 4 y 48 meses de edad que ingresaron a la sala de Nutrición del Instituto Nacional de Peiatria con las siguientes características:

- Presentaban un porcentaje de peso con relación a la talla entre 50 y 80 %
- Los niños presentaban desnutrición de tipo marasmática mixta.
- Antes de ingresar al estudio los niños fueron desparasitados.

B. DETERMINACION DE LAS MEDIDAS ANTROPOMETRICAS

Las medidas antropométricas son los indicadores más utilizados en la actualidad para la evaluación del estado nutricional en comunidades, pues existen valores de referencia para niños y adolescentes de nuestro país, además de evaluarse por métodos sencillos, baratos y que proporcionan resultados de fácil interpretación. Estas mediciones indican si el crecimiento y desarrollo de huesos, masa muscular y capa de grasa subcutánea aumenta con la edad de manera simétrica, armónica y proporcional de acuerdo con las características genéticas y étnicas del individuo. Sin embargo, la evaluación antropométrica no es considerada como el mejor indicador del estado nutricional, debido a que presenta variaciones mínimas frente a cambios notables en la deficiencia de nutrientes, siendo de esta manera un indicador de la desnutrición en etapas avanzadas de ésta, es decir cuando los daños de la desnutrición son perceptibles a simple vista y la posibilidad de la presencia de secuelas es mayor. No obstante éstas determinaciones son de gran utilidad cuando se efectúan de manera simultánea con otras pruebas como las bioquímicas e inmunológicas.

Los indicadores que se evaluaron en este trabajo fueron los siguientes:

- Perímetros: cefálico, torácico, de brazo, de muslo y de pierna.
- Pliegues cutáneos: tricipital, abdominal e inter escápulo vertebral.

B.1 MATERIAL

Plicómetro

Infantometro

Cinta métrica metálica

Báscula.

Para la determinación del peso corporal y el perímetro abdominal, las mediciones deben efectuarse antes de que el individuo ingiera alimentos, para evitar la obtención de valores erróneos y para facilitar el manejo de los niños durante la evaluación.

- Determinación del peso.- La báscula debe permanecer en una superficie plana, horizontal y firme. Antes de iniciar las mediciones se debe comprobar el buen funcionamiento del aparato y por lo menos una vez a la semana su exactitud, empleando para ello un juego de pesas de valor conocido (PAHO Manual of Anthropometric studies for Latin American and the Caribbean 1973). (52).

- Determinación de la talla.- En niños menores de 90 cm., se toma la longitud en decúbito, empleando para ello el infantómetro. En niños mayores de 90 cm es necesario el uso de un altímetro. La medición se realiza entre dos personas para mantener al niño en posición óptima.

Se coloca al niño desnudo en posición decúbito supino sobre el eje longitudinal del dispositivo, sosteniendo la cabeza para que la parte superior de ésta quede junto al borde superior del aparato. Además, se debe cuidar que el plano de Frankfort (línea imaginaria que une el borde superior del conducto auditivo externo con el borde inferior de la órbita) sea perpendicular a la mesa y las plantas de los pies del niño se ponen en contacto con la parte inferior del infantómetro. A continuación se toma la lectura aproximando a milímetros. (53).

- Perímetro cefálico.- La medición se efectúa estando el sujeto sentado frente al explorador. Antes de proceder se deben eliminar peinados ó accesorios que obstaculicen una buena medición. La cinta métrica se adosa desde la parte más prominente del occipital hasta la región frontal, sobre el arco superciliar. (54).

- Perímetro torácico.- Teniendo al sujeto sentado, se adosa la cinta en posición perpendicular al eje del cuerpo, pasándola por delante a nivel del apéndice xifoides y por detrás abajo del ángulo inferior de la escápula. La aproximación se efectúa hasta milímetros.

- Perímetro del brazo.- Se coloca al sujeto sentado y se toma la región media entre el acromión y el olécrano. Se adosa la cinta al brazo y se toma la lectura.

-Perímetro de la pierna.- Continuando con la misma posición, se marca el punto medio entre la articulación de la rodilla y el maleolo externo. Se adosa la cinta y se registra la lectura aproximando a milímetros.

-Perímetro del muslo.- Teniendo al sujeto sentado, se localiza la región media entre la articulación coxofemoral y la articulación de la rodilla, se adosa la cinta en ésta región y se determina la medida.

- Pliegue tricipital-- Se sostiene y levanta el brazo del sujeto para que la región del tricipital se encuentre relajada, el pliegue se toma en ésta región con el plicómetro teniendo en cuenta que no se debe llegar al músculo, pues lo que se pretende medir es la capa lipídica del brazo.

-Pliegue abdominal.- Este se toma en el punto medio obtenido a partir de la intersección trazada entre la línea axilar media llevada hasta la última costilla y la cicatriz umbilical.

- Pliegue inter escápulo vertebral.- El sujeto se coloca de espaldas al explorador y se localiza la región media entre el vértice inferior de la escápula y la columna vertebral.

Todos los pliegues cutáneos deben tomarse en sentido del eje longitudinal del cuerpo. (54, 63).

C. INDICADORES BIOQUIMICOS

C.1 DETERMINACION DE ALBUMINA PLASMATICA POR EL METODO DE INMUNO DIFUSION RADIAL (IDR). (64, 65, 73).

Este método se aplica para la cuantificación de antígenos, fundamentalmente de las fracciones plasmáticas humanas. Para llevarlo a cabo se emplea una placa de gel de agarosa purificada, al que se incorpora el suero específico para la fracción que se desea cuantificar. En ésta placa se practican horadaciones y en ellas se coloca un volúmen, medido con exactitud, tanto de un estándar en tres diluciones cuya concentración se conoce, como de los sueros problema. Al difundirse el antígeno correspondiente en el seno de la agarosa que contiene el anticuerpo, se va formando un halo de precipitación alrededor del pozo donde se colocó el antígeno. El diámetro de la zona de precipitación es directamente proporcional a la concentración del antígeno presente en el suero problema.

C.1.1. Preparación de las placas de IDR

Los reactivos utilizados fueron los siguientes:

- Agarosa al 1 % preparada en solución reguladora tris-barbital, sodio-barbital de fuerza iónica igual a 0.05 M, para permitir la difusión de las proteínas.
- Antialbúmina diluida a su título máximo (1:16) a partir de una concentración de 58 mg/ml.
- Placas de inmunodifusión radial L C -Partigen Radial Immunodiffusion plates . Behring Diagnostics.

Procedimiento:

Se mezclan tres mililitros de antialbúmina a 45°C con tres mililitros de agarosa al 1 % quedando una concentración de antialbúmina de 0.009 mg por ml en el gel de agarosa. Se aplican a la placa de IDR que se encuentra sobre una base firme, nivelada y en un lugar de temperatura homogénea (35° C). Las placas se dejan solidificar a temperatura ambiente, para posteriormente ser refrigeradas de 2 a 4 horas. Las placas se perforan con un horador metálico calibrado (LKB) obteniendo un pozo de 28 mm de diámetro, adecuado para colocar 5 microlitros de la muestra. Para almacenar las placas se utilizan bolsas de polietileno selladas y se colocan a 4°C en una cámara húmeda con azida de sodio como conservador.

C.1.2. Preparación de la curva Patrón:

Para obtener una curva estándar de albúmina se utilizó un antígeno comercial (SIGMA) equivalente a una concentración de 100 mg/ml, a partir del cual se realizaron diluciones:

- 15 microlitros de albúmina estándar llevada a un mililitro con solución salina isotónica proporciona una solución de $150 \text{ mg/dl} = 1.5 \text{ mg/ml}$.
- 10 microlitros de albúmina estándar llevados a un ml con solución salina isotónica dieron la solución de $100 \text{ mg/dl} = 1 \text{ mg/ml}$.
- La solución de $50 \text{ mg/dl} = 0.5 \text{ mg/ml}$ se obtuvo al mezclar 100 microlitros de la solución de concentración igual a 100 mg/dl con 100 microlitros de solución salina isotónica.

Se colocaron 5 microlitros de cada una de las soluciones con las concentraciones mencionadas en los pozos correspondientes y se incubó por 24 horas a temperatura ambiente dentro de una cámara húmeda, después de los cuales se determinaron los diámetros de precipitación. A partir de los datos obtenidos se realizó una gráfica colocando en el eje de las abscisas el valor de las concentraciones y en el eje de las ordenadas los valores de los diámetros elevados al cuadrado y expresados en cm^2 .

El valor del cuadrado del diámetro de la muestra problema se interpola en la curva patrón y se obtiene un valor de concentración que se multiplica por 30 (factor de dilución de la muestra de plasma) para obtener el valor real de albúmina.

C.2. DETERMINACION DE TRANSFERRINA PLASMATICA POR EL METODO DE INMUNODIFUSION RADIAL (64,65).

C.2.1. Preparación de las placas de IDR

Se utilizaron los reactivos siguientes:

- Agarosa al 1 % en solución reguladora tris-barbital, sodio-barbital, de fuerza iónica igual a 0.05 M.
- Antitransferrina diluida a su título máximo (1:8) a partir de una concentración de 50.25 mg/ml (SIGMA CHEMICAL COMPANY).
- Placas de inmunodifusión radial LC - Partigen Radial Immunodiffusion plates. Behring Diagnostics.

Procedimiento:

Se mezclan tres mililitros de antitransferrina con tres mililitros de agarosa al 1% quedando una concentración de 0.0314 mg/ml en el gel de agarosa. Se aplican a la placa de IDR colocada sobre una base firme y ni-

velada en un cuarto de temperatura homogénea (35°C). Las placas se dejan solidificar a temperatura ambiente, para después ser refrigeradas de 2 a 4 horas. Las placas se perforaron con un horador metálico para obtener pozos de 28 mm de diámetro, adecuado para colocar 5 microlitros de muestra. Las placas se almacenaron en bolsas de polietileno selladas y colocadas en una cámara húmeda con azida de sodio como conservador a 4°C.

C.2.2. Preparación de la curva patrón de transferrina

Para la realización de la curva patrón se utilizó un antígeno comercial (SIGMA Chemical Company) con una concentración de 100 mg de transferrina en un mililitro, a partir de la cual se prepararon las diluciones siguientes:

- Se tomaron 12.0 microlitros de la solución patrón y se le adicionaron 88.0 microlitros de solución salina isotónica, para obtener una solución de concentración igual a 120 mg / dl.
- A partir de la solución de concentración 120 mg/dl se efectuó una dilución 1:1 y se obtuvo una solución de concentración 62.5 mg/ dl.
- Se preparó una dilución 1:1 de la solución anterior y se obtuvo una solución de concentración 62.5 mg/dl.

Se colocaron 5 microlitros de cada una de las soluciones en cada uno de los pozos correspondientes y se incubaron las placas durante 24 horas a temperatura ambiente en una cámara húmeda. Después de pasado este periodo se midieron los diámetros de los halos de precipitación utilizando un Me Bprojektor mit Netzschalter (Behring) y se construyó una gráfica en la que se colocaron los valores de las concentraciones en el eje de las abscisas y el cuadrado del diámetro en cm del halo de precipitación en el eje de las ordenadas.

A partir de la gráfica construída se obtuvieron los valores de las concentraciones de las muestras problema, los que se multiplicaron por 5 debido a la dilución del plasma.

D. CITOLOGIA HEMATICA

D.1. DETERMINACION DE HEMOGLOBINA. (55-57)

Uno de los indicadores más utilizados para evaluar la recuperación de pacientes con anemias es la concentración de hemoglobina dado que es muy sensible en la manifestación de mejoría de éste padecimiento.

La hemoglobina es una proteína pigmentada de rojo que da a la sangre su color característico; se encuentra casi totalmente en los eritrocitos y su principal función es la de transportar oxígeno de los pulmones a las células de los tejidos del cuerpo. Toda deficiencia sería de hemoglobina dá por resultado que sea insuficiente la cantidad de oxígeno disponible para que los tejidos satisfagan sus necesidades energéticas y de metabolismo normal. Su concentración disminuye rápidamente durante los primeros meses de vida y luego con algo más de lentitud hasta 12 g/dl que se alcanza durante el segundo año de vida, luego aumenta lentamente hasta la pubertad donde se estabiliza en las mujeres, mientras que en los varones sigue aumentando hasta los 17 años aproximadamente.

La técnica empleada para su determinación consiste en mezclar la sangre con un reactivo que contiene cianuro y ferricianuro de potasio, el cual convierte la oxihemoglobina y la hemoglobina reducida en cianometahemoglobina que manifiesta una absorbencia característica a 540 nanómetros y que es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina .

Los reactivos utilizados en la determinación son los siguientes:

- Reactivo de Drabkin.- Se prepara mezclando:

1 g de NaHCO_3 (bicarbonato de sodio)

50 mg de KCN (cianuro de potasio)

200 mg de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (ferricianuro de potasio)

Se afora a un litro con agua destilada y se almacena en refrigeración en frascos color ámbar.

-Solución patrón de hemoglobina.- Solución Acuglobin (Ortho Diagnostic Systems) con una concentración de 60.7 mg de hemoglobina por 100 ml.

D.1.1. Dosificación de la hemoglobina

En un tubo de 15X 125 mm se colocaron 10 ml del reactivo de Drabkin. Con una pipeta capilar de 20 microlitros (pipeta de Thoma) se tomó una alícuota de sangre venosa heparinizada y se colocó en el tubo que contenía el reactivo de Drabkin, lavando la pipeta 2 ó 3 veces por aspiración y expulsión del reactivo dentro de la misma a fin de arrastrar toda la sangre. La sangre y el diluyente se mezclaron bien y se leyó la absorbencia a 540 nanómetros; el resultado obtenido se interpoló en una gráfica realizada con soluciones de concentraciones conocidas de hemoglobina. Las muestras problema se determinaron por duplicado.

D.1.2. Preparación de la curva patrón para la hemoglobina

Las soluciones patrón se prepararon a partir de 2 ampollas de Acuglobin (Ortho).

Debido a que se efectuó una dilución de 0.02 ml de sangre con 10 ml del reactivo de Drabkin, se obtuvo una dilución final de 1: 501, factor que se utilizó para corregir los valores de las concentraciones de Acuglobin:

Concentración original de Acuglobin = 60 mg / dl

$$60 \text{ mg/dl} \times 501 = 30,060 \text{ mg/dl} = \underline{30.06 \text{ g/ dl}}$$

A partir de ésta solución se prepararon diluciones de concentraciones iguales a 20, 15, 10 y 5 g de hemoglobina por 100 ml de la siguiente manera:

- 1) Solución de 20 g/dl.- Se pipetearon 10 ml de la solución patrón y se le adicionaron 5 ml del reactivo de Drabkin.
- 2) Solución de 15 g/dl.- Se mezclaron 5 ml de la solución patrón con 5 ml del reactivo de Drabkin.
- 3) Solución de 10 g/dl.- Se pipetearon 5 ml de la solución obtenida en 1) y se mezclaron con 5 ml de solución de Drabkin.
- 4) Solución de 5 g/dl.- Se mezclaron 5 ml de la dilución obtenida en 3) y se agregaron a 5 ml de la solución de Drabkin.

Después de obtener las diluciones antes mencionadas, se efectuaron lecturas de absorbencia en el espectrofotómetro (usando como blanco el reactivo de Drabkin) a 540 nanómetros, con los datos así obtenidos se construyó una gráfica, colocando en el eje de las abscisas el valor de las concentraciones y en las ordenadas los valores de las absorbencias correspondientes.

Las lecturas de las muestras problema se compararon con las correspondientes a la curva patrón interpolándolas para obtener el valor de las concentraciones de hemoglobina.

D.2 DETERMINACION DEL MICROHEMATOCRITO. (66)

En padecimientos como las anemias la disminución de los valores de la concentración de hemoglobina total refleja primariamente disminución del número de eritrocitos, aunque puede ocurrir también una disminución del contenido de hemoglobina por célula. Como los eritrocitos fisiológicamente normales tienen su máximo contenido de hemoglobina, todo aumento de ésta por encima del valor de referencia se debe, en general al aumento anormal en el número de células a menos que el aumento en la concentración sea causado por disminución del volumen de plasma.

Las células sanguíneas así como los componentes adicionales de la sangre presentan diferentes velocidades de sedimentación que pueden utilizarse para la separación diferencial de dichos componentes. En este caso la centrifugación permite separar de la sangre completa el paquete eritrocítico, los glóbulos blancos y el plasma.

El material utilizado constó de: una centrifuga para tubos capilares, tubos capilares, lector de tubos capilares (International Equipment Company)

Procedimiento:

Se colocaron en un tubo capilar aproximadamente 20 microlitros de sangre heparinizada. Se selló uno de los extremos del tubo capilar y se centrifugó a 11, 000 rpm durante 1 min. Para determinar la proporción de eritrocitos que ocupa un volumen de sangre completa se utilizó el lector de tubos capilares.

E. AISLAMIENTO DE CELULAS MONONUCLEARES MEDIANTE UN GRADIENTE DE FICOLL- HYPAQUE. (68,69)

Los eritrocitos son más pequeños que las células mononucleares, pero debido a que son menos esféricos y más densos sedimentan más rápidamente. La densidad de los eritrocitos es de 1.093 g/ml, la de células mononucleares de 1.080 g/ml y la densidad de la sangre de 1.05 a 1.055 g/ml.

Debido a la dificultad de obtener una separación completa de las células de la sangre basándonos solo en la variación de sus propiedades físicas, se introducen factores como la capacidad que tienen las células de formar grupos y la osmolaridad del medio que las suspende, ésta última al incrementar, ocasiona que las células pierdan agua y su densidad aumente, moviéndose más rápido. La agrupación de los eritrocitos puede incrementarse con el uso de sustancias como el dextran, ficoll y polivinil pirrolidona entre otras. La capacidad del ficoll de agrupar a los glóbulos rojos se acelera mezclándolo con el diatroazoato de sodio(hypaque).

La técnica empleada se basa en una reacción en la interfase donde los eritrocitos se agrupan por acción del ficoll-hypaque y se separan del medio por la centrifugación, quedando como "botón" en el fondo del tubo. El 50 % ó más de los glóbulos blancos permanecen en la interfase y pueden extraerse con una pipeta.

Reactivos utilizados en la separación:

- Solución balanceada de fosfatos (PBS) :

NaCl (cloruro de sodio)	8	g
KH_2PO_4 (fosfato diácido de potasio)	0.2	g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ (fosfato monoácido de sodio)	2.9	g
KCl (cloruro de potasio)	0.2	g

Se disuelven todos los reactivos y se afora la solución a 1 litro con agua destilada ajustando antes el pH a 7.4 .

- Ficoll-Hypaque

Ficoll.- polímero de sacarosa P.M. 400,000 altamente soluble en agua.

Hypaque.- diatroazoato de sodio P.M. 635.9

Se mezclaron 10 partes de hypaque al 39.9 % con 24 partes de ficoll al 9 % . Se ajustó la densidad a 1.077 g/ml . La determinación de la densidad se efectuó utilizando un picnómetro de 10 ml.

- Solución lisadora de glóbulos rojos :

NH_4Cl (cloruro de amonio)	0.826	g
KHCO_3 (bicarbonato de potasio)	0.1	g

EDTA (etilen diamino tetrasódico) 0.0037 g

Se mezclan los reactivos y se afora a 100 ml con agua destilada.

Procedimiento:

Se obtuvieron 3 mililitros de sangre venosa y se colocaron en un tubo de 13 X 100 mm heparinizado (30 UI de heparina / ml de sangre). La sangre se diluyó 1:3 con solución de PBS y se estratificaron alícuotas de 3 ml sobre 2.5 ml de ficoll - hypaque. Los tubos se centrifugaron a 700g durante 30 min. a una temperatura constante de 20°C. La capa de glóbulos blancos que permanece en la interfase se extrajo con una pipeta Pasteur para colocarla en otro tubo de ensayo de 13 X 100 mm. Las células se lavaron una vez con solución lisadora de glóbulos rojos para eliminar la contaminación por estas células y 3 veces con PBS (cada uno de los lavados con 10 min. de centrifugación). Las células se resuspendieron en 0.5 ml de PBS y se les determinó la viabilidad mediante una tinción con colorante azul tripán al 0.5 %; las células se contaron en una cámara de Neuberger y se ajustaron a una concentración de 1×10^7 células por mililitro.

F. CUANTIFICACION DE LINFOCITOS T, LINFOCITOS T COOPERADORES Y LINFOCITOS T SUPRESORES (62, 71).

Como se ha mencionado en páginas anteriores, las poblaciones de linfocitos humanos presentan receptores de membrana específicos que están relacionados con su función. Estos receptores tienen la capacidad de unirse a un anticuerpo específico obtenido por inmunización a ratones. Cuando se une el anticuerpo al receptor, la presencia de un segundo anticuerpo anti-gamma globulina de ratón obtenido en cabra y marcado con isotiocianato de fluoresceína (ó cualquier otro fluorocromo) permite que las células puedan ser cuantificadas por la luz fluorescente que emiten.

La fluorescencia puede determinarse por microscopía o por medio de la utilización de un citofluorógrafo; este último permite el paso de una fracción celular a través de un rayo láser, el cual es desviado por la densidad y la fluorescencia de cada célula a la que se le unió el anticuerpo, esta desviación es detectada y transformada en una señal eléctrica que determina la proporción de células fluorescentes en la muestra de 1×10^6 células mononucleares / ml.

Los reactivos utilizados en la determinación fueron:

- Solución balanceada de fosfatos (PBS) pH= 7.4

- Anticuerpos monoclonales Ortho Diagnostic Systems :
 - OKT3 con 50 microgramos de proteína / ml para la determinación de linfocitos T totales.
 - OKT4 con 50 microgramos de proteína / ml para la cuantificación de linfocitos T cooperadores.
 - OKT8 con 25 microgramos de proteína / ml para la determinación de los linfocitos T supresores.
- Anticuerpo anti gamma globulina de ratón conjugado con FITC (isotiocianato de fluoresceína), desarrollado en cabra y adsorbido con proteínas séricas humanas. (SIGMA Chemical Company).
 - 1 ml de anticuerpo específico conjugado con FITC reacciona con 1 mg de gamma globulina de ratón (determinado por inmunodifusión radial).

Procedimiento:

Se colocaron 100 microlitros de la suspensión de células mononucleares de concentración 1×10^7 células / ml en un tubo de ensayo de 13 por 100 mm. Se incubaron a 4°C en baño de hielo (para evitar la endocitosis) durante 30 minutos con 10 microlitros del anticuerpo monoclonal correspondiente (OKT3, OKT4 u OKT8), agitando cada 10 minutos durante la incubación. Después de éste periodo de tiempo, las células se lavaron con PBS 2 veces, centrifugando a 700 g para después incubarlas con 10 microlitros de anti gamma globulina de ratón por un periodo de 30 minutos agitando cada 10 min. Las células se lavaron 2 veces con PBS y se resuspendieron en 1 ml de PBS para después ser leídas en el citofluorógrafo.

En la determinación se elaboró un blanco para la calibración del aparato que consistió en incubar 100 microlitros de células mononucleares de concentración 1×10^7 células/ ml con 10 microlitros de anticuerpo anti gamma globulina de ratón fluoresceinado.

Los resultados se informan como la proporción de linfocitos T, linfocitos T cooperadores ó linfocitos T supresores y citotóxicos por células mononucleares. También se informa el índice de células T cooperadoras / células T supresoras.

I V R E S U L T A D O S

POBLACION DE NIÑOS DESNUTRIDOS:

Al ingresar los niños desnutridos al Instituto Nacional de Pediatría, se les tomaron muestras (biológicas) para realizarles estudios coproparasitoscópicos, encontrándose en el 90 por ciento de ellos infecciones por Escherichia coli enteropatógena, Salmonella tify ó Shigella dysenteriae. Algunos de los niños presentaron cuadros patógenos bronquiales y otros menos infecciones de las vías urinarias.

Las infecciones fueron tratadas con diferentes antibióticos como la ampicilina, gentamicina, cicloxacilina o amikacina y bactrim en el caso de infecciones de las vías urinarias.

De manera paralela al tratamiento con antibióticos se les suministraron electrolitos por vía oral o intravenosa según el grado de deshidratación que presentaban y que era debida principalmente a los cuadros diarréicos infecciosos.

La recuperación nutricia se inició cuando los niños ingresaron a la sala de Nutrición del INP; se empleó inicialmente una dieta de 40 kcal por kg de peso, la que primero se aumentó a 80 y luego a 200 kcal por kg de peso, utilizando leche entera al 5 por ciento y al 10 por ciento respectivamente. Cuando los niños ya fueron capaces de ingerir ésta cantidad de energía sin presentar cuadros diarréicos, se les proporcionó como suplemento una dieta complementaria de 100 kcal por kg de peso.

Los valores específicos de la ingesta diaria de cada niño no se mencionan debido a que esto correspondería a un estudio por demás detallado, pero es importante aclarar que la ingesta fué conveniente para la recuperación nutricia esperada.

Como se puede observar en el cuadro 1, los niños bien nutridos presentaron valores de peso corporal bastante homogéneos, que incluyeron datos entre 13.68 y 17.26 kg y que corresponden al peso adecuado para la talla presentada, tomando en cuenta que sus valores abarcaron un intervalo entre 90 y 110 por ciento del peso teórico de niños mexicanos. Por otro lado, cuatro de los casos mencionados en el cuadro 1 no presentaron el peso adecuado para su edad lo que sugiere que éstos individuos no recibieron una nutrición satisfactoria durante los primeros años de vida o que su complexión es delgada por características propias.

El cuadro 2 describe los valores de los pliegues cutáneos, así como de los perímetros cefálico, del brazo, del muslo y de la pierna de los niños bien nutridos, mostrando las desviaciones estándar de dichos valores que manifiestan poca variabilidad y similitud en la masa muscular de los niños.

Con respecto a los niños con desnutrición se observó que las edades presentadas con mayor frecuencia estuvieron entre seis y once meses confirmando que los niños en edad preescolar son altamente susceptibles a la desnutrición y a las infecciones por estar en etapa de crecimiento y a la inmadurez de su sistema inmune. El peso de la mayor parte de éstos niños tuvo valores inferiores a los de niños normales (54), lo que es evidente cuando se observan los valores de adecuación del peso con respecto a la talla (cuadro 3), sin embargo, en tres de los casos el peso es el adecuado para la talla, pero esto es debido a la presencia de edema por la disminución de la concentración de sólidos en la sangre.

Los valores de la adecuación del peso con respecto a la edad de los niños desnutridos, manifiestan retardo severo del crecimiento como consecuencia de la desnutrición crónica.

CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS NIÑOS NORMALES

Sujeto	Edad (meses)	Estatura (cm)	Peso (kg)	Adecuación del peso para la talla (%)	Adecuación del peso para la edad (%)	Sexo
1	18	81.00	12.600	111.75	110.52	M
2	22	86.25	13.300	107.60	109.10	M
3	24	91.00	14.200	104.41	115.63	F
4	24	89.00	14.100	107.59	112.35	M
5	27	89.00	15.400	117.50	117.91	M
6	27	95.00	15.800	107.33	120.98	M
7	36	91.50	15.000	107.91	105.26	F
8	38	97.00	14.700	96.20	99.79	F
9	40	102.00	17.400	102.83	112.14	M
10	48	93.50	13.700	94.87	84.35	F
11	48	102.50	16.000	93.18	98.52	F
12	48	103.50	19.700	112.25	119.46	M
13	48	98.00	14.500	92.97	89.28	F
14	48	99.00	14.400	90.45	88.66	F
15	48	105.00	16.800	93.95	101.87	M
16	48	110.00	18.800	96.55	115.76	F
17	48	98.00	16.200	103.90	98.24	M
18	54	91.50	16.00	115.10	92.64	F
19	58	-	15.500	-	-	F
\bar{x} =	38.55	95.70	15.470	103.13	105.13	
DE =	11.75	7.35	1.79	8.39	11.31	

VALORES DE PLIEGUES CUTANEOS ABDOMINAL, TRICIPITAL, INTERESCAPULO VERTEBRAL Y PERIMETROS CEFALICO, DE BRAZO, DE MUSLO Y DE PIERNA DE LOS NIÑOS NORMALES

PLIEGUES CUTANEOS (mm)			PERIMETROS (cm)			
ABDOMINAL	TRICIPITAL	I . E . V . .	CEFALICO	BRAZO	MUSLO	PIERNA
4.5	9.5	9.0	50.0	16.6	26.6	18.8
4.5	6.0	7.0	48.8	16.3	27.9	18.1
5.5	6.0	8.0	49.0	15.8	29.4	18.8
3.0	8.5	7.0	49.6	15.0	27.5	18.9
6.0	9.0	7.0	52.0	16.0	30.0	20.4
5.5	8.0	7.0	50.0	16.6	30.8	18.9
4.5	6.0	5.5	51.0	16.7	31.0	21.9
5.0	10.0	7.5	50.9	15.7	28.7	19.7
4.0	7.5	11.5	50.3	17.0	31.3	19.8
3.5	6.0	4.5	48.6	15.0	27.2	17.6
6.5	10.0	7.0	48.6	15.7	29.0	18.9
4.0	8.5	5.0	49.8	18.5	32.9	29.7
5.5	8.0	6.0	50.1	15.1	27.7	17.1
5.0	9.0	5.0	49.8	15.7	28.0	18.0
5.0	8.0	6.0	49.1	16.3	30.2	18.3
8.0	11.0	8.0	49.8	19.6	33.1	20.3
5.0	7.0	5.0	50.8	16.2	28.0	18.7
5.0	8.0	8.5	50.0	17.2	31.0	18.3
-	-	-	-	-	-	-
$\bar{x} = 5.0$	8.1	6.9	49.9	16.38	29.46	19.56
DE = 1.29	1.51	1.73	0.91	1.17	1.93	2.76

CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS NIÑOS DESNUTRIDOS A SU INGRESO

Sujeto	Edad (meses)	Estatura (cm)	Peso (kg)	Adecuación del peso para la talla (%)	Adecuación del peso para la edad (%)	Sexo
1	3.0	52.0	3.62	96.53	60.63	M
2	4.0	59.0	3.33	60.32	50.07	M
3	4.0	58.5	3.30	59.78	49.62	M
4	6.0	56.0	3.00	63.15	40.87	F
5	6.0	61.1	4.35	73.10	59.26	F
6	7.0	62.9	4.24	64.83	51.70	M
7	7.0	62.0	3.96	63.05	48.29	M
8	9.0	60.0	3.90	68.54	45.34	F
9	9.0	57.5	4.46	88.82	49.55	M
10	9.0	63.5	5.10	75.72	59.30	F
11	10.0	62.8	4.98	77.03	55.64	F
12	11.0	62.7	3.93	60.78	42.48	F
13	11.0	70.0	6.2	73.45	63.91	M
14	16.0	65.5	6.32	86.63	57.66	M
15	20.0	70.5	5.30	62.35	44.91	F
16	24.0	63.0	7.73	119.56	61.59	F
17	43.0	71.0	6.55	74.85	42.20	M
18	48.0	82.4	8.78	78.28	119.61	F
19	60.0	96.9	15.10	98.69	81.79	M
\bar{x} =	16.15	65.12	5.48	76.07	57.07	
DE =	16.36	10.18	2.8	15.47	18.04	

En el cuadro 4 aparecen los valores de los pliegues cutáneos así como de los datos de los perímetros cefálico, del brazo, del muslo y de la pierna de los niños con desnutrición. De los 19 niños participantes en el estudio se obtuvieron los datos de los pliegues cutáneos y perímetros de 10 de ellos, debido a que la población restante no se encontró en condiciones de ser evaluada antropométricamente por la gravedad de su situación. El cuadro muestra que tanto los pliegues cutáneos como los perímetros están por debajo de los valores que presentó la población de niños normales, encontrándose más afectados el pliegue tricípital y el perímetro del muslo.

La determinación de las medidas antropométricas permitió conocer el área muscular y grasa de individuos desnutridos y normales, indicadores que fueron calculados mediante las fórmulas informadas por Jeliffe (63).

Circunferencia muscular del brazo (en cm) :

perímetro del brazo (cm) - (π X pliegue cutáneo tricípital)

Área muscular del brazo (en cm^2):

$\frac{(\text{circunferencia muscular del brazo en cm})^2}{4\pi}$

4π

Área grasa del brazo (en cm^2):

$\frac{\text{pliegue tricípital X perímetro del brazo}}{2} - \frac{\pi \text{ X pliegue tricípital}^2}{4}$

2

4

Los valores de la composición grasa y muscular del brazo de los niños desnutridos en su ingreso al estudio están por debajo de los valores que presentó la población de niños normales.

Al observar los promedios mencionados en los cuadros 5 y 6 se ve que existen valores de composición grasa y muscular de niños desnutridos menores aún - al 50 por ciento de lo que presenta un niño normal.

Por otro lado, se observa en éstos cuadros que en las 2 poblaciones de niños la composición grasa del brazo es mayor que la proporción muscular del mismo, - teniendo ésta última menor variabilidad de individuo a individuo.

VALORES DE PLIEGUES CUTANEOS ABDOMINAL, TRICIPITAL, INTER ESCAPULO VERTEBRAL Y PERIMETROS CEFALICO, DE BRAZO, DE MUSLO, Y DE PIERNA DE LOS NIÑOS DESNUTRIDOS

PLIEGUES CUTANEOS (mm)			PERIMETROS (cm)			
ABDOMINAL	TRICIPITAL	I . E . V .	CEFALICO	BRAZO	MUSLO	PIERNA
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
2.0	3.0	3.0	39.9	8.9	13.5	9.6
2.0	4.5	3.0	41.9	8.2	12.1	9.6
1.5	2.5	2.0	41.0	7.8	11.5	10.2
1.5	2.5	3.0	40.2	8.7	13.0	9.8
-	-	-	-	-	-	-
2.5	3.0	3.5	40.4	10.5	15.2	12.2
3.0	4.0	3.0	40.8	9.5	14.2	12.2
1.0	2.0	1.5	42.0	7.5	9.8	8.6
-	-	-	-	-	-	-
5.0	7.0	7.0	41.8	12.6	20.0	13.1
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
2.0	5.0	3.0	45.5	9.8	16.6	15.5
3.5	6.0	5.0	52.3	15.0	24.9	16.5
<hr/>						
\bar{x} = 2.4	3.95	3.4	42.58	9.85	15.08	11.73
DE = 1.54	1.65	1.55	6.52	3.13	3.88	2.67

VALORES DE CIRCUNFERENCIA MUSCULAR DE BRAZO, AREA MUSCULAR DEL BRAZO Y AREA GRASA DEL BRAZO DE LOS NIÑOS NORMALES

Sujeto	Circunferencia Muscular del brazo (cm)	Area muscular del brazo (cm)	Area grasa del brazo (cm)
1	13.62	14.7	71.76
2	14.42	16.55	46.07
3	13.92	15.42	44.57
4	12.40	12.24	57.82
5	13.18	13.80	65.63
6	14.09	15.80	61.37
7	14.83	17.51	42.27
8	12.56	12.56	70.64
9	14.70	17.20	59.33
10	13.20	13.70	42.17
11	12.56	12.56	43.16
12	15.83	19.95	72.94
13	12.59	12.62	55.37
14	12.88	13.2	64.28
15	13.79	15.14	60.17
16	16.15	21.67	98.29
17	14.01	15.62	52.95
18	14.69	17.18	63.77
19	-	-	-
\bar{x} =	13.85	15.42	59.86
DE =	1.11	2.62	13.76

CUADRO 6

VALORES DE LA CIRCUNFERENCIA MUSCULAR DEL BRAZO, DEL AREA MUSCULAR DEL BRAZO Y DEL AREA GRASA DEL BRAZO DE LOS NIÑOS DESNUTRIDOS

Sujeto	Circunferencia Muscular del brazo (cm)	Area muscular del brazo (cm)	Area grasa del brazo (cm)
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	7.95	5.02	12.64
6	6.78	3.65	16.86
7	7.01	3.91	9.26
8	7.91	5.02	10.38
9	-	-	-
10	9.55	7.25	15.04
11	8.24	5.40	17.74
12	6.87	3.75	7.18
13	-	-	-
14	10.40	8.60	40.25
15	-	-	-
16	-	-	-
17	-	-	-
18	8.22	5.37	22.53
19	13.11	13.67	42.17
\bar{x} =	8.60,	6.16	19.5
DE =	1.95	3.06	12.18

Los resultados obtenidos de la determinación de las concentraciones plasmáticas de albúmina y transferrina, así como de las concentraciones de hemoglobina, hematocrito y proporción de linfocitos T, linfocitos T cooperadores y linfocitos T supresores de los niños desnutridos en recuperación, se agruparon según el por ciento de adecuación del peso para la talla a efecto de seguir el comportamiento de éstos indicadores en las diferentes etapas de la recuperación nutricia.

Los valores de las concentraciones de albúmina plasmática de los niños normales y de los niños en recuperación se expresaron en g/dl y se indican en el cuadro 7, al igual que los promedios y las desviaciones estándar de los diferentes grupos; en dicho cuadro se observa que los valores de las concentraciones de albúmina aumentan conforme los valores de adecuación del peso para la talla se acercan a los de referencia. Particularmente, el grupo con adecuación de peso para talla entre 50 y 60 % presentó valores inferiores a los normales y una alta variabilidad en los datos. Se observó que los valores de albúmina se normalizaron a partir del grupo con 60 y 70 % de adecuación, pero que no llegaron a alcanzar los valores de los niños normales estudiados.

El cuadro 8 muestra los valores de las concentraciones de transferrina plasmática de los niños normales y en recuperación nutricia expresadas como mg / dl. Los niños en recuperación presentaron valores de transferrina que están dentro del intervalo aceptado como de referencia, exceptuando 3 valores del primer grupo (de 50 a 60 % de adecuación) que se encontraron severamente disminuidos y que pertenecen a niños que fallecieron.

En los cuadros 9 y 10 se muestran respectivamente las concentraciones de los indicadores hematológicos hemoglobina y microhematocrito, los que resultaron disminuidos drásticamente en las etapas con mayor déficit de peso y aumentaron conforme la recuperación nutricia avanzó. Se observó que la mayor parte de los individuos alcanzaron los valores considerados como de referencia cuando tuvieron un por ciento de peso entre 70 y 80, después de los cuales no se modificaron notablemente.

CUADRO 7

CONCENTRACION DE ALBUMINA EN PLASMA DE NIÑOS EN RECUPERACION
NUTRICIA SEGUN SU PESO PARA LA TALLA

(g / dl)

P E S O P A R A L A T A L L A (% DEL PATRON)						
50 - 60	60 - 70	70 - 80		80 - 90	* 90 - 105	
3.06	3.12	3.54	4.17	3.75	4.71	4.56
3.54	3.21	3.36	4.41	3.54	4.11	3.96
4.20	3.54	3.66	3.36	3.85	4.29	4.41
0.72	4.11	4.08	4.08	4.80	3.99	3.80
1.59	4.05	3.21		1.74	4.41	4.86
1.89	3.63	3.45		3.66	4.1	4.86
4.20	3.87	3.96		4.74	4.20	4.41
1.20	5.80	4.80		4.71	5.17	4.20
3.87	4.11	1.74		3.54	3.69	4.20
$\bar{x}=2.69$	3.88	3.83		3.72	4.4	
D.E.=1.83	0.63	0.46		0.88	0.41	

* Grupo que representa a la población de los niños normales.

CONCENTRACION DE TRANSFERRINA EN EL PLASMA DE NIÑOS EN RECUPERACION NUTRICIA
 SEGUN SU PESO PARA LA TALLA
 (mg / dl)

P E S O P A R A L A T A L L A							
(% DEL PATRON)							
50 - 60	60 - 70	70 - 80	80 - 90	90 - 105			
267.5	287	375.0	325	480.0	402	380	410
332.0	180	357.5	355	462.0	380	412	350
335.0	305	375.0	268	292.0	405	575	
51.0	430	490.0	273	375.0	340	445	
90.0	305	440.0		112.5	430	302.5	
51.0	325	327.0		358.0	530	327.5	
393.0	430	355.0		465.0	310	412.5	
	535	305.0		433.0	320	380	
	337	183.0		115.0	405	430	
$\bar{x} = 217.07$	348.22	340		343.6	397.32		
D.E. = 148	102.8	77.2		143.5	68		

CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA EN LA SANGRE PERIFERICA DE NIÑOS EN RECUPERACION NUTRICIA
 SEGUN SU PESO PARA LA TALLA
 (g / dl)

P E S O P A R A L A T A L L A						
(% DEL PATRON)						
50 - 60	60 - 70	70 - 80		80 - 90	90 - 105	
8.25	11.37	11.00	12.1	11.5	18.5	13.7
10.50	9.20	11.20	13.2	14.7	15.0	13.5
8.70	9.20	12.40	11.0	12.0	14.0	12.0
8.60	12.70	12.30	11.1	9.4	15.0	14.2
11.80	10.50	10.75		11.8	12.0	15.2
11.20	14.20	15.60		11.9	11.0	15.3
8.10	9.70	14.70		12.0	12.1	13.4
12.10	13.00	12.30		14.8	14.2	
	13.00	13.60		10.6	13.6	
					13.2	
$\bar{x} = 9.9$	11.43	12.40		12.07	13.87	
D.E. = 1.67	1.86	1.51		1.73	1.71	

CURVA ESTANDAR DE HEMOGLOBINA

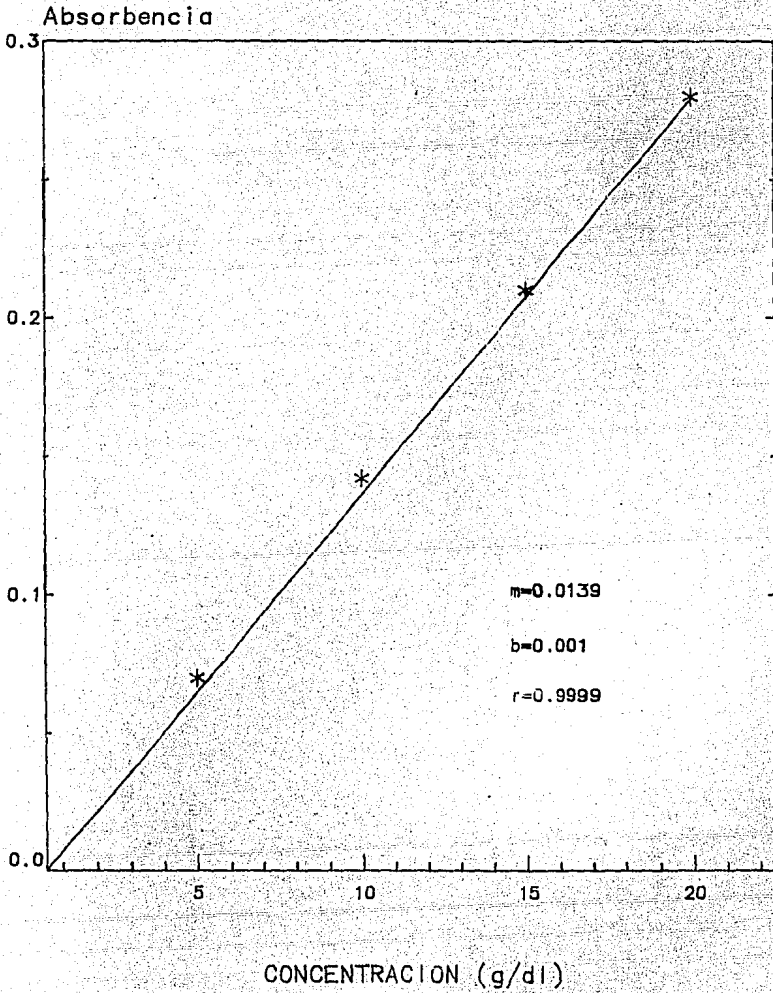


FIGURA 6

VALORES DEL HEMATOCRITO DE NIÑOS EN RECUPERACION NUTRICIA
 SEGUN SU PESO PARA LA TALLA
 (%)

P E S O P A R A L A T A L L A						
(% DEL PATRON)						
50 - 60	60 - 70	70 - 80	80 - 90	90 - 105		
23.0	33	33.0	38	33.0	41	42.0
34.0	27	35.0	30	36.0	40	40.5
26.0	29	40.0	34	34.0	39	44.0
22.0	34	38.0		28.0	45	30.0
28.0	28	29.0		34.0	36	44.0
36.0	30	41.0		34.5	30	45.5
27.0	26	39.5		30.0	42	40.0
36.0	31	34.0		38.0	43	
	31	36.5		29.0	40	
		36.0			39	
\bar{x} =	29.0	29.9	35.7	32.9	40.15	
D.E. =	5.6	2.6	3.7	3.3	4.1	

En los cuadros del 17 al 23 se muestran los valores de las concentraciones (No. de células / mm^3) de las diferentes poblaciones de glóbulos blancos de niños normales y de los niños desnutridos en recuperación. Estos resultados presentan una gran variabilidad, por lo que no se puede definir ninguna tendencia.

Resulta importante mencionar que la variabilidad en el número de células mononucleares no afectan los resultados de las poblaciones de linfocitos, pues todas éstas poblaciones (Tc, Ts y Tt) fueron determinadas y expresadas como por ciento de la población celular por un millón de células mononucleares.

CONCENTRACIONES DE LOS GLOBULOS BLANCOS Y DE LAS CELULAS MONONUCLEARES EN LA SANGRE
 PERIFERICA DE LOS NIÑOS NORMALES
 (CELULAS/ mm³)

SUJETO	GLOBULOS BLANCOS (mm ³)	CELULAS MONONUCLEARES (mm ³)
1	8, 750	5, 074
2	7, 750	4, 959
3	4, 650	2, 557
4	11, 000	7, 480
5	8, 400	3, 864
6	11, 550	7, 045
7	7, 800	4, 290
8	7, 500	4, 800
9	6, 650	4, 322
10	8, 175	4, 332
11	7, 800	4, 056
12	7, 575	4, 545
13	7, 550	4, 227
14	7, 600	3, 572
15	8, 850	3, 362
16	5, 250	2, 730
17	8, 850	3, 274
18	10, 025	7, 017
19	5, 600	2, 408
\bar{x} =	7, 866	4, 416
D.E. =	1, 759	1, 451

CONCENTRACIONES DE LOS GLOBULOS BLANCOS Y DE LAS CELULAS MONONUCLEARES
 EN LA SANGRE PERIFERICA DE LOS NIÑOS ENRECUPERACION NUTRICIA
 SEGUN SU PESO PARA LA TALLA
 (CELULAS/ mm³)

P E S O P A N A L A T A L L A							
(% DEL PATRON)							
50 - 60		60 - 70		70 - 80		80 - 90	
Gblos. blancos (mm ³)	C. MN's (mm ³)	Gblos. blancos (mm ³)	C. MN's (mm ³)	Gblos. blancos (mm ³)	C. MN's (mm ³)	Gblos. blancos (mm ³)	C. MN's (mm ³)
7, 850	4, 082	12, 100	7, 865	5, 900	3, 304	5, 550	3, 410
9, 250	5, 919	8, 850	3, 274	10, 225	4, 907	5, 500	11, 414
8, 450	5, 492	7, 900	3, 950	5, 350	2, 835	5, 050	3, 080
6, 350	4, 064	8, 250	4, 620	5, 950	3, 689	11, 350	7, 377
6, 850	4, 110	7, 900	6, 222	5, 600	3, 584	13, 950	8, 091
13, 200	4, 884	8, 250	5, 740	9, 250	5, 735	8, 250	3, 629
20, 300	9, 947	12, 200		25, 550	19, 929	8, 000	4, 960
14, 600	7, 884	8, 200		12, 500	7, 625	9, 850	6, 205
10, 450	6, 061			10, 000	6, 600		
				16, 800	5, 712		
				8, 900	4, 361		
				9, 675	5, 997		
				6, 400	3, 520		
				11, 600	5, 800		
\bar{x} = 10, 811	5, 827	9, 583	5, 278	9, 887	5, 812	8, 437	6, 020
DL = 4, 508	1, 980	2, 012	1, 673	5, 173	3, 988	3, 151	2, 867

CUADRO 19

CUANTIFICACION DIFERENCIAL DE LAS CELULAS DE LA SANGRE PERIFERICA
 DE NIÑOS NORMALES
 (células/ mm³)

SUJETO	LINFOCITOS	MONOCITOS	BANDA	NEUTROFILOS	BASOFILOS	EOSINOFILOS
1	4, 987	87	0	3, 587	0	87
2	4, 882	77	0	2, 557	0	232
3	2, 557	0	0	1, 999	46	46
4	7, 480	0	0	2, 970	110	110
5	3, 780	84	0	4, 368	84	168
6	7, 045	0	0	4, 042	115	231
7	4, 290	0	234	3, 042	0	234
8	4, 800	0	150	2, 325	0	225
9	4, 256	66	0	2, 194	66	66
10	4, 332	0	0	3, 433	81	245
11	4, 056	0	78	3, 198	78	390
12	4, 545	0	0	2, 957	0	75
13	4, 152	75	0	3, 095	75	75
14	3, 496	76	0	3, 952	0	76
15	3, 274	88	0	5, 398	0	88
16	2, 730	0	0	2, 152	52	105
17	3, 186	88	0	5, 221	0	354
18	6, 917	100	0	3, 007	0	0
19	2, 408	0	0	3, 080	56	56
\bar{x} =	4, 337			3, 293	76	159
D.E. =	1, 450			958	22.96	105

CUANTIFICACION DIFERENCIAL DE LAS CELULAS DE LA SANGRE PERIFERICA
DE NIÑOS DESNUTRIDOS CON UNA ADECUACION DE PESO PARA

TALLA DE 50 - 60 POR CIENTO
(mm³)

LINFOCITOS	MONOCITOS	BANDA	NEUTROFILOS	BASOFILOS	EOSINOFILOS
4, 082	0	0	3, 532	78	157
5, 827	92	370	2, 867	0	92
5, 408	84	253	2, 619	0	84
4, 064	0	317	1, 841	0	127
3, 973	137	342	2, 055	68	274
4, 752	132	1056	6, 864	0	396
9, 947	0	406	9, 135	203	609
7, 884	0	730	4, 964	146	876
6, 061	0	522	3, 239	104	522
$\bar{x} = 5,777$	1	444	4, 124	66	348
D.E. 2, 004	61	302	2, 444	74	275

CUADRO 21

CUANTIFICACION DIFERENCIAL DE LAS CELULAS DE LA SANGRE PERIFERICA DE NIÑOS CON UNA ADECUACION DE PESO PARA LA TALLA DE 60 - 70 POR CIENTO

(células / mm³)

LINFOCITOS	MONOCITOS	BANDA	NEUTROFILOS	BASOFILOS	EOSINOFILOS
7, 744	121	0	3, 751	121	484
3, 097	177	265	5, 221	88	265
3, 871	79	237	3, 318	0	395
4, 620	0	165	2, 722	165	495
6, 222	0	1, 220	4, 514	122	244
5, 740	0	574	1, 558	164	246
$\bar{x} = 5, 215$	63	410	3, 514	110	355
D.E. = 1, 693	75	438	1, 300	61	118

CUADRO 22

CUANTIFICACION DIFERENCIAL DE LAS CELULAS DE LA SANGRE PERIFERICA DE NIÑOS

CON UNA ADECUACION DE PESO PARA LA TALLA ENTRE 70 - 80 %

(células / mm³)

LINFOCITOS	MONOCITOS	BANDA	NEUTROFILOS	BASOFILOS	EOSINOFILOS
3, 304	0	0	2, 537	0	118
4, 805	102	0	4, 601	0	2, 045
2, 782	53	511	2, 193	0	160
3, 689	0	119	1, 785	238	119
3, 528	56	0	1, 736	0	168
5, 735	0	0	3, 145	0	370
19, 418	511	0	4, 854	0	766
7, 500	125	0	3, 625	125	750
6, 500	100	0	3, 100	0	300
5, 712	0	840	9, 744	168	336
4, 272	89	89	4, 183	0	178
5, 901	96	387	2, 805	0	387
3, 456	64	192	2, 368	64	256
4, 836	78	234	2, 496	0	156
$\bar{x} = 5, 714$	98	211	3, 468	48	420
D.E. = 3, 876	125	284	1, 981	75	475

CUANTIFICACION DIFERENCIAL DE LAS CELULAS DE LA SANGRE PERIFERICA DE NIÑOS CON UNA
 ADECUACION DE PESO PARA LA TALLA ENTRE 80 - 90 %
 (células / mm³)

LINFOCITOS	MONOCITOS	BANDA	NEUTROFILOS	BASOFILOS	EOSINOFILOS
3, 300	110	0	1, 650	550	330
11, 414	0	658	8, 999	219	658
2, 878	202	101	2, 272	0	0
7, 150	227	0	3, 064	0	681
8, 091	0	418	4, 603	139	697
3, 547	82	495	3, 135	165	825
4, 880	80	480	2, 400	80	80
6, 107	98	295	2, 265	0	197
$\bar{x} = 5, 920$	100	306	3, 549	82	434
D.E.=2, 909	82	248	2, 373	84	319

En cuanto a la proporción de los linfocitos T en la sangre periférica de los niños en recuperación nutricia según su adecuación de peso para la talla reportadas en el cuadro 11, existieron diferencias importantes entre los valores de los niños normales y los de los niños en las diferentes etapas de la recuperación, encontrándose francamente disminuidos en los grupos con mayor déficit de peso. La proporción de linfocitos T aumentó con el % de peso para la talla y no alcanzó a ser igual a la proporción presentada por los niños -- normales.

Las proporciones individuales y del promedio de los linfocitos T cooperadores se describen en el cuadro 12. El promedio de las proporciones incrementaron a lo largo de la recuperación nutricia para alcanzar prácticamente los valores de la proporción en niños normales.

En el cuadro 13 se presentan los valores individuales, los promedios y las desviaciones estándar de las proporciones de los linfocitos T supresores de -- los niños normales y de los niños desnutridos durante la recuperación nutricia. En dicho cuadro se observa aumento de la población celular durante la recuperación, pero que comparado con el incremento de la población de linfocitos T_t y de linfocitos T cooperadores resulta mínimo; lo que se refleja en los valores de los cocientes T_c/T_s del cuadro 14, dado que si la población supresora aumentara de manera proporcional a la población cooperadora el cociente T_c/T_s no cambiaría notablemente (Fig. 7).

PROPORCION DE LINFOCITOS T EN LA SANGRE PERIFERICA DE LOS NIÑOS EN RECUPERACION
 NUTRICIA SEGUN SU PESO PARA LA TALLA
 (‡ LINF. T / CELULAS MONONUCLEARES)

	50 - 60	60 - 70	70 - 80	80 - 90	90 - 105
	59	63	75 75	74	94 89 84
	74	64	79 76	80	79 89
	78	67	67 75	78	90 85
	68	60	76 78	79	74 90
	65	62	61	75	85 89
	59	68	75	77	85 90
	62	71	81	75	90 90
	50		75	77	86 85
				80	90 88
\bar{x} =	63	65	74.41	77.57	86.94
D.E. =	8.7	3.71	5.38	2.36	4.56

PROPORCION DE LINFOCITOS T COOPERADORES EN LA SANGRE PERIFERICA DE LOS
 NIÑOS EN RECUPERACION NUTRICIA SEGUN SU PESO PARA LA
 TALLA
 (% LINFOCITOS Tc/ CELULAS MONONUCLEARES)

P E S O P A R A L A T A L L A						
(% DEL PATRON)						
50 - 60	60 - 70	70 - 80	80 - 90	90 - 105		
10	23	47	43	41	43	62
49	46	44	54	62	51	57
34	40	49	53	47	49	49
45	30	44	54	49	41	65
23	49	48		45	54	50
43	50	42		43	54	45
34	40	42		41	43	50
32		46		39	65	49
				54	59	46
					52	
\bar{x} =33.75	39.7	47.16	47		52.4	
D.E. =8.12	8.96	4.7	7.9		7.0	

CUADRO 13

PROPORCION DE LINFOCITOS T SUPRESORES EN LA SANGRE PERIFERICA DE LOS NIÑOS
 EN RECUPERACION NUTRICIA SEGUN SU PESO PARA LA TALLA
 (% LINFOCITOS T_s / CELULAS MONONUCLEARES

P E S O P A R A L A T A L L A					
(% DEL PATRON)					
50 - 60	60 - 70	70 - 80	80 -90	90 - 105	
29	25	27 22	37	36	47
52	35	34 20	32	51	40
23	14	46	23	25	53
28	38	32	25	28	40
42	37	32	46	54	40
26	19	20	28	51	39
28	31	29	34	49	35
35		35	24	43	33
		41	31	42	
		24		37	
				55	
\bar{x} =	32.87	28.42	30.2	31.14 ^v	41.9
D.E. =	7.14	9.42	9.0	8.3	8.7

COCIENTE T_c / T_s EN LA SANGRE PERIFERICA DE LOS NIÑOS EN RECUPERACION
NUTRICIA SEGUN SU PESO PARA LA TALLA

P E S O P A R A L A T A L L A					
(% DEL PATRON)					
50 - 60	60 - 70	70 - 80	80 - 90	90 - 105	
0.34	0.92	1.74 2.7	1.10	1.20	1.40
0.93	1.33	1.30 2.4	1.90	1.00	1.21
1.51	2.97	1.06	2.00	1.96	1.21
1.60	0.78	1.40	1.90	1.46	1.20
0.54	1.32	1.50	0.97	1.00	1.25
1.65	2.50	2.10	1.53	1.06	1.20
1.21	1.30	1.31	1.20	0.87	1.31
0.91		1.048	1.62	1.50	1.40
		2.20	1.70	1.40	1.40
		1.30		1.40	
$\bar{x} =$	1.08	1.58	1.67	1.54	1.31
D.E. =	0.24	0.61	0.60	0.35	0.21

Proporción de linfocitos T en la sangre de niños en recuperación nutricia

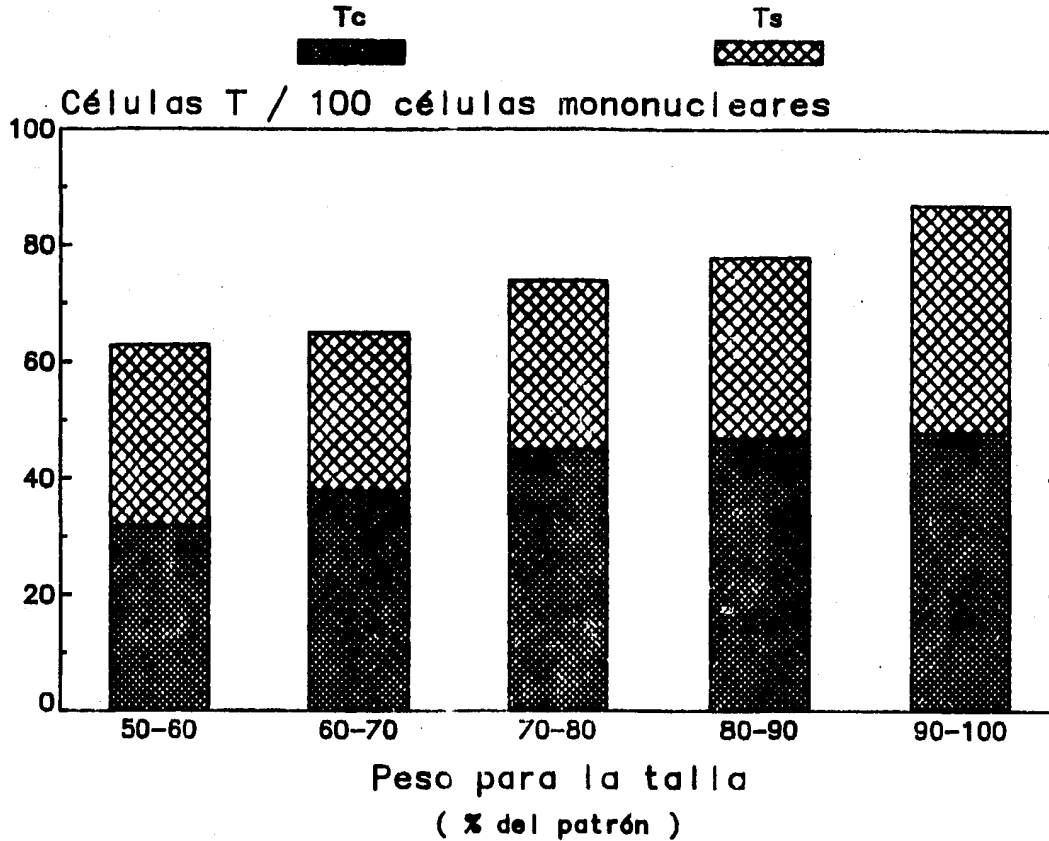


FIGURA 7

El análisis estadístico de los valores de la hemoglobina, del hematocrito, de albúmina y de transferrina efectuado entre los niños bien nutridos y los niños en diferentes etapas de la recuperación se realizó mediante la prueba de T student (no pareada), y los resultados se muestran en el cuadro 15, donde las concentraciones de hemoglobina, hematocrito y albúmina fueron significativamente diferentes en todos los grupos. Los valores de la transferrina fueron significativamente diferentes en todos los grupos excepto en el de 80 y 90 % de adecuación de peso para la talla.

Se efectuaron pruebas de T pareada entre los grupos en recuperación y resultaron no significativas.

El análisis estadístico de T student para las proporciones de linfocitos T, Tc, Ts y el índice Tc/Ts, entre los niños normales y los niños con diferentes etapas de desnutrición reveló que existen diferencias significativas en todos los casos, sin embargo, las pruebas de T pareada (prueba efectuada dentro de un mismo grupo) entre los niños con diferentes etapas de la recuperación resultó no significativa.

COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DE HEMOGLOBINA, HEMATOCRITO, ALBUMINA Y
 TRANSFERRINA ENTRE LOS NIÑOS BIEN NUTRIDOS Y LOS NIÑOS EN DIFERENTES
 ETAPAS DE LA RECUPERACION NUTRICIA
 ($\bar{x} \pm$ D.E.)

GRUPO	HEMOGLOBINA (g. / dl)	HEMATOCRITO (%)	ALBUMINA (g / dl)	TRANSFERRINA (mg / dl)
BIEN NUTRIDOS	13.87 \pm 1.71	40.15 \pm 4.14	4.4 \pm 0.41	397.32 \pm 68
50 - 60 P/T	* 9.9 \pm 1.67	* 29.00 \pm 5.63	* 2.69 \pm 1.85	* 217.07 \pm 148
60 - 70 P/T	** 11.43 \pm 1.86	* 29.88 \pm 2.66	** 3.88 \pm 0.63	* 348.22 \pm 102.8
70 - 80 P/T	** 12.40 \pm 1.51	* 35.70 \pm 3.70	° 3.83 \pm 0.46	* 340.00 \pm 77.2
80 - 90 P/T	** 12.07 \pm 1.73	** 32.94 \pm 3.32	°° 3.72 \pm 0.88	ns 343.00 \pm 143.5
INGRESO VS 30 DIAS	ns 12.70 \pm 1.20	ns 34.00 \pm 3.90	ns 3.93 \pm 1.34	ns 398.00 \pm 125.0
INGRESO VS EGRESO	ns 11.60 \pm 0.46	ns 32.75 \pm 1.80	** 4.44 \pm 0.45	* 377.00 \pm 79.0
INGRESO	9.90 \pm 2.14	28.00 \pm 2.36	2.66 \pm 0.90	274.00 \pm 58.0

COMPARACION CON EL VALOR DE LOS NIÑOS BIEN NUTRIDOS (PRUEBA T STUDENT)

* p < 0.005 °° p < 0.01 ns NO SIGNIFICATIVO
 ** p < 0.002 ° p < 0.001

COMPARACION DE LOS PORCENTAJES DE LINFOCITOS T (Tt), LINFOCITOS T COOPERADORES (Tc),
LINFOCITOS T SUPRESORES (Ts) Y DEL INDICE Tc/Ts ENTRE LOS NIÑOS BIEN NUTRIDOS
Y LOS NIÑOS EN DIFERENTES ETAPAS DE LA RECUPERACION NUTRICIA
($\bar{x} \pm D.E.$)

G R U P O	Tt (% CMN)	Tc (% CMN)	Ts (% CMN)	Tc/Ts
BIEN NUTRIDOS	86.94 \pm 4.56	52.38 \pm 7.0	41.94 \pm 8.73	1.31 \pm 0.21
50 - 60 % P/T	* 63.00 \pm 8.70	^o 33.75 \pm 8.12	^{oo} 32.87 \pm 7.14	* 1.08 \pm 0.24
60 - 70 % P/T	* 65.00 \pm 3.71	* 39.70 \pm 8.96	^o 28.42 \pm 9.42	** 1.58 \pm 0.61
70 - 80 % P/T	* 74.41 \pm 5.38	** 47.16 \pm 4.70	* 30.20 \pm 9.01	** 1.67 \pm 0.6
80 - 90 % P/T	* 77.57 \pm 2.36	* 47.00 \pm 7.90	^{oo} 31.14 \pm 8.30	* 1.54 \pm 0.35

COMPARACION CON EL VALOR DE LOS NIÑOS BIEN NUTRIDOS (PRUEBA T STUDENT)

* p < 0.005

^{oo} p < 0.01

** p < 0.02

^{ns} NO SIGNIFICATIVO

^o p < 0.001

CONCLUSIONES

- Se encontró que durante la desnutrición existe una proporción significativamente menor de linfocitos T, linfocitos T cooperadores y de linfocitos T supresores en comparación con los niños normales, estando más drásticamente disminuidos los linfocitos T cooperadores.
- En la recuperación nutricia las poblaciones de linfocitos Tt y T cooperadores aumentaron gradualmente, pero sin alcanzar los valores del grupo testigo, lo que coincidió con una menor adecuación del peso para la talla que la presenta da por los niños testigo.
- En la desnutrición los linfocitos T supresores representaron una menor proporción que en los niños normales y permanecieron prácticamente invariables durante la recuperación.
- En las etapas más avanzadas de la desnutrición la proporción de linfocitos T supresores resultó más elevada que durante la recuperación y en algunos casos fué mayor que la proporción de linfocitos T cooperadores.
- Lo anterior se reflejó en un índice Tc / Ts bajo; éste índice aumentó rápidamente con la recuperación nutricia a valores incluso mayores que los presentados por niños normales, como consecuencia del aumento de los linfocitos T cooperadores.

RECOMENDACIONES

Las diferencias en las subpoblaciones de los linfocitos T encontradas entre los niños bien y mal nutridos y las tendencias de las mismas a lo largo de la recuperación sugieren que la cuantificación de dichas poblaciones puede ser un indicador sensible del estado nutricional. Como el modelo utilizado fué el niño en recuperación nutricia y no en desnutrición activa será necesario evaluar si éstos indicadores son tan sensibles en la desnutrición activa como en la recuperación.

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

- 1.- Bellanti, J.A. Bases de Inmunología Saunders Company (1981).
- 2.- Alberts, B., Bray, D., Watson, J. Molecular Biology of the Cell. The immune system. Garland Publishing, Inc. (1984).
- 3.- Hood, L.E., Weissman, I.L., Wood, W.B., Immunology. Cummings Publishing Company Inc. (1984).
- 4.- Alberts, B., Bray, D., Watson, J. Molecular Biology of the Cell. The plasma Membrane. Garland Publishing, Inc. (1984).
- 5.- Cooper, M.D., and Lawton, R., III The development of the immune system (1974).
- 6.- Gershon, R.K. T cell control of antibody response. Contemp. Top. Immunol, 3:1, (1974).
- 7.- Cantor, H., and Asofsky, R: Synergy among lymphoid cells mediating the GVH response . III. Evidence for interaction between two classes of thymus derived cells. J. Exp. Med., 135:764, (1972).
- 8.- Cantor, H., and Weissman, I: Development and function of subpopulations of thymocytes and T lymphocytes. Prog. Allergy, 20:1 (1976).
- 9.- Boyse, E.A., Miyasawa, M., Aoki, T., and Old, L.J: LyA and LyB. Two systems of lymphocytes isoantigens in the mouse. Proc. R. Soc. J. (biol), 170:175 (1968).
- 10.- Boyse, E.A., Stockert, E., and Old, L.J: An approach to the mapping of antigens on the cell surface. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 60:886 (1968).
- 11.- Boyse, E.A., Stockert, E., and Old, L.J. : Isoantigens of the H-2 and Ha loci of the mouse. Interactions affecting their representation on thymocytes. J. Exp. Med., 128:85 (1968).
- 12.- Cantor, H., and Boyse, E.A.: Functional subclasses of T lymphocytes bearing different Ly antigens. I. The generation of functionally distinct T cell subclasses is a differentiative process independent of antigen. J. Exp. Med., - 141:1376 (1975).
- 13.- Cantor, H., and Boyse, E.A.: Cooperation between subclasses of T L^y cells in the generation of killer activity. J. Exp. Med., 141: 1390 (1975).

- 14.- Jadinski, J., Tadakuma, T., Peavy, D.L., : Separation of helper T cell from suppressor T cell expressing different Ly components. - I. Polyclonal activation: Suppressor and helper activities are inherent properties of distinct T cells subclasses. J. Exp. Med. 143: 1382 (1976).
- 15.- Cantor, H., She, F.W., : Separation of helper T cell from suppressor T cells expressing different Ly components. II. Activation by antigen: After immunization, antigen specific suppressor and helper activities are mediated by distinct T cells subclasses. J. Exp. Med. 143: 1391 - (1976).
- 16.- Huber, B., Devinski, O., : Cell mediated immunity. J. Exp. Med. 143: 1534 (1976).
- 17.- Eardley, D.D., Hugenberg, J., : Immunoregulatory circuits among T cell subsets. I. T helper induce other T cell to exert feedback inhibition. J. Exp. Med. 147: 1106 (1978).
- 18.- Cantor, H., Mc Vay Boudreau, L., Identification of a subpopulation of T helper cells that induce feedback inhibition. J. Exp. Med. 148: - 871. (1978).
- 19.- Cantor, H., and Gershon, R.K., Genetic control of immunoregulatory circuits. Genes linked to the immunoglobulin locus govern communication between regulatory T cell sets. J. Exp. Med. 150:44 - 50 (1979).

- 20.- Oreste, A.P., and Ellis L.R., The human T cell receptor. *The New Engl. j. of Med.* 312:17 1100 - 1110 (1985).
- 21.- Chang, T.W., Kung, P.C., Gingras, S.P., Goldstein, G.: OKT3 Monoclonal antibody react with an antigen recognition structure on human T cell? *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 78: 1805-8 (1981).
- 22.- Reinherz, E.L., Meuer, S.C., Fitzgerald, K.A., Hussey R.E., Levine, H., Schlossman, S.F., Antigen recognition by human T lymphocytes is linked to surface expression of the T3 molecular complex. *Cell* 30:735-43. (1982).
- 23.- Reinherz, E.L., Morimoto, C., Penta, A.C., Schlossman, S.F., Regulation of B cell immunoglobulin secretion by functional subunits of T lymphocytes in man. *Eur. J. Immunol* 10: 570-2 (1980).
- 24.- Reinherz, E.L., Schlossman, S.F., The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell* 19:821-7 (1980).
- 25.- Reinherz, E.L., Morimoto, C., Penta, A.C., Schlossman, S.F., A monoclonal antibody reactive with the human cytotoxic / suppressor T cell subset previously defined by a heteroantiserum termed TH2. *J. Immunol.* 124: 1301 - 7 (1980).
- 26.- Meuer, S.C., Fitzgerald, K.A., Hussey, R.E., Hodgdon, J.C., Schlossman, S.F., Reinherz, E.L., Clonotypic structures involved in antigen specific human T cell function: relationship to the T3 molecular complex. *J. Exp. Med.* 157:705-19 (1983).
- 27.- Kiensky, A.M., Clayberger, C., Reiss, C.S., Strominger, J.L., Burakoff, S.J., Specificity of OKT4⁺ cytotoxic T lymphocyte clones. *J. Immunol.* 129:2001-3 (1982).
- 28.- Acuto, O., Hussey, R.E., Fitzgerald, K.A., The human T cell receptor appearance in ontogeny and biochemical relationship of the α and β subunits on IL-2 dependent clones and T cell tumors. *Cell* 34:717-26 (1983).
- 29.- Umiel, T., Daley, J.F., Bhan, A.K., Levey, R.H., Schlossman, S.F., Reinherz, E.L.: Acquisition of immune competence by a subset of human cortical thymocytes expressing mature T cell antigens. *J. Immunol.* 129:1054-60 (1982).
- 30.- Ashman, R.F.: Lymphocyte activation. *Fundamental Immunology*, edited by William, L.P. 267-298 (1984).
- 31.- Kaplan, J.G., and Owens, T.: Activation of lymphocytes of man and mouse Monovalent cation fluxes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 339:191-200 (1980).
- 32.- Varesio, L., and Holden, H.T. Mechanism of lymphocyte activation: Linkage

- between early protein synthesis and late lymphocyte proliferation J. Immunol. 124: 2288-2294 (1980).
- 33.- Suskind, R.M., Mc Farlane, H., Edelman, R., Malnutrition and the immune response. Raven Press, New York 10-20 (1977).
- 34.- Chandra, R.K., Scrimshaw, N.S., Immunocompetence in nutritional assessment. The Am. J. Clin. Nutr. 33: 2694 - 2697 (1980).
- 35.- Woodruff, J.F. The influence of quantitated post weaning undernutrition of Coxsackie virus B3 infection of adult mice. II alteration of host defense mechanisms. J. Infect. Dis., 121:164-181 (1970).
- 36.- Chandra, R.K., Immunocompetence in undernutrition. J. Pediatr., 81: 1194- 1200 (1972).
- 37.- Law, D.K., Dudrick, S.J., Abdou, N.I.,: Immunocompetence of patients with protein-calorie malnutrition. The effects of nutritional repletion. Ann. Intern. Med., 79:545 - 550. (1973).
- 38.- Bach, M.A., Bach, J.F., Effects of prostaglandins and indomethacin on rosette forming lymphocytes: Interactions with thymic hormone. Raven. Press, N.Y. 241-248. (1974).
- 39.- Manku, M.S., Horrobin, D.F., Karmacyn, M., Cunnane, S.C., Prolactin and zinc effects on rat vascular reactivity: Possible relationship to dihomogammalinolenic acid and to prostaglandin synthesis. Endocrinology 104:774-9. (1979).
- 40.- Manku, M.S., Oka, M., Horrobin, D.F., Differential regulation of the formation of prostaglandins and related substances from arachidonic acid. II. Effects of vitamin C. Prostaglandins Med. 3:129-38. (1979).
- 41.- Horrobin, D.F., Manku, M.S.. The nutritional regulation of T lymphocytes function. Medical Hypotheses 5:969-985 (1979).
- 42.- Zurier, R.B., Sayadoff, D.M., Torrey, S.B., Prostaglandin E treatment in NZB/NZW mice. Arthritis Rheum 20: 723-8, (1977).
- 43.- Burrit, M.F., Anderson, C.F. Laboratory assessment of nutritional status Hum. Pathol. 15:130-133. (1984).
- 44.- Carpentier, J.B., Bruyns, J., : Plasma protein concentration in nutritional assessment. Proc. Nutr. Soc. 41:405. (1982).
- 45.- Bourry, J., Milano, G., Assessment of nutritional proteins during parental nutrition of cancer patients. Ann Clin Lab. Sci. 12:158. (1982).

- 46.- Douville, P., Talbot, J., Potential usefulness of serum prealbumin in total parenteral nutrition. *Clin Chem.* 28: 1706. (1982).
- 47.- Chandra, R.K., Immunocompetence. *Clin. Lab. Med.* 1:631. (1981).
- 48.- These, J., Sous populations de lymphocytes T chez la souris: Leur rôle respectif dans la régulation de l'expression isotypique. *Ann. Immunol. (Institut Pasteur)* 133 D, 137-146. (1982).
- 49.- Bach, J.F., Chatenoud, L., The significance of T cell subsets defined by monoclonal antibodies in human diseases. *Ann. Immunol. (Institut Pasteur)* 133 D, 131-136 (1982).
- 50.- Corvazier, P., Constantin, T., Evolution des populations lympho-reticulaires spléniques au cours de la réaction immunitaire in vitro chez le poulet. *Ann Immunol. (Inst. Pasteur)* 133 C, 103-117. (1982).
- 51.- Chandra, R.K., *Immunology of nutritional disorders*. Edward Arnold Publishers Ltd. (1980).
- 52.- PAHO Manual of anthropometric studies for Latin America and the Caribbean. (1973).
- 53.- Williamson, R., El método auxométrico combinado, en la evaluación del crecimiento y del estado nutricional de los niños. VII Congreso Panamericano de Pediatría. Quito. 1953.
- 54.- Ramos, Galván, R., Somatometría Pediátrica. Estudio semilongitudinal. *Archivos de Investigación Médica.* (1978). 6: suppl. 1
- 55.- Tietz, N., *Química Clínica Moderna*. Interamericana. (1981).
- 56.- Crosby, W.H., Munn, I.I., and Fustle, F.W., Standardizing a method for Clinical Hemoglobinometry, US Army Forces F.S., 693. (1954).
- 57.- Laboratorios Merck de México: Preparación de la tabla Merck de México. S.A. (1980).
- 58.- Geahart, P.J. Generation of immunoglobulin variable gene diversity. *Immunol. Today* 3(4): 107. (1982).
- 59.- Honjo, T., The molecular mechanism of the immunoglobulin class switch. *Immunol. Today* 3 (8): 214. (1982).
- 60.- Yelton, D.E., and Scharff, M.D., Monoclonal antibodies: a powerful new tool in biology and medicine. *Ann. Rev. Biochem.* 50:657 (1981).
- 61.- Kohler, G., and Milstein, C., Continuous cultures of fused cells secreting antibodies of predefined specificity. *Nature* 256: 495. (1975).
- 62.- Laboratorios Ortho Diagnostics Systems. Raritan N.J. 1985.

- 63.- Derrick, B.J., Evaluación del estado nutricional de la comunidad OMS 60-70 (1968).
- 64.- Reeds, P.J., and Laditan, A.A.O., Serum albumin and transferrin in protein energy malnutrition. *Br. J. Nutr.* 36:255 (1976).
- 65.- Mancini, G., Carbonara, A.O., and Heremans, J.F., *Immunochemistry* - 2:235 (1965).
- 66.- Manual del Laboratorio de Hematología de la Facultad de Química de la U.N.A.M. (1984).
- 67.- Ferrante, A., Thong, Y.H., Simultaneous preparation of mononuclear- and polymorphonuclear leucocytes from horse blood on ficoll hypaque medium. *J. of Immunological Methods*, 34:279-285 (1980).
- 68.- Boyum, A., Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Lab. Clin. Invest.* 21: suppl.97 77 (1968).
- 69.- Moretta, L., Webb, R., Grossi, E.C., Lydyard, M., Cooper, M.D., Functional analysis of two human T cell responses by T cells bearing receptors for IgM. *The J. of Exp. Med.* 146: 184-197 (1977).
- 70.- Chandra, R.K., Cell mediated immunity in nutritional imbalance. *Federation Proc.* 39: 3088-3092 (1980).
- 71.- Chandra, R.K., Gupta, M.B., and Singh, H., Inducer and suppressor T cell subsets in protein energy malnutrition. *Nutr. Research* 2: 21-26 (1982).
- 72.- Levy, R., Miller, R.A., Biological and clinical implications of lymphocytes hybridomas: Tumor therapy with monoclonal antibodies. *Ann. Rev. Med.* 34: 107 (1983).
- 73.- Quantitative determination of plasma protein by radial immunodiffusion Behring Institute (1982).
- 74.- Latham, M., Human nutrition in Tropical Africa. FAO (1965):
- 75.- Encuestas nutricionales en México. Vol. I Estudios de 1958 a 1962. Publicación L-29, Div. de Nutr. del INNSZ. (1974).
- 76.- Encuestas nutricionales en México Vol. II Estudios de 1963 a 1974. Publicación L-21 Div. Nutr. del INNSZ. (1976).
- 77.- Bourges, H., Desnutrición Infantil. Esfera Médica Merck. Nutrición y - Metabolismo, 3 (1980).
- 78.- Olarte, J., Cravioto, J., Campos, B., Inmunidad en el niño desnutrido. *Bol. Med. Hosp. Inf. Méx.* 13:467 (1956).
- 79.- Kumate, J., Mariscal, C., Hikimura, J., Yoshida, P., Desnutrición e Inmunidad. *Bol. Med. Hosp. Inf. Méx.* 21: 427-434 (1964).
- 80.- Cairo, S., López, M., Alanís, F., Cruz, J., Muñoz, O., Linfocitos T y B en sangre periférica del recién nacido desnutrido in utero. *Bol. Med.-*

Hosp. Inf. Méx. 34:393-396. (1977).

81.- Hurtado, R., Solimano, G., Alteración de la inmunidad local. Bol. Med. Hosp. Inf. Méx. 29:669 (1972).

82.- Lastra, D., Ramirez, A., Kumate, J., Graft versus host reaction in - severe malnutrition of mice and chickens. Proc. 9th. Int. Congr. Nutrition. 2: 155- 159 (1972).

A B R E V I A T U R A S

P/T	Peso con respecto a la talla
Tc	Linfocitos T cooperadores
Ts	Linfocitos T supresores
Tt	Linfocitos T totales
Tc/Ts	Índice de linfocitos T cooperadores y linfocitos T supresores.
Lyt	Lymphocyte T (receptor)
T3, T4, T6, T8, T11	Moléculas presentes en la membrana de los linfocitos T.
Ti	Molécula que aparece de manera específica en las clonas de los linfocitos T.
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
Conca A	Concanavalina A
PHA	Fitohemaglutinina
DNA	ác. desoxiribonucleico
AMPc	Adenosin monofosfato ciclico.
IL-1	Interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
LAF	Factor activador de linfocitos
TCGF	Factor de crecimiento de células T
g	gravedad
rpm	revoluciones por minuto
PG	Prostaglandinas
DGLA	ác. dihomogammalinoléico
HAT	hipoxantina-aminopterina-timidina
Ig	Inmunoglobulina
RID	Inmuno difusión radial
C2, C3, C4.	Fracciones del sistema proteínico del complemento.
C'	Sistema proteínico del complemento.

DATOS GENERALES.

Nombre: _____ Sexo: _____ Edad: Años _____ Meses _____

Lugar y Fecha de Nacimiento: _____ Diagnóstico: _____

No. del sujeto en estudio: _____ No. de cama: _____

Fecha de Ingreso: _____

HISTORIA CLINICA.-

Fecha					
Peso/edad					
Peso/talla					
Talla/edad					
PRUEBAS BIOQUIMICAS					
Albúmina					
Transferrina					
INDICES HEMATOLOGICOS					
Hemoglobina					
Hematocrito					
Cta. total de Gbls. blanc.					
Neutrofitos					
Linfocitos					
Basófilos					
Eosinófilos					
Monocitos					
PRUEBAS INMUNOLOGICAS					
OKT4 (Linf.Tcooperadores)					
OKT8 (Linf.Tsupresores)					
Indice T coop/T sup					
OKT3 (Linf.T totales)					

SOMATOMETRIA DEL PACIENTE DESNUTRIDO

84

Dependencia _____

Servicio _____

Cama _____

Hoja No. _____

FECHA								
EDAD CRONOLOGICA								
EDAD BIOLOGICA								
PESO								
TALLA								
SEGMENTO SUP.								
SEGMENTO INF.								
LONGITUD PIE								
PERIMETROS								
CEFALICO								
TORACICO								
BRAZO								
MUSLO								
PIERNA								
DIAMETROS								
BIACROMIAL								
BICRESTAL								
PLIEGUES								
I.E.V.								
TRICIPITAL								
ABDOMINA L								