

1  
2ej

63466



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

*"ANALISIS DE LA CINETICA CELUIAR Y  
FRECUENCIA DE INTERCAMBIOS ENTRE  
CROMATIDAS HERMANAS (ICH) EN CULTIVO  
DE LINFOCITOS DE NIÑOS EN RECUPERACION  
DE LA DESNUTRICION CALORICO PROTEICA  
SEVERA (DCP) "*

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
**MAESTRA EN CIENCIAS**  
**(BIOLOGIA CELULAR)**  
**P R E S E N T A :**  
**CAROLINA CAMPOS MUNIZ**

MEXICO, D. F.

TESIS CON  
FALLA LE ORIGEN

1992



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.

# I N D I C E

	Páginas
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii - iii
ABREVIATURAS	1
RESUMEN	2
ANTECEDENTES	3 - 25
DESNUTRICION	3 - 8
RECUPERACION NUTRICIONAL	8 - 10
EFECTOS DE LA RECUPERACION DE LA DESNUTRICION SEVERA	10 - 16
a) Efectos a nivel metabólico	11 - 12
b) Efectos a nivel sistema nervioso central	12 - 13
c) Efectos sobre la conducta y aprendizaje	13
d) Efectos a nivel inmunológico	14 - 15
e) Efectos a nivel celular	16
f) Efectos a nivel citogenético	16
CICLO CELULAR	16 - 21
CULTIVO DE LINFOCITOS COMO MODELO DE EXPERIMENTACION	20 - 21

## TABLAS

58 - 68

## FIGURAS

69 - 73

## TABLAS

58 - 68

Tabla 1.	Características de Edad y Peso de los Niños Eutróficos.	58
Tabla 2.	Características de los Niños Desnutridos.	59
Tabla 3.	Características de los Niños en Recuperación de la Desnutrición.	60
Tabla 4.	Porcentaje de metafases en primero, segundo y tercer ciclo de duplicación en cultivo de linfocitos de niños Eutróficos, Desnutridos y Recuperados.	61
Tabla 5.	Promedio de núcleos interfásicos en cultivo de linfocitos de niños Eutróficos, Desnutridos y Recuperados.	62
Tabla 6.	Índice de Estimulación (%) en cultivo de linfocitos de niños Eutróficos, Desnutridos y Recuperados.	63
Tabla 7.	Índice de Estimulación promedio en linfocitos de niños Eutróficos Desnutridos y Recuperados.	64
Tabla 8.	Índice Mitótico (%) en cultivo de linfocitos de niños Eutróficos, Desnutridos y Recuperados.	65
Tabla 9.	Índice Mitótico promedio en linfocitos de niños Eutróficos, Desnutridos y Recuperados.	66

**Figura 10. Curva de distribución de ICH en linfocitos de niños. 74**

**Figura 11. Frecuencia acumulativa de ICH en linfocitos de niños. 74**

**ABREVIATURAS:**

<b>ADN</b>	<b>Acido desoxirribonucleico</b>
<b>ARN</b>	<b>Acido ribonucleico</b>
<b>BrdU</b>	<b>5-Bromo 2-desoxiuridina</b>
<b>DCP</b>	<b>Desnutrición Calórico Protéica Severa</b>
<b>FPG</b>	<b>Fluorescencia más Giemsa</b>
<b>ICH</b>	<b>Intercambios de Cromátidas Hermanas</b>
<b>IE</b>	<b>Indice de Estimulación</b>
<b>IM</b>	<b>Indice Mitótico</b>
<b>IR</b>	<b>Indice de Replicación</b>
<b>PHA</b>	<b>Fitoheماغlutinina</b>
<b>Tdt</b>	<b>Desoxinucleotidil transferasa terminal</b>

**RESUMEN:**

En este trabajo se evaluó el efecto de la recuperación nutricional de la desnutrición calórico proteica severa (DCP) con base en los siguientes criterios: la cinética de proliferación evaluada como Índice de Estimulación-IE, Índice de Replicación-IR e Índice Mitótico-IM) e Intercambios entre Cromátidas Hermanas (ICH) en linfocitos *in vitro*, de diez niños eutróficos, catorce desnutridos y nueve de los desnutridos después de 2 a 6 meses en recuperación de la DCP. Como apoyo para medir la recuperación se tomó en cuenta el aumento de peso y de talla así como el diagnóstico de médico.

En la proliferación celular a las 48 horas se encontró diferencia significativa en las mitosis de segundo ciclo, que se consideró como un rápido inicio en la proliferación de los linfocitos de los niños con DCP, aunque las células de estos niños tienen una proliferación más lenta en las dos horas finales del cultivo.

El comportamiento general del Índice de Estimulación en los niños eutróficos y recuperados se mantiene constante a lo largo del cultivo, mientras que en los niños desnutridos la respuesta disminuye, esta misma respuesta se aprecia en el índice mitótico así como en el índice de replicación.

El efecto de la DCP también fue evaluado por medio de la frecuencia de ICH en donde encontramos que no existe diferencia en los 2 grupos con respecto al testigo, por tanto consideramos que la DCP por sí misma produce daño solo en la proliferación celular, que es reversible a nivel de las células de la respuesta inmune celular.

**ANTECEDENTES:****D E S N U T R I C I O N****IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DE LA DESNUTRICION**

Para el desarrollo óptimo del organismo es importante una nutrición adecuada. El crecimiento infantil es el resultado de un conjunto de factores: genéticos, historia prenatal, peso al nacer, infecciones durante la infancia y una dieta apropiada. Es claro que una dieta suficiente en cantidad y calidad de alimento es relevante en la vida del hombre desde su nacimiento hasta su muerte (Arrieta y Cravioto 1977).

La desnutrición es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la infancia en todo el mundo. Este grave problema de salud pública, no está limitado a los países en desarrollo sino también se encuentra en sectores de la población de las regiones industrializadas, particularmente entre los inmigrantes de los grandes centros urbanos (Chandra 1980 y Behrman y col. 1986).

La desnutrición en la infancia, aparentemente ha tenido una disminución importante en México en los dos últimos decenios, su prioridad en los programas de salud es indiscutible, todavía de tres a cinco de cada diez menores de cinco años sufren desnutrición en diversos grados (Vega-Franco, 1972); en 1990 más del 50% muere por causa de esta enfermedad.

La desnutrición tiene particular importancia en los primeros años de vida, debido a que puede alterar el desarrollo intelectual, en este sentido es necesario recordar que el crecimiento tecnológico de un país, solo es posible si la población tiene un desarrollo físico y mental óptimo (Cravioto y Robles, 1963).

## DEFINICION DE DESNUTRICION CALORICO-PROTEICA SEVERA (DCP)

A la desnutrición calórico proteico severa se le define como el conjunto de síntomas, signos clínicos y alteraciones a nivel bioquímico que se observan a consecuencia de una ingestión deficiente y/o utilización de dietas de variado contenido calórico y bajo contenido proteico (Arrieta y Cravioto 1977).

### TIPOS DE DESNUTRICION

En México se ha adoptado de manera general la clasificación sugerida por Federico Gómez (1946), que define tres grados de desnutrición, basada en el peso del niño.

De primer grado. Se diagnostica cuando se presenta de 10% a 25% menos del peso correspondiente a la edad; el niño conserva su sistema inmune casi íntegro.

De segundo grado. Corresponde a niños con déficit del 26% al 39% del peso, los ojos se van hundiendo y los tejidos presentan flacidez, perdiendo turgencia y elasticidad, se acentúa la irritabilidad y fácilmente hay trastornos diarreicos; en este estado frecuentemente se requiere su hospitalización.

De tercer grado. Las reservas nutricionales del organismo están prácticamente agotadas, la disminución de peso es mayor al 40%, el metabolismo ha entrado en una fase negativa o de desequilibrio anabólico, se producen serios cambios a nivel somático, funcional e inclusive psicológico; todos los casos requieren hospitalización y la tasa de mortalidad es elevada.

La desnutrición severa o de tercer grado puede ser primaria, cuando hay falta de nutrientes, en ésta se observan bajos niveles de sodio, potasio y cloro que acompañan a la deshidratación; la secundaria que se presenta cuando las

condiciones de pérdida de calorías es exagerada, y por último la desnutrición mixta, donde además de la ingestión insuficiente de alimentos, existen al mismo tiempo procesos infecciosos que aumentan el desgaste calórico (Gómez, 1946).

Hay dos formas de DCP identificadas plenamente por sus características particulares; Marasmo y Kwashiorkor:

**Marasmo.**- Se identifica a consecuencia de una dieta baja en proteínas y calorías, principalmente se presenta en niños mayores de un año. En su inicio hay gran desgaste muscular, con pérdida considerable de peso, falta de crecimiento, el cabello se puede notar escaso y delgado, los niños muestran actitud desinteresada e irritable. Con diarreas en todos los casos, las proteínas plasmáticas están disminuidas y los aminoácidos en el plasma se encuentran elevados (Manocha, 1972).

**Kwashiorkor.**- ("niño apartado"), es un síndrome provocado por una deficiencia proteica severa, aporte de calorías inferior al normal y dieta principalmente rica en carbohidratos (Behrman y col. 1986). Externamente se manifiesta por un desgaste muscular poco evidente y puede no reflejarse un déficit de peso por el edema, existen cambios prominentes en la textura, color, fuerza y resistencia del cabello. Su actitud es apática, muestra poco interés e irritabilidad. El análisis clínico revela que se retiene gran cantidad de agua, así como pérdida de potasio y retención de sodio. Hay diarrea continua y falta de digestión. Existe una reducción general de proteínas plasmáticas, sobre todo en la albúmina. El hígado es prominente y graso (Manocha, 1972).

Existe una forma mixta en la que hay disminución de grasa subcutánea y de las masas musculares y permanece el edema; a esta forma clínica se le ha dado el nombre de kwashiorkor-marasmática.

En términos generales, en lactantes, niños hasta de 2 años aproximadamente y maternos hay tendencia a manifestar clínicamente las condiciones de desnutrición avanzada en forma de marasmo, mientras que en preescolares (de 2 a 4 años de edad) predomina la forma clínica de kwashiorkor. Por otra parte el marasmo es más frecuente en las ciudades, y el kwashiorkor en las zonas rurales (Arrieta y Cravioto, 1977).

Los antecedentes causales inmediatos de la DCP pueden cambiar, sin embargo las alteraciones clínicas y bioquímicas fundamentales son las mismas en todo el mundo. Las variaciones regionales, generalmente están asociadas a otras deficiencias nutricionales prevalentes en el Area (Cravioto, 1970).

#### DIAGNOSTICO DE LA DESNUTRICION

El peso y la talla son los indicadores iniciales de la desnutrición, sin embargo, este criterio puede ser falso, ya que por su bajo peso y por su talla pequeña serían considerados desnutridos de primero o segundo grado, a pesar de que se aprecia que son normales en todos los aspectos, inclusive en la forma de alimentación, por tanto se trata solo de variantes raciales o familiares sin que exista retraso de crecimiento o un estado de desnutrición (Hernández, 1967).

El diagnóstico de DCP requiere considerar otros signos diferentes de los somatométricos. Esto se establece en el inicio clínicamente y se comprueba o descarta mediante el diagnóstico por pruebas auxiliares (Arrieta y Cravioto, 1977).

En la historia clínica debe prestarse atención a algunos puntos importantes como: (de acuerdo con Arrieta y Cravioto, 1977)

- 1.- Peso al nacer
- 2.- Edad del niño
- 3.- Evaluación de la alimentación, en este aspecto debe tomarse en cuenta, si se dió leche materna o no, cuanto tiempo y si esta fue suficiente para saciar el hambre. Otro aspecto es el momento y secuencia de comida suplementaria, así como la cantidad y calidad, y forma de prepararla y el horario.
- 4.- Frecuencia, severidad, duración y gravedad de infecciones previas.
- 5.- Restricción de alimentos durante la enfermedad y convalecencia.

- 6.- Cambios en la conducta del niño, detención o regresión de los patrones de desarrollo psicomotor, irritabilidad, rechazo de alimento y apatía.
- 7.- Evaluación del estado físico actual.

También se han considerado otras medidas antropométricas como la relación peso talla y perímetro branquial.

Los auxiliares diagnósticos son signos y síntomas, los cuales comprenden tres tipos.

i) Signos universales.- Dentro de este grupo son consideradas básicamente las siguientes alteraciones: dilución, hipofunción y atrofia.

La dilución comprende aumento relativo de los líquidos intra- y extracelulares, que se refleja en el incremento del volumen sanguíneo, del líquido intersticial y relativamente del agua intracelular que trae como efecto final, dilución de las proteínas plasmáticas y edema; este último puede ser aparente o subclínico, las proteínas séricas están disminuidas independientemente de que exista edema o no, las más susceptibles a esta baja son las seroalbúminas.

La hipofunción se determina, por descenso de la actividad amilolítica y lipolítica de los jugos pancreático e intestinal; deficiencias en sacaridasas, acidez libre y acidez total; por otro lado se presenta hipotonía muscular, decremento de actividad mental e inhibición afectiva emocional.

La atrofia, se manifiesta por la reducción marcada de la actividad física, bajo peso y estatura, retraso en la osificación, alteraciones de la piel y el cabello e hipertrofia muscular.

ii) Signos circunstanciales.- Estos contemplan el edema, el daño vascular o cutáneo, escasez de pelo y decoloración, lesiones en la lengua y atrofia muscular.

iii) Los signos agregados.- Se encuentran generalmente en condiciones avanzadas de desnutrición y no dependen propiamente del padecimiento en sí, sino del desequilibrio electrolítico o las infecciones que se presentan. Requiere necesariamente hospitalización por su elevada letalidad, pues aún con un diagnóstico rápido y tratamiento bien orientado puede causar la muerte del paciente en las primeras 48 horas.

#### RECUPERACION NUTRICIONAL:

El síndrome de recuperación nutricional se describe por primera vez en el Hospital de México, por Ramos Galván (1948), quienes reportan el síndrome clínico peculiar del niño desnutrido que recibe un tratamiento dietético adecuado, en el cual además del aumento de peso, se pueden identificar condiciones favorables de recuperación muchas veces en lapsos cortos; en forma notoria las infecciones desaparecen, se recupera el color del pelo, la textura de la piel, la actividad neuromuscular; las respuestas psicológicas son normales: de la apatía y la poca movilidad pasan a la motilidad fisiológica y al buen humor.

Federico Gómez (1946) identifica la DCP como una consecuencia de la incorporación deficiente de nutrientes a nivel celular; tal concepto ha conducido a pensar de manera lógica, que un tratamiento adecuado de la desnutrición consiste en proporcionar a las células del organismo enfermo, cantidades normales de nutrientes. Así como proveer al niño enfermo de una dieta que asegure su recuperación biológica, y generar en torno a él, variadas fuentes de estímulos sensoriales que promuevan su evolución psicomotriz.

Para cada tipo de desnutrición existe un tratamiento específico, debido a que se requieren diferentes condiciones. Si se ha hecho un buen diagnóstico etiológico valorando cuidadosamente la historia de la alimentación del niño, el restablecimiento de la desnutrición de primer grado es sencillo y rápido, a menos que se presenten infecciones incontrolables o existan defectos congénitos. Si la causa es por la

subalimentación, como pasa en el 90 por ciento de los casos, basta completar las necesidades energéticas con una dieta apropiada para su edad y antecedentes, para que recupere su peso.

En cuanto a la desnutrición de segundo grado se han considerado dos medidas de importancia terapéutica que son: proporcionar una dieta de elevado valor energético para poder suministrar calorías en poco volumen sin acarrear vómitos así como contrarior la diarrea, curar las infecciones, drenar los oídos si están congestionados y cuidar el buen funcionamiento del riñón, entre otras cosas.

Existe otra serie de medidas que son complementarias como el suministro de complejo B, estimulación de la actividad de la piel por medio de masajes, vigilancia de la ingestión adecuada de líquidos, la imposición de cierto grado de actividad física para combatir la debilidad e indiferencia y transfusiones de sangre cuando sean necesarias. Donde responden de un 60 a 70 por ciento de los casos, si no hay infecciones que impidan el restablecimiento.

En la desnutrición de tercer grado se requiere por lo general de periodos largos (semanas o meses) con un costo extraordinariamente alto y solamente se llega a realizar con éxito en salas de hospital con todos los recursos técnicos. En la desnutrición de tercer grado la alimentación debe ser moderada buscando que el sistema digestivo reestablezca su capacidad funcional para digerir.

Es por ello que el tratamiento completo de la desnutrición es llevado a cabo en centros de recuperación, este tipo de instituciones constituye un estímulo integral del niño, donde es incorporado a la etapa de desarrollo que corresponde a su edad cronológica.

A corto plazo el niño es rehabilitado llegando casi al peso para su edad, y a largo plazo la meta viene a ser la madre y la familia; a través de un estudio socioeconómico es posible plantear a las madres alternativas que modifiquen la dinámica familiar, con el fin de evitar que una vez que el niño se ha recuperado, recaiga o bien que otros hermanos sean afectados por la enfermedad.

Cuando el padecimiento es causado por un proceso patológico como la fiebre o por algún otro trastorno que en poco tiempo culmina en un cuadro de desnutrición severa, la respuesta del organismo favorable es debida a la eficiente respuesta inmune y la fuerte combustión de la convalescencia haciendo que la recuperación se dé en poco tiempo.

#### CRITERIOS DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL:

Para considerar a un niño rehabilitado nutricionalmente se toman en cuenta dos factores. Que haya alcanzado el peso y talla que le corresponden a su edad (75%-90%) y que la madre esté preparada, ya que a éstas en los centros de rehabilitación se les instruye acerca de los cuidados del niño sobre todo en los aspectos higiénicos, dietéticos y de estimulación (Vega Franco, 1972).

#### EFFECTOS DE LA DESNUTRICION SEVERA Y SU RECUPERACION:

La DCP presenta una serie de alteraciones a diferentes niveles del funcionamiento orgánico que después de la recuperación se ven restablecidas. Los efectos más representativos a diversos niveles son:

- a) metabólico.
- b) sistema nervioso central (SNC).
- c) conducta y aprendizaje.
- d) inmunológico.
- e) celular.
- f) citogenético.

### a) Efectos a nivel metabólico

Mediante el análisis fisiológico y bioquímico, se han demostrado cambios metabólicos que son típicos del marasmo y kwashiorkor.

La DCP está caracterizada por la movilización de carbohidratos y triglicéridos almacenados. Una respuesta temprana a la privación de alimentos es la glucogenólisis a nivel hepático y la lipólisis en el tejido adiposo para generar glucosa y ácidos no esterificados, que ocurre como resultado de la disminución en la relación insulina/glucagón que también influye en la lisis del tejido adiposo, los que se oxidan para obtener energía (Sugden y col. 1989).

La rehabilitación nutricional lleva, al restablecimiento de la tasa glucolítica, glucogenolítica y lipolítica normal y en el hígado en particular es estimulada la gluconeogénesis y glucogenogénesis (Holness y Sugden 1987).

En niños con kwashiorkor hay una disminución en el contenido de albúmina y globulinas séricas, en comparación con los niños que presentan marasmo (Whitehead 1968). Bjornesjo y colaboradores (1968) en niños con marasmo observan baja la concentración de los aminoácidos esenciales, sin embargo en aminoácidos no esenciales se encontró normal o elevada.

Respecto a las concentraciones de aminoácidos libres en el plasma sanguíneo, los niños con kwashiorkor muestran proporciones anormales en la relación de fenilalanina/tirosina, este mismo efecto se observa en la orina (Cravioto, 1962).

Waterlow (1968) en niños con DCP describe las concentraciones de cortisol elevadas indicando que este compuesto favorece la síntesis de proteínas y al mismo tiempo provoca un balance negativo de nitrógeno en todo el organismo. Los niveles de cortisol aumentan considerablemente con la DCP su tasa de degradación está reducida y existe una mayor exposición de los tejidos a este compuesto lo cual permite asimilar mejor las proteínas de los tejidos.

Los niños con kwashiorkor presentan infiltración de grasa en el hígado, esto altera el transporte de grasas del hígado a tejidos periféricos lo cual probablemente tenga su origen en la reducida síntesis de proteínas o de sus precursores, las apoproteínas (Monckeberg, 1968).

Holman y colaboradores (1981) cuantifican el contenido de lípidos totales séricos en niños marasmáticos y kwashiorkor, no encontrando diferencia entre ambos grupos. Sin embargo detectan en los niños kwashiorkor una mayor proporción de ácidos grasos saturados y sugieren una alteración en la actividad de las enzimas involucradas en la saturación.

Pineda (1968), observa en neutrófilos aislados de niños con kwashiorkor elevada la actividad de la fumarasa y un decremento en la actividad de la isocitrato deshidrogenasa y la malato deshidrogenasa. Sin embargo en niños con marasmo se observa disminuida la actividad de la fumarasa y la malato deshidrogenasa y un aumento en la isocitrato deshidrogenasa.

Hansen (1968) demuestra en niños con kwashiorkor y con marasmo una reducción en la secreción de quimi tripsina y tripsina y plantea que la DPC puede producir daño pancreático irreversible.

#### b) Efectos a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC)

El período crítico para el desarrollo cerebral en humanos va desde el estado fetal al tercer o cuarto año de edad posnatal. Los datos han propuesto, que los efectos permanentes no ocurren si la desnutrición se presenta después de cierta edad, la evidencia sugiere que entre más larga y severa es la desnutrición durante los primeros dos años de vida, más severo es el efecto sobre el SNC (Morgane y col. 1978).

Entre las alteraciones en la estructura y función del sistema nervioso asociados con la DCP, se encuentran los cambios neuroquímicos observados por Winick y colaboradores (1970)

quienes muestran que la DCP durante el primer año de vida puede provocar la muerte si la desnutrición se prolonga al segundo año de vida. Por otro lado se describe que la circunferencia del cráneo está reducida en niños que mueren por DCP durante el primer año de edad (Winick y Rosso, 1969).

Diversos autores han propuesto que cuando la DCP se presenta en la edad temprana modifica los patrones de crecimiento celular en el SNC (Castilla y col. 1979). En este sentido, Winick y Rosso (1969), encuentran en niños que sufren DCP de tipo marasmo con peso normal al nacimiento, en relación a los testigos diferencias significativas. Por otro lado en niños que padecen DCP de tipo kwashiorkor y que nacen con peso normal, el contenido de ácido desoxirribonucleico (ADN) es similar con respecto a niños eutróficos de la misma edad cronológica. Sin embargo, la mayor significancia se nota en un grupo que tuvo bajo peso al nacer y manifiesto desnutrición grave durante la lactancia, estos hallazgos han sido confirmados por Rao y Sarma (1972).

#### c) Efectos sobre la conducta y aprendizaje

Las posibles consecuencias de la DCP, en la conducta y el aprendizaje del niño, son analizadas por Cravioto y Robles (1963; 1965) empleando la escala de Gesell en niños con DCP de tipo kwashiorkor, observan un bajo coeficiente de desarrollo mental en relación con su edad. Después de la rehabilitación nutricional la mayoría de los niños muestran coeficientes muy cercanos a los correspondientes a su edad.

Cravioto y Arrieta (1979) trabajan con niños con DCP menores de 6 meses, a los que estimulan sistemáticamente durante el período de recuperación nutricional y observan niveles superiores en algunas áreas del desarrollo de Gesell con respecto a los niños desnutridos que sólo reciben tratamiento médico dietético, pero no estimulación sistemática.

Asociadas a la DCP se han encontrado deficiencias en el aprendizaje sobre todo con relación a la lectura y escritura (Cravioto, 1978).

#### d) Efectos a nivel inmunológico

La DCP en niños está asociada con una marcada susceptibilidad a infecciones, esto es atribuido generalmente al efecto provocado por la deficiencia nutricional sobre el mecanismo inmune. (Beatty y Dowdle 1978). Esta susceptibilidad se ha relacionado con una disminución en el número de linfocitos T circulantes (Chandra, 1979).

Existe una heterogeneidad funcional y fisicoquímica de los linfocitos formadores de rosetas, Chandra (1979) encuentra en niños con DCP, disminuidos los linfocitos T con receptores para IgM (linfocitos T cooperadores) y ligeramente incrementados los linfocitos con receptores para la IgG (linfocitos T supresores).

En la DCP existe un aumento de células indiferenciadas que puede detectarse por la actividad de la desoxinucleotidil transferasa terminal (Tdt), también se ha determinado que existe un decremento en la actividad de hormonas tiroideas. La proporción de células B está elevada en el grupo de los desnutridos, lo cual puede representar el resultado de infecciones gastrointestinales y respiratorias repetidas en estos niños. En algunos casos, la reducción en el número total de linfocitos B refleja la presencia de linfopenia, observada en 15 por ciento de pacientes con DCP (Chandra, 1979).

La respuesta inmunológica de los niños en recuperación de la DCP, puede ser reversible dependiendo del tiempo de la desnutrición y edad. La desnutrición prenatal puede tener un impacto negativo en el desarrollo de los tejidos linfoides y respuesta inmunitaria reducida (Chandra, 1980).

McMurray y colaboradores (1981) analizan en la DCP la respuesta inmune humoral y mediada por células, así como los cambios en la respuesta inmune después de un tratamiento hospitalario de 4-5 semanas y un año en su hogar. En los niños desnutridos, observaron una disminución en la blastogénesis analizada con timidina marcada con tritio.

El contenido de C3 del complemento e IgG también se ve reducido, sin embargo, las IgA e IgE aumentaron de manera significativa. Después del periodo de recuperación con una dieta rica en proteínas y calorías, se alcanza valores normales en las IgG y C3 en suero. En la blastogénesis de los linfocitos de sangre periférica, se observa una elevación del 40% al 60% en la respuesta por la PHA. Después de un año la actividad blastogénica, se restablece encontrándose cerca de los niveles de los niños eutróficos (McMurray y col. 1981).

Los niños con DCP tienen deprimida la capacidad de generar hipersensibilidad tardía al Dicloro-dinitrobenzenceno (DCNB) (Koster y col. 1981; McMurray y col. 1981). Koster y colaboradores (1981), estudian la velocidad en el restablecimiento de la inmunocompetencia mediada por células durante la rehabilitación nutricional en niños desnutridos, en el tiempo de hospitalización. En los niños estudiados al ingreso se encuentra que los niveles de proteínas séricas totales son bajos y que se restablecen después de la recuperación. Se ha determinado que la hipersensibilidad está relacionada con los niveles de proteínas séricas totales.

Watson y colaboradores, (1985) describen, disminuida la secreción de lisozima en lágrimas y la concentración del componente secretor de la IgA en niños con DCP. Sin embargo los valores de la IgA sérica elevados. En los niños, después de ser sometidos a una dieta adecuada, los niveles de IgA decrecen, mientras los valores de IgG en suero tienden a aumentar. También determinaron que la IgA de la parótida después de la recuperación nutricional se eleva significativamente en relación al estado nutricional anterior.

#### e) Efectos a nivel celular

En linfocitos de niños con DCP, Murthy y colaboradores (1982) observaron una disminución en el porcentaje de células que han pasado por dos ciclos de división, así como una descenso de metafases que han pasado por tres ciclos de división, y una duración mayor del ciclo celular respecto de los niños testigo.

### f) Efectos a nivel citogenético

Diversos autores han mostrado que la DCP causa aumento en las aberraciones cromosómicas en linfocitos de humanos adultos (Betancourt y col. 1972; Khouri y McLaren, 1973). Por otro lado Armendares y colaboradores (1971) observan alterada la frecuencia de aberraciones cromosómicas en niños con DCP y prevalece aún después de cinco meses de rehabilitación.

El análisis de Intercambios de Cromátidas Hermanas (ICH) en años recientes, ha sido considerado una prueba de alta sensibilidad y adicional a las aberraciones cromosómicas para medir el potencial mutagénico de agentes ambientales. La inducción de ICH en linfocitos cultivados, se emplea como un dosímetro biológico para contribuir a la determinación de riesgo genético (Latt, 1981).

En linfocitos de niños con DCP Murthy y colaboradores (1980) describen una diferencia mayor de ICH en los niños con DCP en relación a los eutróficos, además demuestran que en niños que se han recuperado de la DCP la frecuencia de ICH disminuye significativamente en comparación a los desnutridos, sin embargo no alcanzan el número detectado en los niños eutróficos. Mutchinick, y colaboradores (1979) no encuentran diferencia en la frecuencia de ICH entre los niños que presentan DCP y los eutróficos estudiados.

En médula ósea de ratas severamente desnutridas durante la lactancia Betancourt y colaboradores (1986) muestran un incremento en la frecuencia de ICH.

### **CICLO CELULAR:**

El ciclo de vida de una célula, se ha definido como el período comprendido entre su formación por la división de la célula madre y el tiempo que es requerido para que ella misma se divida (Mitchison, 1971; Baserga, 1985).

En los eucariontes, se ha dividido en dos etapas:

- a) La interfase, que es el periodo de crecimiento.
- b) División celular o mitosis.

El primer estudio sobre la interfase fue hecho por Howard y Pelc en 1953, ellos establecieron que la interfase se dividía en tres etapas designando al periodo de replicación del ácido desoxirribonucleico (ADN) como la fase S (de síntesis), G1 como el tiempo transcurrido entre el final de la mitosis y el comienzo de la síntesis y G2, que es el periodo entre el final de la síntesis y el principio de la división celular ahora conocida como fase M (mitosis) o fase D (división). El periodo G0 también es considerado para el estudio de células en división no siendo tomado en cuenta dentro del ciclo celular.

La duración de la interfase en términos generales es mayor que el periodo en el que transcurre la mitosis. En una célula típica el ciclo celular es de veinte horas aproximadamente, y la mitosis dentro de este ciclo dura más o menos una hora (Masia, 1974).

El tiempo en que se realizan las fases G1, S, G2 y M son diferentes en las distintas clases de células; sin embargo las variaciones entre las células de la misma clase son muy pequeñas (Mitchison, 1971). La duración es determinada principalmente por el tiempo que utiliza la fase G1 que puede variar de cero a varias horas, días o semanas. En células de mamíferos en proliferación el promedio de la fase S es de 6 a 8 horas, la fase G2 de 2 a 6 horas y la fase M de una hora (Navarrete y col. 1978; Pardee y col. 1978).

#### Características de las fases del Ciclo Celular:

Se ha observado que el periodo G1 es una etapa de preparación para la duplicación del ADN en tanto que la célula crece y aumentan los componentes celulares como ribosomas, centriolos, mitocondrias y donde se presenta una intensa síntesis de enzimas tales como las polimerasas y cinasas necesarias para

la síntesis del ADN, además de la calmodulina, proteína inestable (R), actina, ornitina descarboxilasa y proteína p53, toda esta intensa síntesis trae como consecuencia el aumento de la masa celular (Prescott, 1976, Pardee y col. 1978 y Darzynkiewicz, y col. 1981). Graves (1975), fusionando células que muestran diferente tiempo de G<sub>1</sub>, determina que todas entran a la fase de síntesis al mismo tiempo y este estímulo podría deberse a alguna molécula o a un cambio en el medio interno de la célula.

Se considera que el control de la proliferación celular se encuentra en el período G<sub>1</sub> del ciclo. Se ha observado que al bloquear la síntesis de ácido ribonucleico (ARN) al principio de esta fase hay un retraso en el inicio de la fase S, mientras que si el bloqueo es hacia el final no hay retraso, lo cual indica que la síntesis de ARN se lleva a cabo en el inicio de S.

Para la síntesis o duplicación del ADN cada fibra, está dividida en unidades de replicación denominadas replicones. Cada replicón tiene un centro que es el origen a partir del cual la duplicación se da en ambas direcciones. Se ha postulado que en las primeras etapas del desarrollo embrionario todos los replicones funcionan simultáneamente y la fase S es muy corta. Sin embargo en las células de un animal adulto la síntesis se inicia en diversos lugares de los cromosomas a diferentes tiempos, habiendo un orden temporal establecido (Pardee y col. 1978).

Se propone que los replicones se encuentran agrupados en familias que inician su replicación simultáneamente respondiendo a una señal común. El mecanismo por el cual se mantiene el orden de iniciación no se ha determinado, sin embargo se postula que la metilación está involucrada en el establecimiento de este orden.

Existen evidencias que indican que la síntesis de proteínas puede ser requerida para el paso de S, siendo probable que el patrón de iniciación dependa de una secuencia de síntesis y la acción de moléculas iniciadoras que actúan en replicones específicos. Con base en estudios en células híbridas, se propone que la información genética para las moléculas iniciadoras de la duplicación están codificadas en el mismo cromosoma. Existe otra

hipótesis acerca del control de la iniciación en la que se propone que el control de la iniciación puede estar operado por medio de cambios estructurales en el cromosoma involucrando asociaciones con la membrana nuclear (Graves, 1975).

En relación con el requerimiento de diversas enzimas en la síntesis de ADN, Pardee y colaboradores (1978) ponen énfasis en las ADN polimerasas y las ligasas, mientras que Baserga (1985) consideró importantes otras enzimas relacionadas con el metabolismo del ADN como la timidina cinasa y las ribonucleótido reductasas.

Reddy y Pardee (1980) consideran para la iniciación de la síntesis del ADN la integración de un complejo que contiene la mayoría de las proteínas que son requeridas para la síntesis del ADN así como proteínas asociadas al material genético.

Otro aspecto importante durante la fase S es la síntesis de las histonas (H2A, H2B, H3 y H4), así como la fosforilación continua de la histona H1 en la fase S, este proceso se realiza en dos sitios temporales adicionales a los de G1. Además, en la etapa S aparecen otros receptores de superficie para diferentes factores de crecimiento.

El paso de la célula a la división no es inmediato, sino que entra al período de preparación G2. La inhibición experimental de la síntesis del ácido ribonucleico (ARN) al principio de G2 no impide la mitosis. Durante G2 ocurre la síntesis de proteínas involucradas en la división celular, como la tubulina requerida para la construcción y operación del aparato mitótico así como las proteínas necesarias para la condensación de los cromosomas.

Se han descrito proteínas involucradas en la condensación de los cromosomas que se han denominado "factores mitóticos" que son no histonas que tienen afinidad por la cromatina que se acumulan en la fase G2. En la telofase estos factores son inactivados por otros que se denominan "inhibidores de los mitóticos" que permanecen activos hasta la fase G1 (Rao y Adlkh, 1985). La inhibición de la síntesis de proteínas y ARN detiene a las células en G2, por lo cual se sugiere que el paso de S a mitosis no es automático.

Se ha observado en G2 una reorganización de los componentes del citoesqueleto como son los filamentos de actina y la presencia de ciertas proteínas asociadas a microtúbulos denominadas MAP1, MAP2 y mitotina como preparación para la división (Todorov y col. 1988).

El período M es distinguible al microscopio ya que refleja cambios que han ocurrido a nivel molecular (Padilla y Whitson, 1980). En esta etapa se lleva a cabo la división nuclear (Cariocinesis) y la división citoplásmica (citocinesis). El inicio de la mitosis puede depender del nivel de factores citoplásmicos inhibidores, debido a que cuando se fusionan células en mitosis con células en interfase, se promueve una condensación cromosómica prematura de la cromatina interfásica. Durante este lapso la síntesis de proteínas y de ARN son prácticamente nulas (Pardee y col. 1978)

Existen algunos casos en donde las células se detienen, en un estado previo a la iniciación de síntesis de ADN. Se ha establecido la existencia de un estado de latencia denominado G<sub>0</sub>. Baserga (1985) identifica dentro de los genes que regulan la proliferación celular cuatro oncogenes celulares que están involucrados en la transición G<sub>0</sub> - G<sub>1</sub>.

Las células que están en G<sub>0</sub> presentan ciertas características distintivas, estas sintetizan algunas variantes de histonas, las subunidades de los ribosomas, y la proteína p53 que se requiere para la salida de G<sub>0</sub>, el grado de condensación de la cromatina observado en esta fase es mayor.

#### CULTIVO DE LINFOCITOS COMO MODELO DE EXPERIMENTACION:

Los linfocitos cultivados tienen propiedades que sirven para estudiar las funciones especiales de las células como la diferenciación celular y funciones generales como son la transferencia de energía, el flujo de información genética del ADN a través de ARN a proteínas y la formación de organelos celulares. Debido a esto, los linfocitos son utilizados en estudios citogenéticos y de diagnóstico genético clínico (Lerner y Dixon, 1973).

Se han estandarizado metodologías para el cultivo de sangre completa en humanos que permiten determinar la sensibilidad de los linfocitos de sangre periférica al daño citogénético. Los cultivos obtenidos con dichos métodos dan resultados reproducibles con índices mitóticos altos y frecuencias basales de intercambios entre cromátidas hermanas estables (Kligerman y col. 1984).

Además de los linfocitos que entran al ciclo celular por la inducción de un antígeno existen tres clases de células somáticas. Las células cíclicas, que se multiplican de una manera continua en el organismo como las de la médula ósea y criptas de Liberjñun del intestino. Las células no cíclicas, que no están destinadas a dividirse, que nunca pasan de G1 a S, se detienen después de su diferenciación y maduración, entre éstas se encuentran las células nerviosas y las cíclicas facultativas que están en estado de G0 porque tienen bloqueado el paso hacia S como las anteriores, pero a diferencia de ellas pueden reintegrarse al ciclo mediante el estímulo apropiado, ya sea natural o artificial. Tal es el caso de los hepatocitos que después de una hepatectomía parcial reinician su ciclo, o bien algunas células que al ser cultivadas "in vitro" como los linfocitos, son estimuladas con algún mitógeno. También los agentes cancerígenos pueden provocar que las células entren al ciclo (Mazia, 1974 y Baserga, 1981)

#### ACTIVACION DE LINFOCITOS T:

El linfocito es la célula primordial de la respuesta inmune por medio de la cual, el organismo responde a los agentes ambientales (Lerner y Dixon, 1973). Los linfocitos T intervienen en la inmunidad mediada por células y los linfocitos B en la humoral, que se diferencian en células plasmáticas secretoras de anticuerpos (Mazia, 1974; Kligerman y col. 1984).

Para estimular la división de los linfocitos en cultivo se han empleado extractos vegetales que tienen propiedades mitogénicas, esto se debe a la presencia de ciertas proteínas llamadas lectinas como la concanavalina A (Con A) y la fitohemaglutinina (PHA) (Crossen y Morgan 1977). Así como otras sustancias como lipopolisacaridos derivadas de bacterias como estreptococos y estafilococos (Ling y Kay, 1975).

Hay una gran cantidad de factores que intervienen en el inicio y la duración de la síntesis del ADN en los linfocitos en cultivo, entre ellos se pueden citar el origen, concentración y metabolismo del estimulante empleado (Jasinska y col. 1970), el origen de las células y las condiciones de cultivo (Ling y Kay 1975).

La activación de los linfocitos en estado de reposo  $G_0$  requiere de dos señales, la primera involucra la interacción del antígeno con el receptor antigénico. Esta interacción trae una serie de cambios bioquímicos; a nivel de membrana se lleva a cabo la hidrólisis del fosfatidil-inositol, y en el citosol se incrementan los niveles de  $Ca^{++}$ , se estimula la fosforilación de ciertas proteínas membranales e intracelulares, se favorece la expresión de receptores para la interleucina 2 (IL-2R) y la producción de linfocinas incluyendo IL-2. El estado inicial de estimulación antigénica lleva a la transición del estado  $G_0$  a la fase  $G_1$  en la cual hay un aumento en ARN y síntesis de proteínas.

Bajo ciertas condiciones se requiere de una segunda señal para una mayor activación y la transición de  $G_1$  a  $S$ ; esta señal es la interacción de IL-2 con su receptor. Los linfocitos T que han sido estimulados con antígenos y no son capaces de proliferar se encuentran en un estado de transición de  $G_1$ -postmitótica que se caracteriza por la presencia de receptores para IL-2 y la capacidad para proliferar en respuesta solo a IL-2. Mientras que la entrada en la fase  $S$  del ciclo celular depende de las concentraciones tanto de IL-2 como de IL-2R, y los eventos subsiguientes a la activación son dependientes de la expresión adecuada de estas dos moléculas (Edwards y Krabtree, 1989).

El guanosín monofosfato cíclico (GMPC) actúa como un mensajero intracelular que induce la división celular (Hadden y col. 1972). El adenosín monofosfato cíclico (AMPC), tiene también un papel importante en la regulación del ciclo celular, encontrándose en proporciones elevadas en los periodos  $G_1$  y  $G_2$  y disminuido en el periodo M (Millis y col. 1974).

En los cultivos de linfocitos estimulados con PHA la síntesis del ADN comienza después de 24 horas a partir del momento de la estimulación, encontrando el máximo de actividad a las 72 horas y decreciendo posteriormente. Con otros

estimulantes, como la Con A y el filtrado de estafilococos se genera la síntesis máxima después del quinto día, mientras que con otros se producen 5 a 7 días después; estos son los responsables de que el período G1 se alargue durante el cultivo (Ling y Kay 1975).

Jasinska y colaboradores (1970), reportan que los linfocitos en cultivo no inician la síntesis del ADN al mismo tiempo, y que algunos entran al período S después de 36 horas, mientras que otros pueden permanecer entre G1 y S hasta después de las 72 horas, sugiriendo que la duración del período G1 es muy variable bajo las mismas condiciones.

El cultivo de linfocitos se ha utilizado como un sistema modelo para investigar la regulación de los estados iniciales de proliferación celular durante la fase de transición de G<sub>0</sub> - G<sub>1</sub> - S (Kaczmarek y col. 1987). El empleo de la PHA tiene la ventaja de ser un mitógeno no específico, que puede activar múltiples clones de linfocitos, sin embargo recientemente se propone que la población de linfocitos que preferencialmente son activados por la fitohemaglutinina son los citotóxicos (Klein y col. 1982).

#### TINCION DIFERENCIAL DE CROMATIDAS HERMANAS

Para el estudio del ADN se han utilizado analogos de bases, ya sea isótopos marcados radioactivos como la timidina tritiada y adenina marcada con fósforo 32 o carbono 14 principalmente, y no radioactivos como 5-Bromodesoxiuridina (BrdU), 5-Fluorodesoxiuridina entre otros, siendo analizados por tinciones específicas (Latt, 1973 y 1974, Latt y col. 1975; Taylor y col. 1957).

La BrdU es un nucleósido halogenado analogo de la timina, que puede ser incorporado a las cadenas de ADN en formación (Latt, 1981).

La incorporación de BrdU está basada en tres postulados (según Tice y col. 1975):

1. La teoría uninémica de la cromátida
2. La duplicación del tipo semiconservador
3. La segregación al azar de los cromosomas durante la división celular.

La incorporación de este nucleósido en el ADN es necesaria para la tinción diferencial de cromátidas hermanas e identificación de células en metafase que han pasado por uno, dos, tres o más ciclos de duplicación. Después de un ciclo de duplicación en presencia de la BrdU los cromosomas en metafase poseen el 100% de sus cromátidas unifilarmente sustituidas, mostrándose las cromátidas oscuras. Cuando las células han pasado por dos ciclos de duplicación los cromosomas presentan el 50% de sus cromátidas unifilarmente sustituidas y el otro 50% de las cromátidas bifilarmente sustituidas con BrdU, viéndose el 50% teñidas en forma clara y el otro 50% teñidas en forma oscura. Las células que han atravesado por tres ciclos presentan el 25% de sus cromátidas unifilarmente sustituidas y el 75% bifilarmente sustituidas, observándose un 75% de cromátidas teñidas claras y el 25% restante teñidas oscuras (Tice, y col. 1976; Crossen y Morgan, 1976).

El análisis alternativo de tinción diferencial de metafases y el porcentaje de núcleos interfásicos determinado por citofluorometría de la reacción BrdU-Hoescht puede ser útil para la cuantificación de la duración de cada una de las fases del ciclo, así como la fracción de células no cíclicas en linfocitos de sangre periférica estimulados por PHA (Kubbies y col. 1985).

Pincu y colaboradores (1986) proponen que la historia replicadora de núcleos interfásicos puede ser analizada dependiendo del número de ciclos que han pasado las células en presencia de la BrdU, así como por la cantidad incorporada al ser revelada por la técnica de fluorescencia más Giemsa (FPG). Mediante el análisis del porcentaje de metafases en distintos ciclos de duplicación y la fracción de núcleos interfásicos puede ser determinado el índice de estimulación, que representa el porcentaje de células estimuladas para sintetizar ADN o proliferar.

## INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS

Los ICHs representan intercambios recíprocos de ADN en cromátidas hermanas, que se forman durante la fase S del ciclo celular (Wolff, 1977), así mismo hay evidencias que sugieren que es inmediatamente después que se ha formado la horquilla de replicación durante la biosíntesis del ADN, cuando se realiza el intercambio de doble banda entre las cadenas de ADN (Kato, 1980).

El primer hallazgo al respecto fueron los experimentos realizados por Taylor y colaboradores (1957) por medio de la incorporación de la timidina tritiada donde en metafase, observan que los cromosomas muestran una cromátida marcada y una sin marcar, sin embargo, el hallazgo reportado fue el intercambio de segmentos de cromátidas hermanas.

El significado biológico y el mecanismo de formación de los ICH no han sido completamente establecidos (Gentil y col., 1984), sin embargo, esta prueba ha sido ampliamente usada para la detección de agentes mutágeno-carcinógenos en cultivos de células de mamíferos (Abe, 1984). Su observación generalmente requiere que las células sean cultivadas por dos ciclos de duplicación en presencia de BrdU, después de la cual las preparaciones con las células en metafase son sometidas a la técnica de fluorescencia más Giemsa (FPG) (Perry y Wolff, 1974).

## PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

Como se ha descrito la DCP en los niños causa alteraciones de diversos tipos por lo que ha sido y sigue siendo importante conocer los efectos producidos por esta enfermedad. A nivel citogénético en 1988 realizamos un trabajo en el que se observó una alteración en la proliferación de linfocitos de niños con DCP in vitro y considerando que ese daño fue significativo, se planteó la necesidad de conocer si, a este mismo nivel persiste aún el daño después de un periodo de recuperación.

Este trabajo es parte del proyecto de investigación "Efectos a nivel celular de la DCP" que se realiza en el laboratorio de Biología Celular en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM-I).

**HIPOTESIS:**

Si la desnutrición es una enfermedad que puede afectar la cinética celular y la frecuencia de ICH, entonces en los niños que padezcan DCP se encontrarán alterados en relación a los niños eutróficos. Después de un período de recuperación nutricional, si ésta es capaz de revertir los daños observados a nivel celular entonces los resultados obtenidos serán similares que en los niños eutróficos.

**OBJETIVO GENERAL:**

Analizar la cinética celular y la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas (ICH) *in vitro* en linfocitos de niños con desnutrición calórico-proteica severa (DCP) y en los mismos niños después de un período de recuperación de 2-6 meses.

**OBJETIVOS PARTICULARES:**

i) Analizar la cinética de proliferación celular en cultivo de linfocitos de niños con DCP y en recuperación de la DCP, mediante el porcentaje de metafases en 1o, 2o. y 3er ciclo de duplicación dependiente de la incorporación de la BrdU.

ii) Determinar la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas a las 48 horas de cultivo en linfocitos de niños con DCP y recuperados de la DCP.

iii) Determinar la fracción de células que responden a la PHA a través del índice de estimulación, índice de replicación y el índice mitótico.

## MATERIALES Y METODOS:

El trabajo se realizó con 33 muestras de sangre periférica de niñas y niños cuyas edades oscilaron entre 5 y 33 meses de edad, las muestras fueron proporcionadas por el Centro Infantil de Rehabilitación Nutricional (Cruz Blanca) y el Hospital Pediátrico Ixtacalco; 10 niños eutróficos, 14 desnutridos y 9 en recuperación de la desnutrición. Además se obtuvo la historia clínica de cada uno para conocer los antecedentes clínicos.

Los criterios para evaluar la recuperación fueron los pesos (Kg) de los niños por semana, así como su talla (cm) alcanzada cada mes en peso y en talla expresada en velocidades de crecimiento. Así como las biometrías hemáticas al ingreso y egreso de cada niño.

Los niños fueron agrupados en tres conjuntos para su análisis: I (eutróficos), II (con DCP) y III (en recuperación nutricional).

## TOMA DE LA MUESTRA:

La sangre periférica fue obtenida por punción venosa con una jeringa heparinizada, se colectaron de tres a cinco mililitros por niño.

## CULTIVO DE LINFOCITOS

El cultivo de linfocitos fue de acuerdo al método descrito por Arakaki y Sparkes (1963). En frascos estériles tipo antibiótico de 60 ml, se colocaron 5 ml de medio McCoy 5a modificado (Microlab, Mex.) a los cuales se les adicionó 0.01 ml

de una mezcla de antibiótico (penicilina 100 U/ml - estreptomycin 100 ug/ml) (Microlab, Méx.) y 0.2 ml de fitohemaglutinina (PHA) (Microlab, Méx.) Bromodesoxiuridina (BrdU) (Sigma E.U.A.)  $2.5 \times 10^{-6}$  M ajustando el número de células a 2 millones por ml. Los cultivos fueron incubados a 37°C durante 48, 72 Y 96 horas.

#### COSECHA

Se empleó la técnica propuesta por Moorhead y colaboradores (1960), una hora antes del final del cultivo se agregó 0.2 ml de colcemida (Microlab, Méx.). El contenido de cada frasco fue centrifugado a 1500 rpm durante 10 min, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el paquete celular en una solución hipotónica de KCl 0.075 M manteniéndolo a 37°C durante 10 min; se centrifugó nuevamente y el paquete obtenido se fijó con una solución de metanol - ácido acético (3:1) y se lavó varias veces.

#### TINCION DIFERENCIAL DE CROMATIDAS HERMANAS:

Se elaboraron las preparaciones por el método de secado a la flama. Se colocaron en una solución de Hoechst 33258 (0.5 µg/ml) (Merck, Méx.) durante 30 min en obscuridad completa y se expusieron a luz negra a 2 cm de distancia por 3 horas. Posteriormente se tificaron por 3 min con Giemsa (Merck, Méx.) al 5% en amortiguador Sørensen a pH 6.8 de acuerdo con la técnica de fluorescencia más Giemsa (Perry y Wolff, 1974).

#### ANALISIS DE LA CINETICA DE PROLIFERACION E ICH:

##### Proliferación Celular

Se realizó la observación de 100 metafases clasificándolas en primero, segundo o tercer ciclo de duplicación de acuerdo con su tinción diferencial. Se determinó el porcentaje de células en cada ciclo y se calculó el factor de proliferación (FP) mismo que fue utilizado para la obtención del Índice de Estimulación (IE).

Se analizaron 1000 núcleos transformados agrupandolos según las siguientes características:

- R .- Núcleos transformados por la actividad del mitógeno que no han sintetizado ADN en cultivo en presencia de BrdU, que muestra su cromatina condensada y se tinte de color rojo.
- M .- Núcleos modificados por la acción del mitógeno, y que han sintetizado ADN una sola ocasión con BrdU. Tienen una envoltura nuclear irregular, y agregados de cromatina que en contraste de fases se observan de color azul, en tanto que en campo claro son rojizos y se evidencia el nucleolo.
- A .- Núcleos transformados como respuesta a la PHA, que han sintetizado ADN más de una vez en cultivo que contiene BrdU. Generalmente su diámetro es mayor al de los núcleos anteriores. Envoltura nuclear irregular, con frecuencia se notan agregados de cromatina muy dispersa en el nucleoplasma. El color es azulado y se observa el nucleolo.

#### Índice de Estimulación

Se determinó tomando en cuenta los núcleos y metafases de acuerdo con la técnica de Pincu y colaboradores (1986), modificando la concentración de BrdU y fué definido según la siguiente fórmula:

$$B_0 = A + M / FP$$

$$FP = 1 (10.) + 2 (20.) + 4 (30.) / \text{No. de mitosis contadas.}$$

de donde:

$$IE = B_0 / (B_0 \pm R)$$

donde :

Bo son las células que proliferan en el cultivo.  
 FP es el factor de proliferación.  
 IE índice de estimulación que indica la fracción de células que responden al mitógeno y proliferan activamente.

### Indice de replicación

El indice de replicación fue obtenido considerando las mitosis de 1o, 2o y 3o ciclo.

$$IR = \frac{1(10) + 2(20) + 3(30)}{100}$$

### Indice Mitótico

El Indice Mitótico corresponde al porcentaje de células en metafase del conteo de 1000 células en cada preparación.

### Frecuencia de Intercambios de cromátidas hermanas

Para la obtención de la frecuencia de ICH/célula por niño, se analizaron 25 células en metafase de segundo ciclo (48 horas de cultivo), considerando las metafases que se observan claramente.

### Analisis estadístico

Se realizó el analisis de significancia estadística empleando la prueba t de Student para comparar las frecuencias de ICH, IE, IM entre los diferentes grupos. La prueba chi cuadrada se utilizó en la comparación de los porcentajes de células en cada uno de los ciclos de duplicación y para la distribución de los ICH (Snedecor y Cochran, 1981).

## RESULTADOS

Los niños fueron agrupados en tres conjuntos para su análisis: I (Eutróficos), II (Desnutridos) y III (Recuperados de la DCP)

### Características de los niños (Edad, Peso y Sexo).

El peso, la talla y el sexo de los grupos se muestran en los Tablas 1, 2 y 3. En el grupo I las edades oscilaron entre 6 y 33 meses de edad, sin presentar déficit de peso con respecto a su edad cronológica (Ramos Galván, 1979), respecto al sexo 5 fueron femeninos y 5 masculinos (Tabla 1). En relación al grupo II (Tabla 2) las edades comprendieron entre 5 meses como mínimo a 22 meses como máximo, 11 de los 14 niños analizados la edad no sobrepasaba los 13 meses; 3 de estos niños fueron del sexo femenino y 11 del sexo opuesto.

De acuerdo con su estado clínico los niños del grupo II tenían DCP ya que su peso corporal mostraba un déficit mayor al 40% respecto a su edad (Tabla 2), la mayoría de ellos estaban enmarcados, por sus síntomas y signos clínicos, dentro del tipo marasmo (Figura 1) y solo 2 del tipo kwashiorkor (Figura 2). Estos niños ya habían sido tratados de infecciones y tenían al menos 15 días sin presentar signos de ella, y además llevando una dieta balanceada.

En la Tabla 3 aparecen las características del grupo III, integrado por los mismos niños desnutridos pero ya en recuperación de la DCP, Figura 3, con signos y síntomas normales (a excepción de uno); sus edades fueron desde 11 a 27 meses, con un déficit de peso de 2 a 32 %. Tres de ellos fueron del sexo femenino y los restantes correspondieron al sexo masculino. También se evaluó por las velocidades de crecimiento en la talla y el peso (Figuras 4 y 5).

### **Proliferación Celular**

#### **a) Metafases en diferentes ciclos de duplicación e índice de replicación:**

Se presenta en la Tabla 4 el porcentaje de células clasificadas de acuerdo a su tinción diferencial y se observa que en los niños eutróficos y recuperados de la DCP, a las 48 horas, tienen un promedio mayor de metafases en primer ciclo (Figura 6), con respecto a los niños desnutridos; en las metafases de segundo ciclo (Figura 7) encontramos una mayor proporción en relación a los eutróficos y recuperados existiendo una diferencia significativa en los desnutridos con respecto al grupo testigo solamente.

En la misma Tabla se presenta el índice de replicación (IR) y al igual que en las metafases a las 48 horas notamos una frecuencia mayor en los niños desnutridos en comparación con los eutróficos y recuperados de la DCP.

A las 72 horas de incubación se observa que el porcentaje de primer ciclo, segundo y tercer ciclos de duplicación es similar en los tres grupos, aunque en los niños recuperados de la DCP el promedio en las células de tercero es menor (Figura 8), sin embargo no encontramos diferencia entre ambos grupos; así mismo el IR tuvo un comportamiento similar a esta hora de cultivo y a las 96 horas de incubación, los datos promedio de las metafases es similar en los tres grupos de niños, al igual que el IR.

#### **Índice de Estimulación.**

#### **b) Diferentes tipos de núcleos interfásicos.**

Las frecuencias de núcleos en interfase de linfocitos estimulados por la PHA para cada grupo de niños se muestran en la Tabla 5, en donde no evidenciamos diferencia significativa a las 48 horas en los núcleos rojos y azules entre el grupo testigo con desnutridos (Figura 9).

Al compararse los resultados obtenidos a las 72 horas de cultivo se observó un valor mayor en los rojos y menor en los azules entre los niños eutróficos y los niños desnutridos. Mientras que a las 96 horas, se mantuvo la diferencia en núcleos R y se presentó diferencia en los núcleos M.

Para la determinación del índice de estimulación, se consideraron las células de acuerdo a su estado de proliferación en cultivo; núcleos interfásicos (Tabla 5) que han sintetizado ADN en cultivo en presencia de BrdU y células en metafase que se clasificaron de acuerdo a su tinción diferencial (Pincu y col. 1986)

Los datos obtenidos de IE para cada una de las horas de cultivo analizadas (48, 72 y 96) se presentan en la Tabla 6 los valores individuales y, en la Tabla 7 promedios y estadística donde se observa que los valores para IE a las 48 horas de incubación en el caso de las células del Grupo I fueron desde 35 hasta 79, para las células del grupo II el intervalo obtenido fue de 39 como valor mínimo y como máximo de 78, en tanto que para el grupo III fue de 39 a 56 como valores extremos; al analizar estadísticamente los promedios no encontramos diferencia significativa.

A las 72 horas de cultivo las células del grupo I de niños mostraron datos que fueron de 39 a 73, para el grupo II los valores fueron de 21 a 66, y por último en el caso de los niños del grupo III sus datos fueron de 24 como mínimo y 69 como máximo. Al analizar los promedios notamos un porcentaje menor en los niños desnutridos con respecto al grupo testigo (Tabla 6).

Los datos obtenidos a las 96 horas de cultivo para el grupo I son como mínimo 44 y 75 como máximo, para el grupo II el mínimo fue de 21 y como máximo 65 y el grupo III, fue de 31 y 61. Los valores promedio mostraron una diferencia significativa comparando el grupo testigo con denutridos y recuperados. El comportamiento durante las tres horas de cultivo analizadas fue diferente entre el grupo de los niños eutróficos con respecto a los niños desnutridos (Tabla 6).

### Índice Mitótico

Los valores individuales que se obtuvieron para IN se muestran en la Tabla 8 y el promedio en la Tabla 9 a las 48 horas de cultivo en los niños eutróficos se presentaron valores desde 0.8 a 2.2, los niños desnutridos mostraron valores de 0.7 a 2.7 y el último grupo de niños varió de 0.8 a 1.7.

Para las 72 horas de cultivo, los niños eutróficos tuvieron valores de 0.6 a 2.1, los niños desnutridos desde 0.5 hasta 1.7 y los niños en recuperación de 0.2 a 1.5.

A 96 horas de cultivo los valores fueron para los niños eutróficos de 0.6 a 1.9 en cuanto a los niños desnutridos fue de 0.2 a 1.0 y el grupo de los recuperados fue de 0.5 a 1.9. Se encontró diferencia altamente significativa en los niños desnutridos con respecto a los niños testigo.

### Frecuencia de ICH

La frecuencia de ICH por célula (Tabla 10) para los niños eutróficos fue desde 3 a 5.1, como valores extremos de ICH por generación, para los niños desnutridos tenemos que la frecuencia obtenida fue de 4.5 como mínimo a 8.1 como máximo de ICH por célula, en relación a los niños en recuperación de la desnutrición los valores obtenidos fueron desde 3.6 a 5.9. Al comparar las frecuencias observadas en las células de los tres grupos de niños no encontramos diferencia significativa entre eutróficos y desnutridos, aunque en los niños recuperados de la DCP solo se pudieron analizar 4 individuos.

### Distribución de ICH

Al realizar el análisis de distribución, el porcentaje de mitosis con ICH fue de 0-3 que corresponde al 41.4% en los testigos 15.4% en los desnutridos y 23.1% en los niños en recuperación; con más de 8 ICH por mitosis, los porcentajes fueron 8.9%, 24.7% y 13.2% respectivamente. Sin embargo tampoco obtuvimos diferencia estadísticamente significativa (Figura 10 y 11; Tabla 11).

## DISCUSION

### DESNUTRICION CALORICO PROTEICO SEVERA

Un buen indicador morfológico de la DCP en los niños menores a dos años es el déficit de peso mayor al 40% y la talla de acuerdo a su edad según el criterio de Ramos-Galván (1979). Sin embargo, no sólo se les considera como desnutridos de tercer grado por el peso y talla, sino también por otras características clínicas como atrofia muscular, edema, apatía, baja actividad física y valores anormales en una biometría hemática como lo han sugerido Hernández (1967). De los 14 niños desnutridos y analizados, 12 fueron evaluados clínicamente como marasmo, por los síntomas que presentaron lo cual está de acuerdo con la literatura pues se reporta una mayor incidencia en las zonas urbanas.

Antes del tratamiento de recuperación nutricional, los niños estuvieron internados en hospitales donde fueron tratados por algún tipo de infección. A su llegada al Centro de Recuperación Nutricional se mantuvieron en una sala en observación por 15 días, a fin de realizar nuevamente estudios para asegurar que no presentaran infección, la muestra fue tomada el primer día de ingreso y el análisis de proliferación solo se llevó a cabo en aquellos que posteriormente fueron trasladados a otra sala para iniciar su recuperación nutricional, ya que los niños que presentan algún tipo de infección son llevados nuevamente a hospitales de zona por lo que se consideró que los resultados obtenidos en el presente estudio son atribuibles a la DCP por sí misma.

### RECUPERACION NUTRICIONAL

Podemos considerar a la desnutrición en su estado crónico como un cuadro equilibrado cuya principal característica es la reducción proporcional en casi todos los tejidos y órganos del cuerpo, por tanto el síndrome de recuperación nutricional puede ser considerado como la ruptura de este equilibrio con un

consecuente aumento en la velocidad de crecimiento. Casi todos los estudios de rehabilitación de niños desnutridos, han sido realizados en hospitales (Krishnaswamy, 1989), ya que existen condiciones controladas tanto de un régimen alimenticio como de estímulos durante el período que cada niño requiera.

En la recuperación del peso y talla después de un período de DCP, los niños fueron dados de alta con déficit del 2% al 32%; tomando en cuenta que ingresaron con un déficit del 44% al 68%, la recuperación de los niños de este estudio fue del 70% al 90% durante su estancia en el hospital, este porcentaje de recuperación se obtiene en cinco meses o más en donde los niños están expuestos a diversas infecciones.

Se ha sugerido que en talla y peso aún pueden alcanzar una respuesta mayor en su recuperación en condiciones favorables dentro de su hogar (Landman y col. 1981). Nuestros datos mostraron que durante un régimen alimenticio adecuado los niños desnutridos llegan a alcanzar del 85 - 90% del peso y talla esperados para su edad, este porcentaje puede ser alcanzado dependiendo de la persistencia de la desnutrición con respecto a la duración de la rehabilitación.

Waterloo y Alleinge (1971) consideraron que una dieta energética con valores superiores a los requerimientos normales puede permitir alcanzar la recuperación nutricional satisfactoria, debido a que son elevados los costos energéticos para la síntesis de nuevos tejidos y procesos sintéticos oxidativos.

#### PROLIFERACION CELULAR

La técnica de tinción diferencial de cromátidas dependiente de la incorporación de BrdU, permitió analizar la cinética del ciclo celular, mediante las proporciones de células en metafase de primero, segundo y tercer ciclos de duplicación tal como lo indican Kaczmarek y colaboradores 1987. De nuestras

observaciones, se determinó que los niños eutróficos y recuperados de la DCP en relación con los desnutridos, presentaron un porcentaje significativamente menor de metafases en segundo ciclo de duplicación y una mayor proporción de metafases en primer ciclo a las 48 horas de incubación (Tabla 4).

El alto porcentaje de células en segundo ciclo a 48 horas en los niños desnutridos parece indicar que existe una alta variabilidad en las fases prerreplicadoras (G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub>) del ciclo celular, o bien que los linfocitos vengan preestimulados por lo que se podría proponer que la duración de dichas fases es más corta en niños desnutridos. Probablemente las células al provenir de un organismo en el cual no cuentan con los nutrientes necesarios para llevar a cabo sus funciones metabólicas normales y encontrarse en un medio rico, los linfocitos de los desnutridos comienzan a proliferar más tempranamente que los eutróficos.

La respuesta de los linfocitos de los niños recuperados al mitógeno fue similar a la de los eutróficos, esto parece indicar que después de un período de recuperación existen otros linfocitos generados durante estos meses en los cuales se restablece respuesta al mitógeno, esto es considerando el tiempo de vida de cada linfocito.

#### INDICE DE REPLICACION

La historia replicadora de las células a las 48 horas de cultivo parece indicar que es mayor la velocidad de proliferación en los niños desnutridos que en los testigos, esto se apoya en el alto porcentaje de metafases en segundo ciclo de duplicación. Además el IR es similar a las 72 y 96 horas de cultivo, apoyando la idea de una población de proliferación temprana y además esto indicaría que el tiempo de generación sea más largo (Tabla 4).

**INDICE DE ESTIMULACION.**

Para la realización del presente estudio, se requirió de una concentración de BrdU que no inhibiera la proliferación y que además permitiera una tinción diferencial de buena calidad, para esto se probaron concentraciones encontrándose que  $2.5 \times 10^{-6}M$  fue la más adecuada, ya que se logró obtener una tinción diferencial tanto de núcleos como de metafases sin inhibir la proliferación celular. Sin embargo, se han empleado otras concentraciones como  $1.62 \times 10^{-6}M$  (Roldan y Altamirano, 1990),  $40 \times 10^{-4}M$  (Pincu y col. 1986).

El análisis combinado de núcleos interfásicos y metafases nos permitió en un mismo ensayo comparar diferentes parámetros de proliferación celular, ya que existen técnicas en las cuales solo se examinan los núcleos transformados o metafases en distinto ciclo de división. En este estudio la observación de núcleos es complementaria al análisis de metafases, por lo que nuestros datos indican además de la cinética el porcentaje de células que están proliferando en respuesta a la PHA.

Tomando como base que la inmunidad celular puede ser medida por la respuesta de las células al antígeno durante el cultivo celular los valores que se obtienen de índice de estimulación así como de índice mitótico son más bajos al final del cultivo en los niños que sufren DCP, con respecto al grupo testigo mientras que en los niños en recuperación nutricional los valores son constantes durante todo el cultivo, comparando los IE de los niños eutróficos con ambos grupos los niños recuperados presentan valores constantes durante el cultivo celular, aunque más bajos.

A las 48 horas de cultivo los valores para IE son similares en los tres grupos, aunque los niños desnutridos tienen un inicio más rápido considerando los ciclos de división. Sin embargo, a las 72 hrs los valores son más bajos y a las 96 horas de cultivo existió diferencia significativa entre los niños eutróficos y recuperados en relación con los niños con DCP. Moore y colaboradores (1974) han sugerido que posiblemente el suero de los niños desnutridos carezca de un componente proteico de bajo

peso molecular que juega un papel importante en la transformación de los linfocitos, también se ha observado que en el suero de niños con DCP e infección contiene varios componentes que inhiben la respuesta inmunitaria *in vitro* por lo que se propone que los linfocitos de estos niños no mantienen la proliferación celular.

Se ha reportado que la velocidad proliferativa de los linfocitos T es directamente proporcional a la concentración de Interleucina 2 (IL-2) disponible en cultivo para las células, se puede considerar que la disminución en IE e IM pueda ser debida a una baja producción de IL-2 o a la ausencia o deficiencia de receptores específicos para esta (Cantrell y Smith, 1983, Alcover y col. 1986, Edwards y Crabtree, 1989). Por último, se ha determinado en niños con DCP que una evaluación morfológica de la transformación blastoide después de tres días de incubación puede ser deprimida por la presencia de ciertos factores inhibidores en cultivo (Moore y col. 1974).

Se han determinado diversos valores de IE a las 72 horas de cultivo en linfocitos de sangre periférica empleando la técnica propuesta por Pincu y colaboradores (1986), los que lograron un 30%, mientras que Ortiz y colaboradores (1987) un 40%, ambos

estudios realizados en linfocitos de adultos sanos, en el presente trabajo se obtuvo un 60% en los niños eutróficos como promedio durante la duración del cultivo, esto parece indicar que la respuesta de los linfocitos al mitógeno en niños es mayor.

En este estudio el IE fue de 60% en los niños testigos, para los desnutridos de 35% y para los recuperados de 43%. Las diferencias respecto a los trabajos con linfocitos de adultos pueden ser debidas, a que se ha propuesto que el ciclo celular en los linfocitos de los niños es más rápido que en los adultos, o bien que hay una respuesta mayor a la PHA en las células de los niños eutróficos.

En los niños recuperados de la DCP la respuesta al mitógeno a lo largo de cultivo fue menor pero constante en relación a los niños eutróficos, comportamiento que difiere en los niños con DCP, ya que en estos el IE disminuyó en las últimas horas de incubación (Tabla 7).

El IE no está en relación con el déficit de peso tanto en niños con DCP como recuperados, ya que la respuesta individual del niño puede ser debida a: factores genéticos, duración de la DCP, severidad y tipo de infección y el tipo de medicamentos que se le han administrado. En este último punto es considerado de interés, ya que la mayoría de los niños desnutridos presentan infecciones asociadas.

#### INDICE MITOTICO

El IM refleja la fracción de una población celular que se encuentra en la etapa de división. A las 48 horas de incubación hay un promedio mayor de mitosis en las células de los niños desnutridos que en eutróficos y recuperados y esta tendencia se mantiene hasta las 72 horas, estos valores están relacionados con los porcentajes de células en segundo ciclo de duplicación lo que parece sugerir la estimulación temprana de una población celular. Esto se asocia con la disminución en el IM a las 96 horas, así como una disminución en el porcentaje de células que se transformaron de segundo a tercer ciclo de duplicación entre las 72 y 96 horas de cultivo (Tabla 9).

Por otro lado, el índice mitótico observado está asociado con los datos obtenidos para el índice de replicación, donde encontramos un porcentaje mayor en los niños desnutridos y esperaríamos que el IR fuera más alto.

#### FRECUENCIA DE ICH

El mecanismo de formación de los ICHs aún no se conoce, sin embargo es un buen indicador de daño cromosómico. En nuestro trabajo no encontramos diferencias, no obstante en algunos de los niños con desnutrición exista un número alto de estos, los cuales pueden ser debidos al tiempo que le fueron administrados medicamentos así como al lapso de desnutrición.

Los datos parecen controvertibles, ya que no concuerdan con los estudios realizados por Murthy y colaboradores (1980) quienes determinaron en 25 niños con DCP tipo kwashiorkor una mayor frecuencia de ICH respecto a los niños testigos. En tanto que coinciden con los estudios realizados por Mutchinick y colaboradores (1979) quienes reportaron en linfocitos de 2 niños con DCP tipo marasmo una frecuencia igual que la de los eutróficos, en nuestro caso fueron ocho niños, esta diferencia puede deberse al número de individuos analizados.

Existe una alta variabilidad en la respuesta de los niños en recuperación, ya que presentan valores similares a la de los niños eutróficos, hasta aquellos en los que el promedio es mayor a lo observado en los niños desnutridos, esto indica que en la DCP se tiene una respuesta individual variable y no todos los individuos responden de la misma manera, en este caso sería importante considerar la historia clínica de cada individuo, ya que algunos factores puedan estar influenciando como la edad, y el tiempo de la desnutrición. Casi la mayor parte de los niños con DCP muestran infecciones asociadas, y considerando esto se realizó un estudio previo (Campos 1988) en el cual se analizó la frecuencia de ICH en niños con DCP e infecciones y niños con DCP después de un período de tratamiento a estas, se encontró una frecuencia ligeramente mayor en los niños que presentaban DCP e infecciones en relación a los que tenían infecciones sin embargo la frecuencia es similar al grupo testigo.

El análisis de ICH se realizó a las 48 horas tiempo en el cual tal vez no sean eficientes los mecanismos enzimáticos de reparación postreplicadora, en niños con DCP. Sin embargo, Murthy y Bhaskaram (1981) demuestran que los linfocitos de niños con DCP presentaron un mecanismo de reparación eficiente.

#### DISTRIBUCION DE ICH

Otra manera en que se analizó el daño en el ADN fue por la presencia de ICHs mediante la distribución. Como se puede observar en las Figuras 10 y 11, los niños desnutridos mostraron un mayor número de células con 4 a 5 ICH, en tanto los niños eutróficos presentaron una mayor número de células con 2-3 ICH y

en los niños recuperados los ICH fueron más frecuentes (4 a 5 ICH/célula), esto parecería indicar que no habría diferencia entre desnutridos y recuperados desde el punto de vista de la distribución de ICH. Sin embargo, los niños recuperados mostraron un mayor número de células con menos ICH (0 a 3 ICH/célula), así como un menor número de células que presentaron más de 10 ICH/células, sin embargo la muestra de los niños recuperados es muy pequeña (Tabla 11).

Durante el proceso de recuperación los niños recobran casi todas sus funciones metabólicas normales, sin embargo la desnutrición tiene particular importancia en los primeros años de vida porque entre más larga y severa sea la desnutrición más severo es el efecto, a todos los niveles.

Los parámetros de la cinética de proliferación celular como son el IR, IE nos permitieron evaluar globalmente la respuesta inmune mediada por células en niños que sufrieron DCP, ya que cuando se realizaron los cultivos de los linfocitos, se encontró que algunos de estos niños no respondían a la PHA teniendo valores en los índices de cero. En tanto que en los valores observados en los niños después de un periodo de rehabilitación nutricional los valores mostrados en los índices reflejan proliferación celular, estos fueron mayores y mostraron valores constantes en la duración del cultivo.

Sin embargo al encontrar que los niños recuperados de la DCP aun no alcanzan los valores de los niños normales, son todavía susceptibles a las infecciones, que a largo plazo esto trae como consecuencia procesos infecciosos donde los niños pudieran recaer y llegar a de nuevo a la DCP severa.

Por tanto los parámetros analizados son sensibles a determinar entre un niño que sufre desnutrición severa y aquellos que se están recuperando de esta.

De los resultados mostrados en este estudio hay puntos sobresalientes que se deben explicar con bases experimentales, entre ellos se encuentran la intensa proliferación de los linfocitos de los niños desnutridos a las 48 horas de incubación, en comparación a la respuesta mostrada por niños recuperados. Esto puede ser analizado, desde varios puntos de vista, si

consideramos que el primer paso de la respuesta inmune es el reconocimiento del antígeno por los receptores de los linfocitos, esto provoca que mensajeros secundarios lleven la información al núcleo y activar la expresión de varios genes.

La expresión de estos genes parece ser necesaria para la posterior activación de genes en el proceso de diferenciación. La apropiada expresión de los genes regulados en esta compleja vía, es crítica para una adecuada respuesta inmune, porque el proceso no solo media la proliferación de poblaciones celulares T y efectores celulares específicos (linfocinas), sino también la regulación funcional de otras células involucradas en la respuesta inmune celular. Otro punto de vista sería el analizar cual es el papel en que participan los factores de crecimiento (IL-2) en la respuesta de los linfocitos de los niños con DCP y recuperados, y por último la duración del estado de reposo o fases prerreplicadoras G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub>.

## CONCLUSIONES

Existen algunos indicadores que pueden ser empleados para evaluar la recuperación de la desnutrición severa, además del aumento en peso y talla, apoyados en la velocidad de crecimiento, otras características físicas y clínicas como la biometría hemática son indicadores confiables de la recuperación de la desnutrición severa. En este estudio se determinó que después de 2 a 6 meses el porcentaje de recuperación fue de 75-80 % en cuanto a peso y talla.

La cinética de proliferación a las 48 horas de cultivo mostró que la respuesta de las células de los niños desnutridos fue más rápida que en los niños eutróficos y en recuperación de la desnutrición.

Encontramos en los linfocitos de los niños desnutridos una respuesta a la PHA menor en las últimas horas de cultivo (72 y 96 horas), mientras que en los niños eutróficos la respuesta es constante a lo largo del cultivo. Esto indica que los linfocitos de los primeros aunque empiezan a proliferar tempranamente, no mantienen la proliferación en cultivo.

En relación a lo anterior se puede proponer que al provenir de un organismo en el cual las células no cuentan con los nutrientes esenciales para llevar a cabo sus funciones metabólicas normales, y al encontrarse en un medio rico los linfocitos de los desnutridos comienzan a proliferar más tempranamente que los eutróficos.

Los bajos índices de IE observados en los niños con DCP, se pueden relacionar con una inmunosupresión y tener significado clínico y biológico, particularmente en la frecuencia, severidad y duración de la DCP e infecciones.

En los niños recuperados de la DCP la respuesta (IE) es constante a lo largo del cultivo, aunque permanece disminuida con respecto a los testigos.

Después de un periodo de tratamiento de la desnutrición puede ser reestablecida aunque solo sea parcialmente, lo que indica que los niños están recuperando el funcionamiento adecuado de su sistema inmune.

La respuesta inmune celular evaluada en función de las células que responden (IE e IM) de los organismos desnutridos fue disminuyendo conforme al tiempo de cultivo, lo cual parece estar influenciado por diversos factores.

Los efectos de la recuperación de la DCP también fueron evaluados por la frecuencia de ICHs donde se encontró similar en los tres grupos de niños.

El estudio de la proliferación celular mediante la incorporación de BrdU a una concentración de 250 mM y el análisis de células en interfase y división permitieron un mejor estudio de la historia duplicadora de las células en condiciones de cultivo.

Por último habría que considerar un estudio posterior a nivel bioquímico como los receptores a nivel de membrana que podría indicarnos el retraso de la respuesta durante el cultivo, así como el probable factor carente en el suero.

## REFERENCIAS:

Abe, S. (1984). SCE induction by indirect mutagens/carcinogens in metabolically active culture mammalian cell lines. En: *Sister Chromatid Exchanges* (Tice, R.R. y Hollaender, A. eds) Plenum Press, U.S.A. pp. 535-545.

Alcover, A., Milanese, C. y Reinherz, E.L. (1986). Pathways of human T lymphocyte development and activation. *BioEssay*. 4, 259 - 264.

Arakaki, D.T. y Sparkes, R.S. (1963). Microtechnique for culturing leukocytes from whole blood. *Cytogenet.* 2, 57-60.

Armondares, S., Salamanca, F. y Frenk, S. (1971). Chromosomal abnormalities in protein calorie malnutrition. *Nature*. 232, 271-273.

Arrieta, R.M. y Cravioto, J. (1977). Desnutrición calórico-proteica en el niño. En: *Nueva guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente pediátrico* (Rodríguez, M. ed). Hospital del Niño DIF. México. pp. 149-182.

Baserga, R. (1981). The cell cycle. *New Engl. J.Med.* 304, 453-459.

Baserga, R. (1985). The biology of cell reproduction. Harvard University Press, Cambridge. p. 251.

Beatty, D.W. y Dowdle, E.B. (1978). The effects of Kwashiorkor serum on lymphocyte transformation "in vitro". *Clin. Exp. Immunol.* 32, 134-143.

Behrman, R.E, Vaughan, V.C., y Nelson, W.E. (1986). *Tratado de pediatría*. 9a. ed. Ed. Iberoamericana. México. pp. 139-190.

Betancourt, M., De la Roca, J.M., Saenz, M.E., Diaz, R. y Cravioto, J. (1972). Aberraciones cromosómicas en desnutrición protéico-calórica avanzada. Bol. Med. Hosp. Inf. (Méx.) 29, 517-524.

Betancourt, M., Balvanera, P. y Ortiz, R. (1986). Frequency of sister-chromatid exchange (SCE) in bone-marrow cells of severely malnourished animals during early life. Mutat. Res. 175, 29-31.

Bjornesjo, K., Mellander, O. y Jageenburg, R. (1968). The distribution of amino acids between plasma and red cells in protein malnutrition. Calorie deficiencies and protein deficiencies. Ed. J & A Churchill Ltd. London. pp. 135-144.

Campos, C. (1988). Analisis de la cinética celular y frecuencia de intercambios entre cromátidas hermanas en linfocitos de niños con desnutrición calórico protéico severa (DCP). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. México. pp. 51.

Cantrell, D.A. y Smith, K.A. (1983). Transient expression of interleukin 2 receptors. Consequences for T cell growth. J. Exp. Med. 158, 1895-1911.

Castilla, L., Cravioto, A. y Cravioto, J. (1979). Efectos a corto plazo de la interacción estimulación-desnutrición proteico-calórica sobre el desarrollo bioquímico del sistema nervioso central. Gac. Méd. Méx. 115, 225-233.

Chandra, R.K. (1979). T and B lymphocyte subpopulation and leukocyte terminal deoxynucleotidyl transferase malnutrition. Acta Paediat. Scand. 68, 841-845.

Chandra, R.K. (1980). Inmunología de los trastornos nutricionales. El manual moderno. México. pp. 120.

Cravioto, J. (1962). Appraisal of the effect of malnutrition on biochemical maturation. Am. J. Clin. Nutr. 11, 484-492.

Cravioto, J. y Robles, B. (1963). The influence of protein-calorie malnutrition on psychological test behavior. Proc. Swedish Nutrition Foundation. A Symposium on Mild-moderate forms of protein-calorie malnutrition., Bastad and Gothenburgh. pp. 115-126.

Cravioto, J. y Robles, B. (1965). Evolution of adaptative and behavior during rehabilitation from kwasiorkor. Am. J. Orthopsychiat. 35, 364-441.

Cravioto, J. (1970). Complexity of factors involved in protein calorie malnutrition is a problem of ecology. Nutr. Diet. 14, 1-22.

Cravioto, J. (1978). Intersensory development as fuction of age stimulation and antecedent of severe malnutrition, proceedings of malnutrition. Nature. 232, 271-273.

Cravioto, J. y Arrieta, R. (1979). Stimulation and mental development of malnourished infants. Lancet. 899, 67-69.

Crossen, P.E. y Morgan, W.F. (1976). Analysis of human lymphocytes cell cycle time in culture measured by sister chromatid differential staining. Cell. Immunol. 32, 432-436.

Crossen, P.E. y Morgan, W.F. (1977). Proliferation of PHA stimulation lymphocyte measured by combined autoradiography and sister chromatid differential staining. Exp. Cell Res. 118, 423-426.

Darzynkiewicz, Z., Traganos, F., Xue, S-B. y Melamed, M.R. (1981). Effect of n-butyrate on cell cycle progression and in situ chromatin structure of L-1210 cells. Exp. Cell Res. 136, 279-293.

Edwards C.A y Cratbee, G.R. (1989). Molecular regulation of T lymphocyte activation. En : Advances in Regulation of Cell Growth Vol 1. Regulation of Cell Growth and Activation (Mond, J.J., Cambier, J.C. y Weiss, A. eds). Raven Press. Ltd., N.Y. pp. 93-117.

Gentil, A., Renault, G. y Kinsella, A. (1984). Induction of sister chromatid in split-dose and cell-fusion experiments. En: *Sister Chromatid Exchanges* (Tice, R.R. y Hollaender, A. eds) Plenum Press. N.Y. pp. 469-476.

Gómez, F. (1946). Desnutrición. *Bol. Med. Hosp. Inf. (Méx.)*, III, 543.

Graves, J.A.M. (1975). Control of DNA synthesis in somatic cell hybrids. En: *The eukaryotic chromosome* (Peacock, W.J. y Brock, R.D. ed). Australian National University Press, Canberra. pp. 367-379.

Hadden, J.W., Hadden, E.M., Haddock, H.X. y Goldberg, H.D. (1972). Guanosine 3':5'-cyclic monophosphate a possible intracellular mediator of mitogenic influences in lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 69, 3024-3027.

Hansen, J. (1968). Features and treatment of kwashiorkor at the cape. Calorie deficiencies and protein deficiencies. Ed. J & A Churchill Ltd. London. pp. 33-48.

Hernández, V.R. (1967). *Manual de pediatría* 1a. ed. Ed. Prensa Médica. México, pp. 743.

Holman, R.T., Johnson, S.B., Mercuri, O., Itarte, H.J., Rodrigo, M.A. y De Tomas, M.E.. (1981). Essential fatty acid deficiency in malnourished children. *Am. J. Clin. Nutr.* 34, 1534-1539.

Holness, M.J. y Sugden, C.M. (1987). Adaptation of plasma protein synthesis and breakdown to malnutrition. *Biochem. J.* 247, 627-634.

Howard, D. y Pelc, C. R. (1953). Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and irradiated cell and its relation to chromosome breakage. *Heredity* (Suppl.) 6, 261-273.

Jasinska, J., Steffen, J. y Michaelowski, A. (1970). Studies on *in vitro* lymphocyte proliferation in cultures synchronized by inhibition of DNA synthesis. II. Kinetics of initiation of proliferative response. *Exp. Cell Res.* 61, 333-341.

Kaczmarek, L. Calabretta, B., Eifenbein, I.B. y Mercer, E. (1987). Cell cycle analysis of human peripheral blood T lymphocytes in long-term culture. *Exp. Cell Res.* 173, 70-79.

Kato, H. (1980). Evidence that the replication point is the site of sister chromatid exchange. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2, 69-77.

Khouri, F.P. y MacLaren, D.S. (1973). Cytogenetic studies in protein calorie malnutrition. *Am. J. Genet.* 25, 465-470.

Kligerman, A.D., Erexson, G.L. y Wilmer, J.L. (1984). Development of rodent peripheral blood lymphocyte culture systems to detect cytogenetic damage *in vivo*. En: *Sister Chromatid Exchanges* (Tice, R.R. y Hollaender, A. eds) Plenum Press, N.Y. pp. 569-584.

Klein, J.R., Raulat, D.H., Pasternack, M.S. y Bevan, M.J. (1982). Cytotoxic T lymphocytes produce immune interferon in response to antigen or mitogen. *J. Exp. Med.* 155, 1198-1203.

Koster, F.T., Gaffar, A. y Jackson, T.M. (1981). Recovery of cellular immunocompetence during treatment of protein-calorie malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 34, 887-891.

Krishnaswamy, K. (1989). Drug metabolism and pharmacokinetic in malnourished children. *Clin. Pharmacoken.* 17, 68-88.

Kubbies, M., Schindler, D., Hoehn, H. y Rabinovitch, P.S. (1985). Cell cycle kinetics by BrdU- Hoescht flow cytometry: An alternative to the differential metaphase labelling technique. *Cell Tissue. Kinet.* 18, 551 - 562.

Landman, J., Jackson, A., Wheeler, E., Grant, P. y McLeod, J.A. (1981). A catch-up growth chart. *J. Trop.* 27, 47-51.

Latt, S.A. (1973). Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 70, 3395-3399.

Latt, S.A. (1974). Detection of DNA synthesis in interphase nuclei by fluorescence microscopy. *J. Cell Biol.* 62, 546-550.

Latt, S.A., Stetten, G., Juergens, L.A., Buchanan, J.R. y Gerald, P.S. (1975). Induction by alkylating agents of sister chromatid exchanges and chromatid in Fanconi's anemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 72, 4066-4070.

Latt, S.A. (1981). Sister chromatid exchange formation. *Ann. Rev. Genet.* 15, 11-55.

Lerner, R.A. y Dixon F.J. (1973). The human lymphocyte as an experimental animal. *Sci. Am.* 228, 82-91.

Ling, N.R. y Kay, J.E. (1975). *Lymphocyte stimulation*. 2a.ed. North Holland Publ.Co. Amsterdam. pp. 346.

Manocha, (1972). Malnutrition and retarded human development. Publish. C.C. Thomas. N.Y. pp. 350.

Mazia, D. (1974). The cell cycle. *Sci. Am.* 229, 55-64.

McMurray, D.N., Watson, R.R. y Reyes, M.A. (1981). Effect of renutrition on humoral and cell-mediated immunity in severely malnourished children. *Am. J. Clin. Nutr.* 34, 2117-2126.

Millis, A.S.T., Forrest, G.A., Pious, D.A. (1974). Cyclic AMP dependent regulation of mitosis in human lymphoid cells. *Exp. Cell Res.* 83, 335-343.

Mitchinson, J.M. (1971). *The biology of the cell cycle*. Cambridge University Press, Cambridge. p. 313.

- Monckeberg, F. (1968). Adaptation to calorie and protein restriction in infants. Calorie deficiencies and protein deficiencies. Ed. J & A Churchill Ltd. London. pp. 91-108.
- Morgane, P.S., Miller, M., Kempor, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, Hawrylowics, E. y Resnick, O. (1978). The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 21, 137-270.
- Moorhead, P.S., Nowell, P.D., Mellman, W.J., Battips, D.M. y Hungerford, P.S. (1960). Chromosome preparations of leukocytes cultures from peripheral blood. *Exp. Cell Res.* 20, 613-615.
- Moore, D. L., Heyworth, B. Y Brown, J. (1974). PHA-induced lymphocytes transformations in leucocyte cultures from malarious, malnourished and control Gambian children. *Clin. Exp. Immunol.* 17, 647-656.
- Murthy, P.B, Bhaskaram, P. y Srikantia, S. G. (1980). Sister chromatid exchanges in protein-energy malnutrition. *Hum. Genet.* 55, 405-406.
- Murthy, P.B. y Bhaskaram, P. (1981). Unscheduled DNA synthesis in lymphocyte from malnourished children. *Nutr. Rep. Int.* 23, 321-325.
- Murthy, P.B., Rahun, M.A. y Tulpule, P.G. (1982). Lymphocyte proliferation kinetics in malnourished measured by differential chromatid staining. *Brit. J. Nutr.* 42, 445-450
- Mutchinick, O., Lisker, R., Ruz, L., Salamanca, F. y Armendares, S. (1979). Frequency of sister chromatid exchanges in severe protein calorie malnutrition. *Ann. Genet.* 55, 405-406.
- Navarrete, M.H., De la Torre, C. y Schwartzman, J.B. (1978). Compartmentizing the S period. *Cell Biol. Int. Rep.* 2, 607-612.

Ortiz, R., Gómez, J.L., Hernández, M.E., Campos, C. y Betancourt, M. (1987). Tinción diferencial de núcleos de linfocitos humanos dependiente de la incorporación de bromodesoxiuridina (BrdU). MEN Reunión de Informes de Progresos de Investigación Taxco, Gro.

Padilla, G.M. y Whitson, G.L. (1980). Nuclear-cytoplasmic interaction in the cell cycle: An overview. En: Nuclear cytoplasmic interaction in the cell cycle (Whitson, G.L. ed). Academic Press. N.Y. pp. 1-8.

Pardee, A.B. Dubrow, R. Hamling, J. L. y Kletzein, F. (1978). Animal cell cycle. Ann. Rev. Biochem. 47, 715-750.

Perry, P.I. y Wolff, S. (1974). New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. Nature. 251, 156-158.

Pincu, M., Kimme-Smith, C. y Norman, A. (1986). A modified harlequin stain for cell kinetics. Cell Tissue Kinet. 19, 275 - 287.

Pineda, O. (1968). Metabolic adaptation to nutritional stress. Calorie deficiencies and protein deficiencies. (McCance, R.A. and Widdonson, E.W. eds) Ed. J & A Churchill Ltd. London. pp. 75 - 89.

Prescott, D. M. (1976). Reproduction of eukaryotic cells. Academic Press, N.Y. p. 138.

Ramos-Galván, R. (1948). La desnutrición infantil en México sus aspectos estadísticos, clínico, dietético y social. Bol. Med. Hosp. Inf. 804.

Ramos-Galván, R. (1979). Somatometría Pediátrica. Arch. Inv. Med. 6, 1.

Rao, K.F. y Sarma, M, K. (1972). Cellular growth and development in human brain. Proc. Nutr. Soc. Indian. 12, 8.

Rao, P.N. y Adlakha, R.C. (1985). Chromosome condensation and decondensation factors in the life cycle of eukaryotic cell. En: Mediators in cell growth and differentiation (Ford, R.J. and Maizel, A. eds.) Raven Press, N.Y. pp. 45-69.

Reddy, G.P.V. y Pardee, A.B. (1980). Multienzyme complex for metabolic channelling in mammalian DNA replication. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 77, 3312-3316.

Roldan, R.E. y Altamirano, M.A. (1990). Chromosomal aberrations sister chromatid exchanges, cell-cycle kinetics and satellite associations in human lymphocytes cultures exposed to vanadium pentoxide. Mutat. Res. 245, 61-65.

Snedecor, G.W. y Cochran, W.G. (1981). Métodos Estadísticos. Ed. Continental. México. p. 703.

Sugden, M.C., Holness, M.J. y Palmer, T.N. (1989). Fuel selection and carbon fluxes during the starved-to-fed transition. Biochem. J. 263, 313-323.

Taylor, J.H. Woods, P.S. y Hughes, W.L. (1957). The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium- labeled thymidine. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 43, 122-128.

Tice, R.R., Chaillet, J. y Schneider, E.L. (1975). Evidence derived from sister chromatid exchanges of restricted rejoining of chromatid subunits. Nature. 256, 642-643.

Tice, R.R., Scheneider, E.L. y Rary, J.M. (1976). The utilization of bromodeoxiuridine incorporation into DNA for the analysis of cellular kinetics. Exp. Cell. Res. 102, 232-236.

- Todorov, I.T., Philipova, P.N., Zhelev, N.Z. y Hadjiolov, A.A. (1988). Changes in a nuclear antigen during the cell cycle: interphase and mitotic cells. *Biol. Cell.* 62, 105-110.
- Vega-Franco, L. (1972). Tratamiento integral de la desnutrición en el niño. *Cuadernos de la Desnutrición.* 4, 41-54.
- Waterlow, J.C. y Alleinge, G.A.O. (1971). Protein malnutrition in children advances in knowledge in the last ten years. *Adv. Prot. Chem.* 25, 177-241.
- Waterlow, J. C. (1968). The adaptation of protein metabolism to low protein intakes. Calorie deficiencies and protein deficiencies. (McCance, R.A. and Widdowson, E.M. eds). J & A Churchill Ltd. London. pp. 61-73.
- Watson, R.R., McMurray, D.N., Martin, P. y Reyes, M.A. (1985). Effect of age, malnutrition and renutrition on free secretory component and IgA in secretions. *Am. J. Clin. Nutr.* 42, 281-288.
- Whitehead, R. (1968). Biochemical changes in Kwashiorkor and Marasmus. Calorie deficiencies and protein deficiencies (McCance, R.A. and Widdowson, E.M. eds). Ed. J & A Churchill Ltd. London. pp. 109-118.
- Winick, M. y Rosso, P. (1969). Head circumference and cellular growth of the brain in normal and marasmus children. *J. Pediat.* 74, 773.
- Winick, M., Rosso, P. y Waterlow, S. (1970). Malnutrition and brain development neurochemical changes. *Exptl. Neurol.* 26, 393.
- Wolff, S. (1977). Sister chromatid exchange. *Ann. Rev. Genet.* 11, 183-201.

**TABLA 1. CARACTERISTICAS DE LOS NIÑOS EUTROFICOS.**

<b>Niño</b>	<b>Sexo</b>	<b>Edad (meses)</b>	<b>Peso (Kg)</b>
1	M	6	6.9
2	F	11	10.0
3	F	15	9.4
4	M	18	12.0
5	F	19	12.0
6	M	24	11.0
7	M	32	16.3
8	M	33	16.8
9	F	33	15.1
10	F	33	15.5

F = Femenino  
M = Masculino

Muestras de sangre donadas por el  
Hospital Infantil (Iztacalco).

TABLA 2. CARACTERISTICAS DE LOS NIÑOS  
DESNUTRIDOS.

Niño	Sexo	Edad (meses)	Talla (cm)	Peso (Kg)	Deficit (%)	Diagnostico
1	M	5	62	4.6	51	Marasmo
2	M	6	50	3.5	55	Marasmo
3	M	7	63	4.0	49	Marasmo
4	M	7	60	3.9	52	Marasmo
5	F	8	62	4.4	46	Marasmo
6	M	8	65	6.8	21	Kwashiorkor
7	F	9	59	3.5	62	Marasmo
8	M	18	59	3.5	62	Marasmo
9	M	11	66	5.4	44	Marasmo
10	M	12	65	6.7	34	Kwashiorkor
11	M	13	65	6.7	34	Marasmo
12	M	17	69	5.5	47	Marasmo
13	M	21	62	3.9	68	Marasmo
14	F	22	22	5.2	60	Marasmo

F = femenino

M = masculino

Muestras de sangre donadas por el Centro Infantil de  
Recuperación Nutricional Cruz Blanca A.C. (Coyoacán).

**TABLA 3. CARACTERISTICAS DE LOS NIÑOS  
EN RECUPERACION NUTRICIONAL.**

<b>Niño</b>	<b>Edad (meses)</b>	<b>Talla (cm)</b>	<b>Peso (Kg)</b>	<b>Déficit (%)</b>
1	11	68	7.5	11
2	11	67	8.2	2
3	11	73	7.6	10
4	13	71	8.4	25
5	16	67	8.1	32
6	17	66	6.8	32
7	17	69	8.3	20
8	18	69	8.6	14
9	27	75	8.6	23

Muestras de sangre donadas por el Centro Infantil de  
Recuperación Nutricional Cruz Blanca A.C. (Coyoacán).

**TABLA 4. PORCENTAJE DE METAFASES EN PRIMERO, SEGUNDO, TERCER CICLO DE DUPLICACION E INDICE DE REPLICACION EN CULTIVO DE LINFOCITOS DE NIÑOS EUTROFICOS, DESNUTRIDOS Y RECUPERADOS.**

	Ciclos de duplicación			
	Primero	Segundo	Tercero	IR
48 hs	$\bar{X} \pm E.S.$			
Eutróficos	67 $\pm$ 7	28 $\pm$ 2	4 $\pm$ 1	1.3 $\pm$ 0.1
Desnutridos	32 $\pm$ 3	60 $\pm$ 5 *	8 $\pm$ 2	1.6 $\pm$ 0.22 **
Recuperados	66 $\pm$ 6	34 $\pm$ 6	1 $\pm$ 1	1.3 $\pm$ 0.2
72 hs				
Eutróficos	4 $\pm$ 2	16 $\pm$ 3	80 $\pm$ 4	2.7 $\pm$ 0.3
Desnutridos	3 $\pm$ 1	22 $\pm$ 2	75 $\pm$ 5	2.7 $\pm$ 0.5
Recuperados	10 $\pm$ 2	38 $\pm$ 7	52 $\pm$ 8	2.4 $\pm$ 0.3
96 hs				
Eutróficos	0.3 $\pm$ 0.2	13 $\pm$ 0.3	87 $\pm$ 3	2.9 $\pm$ 0.05
Desnutridos	0.8 $\pm$ 0.3	11 $\pm$ 2	89 $\pm$ 3	2.8 $\pm$ 0.1
Recuperados	2.0 $\pm$ 1	21 $\pm$ 2	77 $\pm$ 3	2.7 $\pm$ 0.15

2

\*  $X = 40.8$  gl = 2 p < 0.001 (Metafases)

\*\* t = 4 gl = 11 p &lt; 0.01 (Indice de Replicación)

TABLA 5. PROMEDIO DE NUCLEOS INTERFASICOS EN CULTIVO DE LINFOCITOS DE NIÑOS EUTROFICOS, DESNUTRIDOS Y EN RECUPERACION NUTRICIONAL.

	TIPOS DE NUCLEOS		
	R	M	A
<b>Eutróficos (n=9)</b>	X	$\bar{x}$	ES
Horas de cultivo			
48	305 $\pm$ 26	610 $\pm$ 23	85 $\pm$ 13
72	234 $\pm$ 26	697 $\pm$ 31	69 $\pm$ 9
96	211 $\pm$ 23	757 $\pm$ 19	32 $\pm$ 8
<b>Desnutridos (n=14)</b>			
48	392 $\pm$ 45	578 $\pm$ 42	30 $\pm$ 7*
72	332 $\pm$ 32**	620 $\pm$ 31	48 $\pm$ 7***
96	388 $\pm$ 29+	601 $\pm$ 30++	11 $\pm$ 3
<b>Recuperación de la desnutrición (n=8)</b>			
48	421 $\pm$ 45	544 $\pm$ 45	35 $\pm$ 9
72	364 $\pm$ 45	614 $\pm$ 43	22 $\pm$ 11
96	319 $\pm$ 29	657 $\pm$ 34	24 $\pm$ 10

R= Rojo

M= Moteado

A= Azul

\* t= 4.4 gl = 21 < 0.001

\*\* t= 1.8 gl = 21 < 0.05

\*\*\* t= 2.9 gl = 21 < 0.005

+ t= 3.4 gl = 20 < 0.005

++ t= 3.7 gl = 20 < 0.001

**TABLA 6. INDICE DE ESTIMULACION (%) EN CULTIVO DE LINFOCITOS DE NIÑOS EUTROFICOS, DESNUTRIDOS Y EN RECUPERACION DE LA DESNUTRICION.**

EUTROFICOS			DESNUTRIDOS			RECUPERACION DE LA DESNUTRICION.		
HORAS DE CULTIVO								
48	72	96	48	72	96	48	72	96
--	47	75	48	44	37	--	69	45
61	45	58	78	66	46	--	48	44
35	39	44	35	32	22	39	32	31
52	73	75	50	40	42			
77	56	--	42	36	21			
51	42	46	35	31	38	43	24	--
62	65	60	53	21	23			
68	66	63	--	46	34	41	44	61
41	44	61	51	43	32			
79	45	--	68	59	65			
			65	48	29	56	51	59
			37	31	37			
			36	24	25	41	37	34
			48	44	33			
						54	37	30

TABLA 7. INDICE DE ESTIMULACION PROMEDIO EN LINFOCITOS DE NIÑOS EUTROFICOS Y DESNUTRIDOS EN RECUPERACION DE LA DESNUTRICION.

Cultivo	NIÑOS		
	EUTROFICOS	DESNUTRIDOS	RECUPERACION DE LA DESNUTRICION
	$\bar{X}$	E.S.	
48 hrs	58 ± 5.0		44 ± 3.6
72 hrs	52 ± 3.8		41 ± 3.3*
96 hrs	60 ± 3.9		43 ± 5.9
			32 ± 3.3**
			43 ± 5.3***

\* t = 2.32 gl=22 p< 0.025

\*\* t = 5.1 gl=20 p< 0.001

\*\*\* t = 2.7 gl=16 p< 0.01

TABLA 8. INDICE MITOTICO (%) EN CULTIVO DE LINFOCITOS  
 NIÑOS EUTROFICOS Y DESNUTRIDOS Y EN RECUPERACION  
 DE LA DESNUTRICION.

EUTROFICOS			DESNUTRIDOS			RECUPERACION DE LA DESNUTRICION.		
HORAS DE CULTIVO								
48	72	96	48	72	96	48	72	96
---	1.6	1.6	1.0	1.0	0.7	---	1.1	0.9
1.0	2.1	1.1	1.6	1.4	0.8	0.8	0.2	0.5
0.8	1.4	1.5	2.0	1.7	0.3	1.0	1.0	1.9
1.1	1.0	0.6	1.6	1.5	0.8	1.5	1.5	1.8
1.2	1.6	---	0.8	0.5	0.0	1.7	1.1	1.1
0.9	0.8	0.9	1.4	1.1	1.0	1.1	0.8	1.4
0.8	1.4	1.4	0.7	0.6	0.6	0.8	0.4	1.4
2.2	1.8	1.8	---	1.4	0.6	0.8	1.4	1.4
1.0	1.0	1.9	0.7	0.9	0.3			
0.8	0.8	---	0.9	0.9	1.0			
			1.8	0.6	0.2			
			1.0	0.9	0.6			
			2.7	0.5	0.4			
			2.3	1.0	0.4			

**TABLA 9. INDICE MITOTICO PROMEDIO EN LINFOCITOS DE NIÑOS EUTROFICOS, DESNUTRIDOS Y NIÑOS EN RECUPERACION DE LA DESNUTRICION.**

Cultivo	NIÑOS		
	EUTROFICOS	DESNUTRIDOS	RECUPERACION DE LA DESNUTRICION
	X	ES	
48 hrs	1.1 ± 0.14	1.4 ± 0.2	1.1 ± 0.15
72 hrs	1.4 ± 0.13	1.0 ± 0.8	0.9 ± 0.18
96 hrs	1.4 ± 0.19	0.6 ± 0.08*	1.2 ± 0.5

$t = 5.03$   $gl = 13$   $p < 0.001$

**TABLA 10. FRECUENCIA DE INTERCAMBIOS ENTRE CROMATIDAS HERMANAS (ICH) A LAS 48 HORAS DE CULTIVO EN LINFOCITOS DE NIÑOS EUTROFICOS, DESNUTRIDOS Y EN RECUPERACION DE LA DESNUTRICION.**

Eutróficos			N I Ñ O S Desnutridos			En recuperación			
$\bar{X}$	$\pm$	E.S.	$\bar{X}$	$\pm$	E.S.	$\bar{X}$	$\pm$	E.S.	
3.0	$\pm$	0.3	4.5	$\pm$	0.3	3.6	$\pm$	0.3	
3.5	$\pm$	0.4	4.8	$\pm$	0.3	5.0	$\pm$	0.4	
4.1	$\pm$	0.4	4.9	$\pm$	0.4	5.6	$\pm$	0.5	
4.5	$\pm$	0.5	5.9	$\pm$	0.5	5.9	$\pm$	0.5	
4.7	$\pm$	0.6	6.7	$\pm$	0.5				
4.9	$\pm$	0.4	6.7	$\pm$	0.5				
4.9	$\pm$	0.6	6.9	$\pm$	0.6				
5.1	$\pm$	0.5	8.1	$\pm$	0.7				
$\bar{X} =$	4.3	$\pm$	0.6	6.0	$\pm$	0.5	5.0	$\pm$	0.4

TABLA 11. DISTRIBUCION DE ICH/CELULA EN LINFOCITOS DE NIÑOS EUTROFICOS, DESNUTRIDOS Y EN RECUPERACION DE LA DESNUTRICION.

N I Ñ O S						
Eutróficos			Desnutridos		Recuperados	
No. de ICH/cel.	No.	%	No.	%	No.	%
0 - 1	17	10.8	2	1.2	4	4.4
2 - 3	48	30.6	23	14.2	17	18.7
4 - 5	45	28.7	57	35.2	36	39.5
6 - 7	33	21.0	40	24.7	22	24.2
8 - 9	8	5.1	23	14.2	10	11.0
10 - 11	5	3.2	9	5.6	0	0
12 - 13	1	0.6	6	3.7	2	2.2
14 - 15	0	0	2	1.2	0	0



figura 1. Niño con características clínicas  
del síndrome de DCP tipo Marasmo.



*Figura 2. Niño con características clínicas del síndrome de DCP tipo Kwashiorkor.*



Figura 3. Niño de tipo marasmo y el mismo niño recuperado de la DCP.



Figura 4. Curva de crecimiento en peso de niños y niñas en recuperación de la DCP.

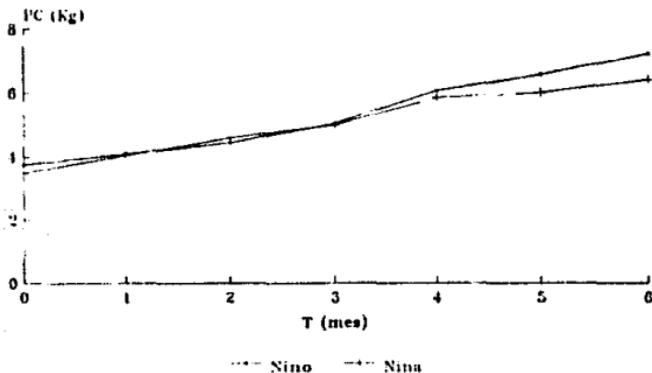


Figura 5. Curva de crecimiento en talla de niños y niñas en recuperación de la DCP.

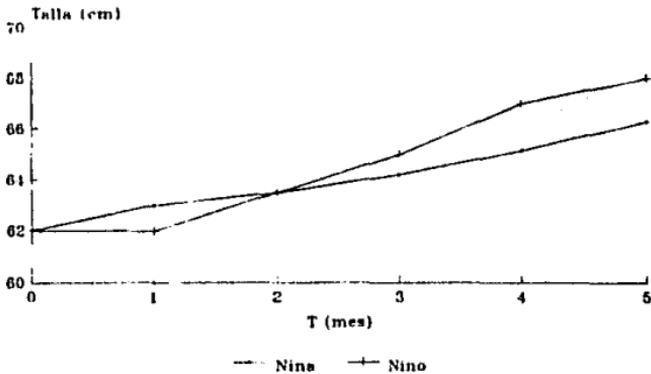




Figura 6. Mitosis de primer ciclo

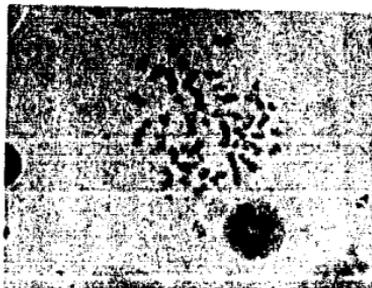


Figura 7. Mitosis de segundo ciclo.

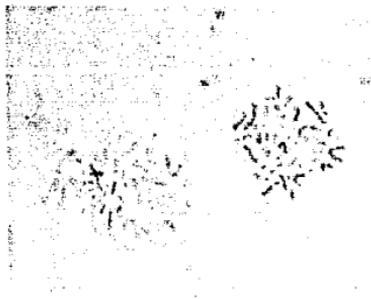


Figura 8. Mitosis de tercer ciclo.

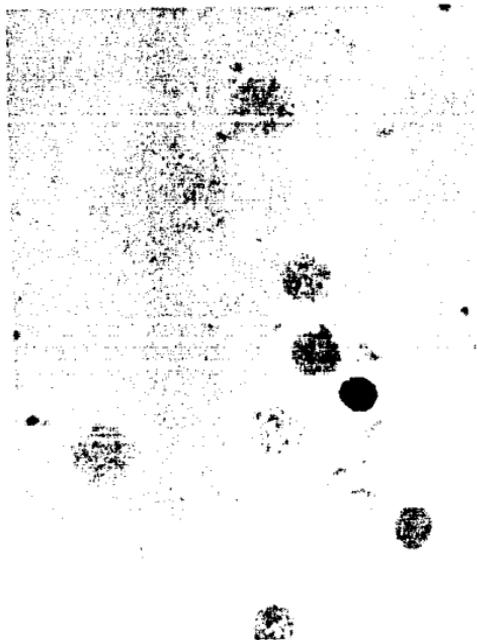


Figura 9. Nucleos interfasicos

Figura 10. Distribucion de ICH/celula en linfocitos de ninos eutroficos y ninos con DCP.

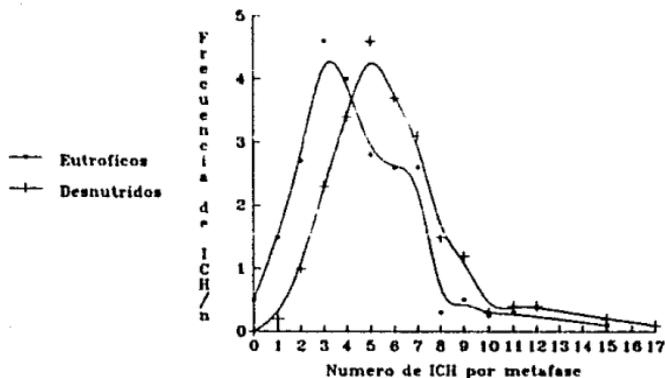


Figura 11. Frecuencia acumulativa de intercambios de cromatidas hermanas en linfocitos de ninos con DCP.

