

**Función Fagocítica en Pacientes Desnutridos  
con Aporte de Zinc**

**T E S I S**

Que para obtener el título de :  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a :

**ARACELI CORDERO MANRIQUEZ**

México, D. F.



1981



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

ESTE TRABAJO SE LLEVO A CABO EN EL HOSPITAL DE PEDIATRIA DEL  
CENTRO MEDICO NACIONAL DEL I.M.S.S. BAJO LA ACERTADA ASESORIA  
DA LA SRITA QUIMICA MAITE ASTIGARRAGA, MAESTRA DE INMUNOLOGIA  
DE LA UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO. GRACIAS A LA CUAL-----  
LOGRE CONCLUIRLO.

DE MANERA ESPECIAL AGRADESCO LA VALIOSA COLABORACION A LA  
SRITA QUIMICA MA TERESA ALVARES BAÑUELOS.

DEDICATORIA :

A MIS PADRES CON TODO EL CARIÑO DE SU HIJA.

A MI HERMANO.

A MIS ABUELITAS.

A MIS MAESTROS.

# I N D I C E :

	Página;
INTRODUCCION .....	1
CAPITULO I	
GENERALIDADES.	
1.- FORMACION DE CELULAS FAGOCITICAS.....	4
2.- MIGRACION .....	7
3.- RECONOCIMIENTO .....	8
4.- INGESTION .....	9
5.- MUERTE Y DESTRUCCION DEL MICROORGANISMO .....	10
CAPITULO II	
MATERIAL Y METODOS.	
1.- QUIMIOTAXIA .....	13
A.- REACTIVOS .....	14
B.- METODO .....	15
2.- INCORPORACION INTRACELULAR DE PARTICULAS INERTES.	16
A.- REACTIVOS .....	16
B.- METODO .....	17
3.- REDUCCION DE NITRO-AZUL DE TETRAZOLIO NBT .....	19
A.- REACTIVOS .....	19
B.- METODO .....	20
4.- DETERMINACION DE ZINC .....	20
A.- METODO .....	20
CAPITULO III	
1.- RESULTADOS .....	21
A.- EVOLUCION DE PRUEBAS DE FUNCION FAGOCITICA EN ... DEMNUTRIDOS CON APOORTE DE ZINC.....	
MUESTRA BASAL .....	22
B.- MUESTRA A LOS 7 DIAS .....	23
C.- MUESTRA A LOS 14 DIAS .....	24
D.- MUESTRA A LOS 30 DIAS .....	25

Página.

E.- EVOLUCION DE PRUEBAS DE FUNCION FAGOCITICA EN DESNUTRIDOS SIN APOORTE DE ZINC. MUESTRA BASAL .....	26
F.- MUESTRA A LOS 7 DIAS .....	27
G. MUESTRA A LOS 14 DIAS .....	28
H.- MUESTRA A LOS 30 DIAS .....	29
2.- GRAFICAS.	
CAPITULO IV.	
1.- RESUMEN .....	31
2.- CONCLUSIONES .....	32
CAPITULO V .	
BIBLIOGRAFIA .....	33

## INTRODUCCION:

La importancia de los minerales traza en la nutrición humana se ha apreciado gradualmente. Se han identificado un gran número de zinc-metalo enzimas en las que se incluyen la fosfatasa alcalina, anhidrasa carbónica, carboxipeptidasa y deshidrogenasa alcohólica.

El zinc modula la actividad de varias enzimas que participan en el metabolismo de los ácidos nucleicos. Esto ha sugerido que una deficiencia en zinc conduzca a una anormalidad en el RNA mensajero, resultando en una disminución de síntesis de DNA, proteínas, además de disminución en la capacidad de división celular ( 16).

La deficiencia de zinc puede ser el resultado de una reducción en la ingestión, mala absorción o incrementada excreción (16). En la ---- desnutrición protéico-calórica. se ha observado deterioro en la inmuno\_ competencia y se ha relacionado este defecto con la concentración en suero de algunos cationes en los que se incluye al Fe, Ca, y Mg. Se ha demostrado que éstos influyen en la fagocitosis y otras funciones de los neutrófilos.

Recientemente se tienen evidencias experimentales del efecto inhibitor en la ingestión de partículas de látex y destrucción intracelular de E coli, por efecto del zinc en polimorfonucleares del perro. El efecto-inhibidor del zinc se ha observado que es dependiente de la concentra\_ ción y la presencia de Mg ( 4, 18 ).

En pacientes que sufren extensas quemaduras, la actividad fagocítica coinciden con cifras subnormales de zinc ( 9). Se ha demostrado incremento en la migración de los fagocitos en cobayos deficientes en zinc(3).Se ha observado coincidencia entre bajas concentraciones de zinc durante - procesos infecciosos y facilitación de la actividad fagocítica de los - polimorfonucleares en humanos (25).

Sin embargo se ha observado un efecto inhibitor de la función fagocítica de los granulocitos en el líquido prostático que es rico en zinc(6)

En resumen la deficiencia de zinc, de acuerdo a las ~~observaciones~~ experimentales y clínicas, se han asociado con deterioro de los mecanismos de defensa del huésped y en la reparación de tejido (2). En animales experimentales con deficiencia de zinc hay una reducción de la respuesta de linfocitos a los mitógenos (5). En trabajos recientes se ha supuesto el efecto de mediadores bioquímicos de leucocitos que disminuyen la concentración de zinc en el suero durante la infección.

Los mecanismos por los cuales el zinc inhibe las funciones de los fagocitos y otras células no se ha aclarado; por lo que el zinc puede ser una clave en la modulación del metabolismo, proliferación y división celular.

Por lo anteriormente expuesto nos interesó estudiar durante la administración oral de zinc, la función fagocítica de las células polimorfonucleares de pacientes deficientes de zinc y con desnutrición de grado III.

Por lo tanto se hicieron pruebas de incorporación de partículas de látex (fagocitosis), quimiotaxia, reducción de NBT, antes y después del aporte de zinc, para ver si había modificación en las funciones fagocíticas.

**PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA :**

Se desconoce el efecto durante el **reemplazo** de zinc en la función fagocítica de células polimorfonucleares humanas, por lo que se realizarán las pruebas anteriormente mencionadas y verificar qué efecto tenía el zinc en las funciones fagocíticas.

**HIPOTESIS :**

Existe un efecto inhibitorio de la función fagocítica durante el --- reemplazo de zinc, el cual tenemos que comprobar con las pruebas realizadas.

**OBJETIVOS :**

- Demostrar durante el aporte de zinc, el efecto en la fagocitosis - es decir si hay aumento, disminución ó no hay modificación alguna en la función fagocítica.
- Inferir la dosis de reemplazo no inhibitoria de fagocitosis.
- Aportar evidencias del efecto del zinc en la fagocitosis para - diseñar mejores esquemas de reposición.

#### GENERALIDADES :

Hace aproximadamente un siglo que METCHNIKOFF, descubrió la fagocitosis y dedujo que este mecanismo era un fenómeno importante para proteger a los organismos multicelulares de la infección y del ataque de microorganismos ubicuos en el ambiente externo; él dejó asentado que la fagocitosis es la base de la sobrevivencia en contra de la infección piógena.

La fagocitosis comprende una gran variedad de fenómenos complejos y muy especializados que se suceden en forma secuencial e interrumpida -- pero que pueden agruparse en las siguientes fases;

- 1.- Formación de fagocitos.
- 2.- Migración hacia la zona de infección.
- 3.- Reconocimiento de las partículas u organismos.
- 4.- Ingestión.
- 5.- Procesos bioquímicos de muerte y lisis.

( Estas fases se analizan en detalle haciendo énfasis en sus mecanismos moleculares ).

#### 1.- FORMACION DE CELULAS FAGOCITICAS :

Los fagocitos para llevar a cabo su papel protector en el huésped, deben de alcanzar un estado de madurez y aptitud, los fagocitos propiamente dichos son los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y los fagocitos mononucleares.

#### NEUTROFILOS :

La médula ósea es la responsable de la producción de los polimorfonucleares neutrófilos, llama la atención su alta productividad, ya que un individuo de 70 Kg, genera  $126 \times 10^9$  neutrófilos por día. La sobrevivencia de un neutrófilo en la circulación es aproximadamente de 6 horas.

Durante la primera etapa de maduración se tiñe de azul con la tinción de WRIGHT GIEMSA y ultraestructuralmente se ven grandes y electro-densos, a estos gránulos se les denomina gránulos primarios. En las etapas más tardías de su maduración la producción de gránulos primarios disminuye y aparecen otros más pequeños y menos electro-densos que se tiñen poco con la solución de WRIGHT ( en el citoplasma). Estos gránulos secundarios son los gránulos específicos de los neutrófilos y sobrepasan en número a los primarios en un polimorfonuclear maduro. Los precursores de los neutrófilos contienen numerosas mitocondrias, su respiración es aeróbica. (22). En la metamorfosis de estas células el contenido de mitocondrias disminuye considerablemente y aparecen acúmulos de glucógeno lo cual indica que el neutrófilo maduro depende básicamente de una respiración glucolítica para su tinción. Esto revela una gran ventaja para estas células que deben funcionar en ambiente muy hipóxico cuando migran entre los tejidos y hacia los sitios inflamados con infección piógena.

Se ha descrito una actividad bactericida deficiente en los neutrófilos circulantes en pacientes con infecciones severas y en las reacciones leucomoides extremas, hecho que apoya al concepto de que la reserva de neutrófilos es funcionalmente inmadura. Mediante el uso de la prueba de nitroazul de tetrazolio se ha descrito que existe una población de neutrófilos capaz de reducir a esta sustancia inmediatamente y otras que no lo hacen; aparentemente una de estas poblaciones es la que está funcional y morfológicamente adaptada para llevar a cabo inmediatamente la función bactericida, mientras que la otra población pudiera necesitar algún proceso de estimulación posterior para que cumpla su función.

FAGOCITOS MONONUCLEARES :

La médula ósea también es la fuente de los monocitos circulantes e indirectamente es el sitio de nacimiento de los macrófagos porque los monocitos que se diferencian hacia la línea de los macrófagos son los que se encuentran en los tejidos, parece que los monocitos permanecen menos tiempo en la médula y más tiempo en la circulación que los neutrófilos, la maduración del monocito es más compleja que la del neutrófilo. Los fagocitos mononucleares deben ser considerados como en un constante estado de maduración a través de la mayor parte de su vida. Durante la diferenciación de los monocitos alteran su morfología y metabolismo y adquieren características únicas dependiendo del tejido donde se encuentran. Por ejemplo los macrófagos alveolares tienen mayor capacidad de fosforilación oxidativa, mientras que los macrófagos peritoneales utilizan preponderantemente la glucólisis.

FAGOCITOS EN LA DEFENSA DEL HUESPED

FAGOCITO	LOCALIZACION
Neutrófilo polimorfonuclear ( $126 \times 10^9$ ) vida media 6 hrs	Sangre y todos los tejidos
Monocito	Sangre y todos los tejidos
Macrófagos tisulares (histiocitos )	Todos los tejidos especialmente; bazo, ganglios linfáticos y médula ósea.
Células de Kupffer	Sinusoides hepáticos
Macrófagos alveolares	Septa alveolar y espacios alveolares

## 2.- MIGRACION: ( Quimiotaxia );

La quimiotaxia es el conjunto de mecanismos que permite que los fagocitos se movilicen en forma vectorial y a través de un gradiente hacia los sitios de la inflamación. En verdad, mucho del tránsito normal de los fagocitos es inducido quimiotácticamente (por ejemplo el movimiento de los leucocitos hacia las regiones que habitualmente contienen microbios como el intestino). La quimiotaxis reviste dos aspectos de importancia, en primer lugar el origen de la naturaleza de los factores-humorales con actividad quimiotáctica y en segundo el mecanismo de la respuesta móvil de los fagocitos.

La interacción entre los microorganismos y el huésped da lugar a la generación de factores que inducen la migración de los fagocitos y se conocen como quimiotácticos, el principal mecanismo que genera actividad quimiotáctica para fagocitosis, es mediante la activación del complemento del suero. La activación puede ocurrir en varias formas, el anticuerpo reacciona con la superficie del microbio y el antígeno-anticuerpo activa en forma secuencial los componentes hemolíticos del complemento  $C_1, C_4$ , y  $C_2$ . El antígeno-anticuerpo  $C_1, C_4$  y  $C_2$  ataca el compuesto  $C_3$  y el  $C_5$ , en el suero para dar lugar a otros fragmentos denominados  $C_{3A}$  y  $C_{5A}$  que son péptidos de bajo peso molecular con actividad quimiotáctica. Las proteasas liberadas de las bacterias o del tejido dañado pueden atacar también directamente al  $C_3$  y al  $C_5$ , para producir también los péptidos  $C_{3A}$  y  $C_{5A}$  los agregados de plaquetas también liberan proteínas que generan un factor quimiotáctico del  $C_5$ .

El desplazamiento del fagocito, se debe a la actividad pseudópódica del mismo, el continuo cambio de forma, la emisión de prolongaciones citoplásmicas en las direcciones del movimiento y los fenómenos intracitoplásmicos que lo acompañan permiten la migración de la célula en ---

dirección del gradiente quimiotáctico, en verdad el mecanismo se semeja a la contracción muscular, es activado por el calcio y requiere de la presencia de ATP.

### 3.- RECONOCIMIENTO :

No se sabe exactamente qué es lo que ocurre en la superficie de algunas partículas que desencadena el proceso de englobamiento por el fagocito, por ejemplo los macrófagos ingieren un eritrocito viejo o dañado pero nunca un eritrocito joven. La ingestibilidad de las partículas quizás sea influenciada en gran parte por una carga eléctrica neta en la superficie o por sus propiedades hidrofóbicas, pero estas observaciones no pueden ser todavía confirmadas. Las partículas que han interactuado con el suero fresco están revestidas con suficientes cantidades de anticuerpos específicos y estas pueden ser ingeridas entonces con gran avidez

El recubrimiento de las bacterias con estas partículas del suero que son proteínas y que aceleran la endocitosis se reconoce como proceso de opsonización y consta de dos fases; 1.- La acción del suero sobre la partícula y 2.- La forma como la partícula opsonizada acelera la ingestión del fagocito.

### ASPECTOS HUMORALES :

Solamente los anticuerpos de la clase IgG son activados opsonicamente y de éstos las subclases IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub> son las especies que participan en la opsonización. La porción Fc de la molécula del anticuerpo, así como el segmento Fab que se une a la partícula debe estar intacto para la expresión de la actividad opsonica. Las opsoninas mejor caracterizadas del suero son las fracciones activadas del C<sub>3</sub> y de la IgG aunque se encuentran también otras fracciones con esta actividad.

La opsonización de las partículas eleva el índice de ingestión de los fagocitos de niveles muy bajos a niveles sumamente elevados.

El efecto de las opsoninas, así como el efecto de los agentes quimio tácticos, es análogo al efecto de las hormonas sobre las reacciones --- metabólicas. ( 22).

#### FACTORES DE IMPORTANCIA PARA EL RECONOCIMIENTO

##### OPSONIZACION :

IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>3</sub>

Fragmentos Fc y Fab intactos

Termolábiles (complemento C<sub>3</sub>)

##### FACTOR CELULAR :

Molécula receptora en la membrana del fagocito.

##### 4.- INGESTION :

La consecuencia inmediata del reconocimiento de la partícula extraña es naturalmente la ingestión de la partícula. El mecanismo es muy semejante al mecanismo de desplazamiento de los fagocitos; en el momento del contacto con la partícula se extiende una porción de ectoplasma hialine para formar pseudópodos; por migración hacia la partícula, estos pseudópodos la rodean hasta que se funden distalmente. El movimiento de los pseudópodos es uno por deslizamiento y es similar al deslizamiento de los fagocitos sobre la superficie. Los pseudópodos se funden en la porción distal de la partícula la que llega a ser rodeada por la membrana e -- incluida en los fagosomas. (22).

La ingestión de las partículas es un proceso dependiente de energía la incorporación de las partículas activa la porción de ATP a partir de la glucólisis y de la glucogenolisis en los neutrófilos, y de la fosforilación oxidativa en los macrófagos pulmonares. Estos hechos están de -- acuerdo con la idea de que un mecanismo utilizador de energía, tal como el de la actina-miosina, es el responsable de la ingestión, así como de la migración. La integridad metabólica de las células es un requisito -

indispensable para que se lleve a cabo la ingestión y la digestión. Los fagocitos mononucleares ingieren las partículas en forma más lenta que los neutrófilos, lo que tiene semejanza con un mecanismo de migración - que es de menor velocidad. (22)

#### DESGRANULACION :

Tan pronto como un fagosoma se forma durante el proceso de endocitosis, una gran cantidad de organitos intracitoplásmicos se funden con su membrana, en los polimorfonucleares estos organitos son los gránulos -- primarios y secundarios que sufren violentos movimientos en la proximidad del fagosoma; éstos se funden con la vacuola y desaparecen del citoplasma de ahí el nombre de proceso de desgranulación. Los componentes de -- estos gránulos pueden observarse en los fagosomas como material amorfo, denso que ha sido caracterizado histoquímica y bioquímicamente como enzimas de los gránulos, el proceso de desgranulación es el proceso por el cual las enzimas hidrolíticas son vertidas hacia los sitios operacionales sin someter al citoplasma del fagocito a sus efectos potencialmente perjudiciales. El proceso de desgranulación tiene lugar simultáneamente a la ingestión. ( 22).

Además las enzimas pueden ser vertidas fuera de la célula, la desgranulación extracelular puede ser el resultado de la salida de los gránulos a través de fagosomas incompletamente formados en un intento de los --- fagocitos para ingerir partículas de un tamaño mucho más grandes de lo que normalmente pueden ingerir. (22 ).

#### 5.- Muerte y DESTRUCCION DEL MICROORGANISMO :

El pH de la vacuola fagocítica en los neutrófilos es ácido, entre 3.5 y 4, puede ser en si mismo un proceso bactericida o bacteriostático para muchos organismos. La acidificación del fagosoma puede ser un proceso -

secundario a la acumulación del lactato que proviene del aumento de la actividad glucolítica que ocurra durante la ingestión o puede también ser debido a la activación de la anhidrasa carbónica y a la producción de ácido carbónico para formar bióxido de carbono por medio de este mecanismo enzimático. La desgranulación de los neutrófilos trae como consecuencia la liberación de una serie de sustancias con actividad antimicrobiana, como por ejemplo la lisozima que ataca los mucopéptidos de la pared celular de algunas especies bacterianas. La lactoferrina, que es una proteína que se une al hierro y que inhibe al crecimiento de los microorganismos, también se encuentra en los fagosomas después del proceso de desgranulación, además las enzimas hidrolíticas que se vacían en el fagocitosoma son capaces de impedir rápidamente que el microbio se reproduzca y posteriormente degradan también algunas partes de estos microorganismos (22).

El agente antimicrobiano quizás más poderosos de los neutrófilos es el peróxido de hidrógeno y esta actividad se incrementa significativamente por el efecto de la mieloperoxidasa en presencia de iones de halógenos la enzima degradadora del peróxido de hidrógeno aumenta la actividad de estas sustancias, durante la catálisis del peróxido de hidrógeno, otro sustrato es oxidado, por lo tanto la mieloperoxidasa y el halógeno, mientras disminuye la cantidad de peróxido de hidrógeno en la vesícula aumenta su habilidad para atacar sustratos vulnerables cruciales para la replicación microbiana. El mecanismo de este ataque no se conoce en forma precisa y se supone que los aldehídos reactivos que emanan de esta reacción representan, en último análisis, los agentes directamente bactericidas. Los halógenos más empleados en este proceso son el cloro y el yodo que pueden servir como factores para la actividad bactericida de este sistema. ( 22).

Los macrófagos estimulados ó los macrófagos expuestos a agentes --- inmunológicos como adyuvantes o cultivados en presencia de proteínas -- digeribles como las linfoquinas, tienen mayor capacidad bactericida que las células no estimuladas. El macrófago estimulado en relación a la -- célula no estimulada puede ingerir algunas partículas más rápidamente, - mostrar también un mayor contenido de enzimas hidrolíticas, descargar - más de su actividad enzimática hacia los fagosomas y tienen mayor activi dad oxidativa, sugiriendo todo esto que tienen seguramente mayor produc\_ ción de peróxido de hidrógeno, (22).

La degradación de los microorganismos, a pesar de que puedan estar- eficientemente aniquilados es incompleta. La incapacidad de los fagocitos para digerir microbios completamente, se debe a que la pared celular -- bacteriana estable impide el acceso de las enzimas digestivas a las --- macromoléculas susceptibles de los organismos. Los fagocitos serían -- capaces en otras condiciones de digerir tales moléculas y esto se demues tra por la capacidad de los macrófagos para degradar completamente pro\_ teínas solubles que han incorporado por pinocitosis. (22).

SOLICITUD DE AUTORIZACION PARA LAS PRUEBAS

ESTUDIO DE FUNCION FAGOCITICA EN PACIENTES QUE RECIBEN APORTE DE  
ZINC

Señores padres o tutores del niño;

El estudio para el cual se les pide su autorización se realizará con el objeto de conocer las características del efecto del zinc en la --- función de fagocitosis de células polimorfonucleares en la sangre periférica de los pacientes desnutridos de grado III, que necesitan aporte de zinc.

El estudio por lo tanto es de beneficio directo para los niños y -- consiste en extraer 5 ml de sangre periférica a través de una punción de la vena en el pliegue del codo antes de iniciar el aporte de zinc y a los 7, 14, y 30 días, durante y/o después del aporte.

Usted puede hacer las preguntas que desee antes de firmar esta hoja o bien podrá interrumpir la autorización en el momento en que lo desee.

Tenga la seguridad que durante la realización del estudio evitaremos riesgos innecesarios, físicos o mentales.

El comité de Investigación del Hospital ha revisado y aprobado este estudio y se ha estimado que no habrá ninguna consecuencia para su niño si bien está usted de acuerdo en que se efectúe.

Si usted decide que ha su niño se le realicen las pruebas se harán todos los esfuerzos para salvaguardar la salud y debe quedar claro para usted que de negarse después de haber firmado esta hoja no habrá ninguna consecuencia de falta de atención a su hijo.

Si usted otorga su consentimiento firmando esta hoja, significa que ha discutido totalmente los detalles del estudio con el Dr.

, que los ha entendido cabalmente y que su consentimiento no es el resultado de presión o temor por parte de Médico o Institución

---

Firma del padre o tutor.

MATERIAL Y METODO :

Se estudiaron dos grupos de pacientes;

Grupo I ; 15 pacientes desnutridos de grado III (de acuerdo a edad, peso y talla) de 6 a 24 meses de edad, con cifras subnormales de zinc en suero (cifras normales 81.75mcg/ml para menores de un año de edad y 92.59mcg/ml para mayores de un año ) (16).

A cada paciente se le registró sexo, peso y talla. Asimismo, previa -- autorización por escrito de sus familiares, se les extrajeron 8ml de --- sangre periférica (5m para los estudios de fagocitosis y 3m para la -- determinación de zinc). Las determinaciones de zinc y fagocitosis se -- realizaron antes y despues del aporte del zinc a los 7, 14 y 30 días. Las dosis de aporte de zinc fuerón de 25mg de sulfato de zinc por via oral - cada 24 horas durante 30 días o hasta su normalización si esto ocurriera antes.

Grupo II o grupo control; incluyó niños con las mismas características - del grupo I por lo que se les efectuaron las mismas pruebas pero sin --- recibir aporte de zinc. Se tenían planeados 15 pacientes pero sólo se -- estudiaron 7, ya que no fué posible tener la autorización de los famili\_ ares para realizar los estudios. De los 7 sólo a 3 se les hizo el total- de las pruebas, mientras que a los otros 4 solamente se les trabajó la- muestra basal y a los 30 días. El estudio de la función fagocitica se -- efectuó mediante las siguientes pruebas;

1.- QUIMIOTAXIA:

FUNDAMENTO:

Una propiedad biológica básica de los polimorfonucleares es la habi\_ lidad para soportar la migración activa en respuesta a un estímulo ---- quimiotáctico específico.

La quimiotaxia de estas células es medida por el método descrito por

Boyden. Los polimorf nucleares son puestos en la cámara superior y en la cámara inferior se coloca el quimiotáctico (suspensión de caseína) y son separados por un microfiltro de 0.45 $\mu$ , por medio del cual los polimorf nucleares migran y se adhieren en la parte inferior del mismo.

REACTIVOS:

a) Caseína, No C- 3883, alfa caseína SIGMA.

b) Hematoxilina

c) Metanol

d) Alcohol-ácido

alcohol etílico al 70%, HCl al 1% a partes iguales

e) Agente azulante

NaHCO<sub>3</sub>                    2g

Mg SO<sub>4</sub>                    20g

Para un litro de agua destilada.

f) Alcohol etílico al 70%

g) Alcohol etílico al 96%

h) Alcohol etílico absoluto

i) Xilol

j) Resina

k) Solución de Hank's

METODO :

Se realizó el procedimiento de acuerdo a la técnica de Boyden.

Se tomaron 2.5 ml de sangre heparinizada, se dejó sedimentar ----- espontáneamente. Se separó con pipeta pasteur el plasma rico en leucocitos se centrifugó el plasma a 2000 rpm durante 10 minutos, para obtener el botón celular, el cual se lavó 2 veces con solución de Hank's con un pH de 7.2

Boyden. Los polimorfonucleares son puestos en la cámara superior y en la cámara inferior se coloca el quimiotáctico (suspensión de caseína) y son separados por un microfiltro de 0.45 $\mu$ , por medio del cual los polimorfonucleares migran y se adhieren en la parte inferior del mismo.

REACTIVOS:

a) Caseína, No C- 3883, alfa caseína SIGMA.

b) Hematoxilina

c) Metanol

d) Alcohol-ácido

alcohol etílico al 70%, HCl al 1% a partes iguales

e) Agente azulante

$\text{NaHCO}_3$  - 2g

$\text{Mg SO}_4$  20g

Para un litro de agua destilada.

f) Alcohol etílico al 70%

g) Alcohol etílico al 96%

h) Alcohol etílico absoluto

i) Xilol

j) Resina

k) Solución de Hank's

METODO :

Se realizó el procedimiento de acuerdo a la técnica de Boyden.

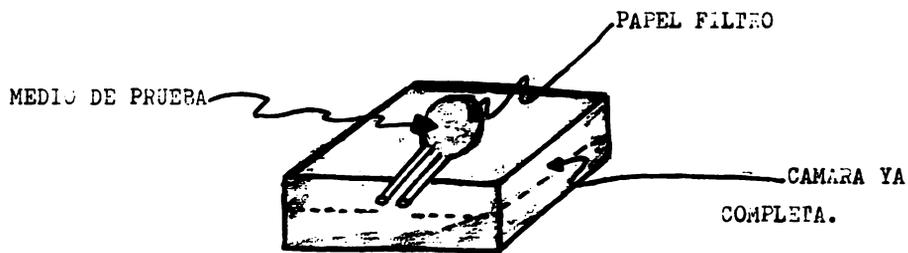
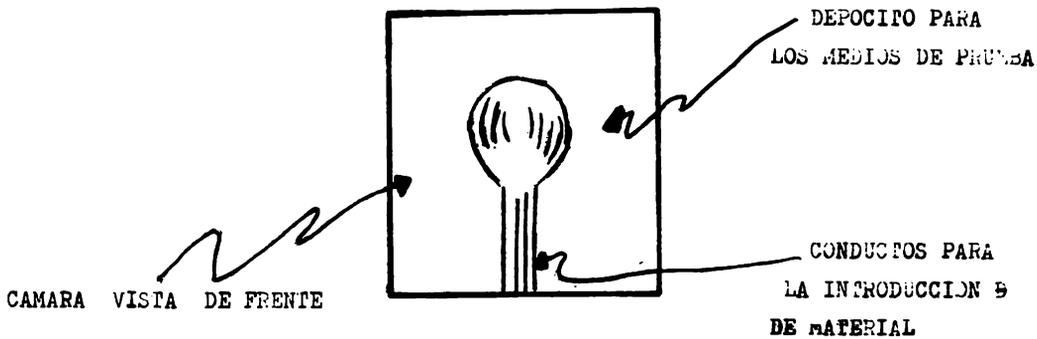
Se tomaron 2.5 ml de sangre heparinizada, se dejó sedimentar ----- espontáneamente. Se separó con pipeta pasteur el plasma rico en leucocitos se centrifugó el plasma a 2000 rpm durante 10 minutos, para obtener el botón celular, el cual se lavó 2 veces con solución de Hank's con un pH de 7.2

Se ajustó la suspensión celular a  $3 \times 10^6$  PMN x ml. Como factor quimio-táctico se utilizó caseína ( 5mg por ml de Hank's ), la cuál se preparó-cada vez que se usó. Se prepararon las cámaras de Boyden con vaselina --siliconisada y se colocó el filtro centrado para evitar escurrimiento de las sustancias, ya listas las cámaras se llenaron teneiendo cuidado de no hacer burbujas, por lo cual la punta de la aguja se colocó hacia abajo,- las células se colocaron en la cámara superior y la caseína (FQ), en la cámara inferior y se sellaron con vaselina para evitar la òntrada de --aire ó la salida de una de las sustancias por los canales. Se incubó --- durante 3 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ , al término de las cuales los filtros se desprenden cuidadosamente de las cámaras y se lavaron para después teñirlos con -hematoxilina de Harris (se lavó en una solución de Hank's para quitar -- las células no adheridas, se pasó el filtro en una solución de metanol - para fijar las células, se lavó con agua destilada, se tiño con hematoxi- lina durante 1 minuto, se lavó con agua de la llave para quitar el exceso de colorante, se pasó a alcohol-ácido, luego en agua destilada, posterior- mente en agente azulante por 2 minutos, agua destilada, alcohol al 70% - durante 1 minuto, alcohol al 96% por 1 minuto, alcohol absoluto por 2 -- minutos y por último en xilol). Se colocaron los filtros en portaobjetos perfectamente limpios y se agregó resina y se sellaron con un cubreobje- tos se leyóal microscopio de luz y se contaron 5 campos al azar. ( 1 ).

El total de células migradoras debe ser de 30 a 60 por campo ( 1 ).

EJEMPLO:

$$\begin{array}{r} 45 \\ 36 \\ 68 \\ 70 \\ 55 \\ \hline 274 \end{array} = 274 \div 5 = 54.8 \% \text{ de Quimiotaxis}$$



C A M A R A D E B O Y D E N .

## 2.- INCORPORACION INTRACELULAR DE PARTICULAS INERTES:

El proceso de fagocitosis lo podemos dividir en dos fases; 1.-Fase - de unión la cual es independiente de la energía de las células y 2.-Fase de ingestión la cual requiere de una actividad metabólica:

### FUNDAMENTO:

La ingestión de los microorganismos por los neutrófilos es un proceso activo que requiere de la producción de energía por el fagocito. La ---- englobación del microorganismo recubierto de complemento y anticuerpo, - ocurre con rapidez después de su contacto con la superficie de los neutrófilos.

Hay una gran variedad de métodos para la determinación de partículas ingeridas por los neutrófilos, todas involucran incorporación de partículas ya sean intracelularmente o extracelularmente, algunas requieren de suspensiones celulares para el procedimiento, otras son expuestas con una superficie adherente celular. En métodos recientes, se incuban al fagocito con partículas marcadas y con un tiempo corto nos revela las células --- conteniendo partículas introducidas en ellas. ( 23 ).

### REACTIVOS:

a) Látex; látex Beads, LB-8, suspensión acuosa al 30% SIGMA

diametro de la partícula = .794  $\mu$

2ml de solución de Hank's más 0.05ml de látex.

b) Colorante de Wright.

Wright            2g

Metanol           970 ml

Glicerina          30 ml

Para preparar un litro.

c) Solución de Hank's

NaCl	8g
CaCl <sub>2</sub>	0.14g
KCl	0.4 g
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0.1 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12 H <sub>2</sub> O	0.120 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.06 g
NaHCO <sub>3</sub>	0.35 g
Glucosa	1.0 g
Rojo de fenol	0.007 g

Para un litro de agua desionizada.

METODO:

Se utilizarón 2.5 ml de sangre desfibrinada, la cual se colocó en los tapones de plástico previamente preparados con un cubreobjetos; se colocaron en cámara húmeda y se incubaron durante 45 minutos a 37°C con el objeto de que los PMN se adhieran al cubreobjetos, después se lavaron los tapones con solución de Hank's pH 7.2 dejando correr las gotas por las orillas suavemente, para quitar las células que no se adherieron, no se dejaron secar y se les agregó suero con látex (5 lamdas de látex en 0.5 ml de suero problema y para la prueba testigo se utilizó Hank's en lugar del suero), se colocaron en cámara húmeda a 37°C durante 30 minutos al cabo de los cuales se lavaron los tapones con solución de Hank's, se dejaron secar para teñirlos con colorante de Wright. (se cubrieron los cubreobjetos con Wright se dejó reposar por 3 minutos, se agregó agua --- destilada y se mezcló, se dejó reposar por 3 minutos, se agregó agua -- destilada y se mezcló, se dejó reposar 5 minutos y se lavó con agua corriente y se dejaron secar). Se despejaron los cubreobjetos suavemente en -

forma rotatoria y se montaron en un portaobjetos que contenia resina --- cuidando de que las células quedaran contra el portaobjetos. Se leyó al microscopio de luz y se contaron 500 células (PMN) de las cuales normal\_ mente 50 a 60% deben fagocitar. ( 10 ).

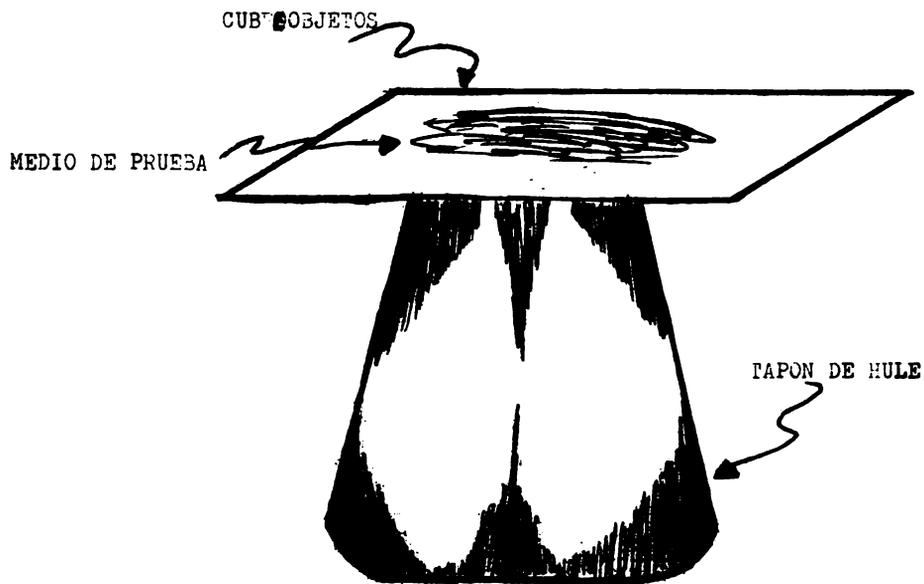
EL INDICE FAGOCITICO: Se determinó multiplicando el porciento de células fagocíticas por el promedio de partículas fagocitadas, tomando como --- normal un índice de 6 a 7 .

EJEMPLO Y FORMULA:

IF = % PMN x  $\bar{N}$  de partículas de látex fagocitadas.

PMN	Partículas Fagocitadas
1	16
2	17
3	15
4	11
5	7
<u>etc</u>	<u>etc</u>
500 = 50%	20%

$$IF = 0.30 \times 0.20 = 0.06 = 6 .$$



CUBREOBJETOS UTILIZADOS PARA LAS PRUEBAS DE INCORPORACION  
Y REDUCCION DE NBT.

### 3.- REDUCCION DE NITRO-AZUL DE TETRAZOLIO ( NBT ):

#### FUNDAMENTO:

Las células son puestas en contacto con partículas de NBT de color amarillo, Los neutrofilos que no están estimulados no son capaces de fagocitar el reactivo, sucediendo lo contrario con los que si son estimulados. Las partículas sufren una reducción intracelular dentro del fagosoma, cambiando su coloración amarilla a cristales de color azul insoluble (cristales formazan), los cuales son contables al microscopio de luz.(23)

#### REACTIVOS:

a) Solución salina normal

b) Nitro-azul de tetrazolio;(Nitro-tetrazolio P-nitro -azul-tetrazolio, 2-2 di p-nitrofenil 5-5difetil, 3-3 dimetoxi;4-4 difenilen) ditetrazolio-cloro, GradoIII ; cristales amarillo lemon. SIGMA.

NBT                    0.028 g

c) Safranina

Safranina            1 g

Glicerina            40 ml

H<sub>2</sub>O                    100 ml

d) Solución PBS    pH    7.2

NaCl                    8.00g/l

KCl                     0.20g/l

Na 2H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.008M    1.15g/l

H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>                    0.20g/l

Para un litro. ( se disuelve en agua destilada ).

e) Solución de Hamk's pH 7.2

METODO :

Se utilizó sangre desfibrinada, la cual se colocó en los cubreobjetos limpios, los cuales se incubaron por 35 minutos a 37°C en cámara húmeda-- después se lavaron con solución salina normal y se secaron, se les puso a los cubreobjetos el medio de prueba ( 0.5 ml de suero humano normal, - 0.6 ml de NBT 0.28 y 0.3 ml de solución salina normal), la concentración final del NBT fué de 0.12%. Se incubó 25 minutos a 37°C en cámara húmeda, a continuación se eliminó el medio de prueba y se sumergieron los cubre\_ objetos en dos baños sucesivos de solución salina normal se dejaron secar y se sumergieron en metanol absoluto por 60 segundos para fijar las célu\_ las, luego se lavaron con agua destilada y se dejaron secar. Se tiñeron con safranina durante 15 minutos, al término de esto se lavaron con agua de la llave y se secaron, se montaron en portaobjetos cuidando de que - las células quedaran contra el portaobjetos y se fijaron con resina.

Se leyó al microscopio y se sacó el porciento de células formazán -- (células que redujeron el NBT), de un total de 500 células, tomando como valor normal de 30-40 %. ( ?).

4.- DETERMINACION DE ZINC :

La determinación de zinc se efectuó por medio de el método de absor\_ ción atómica; de acuerdo a las técnicas modificadas de David, Olson, y - Piper.

METODO :

Se extrajo la sangre (3ml) mediante jeringas lavadas con ácido ---- nítrico. Se centrifugó la sangre para obtener el suero el cual se separó con pipeta pasteur. Se tomó un mililitro de suero y se le agregó 1ml de-- ácido tricloroacético al 25%. Al sedimentar se tomó el sobrenadante y se colocó en otro tubo; éste se colocó en el espectrofotómetro (Perkin Elmer 403), de absorción atómica con lampara de cátodo hueco, específica para zinc.

RESULTADOS:

Al analizar los resultados obtenidos en las pruebas de función fagocítica (quimiotaxia, fagocitosis, índice fagocítico y reducción de nitroazul de tetrazolio), en pacientes que recibieron 25 mg diarios de sulfato de zinc durante 30 días y pacientes que formaron el grupo control (sin aporte de zinc), observamos lo siguiente;

A.- Encontramos diferencias estadísticamente significativas en la función fagocítica en los pacientes que recibieron zinc y los que no lo recibieron ( ver los cuadros 1A,B,C,D, 2A,B,C,D, ;gráficas 1 a 8 ), con valor de  $P < 0.05$ .

B.- No se observa diferencia a los 7 días en la función fagocítica en el grupo de pacientes que recibieron zinc (cuadros 1A,B,C,D, y 2A,B,C,D, -- gráficas 1,3,5 y 7 ). Tampoco se observa diferencia a los 7 días en la función fagocítica de los pacientes que no recibieron zinc (cuadros 2A,B,C,D,; gráficas 2,4,6 y 8 ).

C.- Se observó mejoría en la función fagocítica en los pacientes que recibieron zinc en la 2a y 4a semanas de evolución al compararlas con las cifras basales (cuadros 1A,B,C,D,; gráficas 1,3,5, y 7), siendo la diferencia estadísticamente significativa con valor de  $P < 0.05$ . En cambio en el grupo control no encontramos diferencia estadísticamente significativa en las pruebas de función fagocítica durante toda su evolución ---- ( cuadros 2A,B,C,D,;gráficas 2,4,6 y 8), por lo anterior concluimos que el efecto del zinc mejoró los indicadores de función fagocítica en los pacientes que recibieron reposición de este ión.

Por otra parte apreciamos que la mejoría en la concentración sérica de zinc fué evidente en aquellos pacientes que recibieron aporte de zinc ( cuadros 1A,B,C,D,; gráfica 9), mientras que prácticamente no hubo modificación en el grupo control (cuadros 2A,B,C,D,; gráfica 10).

EVOLUCION DE PRUEBAS DE FUNCION FAGOCITICA EN DESNUTRIDOS CON APOORTE  
DE ZINC.

CUADRO 1-A MUESTRA BASAL:

	Zn	% Q.	%F.	I.F.	%NBT.
1.- C.A.L.G.	33.0	60.2	52.6	4.9	36.0
2.- M.M.C.	30.0	85.4	51.6	5.4	45.4
3.- G.M.O.	46.4	58.4	53.0	6.2	45.8
4.- n.V.J.	29.0	71.8	52.4	6.0	67.6
5.- A.C.R.	51.0	37.8	53.2	5.6	36.8
6.- S.M.L.	68.0	92.6	46.0	4.7	42.4
7.- F.Z.R.D.	46.8	28.8	50.6	6.7	72.6
8.- L.J.A.M.	51.2	57.3	58.0	7.0	76.8
9.- G.G.J.	41.4	42.4	56.2	6.6	48.8
10.- T.C.N.	53.0	44.0	54.6	6.5	54.2
11.- M.G.N.	62.4	45.8	41.8	5.1	51.4
12.- C.A.A.	53.4	53.4	59.2	6.7	50.8
13.- G.R.L.	30.8	19.0	58.0	8.1	36.0
14.- T.S.S.	46.6	61.0	40.6	4.4	73.4
15.- A.R.S.	48.9	69.8	41.4	3.7	30.8

Zn; Mcg % de zinc en suero.

%Q: Por ciento de quimiotaxia.

%F: Por ciento de fagocitosis.

I.F: Índice fagocítico.

%NBT: Por ciento de reducción de nitro-azul de tetrazolio.

Dosis de aporte de zinc; 25mg diarios.

EVOLUCION DE PRUEBAS DE FUNCION FAGOCITICA EN DESEMPEÑADOS CON APOORTE  
DE ZINC.

CUADRO 1-B MUESTRA A LOS 7 DIAS.

	Zn	%Q.	%F.	I.F.	%NBT.
1.- C.A.L.G.	50.8	64.6	54.4	5.7	27.0
2.- M.M.C.	64.7	65.9	54.0	5.3	35.0
3.- C.M.O.	57.2	77.6	40.8	5.5	71.8
4.- H.V.J.	39.4	52.4	49.3	5.3	30.0
5.- A.C.R.	63.9	40.6	71.0	8.9	47.4
6.- S.M.L.	71.5	37.4	54.6	5.9	60.0
7.- F.Z.R.	51.5	41.2	66.2	9.1	79.0
8.- L.J.A.M.	47.4	62.2	64.8	7.3	52.4
9.- G.G.J.	38.7	41.2	42.8	4.7	75.4
10.- T.C.N.	60.1	75.0	45.0	5.3	33.2
11.- M.G.N.	67.0	47.0	42.6	4.6	51.2
12.- C.A.A.	51.6	76.8	53.2	6.3	72.4
13.- G.R.L.	33.5	43.6	58.9	7.9	39.4
14.- T.S.S.	50.0	57.2	54.2	6.5	69.8
15.- A.R.S.	59.0	38.4	42.2	4.5	59.8

Zn; Mcg de zinc en suero.

%F: Porcentaje de fagocitosis.

%Q: Porcentaje de quimiotaxia

I.F.: indice fagocítico.

%NBT: Porcentaje de reducción de nitro-azul de tetrazolio.

Dosis de aporte de zinc; 25mg diarios.

EVOLUCION DE PRUEBAS DE FUNCION FAGOCITICA EN DESNUTRIDOS CON APOORTE  
DE ZINC.

CUADRO 1-C MUESTRA A LOS 14 DIAS.

	Zn	% Q.	% F.	I.F.	%NBT.
1.- C.A.L.G.	66.4	62.8	46.4	4.0	61.8
2.- M.M.C.	49.8	58.4	35.8	4.6	58.4
3.- C.H.O.	47.3	74.6	48.2	5.8	46.2
4.- H.V.J.	48.0	46.6	56.2	6.1	40.2
5.- A.C.R.	67.2	26.0	70.8	10.3	75.8
6.- S.M.L.	46.8	64.4	67.2	8.3	72.4
7.- F.Z.R.	54.3	48.6	63.2	8.5	68.2
8.- L.J.A.M	41.1	54.6	58.4	8.4	83.0
9.- G.G.J.	62.0	60.0	63.4	7.9	53.0
10.- T.C.N.	77.2	71.4	41.6	5.0	57.0
11.- M.G.M.	58.4	61.2	64.6	8.6	39.4
12.- C.A.A.	42.8	59.0	36.2	3.4	37.4
13.- G.R.L.	40.7	53.0	52.8	3.1	55.4
14.- T.S.S.	----	----	----	---	----
15.- A.R.S.	53.2	58.2	93.0	8.4	34.0

Zn; Mcg % de zinc en suero.

%F: Porcentaje de fagocitosis.

%Q: Porcentaje de quimiotaxia.

I.F:Indice fagocitico.

%NBT:Porcentaje de reducci3n de nitro-azul de tetrazolio.

Dosis de aporte de zinc; 20 mg diarios.

EVOLUCION DE PRUEBAS DE FUNCION FAGOCITICA EN DESNUTRIDOS CON APOORTE  
DE ZINC.

CUADRO 1-D MUESTRA A LOS 30 DIAS.

	Zn	%Q.	%F.	I.F.	%NBT.
1.- C.A.L.S.	70.5	62.2	47.4	5.0	54.2
2.- M.M.C.	59.4	55.4	54.8	6.2	43.6
3.- C.M.C.	55.2	56.4	67.0	8.5	46.6
4.- H.V.J.	56.9	49.2	66.0	8.0	47.4
5.- A.C.R.	71.1	63.6	40.6	5.0	44.4
6.- S.M.L.	70.7	58.8	61.0	6.8	46.0
7.- F.Z.R.	75.8	47.2	64.6	8.6	57.4
8.- L.J.A.M.	44.6	95.2	68.4	8.1	65.6
9.- G.G.J.	11.4	57.0	52.0	6.7	33.0
10.- T.C.N.	69.8	58.6	48.2	5.2	57.8
11.-M.G.N.	53.0	57.4	62.6	7.9	35.0
12.- G.A.A.	77.5	53.8	53.4	5.2	36.4
13.- G.R.L.	52.8	65.0	37.4	5.0	35.6
14.- T.S.S.	62.6	52.0	56.0	5.5	57.0
15.- A.R.S.	87.3	47.0	52.8	5.5	53.6

Zn ; Mcg % de zinc en suero.

%Q ; Porciento de quimiotaxia.

%F : Porciento de fagocitosis

I.F: Indice fagocitico.

%NBT: Porciento de reducci3n de nitro-azul de tetrazolio.

Dosis de aporte de zinc; 25 mg diarios.

EVOLUCION DE PRUEBAS DE FUNCION FAGOCITICA EN DESNUTRIDOS SIN APOORTE  
DE ZINC.

CUADRO 2-A MUESTRA BASAL.

	Zn	%Q.	%F.	I.F.	%NBT.
1.- P.S.J.L.	52.1	49.4	46.8	5.0	57.6
2.- P.L.A.L.	37.2	51.0	54.0	5.3	46.2
3.- D.N.J.	69.7	75.6	59.6	7.7	52.8
4.- L.V.R.	24.0	62.2	53.6	5.6	76.6
5.- M.G.A.	28.0	82.0	54.4	6.4	90.2
6.- S.G.L.	36.6	49.5	47.6	4.5	40.4
7.- A.R.R.	46.8	47.2	51.6	5.0	41.8

Zn : Meg % de zinc en suero.  
%Q : Porcentaje de quimiotaxía.  
%F : Porcentaje de fagocitosis.  
I.F: Indice fagocítico.  
%NBT: Porcentaje de nitro-azul de tetrazolio.

EVOLUCION DE PRUEBAS DE FUNCION FISIOLÓGICA EN ALIMENTADOS SIN APOORTE  
DE ZINC.

CUADRO 2-B MUESTRA A LOS 7 DIAS.

	Zn	% Q.	% F.	I.F.	%NBT.
1.- P.S.J.L.	37.7	38.0	52.0	6.5	37.0
2.- P.L.A.L.	35.8	83.8	41.0	3.9	68.2
3.- D.N.J.	----	----	----	---	----
4.- L.V.R.	----	----	----	---	----
5.- M.G.A.	26.3	74.4	40.0	5.9	31.0
6.- S.G.L.	----	----	----	---	----
7.- A.R.R.	----	----	----	---	----

Zn ; Mcg % de zinc en suero.  
%Q : Porcentaje de quimiotaxia  
%F : Porcentaje de fagocitosis.  
I.F: Índice fagocítico.  
%NBT: Porcentaje de reducción de nitro-azul de tetrazolio.

EVOLUCION DE PRUEBAS DE FUNCION FAGOCITICA EN DESNUTRIDOS SIN APORTE  
DE ZINC.

CUADRO 2-C MUESTRA A LOS 14 DIAS.

	Zn	% Q.	% F.	I.F.	%NBT.
1.- P.S.J.L.	37.0	38.7	60.6	8.3	76.4
2.- P.L.A.L.	43.6	73.8	37.4	3.7	56.3
3.- D.N.J.	----	----	----	---	----
4.- L.V.R.	----	----	----	---	----
5.- M.G.A.	43.0	49.0	39.4	4.3	43.6
6.- S.G.L.	----	----	----	---	----
7.- A.R.R.	----	----	----	---	----

Zn : Meg % de zinc en suero.  
% Q: Por ciento de quimiotaxia.  
% F: Por ciento de fagocitosis.  
I.F: Indice fagocítico.  
%NBT: Por ciento de reducción de nitro-azul de tetrazolio.

EVOLUCION DE PRUEBAS DE FUNCION FAGOCITICA EN DEBNUTRIDOS SIN APOORTE  
DE ZINC.

CUADRO 2- D MUESTRA A LOS 30 DIAS.

	Zn	% Q.	% F.	I.F.	%NBT.
1.- P.S.J.L.	46.3	36.4	55.2	6.9	48.0
2.- P.L.A.L.	37.0	70.0	57.2	7.0	61.4
3.- D.N.J.	49.0	64.6	55.6	6.2	38.4
4.- L.V.R.	55.7	81.2	45.4	5.4	36.4
5.- M.G.A.	20.0	52.3	37.2	4.1	45.3
6.- S.G.L.	56.8	43.2	46.6	5.1	38.8
7.- A.R.R.	63.5	56.8	55.6	6.4	46.2

Zn : Mcg % de zinc en suero.

% Q: Porciento de quimiotaxía.

% F: Porciento de fagocitosis.

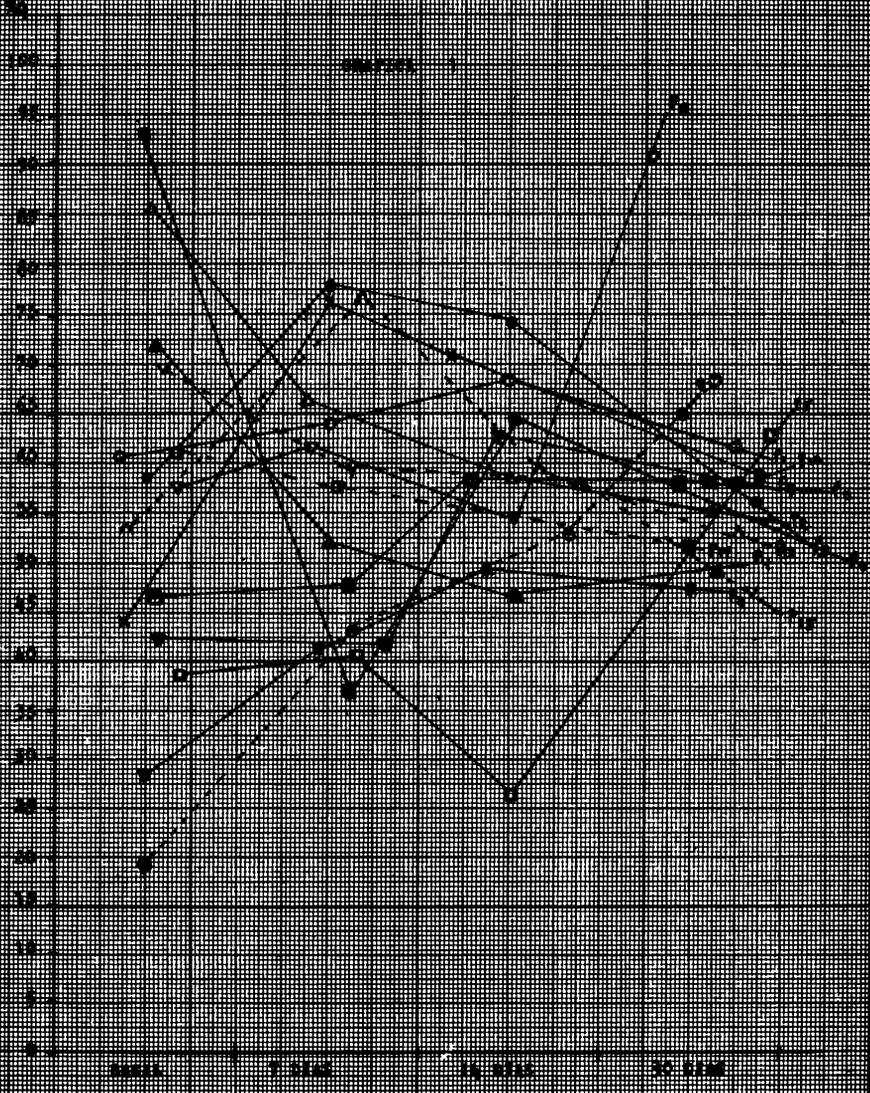
I.F: Indice fagocítico.

NBT: Porciento de reducción de nitro-azul de tetrazolio.

**ANALISIS ESTADISTICO :**

Los resultados fueron analizados estadísticamente por análisis de -  
varianza para un modelo completo y desbalanceado; y las diferencias por-  
el método de diferencias mínimas significativas. ( 19, 20).

STATISTISKE FORTSKRIFTER 1955, NR. 10. 1. DECEMBER 1955  
 STATISTISKE FORTSKRIFTER 1955, NR. 10. 1. DECEMBER 1955



ANALYSIS OF THE EFFECTS OF THE 1970-71 WINTER ON THE  
 SURVIVAL OF THE WINTERING BIRDS IN THE WINTERING  
 AREAS OF THE BALTIC SEA

TABLE 2

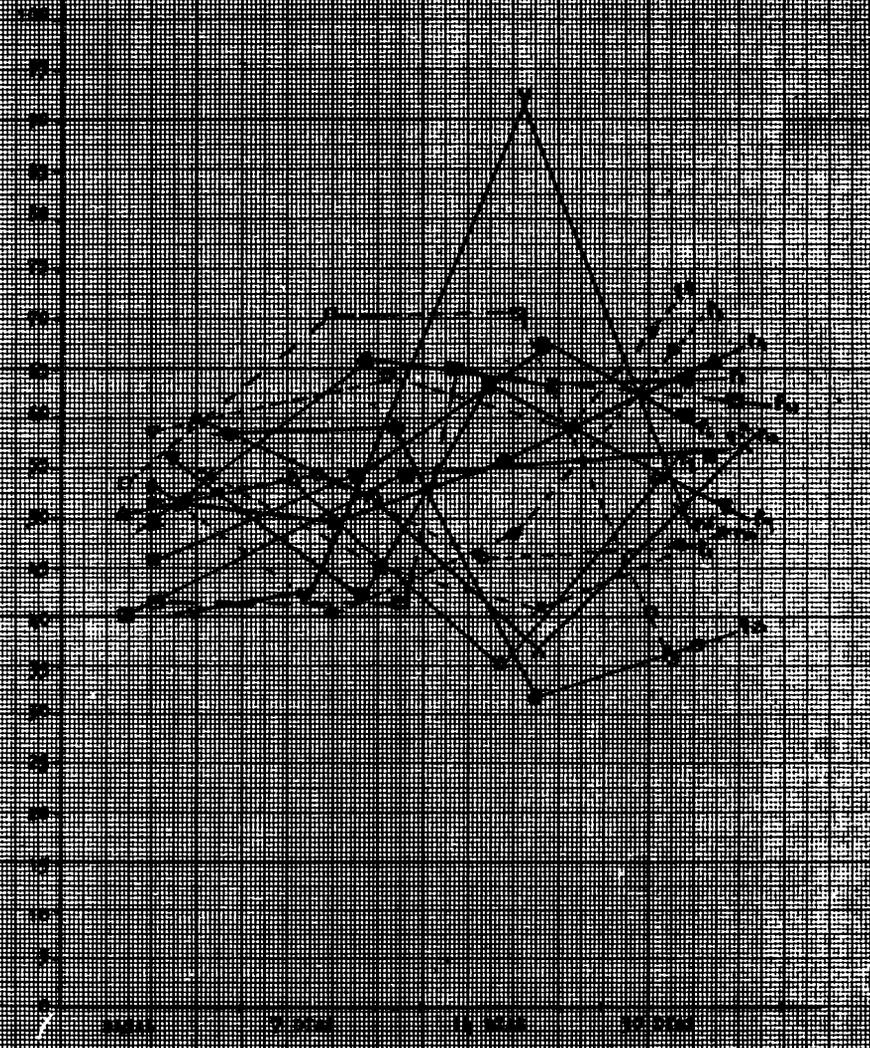
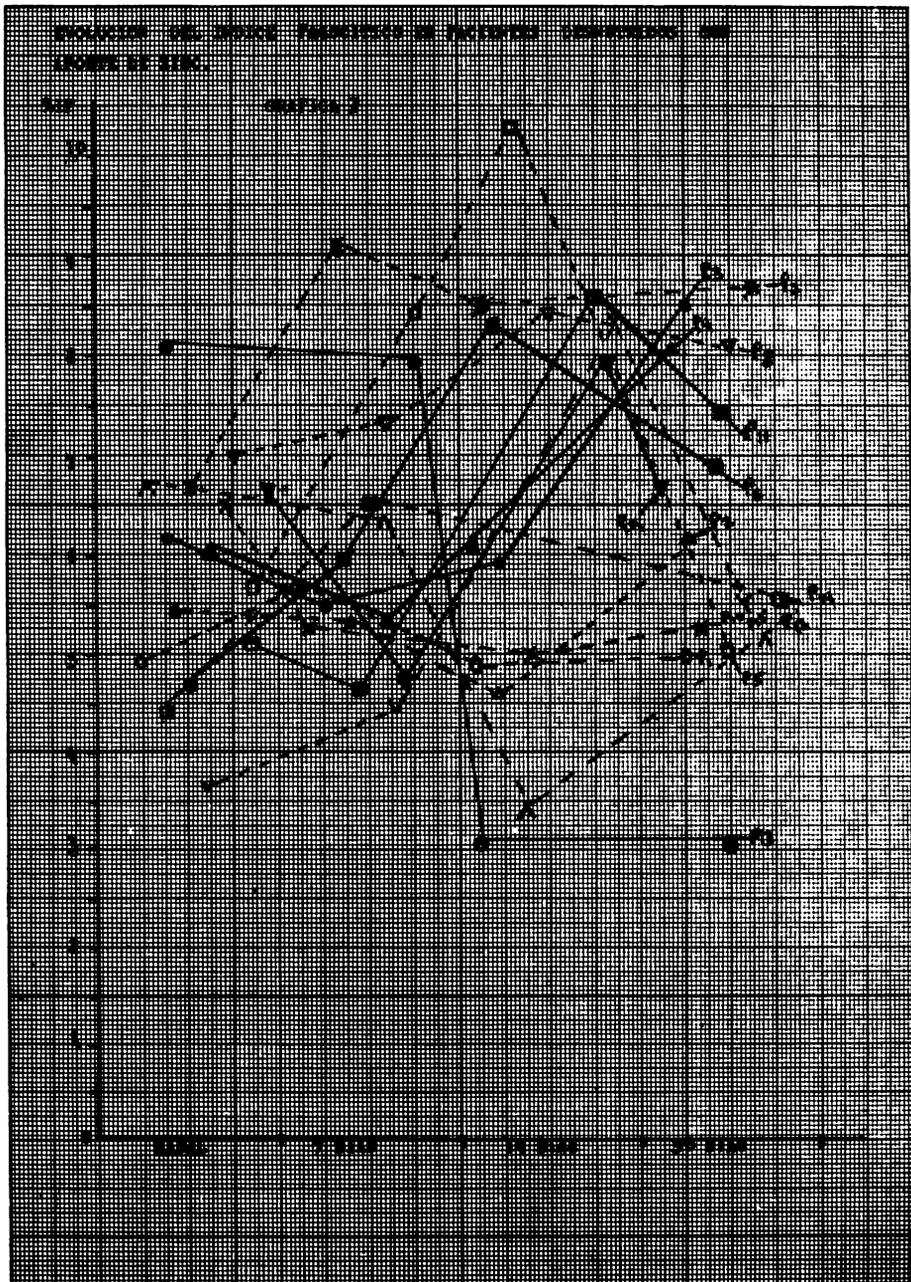
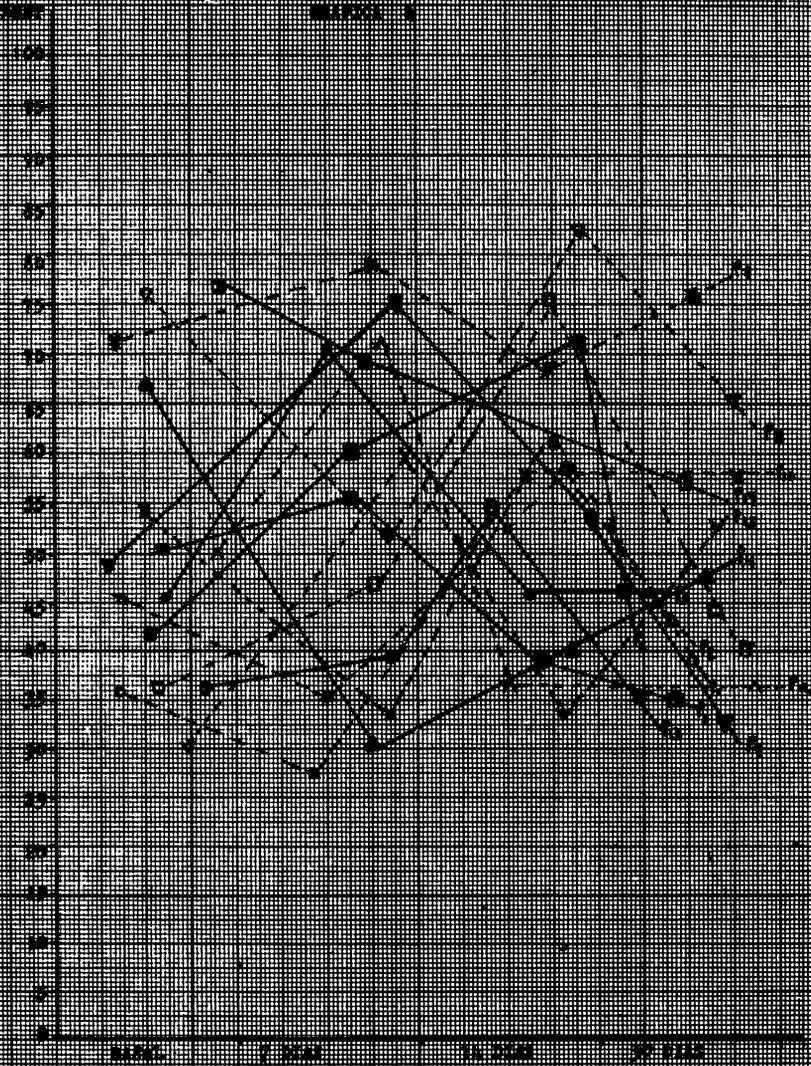


FIGURE 1. QUANTAL TRANSMISSION AT THE NEURONAL TERMINALS OF THE CALYX OF HOLDEN AND KATZ (1957)

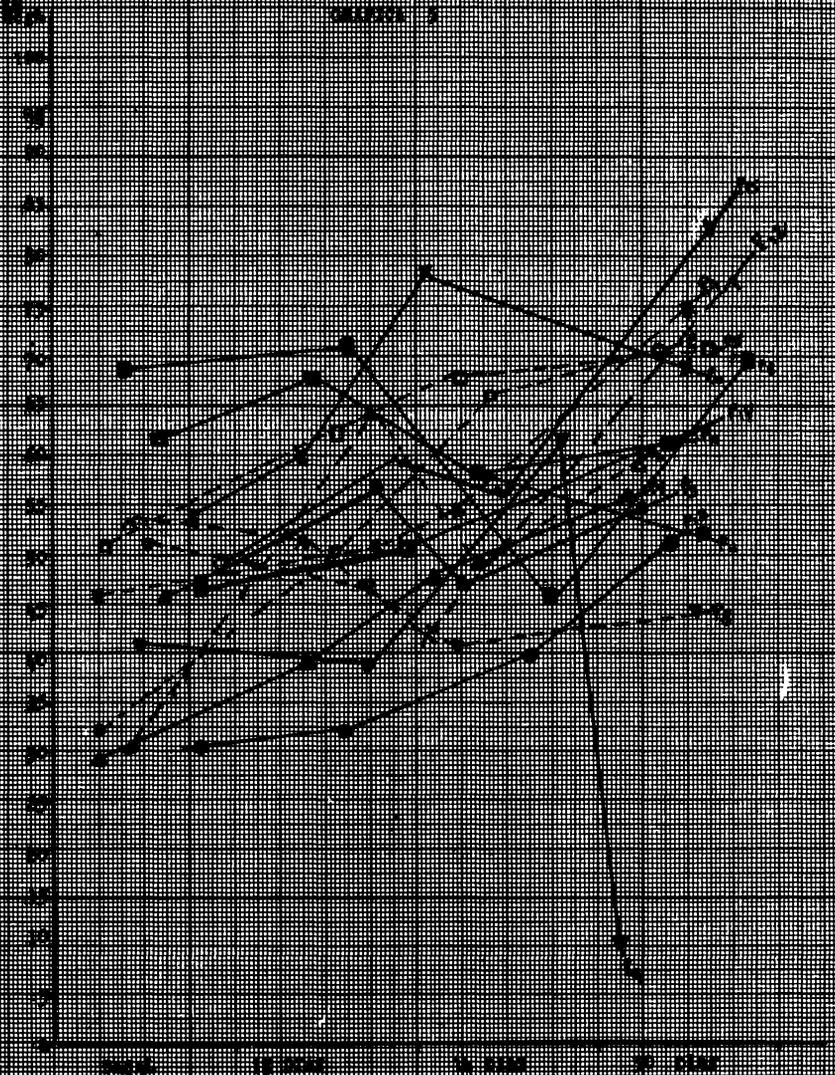


REPORT OF THE BOARD OF DIRECTORS OF THE NATIONAL ASSOCIATION OF REALTORS  
FOR THE YEAR ENDING DECEMBER 31, 1934



ESTIMACIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD TÉRMICA DE LOS MATERIALES  
 DEPARTAMENTO DE FÍSICA DE LA UDELAR

GRÁFICO 1



STATISTISKE DATA FOR DEN TYSKE KØBEMAGT I 1950  
 STATISTISKE DATA FOR DEN TYSKE KØBEMAGT I 1950

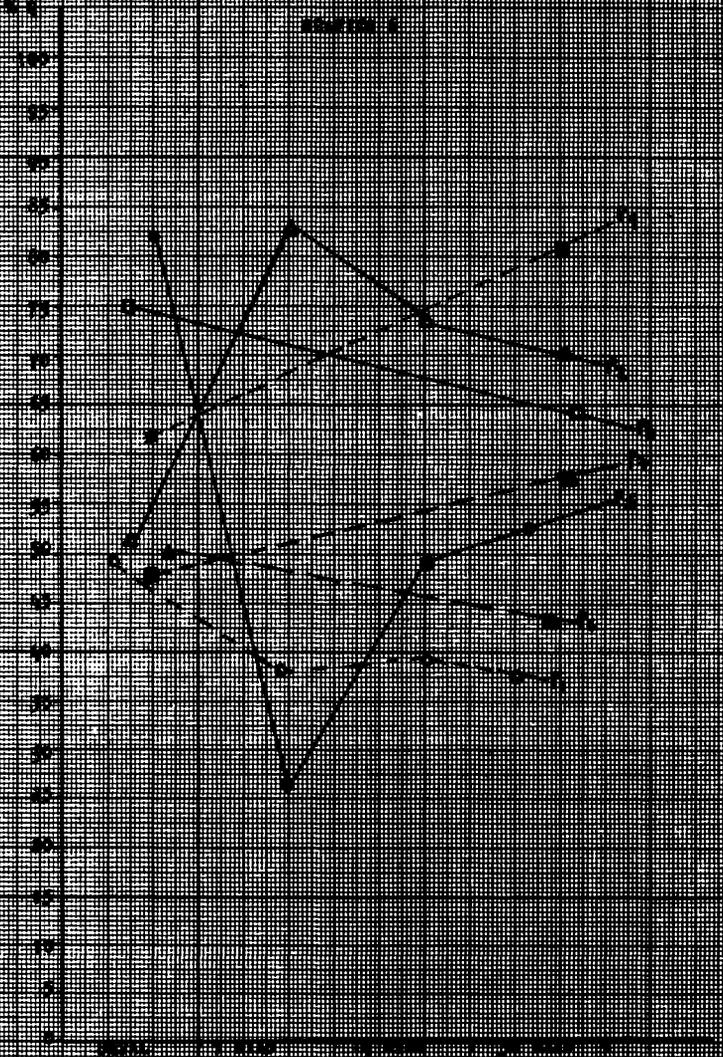
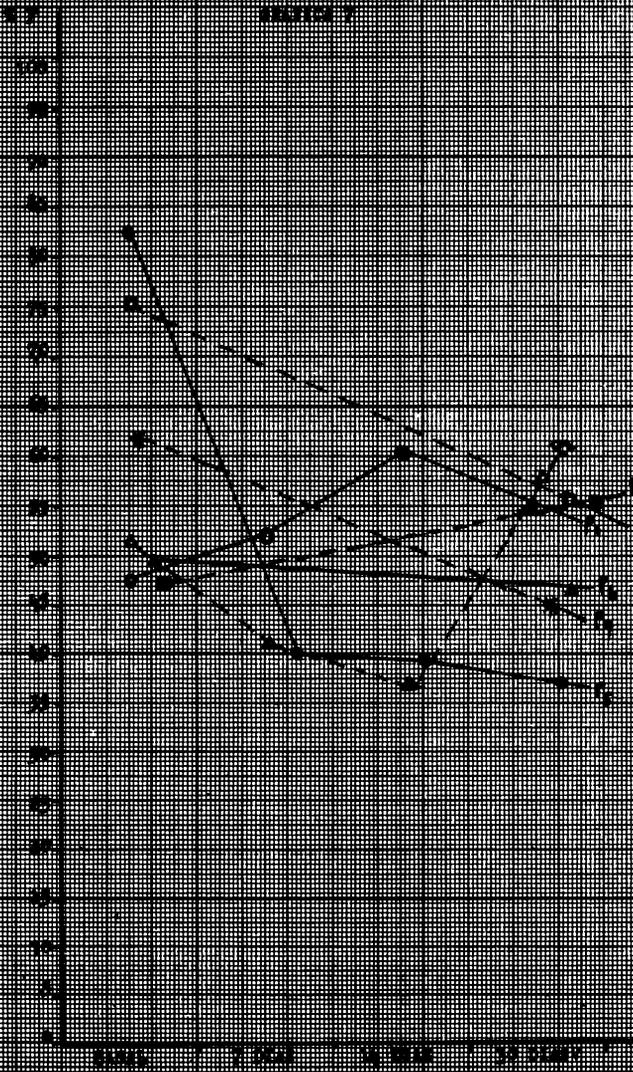
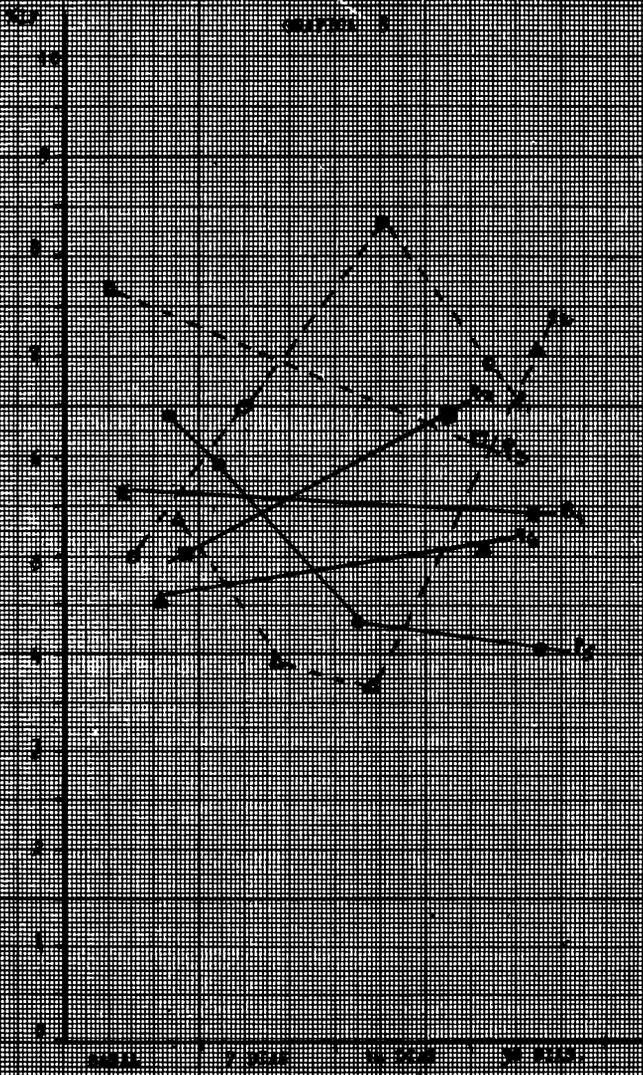


Fig. 1. Dependence of the rate of the reaction of the polymerization of styrene on the concentration of the initiator.

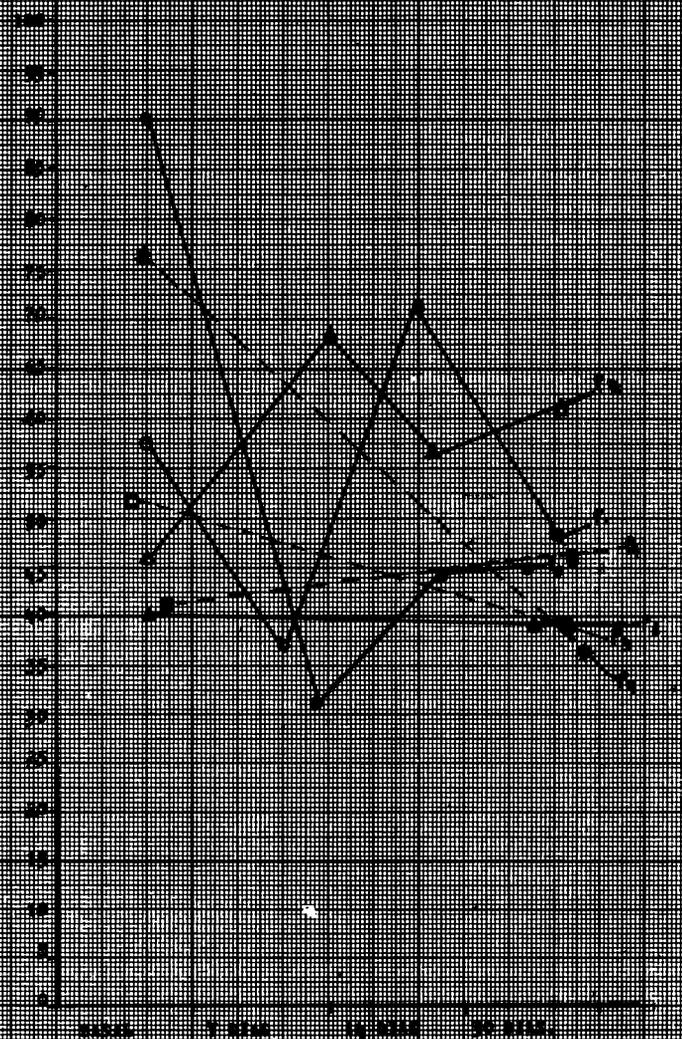


RELATION OF STATE PRODUCTION IN FERTILE ZONE  
 TO LOSS OF SOIL



**FIGURE 10. PERCENTAGE OF U.S. OF FOREIGN INVESTMENT IN  
 FOREIGN-BORN OWNERS BY COUNTRY**

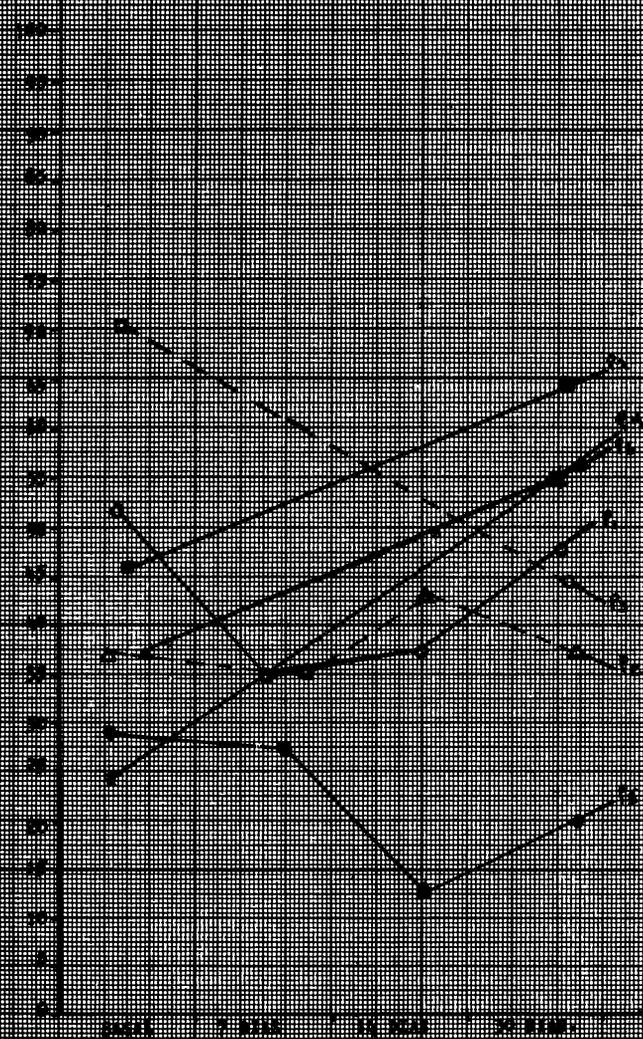
**NOTE:** Data are based on the U.S. Department of Commerce, Bureau of Economic Analysis, *Foreign Direct Investment in the United States*, 1980-1990.



ESTIMATION OF A CONCENTRATION INDEX OF THE AN EPIDEMIOLOGICAL  
 INDEX OF THE RISK OF THE

Fig. 1

TABLE 1



RESUMEN :

Con el fin de conocer el efecto del zinc en la función fagocítica, se estudiaron dos grupos de pacientes con las mismas características -- ( desnutridos de grado III y de 6 a 24 meses de edad ). El grupo I se formó por 15 pacientes que recibieron 25 mg diario de zinc durante 30 días, y el grupo II estuvo constituido por 7 pacientes que sirvieron -- como control ( sin aporte de zinc ). A ambos grupos se les efectuaron -- pruebas de función fagocítica y determinación de zinc sérico los días 1, 7, 14 y 30 de evolución. Los resultados fueron analizados estadística-- mente por análisis de varianza y las diferencias por el método de dife-- rencias mínimas significativas. Encontramos que a los 7 días no hubo diferencia en las pruebas de función fagocítica en ninguno de los dos -- grupos. Observamos mejoría en las pruebas de función fagocítica en los -- pacientes que recibieron zinc, en las semanas 2a y 4a, al compararla --- con las cifras basales, siendo la diferencia estadísticamente significa-- tiva con valor de  $P < 0.05$ . En cambio en el grupo control no hubo dife-- rencia estadísticamente significativa en las pruebas de función fagoci-- tica durante toda su evolución. Con lo anterior concluimos que el efecto del zinc mejoró los indicadores de función fagocítica en los pacie tes -- que recibieron reposición de este ión.

CONCLUSIONES :

- A.- El zinc utilizado a la dosis de 25mg diarios en esquema de reposición mejora la función fagocítica en el paciente desnutrido de grado III.
  
- B.- Un esquema de reposición de zinc con dosis de 25mg diarios es útil - ya que la deficiencia en los mecanismos de resistencia a la infección son un riesgo posible en los pacientes desnutridos deficientes en -- zinc.

BIBLIOGRAFIA :

- 1.- Boyden, S.: The Chemotactic effect of mixture of antibody and antigen of polymorphonuclear leukocyte. J. Exp. Med. 115: 453, ( 1962 ).
- 2.- Chester, J.K.: The role of zinc ions in transformation of lymphocytes by phytohemagglutinin. Biochem. J. 130: 133, (1972).
- 3.- Chvapil, M. : Effect of zinc on biomembrana and cell. Med. Clin.N.Am. 60: 4, (1976).
- 4.- Chvapil, M. ; Stakova, C. ; Zukoski, C. and Zukoski, C. III: Inhibition of some function of polymorphonuclear leucocytes by in vitro zinc. J. Lab. Clin. Med. 89: 135, ( 1977).
- 5.- Davis, T. ; Musa, J.T.; Dormandy, T.L.: Measurement of plasma zinc. J. Clin. Path. 21:359, (1968).
- 6.- Elias, S. and Chvapil, M; Zinc and wound healing in normal and chronically ill rats. J. Surg. Res. 15:59, (1973).
- 7.- GIFFORD, H.H.; Macawista, S.E., A simple rapid micromethod for detecting chronic granulomatous disease of childhood. J. Lab. Clin.Med.75:511, (1970)
- 8.- Lehrer, R.I.; Cline, M. J.: Interaction of candida albicans with human Leukocytes and serum. J. Bacteriol.98:996, ( 1969).
- 9.- Lennard, E.S.: Borjonson, A.B.; Petering, H. and Alexander, J. An immunologic and nutritional evaluation of burn neutrophil function. J. Surg. Res. 16; 286. (1974).
- 10.- Michell, R.H.: Paneake, S.J. : Noseworthy, J. and Karnovsky, M.L. Measurement of rates of phagocytosis: the use of cellular monolayers. J. Cell. Biol.40: 216, (1969).
- 11.- Olson, A.D.; Halilton, W.B.: A new method for serum iron and total iron-binding capacity by atomic absorption spectro-photometry. Clin. Chem. 15; 438, (1969).

BIBLIOGRAFIA: (continuación).

- 12.- Piper, K.G.; Higgins, G. : Determination of copper in serum. Proc. Assoc. Clin Biochem. 7: 190, (1972).
- 13.- Rabinovitch. M. and Desteiano. M: Macrophage spreading in vitro. I Inducers of spreading. Exp. Cell Res. 77: 23, (1973).
- 14.- Rabinovitch. M. and Desteiano, M.J.: Macrophage spreading in vitro II Manganese and other metals as inducers or as co-factors for -- induced spreading. Exp. Cell. Res. 79, : 423-430. (1973).
- 15.- Ramos Galván R. , Somatometria Pediatrica. Arch. Invest. Med. 6 sup 5, (1975).
- 16.- Tesis: Sánchez L., F. : Determinación de zinc sérico en niños sin - desnutrición y desnutridos con y sin infección., Hosp Pediat. CMN, I.M.S.S., México, D.F., (1977).
- 17.- Sandstead, H. in : Present Knowledge in nutrition. Fourth edition Nutrition Foundation. Washinton D.C. pp 290-301. (1976).
- 18.- Schwartz, F.J.: Methodological studies on the uptake of zinc by 3T3 cell. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 149:888, (1975).
- 19.- Seal. H. : Multivariante Statistical Analysis for Biologist, Methven London, pp. 85, 123. (1964).
- 20.- Segal A.W. and Peters T.T. The nylon column dye test; a possible- screening test of phagocyte function. Clin. Sci. Mol. Med. 49,591 ( 1975).
- 21.- Sokal R.R. Rohlf. J.: Biometry, #.H. Freeman, San Francisco pp 256 274, 287, 490. ( 1969).
- 22.- Stossel T.P.: Quantitative, studies of phagocytosis, Kinetic Effects of cationa and heat-lable-opsonin. J. Cell. Biol. 58, 346, 356,.(1973)

BIBLIOGRAFIA (continuación);

- 23.- Stossel T.P.: Phagocytosis, Recognition and ingestion semirars in Hematology, N. Engl. J. Med 12: 83-116. (1975).
- 24.- Thomson, A.A. Techniques in Clinical. Immunology. Blackwell Scientific publication. pp 201; 218 (1977).
- 25.- Wannamacher, R.; Pekareh, R.S.; Klainer, A.S.; Bartelloni, P.; Dupont, H.: Hornich, R. and Beisel, W.: Detection of a leukocytic endogenous mediator like mediator of serum amino acid zinc depression during varius infections in illnesses. Infect Immunity 11:873, (1975)