



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"IZTACALA"

"PROLIFERACION CELULAR E INTERCAMBIO DE
CROMATIDES HERMANAS DE NIÑOS DESNUTRIDOS"

TESIS PROFESIONAL QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIOLOGO

PRESENTA

MARIA CRISTINA GONZALEZ TORRES

Los Reyes Iztacala, Febrero 1984.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ESTE TRABAJO SE REALIZO EN EL
LABORATORIO DE BIOLOGIA CELULAR
DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE
LA SALUD, DE LA UNIVERSIDAD AU-
TONOMA METROPOLITANA — UNIDAD
IZTAPALAPA, BAJO LA DIRECCION
DEL DR. MIGUEL BETANCOURT RULE.

PARTE DE ESTA TESIS FUE PATROCINADA
CON EL SUBSIDIO PCALXNA 000902 DEL
CONACyT, ASIGNADO AL PROYECTO
"EFECTOS A NIVEL CELULAR DE LA
DESNUTRICION".

— CARINOSAMENTE, A MIS PADRES;

EVELIA Y FRANCISCO.

A MIS HERMANOS;

MARIA EUGENIA, FRANCISCO,

MARTIN, MARIA DE LA PAZ Y

MARIA DEL CARMEN.

GRACIAS POR TANTOS BUENOS

MOMENTOS QUE HEMOS COMPARTIDO.

— A RAMON;

CON TODO MI AMOR.

— A MIS PROFESORES, MUY ESPECIAL-
MENTE A:

FIS. ELIAS ANZARUT CHAINE

Q.B.P. YOLANDA ISABEL BERISTAIN

BIOL. ENRIQUE GODINEZ CANO

M. EN C. HECTOR BARRERA ESCORCIA

BIOL. ANTONIO MEYRAN CAMACHO

BIOL. NORMA NAVARRETE

BIOL. ENRIQUE KATO MIRANDA

BIOL. GUSTAVO DE LA CRUZ A.

BIOL. FAUSTINO NAVARRO SANTOS

— A IRMA Y FAUS.

— A GABY, SUSANA, TERE, LUCY,
ISABEL, EDITH, DORA, HUGO,
CRIS, MIGUEL Y ADOLFO; MIS
MEJORES AMIGOS.

— AFECTUOSAMENTE, AL DR. MIGUEL
BETANCOURT RULE, POR LA PACIENU
CIA QUE HA TENIDO CONMIGO Y EL
GRAN APOYO QUE ME HA BRINDADO.

I N D I C E

	Página
INTRODUCCION	1
METODOLOGIA	15
a) Técnica de Cultivo.	15
b) 5-Bromo-2'Deoxiuridina.	16
c) Cosecha.	16
d) Preparaciones.	17
e) Tinción Diferencial.	17
f) Revisión de las Preparaciones.	18
g) Análisis Estadístico.	18
RESULTADOS	19
I Características de los Niños.	19
II Cinética de Proliferación.	19
III Intercambio de Cromátides Hermanas.	22
DISCUSION	22
CONCLUSIONES	25
CUADROS	27
GRAFICAS	34
LITERATURA CITADA	44

I N T R O D U C C I O N

La desnutrición proteico-calórica, es uno de los problemas más serios que afronta actualmente la humanidad; presentándose con mayor incidencia en los países subdesarrollados, en los que constituye una de las principales causas de la elevada tasa de mortalidad infantil (Read, 1977).

La desnutrición puede ser definida como un estado de desequilibrio en el que un organismo requiere una mayor cantidad de nutrientes de los que recibe; las causas de la misma pueden ser divididas en dos categorías: Primarias y Secundarias.

Dentro de las causas primarias de la desnutrición se encuentran aquellas que conducen a una deficiente alimentación (en calidad, o cantidad, o en ambas), tales como pobreza e ignorancia, ésta última se relaciona directamente con la adquisición de malos hábitos alimenticios. Las causas secundarias de la desnutrición abarcan defectos a nivel metabólico que provocan excreción excesiva o absorción reducida de nutrientes (Gómez et al., 1956). En el Cuadro I, se muestran las diferentes causas de desnutrición que abarcan ambas categorías. De lo anterior, se puede deducir, que el estado nutricional de una población va a ser definido, básicamente por la interacción de diversos factores de tipo social, cultural y económico.

En estudios nutricionales, se han delimitado tres grados de desnutrición, con las siguientes características:

DESUTRICION DE PRIMER GRADO

Desnutrición moderada o que ha actuado por poco tiempo. El individuo tiene un déficit de peso corporal del 10 al 24% del promedio correspondiente para la edad.

Incremento en las necesidades dietéticas (variación individual):
Crecimiento, enfermedad, embarazo, lactancia.

Anorexia

Pobreza

DES N U T R I C I O N

Ignorancia

Defectos congénitos: Errores metabólicos, defectos gastrointestinales.

CUADRO I. CAUSAS DE LA DESNUTRICION

DESNUTRICION DE
SEGUNDO GRADO

Desnutrición más marcada que la anterior. Déficit de peso del 25 al 39% del promedio correspondiente para la edad, frecuentemente requiere hospitalización.

DESNUTRICION DE
TERCER GRADO
(O SEVERA)

Las reservas nutricionales del organismo en este punto están prácticamente agotadas, el déficit de peso, es de más del 40% del promedio correspondiente para la edad. Se producen serios cambios a nivel somático y funcional e inclusive psicológicos; requiere hospitalización y la tasa de mortalidad para éstos, es mucho más elevada que para las dos categorías anteriores.

(Gómez et al., 1956).

De ésta última, se conocen dos formas bien caracterizadas: el Marasmo y el Kwashiorkor (llamado por algunos autores, Síndrome Pluricarencial de la Infancia) (Behar & Icaza, 1972; Jelliffe, 1981).

El tipo Marasmo, se debe fundamentalmente a una dieta baja, tanto en contenido proteico, como en calorías, se presenta comúnmente durante el primer año de vida (Marasmo incipiente), aun cuando llega a darse incluso en la edad adulta (Marasmo tardío) a causa del hambre (Jelliffe, 1981).

El Kwashiorkor, palabra de origen africano que significa "enfermedad que aparece cuando se reemplaza a un niño por otro en el pecho materno", es producido por una dieta muy baja en proteínas, pero rica en carbohidratos. Usualmente se presenta entre el primer y tercer año de vida del niño (Jelliffe, 1981).

Entre estos dos casos extremos, se presentan situaciones de desnutrición mixta, en las que se observan deficiencias de proteínas y calorías en diversas proporciones. La deficiencia proteica, es común a todos los casos y puede ser más severa en el Marasmo (Ramalingaswami & Deo, 1968).

A continuación se enlistan comparativamente los signos característicos del Marasmo y del Kwashiorkor (tomado de Manocha, 1972):

KWASHIORKOR

- Desencadenamiento rápido del cuadro (entre dos y cuatro semanas, después de un ataque de diarrea).
- Desgaste muscular poco evidente. Edema presente.
- Cara de "luna llena".
- Puede no reflejarse un déficit en el peso por causa del edema, pero el niño es pequeño para su edad.
- Pueden presentarse o no manchas oscuras y descamación de la piel.
- Cambios prominentes en la textura, color, fuerza y resistencia del cabello.
- Usualmente el enfermo es apático de aspecto anoréxico, desinteresado de su medio ambiente y su irritabilidad es acentuada.

MARASMO .

- El inicio del Marasmo es incidioso. La duración del mal es más larga que en el Kwashiorkor.
- Gran desgaste muscular, con pérdida hasta del 40% del peso normal.
- Cara delgada de la que sobresalen los huesos.
- Falta de crecimiento patente, miembros delgados. Mejor apetito que en el Kwashiorkor.
- Generalmente sin cambios apreciables en la piel.
- Sin cambios importantes en el cabello, se puede notar un poco delgado.
- Enfermos poco alertas que muestran apariencia aburrida. Son desinteresados e irritables.

KWASHIORKOR

- Presentan gran retención de agua, pérdida de potasio y retención de sodio. El sodio reemplaza parcialmente al potasio intracelular.
- Diarrea presente y falta de digestión.
- Generalmente presentan anemia, tanto por falta de proteínas necesarias para la síntesis de células sanguíneas, como por deficiencia de hierro.
- Reducción general de las proteínas plasmáticas, sobre todo de albúmina.
- Hígado agrandado y graso.
- Transporte de lípidos en la sangre defectuoso. Nivel de vitaminas liposolubles bajo.
- Los tejidos con un recambio rápido de proteínas, son los más afectados. Los niveles de aminoácidos libres en plasma, son reducidos.
- Niveles de vitaminas, hierro y cobre bajos.

MARASMO

- Pérdida de sodio, especialmente cuando hay complicaciones con diarrea.
- Diarrea pocas veces presente.
- Presentan ambos tipos de anemia.
- Disminución en las proteínas plasmáticas no tan notable como en el Kwashiorkor.
- Sin agrandamiento del hígado, ni síndrome de hígado graso.
- El transporte es normal, pero está menos afectado que en el Kwashiorkor.
- Mayor cantidad de aminoácidos libres en el plasma que en el Kwashiorkor.
- Las reservas de vitaminas y minerales descienden gradualmente.

En la Fig. 1, se presenta un esquema que muestra las características físicas de las dos formas de desnutrición proteico-calórica severa, Kwashiorkor y Marasmo (tomado de Jelliffe, 1981).

Algunos autores consideran que en el Kwashiorkor, la única característica mundialmente presente es el edema, el déficit de peso

se observa sólo en las primeras etapas de recuperación de la desnutrición cuando el edema comienza a desaparecer (Welcome Trust, 1970).

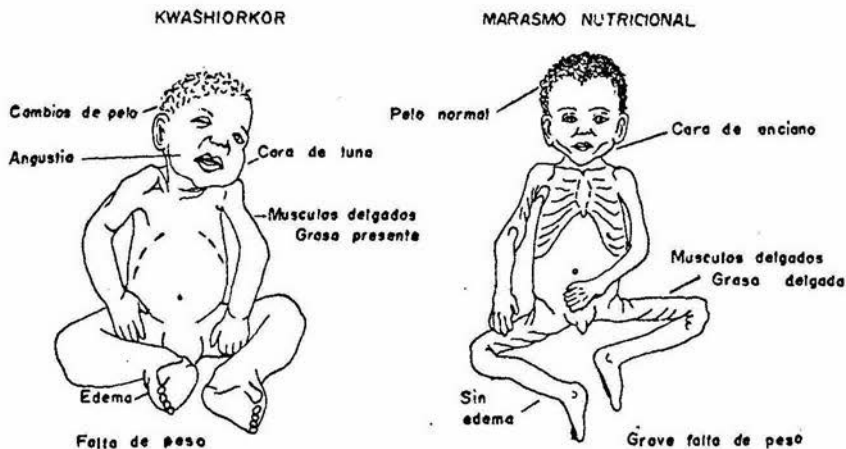


Fig. I. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS FORMAS DE DESNUTRICIÓN PROTEICO-CALÓRICA SEVERA (JELLIFFE, 1981)

Buena parte de los estudios sobre desnutrición se han enfocado a los dos tipos de desnutrición proteico-calórica de tercer grado, ya que se tienen evidencias de que al presentarse durante el período crítico del desarrollo del cerebro, que en el humano corresponde a los últimos cuatro meses de vida prenatal y los siguientes seis de vida postnatal, pueden producir daños en el proceso de maduración y desarrollo del sistema nervioso; la magnitud de los daños dependerá de la severidad del caso y del tiempo que se encuentre el individuo expuesto a la desnutrición.

Diversas investigaciones indican que niños que han presentado cuadros de desnutrición severa durante las primeras etapas de su vida, se encuentran en sus capacidades intelectual, fisiológica y neuromuscular, por debajo de los bien nutridos (eutróficos) en un 10 á 25% (Manocha, 1972).

La desnutrición afecta el desarrollo bioquímico del sistema nervioso central, actúa sobre el tamaño del encéfalo y sus partes constituyentes, disminuyendo la celularidad y cambiando las proporciones celulares que existen normalmente en las diferentes regiones del cerebro (Castilla et al., 1979).

Se ha encontrado en ratas, que la desnutrición prenatal afecta el crecimiento del cerebro y algunos de sus efectos pueden ser reversibles siempre y cuando se mejore la calidad nutricional de la alimentación. Sin embargo, si la desnutrición se mantiene durante el período crítico del crecimiento del cerebro pueden quedar secuelas permanentes; en ratas recién nacidas y adultas a las que se indujo desnutrición prenatal, se observó que poseían un cerebro ligeramente más pequeño y una reducción poco considerable del número de neuronas en comparación con las bien nutridas, pero acompañando a esta anormalidad, se encontraron niveles de neurotransmisores sumamente elevados, lo que puede considerarse como una vía de salvación desarrollada en los organismos para compensar la reducción del número de neuronas (Morgane et al., 1978). En ratas también se ha observado que la desnutrición durante la lactancia reduce severamente el crecimiento corporal, mientras que su efecto sobre el crecimiento del cerebro es considerablemente menor (Forbes et al., 1977).

En el aspecto inmunológico, la respuesta mediada por células en los organismos con desnutrición proteico-calórica, se halla considerablemente dañada. Las cuentas totales de linfocitos están disminuidas y muy especialmente la proporción y números absolutos de linfocitos T. Frecuentemente en casos de desnutrición severa o crónica, el sistema de complemento y la función

fagocítica, también están reducidos. La respuesta inmunológica humoral está menos afectada, excepto para la inmunoglobulina A (Chandra, 1980; Sheffy & Williams, 1982). Por esto, mundialmente se considera a la desnutrición como la causa más frecuente de inmunodeficiencia. Aquí es conveniente señalar el papel preponderante que tienen las infecciones en el desencadenamiento de los casos de desnutrición de tercer grado, la infección por sí misma tiende a agotar la energía metabólica del organismo y de esta forma individuos con desnutrición de segundo grado pueden pasar rápidamente a ser casos severos, con alto riesgo de mortalidad. En la Fig. 2, se muestra la interacción entre nutrición, inmunidad e infección; la nutrición deficiente altera las respuestas inmunitarias y está asociada con una mayor prevalencia y gravedad de las infecciones (Chandra, 1980).

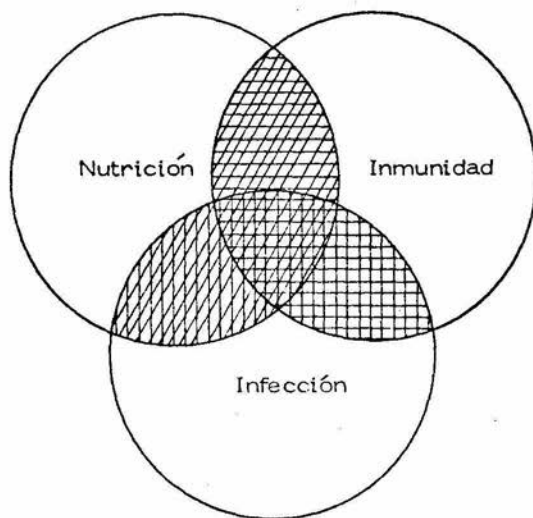


Fig. 2. INTERACCIONES DE LA NUTRICION, LA INMUNIDAD Y LA INFECCION (CHANDRA, 1980)

A nivel celular, se ha visto que la desnutrición proteico-calórica, prolonga la duración del ciclo de proliferación de las mismas, afecta principalmente a las fases G₂ y S; la fase G₂, es más sensible a la deficiencia de calorías y la fase S, más sensible a la carencia de proteínas (Deo et al., 1975). La desnutrición en las etapas tempranas de la vida, impide la división celular y este efecto, es irreversible; sin embargo, la desnutrición en estados juveniles o adultos provoca la reducción del tamaño celular, del que el organismo puede recuperarse — (Winick & Noble, 1966).

Genéticamente, la desnutrición proteico-calórica severa, provoca aberraciones cromosómicas en frecuencia altamente significativa a nivel estadístico (Armendares et al., 1971; Betancourt et al., 1972; Gupta et al., 1977); aunque existen datos contradictorios que no muestran diferencia en cuanto a la frecuencia de aberraciones cromosómicas de organismos desnutridos, comparada con la de organismos bien nutridos (Thorburn et al., 1972).

La gravedad del problema de la desnutrición, se refleja, no sólo en la sintomatología de los organismos que la padecen, sino también en el hecho de su prevalencia tan alta a nivel mundial. Datos de 1976, muestran que del 2 al 3% de la población infantil del mundo, sufren de desnutrición proteico-calórica de tercer grado y que alrededor del 50%, sufren de los dos grados de desnutrición más leves (Read, 1976). En otros cálculos más recientes, la Organización Mundial de la Salud, reporta que 100 millones de niños menores de cinco años de edad sufren desnutrición, que va de moderada a grave (Chandra, 1980).

Actualmente, sobreviven a la desnutrición proteico-calórica severa, más niños de los que fallecen. En 1952, la mortalidad de niños desnutridos en el mundo era de aproximadamente el 30% de los que recibían atención médica y de 1962 a 1964, bajó a menos del 5% (Cravioto et al., 1966). Esta importante reducción en la tasa de mortalidad de los niños desnutridos, es lo que ha

provocado el que se halla enfocado, tanto la atención hacia los efectos producidos por la misma.

Así, en base a lo anteriormente expuesto, el presente trabajo tiene como objetivo, contribuir al conocimiento de los efectos de la desnutrición a nivel celular mediante el estudio, in vitro, de la cinética de proliferación de linfocitos de niños con desnutrición proteico-calórica severa y el análisis de la frecuencia de intercambio de cromátides hermanas en los mismos. Para tal efecto, se utilizó la técnica de tinción diferencial en cromosomas, de la que se dan a continuación los fundamentos.

La técnica de tinción diferencial de cromátides hermanas, se basa en el conocimiento de la duplicación semiconservativa del ácido desoxirribonucléico (ADN), del modelo propuesto por Watson y Crick en 1953 y en la utilización de la 5-Bromo-2'-deoxiuridina (BrdU). La BrdU es un nucleósido halogenado análogo de la timina, que se incorpora fácilmente a las cadenas de ADN en formación (Latt, 1981).

La incorporación continua de BrdU al ADN y la utilización de técnicas de tinción especiales (Zakharov & Egolina, 1972; Perry & Wolff, 1974; Korenberg & Freedlender, 1974; Dutrillaux et al., 1974) han permitido la obtención de metafases en las que los cromosomas presentan cromátides hermanas teñidas diferencialmente, mediante lo que se ha logrado la identificación inequívoca de metafases de células que han pasado por uno, dos, tres o más ciclos de replicación. La identificación de a qué ciclo de replicación pertenecen las metafases, se hace en base a la colocación de los cromosomas: después de un ciclo de replicación en presencia de la BrdU, los cromosomas en metafase poseen ADN unifilarmente substituido con BrdU y se tiñen uniformemente con Giemsa; los cromosomas metafásicos en segundo ciclo de replicación presentan una cromátide con ADN unifilarmente substituida y la cromátide hermana, bi-filarmente substituida con BrdU. Las cromátides que contienen ADN bi-filarmente substituido se tiñen menos intensamente con Giemsa obteniéndose así tinción diferen-

cial entre las cromátides, Las metafases en tercer ciclo contienen cromosomas con ADN uni- y bi-filarmente substituido y algunos cromosomas sólo bi-filarmente substituidos (Tice, 1976). En las Figs. 3, 4 y 5 se ilustra el patrón de coloración de metafases de células que han pasado por uno, dos y tres ciclos de replicación respectivamente.

La alta calidad de diferenciación que ofrece la técnica y la relativa facilidad para obtenerla, la han convertido en una herramienta importante en investigación. Se le ha utilizado en estudios de cinética de proliferación celular de linfocitos humanos.



Fig. 3. METAFASE EN PRIMER CICLO DE REPLICACION, LOS CROMOSOMAS SE VEN TEÑIDOS UNIFORMEMENTE

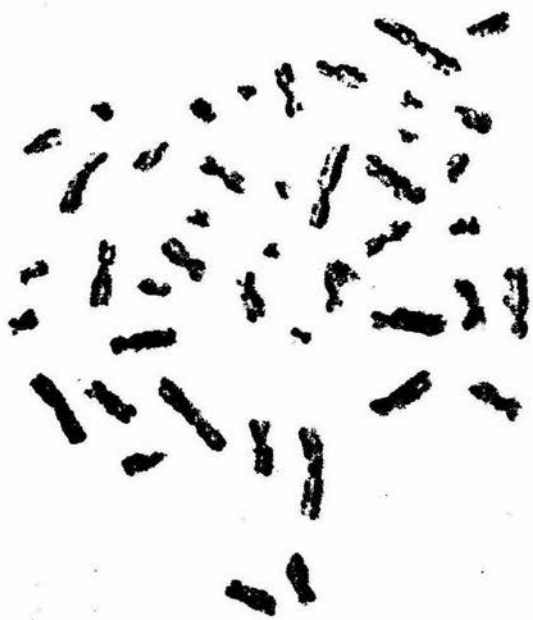


FIG. 4. METAFASE EN SEGUNDO CICLO DE REPLICACION, TODOS LOS CROMOSOMAS POSEEN UNA CROMATIDE CLARA Y LA OTRA OBSCURA



FIG. 5. METAFASE EN TERCER CICLO DE REPLICACION, SE OBSERVAN ALGUNOS CROMOSOMAS TOTALMENTE CLAROS Y OTROS CON UNA CROMATIDE CLARA Y LA OTRA OSCURA

de individuos normales (Tice et al., 1976; Crossen & Morgan, 1977), de individuos con síndromes: Down, cri-du-chat y Turner (Frías & Carnevale, 1983) y de individuos con desnutrición proteico-calórica, tipo Kwashiorkor (Murthy et al., 1982). De la misma manera, se le ha utilizado en la detección de intercambios de cromátides hermanas (I.C.H.). Los que se definen como intercambios entre moléculas de ADN en loci homólogos de cromosomas en duplicación (Latt, 1981), su formación involucra rompimiento de ambas cromátides en puntos coincidentales con el consecuente intercambio y reparación (Latt, 1974).

El descubrimiento de los I.C.H. fue hecho por Taylor, Woods y Hughes en 1957, mediante técnicas autorradiográficas, las que posteriormente fueron substituidas por la técnica de tinción diferencial (Zakharov & Egolina, 1972) dado el alto poder de resolución que proporciona. La naturaleza de la formación y la importancia biológica de los I.C.H. en los organismos, no son aun conocidas; sin embargo, se les ha considerado como indicadores muy sensibles de la producción de daño cromosómico (Latt, 1981).

En la literatura se han encontrado solamente seis trabajos enfocados al estudio de la desnutrición en los que utilizan la técnica de tinción diferencial de cromátides hermanas:

Mutchinick y colaboradores (1979) en un estudio in vitro, encuentran que no hay diferencia entre el número de I.C.H. en niños con desnutrición proteico-calórica severa y los testigos bien nutridos y también que la cantidad de metafases de células que han pasado por un tercer ciclo de replicación era mucho mayor en los desnutridos.

Murthy y colaboradores en sus investigaciones, han observado que el número de I.C.H. en linfocitos de niños con desnutrición proteico-calórica severa, tipo Kwashiorkor (1980) y en células de médula ósea de ratas a las que se les indujo desnutrición

severa (1981), es significativamente más alto que para los testigos bien nutridos. En otro trabajo, éstos mismos autores estudiaron la cinética de proliferación de linfocitos de niños con desnutrición, tipo Kwashiorkor (1982) y observaron que la duración del ciclo celular en estos niños, se ha alargado; consideran que esto, probablemente contribuye al decremento en la respuesta a la fitohemaglutinina de los linfocitos de niños con desnutrición proteico-calórica y excluyen la posibilidad de que exista un inhibidor en el plasma que provoque el aumento en la duración del ciclo celular en ellos, dado que cultivos que hicieron de linfocitos aislados de muestras de sangre total, se comportaron de la misma manera.

Ortiz (1980), realizó una investigación, en la que indujo desnutrición por competencia durante la lactancia en ratas; transcurrido este período, les inyectaba BrdU adsorbida a carbón activado y después de 18 horas, las sacrificaba. Cuantificó el porcentaje de metafases en primero, segundo o tercer ciclo de replicación en células de médula ósea, encontrando 72% de metafases en primer ciclo y 27%, en segundo, para las desnutridas y un 41% y 58%, respectivamente para las bien nutridas. Las diferencias encontradas, fueron estadísticamente significativas y dado que la cantidad de metafases en segundo ciclo es mayor en las bien nutridas, concluyó que el ciclo de proliferación en las desnutridas, es más largo. Determinó el índice mitótico para ambos grupos experimentales y observó que era mayor para las desnutridas, lo que sugiere, que probablemente el tiempo de la mitosis se ha alargado y por consecuencia la duración total del ciclo de proliferación de las células de médula ósea de ratas desnutridas.

Balvanera (1982), cuantificó el número de I.C.H. en un estudio in vivo, en ratas a las que indujo desnutrición severa por competencia. Sus resultados muestran que existe una diferencia significativa entre el número de I.C.H. presentes en células de médula ósea de ratas normales y desnutridas. La cantidad de I.C.H.

fue mayor en las desnutridas.

M E T O D O L O G I A :

Se tomó una muestra de sangre a cinco niños que presentaban desnutrición proteico-calórica severa (grupo experimental) y a cinco niños eutróficos (grupo testigo). El diagnóstico del estado nutricional de los niños, fue proporcionado por los médicos de los hospitales que dieron las muestras: Hospital Infantil "La Villa", D.D.F.; Hospital Infantil "Iztapalapa" D.D.F. y Hospital del Instituto Nacional de Pediatría.

Las muestras fueron tomadas con jeringas previamente heparinizadas, aproximadamente 0.1 ml. de una solución de 1 000 UI de heparina/ml. para cada 4 ml. de sangre; a partir de ellas se hicieron cultivos de linfocitos.

a) Técnica de Cultivo.

Los cultivos de linfocitos se efectuaron siguiendo la técnica de Arakaki y Sparkes (1963) con algunas modificaciones:

En frascos de cultivo estériles de 60 ml., se agregaron:
5 ml. de medio McCoy 5a modificado (Microlab).

0.2 ml. de fitohemaglutinina (Microlab).

0.01 ml. de antibac (Microlab).

Antes de sembrar, se cuantificó el número de leucocitos/ml. de muestra de sangre, se utilizó líquido de Turk (ácido acético al 3%, más algunos gránulos de cristal violeta) para eliminar los eritrocitos. Se sembraron seis gotas de sangre completa (aproximadamente 0.3 ml.) por frasco de cultivo. Todas las manipulaciones se hicieron en condiciones de esterilidad, en una campana de flujo laminar (Veco). Los cultivos se mantuvieron en una incubadora (Forma Scientific) a 37 ± 0.5 °C.

De cada muestra, se sembraron de cinco a diez frascos, dependiendo de la cantidad de sangre obtenida. El mínimo de frascos sembrados, fue de cinco, para tener cuando menos, uno para cada punto de cosecha. Las cosechas se hicieron desde las 48 hasta las 96 horas de cultivo con intervalos de 12 horas entre cada una (cinco cosechas).

b) 5-Bromo-2'-Deoxiuridina (BrdU). —

Se utilizó BrdU (Sigma) a una concentración final de — 20 ug/ml. de medio de cultivo; ésta se agregó a los cultivos, 24 horas después de que se inició el período de incubación. A partir del momento en que se les agregó la — BrdU, los cultivos se mantuvieron en obscuridad. Una hora antes de cosechar los cultivos, se ponía 0.2 ml. de Colcemida (Microlab) a cada frasco.

c) Cosecha. —

Se hizo de acuerdo a la técnica de Moorhead et al. (1960) con algunas modificaciones:

Después del tiempo de incubación, se pasó el contenido de los frascos de cultivo a tubos de centrifuga y se centrifugaron durante diez minutos a 1 500 r.p.m. (centrifuga Sorvall CL-50); se desechó el sobrenadante y el paquete celular se resuspendió con una solución 0.075 M de KCl (J.T. Baker), se llevó a un volumen final de 5 ml., así se incubó a 37°C durante 20 minutos. Se centrifugó nuevamente durante diez minutos a 1 500 r.p.m.; el sobrenadante se desechó y el paquete celular fue resuspendido con solución fijadora (Metanol (J. T. Baker) — ácido acético (J. T. Baker) en proporción 3:1) a un volumen final de 5 ml., se dejó

a los tubos 15 minutos en reposo. Pasado este periodo, se les centrifugó, igual que en las ocasiones anteriores. El paquete celular se lavó con solución fijadora hasta que el sobrenadante que se obtenía, era transparente; finalmente, se resuspendió en 0.5 ml. de fijador para hacer las preparaciones.

d] Preparaciones.—

φ Sobre portaobjetos limpios y secos, se dejaron caer tres o cuatro gotas de la suspensión del paquete celular y se dejaron secar al aire. Se teñían 24 horas después de haber sido hechas.

e] Tinción Diferencial.—

Se obtuvo utilizando la metodología sugerida por Perry y Wolff (1974):

Las preparaciones fueron sumergidas en una solución acuosa de Hoechst 33 258 (Riedel-De Haen Ag Seelze-Hannover) a una concentración de 0.5 mg/ml., así se dejaron 40 minutos en oscuridad. Transcurrido este tiempo, se enjuagaron y se caron al aire, ya secas se montaron con buffer Sørensen pH 6.8 (KH_2PO_4 (J. T. Baker) 6.63 gr. y Na_2HPO_4 (J. T. Baker) 2.56 gr. en 1 000 ml. de agua destilada) y se les expuso durante cuatro horas a luz negra (lámpara Sankyo Denki de 20 watts). La lámpara se encontraba dentro de una caja negra, en la que se colocaron las preparaciones a 2 cms. de distancia de la misma. Concluido el período de exposición, las preparaciones se sacaron de la caja y se enjuagaron en agua corriente, dejándolas secar al aire. Por último, se tiñeron en una solución de Giemsa (Merck) al 5% preparado en buffer Sørensen pH 6.8, durante cuatro minutos. Las preparaciones se montaron con resina sintética (Sigma) para su

revisión.

f] Revisión de las Preparaciones.---

Al momento de la revisión, se cubrió el número original de las preparaciones. Tomándose las de los eutróficos y las de los desnutridos indistintamente, se le asignó a cada una, un número aleatorio (Zar, 1974); de acuerdo a esta nueva numeración, se reordenaron y analizaron al microscopio de luz (Carl Zeiss).

Para cada muestra:

1° Se revisaron 200 metafases consecutivas por tiempo de cosecha (1 000 mitosis por individuo) clasificándolas de acuerdo a su tinción en metafases de primero, segundo y tercer o más ciclos de replicación. Aun cuando algunas metafases podían haber pasado por un cuarto o quinto ciclo de replicación, se les incluyó en la categoría de tercer ciclo.

2° Para cuantificar intercambios de cromátides hermanas, se revisaron 25 metafases de segundo ciclo por tiempo de cosecha para cada individuo.

g] Análisis Estadístico.---

Se calcularon las ecuaciones de regresión que describen el comportamiento de desaparición de metafases en primer ciclo de replicación y de aparición de metafases en tercer ciclo, para los niños desnutridos y eutróficos, respectivamente. Las curvas se compararon, utilizando el análisis de covarianza (Zar, 1974).

Mediante la prueba de χ^2 para proporciones (Fleiss, 1973),

se compararon las proporciones de metafases en primero, segundo y tercer o más ciclos de replicación de cada punto de cosecha entre los dos grupos estudiados.

Los resultados de intercambio de cromátides hermanas, fueron comparados con la prueba "t" de Student (Zar, 1974).

RESULTADOS :

I. Características de los Niños.

Se tomó una muestra de sangre a cinco niños que presentaban desnutrición proteico-calórica de tercer grado, cuatro de los cuales eran tipo Marasmo y uno tipo Kwashiorkor. Sus edades fluctuaron entre los seis meses y los dos años, sólo el niño del caso 3 había sido expuesto a radiación diagnóstica; los individuos 1, 3 y 4 al momento de tomar las muestras, se encontraban bajo tratamiento con antibióticos (Ampicilina y Gentamicina), los datos individuales de sexo, edad, tipo de desnutrición, peso y talla se muestran en el Cuadro 2. Asimismo, se tomó una muestra de sangre a cinco niños eutróficos, cuyas edades fluctuaron de un año seis meses a cinco años diez meses. Los datos de cada niño se muestran en el Cuadro 3, ninguno de ellos había sido expuesto a radiación diagnóstica, ni se encontraban tomando antibióticos.

El número de células que se sembraron por frasco de cultivo, fluctuó entre 1.2 y 3.67×10^6 células para los eutróficos y de 2.25 a 3.64×10^6 células para los desnutridos.

II. Cinética de Proliferación.

Los porcentajes de metafases en primero, segundo y tercer ciclo de replicación, obtenidos del análisis de 200 metafases consecutivas de cada hora de cosecha para cada individuo, se muestran en el Cuadro 4 para los niños desnutridos y en el Cuadro 5, para los niños eutróficos. En ellos se presentan además de los datos individuales, los datos promedio y la desviación estándar de cada uno. Las gráficas 1 a la 5, corresponden a los datos de los niños desnutridos; de la 6 a la 10, a los niños eutróficos; la gráfica 11 a los datos promedio de los niños desnutridos y la 12, a los promedios de los niños eutróficos. Para los casos 1, 2 y 3 de los desnutridos, se observa en los porcentajes y en las gráficas, decremento del porcentaje de metafases en primer ciclo de replicación; aumento, pico y decremento de las de segundo e incremento del número de metafases en tercer ciclo, esto al pasar el tiempo de cultivo. El máximo de metafases en segundo ciclo se presentó a las 60 horas de incubación en los casos 1 y 3 y para el caso 2, a las 72 horas; los casos 4 y 5, se salen considerablemente de este patrón; en ambos, se tiene una tendencia al aumento acelerado del porcentaje de metafases en tercer ciclo y una tendencia a la disminución, desde las 48 horas de incubación, para las de primero y segundo ciclo de replicación. Los datos de los cinco eutróficos, presentan un comportamiento similar al de los casos 1, 2 y 3 de los desnutridos; el máximo de mitosis en segundo ciclo para los casos 1, 2, 3 y 5 de los eutróficos se dio a las 72 horas de incubación y para el caso 4, a las 60 horas.

Los resultados promedio de ambos grupos siguen el patrón esperado para este tipo de análisis, con un incremento de las metafases en tercer ciclo, decremento

de las de primero y ascenso y descenso de las que han pasado por dos ciclos de replicación. El porcentaje máximo de metafases en segundo ciclo de replicación se presentó a las 60 horas de cultivo en los desnutridos y a las 72 horas para los eutróficos. A las 48 horas de cultivo, se observa en los desnutridos, un porcentaje de metafases en segundo ciclo de replicación bastante más alto que en los eutróficos. Los valores de la desviación estándar, variaron de 0.87 a 18.18 en los desnutridos y de 1.95 a 13.89 en los eutróficos.

Con los porcentajes individuales de metafases en primer y tercer ciclo de replicación, se calcularon las ecuaciones de regresión para los dos grupos, utilizando el método de mínimos cuadrados (Zar, 1974). Los resultados se dan en el Cuadro 6; en la Gráfica 13, se muestran las curvas promedio de metafases en primer ciclo de los desnutridos y de los eutróficos y en la Gráfica 14, las de tercer ciclo de ambos grupos. El análisis de covarianza, mostró que la diferencia entre los valores de las pendientes (a), de las ecuaciones que describen el comportamiento de desaparición de las metafases en primer ciclo, no es estadísticamente significativa con valor de "t" = 1.48 ($P > 0.05$); es decir, que las pendientes son iguales. El mismo análisis indica que las pendientes de las ecuaciones que describen el comportamiento de aparición de metafases en tercer ciclo, son diferentes a nivel estadísticamente significativo, con un valor de "t" = 2.381 ($P < 0.05$), los resultados de la prueba se muestran en el Cuadro 6.

Se aplicó la prueba de χ^2 para comparar las proporciones de metafases en primero, segundo y tercer ciclo de replicación encontradas para los niños desnutridos y los eutróficos en cada hora de cosecha, los resultados se

muestran en el Cuadro 7; éstos indican que la diferencia es estadísticamente significativa ($P < 0.05$) en todos los casos, menos entre las proporciones de metafases en primer ciclo de las 96 horas de cultivo.

III. Intercambio de Cromátides Hermanas (I.C.H.). —

El promedio de I.C.H. por célula de cada individuo, se presenta en el Cuadro 8, ellos fluctuaron de 3.37 a 7.33 por célula en los desnutridos y de 4.69 a 7.44 por célula en los eutróficos. Los totales de I.C.H. en cada grupo de muestras en el Cuadro 9, en el mismo se da el resultado de la prueba de "t" de Student mediante la que se compararon; el resultado indica que la diferencia observada entre los grupos no es estadísticamente significativa con una "t" = 1.33 ($P > 0.05$). El promedio general de I.C.H. para los eutróficos, fue de 5.42 y para los desnutridos, de 5.71 por célula.

D I S C U S I O N :

En general, las curvas de distribución de metafases en primero, segundo y tercer ciclo de replicación de los dos grupos de niños estudiados, siguen el patrón de comportamiento esperado, de acuerdo a lo reportado por otros autores que han utilizado el mismo tipo de análisis (Tice et al., 1976; Crossen & Morgan, 1977; Frías & Carnevale, 1983). Aparentemente, la exposición a radiación diagnóstica, los antibióticos y la cantidad de células sembradas, no tuvieron influencia sobre la tendencia de las mismas. El comportamiento atípico de los casos 4 y 5 de los desnutridos, no tuvo relación con el tipo de desnutrición, ni con alguna característica patológica o con algún agente externo (radiación, antibióticos, etc.), la única característica común entre ambos, es que son de sexo femenino; la influencia que pudiera tener un tipo de infección específica en estos dos

casos, no pudo ser establecida, ya que en los expedientes clínicos, no se encontró información precisa a este respecto.

En los datos promedio se observa como aspecto relevante, el que a las 48 horas en los desnutridos, la proporción de metafases en primer ciclo, es baja (63.2%) y la de metafases, en segundo ciclo de replicación, es alta (36.3%) en comparación con las encontradas para los eutróficos (95.8% de primero y 4.2% de segundo), además de que a ese tiempo se inició la aparición de metafases de tercer ciclo de replicación para los desnutridos, no siendo así, para los eutróficos. La comparación entre las proporciones de metafases en los tres ciclos de replicación, a las diferentes horas de cultivo estudiadas, muestra que en todos los casos, menos en uno (metafases en primer ciclo a las 96 ho—ras) hubo diferencias altamente significativas. Esta diferencia entre las proporciones de metafases en primero, segundo y tercer ciclo durante todos los tiempos de cultivo y la aparición temprana de metafases en tercer ciclo en los desnutridos, posiblemente sea debido a que los linfocitos de los niños desnutridos sean previamente estimulados en el torrente sanguíneo — (Mutchinick, 1979), como consecuencia de algunas infecciones que generalmente están presentes en los niños que sufren desnutrición proteico-calórica severa y que por lo tanto pudieran iniciar su ciclo de proliferación más rápido en el cultivo, sin necesidad de pasar por un período de latencia. Otra posibilidad, es que aunque no hubieran sido estimulados previamente, presentaran un período de latencia más breve por tener una susceptibilidad mayor a la fitohemaglutinina.

Las tendencias observadas en las Gráficas de los promedios, son semejantes a las que reporta Murthy et al. (1982) en una investigación realizada en la India con linfocitos de niños que presentaban desnutrición proteico-calórica severa, tipo Kwashiorkor, ellos concluyen que por efecto de la desnutrición, la duración del ciclo de proliferación celular en esos niños, se prolonga con respecto al de los eutróficos. En este sentido, sus datos

son contradictorios a los aquí reportados, ya que no se observó prolongación de la duración del ciclo celular y sí como se había señalado anteriormente, una mayor cantidad de células en segundo y tercer ciclo de replicación en los desnutridos al pasar el tiempo de cultivo. Sería difícil, en base a los resultados del presente trabajo, concluir que la velocidad de proliferación es mayor en los desnutridos, dado que los resultados del análisis de covarianza mostraron que las pendientes de las curvas que describen el comportamiento de desaparición de metafases en primer ciclo son iguales y aunque el mismo análisis indica que las pendientes de las de tercer ciclo, sí presentan diferencia estadísticamente significativa, ellas son muy semejantes y probablemente la diferencia se deba a la inflexión que presenta la curva de los eutróficos entre las 48 y las 60 horas de incubación.

Las diferencias encontradas entre lo reportado por Murthy y colaboradores (1982) y los resultados de este trabajo podrían ser debidas a factores, tales como los siguientes: la muestra estudiada por ese autor estuvo formada exclusivamente por niños con desnutrición proteico-calórica, tipo Kwashiorkor, los que presentaron variación individual ligera, mientras que el grupo aquí estudiado estuvo formado por cuatro niños con desnutrición, tipo Marasmo y uno, tipo Kwashiorkor, el resultado del análisis obtenido para este último niño, fue totalmente diferente a lo que Murthy y colaboradores (1982) reportan para niños con sus características. Los cinco individuos estudiados aquí mostraron alta variabilidad individual en cuanto al patrón de proliferación celular. Asimismo, la influencia de otras variantes, como alimentación o tipo de infecciones presentes en los niños, no pueden ser descartadas. Se usó en este estudio como variante técnica la exclusión del suero fetal de ternera como complemento del medio de cultivo, ya que se ha demostrado con adultos normales, que no existe diferencia en la proliferación celular entre cultivos con y sin suero (Mutchinick, 1980), mientras que Murthy y colaboradores (1980, 1982) lo utilizan a una concentración del 20%.

En cuanto a la frecuencia de I.C.H., no se encontró diferencia significativa entre el grupo de los eutróficos y el de los desnutridos, lo que concuerda con lo reportado por Mutchinick (1979), quien en un estudio hecho en México, tampoco encuentra diferencias de I.C.H. presentes en un grupo de niños eutróficos — ($\bar{x} = 7.6$ I.C.H./Cél.) y otro de desnutridos ($\bar{x} = 7.2$ I.C.H./Cél.) Por otro lado Murthy (1980) hace la misma investigación en niños de la India y encuentra una diferencia significativa, entre el promedio de I.C.H. por célula de los desnutridos ($\bar{x} = 9$) y el de los eutróficos ($\bar{x} = 5.9$). La frecuencia de I.C.H. por individuo encontrada en este estudio, es inferior a las encontradas en los dos trabajos mencionados anteriormente.

El que Murthy y colaboradores encuentren diferencias a nivel de velocidad de proliferación celular y de frecuencia de I.C.H. en sus estudios realizados en la India y que esto no se haya encontrado en los trabajos que se han hecho con niños mexicanos, tal vez se deba a que se han estudiado dos poblaciones que se encuentran muy alejadas geográficamente, lo que influye en aspectos tan importantes, como son tipo de infecciones presentes en unos y otros y aun más, en lo que a hábitos alimenticios se refiere; esto, podría estar condicionando de alguna manera las diferencias observadas.

Para poder hacer una evaluación más completa de los efectos de la desnutrición a nivel de la velocidad de proliferación de linfocitos y de la frecuencia de I.C.H., sería recomendable analizar un número mayor de muestras y realizar el estudio de cultivos con y sin fitohemaglutinina, lo que permitiría determinar si los linfocitos de los desnutridos son estimulados previamente o son más sensibles a ella.

C O N C L U S I O N E S :

Bajo las condiciones del presente estudio:

— La velocidad de proliferación, in vitro, de linfocitos de niños con desnutrición proteico-calórica severa, parece no estar afecta da.

— La desnutrición no contribuyó al incremento de la frecuencia de I.C.H. en las células de los niños estudiados.

CUADRO 2. CARACTERISTICAS DE LOS NIÑOS DESNUTRIDOS

<u>Caso</u>	<u>Sexo</u>	<u>Edad</u> <u>(Meses)</u>	<u>Tipo de</u> <u>Desnutrición</u>	<u>Peso</u> <u>(grs.)</u>	<u>Talla</u> <u>(cms.)</u>	<u>Déficit</u> <u>de Peso (%)</u>
1	M	6/12	Marasmo	3,200	No medida	55
2	M	12/12	Marasmo	4,200	56	45
3	M	21/21	Marasmo	3,600	61	70
4	F	8/12	Marasmo	3,760	59	40
5	F	24/12	Kwashiorkor	7,500	No medida	25

CUADRO 3. CARACTERISTICAS DE LOS NIÑOS EUTROFICOS

<u>Caso</u>	<u>Sexo</u>	<u>Edad</u> <u>(Meses)</u>	<u>Peso</u> <u>(grs.)</u>	<u>Talla</u> <u>(cms.)</u>
1	F	20/12	8,000	72
2	M	54/12	19,000	105
3	M	48/12	15,500	97
4	F	16/12	8,300	77
5	F	70/12	15,400	105

CUADRO 4. PORCENTAJE DE METAFASES EN PRIMERO, SEGUNDO Y TERCER CICLO DE REPLICACION PARA LOS NIÑOS DESNUTRIDOS

<u>Tiempo de Incubación</u>	<u>Ciclo de Replicación/Casos</u>	<u>% de Metafasas</u>					<u>\bar{x}</u>	<u>D. E.</u>
		<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>		
48 Hrs.	1°	77	80.5	60.5	44.5	53.5	63.2	15.3
	2°	23	19.5	37.5	55	46.5	36.3	15.1
	3°	0	0	2	0.5	0	0.5	0.9
60 Hrs.	1°	28	38.5	21	16.5	47	30.2	12.5
	2°	68	44	42	32.5	31.5	43.6	14.7
	3°	4	17.5	37	51	21.5	26.2	18.2
72 Hrs.	1°	14.8	16.5	18.5	13.5	45.5	21.8	13.4
	2°	50	47	35	20.5	25.5	35.6	12.9
	3°	35.2	36.5	46.5	66	29	42.6	14.5
84 Hrs.	1°	16.7	12	18	2	7.5	11.2	6.6
	2°	38.5	32	29	14.5	12.5	25.3	11.3
	3°	44.9	56	53	83.5	80	63.5	17.2
96 Hrs.	1°	4	4.5	9	5.5	8	6.2	2.2
	2°	22.1	24.5	18.5	10	12	17.4	6.3
	3°	73.8	71	72.5	84.5	80	76.4	5.7

CUADRO 5. PORCENTAJE DE METAFASES EN PRIMERO, SEGUNDO Y TERCER CICLO DE REPLICACION PARA LOS NIÑOS EUTROFICOS

<u>Tiempo de Incubación</u>	<u>Ciclo de Replicación/Casos</u>	<u>% de Metafasas</u>					<u>\bar{x}</u>	<u>D. E.</u>
		<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>		
48 Hrs.	1°	93	93	98	98	97	95.8	2.6
	2°	7	7	2	2	3	4.2	2.6
	3°	0	0	0	0	0	0	0
60 Hrs.	1°	70	66.5	88.5	55	85.5	73.1	13.9
	2°	25	30	10.5	44.5	13.5	24.7	13.7
	3°	5	3.5	1	0.5	1	2.2	2
72 Hrs.	1°	12.5	26.5	37	46.7	42.5	33	13.7
	2°	51	43	52.5	37.1	48	46.3	6.3
	3°	36.5	30.5	10.5	16.2	9.5	20.6	12.2
84 Hrs.	1°	No hay datos	3.5	21	23.5	17.5	16.4	9
	2°		30	41	33.5	41	36.4	5.5
	3°		66.5	38	43	41.5	47.2	13
96 Hrs.	1°	1.5	8	14	7.9	10.5	8.4	4.6
	2°	15	26	28	18.9	35.5	24.7	8
	3°	83.5	66	58	73.5	54	66.9	11.8

CUADRO 6. Ecuaciones de regresión que describen el comportamiento de desaparición de metafases en primer ciclo de replicación y de aparición de metafases en tercer ciclo de replicación. Se muestran los resultados del análisis de covarianza.

Metafases en Primer Ciclo de Replicación

<u>Eutróficos</u>	<u>Desnutridos</u>
$y = -1.9196 x + 183.7941$	$y = -1.10805 x + 106.2984$
$b = 183.7941$	$b = 106.2984$
$a = -1.9196$	$a = -1.10805$
$r = 0.9404$	$r = 0.8368$

("t" = 1.4858; gl 45; P > 0.05)

Metafases en Tercer Ciclo de Replicación

<u>Eutróficos</u>	<u>Desnutridos</u>
$y = 1.4877 x + (-79.7904)$	$y = 1.57495 x + (-71.5616)$
$b = -79.7904$	$b = -71.5616$
$a = 1.4877$	$a = 1.57495$
$r = 0.9255$	$r = 0.9103$

("t" = 2.381; gl 45; P < 0.05).

CUADRO 7. Resultados de la prueba de χ^2 para proporciones aplicada para comparar los datos de metafases en primero, segundo y tercer ciclo de replicación de los dos grupos estudiados.

<u>Tiempo de Incubación/</u>	<u>Ciclo de Re- plicación</u>	<u>χ^2</u>		
		<u>1°</u>	<u>2°</u>	<u>3°</u>
48 Hrs.		316.8	310.1	4.9
60 Hrs.		368.5	79.4	236.4
72 Hrs.		22.8	27.8	101.0
84 Hrs.		12.6	33.5	60.4
96 Hrs.		<u>2.972</u>	17.6	23.98

(gl 2 ; $P < 0.05$)

La diferencia es estadísticamente significativa en todos los casos, menos entre las proporciones de metafases en primer ciclo encontradas a las 96 horas de incubación.

CUADRO 8. Promedio de I.C.H./Cél. de cada uno de los eutróficos y de los desnutridos.

<u>Caso</u>	<u>Eutróficos</u>	<u>Desnutridos</u>
	\bar{x} de I.C.H./célula	
1	5.013 \pm 2.017	3.371 \pm 1.3956
2	4.694 \pm 0.5937	5.224 \pm 1.6436
3	5.102 \pm 1.8741	7.328 \pm 2.8250
4	7.442 \pm 3.1096	5.4 \pm 0.5260
5	5.8 \pm 2.0201	6.143 \pm 2.4987

CUADRO 9. Datos totales de I.C.H. para los niños desnutridos y los eutróficos. Se da el resultado de la prueba de "t" de Student, mediante la que se compararon.

Eutróficos		Desnutridos	
Núm. I.C.H.	Núm. de Células	Núm. I.C.H.	Núm. de Células
1	4	0	1
2	23	1	3
3	54	2	30
4	88	3	71
5	77	4	90
6	67	5	107
7	54	6	67
8	34	7	48
9	11	8	51
10	6	9	35
11	5	10	18
12	6	11	13
13	2	12	4
15	1	13	6
18	1	14	2
		15	1

$$\bar{x} = 5.42 \pm 2.3 \text{ I.C.H./Cél.}$$

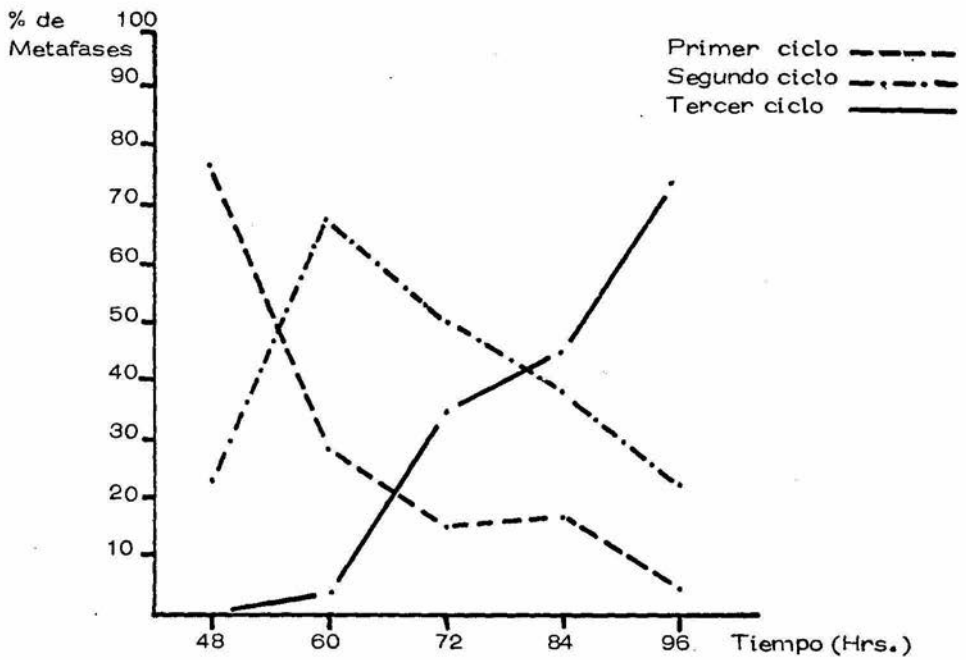
$$\bar{x} = 5.71 \pm 2.5 \text{ I.C.H./Cél.}$$

$$("t" = 1.33 ; \text{gl } 978 ; P > 0.05)$$

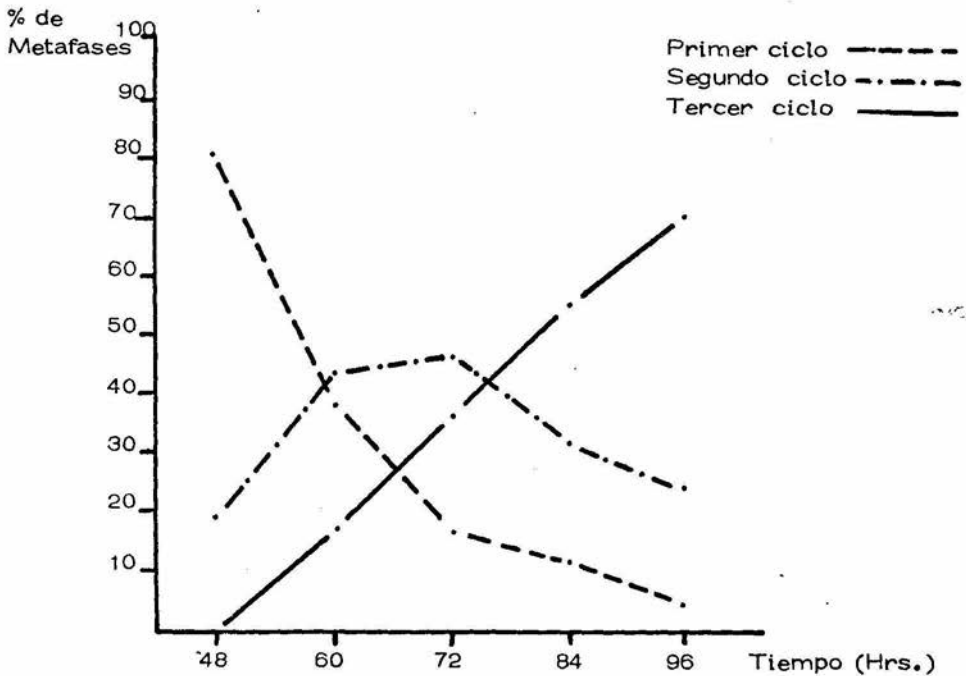
Las diferencias no son estadísticamente signi-

ficativas.

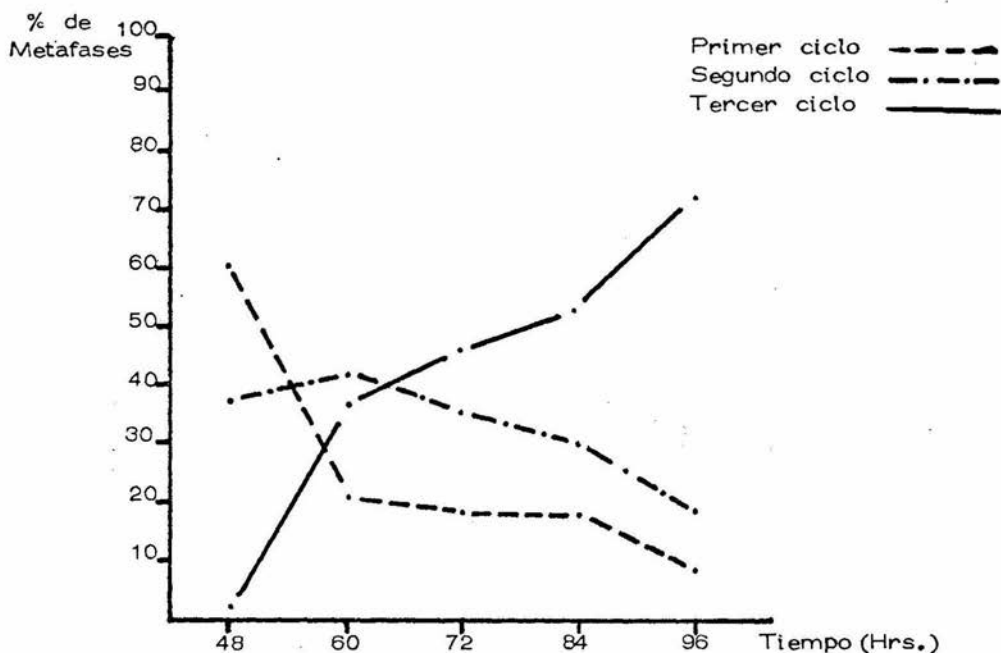
Gráfica 1. Datos del caso 1 , niño desnutrido.



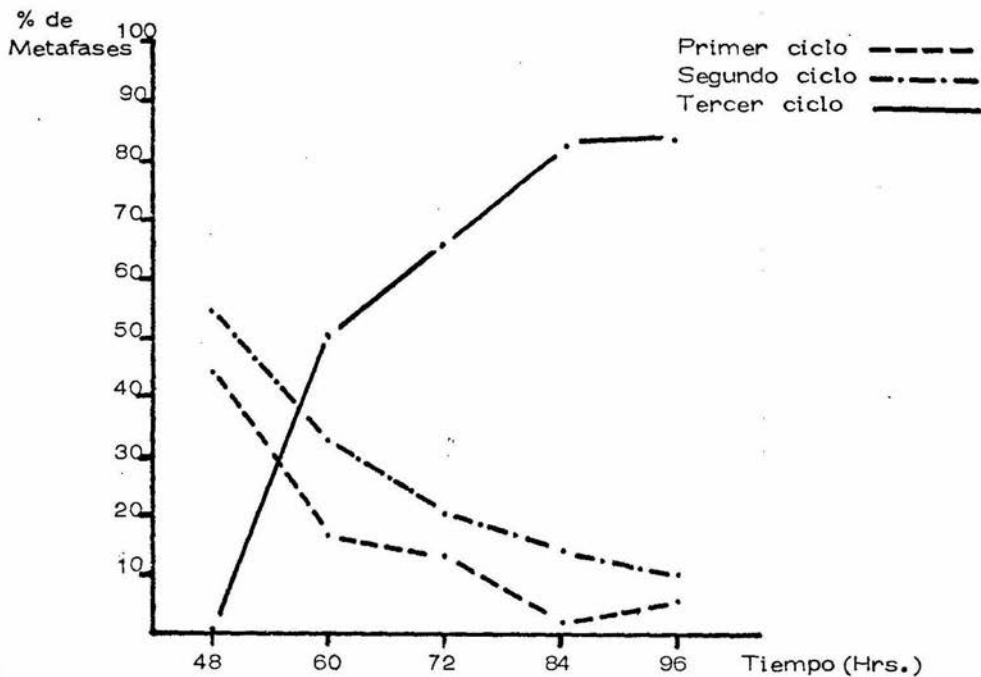
Gráfica 2. Datos del caso 2 , niño desnutrido.



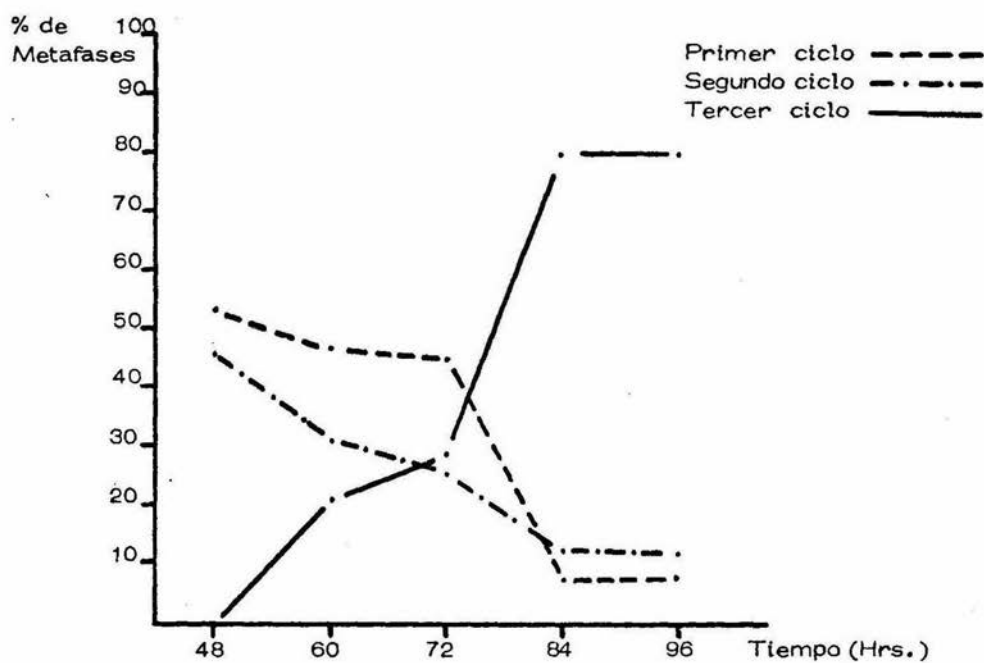
Gráfica 3. Datos del caso 3 , niño desnutrido



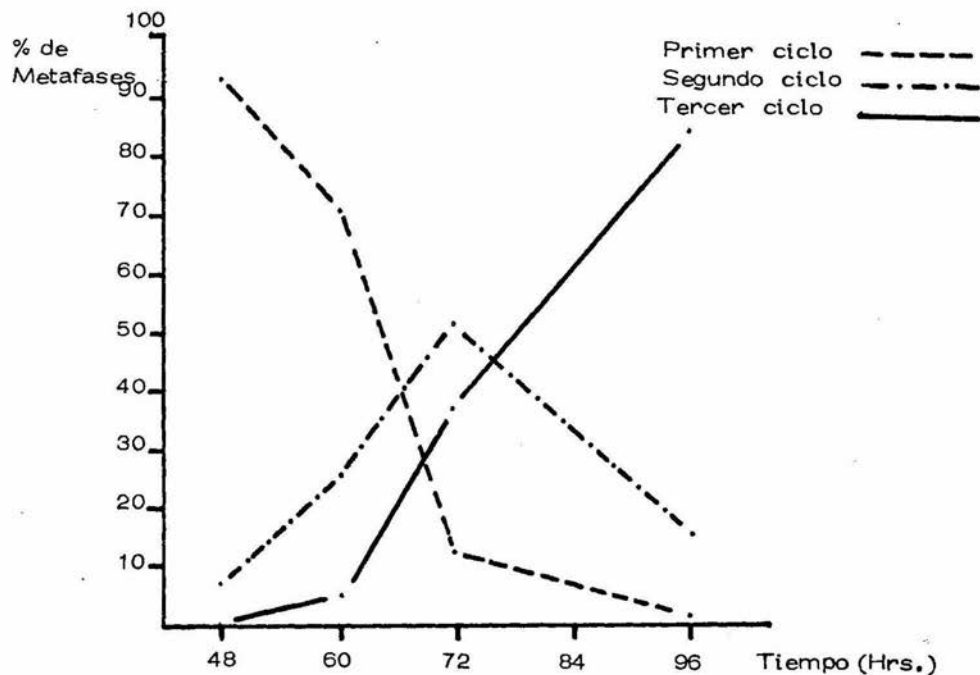
Gráfica 4 . Datos del caso 4 , niño desnutrido.



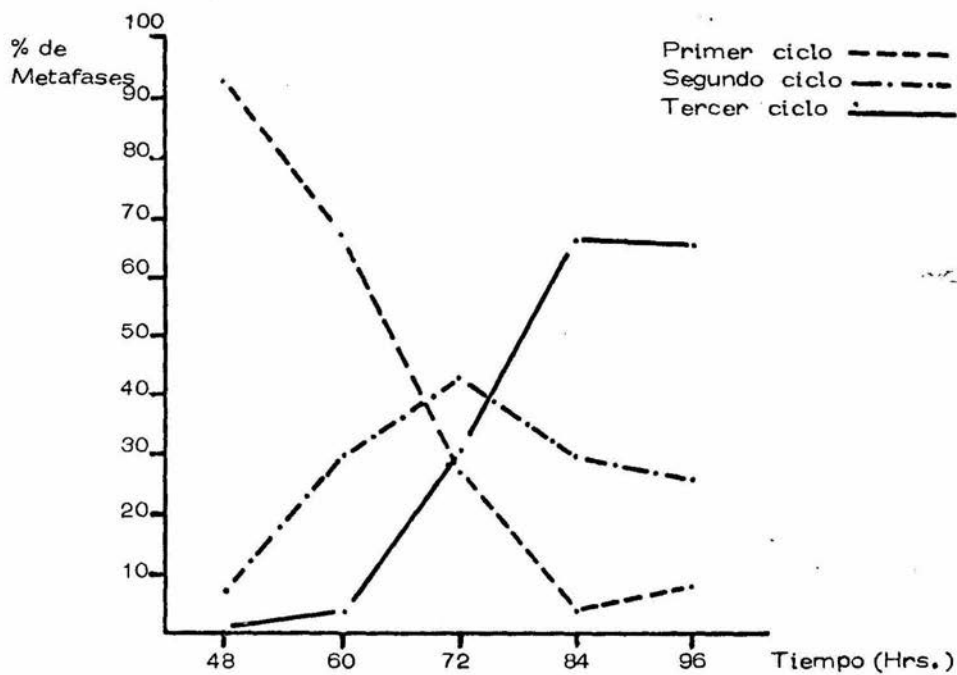
Gráfica 5. Datos del caso 5, niño desnutrido.



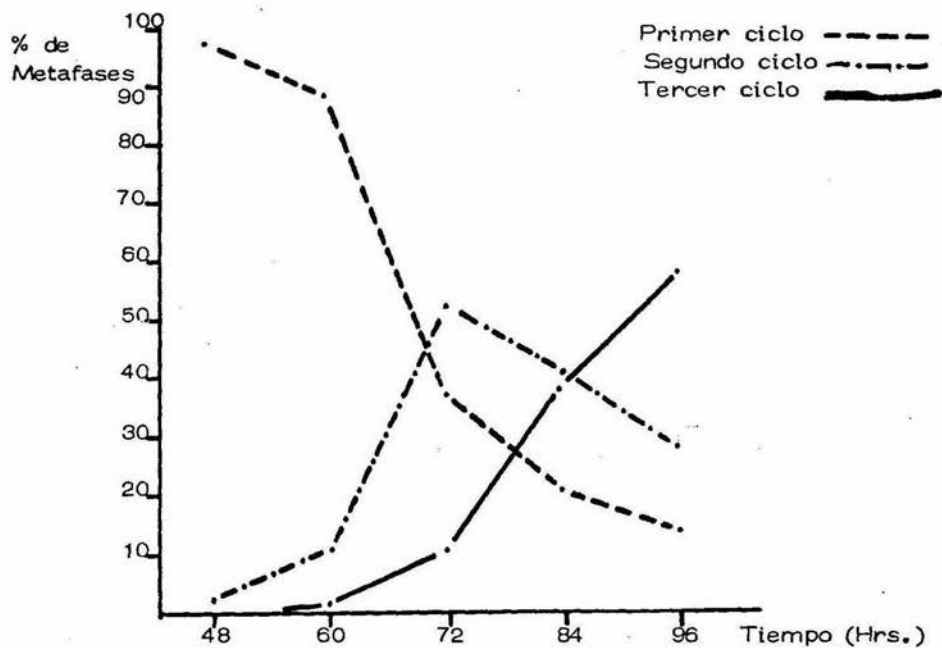
Gráfica 6. Datos del caso 1 , niño eutrófico.



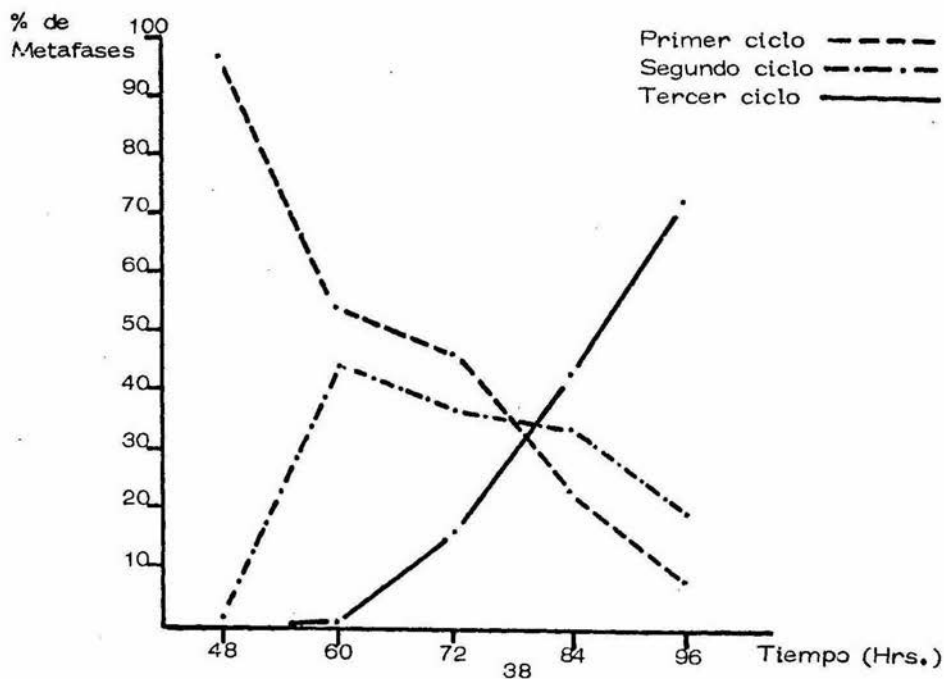
Gráfica 7. Datos del caso 2 , niño eutrófico.



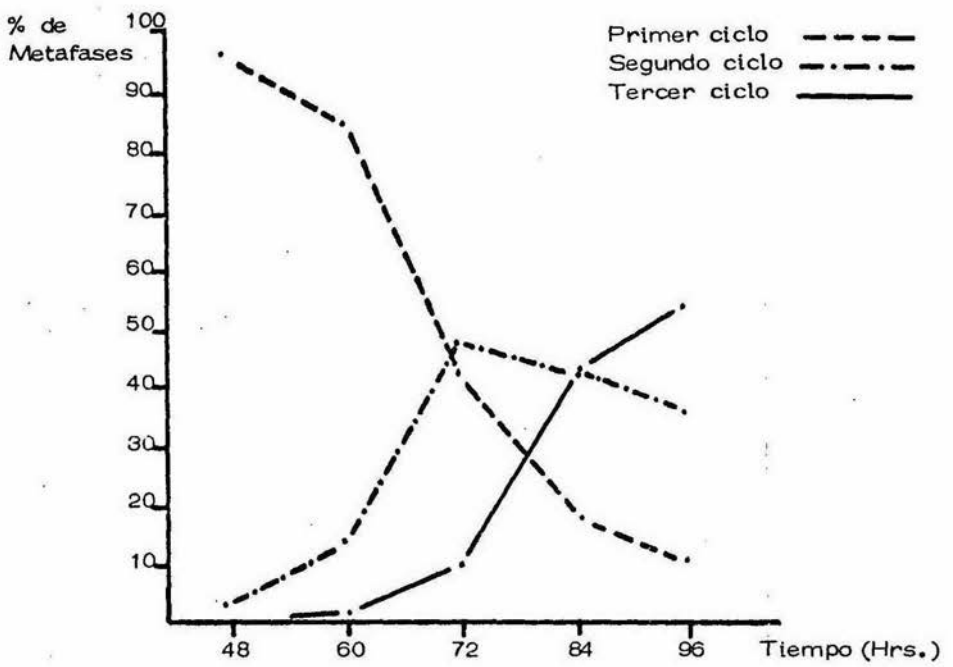
Gráfica 8. Datos del caso 3, niño eutrófico.



Gráfica 9. Datos del caso 4, niño eutrófico.



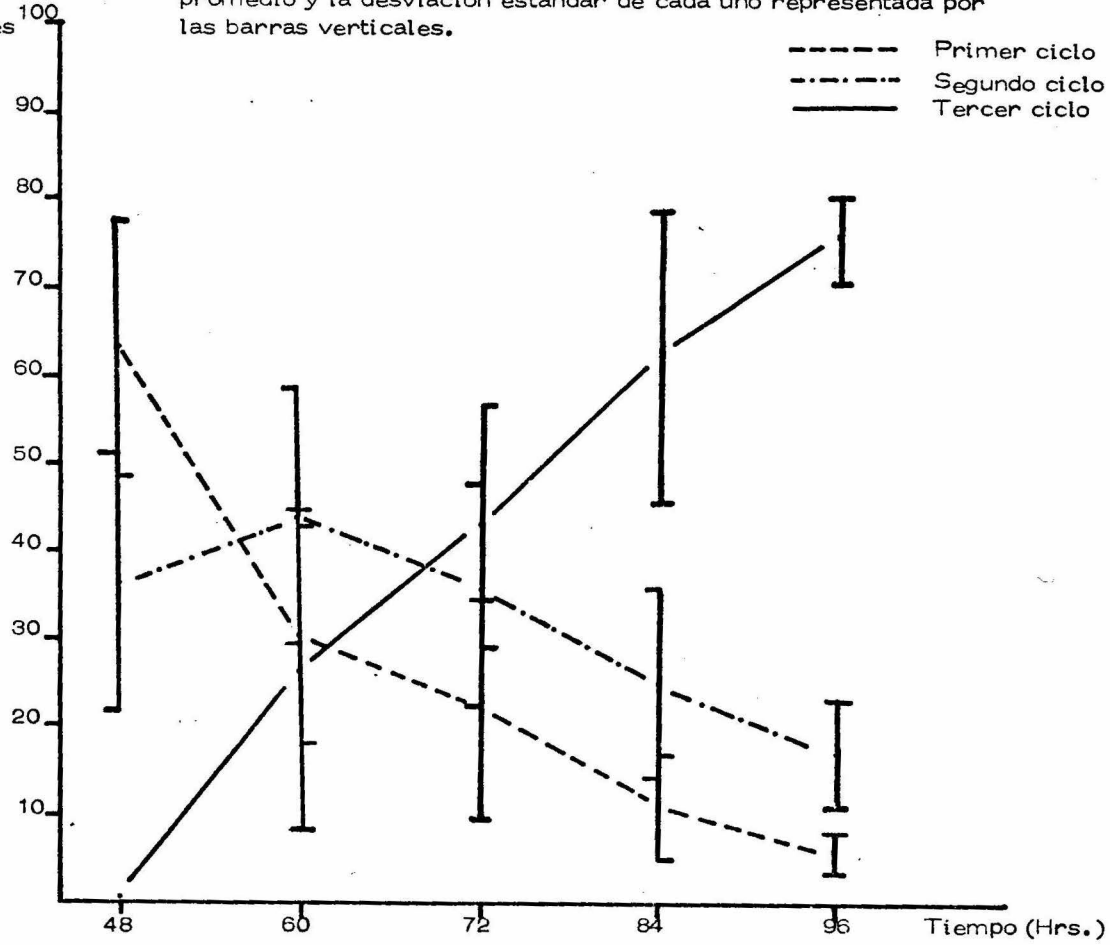
Gráfica 10. Datos del caso 5, niño eutrófico.



Distribución de metafases en Primero, Segundo y Tercer o más ciclos de replicación en niños desnutridos. Se dan los valores - promedio y la desviación estándar de cada uno representada por las barras verticales.

% de
Metafases

----- Primer ciclo
 -.-.-.- Segundo ciclo
 ——— Tercer ciclo

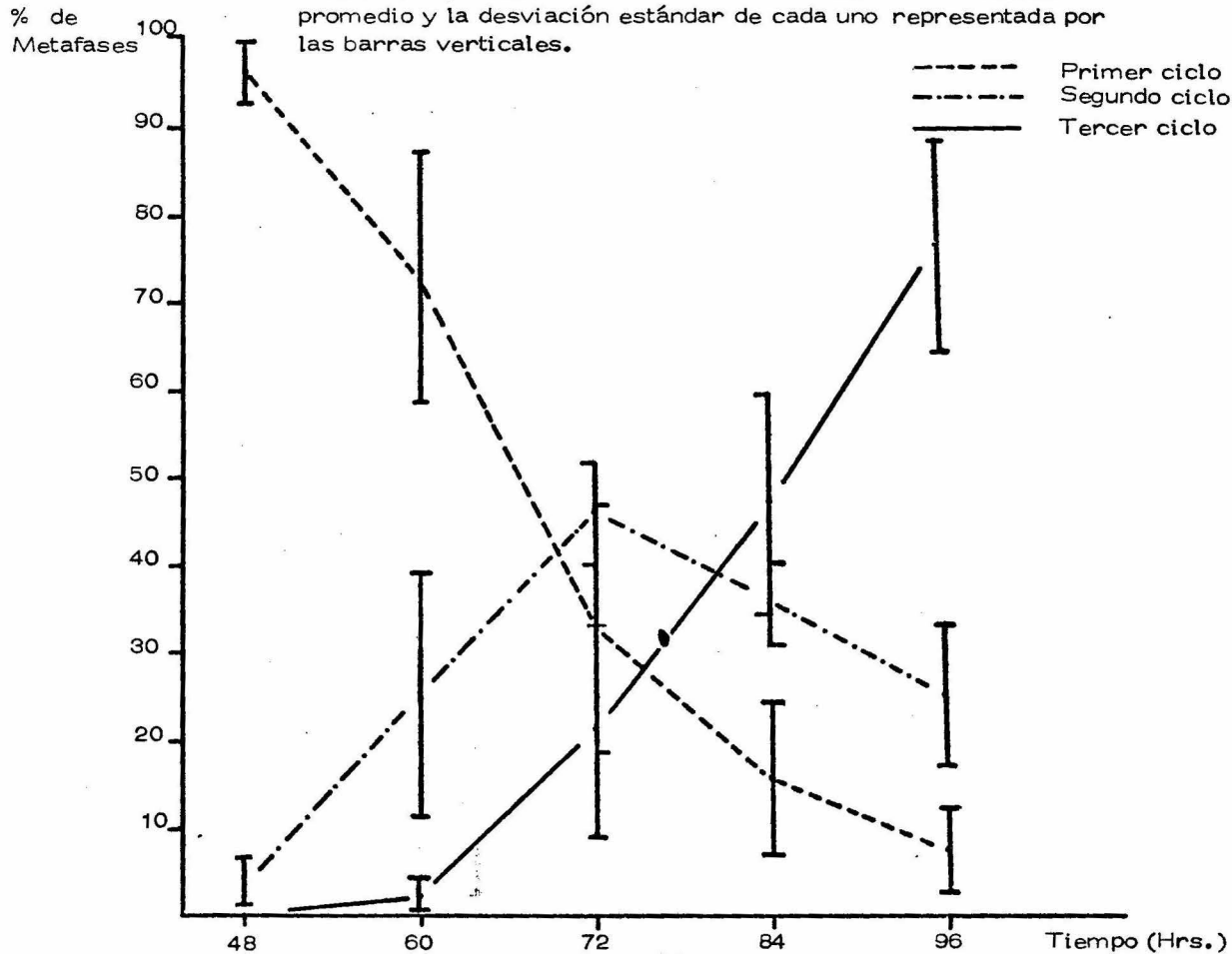


40

GRAFICA 11

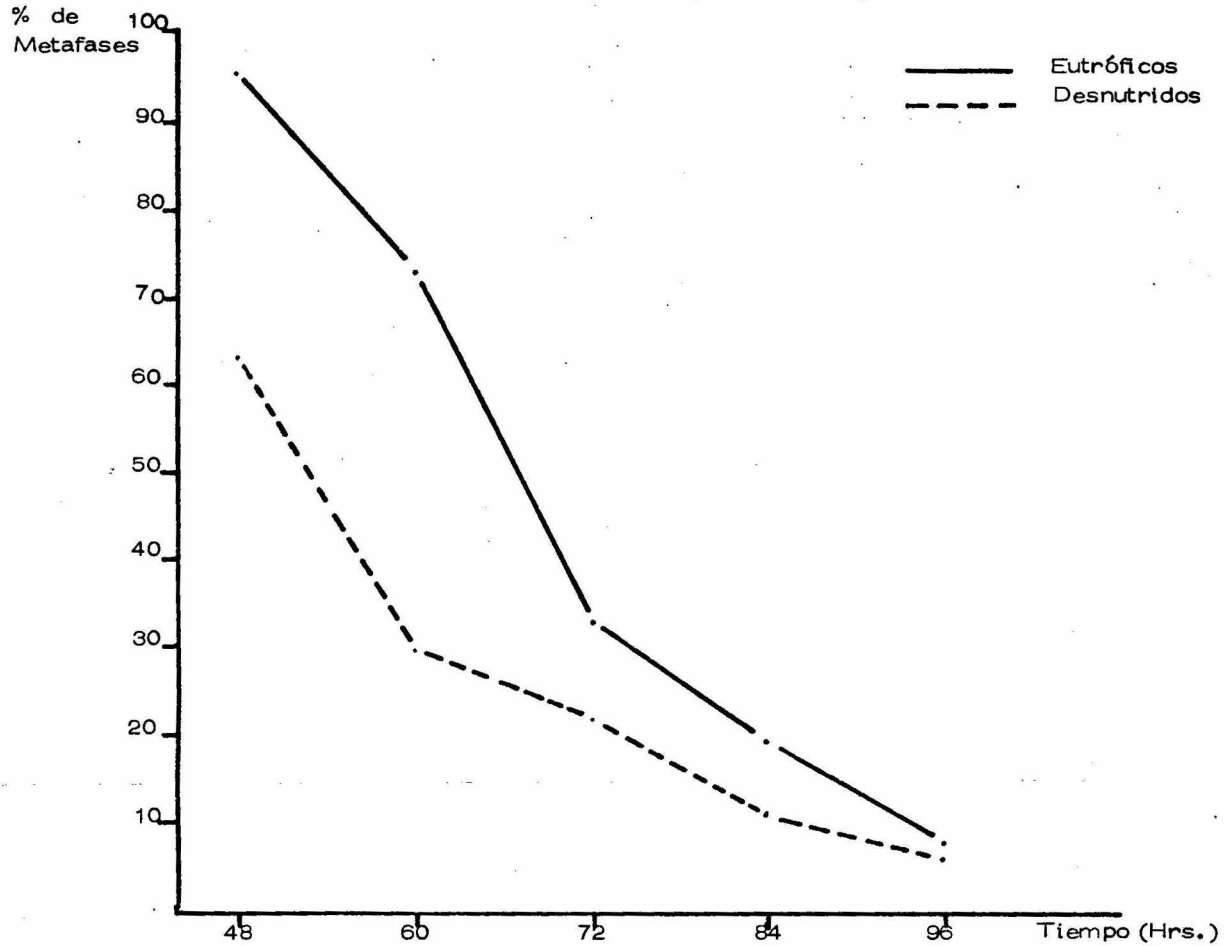
Tiempo (Hrs.)

Distribución de metafases en Primero, Segundo y Tercer o más ciclos de replicación en niños eutróficos. Se dan los valores - promedio y la desviación estándar de cada uno representada por las barras verticales.



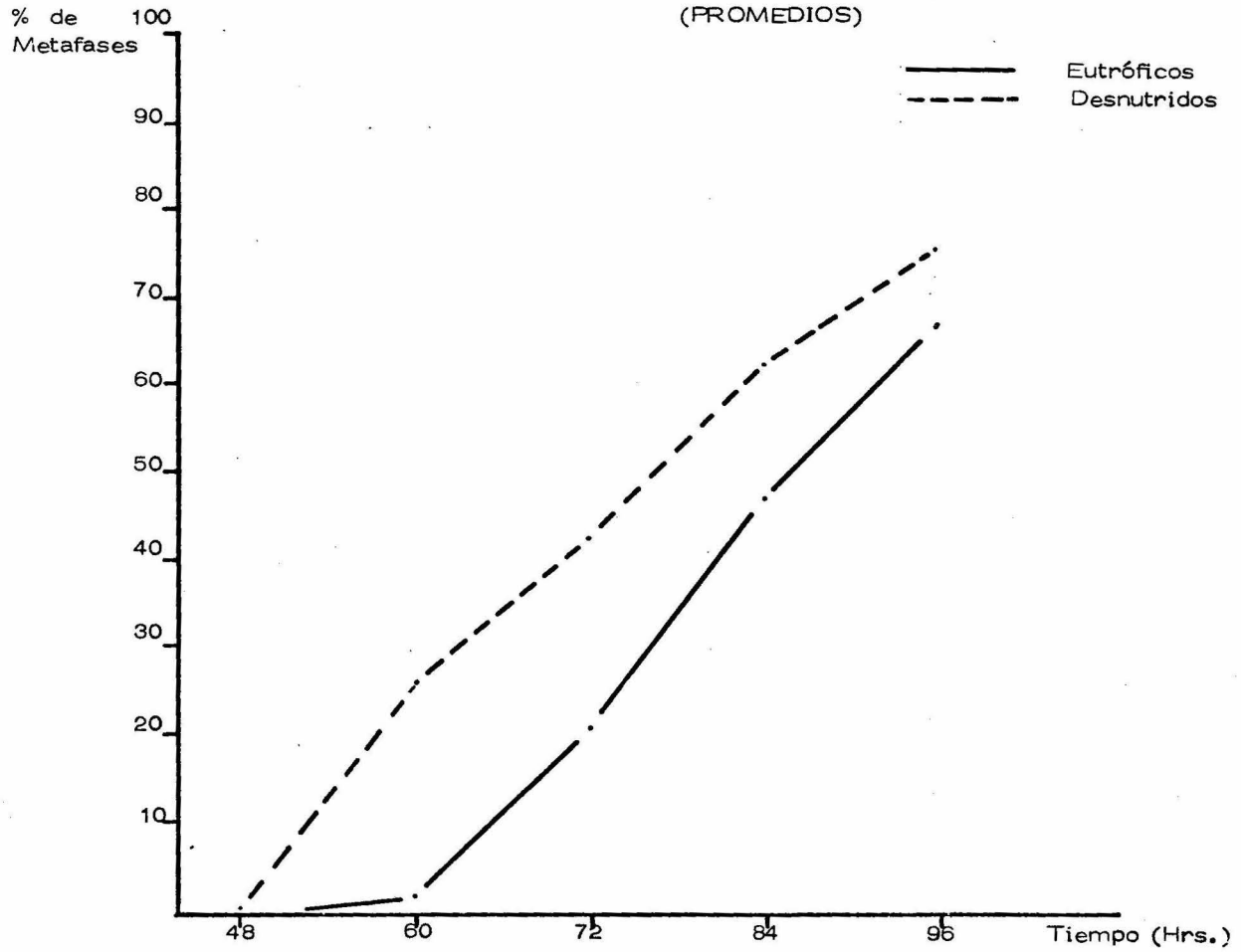
GRAFICA 12

METAFASES EN PRIMER CICLO DE REPLICACION
(PROMEDIOS)



GRAFICA 13

METAFASES EN TERCER CICLO DE REPLICACION
(PROMEDIOS)



GRAFICA 14

43

LITERATURA CITADA

1. Arakaki, D. T. & Sparkes, R. S. 1963. Microtechnique for Culturing Leukocytes from Whole Blood. *Cytogenetics* 2 : 57-60.
2. Arméndares, S.; Salamanca, F. & Frenk, S. 1971. Chromosomal Abnormalities in Severe Protein-Calorie Malnutrition. *Nature* 232 : 271-273.
3. Balvanera, P. 1982. Análisis in vivo de Intercambios de Cromátides Hermanas en Médula Osea de Ratas Desnutridas y Normales. Reporte de Servicio Social. UAM - Iztapalapa. Lab. de Biología Celular.
4. Behar, M. & Icaza, S. 1972. Nutrición. Interamericana. México.
5. Betancourt, M.; De la Roca, J. M.; Sáenz, M. E.; Díaz, R. & Cravioto, J. 1972. Aberraciones Cromosómicas en Desnutrición Proteico-Calórica Avanzada. *Boletín del Hospital Infantil (México)* 29 (5) : 517-524.
6. Castilla, L.; Cravioto, A. & Cravioto, J. 1979. Efectos a Corto Plazo de la Interacción Estimulación-Desnutrición Proteico-Calórica sobre el Desarrollo Bioquímico del SNC. *Gaceta Médica de México* 115 (5) : 225-233.
7. Chandra, R. K. 1980. Inmunología de los Transtornos Nutricionales. *El Manual Moderno*. México. pp. 1-48.
8. Cravioto, J.; DeLicardie, E. R. & H. G. Birch. 1966. Nutrition, Growth and Neurointegrative Development. An Experimental and Ecologic Study. *Pediatrics* 38 : 319-350.

9. Crossen, P. E. & Morgan, W. F. 1977. Analysis of Human Lymphocyte Cell Cycle Time in Culture Measured by Sister Chromatid Differential Staining. *Exp. Cell Res.* 104 : 453-457.
10. Deo, M.; Bijlani, V. & Ramalingaswami, V. 1975. Nutrition and Cellular Growth and Development in Growth and Development of the Brain. Editado por M.A.B. Brazier. Raven Press. New York, pp. 1 - 15.
11. Dutrillaux, B.; Fosse, A. M.; Prieur, M. & Lejeune, J. 1974. Analyse des échanges de chromatides dans les cellules somatiques humaines. *Chromosoma (Berl)*. 48 : 327-340.
12. Fleiss, J. L. 1973. Statistical Methods for Rates and Proportions. John Wiley & Sons, New York., U.S.A.
13. Forbes, W. B.; Tracy, C.; Resnick, O. & P. J. Morgane, 1977. Effects of Maternal Dietary Protein Restriction on Growth of the Brain and Body in the Rat. *Brain. Res. Bull.* 2 : 131-135.
14. Frías, S. & Carnevale, A. 1983. Cell Cycle in Normal Individuals and in Patients with Down, Cri-du-chat and Turner Syndromes. *Ann. Genet.* 26 : 60-62.
15. Gómez, F.; Ramos-Galván, R.; Frenk, S.; Cravioto, J.M.; Chávez, R. & Vázquez, J. 1956. Mortality in Second and Third Degree Malnutrition. *J. Trop. Pediat.* London. 2 : 77.
16. Gupta, R.; Gupta, M. & Ramdeo, N. 1977. Chromosomal Abnormalities in Protein-Calorie Malnutrition. *Amer. J. Clin. Nutr.* 30 : 1974-1978.

17. Jelliffe, D. 1981. Nutrición Infantil en Países en Desarrollo. Limusa. México.
18. Korenberg, J. L. & Freedlender, E. F. 1974. Giemsa Technique for the Detection of Sister Chromatid Exchanges. Chromosoma (Berl). 48 : 355-360.
19. Latt, S. A. 1974. Localization of Sister Chromatid Exchanges in Human Chromosomes. Science 135 : 74-76.
20. Latt, S. A. 1981. Sister Chromatid Exchange Formation. Ann. Rev. Genet. 15 : 11-55.
21. Manocha, S., 1972. Malnutrition and Retarded Human Development. Publish. Charles C. Thomas. U. S. A.
22. Moorhead, P. S.; Nowell, P. C.; Mellman, W. J.; Battips, D. M. & Hungerford, D. A. 1960. Chromosome Preparations of Leukocytescultured from Human Peripheral Blood. Exp. Cell Res. 20 : 613-616.
23. Morgane, P. J.; Miller, M.; Kemper, T.; Stern, W.; Forbes, W.; Hall, R.; Bronzino, J.; Kistrane, J.; Hawrylewicz, E. & Resnick, O. 1978. The effect of Protein Malnutrition on Developing Central Nervous System in the Rat. Neuroscience and Biobehavioral Reviews 2 : 137-230.
24. Murthy, P. B.; Bhaskaram, P. & Skirantia, S. G. 1980. Sister Chromatid Exchanges in Protein-Energy Malnutrition. Hum. Genet. 55 : 405-406.
25. Murthy, P. B. & Skirantia, S. G. 1981. SCE Frequency in Malnourished Mice. Metabolism 30 : 1-2.

26. Murthy, P. B.; Rahiman, M. A. & Tulpule, P. G. 1982. Lymphocyte Proliferation Kinetics in Malnourished Children Measured by Differential Chromatid Staining. *Br. J. Nutr.* 47 : 445-450.
27. Mutchinick, O.; Lisker, R.; Ruz, L.; Salamanca, F. & Armendares, S. 1979. Frequency of Sister Chromatid Exchanges in Severe Protein-Calorie Malnutrition. *Ann. Genet.* 22 : 129-132.
28. Mutchinick, O.; Ruz, L. & Casas, L. 1980. Time of First Generation Metaphases. I. The Effect of Various Culture Media and of Fetal Calf Serum in Human Lymphocyte Cultures. *Mutat. Res.* 72 : 127-134.
29. Ortíz, A. R. 1980. Duración del Ciclo Celular en Ratas Normales y Desnutridas. Tesis Profesional. U.N.A.M. Fac. de Ciencias.
30. Perry, P. & Wolff, S. 1974. New Giemsa Method for the Differential Staining of Sister Chromatids. *Nature* 251 : 156-158.
31. Ramalingaswami, V. & Deo, M. G. 1968. Experimental Protein-Calorie Malnutrition in the Rhesus Monkey in Calorie Deficiencies. Proceedings of a Colloquium Health in Cambridge. April 1967. Ed. R. A. McCance & Widdowson. Little Brown & Company, Boston, U. S. A. pp. 265-275.
32. Read, M. 1977. Desnutrición, Aprendizaje y Comportamiento. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica No. 352. Washington, D. C., E. U. A.
33. Sheffy, B. E. & Williams, A. J. 1982. Nutrition and the Immune Response. *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 180 (9) : 1073-1076.

34. Taylor, J. H.; Woods, P. S. & Hughes, W. L. 1957. The Organization and Duplication of Chromosomes Revealed by Autoradiographic Studies Using Tritium-Labelled Thymidine. Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. A., 43 : 122-127.
35. Thorburn, M.; Hutchinson, S. & Alleyne, G. 1972. Chromosome Abnormalities in Malnourished Children. The Lancet 11 :591.
36. Tice, R.; Schneider, E. L. & Rary, J. M. 1976. The Utilization of Bromodeoxyuridine Incorporation into DNA for the Analysis of Cellular Kinetics. Exp. Cell Res. 102 : 232-236.
37. Watson, J. D. & Crick, F. H. C. 1953. Molecular Structure of Nucleic Acids. A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. Nature 171 : 737-738.
38. Welcome Trust. Sponsored Working Party. 1970. Classification of Infantile Malnutrition. The Lancet 2 : 302-303.
39. Winick, M. & Noble, A. 1966. Cellular Response in Rats during Malnutrition at Various Ages. J. Nutr. 89 : 300-306.
40. Zakharov, A. F. & Egolina, N. A. 1972. Differential Spiralisation Along Mammalian Mitotic Chromosomes. 1. BUdR-Revealed Differentiation in Chinese Hamster Chromosomes. Chromosoma 38 : 341-365.
41. Zar, J. H. 1974. Biostatistical Analysis. Prentice Hall, Inc., Englewood Clifs, N. J., U. S. A.