



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

**IZTAPALAPA**

**Maestría en Biología Experimental**

**“Evaluación de la presencia de micronúcleos en eritrocitos de niños con  
desnutrición moderada y grave “**

Laboratorio de Biología Celular y Citometría de Flujo

Presenta:

**B. E. Elsa Cervantes Ríos**

**Directora de tesis: Dra. Alda Rocío Ortiz Muñiz  
Departamento de Ciencias de la Salud  
UAM-Iztapalapa**

**Asesora interna: Dra. Leonor Rodríguez Cruz  
Departamento de Ciencias de la Salud  
UAM-Iztapalapa**

**Asesora externa: Dra. María del Carmen García Rodríguez  
Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental (UNIGEN)  
FES-Zaragoza, UNAM**

## **COMITÉ TUTORAL**

Dra. Alda Rocío Ortiz Muñiz  
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Ciencias de la Salud  
arom@xanum.uam.mx

Dra. María del Carmen García Rodríguez  
Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, UNAM  
Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental  
Bioterio, Campo II  
maricar\_67@yahoo.com

Dra. Leonor Rodríguez Cruz  
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Ciencias de la Salud  
leor@xanum.uam.mx

## **JURADO**

Dr. Miguel Betancourt Rule  
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Ciencias de la Salud  
bet@xanum.uam.mx

Dra. María del Carmen García Rodríguez  
Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, UNAM  
Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental  
Bioterio, Campo II  
maricar\_67@yahoo.com

Dra. Leonor Rodríguez Cruz  
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Ciencias de la Salud  
leor@xanum.uam.mx

## **AGRADECIMIENTOS**

La maestría en Biología experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, se encuentra dentro del Padrón de Excelencia del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, con número de registro 309-0, y en el Padrón de Programas del PIFOP-CONACyT clave C/PFPN-2002-35-32.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biología Celular y Citometría de Flujo, del Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

Este trabajo recibió el apoyo de CONACYT, a través del programa de Investigación Básica “Análisis de micronúcleos en organismos desnutridos” con clave 50804.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología la beca otorgada para la realización de este trabajo, con número 185573.

Mi agradecimiento a la Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa por la beca otorgada para la Idónea Comunicación de Resultados.

Los miembros del jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa, abajo firmantes, aprobaron la tesis titulada "EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICRONÚCLEOS EN ERITROCITOS DE NIÑOS CON DESNUTRICIÓN MODERADA Y GRAVE " el día 31 de octubre de 2006.

Dr. Miguel Betancourt Rule  
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Ciencias de la Salud  
bet@xanum.uam.mx

PRESIDENTE

Dra. María del Carmen García Rodríguez  
Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, UNAM  
Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental  
Bioterio, Campo II  
maricar\_67@yahoo.com

SECRETARIA

Dra. Leonor Rodríguez Cruz  
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Ciencias de la Salud  
leor@xanum.uam.mx

VOCAL

## **GRACIAS**

A la Dra. Rocío Ortiz Muñiz, por la dirección de esta tesis, por su infinita paciencia, entusiasmo, dedicación, confianza y valiosa asesoría. Gracias por mostrarme el lado humano del investigador.

A mi maestra la Dra. Leonor Rodríguez Cruz, por la dirección de esta tesis y por haber enriquecido con sus valiosos comentarios el trabajo realizado. Gracias por su gran compañerismo y solidaridad, por hacer mucho más llevadero el trabajo diario y por las enseñanzas que van más allá de los experimentos y los conceptos teóricos.

A la Dra. María del Carmen García Rodríguez, por haber dirigido y apoyado la realización de esta tesis.

Al Dr. Miguel Betancourt Rule, por su asesoría y valiosos comentarios.

A la M. en Biol. Exp. Edith Cortés Barberena, por los conocimientos y el espacio compartidos.

A Hilda, Catalina y Julieta, por todos los momentos compartidos, por su calidez y por ser las mejores compañeras.

A la Dra. Cristina González Torres, por el apoyo brindado durante la realización de este trabajo, y sin el cuál no hubiera sido posible concluirlo.

Al Dr. Jaime Graniel Guerrero del Hospital Pediátrico de Iztapalapa del Gobierno del Distrito Federal, por su valiosa colaboración para la obtención de muestras para la realización de este trabajo.

## DEDICATORIAS

A mis papás, porque siempre me han apoyado y porque se han preocupado por enseñarme que el trabajo es el único medio para lograr mis objetivos. Por su paciencia y por su confianza. Porque aunque no siempre compartimos las mismas ideas, la aceptación y la tolerancia han distinguido nuestra relación. Gracias mamá por tus consejos, por tu comprensión y por todo el amor que me has dado. Tienes todo mi reconocimiento por el ejemplo de vida que día tras día me das. Gracias papá por tus ocurrencias y por las risas compartidas, por el gran amor que siempre me has demostrado y por las enseñanzas que me has dejado.

Reciban todo mi amor.

A mi Tía, porque con sus cuidados, dedicación y consejos me ha impulsado a seguir siempre adelante, y porque en los momentos mas difíciles siempre me ha brindado refugio y consuelo. Te quiero Tía!

A mis hermanas Alma y Yuli, porque con su cariño y su apoyo incondicional me han dado la fortaleza para continuar mi trabajo y cumplir mis objetivos.....porque sé que los lazos que nos unen van mas allá de la sangre....gracias por ser mis amigas!

A mis abuelitos Cándido, Tina, Tolo, Oliva y Manuel.

A mi amiga Jazmín, por su solidaridad, confianza, comprensión y aceptación. Gracias por tu presencia constante, por levantarme cuando he caído y por compartir siempre todos mis sueños.

A mis compañeros de Maestría Inés, Varenka, Ángeles, Xóchil, Armando, Gabriel y Tania. Sin ustedes este momento no hubiera llegado....gracias por todo el cariño y apoyo recibido, por acompañarme durante este tiempo y por darle significado a la palabra amistad. Los quiero y siempre los llevaré en mi corazón.

A mis sobrinos, Ricky y Uli, porque con sus juegos, sus risas, sus travesuras y su inocencia, me han hecho apreciar lo más hermoso de la vida: el amor incondicional. Para Leonardito, que ha llegado a iluminar mis días y para Alan, quien con su vivacidad y picardía le ha dado alegría a mi vida.

A mis amigos: Hugo, Toño, Ivy, Violeta y César. Gracias por darme siempre ánimo!

A Vero y Fer, por enseñarme a no rendirme cuando todo va mal, por ser más que mis amigos.....gracias por los sueños, las risas y las lágrimas compartidas. Sin su apoyo y cariño este logro no hubiera sido posible. Los quiero!



## ÍNDICE

	<b>Página</b>
<b>ABREVIATURAS</b>	<b>i</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>iii</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	<b>iv</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>vii</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1 Desnutrición	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b>	<b>4</b>
2.1 Desnutrición e infecciones	<b>4</b>
2.2 Efectos de la desnutrición a nivel genético	<b>5</b>
2.3 El ensayo de MN	<b>7</b>
2.4 Eritropoyesis	<b>11</b>
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>14</b>
<b>4. HIPÓTESIS</b>	<b>15</b>
<b>5. OBJETIVO GENERAL</b>	<b>15</b>
<b>6. OBJETIVOS PARTICULARES</b>	<b>15</b>
<b>7. MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>16</b>
7.1 Grupos de estudio	<b>16</b>
7.2 Obtención y fijación de la muestra	<b>22</b>
7.3 Marcaje de los eritrocitos	<b>23</b>
7.3.1 Detección de MN	<b>23</b>
7.4 Análisis por Citometría de Flujo	<b>23</b>
7.4.1 Selección de la región de análisis	<b>23</b>
7.4.2 Tinción diferencial de diferentes poblaciones de eritrocitos	<b>25</b>
7.5 Análisis estadístico	<b>25</b>
<b>8. RESULTADOS</b>	<b>26</b>
8.1 Frecuencia de RET	<b>26</b>

8.2 Frecuencia de RET-MN	28
8.3 Frecuencia de EM-MN	31
8.4 Frecuencia de RET, RET-MN y EM-MN en BNI, DES-M y DES-G	34
8.5 Porcentaje de RET, RET-MN y EM-MN en niños con desnutrición moderada sin infecciones	39
8.6 Frecuencia de RET, RET-MN y EM-MN en niños tipo marasmo y kwashiorkor	41
<b>9. DISCUSIÓN</b>	<b>45</b>
<b>10. CONCLUSIONES</b>	<b>57</b>
<b>11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>58</b>

## ABREVIATURAS

<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>BBS</b>	Solución amortiguadora de bicarbonato
<b>BFU-E</b>	Unidad formadora de bolsas eritroide
<b>BN</b>	Niños bien nutridos
<b>BNI</b>	Niños bien nutridos con infecciones gastrointestinales y respiratorias
<b>CD61</b>	Receptor plaquetas
<b>CD71</b>	Receptor para transferrina
<b>CFU-E</b>	Unidad formadora de colonias eritroides
<b>CFU's</b>	Células madre o unidades formadoras de colonias
<b>DES-M</b>	Niños con desnutrición moderada con infecciones gastrointestinales y respiratorias
<b>DES-G</b>	Niños con desnutrición grave con infecciones gastrointestinales y respiratorias
<b>EM</b>	Eritrocitos maduros
<b>EM-MN</b>	Eritrocitos maduros con micronúcleos
<b>EPO</b>	Eritropoyetina
<b>FISH</b>	Hibridación <i>in situ</i> con fluorescencia
<b>FITC</b>	Isotiocianato de fluoresceína
<b>Hb</b>	Hemoglobina
<b>IP</b>	Yoduro de propidio
<b>MN</b>	Micronúcleo
<b>MN-K-</b>	Micronúcleo cinetocoro-negativo
<b>MN-K+</b>	Micronúcleo cinetocoro-positivo
<b>RET</b>	Reticulocitos

<b>RET-MN</b>	Reticulocitos con micronúcleos
<b>TMP-SMX</b>	Trimetoprim-Sulfametoxazol

## ÍNDICE DE FIGURAS.

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Desnutrición tipo marasmo	<b>3</b>
<b>Figura 2.</b> Desnutrición tipo kwashiorkor	<b>4</b>
<b>Figura 3.</b> Generación de MN	<b>8</b>
<b>Figura 4.</b> Origen de MN	<b>10</b>
<b>Figura 5.</b> La eritropoyesis	<b>13</b>
<b>Figura 6.</b> Selección de la región de análisis.	<b>24</b>
<b>Figura 7.</b> Tinción diferencial de las diferentes poblaciones de eritrocitos	<b>25</b>
<b>Figura 8.</b> Frecuencia de RET en BN, BNI, DES-M y DES-G	<b>26</b>
<b>Figura 9.</b> Datos individuales de RET en BN, BNI, DES-M y DES-G	<b>28</b>
<b>Figura 10.</b> Frecuencia de RET-MN en BN, BNI, DES-M y DES-G	<b>29</b>
<b>Figura 11.</b> Valores individuales de RET-MN BN, BNI, DES-M y DES-G	<b>31</b>
<b>Figura 12.</b> Frecuencia promedio de EM-MN en BN, BNI, DES-M y DES-G	<b>32</b>
<b>Figura 13.</b> Valores individuales de EM-MN en BN, BNI, DES-M y DES-G	<b>34</b>
<b>Figura 14.</b> Porcentaje de RET, RET-MN y EM-MN en BNI	<b>35</b>
<b>Figura 15.</b> Porcentaje de RET, RET-MN y EM-MN en DES-M	<b>36</b>
<b>Figura 16.</b> Porcentaje de RET, RET-MN y EM-MN en DES-G	<b>37</b>
<b>Figura 17.</b> Porcentaje de RET, RET-MN y EM-MN en niños que presentaron infecciones respiratorias en BNI y DES-G	<b>38</b>
<b>Figura 18.</b> Porcentaje de RET, RET-MN y EM-MN en niños con desnutrición moderada con y sin infecciones	<b>40</b>
<b>Figura 19.</b> Porcentaje de RET, RET-MN y EM-MN en niños tipo marasmo y Kwashiorkor	<b>42</b>
<b>Figura 20.</b> Datos individuales de RET de niños tipo marasmo y kwashiorkor	<b>43</b>
<b>Figura 21.</b> Datos individuales de RET-MN de niños tipo marasmo y kwashiorkor	<b>44</b>
<b>Figura 22.</b> Datos individuales de EM-MN de niños tipo marasmo y kwashiorkor.	<b>45</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Página</b>
<b>Cuadro 1.</b> Características de los niños BN	<b>16</b>
<b>Cuadro 2.</b> Características de niños BNI	<b>17</b>
<b>Cuadro 3.</b> Características de niños DES-M	<b>18</b>
<b>Cuadro 4.</b> Características de niños DES-G	<b>19</b>
<b>Cuadro 5.</b> Tratamiento farmacológico aplicado a niños BNI	<b>20</b>
<b>Cuadro 6.</b> Fármacos utilizados en DES-M	<b>21</b>
<b>Cuadro 7.</b> Tratamiento farmacológico aplicado a niños DES-G	<b>22</b>
<b>Cuadro 8.</b> Datos individuales de RET en BN,BNI, DES-M y DES-G	<b>27</b>
<b>Cuadro 9.</b> Datos individuales de RET-MN en BN, BNI, DES-M y DES-G.	<b>30</b>
<b>Cuadro 10.</b> Datos individuales de EM-MN en BN, BNI, DES-M y DES-G	<b>33</b>
<b>Cuadro 11.</b> Características de los niños con desnutrición moderada sin infecciones	<b>39</b>
<b>Cuadro 12.</b> Valores individuales de RET, RET-MN y EM-MN de niños DES-M sin infecciones	<b>39</b>

## RESUMEN

En el mundo aproximadamente un tercio de la población infantil padece desnutrición calórico-proteica, afectando principalmente a África, Asia, América Latina y Oceanía, y es la causa de aproximadamente el 55% de las muertes de niños entre 1 y 4 años de edad (Nájera y col., 2001<sup>a</sup>; Pelletier y col., 1993).

En México se tiene reconocido que la prevalencia de niños con desnutrición es de 46.4%, distribuidos en 36.1% en primer grado, 9.0% en segundo y 1.3% en tercer grado. Los niveles más altos de desnutrición se registran en Guerrero, Yucatán, Campeche, Oaxaca, Puebla y Chiapas, en tanto que la menor prevalencia se registra en estados del norte (Ávila-Curiel y col., 1998; Parra-Gómez y col., 2003).

De acuerdo al déficit de peso/talla para la edad, la desnutrición se clasifica en desnutrición leve o de primer grado cuando el déficit de peso se encuentra entre el 10% y 24%, desnutrición moderada o de segundo grado si el déficit de peso es mayor de 25 y menor de 40% y en desnutrición grave o de tercer grado cuando existe un déficit de peso mayor al 40%, en este grado del padecimiento se presentan dos manifestaciones clínicas: El Marasmo y el Kwashiorkor (Golden, 2002; Gómez y col., 1956; Vásquez, 1998.)

A nivel citogenético se ha demostrado que la desnutrición es capaz de producir aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y daño al ADN.

Por medio de diversos ensayos se ha detectado que la desnutrición causa daños al ADN, aunque este daño también se ha asociado con la presencia de infecciones y el tratamiento farmacológico al que se somete a los niños que presentan esta patología (Betancourt y col, 1995).

En este trabajo se utilizó el ensayo de micronúcleos como una herramienta para analizar el efecto genotóxico de la desnutrición en niños menores de cinco años.

El método utilizado en este trabajo se basa en la tinción diferencial de reticulocitos y eritrocitos maduros, usando un anticuerpo marcado con un fluorocromo (anti-CD71-FITC) (Dertinger y col., 2002).

Los resultados obtenidos muestran que la desnutrición por si misma ejerce un efecto negativo sobre la integridad del ADN de los niños que la padecen. Así mismo, se observó que las infecciones que los niños padecen actúan de manera conjunta con la desnutrición para afectar la integridad del material genético de estos niños.

De igual manera se observó que los niños con desnutrición tipo marasmo presentaron una mayor incidencia de RET-MN en comparación con los niños con kwashiorkor. Esto sugiere que la integridad del ADN de los niños marasmo se ve más comprometida.

Finalmente se observó que los fármacos utilizados en el tratamiento de las infecciones asociadas a la desnutrición también influyeron en la generación de RET-MN, ya que al parecer la mayoría de ellos tienen efectos negativos sobre la integridad del ADN.

De acuerdo a los resultados obtenidos, es primordial continuar estudiando los efectos que ejerce la desnutrición sobre la integridad del material genético.



## **ABSTRACT**

Approximately one-third of the child population suffers from malnutrition worldwide, affecting mainly countries in Africa, Asia, Latin America and the Australian Continent. Furthermore, malnutrition is the determining cause of death in approximately 55% of the children who die between 1 and 4 years of age (Nájera and col., 2001a; Pelletier and col., 1993). In Mexico is recognized that the prevalence of children with malnutrition is of 46.4%, distributed in 36.1% in first degree, 9.0% in second and 1.3% in third degree. The highest levels of under nourishment are registered in Guerrero, Yucatan, Campeche, Oaxaca, Puebla and Chiapas, whereas the smallest levels are registered in states of the north (Ávila-Curiel and col., 1998; Parra-Gómez and col., 2003).

According to the deficit of weight/height for the age, the undernourishment is classified of first degree when the deficit it is between 10% and 24%, of second degree if the deficit is greater than 25% and smaller than 40%, and of third degree when the deficit is greater than 40%, in this degree of the suffering two clinical manifestations appear: marasmus and kwashiorkor (Golden, 2002; Gómez and col., 1956; Vásquez, 1998.) The cytogenetic effects of malnutrition have been assessed in malnourished children and it has been demonstrated that malnutrition is able to produce chromosome abnormalities, sisters-chromatids exchange and DNA damage. In addition, it is known that a variety of agents, used for antimicrobial therapy, affect the DNA integrity either *in vivo* or *in vitro* and may cause DNA damage (Betancourt and col., 1995). The aim of this work was to assess the genotoxic effect of malnutrition using flow cytometry. The procedure is based on an immunochemical reagent that differentially labels the most immature fraction of reticulocytes from mature erythrocytes based on the expression level of transferrin receptor (Dertinger and col., 2002). The resulting data suggest that malnutrition is associated with a significant increase in DNA damage in samples from malnourished children. Additionally, the DNA damage was also associated with

the presence of infection and drug treatments. The results show that marasmus children had the greatest frequency of micronuclei. This fact suggests that DNA damage is increased in marasmus children.

According to the obtained results, it is fundamental to continue studying the relationship between malnutrition and DNA damage.

# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1 Desnutrición**

En México, Federico Gómez (1946), publicó un ensayo que tituló “Desnutrición”, en donde definió a este padecimiento como la asimilación deficiente de alimentos por el organismo que conduce a un estado patológico de gravedad y con diversas manifestaciones clínicas (Vega-Franco, 1999).

La desnutrición desencadena una condición patológica debido a la carencia principalmente de proteínas, de carbohidratos y lípidos o deficiencia de oligoelementos esenciales donde se incluye el yodo, la vitamina A y el hierro (Parra-Gómez y col., 2003).

Este trastorno daña las funciones celulares de manera progresiva, afectándose primero el depósito de nutrientes y posteriormente la reproducción, el crecimiento, la capacidad de respuesta al estrés, el metabolismo energético, los mecanismos de comunicación y de regulación intra e intercelular, por lo que de no controlarse a tiempo puede provocar la muerte del organismo que la padece (Calzada, 1998, Gómez, 1946).

En cuanto a su etiología, es importante resaltar que la dieta de consumo no es sinónimo de nutrición, ya que los nutrimentos solo adquieren importancia en la medida en que sean bien digeridos, absorbidos y metabolizados (Gómez, 1946).

Con base a las causas que la provocan, la desnutrición se ha clasificado de la siguiente manera:

- Desnutrición primaria: se debe a la ingesta insuficiente de alimento, ya sea porque éste no se encuentre disponible o porque a pesar de que existe no se consume. Por lo general tiene origen socioeconómico y cultural y se relaciona con el poder adquisitivo insuficiente.
- Desnutrición secundaria: se produce cuando el alimento no es consumido o no es debidamente utilizado por el organismo, porque existen condiciones que :
  - a) Interfieren con la ingestión: enfermedades neurológicas, motoras, psiquiátricas, estomatológicas, infecciosas y/o digestivas que producen anorexia o vómito.

b) Aumentan los requerimientos energéticos y/o las necesidades de regeneración tisular: infecciones crónicas, quemaduras, traumatismo múltiple, hipertiroidismo, fístulas artero-venosas, etc.

c) Interfieren con la digestión y absorción: deficiencias enzimáticas digestivas congénitas o adquiridas, fibrosis quística del páncreas, insuficiencia hepática, alteraciones de vías biliares, pancreatitis, procesos inflamatorios crónicos de tubo digestivo como enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa crónica inespecífica, infecciones o infestaciones enterales, etc.

d) Dificultan la utilización: Diabetes mellitus, neoplasias, enfermedades congénitas del metabolismo de carbohidratos, proteínas o grasas, enfermedades pulmonares crónicas, cardiopatías congénitas, etc.

e) Aumentan la excreción: diarrea crónica, fístulas enterales, urinarias o pleurales, problemas renales que afectan al glómulo (síndrome nefrótico), a la función tubular o ambos (insuficiencia renal crónica), quemaduras extensas, etc.

Basándose en el déficit de peso/talla para la edad, el doctor Federico Gómez y colaboradores (1956) propusieron una clasificación de la severidad de la desnutrición en la cual se señaló el estado que guarda un niño desnutrido en sus distintas etapas:

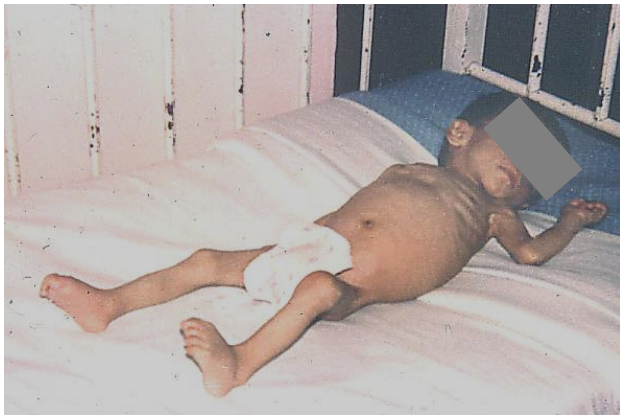
- Desnutrición leve o de primer grado: cuando el déficit de peso se encuentra entre el 10% y 24%.
- Desnutrición moderada o de segundo grado: el déficit de peso es mayor de 25 y menor de 40%.
- Desnutrición grave o de tercer grado: cuando existe un déficit de peso mayor al 40%.

La desnutrición grave a su vez, tiene dos manifestaciones clínicas: El marasmo y el kwashiorkor (Golden, 2002; Vásquez, 1998.)

El marasmo se presenta en niños de menores de un año de edad, se conoce también como desnutrición calórico proteica y es producto de una dieta pobre en proteínas y calorías, en combinación con muchas otras carencias y se caracteriza por un importante retraso del crecimiento (Parra-Gámez y col., 2003).

El cese de la lactancia materna antes de que el niño sea capaz de recibir una dieta balanceada, la pobreza de la población y nuevos embarazos con la consecuente interrupción de la lactancia materna, son factores que desencadenan esta condición.

El niño con marasmo se desarrolla presentando cuadros de infecciones, diarreas y enfermedades críticas, también presentan pérdida de la grasa corporal, estómago inflamado, ojos hundidos, cara de “viejito”, pérdida de peso, cambios en el color del cabello y una apariencia física de inanición severa (Parra-Gómez y col., 2003, Vega-Franco, 1999). (Figura 1).



**Figura 1.** El marasmo es el resultado de una dieta pobre en proteínas y calorías. Se caracteriza por un grave retraso del crecimiento, se presenta en niños menores de un año de edad.

Por otro lado, kwashiorkor es un término aplicado a un niño cuya ingesta de carbohidratos es variable pero no tiene proteínas en su dieta, generalmente se registra en niños de 1 a 5 años de edad (Behrman y col., 1986, Golden, 2002, Frenk, 1989). La característica principal es el edema (Krawinkel, 2003, Sauerwein y col,1997), pero se presentan otros síntomas como son: Manos y pies hinchados, el cabello cambia de color y cae con facilidad al tocarlo, la piel se descama, siempre está reseca y se rasga con facilidad, el niño no crece, tiene antebrazos muy delgados, se muestra triste, tiene anemia, presenta diarrea semilíquida, no tiene ganas de comer, tiene el estómago hinchado y apatía mental pronunciada (Sauerwein y col, 1997, Vega-Franco, 1999). Pese a no ser una manifestación necesaria para el diagnóstico, el retraso del crecimiento suele formar parte del

cuadro clínico del kwashiorkor. Fisiológicamente el kwashiorkor es una desnutrición más compleja que el marasmo porque sus efectos son más amplios debido a deficiencias en aminoácidos específicos y su asociación con enfermedades oportunistas (Parra- Gámez y col., 2003) (Figura 2).



**Figura 2.** kwashiorkor es un término aplicado a un niño que come carbohidratos pero no tiene proteínas en su dieta. Generalmente se registra en niños de 1 a 5 años de edad.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Desnutrición e infecciones**

A nivel mundial, aproximadamente un tercio de la población infantil padece desnutrición calórico-proteica, afectando principalmente a África, Asia, América Latina y Oceanía, y es la causa de aproximadamente el 55% de las muertes de niños entre 1 y 4 años de edad (Nájera y col., 2001<sup>a</sup>; Pelletier y col., 1993).

En México se tiene reconocido que la prevalencia de niños con desnutrición es de 46.4%, distribuidos en 36.1% en primer grado, 9.0% en segundo y 1.3% en tercer grado. Los niveles más altos de desnutrición se registran en Guerrero, Yucatán, Campeche, Oaxaca, Puebla y Chiapas, en tanto que la menor prevalencia se registra en estados del norte (Ávila-Curiel y col., 1998; Parra-Gámez y col., 2003).

En 1968 se estableció por primera vez que la relación entre la desnutrición y las infecciones era sinérgica, ya que se encontraron evidencias que mostraban el efecto adverso de las infecciones sobre el estado nutricional de los individuos y,

por otro lado, el incremento en la susceptibilidad a contraer infecciones de organismos desnutridos (Barreto y col., 2000, Scrimshaw y SanGiovanni, 1997).

A partir de ese año se llevaron a cabo estudios epidemiológicos que han confirmado que la desnutrición y las infecciones mantienen una relación estrecha, sin embargo, el estado nutricional no afecta por igual el curso de todas las infecciones (Chandra, 1996).

Se ha reportado que para algunas infecciones como la diarrea (bacteriana o viral), la neumonía y la tuberculosis, el curso clínico y el desenlace de las mismas, se ven agravados cuando el organismo está desnutrido (Chandra, 1991, Dai y col., 1998). Para otras patologías como la encefalitis viral o el tétanos, el efecto del estado nutricional es mínimo, mientras que para algunas más como la influenza viral y el SIDA, la desnutrición tiene un efecto moderado (Chandra, 1996).

## **2.2 Efectos de la desnutrición a nivel genético**

La observación de que el daño cromosómico puede ser causado por la exposición a radiaciones o a agentes carcinogénicos fue la primera evidencia de que existen agentes físicos y químicos capaces de causar alteraciones en el material genético de las células eucariotas (Fenech, 2000).

Los estudios en el área de la toxicología genética han generado un número importante de procedimientos *in vivo* e *in vitro*, los cuales han sido diseñados para monitorear los efectos que diversos agentes físicos y químicos tienen sobre la integridad genética, así como los posibles riesgos que estos representan para los organismos (un ejemplo sería el estudio del efecto de las radiaciones sobre el material genético de pacientes con cáncer) (Abramsson-Zetterberg y col., 2000, Krishna y Hayashi, 2000). Entre estos procedimientos se incluyen: la medición de proteínas asociadas al ADN, localización de mutaciones puntuales o eventos genéticos que afectan a un gen específico, ensayos para detectar intercambios de cromátidas hermanas, detección de aberraciones cromosómicas, ensayo de MN y detección de mutaciones en minisatélites (Abramsson-Zetterberg y col., 2000).

A nivel citogenético se ha demostrado que es capaz de producir aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y daño al ADN.

Se ha reportado que el daño al ADN en células de niños desnutridos, puede deberse a varios factores, entre ellos:

1. Las infecciones parasitarias y bacterianas asociadas a la desnutrición, que son capaces de activar una respuesta inmunológica, traen como consecuencia el incremento en las concentraciones de radicales libres, que induce a su vez daño al ADN (Canella y col., 1996).

2. Las toxinas liberadas por algunos agentes patógenos pueden inducir daño al ADN de la célula huésped, incluso se ha reportado que ciertas enzimas bacterianas pueden actuar como DNAsas o como endonucleasas (Ahuja, 1991).

3. Los niños desnutridos muestran una deficiencia en moléculas antioxidantes como la vitamina C y el glutatión y se ha observado que las concentraciones de estos compuestos son especialmente bajas en niños que presentan kwashiorkor (Lenhartz y col., 1998).

4. Algunos antibióticos pueden producir radicales libres y consecuentemente el sistema antioxidante podría ser afectado en niños con desnutrición calórico proteica (González y col., 2002<sup>b</sup>).

5. Existen antibióticos que interfieren con la síntesis de ADN, otros como los aminoglucósidos interfieren con la traducción de proteínas y tienen una alta afinidad por el ADN (Kovacic y Beevar, 2000).

6. La deficiencia de proteínas (que es muy común entre los niños desnutridos) puede alterar los procesos de replicación y reparación del ADN (González y col., 2002<sup>a, b</sup>).

La desnutrición puede generar alteraciones a diversos niveles: bioquímico, celular, inmunológico, neurológico, conductual y citogenético (Chandra, 1996).

En 1971 Betancourt inició un programa de investigación sobre el efecto producido por la desnutrición calórico proteica en los niveles citogenético y celular (Betancourt y Ortiz, 1991). Ortiz y colaboradores (1997) encontraron que la frecuencia de MN en linfocitos de niños con desnutrición calórico proteica era



mayor comparada con BN sanos. Mas aún, registraron que los linfocitos de niños desnutridos tratados con mitomicina C, presentaban más daño citogenético que los no tratados.

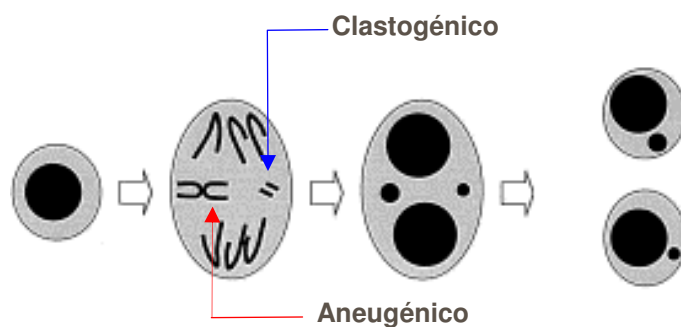
De igual forma, por medio del ensayo cometa se ha detectado que la desnutrición causa daño al ADN, aunque este daño también se ha asociado con la presencia de infecciones y el tratamiento farmacológico al que se somete a los niños que presentan estas patologías (Betancourt y col., 1995).

Por otro lado, el análisis de intercambio de cromátidas hermanas ha revelado resultados controversiales, mientras que Mutchinick y colaboradores (1979) encontraron que la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas era similar en BN y niños desnutridos. En 1994 Murthy y Rahiman, y Ortiz y colaboradores observaron una alta frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas en niños desnutridos.

### **2.3 El ensayo de MN**

Las aberraciones cromosómicas estructurales pueden ser el resultado de varios eventos, entre los principales se encuentran: el rompimiento del ADN, la replicación del ADN sobre un molde dañado y la inhibición de la síntesis de ADN (Albertini, 2000).

Los MN son estructuras extranucleares de cromatina, pueden apreciarse como fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que no son incorporados dentro del núcleo celular cuando las células se dividen (Dertinger y col., 2000). Estas estructuras pueden ser generadas por el rompimiento de la cadena de ADN por la acción de agentes clastogénicos (clastogenicidad), o por una disfunción del huso mitótico durante la división celular como resultado de la exposición a agentes aneugénicos (aneugenicidad) (Dertinger y col., 2002, Torous y col., 2003). (Figura 3).



**Figura 3.** Los MN pueden apreciarse como fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que no son incorporados dentro del núcleo celular cuando las células se dividen. (Tomada de Dertinger y col., 2000).

El ensayo de MN es un método sensible que permite identificar agentes que causan la formación de estas estructuras como resultado de fragmentos de cromosomas o cromosomas completos (Krishna y Hayashi, 2000, Norppa y Ghita, 2003), *in vivo* es especialmente útil para caracterizar el poder genotóxico de factores del metabolismo, de fármacos y de los procesos involucrados en la reparación del ADN (Miller y col., 1998).

Este ensayo se ha desarrollado en diferentes modelos biológicos, tales como células de mucosa bucal, esófago, bronquios, vejiga urinaria, cervix, linfocitos, células de médula ósea y eritrocitos (Albertini, 2000, Majer y col., 2001, Kirsch-Volders y Fenech, 2001). Sin embargo, el ensayo de MN con EM de ratón es el más usado para detectar daño cromosómico. Esto se debe a que la prueba cubre una serie de criterios que la caracterizan como un método de biomonitorio adecuado: las células de interés son abundantes y accesibles, no necesitan ser cultivadas y su detección es relativamente fácil (Abramsson- Zetterberg y col., 1997, Torous y col., 2003). Además, los análisis basados en este tipo de células, ofrecen varias ventajas: no es un método invasivo, se requiere muy poco volumen

de sangre y el manejo de las muestras es relativamente fácil (Dertinger, 2003, Norppa y Ghita, 2003).

Aunque históricamente se ha considerado poco apropiado para realizar este ensayo, el uso de sangre periférica de las especies cuyo bazo remueve rápidamente a células aberrantes, estudios hechos con ratas, han demostrado que los RET circulantes representan una población adecuada para estudiar la frecuencia de MN en un organismo (Dertinger y col., 2003). Se ha observado que la sensibilidad de la técnica se incrementa cuando el análisis se restringe a los RET, la fracción más inmadura de EM (Abramsson- Zetterberg y col., 200, Torous y col., 2000).

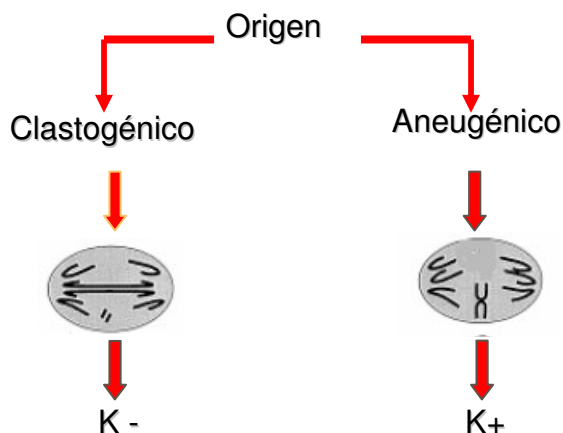
Dertinger y col. (2002), describieron un método basado en la citometría de flujo para cuantificar la incidencia de MN en poblaciones inmaduras de RET en sangre periférica de humanos, y encontraron que la estrategia usada era capaz de proporcionar resultados confiables, por lo que puede ser usada para estudiar el daño citogenético.

Por otro lado, el uso de anticuerpos fluorescentes como el anti-CD-71 para identificar a los eritrocitos recién formados, ha ofrecido una buena alternativa para determinar la cantidad de RET con MN usando la citometría de flujo (Dertinger y col. 2002).

Recientemente Dertinger y col. (2003; 2004) demostraron que las plaquetas en el análisis de sangre periférica de humano, interfieren con la región de análisis de RET con MN, por lo que implementaron el uso de anticuerpos contra estas estructuras para excluirlas de dicha región y obtener conteos aún más confiables.

Asimismo, el mecanismo por el cual se origina el micronúcleo puede ser determinado por la presencia del cinetocoro (utilizando anticuerpos anti-cinetocoro) o por la presencia de secuencias de ADN centroméricas (utilizando la técnica de hibridación *in situ* con fluorescencia FISH) (Kirsch-Voldesrs y col., 1997, Thomson y Perry, 1988, Norppa y col., 1993). Si se observa un micronúcleo con cinetocoro-positivo/centrómero-positivo, el micronúcleo está formado un cromosoma completo o fragmentos céntricos. Si el micronúcleo es cinetocoro-

negativo/centrómero-negativo, se asume que está formado por fragmentos cromosómicos acéntricos (Albertini, 2000, Catalán y col., 2000, Norppa y Ghita, 20003) (Figura 4).



**Figura 4.** El origen del micronúcleo se detecta de acuerdo a la ausencia o presencia del cinetocoro. Si se observa un micronúcleo con cinetocoro-positivo/centrómero-positivo, el MN está formado un cromosoma completo o fragmentos céntricos. Si el micronúcleo es cinetocoro-negativo/centrómero-negativo, está formado por fragmentos cromosómicos acéntricos.

En este trabajo se desarrolló el tipo de análisis propuesto más recientemente para obtener resultados con la confiabilidad aceptada actualmente en la literatura internacional. Esto es: el uso de anti-CD-71 para diferenciar las poblaciones de RET y de EM, del IP para detectar ADN, y anti-CD61 para marcar plaquetas.

En este trabajo se utilizaron eritrocitos humanos como modelo biológico y el análisis multiparamétrico de “tres colores” con citometría de flujo como herramienta para establecer la relación entre el estado nutricional del organismo y el daño citogenético que puede haberse ocasionado.

## 2.4 Eritropoyesis

La hematopoyesis se define como la serie de elementos concatenados que se inician a nivel unicelular con autoduplicación, seguidos de diferenciación y maduración, culminando con la producción de células sanguíneas funcionales. Los principales tipos de células sanguíneas proceden de una célula tallo pluripotencial, en el adulto las células madre se localizan principalmente en la médula ósea roja (Sans-Sabafren, 2001).

El proceso por medio del cual las células rojas se producen en la médula ósea es denominado eritropoyesis. Para efectos descriptivos, este proceso puede dividirse en varias etapas:

- La fase temprana o fase independiente de EPO (EPO-independiente) y
- La fase tardía o dependiente de EPO (EPO-dependiente).

Bajo condiciones normales, la eritropoyesis es un proceso de producción constante de células rojas. Existen mecanismos de control involucrados en la regulación de la producción de eritrocitos, de los cuales la EPO es la principal reguladora de la producción de células rojas.

La eritropoyesis involucra una gran variedad y número de células en diferentes estados de maduración, comenzando con la primera célula madre comprometida para la diferenciación “eritrocitaria” y terminando con las células rojas maduras circulantes en sangre (Lee, 1993).

Las células madre o unidades formadoras de colonias (CFU's por sus siglas en inglés) generan progenies con el potencial de diferenciarse en células rojas, granulocitos y megacariocitos. En el humano, se han reconocido al menos dos progenitores eritroides, la unidad formadora de colonias eritroides (CFU-E) y la unidad formadora de bolsas eritroide (BFU-E).

La CFU-E es una célula eritroide cercana a los proeritroblastos, bajo la influencia de concentraciones bajas de EPO genera eritroblastos que contienen hemoglobina. Morfológicamente son células inmaduras que contienen cromatina, un nucleolo largo y definido, una relación núcleo-citoplasma alta y un citoplasma basofílico con pseudópodos.

La BFU-E es un progenitor eritroide más inmaduro que la CFU-E y está más cercana a las células madre multipotenciales. Morfológicamente se aprecian como células ligeramente ovals, con un citoplasma moderadamente basofílico con pseudópodos ocasionales, con cromatina nuclear y un nucléolo grande.

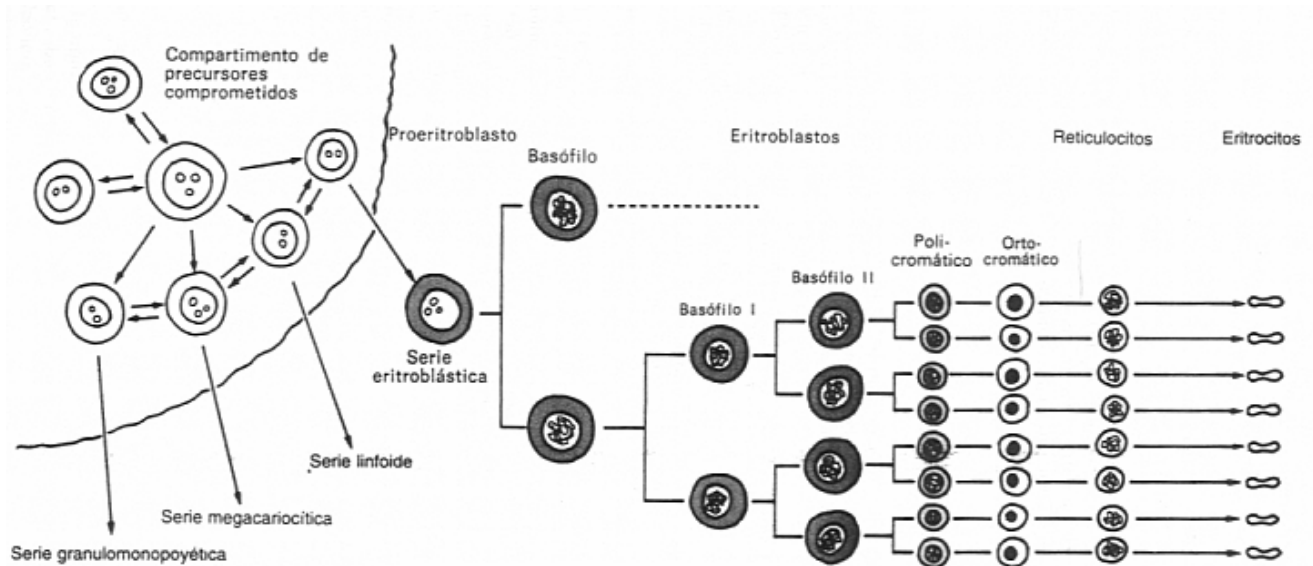
Los proeritroblastos son los precursores de los eritroblastos que son células rojas nucleadas y se han clasificado en dos principales categorías: normoblastos (cuando pertenecen a una serie normal) y megaloblastos (se presentan en condiciones patológicas).

Los subsiguientes estados de maduración son los pronormoblastos, normoblastos basofílicos, normoblastos policromáticos y normoblastos ortocromáticos. La maduración citoplásmica puede observarse por el cambio en las características de tinción con colorantes policromáticos, que va desde un azul profundo debido al alto contenido de ARN que las células inmaduras poseen, hasta el color rojo característico de la hemoglobina. En cuanto a la maduración nuclear se observa la desaparición del núcleo y la condensación de la cromatina desaparece (Figura 5).

Una vez que el núcleo ha sido expulsado, las células son conocidas como RET. Estas células son un poco más grandes que los EM, contienen ribosomas, mitocondrias y aparato de Golgi y poseen características especiales de tinción. Estas células pueden permanecer en la médula ósea durante varios días antes de su liberación, después de ésta, los RET pueden ser secuestrados en el bazo durante uno o dos días. En este órgano, se pueden dar eventos de maduración y la composición de la membrana puede ser alterada (Lee, 1993).

Cuando un RET se transforma en un EM, el núcleo principal ya ha sido expulsado y cualquier MN que se haya formado permanecerá en el citoplasma "anucleado". La visualización del MN es más fácil en los RET porque carecen de núcleo, además los eritroblastos son células en rápida división, por lo que estas células son muy usadas como modelos biológicos de estudio (Krishna y Hayashi, 2000, Torous y col., 2003).

El método utilizado en este trabajo se basa en la tinción diferencial de RET y EM, usando un anticuerpo marcado con un fluorocromo (anti-CD71-FITC). El antígeno CD-71 es el receptor a transferrina, se trata de una glicoproteína de membrana que se expresa en las células que se están dividiendo. Dado que CD71 deja de expresarse cuando los RET se transforman a EM, el anti-CD71-FITC tiñe específicamente a los RET (Dertinger y col., 2002).



**Figura 5.** La eritropoyesis incluye gran variedad y número de células en diferentes estados de maduración, comenzando con la primera célula madre comprometida para la diferenciación eritrocitaria y terminando con las células rojas maduras circulantes en sangre. (Tomada de Lee, 1993).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

La desnutrición es un padecimiento que genera alteraciones a diversos niveles: conductual, bioquímico, celular, inmunológico y citogenético.

A nivel citogenético se ha demostrado que la desnutrición grave produce aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas, MN en linfocitos y daño al ADN.

Bajo este contexto es de suma importancia obtener nuevos datos en diferentes tipos celulares que permitan analizar y conocer mejor los efectos de la desnutrición sobre el material genético.

Por otro lado, los efectos de la desnutrición moderada sobre el ADN han sido poco estudiados. Sin embargo, previamente se reporta (Nájera y col., 2001<sup>b</sup>) que ésta es una condición que parece generar alteraciones aún mas profundas que la desnutrición grave, por lo que es relevante desarrollar estudios que ayuden a dilucidar las secuelas que este grado de desnutrición ocasiona en el material genético. Lo anterior también resulta de especial importancia dado que la desnutrición moderada se presenta con mayor frecuencia que la desnutrición grave en la población infantil.

Al mismo tiempo, es necesario desarrollar métodos sensibles y rápidos capaces de determinar los efectos citogenéticos de la desnutrición y el ensayo de MN por citometría de flujo es una muy buena alternativa.

Es importante resaltar que dentro de las pruebas diseñadas para detectar el daño al ADN, la de MN es una de las más aceptadas, dado que reúne características que la hacen un buen método de biomonitorio, que permite mediciones sensibles, objetivas, confiables y rápidas, lo cual podría ser aplicado dentro del diagnóstico clínico.

Además el método propuesto en este trabajo, utilizando citometría de flujo y la detección específica de eritrocitos inmaduros, es un candidato ideal para su uso en humanos, ya que toma en cuenta la eficiencia con la que el bazo remueve a los eritrocitos aberrantes y contempla la detección de los MN en células inmaduras (RET) y maduras, lo cual hace que la prueba ofrezca las ventajas antes citadas



#### **4. HIPÓTESIS**

Dado que a través de diversos estudios se ha demostrado que la desnutrición causa alteraciones a nivel citogenético, se espera que la desnutrición moderada y grave, causen alteraciones en la frecuencia de MN en eritrocitos de niños con ambos grados de desnutrición, en comparación a la observada en eritrocitos de BN.

#### **5. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar las alteraciones causadas por la desnutrición moderada y grave, así como por las infecciones asociadas a ella, sobre el material genético, mediante el conteo de MN en eritrocitos de sangre periférica de niños desnutridos.

#### **6. OBJETIVOS PARTICULARES**

- Estandarizar la técnica para la evaluación de MN en RET y EM de sangre periférica de niños, utilizando el marcaje de “tres colores” para diferenciar las poblaciones de RET y de EM, detectar ADN, y eliminar plaquetas y agregados celulares de la región de análisis.
- Evaluar la frecuencia de MN en eritrocitos de BN, BNI, DES-M y DES-G.
- Correlacionar la presencia de infecciones con la frecuencia de MN detectados en la sangre periférica de BN, BNI, DES-M y DES-G.
- Correlacionar el tratamiento farmacológico con la frecuencia de MN detectados en la sangre periférica de BN, BNI, DES-M y DES-G.
- Analizar las posibles diferencias en la frecuencia de MN en los niños con desnutrición grave con relación al tipo clínico de desnutrición: marasmo vs. kwashiorkor.
- Analizar la frecuencia de RET y EM en sangre periférica de los niños de los grupos mencionados.

## 7. MATERIAL Y MÉTODO

### 7.1 Grupos de estudio

Se trabajó con pacientes del Hospital Pediátrico de Iztapalapa del Gobierno del Distrito Federal. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética Médica de la Dirección General de Servicios Médicos del Gobierno del Distrito Federal y cuenta con el consentimiento por escrito de los padres.

Las edades de los niños estuvieron comprendidas entre los 6 meses y los 5 años.

Utilizando jeringas previamente heparinizadas se obtuvo sangre periférica de niños, los cuales fueron clasificados en cuatro grupos de estudio:

- **Grupo 1 (BN):** Se conformó con 11 BN, con peso y talla adecuados para la edad. Sus edades estuvieron en el intervalo de los 6 a los 48 meses. Siete de ellos eran del sexo masculino y 4 del sexo femenino (Tabla 1).

**Cuadro 1.** Características de los niños del grupo BN. Se muestra la edad y el sexo de los niños que conformaron este grupo. n = 11.

Clave	Edad (meses)	Sexo
01	6	M
02	48	M
03	6	M
04	36	M
05	44	F
06	6	M
07	8	F
08	10	F
09	48	F
10	7	M
11	27	M

- **Grupo 2 (BNI):** BNI con peso y talla adecuados para la edad, con infecciones gastrointestinales y respiratorias de tipo bacteriano. Se obtuvo sangre periférica de 11 niños, 8 de sexo masculino y 3 de sexo femenino, las edades oscilaron entre los 6 y 48 meses, 8 niños presentaron infecciones respiratorias y 3 infecciones gastrointestinales (Tabla 2).

**Cuadro 2.** Características de BNI. Se muestra la edad, sexo y tipo de infección para cada niño del grupo. n = 11.

Clave	Edad (meses)	Sexo	Tipo de infección
12	48	M	Respiratoria
13	36	M	Respiratoria
14	8	M	Respiratoria
15	24	M	Respiratoria
16	40	F	Respiratoria
17	30	M	Gastrointestinal
18	16	M	Respiratoria
19	36	M	Gastrointestinal
20	30	F	Gastrointestinal
21	6	F	Respiratoria
22	27	M	Respiratoria

- **Grupo 3 (DES-M):** Niños que presentaron un déficit de peso/talla mayor al 25% y menor al 40% para la edad y talla, además de infecciones gastrointestinales y/o respiratorias de tipo bacteriano. En este grupo se incluyeron 9 pacientes, 4 de sexo masculino y 5 de sexo femenino. Sus

edades estuvieron comprendidas entre los 7 y 20 meses. 4 niños presentaron infecciones gastrointestinales, 3 en vías respiratorias, uno trauma craneal y uno más con infección en vías urinarias. (Tabla 3).

**Cuadro 3.** Características de los niños pertenecientes al grupo DES-M. Se indica la edad, sexo, déficit de peso y tipo de infección para cada niño del grupo. n = 9.

Clave	Edad (meses)	Sexo	Déficit de peso (%)	Tipo de infección
23	13	M	38.5	Gastrointestinal
24	13	F	25	Trauma craneal
25	10	M	29	Gastrointestinal
26	7	M	35	Respiratoria
27	10	F	25	Urinaria
28	17	F	29	Gastrointestinal
29	10	M	25	Gastrointestinal
30	20	F	25	Respiratoria
31	7	F	27	Respiratoria

➤ **Grupo 4 (DES-G):** Niños que presentaron un déficit de peso/talla superior al 40% además de infecciones gastrointestinales y/o respiratorias de tipo bacteriano. El grupo incluyó 11 niños, de los cuales 6 presentaban desnutrición tipo marasmo y 5 del tipo kwashiorkor. Sus edades iban de los 9 a los 31 meses, 5 pacientes eran niñas y 6 niños. Tres individuos presentaron infecciones en vías respiratorias, seis infecciones gastrointestinales, uno infección mixta y uno infección en vías urinarias (Tabla 4).

**Cuadro 4.** Características de los pacientes del grupo DES-G. Se indica la edad, sexo, déficit de peso, tipo de desnutrición y de infección presentadas por los niños de este grupo. n = 11.

<b>Clave</b>	<b>Edad (meses)</b>	<b>Sexo</b>	<b>Déficit de peso (%)</b>	<b>Tipo de desnutrición</b>	<b>Tipo de infección</b>
<b>32</b>	12	F	43	Marasmo	Urinaria
<b>33</b>	9	F	40	Marasmo	Gastrointestinal
<b>34</b>	10	M	58	Marasmo	Respiratoria
<b>35</b>	6	M	48	Marasmo	Gastrointestinal
<b>36</b>	31	M	34	Marasmo	Respiratoria
<b>37</b>	21	F	53	Kwashiorkor	Gastrointestinal
<b>38</b>	7	M	44	Marasmo	Gastrointestinal
<b>39</b>	9	F	40	Kwashiorkor	Gastrointestinal
<b>40</b>	21	F	54	Kwashiorkor	Gastrointestinal
<b>41</b>	26	M	48	Kwashiorkor	Gastrointestinal- Respiratoria
<b>42</b>	9	M	42	Kwashiorkor	Respiratoria

La severidad o grado de la desnutrición fue evaluada de acuerdo a los signos clínicos y a los síntomas presentados, así como con la valoración del déficit peso/talla, según lo establecido en las tablas de peso/talla para niños mexicanos de Ramos- Galván (1976). Las infecciones bacterianas fueron diagnosticadas rigurosamente de acuerdo a los datos clínicos y a las pruebas de laboratorio de rutina.

Los niños hospitalizados por infecciones virales, tuberculosis, enfermedades cardíacas o alergias, fueron excluidos del estudio.

Debido a que los niños de los grupos BNI, DES-M y DES-G presentaban infecciones, fueron sometidos a tratamientos farmacológicos, los cuales incluyeron antipiréticos, antibióticos y desinflamatorios.

A los niños del grupo BNI se les administraron diferentes medicamentos (Tabla 5). Para combatir las infecciones respiratorias el medicamento más usado fue ceftriaxona, seguido por la ampicilina, la ranitidina (para evitar daño en la mucosa intestinal) y el TMP-SMX. Los medicamentos menos usados fueron la bromexina y el salbutamol.

En cuanto a las infecciones gastrointestinales el medicamento mas usado fue el metronidazol, seguido por el TMP-SMX y por el metamizol.

**Cuadro 5.** Tratamiento farmacológico aplicado a los niños del grupo BNI. Se anotan los medicamentos utilizados para combatir las infecciones que presentaron los niños de este grupo.

<b>Clave</b>	<b>Infección</b>	<b>Medicamentos</b>
<b>12</b>	Respiratoria	Ampicilina, ceftriaxona, ranitidina, metilprednisolona
<b>13</b>	Respiratoria	Ceftriaxona, ampicilina
<b>14</b>	Respiratoria	Metilprednisolona, dicloxacilina
<b>15</b>	Respiratoria	Ceftriaxona, Metamizol, ranitidina
<b>16</b>	Respiratoria	Metilprednisolona
<b>17</b>	Gastrointestinal	Metronidazol, TMP-SMX
<b>18</b>	Respiratoria	Metronidazol, TMP-SMX, albendazol
<b>19</b>	Gastrointestinal	Metronidazol
<b>20</b>	Gastrointestinal	Metamizol, TMP-SMX
<b>21</b>	Respiratoria	Sin medicamentos
<b>22</b>	Respiratoria	Ceftriaxona, bromexina, salbutamol.

Dentro del grupo DES-M, los fármacos utilizados para combatir las infecciones respiratorias incluyeron penicilina sódica, dicloxacilina, amikacina y cisaprida, los fármacos utilizados en las infecciones gastrointestinales fueron ambroxol, metronidazol y TMP-SMX, para la infección urinaria se utilizó miconazol y amikacina.

El paracetamol fue el medicamento común para combatir la fiebre asociada con las infecciones respiratorias y gastrointestinales (Tabla 6).

**Cuadro 6.** Fármacos utilizados en el tratamiento de los diferentes tipos de infecciones presentados en el grupo DES-M.

<b>Clave</b>	<b>Infección</b>	<b>Medicamentos</b>
<b>23</b>	Gastrointestinal	Paracetamol
<b>24</b>	Trauma craneal	Paracetamol
<b>25</b>	Gastrointestinal	Paracetamol, penicilina sódica cristalina, ambroxol
<b>26</b>	Respiratorias	Paracetamol
<b>27</b>	Urinaria	Miconazol, amikacina
<b>28</b>	Gastrointestinal	TMP-SMX, metronidazol
<b>29</b>	Gastrointestinal	Paracetamol, ambroxol
<b>30</b>	Respiratoria	Penicilina sódica, paracetamol
<b>31</b>	Respiratoria	Dicloxacilina, amikacina, paracetamol, cisaprida

Los niños del grupo DES-G que presentaron infecciones respiratorias y de vías urinarias no fueron sometidos a tratamiento farmacológico hasta el momento de la toma de la muestra, mientras que los niños con infecciones gastrointestinales fueron tratados con amikacina, ranitidina, ceftriaxona y ácido valproico, el medicamento común fue el paracetamol. El niño con infección mixta fue medicado con ampicilina y ambroxol (Tabla 7).

**Cuadro 7.** Tratamiento farmacológico aplicado a niños con desnutrición grave que presentaron infección respiratoria, gastrointestinal y mixta.

<b>Clave</b>	<b>Infección</b>	<b>Medicamentos</b>
<b>32</b>	Urinaria	Sin medicamento
<b>33</b>	Gastrointestinal	Paracetamol
<b>34</b>	Respiratoria	Sin medicamento
<b>35</b>	Gastrointestinal	Amikacina, ranitidina
<b>36</b>	Respiratoria	Sin medicamento
<b>37</b>	Gastrointestinal	Paracetamol
<b>38</b>	Gastrointestinal	Ceftriaxona, ácido valproico, paracetamol
<b>39</b>	Gastrointestinal	Paracetamol
<b>40</b>	Gastrointestinal	Paracetamol
<b>41</b>	Gastrointestinal- Respiratoria	Ampicilina, ambroxol
<b>42</b>	Respiratoria	Metamizol,captopril

### **7.2 Obtención y fijación de la muestra**

De cada niño de los 4 grupos de estudio, se colectaron muestras de 0.5 mL de sangre periférica usando jeringas previamente tratadas con heparina sódica como anticoagulante (Nájera y col, 2001<sup>b</sup>).

De las muestras obtenidas se hicieron alícuotas de 100 µL, se hizo una dilución 1:2 con solución amortiguadora de bicarbonato (BBS) a pH 7.5. De esta dilución se tomaron alícuotas de 100 µL y enseguida se fijaron en metanol a -70°C. Posteriormente se almacenaron en el ultra congelador al menos durante 24 horas (Dertinger y col., 1996).



### **7.3 Marcaje de los eritrocitos**

#### **7.3.1 Detección de MN**

Las muestras se lavaron con BBS a 4<sup>0</sup> C para eliminar el fijador centrifugando a 600 g a 4<sup>0</sup> C durante cinco minutos. El botón recuperado se resuspendió y redistribuyó en alícuotas en 3 tubos de polipropileno.

En el tubo 1 se agregaron 20 µL de muestra + 80 µL de RNasa A (1 mg de RNasa/mL), en el tubo 2 se adicionaron 20 µL de muestra + 80µL (1 mg de RNasa/ mL)+ 5 µL anti-IgG2a-FITC (como control negativo), y en el tubo 3 se agregaron 20 µL de muestra + 80 µL de RNasa A (1 mg de RNasa/mL) + 5 µL anti-CD71-FITC + 50 µL de anti-CD-61 para marcar a RET (Dertinger y col., 1996, Torous y col., 1998).

Las muestras se incubaron a 4<sup>0</sup> C por 40 minutos y luego a 22<sup>0</sup> C por 90 minutos. Después se almacenaron a 4<sup>0</sup> C hasta que fueron analizadas en el citómetro de flujo.

En el momento del análisis se adicionó IP con el fin de evidenciar la presencia de ADN (Dertinger y col., 2000).

### **7.4 Análisis por Citometría de Flujo**

Se utilizó un citómetro de flujo modelo FACSCalibur (Becton Dickinson) con láser de argón a 488 nm de excitación, así como el “software” Cell Quest para analizar los datos obtenidos.

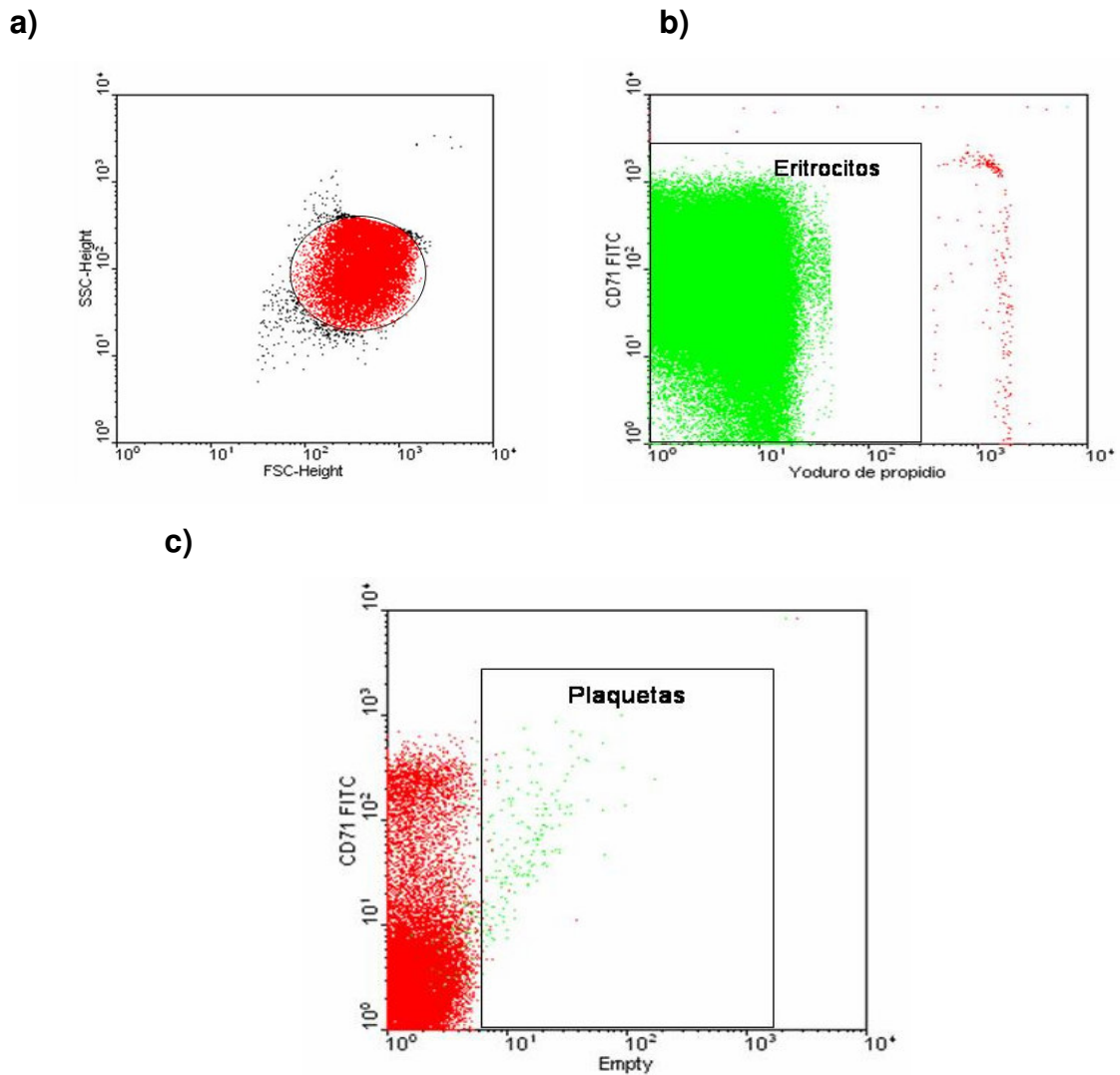
#### **7.4.1 Selección de la región de análisis**

Se adquirieron 500,000 eventos y se analizaron en gráficas de punto siguiendo la estrategia de “regionalización” que se describe a continuación y se ilustra en la Figura 6.

a - Selección de la región en “Forward Scatter (dispersión anterior de la luz) contra “Side Scatter” (dispersión lateral de la Luz) para delimitar la región de células individuales (se excluyen agregados celulares y restos celulares o deshechos)

b - Identificación de la región de acuerdo al contenido de ADN para separar a las células nucleadas. (IP vs. CD71).

c- Delimitación de la región, excluyendo a las plaquetas (CD61 vs. CD71).

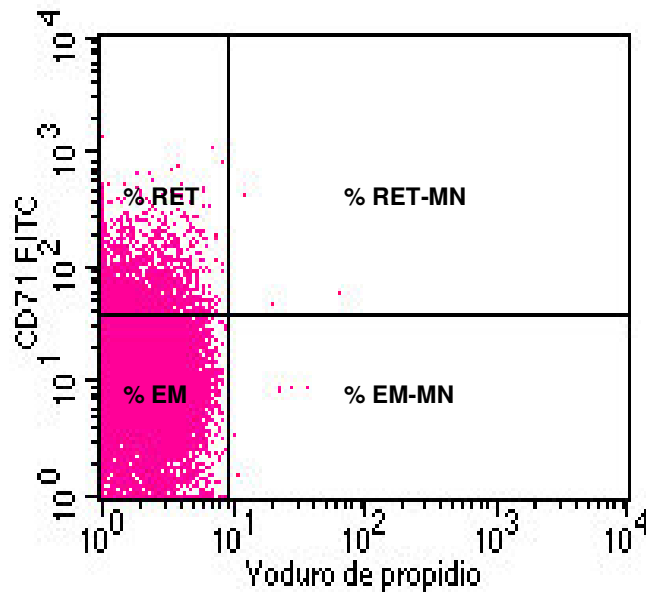


**Figura 6.** a) Selección de la región en “Forward Scatter (dispersión frontal de la luz) contra “Side Scatter” (dispersión lateral de la luz) para delimitar la región de células individuales, b) Identificación de la región de acuerdo al contenido de ADN para separar a las células nucleadas (IP vs. CD71), c) Delimitación de la región, excluyendo a las plaquetas (CD61 vs. CD71)

### 7.4.2 Tinción diferencial de diferentes poblaciones de eritrocitos

Una vez “delimitada” la región de análisis, de acuerdo a la tinción con CD71 y a IP, se detectaron las diferentes poblaciones de eritrocitos: EM, EM-MN, RET y RET-MN (Dertinger y col., 2000; Parker, 1993) (Figura 7).

Los porcentajes de RET, RET-MN y EM-MN fueron calculados de acuerdo a la forma propuesta por los laboratorios “Litron” (Rochester, NY) (Ortiz y col., 2004).



**Figura 7.** Se muestran las diferentes poblaciones de eritrocitos contempladas en este estudio: EM, EM-MN, RET y RET-MN.

### 7.5 Análisis estadístico

Para cada grupo se calculó el promedio y el error estándar (Prom. ± E. E.) de la frecuencia de RET; RET-MN y EM-MN.

Se comparó la frecuencia de MN entre los grupos de estudio utilizando una prueba de ANOVA, seguida de una prueba de U de Mann-Whitney, con una  $p \leq 0.05$ .

También se utilizó una prueba de t-Student para conocer las diferencias estadísticas entre la incidencia de RET, RET-MN y EM-MN entre los individuos que presentaban infecciones respiratorias y gastrointestinales dentro de cada

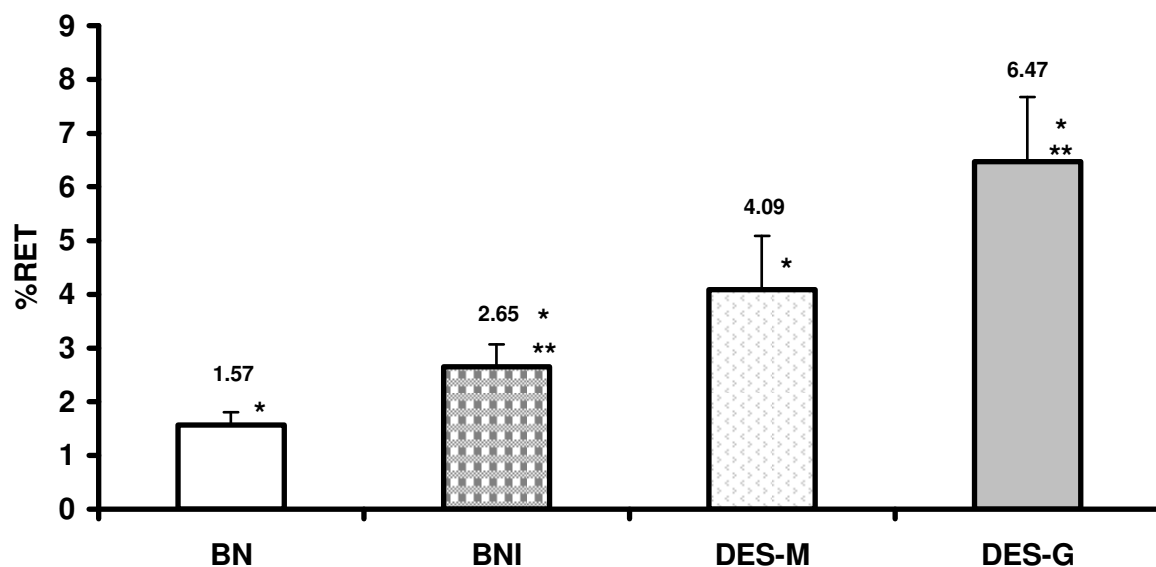
grupo, así como para conocer la diferencia estadística entre la frecuencia de RET, RET-MN y EM-MN entre los niños con desnutrición grave con una  $p \leq 0.05$ .

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Frecuencia de RET

En los BN la frecuencia promedio de RET en sangre periférica fue de  $1.57\% \pm 0.47$ , en el grupo BNI el promedio obtenido fue de  $2.65\% \pm 0.42$ , los niños pertenecientes al grupo DES-M mostraron un promedio de  $4.09 \pm 1.0$ , mientras que el grupo DES-G registró un promedio de  $6.47 \pm 1.20$ .

El porcentaje de RET para cada niño se muestra en la Tabla 8, en la cual se incluyen los cuatro grupos de estudio. Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs BNI, BN vs DES-M, BN vs DES-G y entre BNI vs DES-G.



**Figura 8.** Frecuencia promedio de RET en sangre periférica de niños BN, BNI, DES-M y DES-G. Se muestra la frecuencia promedio y el error estándar para cada grupo. Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs BNI,

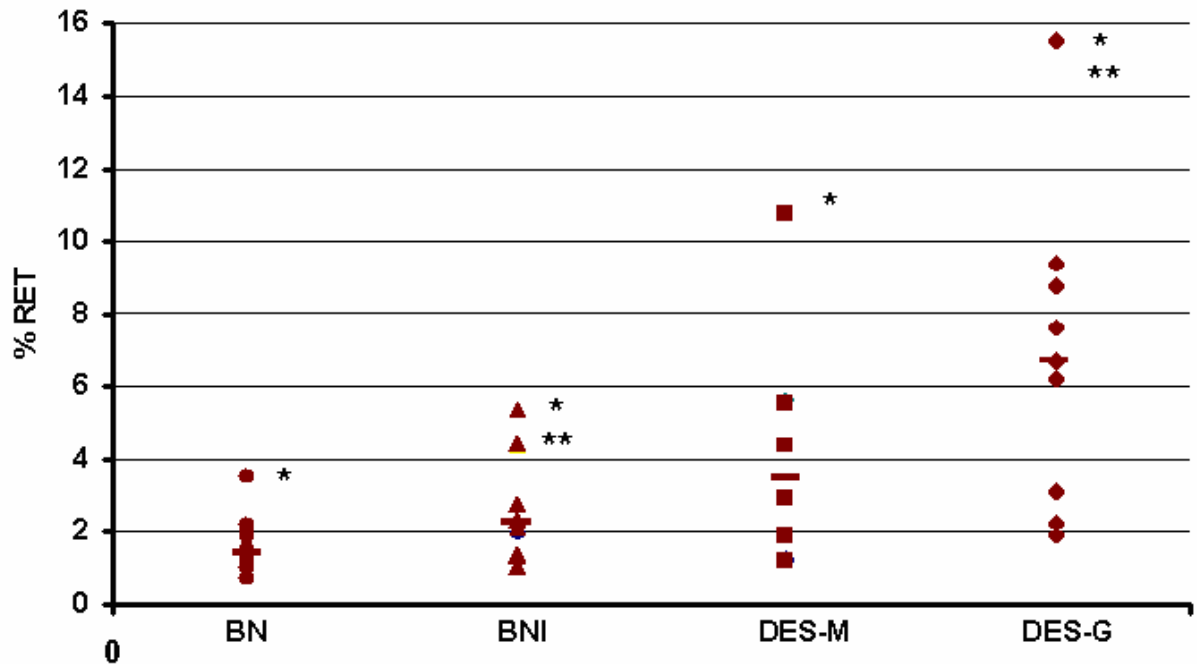
BN vs DES-M, BN vs DES-G (marcados con \*) y entre BNI vs DES-G (marcada con \*\*).

**Cuadro 8.** Porcentaje individual de RET de cada niño de los cuatro grupos de estudio. Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs BNI, BN vs DES-M, BN vs DES-G y entre BNI vs DES-G.

\*Niños tipo marasmo \*\* Niños tipo kwashiorkor

<b>BN</b>		<b>BNI</b>		<b>DES-M</b>		<b>DES-G</b>	
<b>Clave</b>	<b>Ret (%)</b>	<b>Clave</b>	<b>Ret (%)</b>	<b>Clave</b>	<b>Ret (%)</b>	<b>Clave</b>	<b>Ret (%)</b>
<b>10</b>	0.69	<b>21</b>	1.03	<b>26</b>	1.17	<b>33*</b>	1.89
<b>07</b>	0.7	<b>17</b>	1.31	<b>23</b>	1.21	<b>32*</b>	2.22
<b>09</b>	1.0	<b>16</b>	1.38	<b>24</b>	1.86	<b>39**</b>	3.05
<b>11</b>	1.18	<b>12</b>	1.98	<b>28</b>	2.89	<b>40**</b>	3.11
<b>01</b>	1.26	<b>19</b>	2.07	<b>27</b>	4.36	<b>36*</b>	6.18
<b>03</b>	1.39	<b>20</b>	2.20	<b>31</b>	5.52	<b>35*</b>	6.69
<b>08</b>	1.53	<b>18</b>	2.31	<b>29</b>	5.62	<b>42**</b>	6.70
<b>02</b>	1.87	<b>13</b>	2.74	<b>25</b>	5.79	<b>34*</b>	7.61
<b>06</b>	1.94	<b>14</b>	4.36	<b>30</b>	10.73	<b>41**</b>	8.76
<b>04</b>	2.18	<b>15</b>	4.42	-----	-----	<b>38*</b>	9.38
<b>05</b>	3.51	<b>22</b>	5.33	-----	-----	<b>37**</b>	15.53
<b>Prom</b>	1.56	<b>Prom</b>	2.65	<b>Prom</b>	4.09	<b>Prom</b>	6.47
<b>E.S.</b>	0.24	<b>E.S.</b>	0.42	<b>E.S.</b>	1.0	<b>E.S.</b>	1.20
<b>Mín-Máx</b>	0.69-3.51	<b>Mín-Máx</b>	1.03-5.33	<b>Mín-Máx</b>	1.17-10.73	<b>Mín-Máx</b>	1.89-15.53

En la Figura 9 se muestran los datos individuales de RET, para los grupos BN, BNI, DES-M y DES-G.



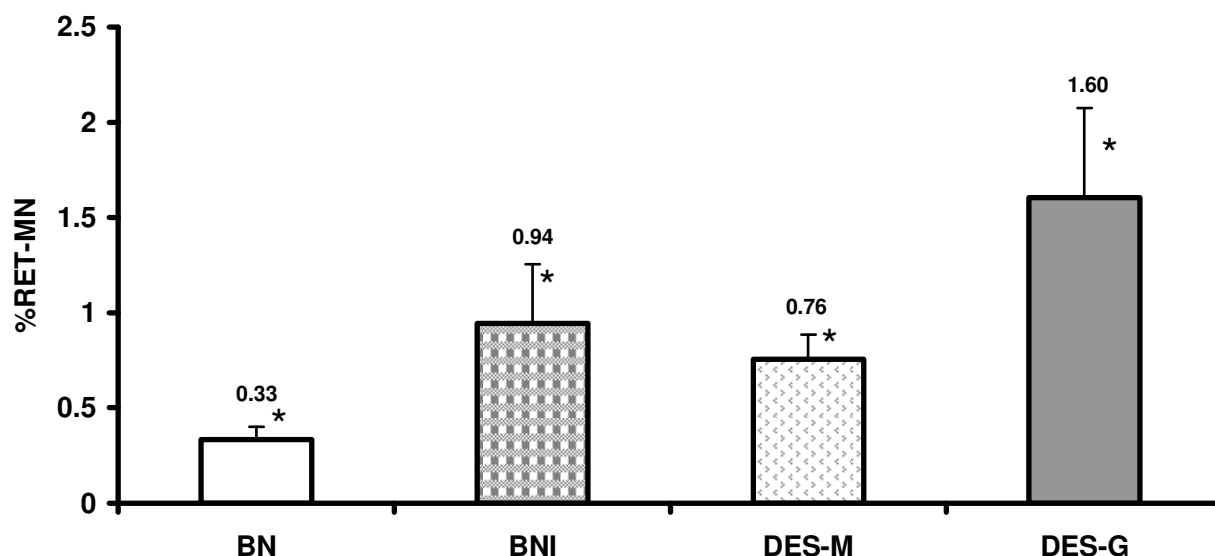
**Figura 9.** Datos individuales de RET de los cuatro grupos de estudio. Se muestra la mediana (—) y la dispersión en cada grupo de estudio. Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs BNI, BN vs DES-M, BN vs DES-G (marcados con \*) y entre BNI vs DES-G (marcada con \*\*). Los grupos BN, BNI y DES-G estuvieron conformados por once niños, mientras que DES-M estuvo conformado por nueve niños.

### 8.2 Frecuencia de RET-MN

Los niños del grupo BN presentaron un porcentaje promedio de RET-MN  $0.33\% \pm 0.06$ , el grupo BNI tuvo un promedio de  $0.94\% \pm 0.31$ , los pacientes del grupo DES-M registraron un promedio de  $0.76\% \pm 0.13$  y el grupo DES-G mostró una frecuencia promedio de  $1.60\% \pm 0.46$  (Figura 10).

Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs DES-M y BN vs DES-G. Adicionalmente la prueba U indica diferencia entre los grupos BN vs BNI

En la Tabla 9 se muestran los porcentajes individuales de RET-MN para cada uno de los grupos de los grupos de estudio, mientras que en la Figura 11 se puede observar la distribución de los datos individuales para los cuatro grupos de estudio.



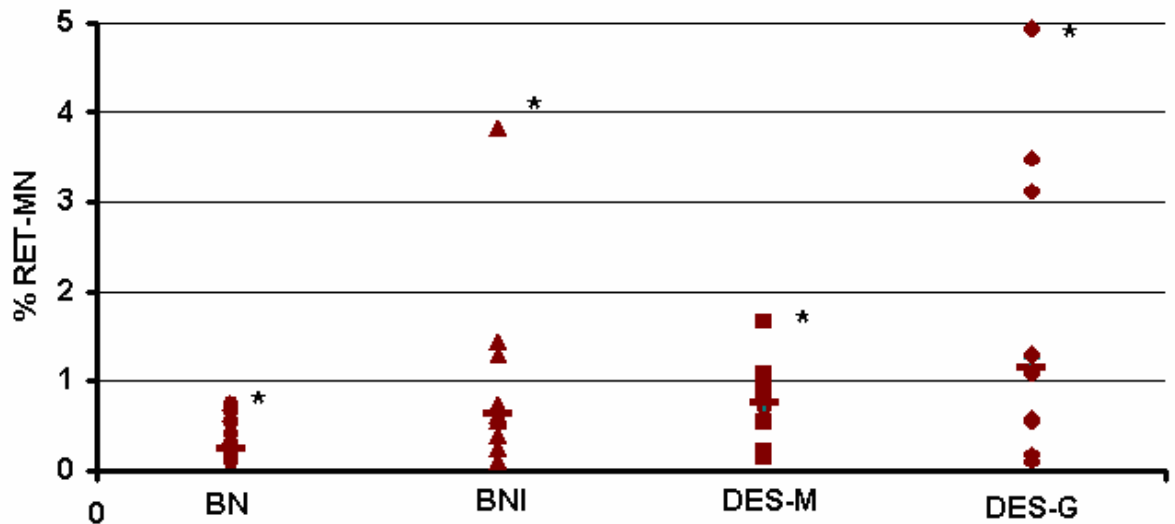
**Figura 10.** Frecuencia promedio de RET-MN en sangre periférica de niños BN (n = 11), BNI (n = 11), DES-M (n = 9) y DES-G (n = 11). Se muestra la frecuencia promedio así como el error estándar. Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs DES-M y BN vs DES-G. La prueba U de Mann-Whitney indica diferencia entre los grupos BN vs BNI. Las diferencias encontradas se marcan con \*.

**Cuadro 9.** Porcentajes individuales de RET-MN para BN (n= 11), BNI (n =11), DES-M (n = 9) y DES-G (n =11). Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs DES-M y BN vs DES-G. La prueba U de Mann-Whitney indica diferencia entre los grupos BN vs BNI.

<b>BN</b>		<b>BNI</b>		<b>DES-M</b>		<b>DES-G</b>	
<b>Clave</b>	<b>RET-MN (%)</b>	<b>Clave</b>	<b>RET-MN (%)</b>	<b>Clave</b>	<b>RET-MN (%)</b>	<b>Clave</b>	<b>RET-MN (%)</b>
<b>11</b>	0.09	<b>18</b>	0.09	<b>31</b>	0.13	<b>35*</b>	0.10
<b>08</b>	0.12	<b>15</b>	0.24	<b>27</b>	0.20	<b>37**</b>	0.17
<b>05</b>	0.16	<b>14</b>	0.38	<b>26</b>	0.52	<b>40**</b>	0.54
<b>01</b>	0.21	<b>22</b>	0.55	<b>28</b>	0.69	<b>33*</b>	0.56
<b>07</b>	0.22	<b>21</b>	0.58	<b>29</b>	0.75	<b>39**</b>	1.08
<b>10</b>	0.22	<b>17</b>	0.61	<b>30</b>	0.83	<b>32*</b>	1.13
<b>09</b>	0.29	<b>20</b>	0.68	<b>25</b>	0.97	<b>38*</b>	1.25
<b>02</b>	0.40	<b>12</b>	0.73	<b>23</b>	1.06	<b>41**</b>	1.29
<b>04</b>	0.54	<b>19</b>	1.28	<b>24</b>	1.65	<b>42**</b>	3.11
<b>06</b>	0.66	<b>13</b>	1.43			<b>36*</b>	3.48
<b>03</b>	0.74	<b>16</b>	3.82			<b>34*</b>	4.94
<b>Prom</b>	0.33	<b>Prom</b>	0.94	<b>Prom</b>	0.76	<b>Prom</b>	1.60
<b>E.S.</b>	0.06	<b>E.S.</b>	0.31	<b>E.S.</b>	0.13	<b>E.S.</b>	0.46
<b>Mín-Máx</b>	0.09-0.74	<b>Mín-Máx</b>	0.09-3.82	<b>Mín-Máx</b>	0.13-1.65	<b>Mín-Máx</b>	0.10-4.94

\* Niños tipo marasmo \*\* Niños tipo kwashiorkor



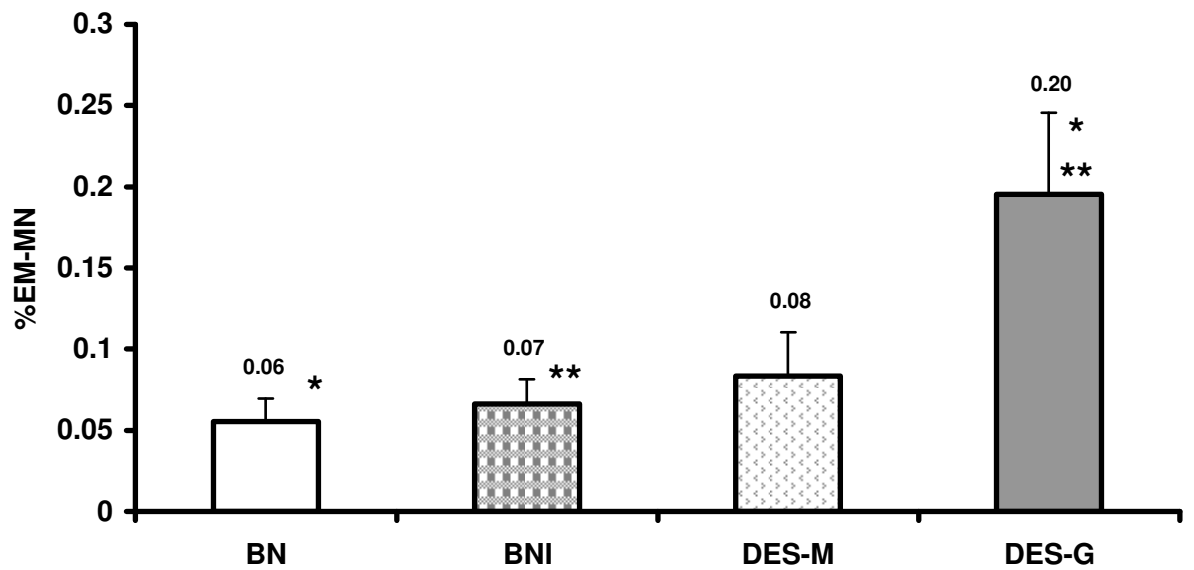


**Figura 11.** Distribución de los valores individuales obtenidos para RET-MN en cada grupo de estudio. Se muestra la mediana (—). Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs DES-M y BN vs DES-G. La prueba U de Mann-Whitney indica diferencia entre los grupos BN vs BNI. Las diferencias encontradas se marcan con \*. Los grupos BN, BNI y DES-G estuvieron conformados por once niños, el grupo DES-M se conformó por nueve niños.

### 8.3 Frecuencia de EM-MN

En cuanto a la frecuencia de EM-MN en sangre periférica, se observó que los grupos BN y BNI presentaron un promedio de  $0.06 \pm 0.01$  % y  $0.07 \pm 0.01$  % respectivamente. Los grupos DES-M y DES-G mostraron un promedio de  $0.08 \pm 0.02$  % y  $0.20$  % cada uno, así como un error estándar de  $0.05$  respectivamente (Figura 12).

Los porcentajes individuales de EM-MN, así como los valores individuales de los datos para cada grupo de estudio se muestran en la Tabla 10 y Figura 13 respectivamente. Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs DES-G y BNI vs DES-G.

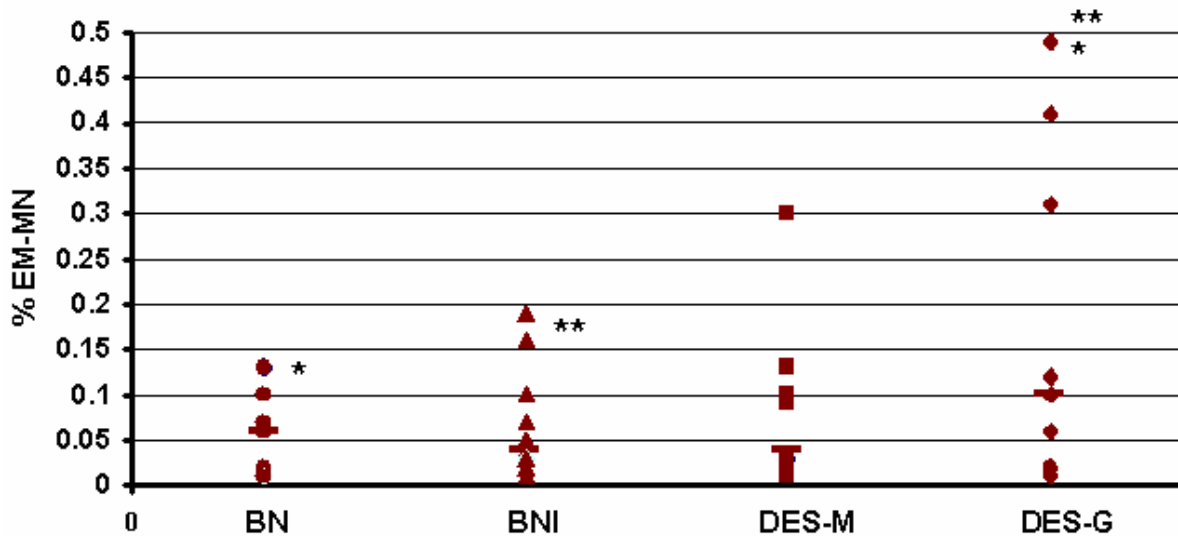


**Figura 12.** Frecuencia promedio de EM-MN en sangre periférica de niños BN (n=11), BNI (n = 11), DES-M (n = 9) y DES-G (n = 11). Se indica el error estándar. Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs DES-G y BNI vs DES-G.

**Cuadro 10.** Porcentajes individuales de EM-MN para los niños BN ( n= 11), BNI (n =11), DES-M (n = 9) y DES-G (n = 11). Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs DES-G y BNI vs DES-G.

\* Niños tipo marasmo \*\* Niños tipo kwashiorkor

<b>BN</b>		<b>BNI</b>		<b>DES-M</b>		<b>DES-G</b>	
<b>Clave</b>	<b>EM-MN (%)</b>	<b>Clave</b>	<b>EM-MN (%)</b>	<b>Clave</b>	<b>EM-MN (%)</b>	<b>Clave</b>	<b>EM-MN (%)</b>
<b>07</b>	0.01	<b>18</b>	0.01	<b>30</b>	0.01	<b>39**</b>	0.01
<b>08</b>	0.01	<b>20</b>	0.02	<b>29</b>	0.02	<b>37**</b>	0.02
<b>10</b>	0.01	<b>21</b>	0.03	<b>23</b>	0.03	<b>40**</b>	0.02
<b>11</b>	0.01	<b>22</b>	0.03	<b>26</b>	0.03	<b>33*</b>	0.06
<b>09</b>	0.02	<b>17</b>	0.03	<b>24</b>	0.04	<b>32*</b>	0.10
<b>04</b>	0.06	<b>19</b>	0.04	<b>25</b>	0.09	<b>35*</b>	0.10
<b>05</b>	0.06	<b>16</b>	0.05	<b>27</b>	0.10	<b>36*</b>	0.12
<b>06</b>	0.07	<b>13</b>	0.07	<b>31</b>	0.13	<b>41**</b>	0.31
<b>03</b>	0.10	<b>12</b>	0.10	<b>28</b>	0.30	<b>34*</b>	0.41
<b>01</b>	0.13	<b>15</b>	0.16	-----	-----	<b>42**</b>	0.49
<b>02</b>	0.13	<b>14</b>	0.19	-----	-----	<b>38*</b>	0.51
<b>Prom</b>	0.06	<b>Prom</b>	0.07	<b>Prom</b>	0.08	<b>Prom</b>	0.20
<b>E.S.</b>	0.01	<b>E.S.</b>	0.01	<b>E.S.</b>	0.02	<b>E.S.</b>	0.05
<b>Mín-Máx</b>	0.01-0.13	<b>Mín-Máx</b>	0.01-0.19	<b>Mín-Máx</b>	0.01-0.30	<b>Mín-Máx</b>	0.01-0.51



**Figura 13.** Datos individuales de EM-MN de los niños de los cuatro grupos de estudio. Se indica la distribución de los datos y la mediana (—) para cada grupo. Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos BN vs DES-G y BNI vs DES-G. Los grupos BN, BNI y DES-G se conformaron por once niños, mientras que en DES-G se incluyeron nueve niños.

#### 8.4 Frecuencia de RET, RET-MN y EM-MN en los grupos BNI, DES-M y DES-G

Debido a que las infecciones más recurrentes dentro de los grupos de estudio fueron las respiratorias y las gastrointestinales, se procedió a analizar el efecto de estas patologías sobre los porcentajes de RET, RET-MN y EM-MN.

Para llevar a cabo este análisis los grupos BNI, DES-M y DES-G, fueron divididos en 2 grupos a su vez: un grupo de niños con infecciones respiratorias (R) y un grupo compuesto por niños con infecciones gastrointestinales (G).

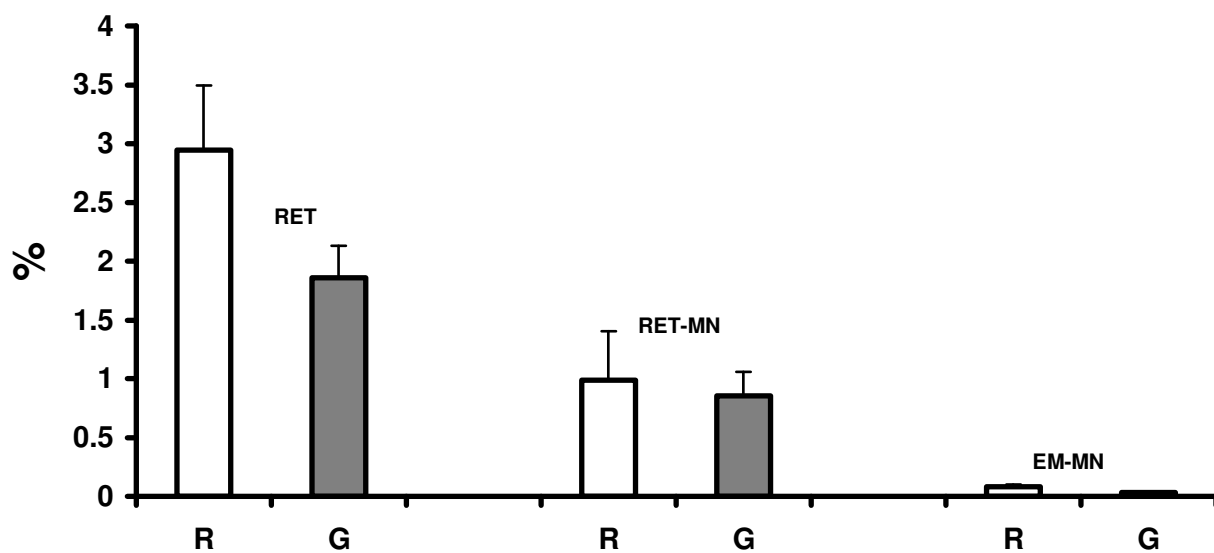
Al hacer este análisis no se encontró diferencia significativa en ninguno de los grupos ( $p > 0.05$ ), sin embargo las tendencias mostradas fueron las siguientes:

Con respecto al grupo BNI, se observó que los niños con infecciones respiratorias (R) presentaron mayor incidencia de RET, RET-MN y EM-MN, que aquellos con infecciones gastrointestinales (G).

El porcentaje promedio de RET relacionado con infecciones respiratorias fue de  $2.94 \pm 0.55\%$ , mientras que la incidencia de RET en los niños con infecciones gastrointestinales fue de  $1.86 \pm 0.27\%$ .

Los RET-MN mostraron una frecuencia promedio de  $1.08\% \pm 0.42$  en niños con infección respiratoria, mientras que en los niños que presentaron infecciones gastrointestinales fue de  $0.85 \pm 0.2\%$ .

Los niños con infecciones respiratorias presentaron una frecuencia promedio de EM-MN de  $0.08 \pm 0.02\%$ , mientras que en los niños que presentaron infecciones gastrointestinales se obtuvo una frecuencia promedio de  $0.03 \pm 0.005\%$ . (Figura 14).

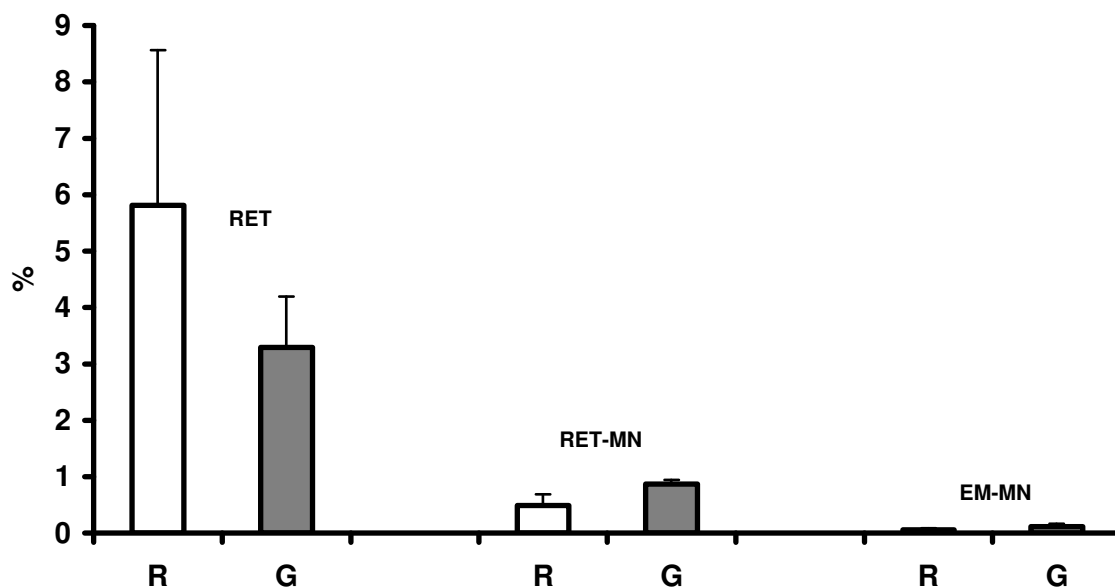


**Figura 14.** Porcentajes promedio de RET, RET-MN y EM-MN en BNI ( n= 11) con infecciones respiratorias y gastrointestinales. Se indica el error estándar. No se encontró diferencia significativa en ninguno de los grupos ( $p > 0.05$ ).

En el grupo DES-M se observó que los niños con infecciones respiratorias mostraron una mayor incidencia de RET (promedio:  $5.80 \pm 2.76\%$ ) en comparación con los que presentaron infecciones gastrointestinales, ya que el porcentaje promedio fue de  $3.29 \pm 0.91\%$ .

Con respecto a los RET-MN, en los niños con infecciones respiratorias se observó un porcentaje promedio mas bajo que el de los niños con infecciones gastrointestinales. Los valores promedio fueron:  $0.49 \pm 0.20\%$  y  $0.86 \pm 0.08\%$  respectivamente.

En relación a la frecuencia de EM-MN, se observó que los niños que padecían infecciones respiratorias presentaron una menor frecuencia de estas estructuras. La frecuencia promedio fue de  $0.05\%$  contra  $0.11\%$  obtenido en los niños que presentaron infecciones gastrointestinales, los errores estándar fueron de  $0.03$  y  $0.06$  respectivamente (Figura 15).

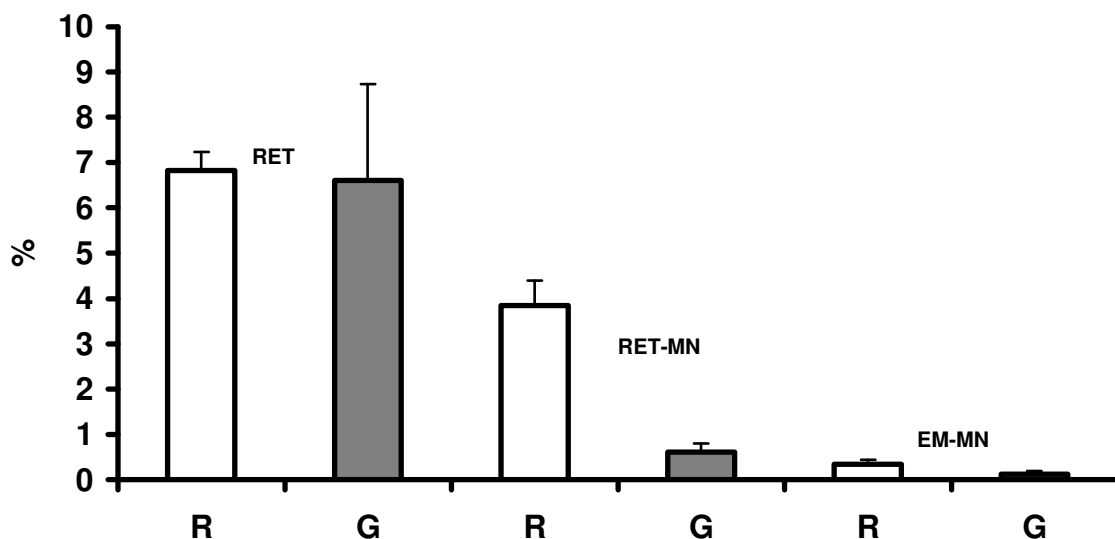


**Figura 15.** Porcentajes y error estándar de RET, RET-MN y EM-MN en DES-M (n = 9) que presentaron infecciones respiratorias y gastrointestinales. No se encontró diferencia significativa en ninguno de los grupos ( $p > 0.05$ ).

En el grupo DES-G se observó que la incidencia de RET es muy similar ya que las frecuencias promedio fueron de  $6.83 \pm 0.41$  % en niños con infección respiratoria y de  $6.60 \pm 2.12$  % en los niños con infecciones gastrointestinales, no hubo diferencia significativa en la frecuencia de RET en los grupos ( $p > 0.05$ ).

Se observó un comportamiento diferente para la frecuencia de RET-MN, ya que la frecuencia promedio para los niños con infecciones respiratorias fue de  $3.84 \pm 0.55$  % y para los niños con infección gastrointestinal fue de  $0.61 \pm 0.18$  %.

En el caso de los EM-MN se observó que los niños con infecciones respiratorias presentaron un promedio superior al de los niños con infección gastrointestinal:  $0.34 \pm 0.10$  % y  $0.12 \pm 0.07$  % respectivamente. (Figura 16).

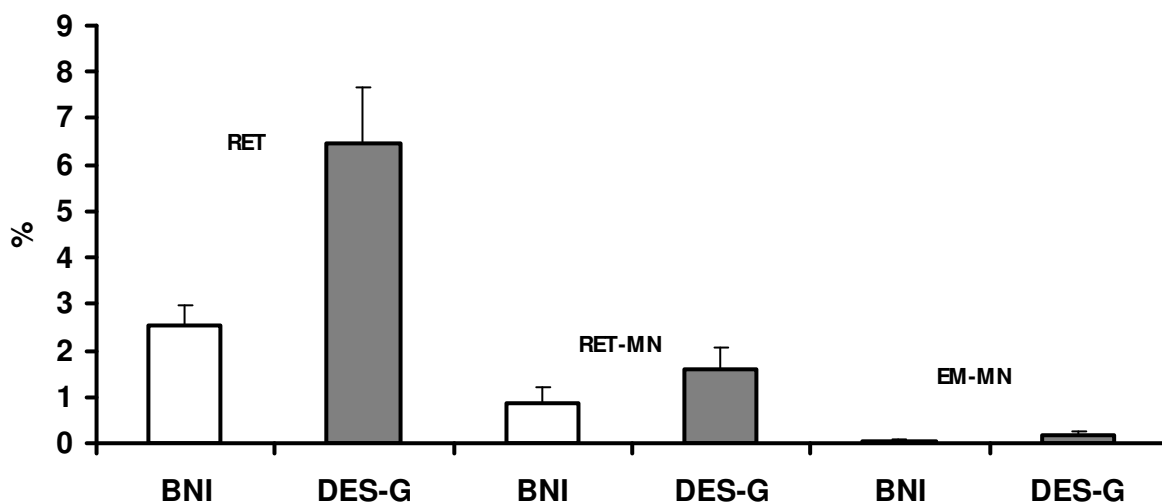


**Figura 16.** Porcentaje promedio y error estándar de RET, RET-MN y EM-MN en DES-G ( $n = 11$ ) que presentaron infecciones respiratorias y gastrointestinales. No se encontró diferencia significativa en ninguno de los grupos ( $p > 0.05$ )

Al hacer una comparación entre grupos tomando como punto de referencia el tipo de infección, se encontró que los niños con Infecciones respiratorias de los grupos BNI y DES-G mostraron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en la frecuencia de RET, RET-MN y EM-MN (Figura 17). Estos datos se describen a continuación:

Las frecuencias promedio de RET para el grupo BNI y DES-G con infecciones respiratorias fueron de 2.55 % y 6.45% respectivamente, con errores estándar de 0.4 y 1.2 para cada grupo. Con relación a los RET-MN, el grupo BNI presentó una frecuencia promedio de  $0.88 \pm 0.32\%$ , mientras que el grupo DES-G registró una frecuencia promedio de  $1.6 \pm 0.46\%$ . En el caso de los EM-MN se observó que el grupo BNI presentó una frecuencia promedio de  $0.06 \pm 0.01\%$  y el grupo DES-G mostró un promedio de  $0.19 \pm 0.05\%$ .

El análisis con relación a las infecciones gastrointestinales no mostró diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre ninguno de los grupos.



**Figura 17.** Porcentaje y error estándar de RET, RET-MN y EM-MN en niños con infecciones respiratorias de los grupos BNI ( $n = 11$ ) y DES-G ( $n = 11$ ). Se encontró diferencia significativa entre los grupos.



### 8.5 Porcentaje de RET, RET-MN y EM-MN en niños con desnutrición moderada sin infecciones

En el presente trabajo también se analizó la incidencia de RET, RET-MN y EM-MN de tres niños con desnutrición moderada que no presentaron infecciones. En la Tabla 11 se muestran las características de estos niños, mientras que en la Tabla 12 se muestran los valores individuales de RET, RET-MN y EM-MN.

**Cuadro 11.** Características de los niños con desnutrición moderada que no presentaron infecciones. Se muestra la edad, sexo y déficit de peso para cada uno de estos niños.

Clave	Edad (meses)	Sexo	Déficit de peso (%)
43	60	F	28
44	10	M	25
45	60	M	27

**Cuadro 12.** Valores individuales de RET, RET-MN y EM-MN de niños con desnutrición moderada sin infecciones.

Clave	RET (%)	RET-MN (%)	EM-MN (%)
43	2.81	0.91	0.11
44	5.79	3.56	0.06
45	1.78	1.97	0.16

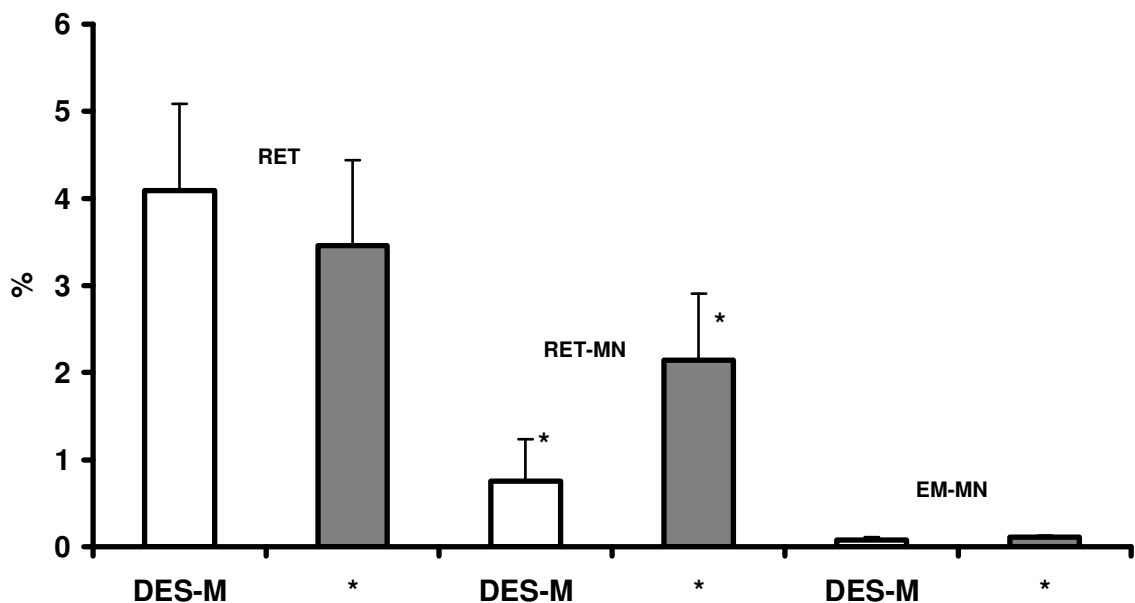
Los resultados obtenidos mostraron que la frecuencia promedio de RET en el grupo DES-M presentó un porcentaje de  $4.08 \pm 1.0$  %, mientras que el grupo de

niños con desnutrición moderada sin infecciones mostró un porcentaje de 3.46% con un error estándar de 0.98.

El grupo DES-M presentó una frecuencia de RET-MN de 0.75±0.48 % y en el grupo de los niños con desnutrición moderada sin infecciones se observó una incidencia de 2.14±0.77 %.

Los valores registrados para los EM-MN fueron de 0.08±0.03 % para el grupo DES-M y de 0.11±0.03 % para el grupo de niños con desnutrición moderada sin infecciones (Figura 18).

Se encontró diferencia significativa entre estos grupos ( $p \leq 0.05$ ) solo para los RET-MN.



**Figura 18.** Porcentaje promedio y error estándar de RET, RET-MN y EM-MN en niños del grupo DES-M ( $n = 9$ ) y del grupo de niños con desnutrición moderada sin infecciones ( $n = 3$ ) (representado con \*). Se encontró diferencia significativa entre estos grupos ( $p \leq 0.05$ ) para los RET-MN.

## **8.6 Frecuencia de RET, RET-MN y EM-MN en niños tipo marasmo y tipo kwashiorkor**

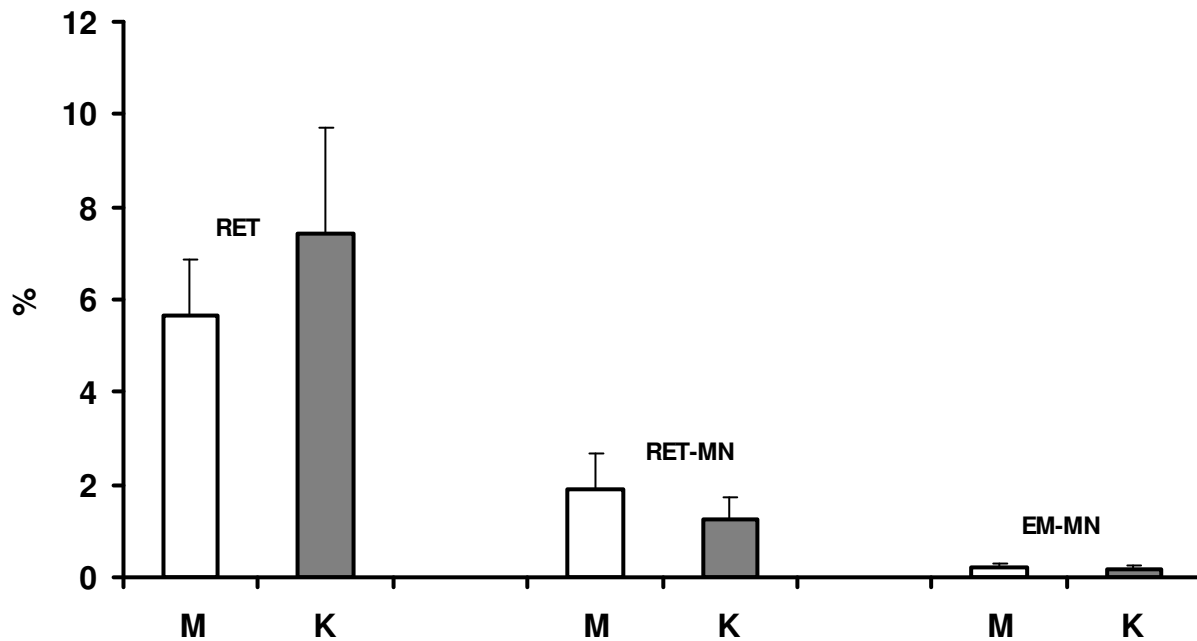
Dentro del grupo de niños con desnutrición grave, se incluyeron 6 niños tipo marasmo y 5 kwashiorkor. Estas manifestaciones clínicas mostraron tener efectos sobre la generación de MN en RET-MN y EM-MN, se observó que los niños que presentaban desnutrición grave del tipo marasmo (M) registraron una mayor frecuencia promedio de estas estructuras en comparación con los niños tipo kwashiorkor. Estos resultados se describen a continuación:

Los niños tipo marasmo presentaron una frecuencia promedio de RET-MN del  $1.91 \pm 0.77$  %, mientras que los kwashiorkor mostraron un porcentaje promedio de  $1.23 \pm 0.5$  %. Aunque no hubo diferencia estadística entre ambos grupos ( $p > 0.05$ ), la tendencia mostró que los niños tipo marasmo presentaron mayor daño al ADN.

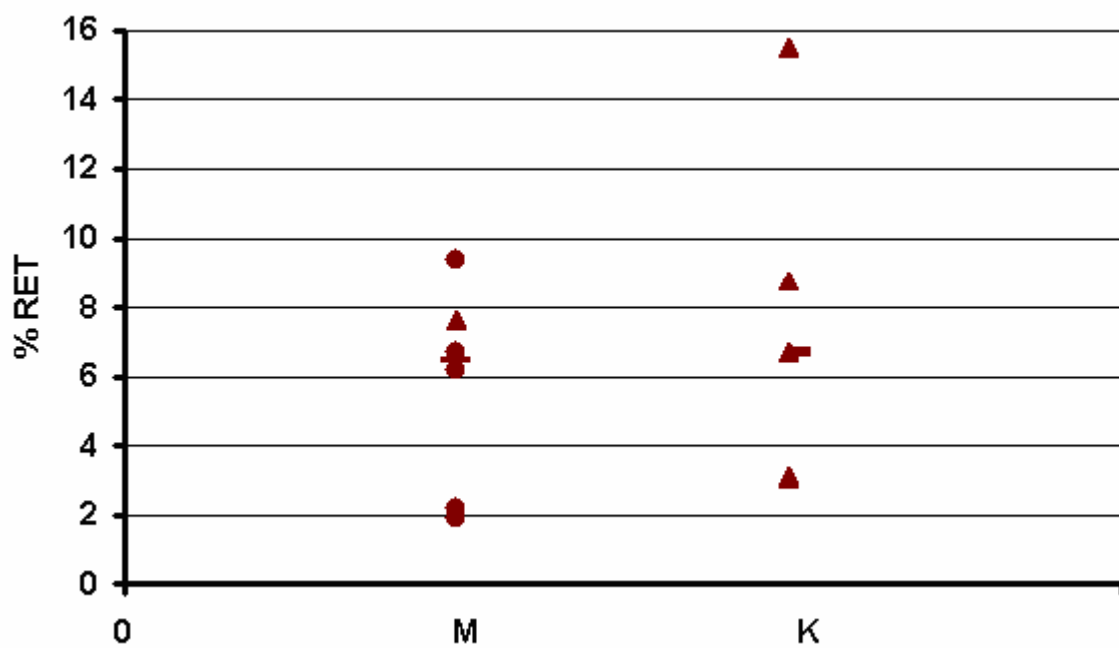
Las frecuencias promedio registradas para EM-MN fueron de 0.21% y 0.17% para niños tipo marasmo y kwashiorkor respectivamente. Los errores estándar para estos grupos fueron de 0.07 y 0.09. No se encontró diferencia estadística entre ambos grupos, sin embargo la tendencia indica que los niños tipo marasmo presentan una mayor frecuencia de EM-MN, lo cual sugiere que estos niños presentan mayor daño al ADN.

En cuanto a los RET se observó un efecto contrario, pues en los niños con desnutrición tipo kwashiorkor se observó una frecuencia más elevada que los niños con marasmo. Las frecuencias promedio fueron de 5.66% en niños tipo marasmo y de 7.43% en niños kwashiorkor. (Figura 19). No hubo diferencia estadística entre estos grupos ( $p > 0.05$ ).

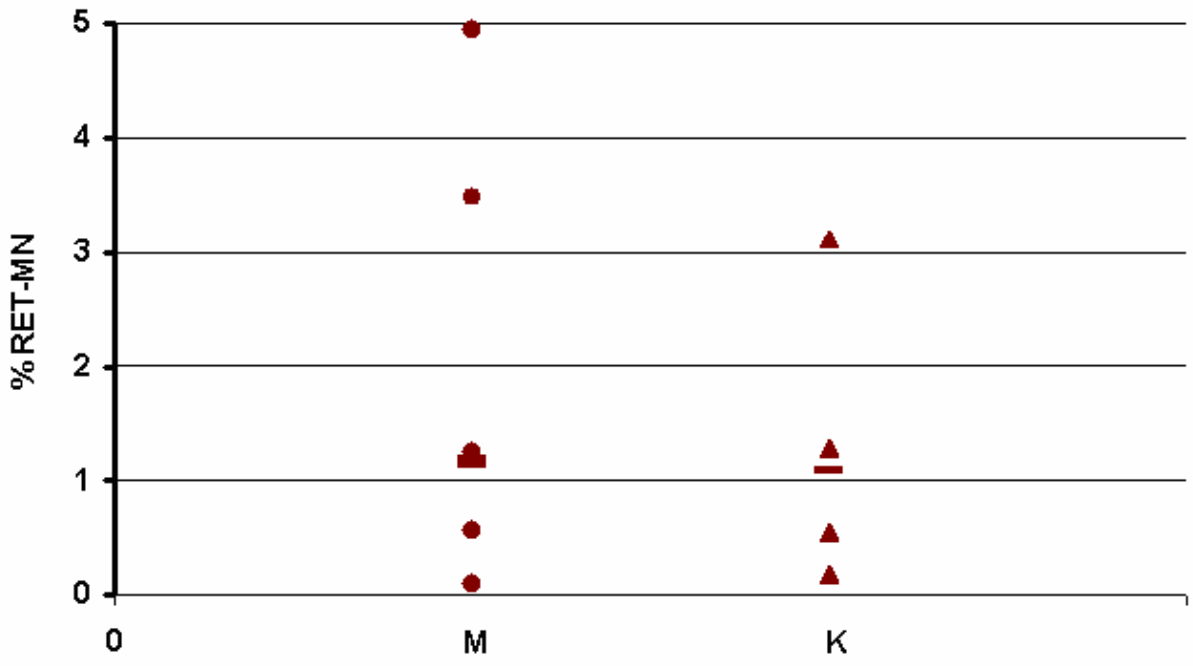
En las figuras 20, 21 y 22, se muestran los datos individuales de RET, RET-MN y EM-MN que mostraron los niños tipo marasmo y kwashiorkor.



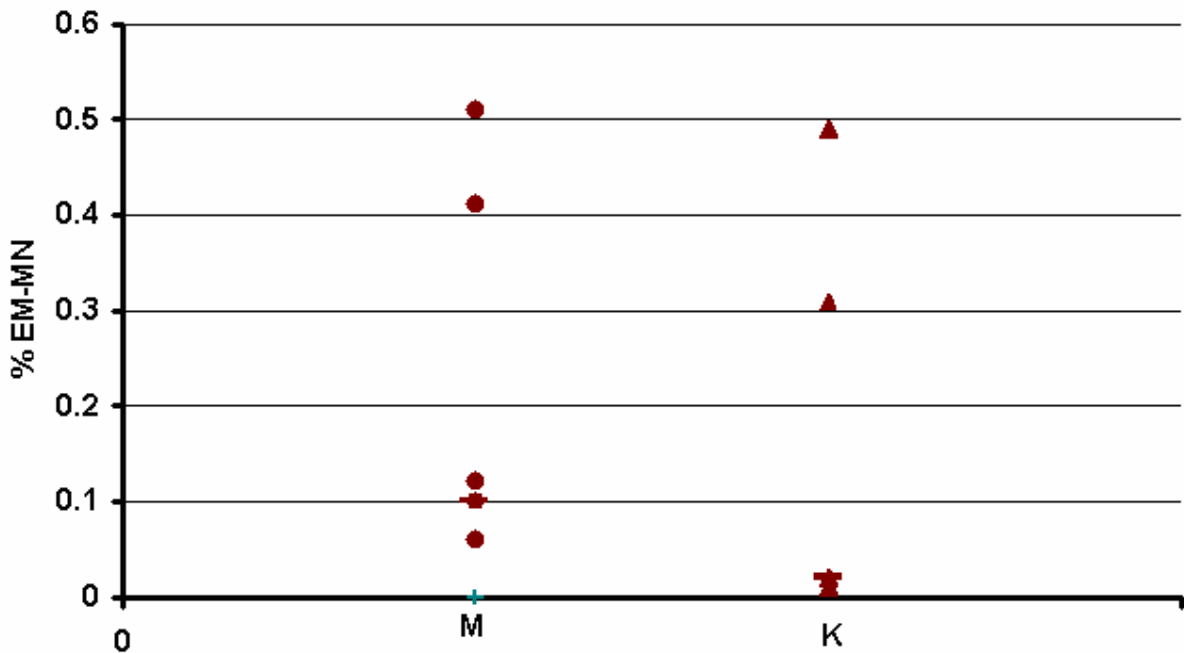
**Figura 19.** Porcentaje y error estándar de RET, RET-MN y EM-MN en niños tipo marasmo (n = 6) y kwashiorkor (n= 5). No se encontró diferencia estadística entre ambos grupos ( $p > 0.05$ ).



**Figura 20.** Datos individuales de RET de los niños tipo marasmo (n =6) y kwashiorkor (n = 5) del grupo DES-G. Se muestra la dispersión de los datos, así como la mediana (—) No hubo diferencia estadística entre los grupos ( $p > 0.05$ ).



**Figura 21.** Datos individuales de RET-MN de niños tipo marasmo (n = 6) y kwashiorkor (n = 5) que conformaron el grupo DES-G. Se muestra la dispersión de los datos, así como la mediana (—). No hubo diferencia estadística entre ambos grupos ( $p > 0.05$ ).



**Figura 22.** Datos individuales de EM-MN de niños marasmo (n = 6) y kwashiorkor (n = 5) que integraron el grupo DES-G. Se indica la dispersión de los valores y la mediana (—). No se encontró diferencia significativa entre ambos grupos ( $p > 0.05$ ).

## 9. DISCUSIÓN

El propósito de este trabajo fue conocer el efecto que la desnutrición ejerce sobre la integridad del ADN de niños con desnutrición calórico proteica.

Para tal efecto se utilizó el ensayo de MN en RET y EM de sangre periférica de niños desnutridos.

Es importante hacer hincapié en que no existe un solo tipo de desnutrición, por lo que en los estudios sobre este padecimiento se deben considerar las diversas alteraciones que la acompañan, entre las cuales se encuentran las infecciones asociadas a ella, los trastornos causados por estas infecciones, los tratamientos farmacológicos utilizados para combatirlas, la presencia de anemia y las deficiencias de micronutrientes que acompañan este padecimiento.

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que los niños DES-G grave presentaron una mayor incidencia de RET ( $6.47\% \pm 1.20$ ) que los demás grupos, los BN no presentaron alteraciones en la producción de estas células, ya que la frecuencia promedio registrada ( $1.56\% \pm 0.24$ ) se encuentra dentro del intervalo reportado como normal en la bibliografía (0.02- 2.2%) (WEB Médica Argentina, 2006).

Los niños del grupo BNI presentaron una frecuencia ligeramente mayor que la reportada como normal ( $2.65\% \pm 0.42$ ), mientras que el grupo DES-M presentó una frecuencia que cae fuera del intervalo establecido como normal por la bibliografía consultada ( $4.09\% \pm 1.0$ ).

Tomando en consideración a los niños sin infecciones del grupo DES-M se observó que las frecuencias individuales de RET se encontraron distribuidas a lo largo de todo el intervalo de valores del grupo DES-M, sin embargo es necesario resaltar que uno de los niños sin infecciones mostró una de las frecuencias mas elevadas de grupo (5.79%), lo cual muestra que la desnutrición moderada causa alteraciones en la frecuencia de RET en sangre periférica.

La mayoría de los niños DES-M y DES-G cuadros de anemia. Los valores promedio de Hb para estos grupos estuvieron por debajo de 12.79 g/dL, que es el valor establecido como normal por la Organización Mundial de la Salud, y de acuerdo a numerosos reportes un valor de Hb menor de 11.5g/dL es un indicador de que el organismo presenta anemia (Ávila-Curiel, 1998).

Esta situación podría ser uno de los factores que dispararon la producción de RET dentro de estos dos grupos, ya que se ha reportado que en casos de anemia crónica (que es común entre los niños con desnutrición calórico proteica), el número de RET circulantes suele ser superior al que corresponde al grado de regeneración eritroblástica. Ello obedece a que la anemia se acompaña siempre de un estímulo eritropoyético compensador (Nawawy, 2002), que facilita una salida precoz de RET desde médula ósea a la sangre periférica y un acortamiento de su periodo de maduración intramedular, lo que supone un aumento del periodo de maduración periférica. En situaciones normales los RET suelen permanecer de



2 a 3 días en la médula ósea y un día adicional en la sangre periférica antes de convertirse en EM.

Los RET que son liberados de la médula ósea como consecuencia de su liberación temprana son conocidos como RET de estrés o de recambio (Parker y Bick, 1993).

Nawawy y col. (2002) llevaron a cabo un estudio en el que se demostró que las concentraciones séricas de EPO fueron significativamente más altas en niños con desnutrición calórico proteica en comparación con niños sanos, aunque el efecto de esta elevación fue contrario al que se registró en este trabajo.

Es importante mencionar que el recuento de RET es un indicador de la actividad hematopoyética de la médula ósea, cuando la anemia va acompañada de un elevado número de RET se considera una anemia regenerativa (Glader, 2004).

Otro efecto de las anemias crónicas sobre la hematopoyesis es que ésta comienza a llevarse a cabo fuera de la médula ósea, lo que genera un aumento en el número de RET circulantes, como una adaptación al estado patológico que el organismo experimenta.

El grupo BN presentó un porcentaje ligeramente mayor de RET-MN ( $0.33\% \pm 0.06$ ) que el reportado en la literatura ( $0.05-0.26\%$ ) (Dertinger y col., 2004). Esta situación fue diferente entre los grupos BNI, DES-M y DES-G, ya que se encontraron valores de RET-MN por arriba de  $0.26\%$  que es el establecido como límite superior en la literatura ( $0.94\% \pm 0.31$ ,  $0.76\% \pm 0.13$  y  $1.60\% \pm 0.46$  respectivamente).

Analizando estos resultados se observó que los niños del grupo BNI presentaron una frecuencia de RET-MN superior a la que presentaron los niños del grupo BN (se encontró diferencia significativa entre estos dos grupos), lo que sugiere que las infecciones que presentaron estos niños están jugando un papel muy importante en la generación de daño al ADN.

Por otro lado, en los grupos de niños con desnutrición moderada y grave las frecuencias de RET-MN fueron aún mas elevadas que en el grupo BNI, por lo que

se infiere que la desnutrición por si misma está ejerciendo un efecto negativo sobre la integridad del ADN de estos niños, aunque no hay que perder de vista la participación de las infecciones.

Es importante resaltar que se analizó la frecuencia de RET-MN en tres niños con desnutrición moderada que no presentaron infecciones. Los datos indican que la desnutrición moderada por si sola está influyendo profundamente en la generación de daño al ADN de estos niños. (Tabla 12). Sin embargo, se requieren más estudios, que incluyan un mayor número de niños para confirmar esta observación, ya que en este estudio sólo se incluyeron tres niños, además falta por analizar el impacto que pudieran tener otros factores presentes en estos niños (por ejemplo fracturas).

Con respecto a los EM-MN se observó que los BN y BNI presentaron frecuencias muy similares ( $0.06\% \pm 0.01$  y  $0.07\% \pm 0.01$  respectivamente). La frecuencia de EM-MN en el grupo DES-M fue de  $0.08\% \pm 0.02$ , ligeramente superior a la registrada en el grupo BNI, no así el grupo DES-G, que presentó una frecuencia de  $0.20\% \pm 0.05$ .

Con respecto a los niños del grupo DES-M que no presentaron infecciones se observó que dos valores se concentraron en el límite superior del intervalo ( $0.11\%$  y  $0.16\%$ ), mientras que uno se encontró en el punto medio de dicho intervalo ( $0.06\%$ ). Esta observación confirma la idea de que la desnutrición moderada por si sola está afectando la integridad genómica de los niños que la padecen, sin embargo no hay que perder de vista que las infecciones asociadas a ella vienen a agravar el efecto negativo de la desnutrición sobre el ADN.

Tomando como indicador de daño al ADN a la frecuencia de RET-MN, se puede decir que los niños de los grupos BNI, DES-M y DES-G presentaron daño al ADN, y que éste podría ser el resultado de las alteraciones que la desnutrición desencadena en los organismos que la padecen.

Se sabe que el daño al ADN en células de niños desnutridos puede deberse a diversos factores, entre los que se encuentran las infecciones bacterianas, la activación de la respuesta inmunológica (Canella y col., 1996), la deficiencia de la

respuesta antioxidante (Lenhartz y col., 1998), la administración de antibióticos (González y col., 2002<sup>b</sup>) y la deficiencia de proteínas implicadas en la síntesis y reparación del ADN (Kovacic y Beevar, 2000).

Durante muchos años se ha documentado la relación que existe entre la desnutrición y las enfermedades infecciosas, y se ha reportado que esta relación es la principal causa de la elevada morbilidad y mortalidad entre los niños menores de cinco años. Es aceptado por todos que el huésped desnutrido es más susceptible a la invasión por agentes biológicos (Chandra, 1996).

Las infecciones de tipo bacteriano son capaces de activar la respuesta inmunológica, lo cual incrementa las concentraciones de radicales libres, que son considerados como los principales mutágenos endógenos que provocan daño al ADN (Ahuja, 1991, Ames y col., 1993). Bajo este contexto, existen reportes de que en niños con desnutrición calórico proteica las concentraciones séricas de moléculas antioxidantes se encuentran especialmente bajas, mas aún se ha reportado que existe una relación entre la desnutrición calórico proteica y la deficiencia de micronutrientes antioxidantes (Enwonwn y Sanders, 2001). Existe la evidencia de que ciertas vitaminas y micronutrientes son sustratos y/o cofactores en las vías metabólicas que regulan la síntesis y reparación de ADN, así como en las vías que regulan la expresión de algunos genes (Fenech y Ferguson, 2001, Friso y sang-Woon, 2002). Dentro de los micronutrientes implicados en la estabilidad del ADN de niños desnutridos se encuentra el folato. Se ha reportado que la deficiencia de folato en humanos induce daño cromosómico (Blount y col., 1997), formación de MN (Macgregor y col. 1997, Everson y col., 1988) y la incorporación de uracilo a la cadena de ADN, lo cual genera inestabilidad y finalmente el rompimiento de la molécula de ADN, ya que el uracilo que ha sido incorporado debe ser removido por la uracil-DNA glicosidasa y una endonucleasa, generándose una muesca (“nick”) que podría resultar en el rompimiento de la cadena de ADN recién sintetizada (Blount y col., 1997). Por otro lado, la niacina contribuye a la reparación de cadenas rotas de ADN, manteniendo niveles adecuados de nicotinamida adenin dinucleótidos para la poli(a) DP-ribosa,

la cual actúa en respuesta al daño que el ADN pudiera sufrir. Como resultado las dietas insuficientes de niacina, folato y antioxidantes actúan sinérgicamente para afectar la síntesis y reparación del ADN (Zhang y col., 1993).

También se ha reportado que la desnutrición calórico proteica va acompañada de deficiencia de vitamina C, vitamina E y vitamina D, y que ésta causa oxidación de ADN, daño cromosómico y rompimiento de la doble cadena de ADN. (Chatterjee, 2000; Claycombe, 2001; Halliwell, 2000).

Debido a que existe una íntima relación entre el contenido de proteínas y contenido de zinc en los alimentos, la ingesta insuficiente de proteínas (característica de la desnutrición calórico proteica) frecuentemente causa la deficiencia de zinc (Wapnir, 2000).

En el análisis de la frecuencia de RET-MN en niños con desnutrición grave tipo marasmo y kwashiorkor, se observó que no había diferencia significativa entre ambos grupos, sin embargo los resultados mostraron que los niños tipo marasmo presentaron una mayor incidencia de RET-MN que los niños kwashiorkor ( $1.91\% \pm 0.77$  y  $1.23\% \pm 0.5$ ), por lo que se presume que la desnutrición grave tipo marasmo provoca mayor daño al ADN de los organismos que la padecen.

El daño al ADN en los niños tipo marasmo podría relacionarse con reportes previos que establecen que la concentración sérica de glutatión es especialmente baja en estos niños (Becker y col., 1995), por lo que se presenta una defensa antioxidante poco eficiente y por ende daño por oxidación al ADN, lo cual finalmente se ve reflejado en la alta incidencia de RET-MN en estos niños. Sin embargo existen reportes controversiales sobre la concentración de glutatión en niños con marasmo, ya que algunos autores han reportado concentraciones especialmente bajas y otros no han encontrado diferencias significativas comparando con las concentraciones de glutatión que presentan BN (Golden y Ramdath, 1987).

Por otro lado, existen reportes consistentes de que la concentración de moléculas antioxidantes en niños tipo kwashiorkor, se encuentran dramáticamente disminuidas, lo cual genera daño al ADN por oxidación y trae como consecuencia

inestabilidad genómica (Becker y col., 1995; Lehartz y col., 1998), y en este caso la formación de RET-MN.

También se ha reportado que en niños con kwashiorkor las concentraciones de glutatión en plasma y sangre total se encuentran especialmente bajas. Dado que el glutatión es un elemento de la respuesta defensiva al estrés oxidativo, se sugiere que las defensas antioxidantes están deficientes y por lo tanto hay daño por radicales libres a las membranas celulares, y probablemente al ADN (Golden, 2002; Reid, 2000) .

Por otro lado, se debe considerar que tanto el marasmo como el kwashiorkor se asocian a infecciones, las cuales a su vez generan estrés oxidativo, y como resultado es que el glutatión se consume más de lo “normal”, como respuesta antioxidante, por lo que la respuesta protectora contra los radicales libres se ve cada vez mas comprometida (Golden, 2002; Reid, 2000).

Además, se ha observado las concentraciones plasmáticas de moléculas antioxidantes como G6PDH, glutatión reductasa, FAD y glutatión, se encuentran en bajas concentraciones en los niños con kwashiorkor. Mas aún, se ha reportado que a falta de estas moléculas antioxidantes, el daño a los tejidos es provocado por la alta concentración de especies reactivas de oxígeno (Krawinkel, 2003).

Con respecto a la influencia que las infecciones respiratorias y gastrointestinales tuvieron sobre el daño al ADN, se observó que en el grupo BNI los niños con infecciones respiratorias presentaron mayor incidencia de RET-MN ( $1.08\% \pm 0.42$ ), que aquellos que padecían enfermedades gastrointestinales ( $0.85\% \pm 0.2$ ), aunque no hubo diferencia significativa entre estos grupos, se concluyó que los niños con infecciones respiratorias presentaron mayor daño al ADN.

En los niños que conformaron el grupo DES-G se observó el mismo comportamiento que en el grupo anterior ya que la frecuencia de RET-MN asociada con las infecciones respiratorias fue mayor ( $3.84\% \pm 0.55$ ) que la relacionada con las infecciones gastrointestinales ( $0.61\% \pm 0.18$ ). Aunque

tampoco se encontró diferencia estadística entre estos grupos es notable la elevada frecuencia de RET-MN en los niños con infecciones respiratorias, así que se puede decir que este tipo de infecciones actuaron de manera conjunta con la desnutrición grave para provocar daño al ADN de las células de estos pacientes.

Se sabe que las infecciones respiratorias que estos niños presentaron son una de las principales causas de mortalidad de niños desnutridos. Los datos indican que las infecciones respiratorias bacterianas están asociadas en la mayoría de los casos con *Streptococcus pneumoniae* y con *Haemophilus influenzae*, así mismo se ha reportado que el incremento en la severidad de las infecciones respiratorias se asocia íntimamente con la desnutrición (Denny y Loda, 1986; Cashat-Cruz y col., 2005).

De acuerdo a lo reportado por Ahuja (1991), ciertas enzimas bacterianas pueden actuar como endonucleasas y provocar daño al ADN. Con respecto a esto se ha documentado que *Streptococcus pneumoniae* produce una ADN recombinasa, la cual es capaz de tomar cadenas sencillas de ADN de la célula huésped e incorporarlas en el ADN bacteriano. Este proceso, conocido como recombinación transformacional, es capaz de generar inestabilidad en el ADN del huésped y podría provocar rupturas de cadenas sencillas (Steffen y Bervant, 2000), lo cual se vería reflejado en la incidencia de RET-MN en los niños de los grupos BNI y DES-G.

Por otro lado, en los niños del grupo DES-M se presentó una situación diferente a la que se observó en los grupos BNI y DES-G, ya que los niños con desnutrición moderada que presentaron infecciones respiratorias registraron una frecuencia menor de RET-MN ( $0.49\% \pm 0.20$ ) que los niños con infecciones gastrointestinales ( $0.86\% \pm 0.08$ ). En este caso tampoco se encontró diferencia significativa entre ambos grupos, sin embargo se observó que la frecuencia de RET-MN mostrada por los niños con infecciones gastrointestinales es casi el doble de la mostrada por los niños con infecciones respiratorias, por lo que se asume que las infecciones

gastrointestinales tuvieron un efecto más pronunciado sobre la integridad del ADN de estos niños.

Las infecciones gastrointestinales que presentaron los niños de este grupo estuvieron acompañadas por periodos de diarrea y en algunos casos hubo cuadros de diarrea crónica, según estudios epidemiológicos se ha reportado que del 3 al 20% de los episodios de diarrea aguda en niños se hacen persistentes y causan la mitad de muertes (Gracey, 1993).

El efecto negativo de la diarrea sobre el estado nutricional del organismo ha sido ampliamente reconocido, ya que numerosos investigadores han reportado que los periodos prolongados de diarrea afectan la absorción de macronutrientes y micronutrientes, posiblemente debido a que el intestino ha perdido su capacidad de absorción (Wapnir, 2000).

Uno de los micronutrientes más estudiados dentro de esta problemática es el zinc, ya que su deficiencia acarrea consecuencias serias sobre la integridad del ADN.

Experimentos recientes han reforzado la idea que se tenía acerca de la relación entre la desnutrición calórico proteica, la deficiencia de zinc y la diarrea (Prasad, 1998). Esta relación generalmente favorece la deficiencia de zinc, lo cual a su vez provoca que los organismos sean más susceptibles a las toxinas producidas por enterobacterias (Wapnir, 2000).

Estas toxinas son capaces de activar la adenilato y guanilato ciclasas, que como consecuencia estimulan la secreción de ácido clorhídrico, produciendo diarrea y disminuyendo la absorción de nutrientes, generándose así un círculo vicioso entre los episodios de diarrea y la desnutrición (Wapnir, 2000). Se ha reportado que en niños con diarrea persistente los niveles séricos de zinc son especialmente bajos, los cuales a su vez se correlacionan inversamente con la duración de estos episodios diarreicos (Black y Sazawal, 1998).

El zinc también está relacionado con la protección contra radicales libres, ya que este micronutriente es un constituyente de la Superóxido dismutasa, por lo

que las bajas concentraciones de este micronutriente también genera daño oxidativo al ADN (Leung, 1998; Wapnir, 2000). En adición se ha reportado una disminución de la actividad de la superóxido dismutasa en niños con desnutrición calórico proteica grave que presentan concentraciones séricas bajas de cobre (Thakur y col. 2004).

Por otro lado los estudios epidemiológicos alrededor del mundo han revelado que la mayoría de las infecciones gastrointestinales de tipo bacteriano en niños de países en vías de desarrollo son provocadas por *V. cholera* y *E.coli*. La citotoxicidad de *E. coli* ha sido investigada ampliamente y actualmente se sabe que esta bacteria produce enterotoxinas que tienen efecto citotóxico.

Entre estas enterotoxinas se encuentran las toxinas Shiga (Stx), que causan daño vascular el cual a su vez se traduce en edema y en este se produce una gran cantidad de radicales libres (Matise y col., 2000). Estas enterotoxinas también interfieren con la síntesis de proteínas e inhiben la reparación de lesiones que el ADN pudiera sufrir por radicales libres como el peróxido de hidrógeno (Brigotti y col. 2002, Sestili y col. 2005).

Como ya se ha mencionado anteriormente, se ha reportado que algunos antibióticos utilizados en el tratamiento de las infecciones respiratorias y gastrointestinales son capaces de producir daño al ADN (González y col., 2002<sup>b</sup>).

Debido a que los niños de los grupos BN, DES-M y DES-G fueron tratados con diferentes fármacos, se analizó la influencia que éstos pudieran haber tenido sobre la frecuencia de RET-MN.

Los medicamentos más usados para combatir las infecciones respiratorias en los niños del grupo BNI fueron: ceftriaxona, que es capaz de inducir lipoperoxidación además de generar radicales libres (Roy y col., 2000), la ampicilina, que es un antibiótico beta-lactámico penicilínico semisintético de amplio espectro. Existen reportes controversiales con respecto a su genotoxicidad, ya que en dosis terapéuticas Jaju y col. (1984) no observaron aspectos adversos,



sin embargo existen reportes de experimentos *in vivo* que clasifican a este fármaco como un agente clastogénico.

La ranitidina y el TMP-SMX (trimetoprim-sulfametoxazol), también fueron utilizados en el tratamiento de infecciones respiratorias. Se ha reportado que la ranitidina es capaz de generar fragmentación de ADN en células de ratas (Brambilla y col. 1983, Maura y col., 1983), y que el TMP-SMX es capaz de generar MN en células de médula ósea (Abou-Eisha y col., 1999, Sorensen y Jensen, 1981).

En cuanto a las infecciones gastrointestinales el medicamento mas usado fue el metronidazol, del cual se tienen reportes de que induce anemia, que se caracteriza por un decremento en la cuenta de eritrocitos y bajo contenido de hemoglobina. Así mismo se ha reportado que induce la formación de MN en células somáticas de ratones (Mundry y col., 1994; Nahas y Ashmawy, 2004).

Dentro del grupo DES-M, los fármacos utilizados para combatir las infecciones respiratorias incluyeron penicilina sódica, dicloxacilina, amikacina y cisaprida, los fármacos utilizados en las infecciones gastrointestinales fueron ambroxol, metronidazol y TMP-SMX, para la infección urinaria se utilizó miconazol y amikacina.

La amikacina pertenece al grupo de los aminoglucósidos. Estos fármacos son bactericidas de espectro limitado a Gram negativos, son muy activos especialmente frente a enterobacterias y otros gérmenes aerobios. Se ha reportado que estos fármacos interfieren con la traducción de proteínas, tienen una alta afinidad por el ADN, inhiben la síntesis de ADN y causan daño a la membrana plasmática (Ahmed y col., 2002; Kovacic y Beevar, 2000), por lo que tienen un alto poder genotóxico.

El medicamento común para tratar las infecciones respiratorias y gastrointestinales fue el paracetamol, que es un analgésico, antipirético y antiinflamatorio, a pesar de que este fármaco es ampliamente usado en el

tratamiento de los niños con infecciones, existen reportes de que actúa como un agente clastogénico (Giri, 1993).

Los niños del grupo DES-G que presentaron infecciones gastrointestinales fueron tratados con amikacina, ranitidina, ceftriaxona y ácido valproico, el medicamento común fue el paracetamol.

Otro factor que se debe tomar en cuenta para explicar la incidencia de RET-MN y por ende el grado de daño citogenético, en los grupos de niños con desnutrición moderada y grave es la presencia de anemia en la mayoría de los casos. La anemia y la desnutrición calórico proteica tienen una íntima relación, están involucradas la deficiencia de hierro, ácido fólico, de vitamina B12, que como ya se ha discutido anteriormente provocan inestabilidad genómica y formación de MN (Dimkovic, 2001; Olivares y col., 1999).

Se ha detectado que la deficiencia de hierro es una de las principales causas de anemia en los niños con desnutrición calórico proteica (Levy y col., 2005). Además, De Freitas y col. (2001) reportaron que la deficiencia de este micronutriente provoca el rompimiento del ADN, mientras que Olivares y col. (1999) encontraron que este micronutriente está involucrado con procesos inflamatorios e infecciones.

Por otro lado el hierro es un elemento clave en la reacción de Fenton, la cual puede causar toxicidad celular por oxidación (Ladeira y col., 2004; Wang, 2005).

También se ha registrado que la deficiencia de folato es la segunda causa de anemia en niños de países en vías de desarrollo (Monárrez-Espino y col., 2004), y que en el suero de niños con desnutrición calórico proteica se encuentran niveles bajos de folato (Nawawy, 2002).

Además otro factor que agrava la situación es que se ha establecido una relación directa entre la anemia y el riesgo de padecer infecciones respiratorias y gastrointestinales (Fraser, 2005), formándose así otro círculo vicioso que afecta de manera negativa la integridad del ADN de estos niños.

## **10. CONCLUSIONES**

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir lo siguiente:

Los niños DES-M y DES-G presentaron alteraciones en la frecuencia de RET.

Tomando como un indicador de daño genético a la incidencia de RET-MN en sangre periférica, se concluyó que la desnutrición por si misma ejerce afecta la integridad del ADN de los niños que la padecen, siendo los niños del grupo DES-G los que presentaron mayor daño al ADN.

Se observó que los niños del grupo BNI presentaron una frecuencia de RET-MN mayor a la registrada en el grupo BN, por lo que se concluyó que las infecciones también afectan la integridad genómica de estos niños.

Dentro de los grupos BNI y DES-G se observó que las infecciones respiratorias generan una mayor frecuencia de RET-MN que las infecciones gastrointestinales. En el grupo DES-M se observó un comportamiento contrario. El efecto diferencial de las infecciones en estos niños debe ser analizado con más detenimiento.

Se observó que los niños con desnutrición tipo marasmo presentaron un incremento en la frecuencia de RET-MN en comparación con los niños tipo kwashiorkor. La mayor sensibilidad del ADN de los niños tipo marasmo requiere ser confirmada.

Finalmente se observó que los fármacos utilizados en el tratamiento de las infecciones asociadas a la desnutrición también influyen en la generación de RET-MN, aspecto que se requiere estudiar más ampliamente.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- ❖ Abramsson-Zetterberg L., Grawé J., Zetterberg G. (1997). Erythropoiesis and the induction of micronuclei in mouse spleen determined by flow cytometry. *Mutat. Res.* 394:17-28.
- ❖ Abou-Eisha, Creus A., Marcos R. (1999). Genotoxic evaluation of the antimicrobial drug, trimethoprim in cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.* 440:157-162.
- ❖ Abramsson-Zetterberg L., Zetterberg G., Berqvist M., Grawe J. (2000). Human cytogenetic biomonitoring using flow-cytometric analysis of micronuclei in transferrin-positive immature peripheral blood reticulocytes. *Environ. Mol. Mutagen.* 36:22-31.
- ❖ Ahnmed F., Naqvi B.S., Shoaib M.H., Hashmi K., Shaik D. (2002). Resistance pattern of different aminoglycosides against Gram positive and Gram negative clinical isolates of Karachi. *Pak. J. Pharm. Sci.* 15:57-67.
- ❖ Ahuja Y. R. (1991). Bacterial infection, restriction endonuclease, genetic damage and cancer. *Biol. Zentralb.* 110:179-187.
- ❖ Albertini R. J. (2000). IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutat. Res.* 463:143-164.
- ❖ Ames, B.N., Shigenaga M.K., Hagen T.M. (1993). Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proct. Natl. Acad. Sci. USA.* 90:7915-7922.
- ❖ Ávila-Curiel A., Shamah-Levy T., Galindo-Gómez C., Rodríguez-Hernández G, Barragán-Heredia L. M. (1998). La desnutrición infantil en el medio rural mexicano. *Salud Púb. Mex.* 40:150-160.
- ❖ Barreto P. J., Santana P. S., Martínez G. C. (2000). Desnutrición e infecciones respiratorias. *Act. Méd.* 9(1-2):15-21.

- ❖ Becker K., Leichserring M., Gana L., Bremer H., Schimer R.H. (1995). Glutathione and associated antioxidant system in protein energy malnutrition: results of a study in Nigeria. *Free Radic. Biol. Med.* 18:257-263.
- ❖ Berhman R., Vaughm V., Nelson, W. (1986). *Tratado de pediatria*. 9a. Edición. Editorial Iberoamericana. México. pp. 139-190.
- ❖ Betancourt M., Ortiz R. (1991). Efectos de la desnutrición severa en el nivel citogenético. *Ciencia*. 42:367-373.
- ❖ Betancourt M., Ortiz R., González C., Pérez P., Cortés L., Rodríguez L., Villaseñor L. (1995). Assessment of DNA damage in leukocytes from infected and malnourished children by single cell electrophoresis/comet assay. *Mutat. Res.* 331:65-77.
- ❖ Black R.E. (1998). Therapeutic and preventive effects of zinc on serious childhood disease in developing countries. *J. Am. Coll. Nutr.* 68:476S-479S.
- ❖ Brambilla G., Cabanna M., Faggin P., Maura A., Pino A., Ricci R., Robbiano L. (1983). Genotoxic effects in rodents given high oral doses of ranitidine and sodium nitrite. *Carcinogen*. 4:1281-1285.
- ❖ Brigotti M., Alfieri R., Seatili P., Bonelli M., Petronini P. G., Guidarelli A., Barbieri I., Stirpe F., Sperti S. (2002). Damage to nuclear DNA induced by Shiga toxin 1 and ricin in human endothelial cells. *FASEB*. 16:365-372.
- ❖ Calzada L. R. (1998). *Fundamentos fisiopatológicos*. Primera edición, Ed. McGraw-Hill Interamericana.
- ❖ Catalán J., Falck G.C., Norppa H. (2000). The sex chromosome frequently lags behind in female lymphocyte anaphase. *Am. J. Hum. Genet.* 66:687-691.
- ❖ Canella K.A., Diwan B.A., Gorelick P.L., Donovan P.J., Sipowicz M.A., Kasprzak K.S., Weghorst C.M., Snyderwin E. G., Davis C. D., Keefer L.K., Kryptopoulos S.A., Wang M. Anderson L. M., Rice J. M. (1996). Liver

tumorigenesis by *Helicobacter hepaticus*: considerations of mechanism. In vivo 10:285-292.

- ❖ Cashat-Cruz M., Morales J.J., Mendoza M.(2005). Respiratory tract infections in children in developing countries. Semin. Pediatr. Infect. Dis. 16:84-92.
- ❖ Chandra, R. K. (1991). Nutrition and immunity: lesson from the past and new insights into the future. Am. J. Clin. Nutr. 53:1087-1101.
- ❖ Chandra K. R. (1996). Nutrition, immunity and infection: from basic knowledge of dietary manipulation of immune responses to practical application of ameliorating suffering and improving survival. Proc. Natl. Acad. Sci. 93:14304-14307.
- ❖ Chatterjee M. (2001). Vitamin D and genomic stability. Mutat. Res. 475:69-87.
- ❖ Claycombe K.J., Meydani S.N. (2001). Vitamin E and genomic stability. Mutat. Res. 475:37-44.
- ❖ Cunningham-Rundless S., McNeeley D.F., Moon A. (2005). Mechanism of nutrient modulation of the immune response. J. Allergy Clin. Immunol. 115:1235-1237.
- ❖ Denny F.W., Loda F.A. (1986). Acute respiratory infections are the leading cause of death in children in developing countries. Am. J. Trop. Med. Hyg. 32:1-2.
- ❖ Dai G., Phalen S., McMurray D. (1998). Nutritional modulation of host responses to *Mycobacteria*. Front. In Biosci. e110 -122.
- ❖ Dertinger S., Tourus D., Tometsko C. (1996). Simple and reliable enumeration of micronucleated reticulocytes with a single-laser flow cytometer. Mutat. Res. 371:283-292.
- ❖ Dertinger S., Tourus D., Hall N., Tometsko C., Gasiewicz T. (2000). Malaria-infected erythrocytes serve as biological standards to ensure reliable and

- consistent scoring of micronucleated erythrocytes by flow cytometry. *Mutat. Res.* 464:195-200.
- ❖ Dertinger S., Tourus D., Hall N., Murante F., Gleason S., Miller R., Tometsko C. (2002). Enumeration of micronucleated CD71-positive human reticulocytes with a single-laser flow cytometer. *Mutat. Res.* 515:3-14.
  - ❖ Dertinger S., Chen Y., Miller K. R., Brewer J.K., Smudzin T., Tourus D., Hall E.N., Olvany A.K., Murante G.F., Tometsko R.C. (2003). Micronucleated CD71-positive reticulocytes: a blood-based endpoint of cytogenetic damage in humans. *Mutat. Res.* 542:77-87.
  - ❖ Dertinger S., Camphausen K., MacGregor J., Bishop M., Tourus D., Avlasevich S., Cairns S. (2004). Three color labeling method for flow cytometric measurement of cytogenetic damage in rodent and human blood. *Environ. Mol. Mutagen.* 44:427-435.
  - ❖ Dimkovic N. (2001). Erythropoietin-beta in the treatment of anemia in patients with chronic renal insufficiency. *Med. Pregl.* 54:235-240.
  - ❖ Don B.R., Kaysen G. (2004). Serum albumin: relationship to inflammation and nutrition. *Semin. Dial.* 117:432-437.
  - ❖ Enwonwn C.O., Sanders C. (2001). Nutrition: impact on oral and systemic health. *Compend Contin Educ. Dent.* 22:12-18.
  - ❖ Everson, R.B., Wehr C.M., Erexson G.L., MacGregor. (1988). Association or marginal folate depletion with increased human chromosomal damage *in vivo*: demonstration by analysis of micronucleated erythrocytes. *J. Natl. Cancer Inst.* 80: 525-529.
  - ❖ Fenech M. Atiken C., Rinaldi J. (1998). Folate, vitamin b12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. *Carcinogen.* 19:1163-1171.
  - ❖ Fenech M. (2000). The *in vitro* micronucleus technique. *Mutat. Res.* 455:81-95.

- ❖ Fenech M., Ferguson L.R. (2001). Vitamins/minerals and genomic stability in humans. *Mutat. Res.* 475:1-6.
- ❖ Frenk S. (1989). Adaptación metabólica en la desnutrición. *Cuadernos de nutrición.* 12:17-32.
- ❖ Friso S., Sang-Woon C. (2002). Gene-Nutrient Interactions and DNA methylation. *J. Nutr.* 132:2382S-2387S.
- ❖ Gianella R.A. (2000). *Escherichia coli* heat-stable enterotoxins, guanylin and their receptors what are they and what they do? *J Lab Clin Med.* 125:173-181.
- ❖ Giri A. (1993). The genetic toxicology of paracetamol and aspirin: a review. *Mutat. Res.* 296:199-210.
- ❖ Glader B. (2004). Anemia: General Considerations. En: *Wintrobe's Clinical Hematology.* 11<sup>th</sup>. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. pp.947-978.
- ❖ Gracey M. (1993). Persistent childhood diarrhea: patterns, pathogenesis and prevention. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 8:259-266.
- ❖ Golden M.H., Ramdath D. (1987). Free radicals in the pathogenesis of kwashiorkor. *Proc. Nutr. Soc.* 465:53-68.
- ❖ Golden N. H. M. (2002). The development of concepts of malnutrition. *Am. Soc. for Nutrit. Sci.* 2117S-2122S.
- ❖ Gómez F. (1946). Desnutrición. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* 3:543-551.
- ❖ Gómez F., Ramos-Galván R., Frenk S., Cravioto J. M., Chávez R., Vázquez J. (1956). Mortality in second and third degree malnutrition. *J. Trop. Pediatr.* 2:77-83.
- ❖ González C., Nájera O., Cortés E., Toledo G., López L., Betancourt M., Ortiz R. (2002<sup>a</sup>). Hydrogen peroxide-induced DNA damage and DNA repair in lymphocytes from malnourished children. *Environ. Mol. Mutagen.* 39:33-42.



- ❖ González C., Nájera O., Cortés E., Toledo G., López L., Betancourt M., Ortiz R. (2002<sup>b</sup>). Susceptibility to DNA damage induced by antibiotics in lymphocytes from malnourished children. *Terat. Carcinogen. Mutagen.* 22:147-158.
- ❖ Halliwell B. (2001). Vitamin C and genomic stability. *Mutat. Res.* 475:29-35.
- ❖ Jaju M., Jaju M., Ahuja Y.R. (1984). Evaluation of genotoxicity of ampicillin and carbenicillin in human lymphocytes *in vitro*: chromosome aberrations, mitotic index, cell cycle kinetics, satellite associations of acrocentric chromosomes and sister chromatid exchanges. *Human Toxicol.* 3:173-191.
- ❖ Kirsch-Volders M., Elhajouji A., Cundari E., Van Hummelen P. (1997). The *in vitro* micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. *Mutat. Res.* 392:19-30.
- ❖ Kirsch-Volders, M., Fenech M. (2001). Inclusion of micronuclei in nondivided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block assay for biomonitoring purposes. *Mutagen.* 16:51-58.
- ❖ Krawinkel M. (2003). Kwashiorkor is still not fully understood. *Bulletin of The World Health Organization.* 81: 910-911.
- ❖ Kovacic P., Beevar L.E. (2000). Mode of action of anti-infective agents: focus on oxidative stress and electrotransfer. *Curr. Pharm. Des.* 6:143-167.
- ❖ Krishna G., Hayashi M. (2000). *In vivo* rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. *Mutat. Res.* 455:155-166.
- ❖ Ladeira M. S., Rodrigues M. A., Salvadori D. M., Quiroz D. M., Freire-Maia D. V. (2004). DNA damage in patients infected by *Helicobacter pylori*. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 13:631-637.
- ❖ Lee G. R. (1993). *Clinical hematology.* Novena edición. Ed. Ley & Febiger. pp 134.

- ❖ Lenhartz H., Ndasi R., Anninos A., Bottcher D., Mayatepek E., Tetanye E., Leischsenring M. (1998). The clinical manifestation of the Kwashiorkor syndrome is related to increased lipid peroxidation. *J. Pediatr.* 132:879-881.
- ❖ Leung F. (1998). Trace elements that act as antioxidants in parenteral micronutrition. *J. Nutr. Biochem.* 9:304-307.
- ❖ Levy A., Fraser D., Rossen S.D. Dagan R., Deckelbaum R.J., Coles C., Naggam L. (2005). Anemia is a risk factor for infectious diseases in infants and toddlers: results from a prospective study. *Eur. J. Epidemiol.* 20:277-284.
- ❖ Macgregor J.T., Wehr C.M., Hiatt R.A., Peters B., Tucker J.A., Langlois R.G. Jacob R.A., Jensen R.H., Yager J.W., Shigenaga M.K., Frei B. Eynon B.P., Ames B.N. (1997). "Spontaneous" genetic damage in man: evaluation of interindividual variability, relationship among markers of damage, and influence of nutritional status. *Mutat. Res.* 377:125-35.
- ❖ Majer B., Laky B., Knasmuller S., Kassie F. (2001). Use of the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells as a biomarker for monitoring individuals at elevated risk of genetic damage and in chemoprevention trials. *Mutat. Res.* 489:147-172.
- ❖ Matise I., Sirinarumitr T., Bosworth B.T., Moon H.W. (2000). Vascular ultra structure and DNA fragmentation in swine infected with Shiga toxin-producing *E. coli*. *Vet. Pathol.* 37:318-327.
- ❖ Maura A., Pino A., Robbiano L., Cajelli E., Pinollo R., Cavanna M, Brambilla G. (1983). DNA damage induced by ranitidine in cultured mammalian cells. *Toxicol. Lett.* 18:97-102.
- ❖ Miller B., Potter-Locher F., Seelbach A., Stopper H., Utesch D., Madle S. (1998). Evaluation of the *in vitro* micronucleus test as an alternative to the *in vitro* chromosomal aberration assay: position of the GUM working group on the *in vitro* micronucleus test. *Mutat. Res.* 410: 81-116.

- ❖ Monárrez-Espino J., Martínez H., Martínez V., Greiner T. (2004). Nutritional status of indigenous children at boarding schools in northern Mexico. *Eur. J. Clin. Nutr.* 58: 532-540.
- ❖ Mudry M.D., Carballo M., Labal M., Gonzalez C.M., Larripa I. (1994). Mutagenic bioassay of certain pharmacological drugs III: metronidazole (MTZ). *Mutat. Res.* 305: 127-132.
- ❖ Murthy B., Rahiman A. (1994). Chromosomal abnormalities in severely malnourished Indian children. *Hiroshima J. Med. Sci.* 32:291-294.
- ❖ Mutchinick O., Lisker R., Ruz L., Salamanca F., Armendares S. (1979). Frequency of sister chromatid exchanges in severe protein caloric malnutrition. *Ann. Genet.* 22: 129-132.
- ❖ Nahas A.F., Ashmawy I.M. (2004). Reproductive and cytogenetic toxicity of metronidazole in male mice. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 94:226-231.
- ❖ Nájera O., González C., Betancourt M., Ortiz R. (2001<sup>a</sup>). La desnutrición en México: revisión de los programas gubernamentales y los estudios diagnósticos de alcance nacional. *Bol. Méd. Hosp. Infant. Méx.* 58:120-133.
- ❖ Nájera O., González C., Toledo L., Cortés E., Betancourt M., Ortiz R. (2001<sup>b</sup>). CD45RA and CD45RO isoforms in infected malnourished and infected well-nourished children. *Clin. Exp Immunol.* 126:461-465.
- ❖ Nawawy A., Barakat S., Elwalily T., Abdel- Moneim D.A., Hussein M. (2002). Evaluation of erithropoyesis in protein energy malnutrition. *East Mediterr Health J.* 882-3:281-289.
- ❖ Norppa H., Renzi L., Lindholm C. (1993). Detection of whole chromosomes in nuclei of cytokinesis-blocked human lymphocytes by antikinetochores staining *in situ* hybridization. *Mutagen.* 8:519-525.
- ❖ Norppa H., Ghita C. (2003). What do human micronuclei contain?. *Mutagen.* 18:221-233.

- ❖ Olivares M., Walter T., Hertrampf E., Pizarro F. (1999). Anemia and iron deficiency disease in children. *Br. Med. Bull.* 55:534-543.
- ❖ Ortiz R., Campos C., Gómez J. L., Espinoza M., Ramos-Bonilla M., Betancourt M. (1994). Sister chromatid exchange and cell proliferation in lymphocytes from infected and non-infected children with severe protein-caloric malnutrition. *Mutat. Res.* 213: 33-37.
- ❖ Ortiz R., Cortés L., González C., López L., Pérez P., Cortés E., Betancourt M. (1997). Analysis of mitomycin C- induced micronuclei in lymphocytes from malnourished infected children. *Environ. Mol. Mutagen.* 30:363-370.
- ❖ Ortiz Rocío, Medina Hilda, Rodríguez Leonor, González-Márquez Humberto., Cortés Edith. (2004). Spontaneous and mitomycin C-induced micronuclei in peripheral blood reticulocytes from severely malnourished rats. *Environ. Mol. Mutagen.* 43:179-185.
- ❖ Parker W.J., Bick L.R. (1993). *Hematology. Clinical and laboratory practice.* Ed. Mosby-Year Book. pp 121-122.
- ❖ Parra-Gámez L., Reyes T. G., Escobar B. (2003). La desnutrición y sus consecuencias sobre el metabolismo intermedio. *Rev. Fac. Med. UNAM.* 46:32-36.
- ❖ Prasad A.S. (1998). Zinc in human health: an update. *J. Trace Elem. Exp. Med.* 11:63-87.
- ❖ Pelletier D., Frongillo E., Habicht J.P. (1993). Epidemiologic evidence for a potentiating effect of malnutrition on child mortality. *Am. J. Public. Health.* 83:1130-1133.
- ❖ Ramos-Galván R. (1976). Somatometría Pediátrica. *Arch. Inv. Med.* 6:5.
- ❖ Reid M., Badaloo A., Forrester T., Morlese F.J., Frazer M., Heird W., Jahoor F. (2000). In vivo rates of erythrocyte glutathione synthesis in children with severe protein-energy malnutrition. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabolism.* 278:E405-E412.

- ❖ Roy K., Saha A., De K., Sengupta C. (2000). Ceftriaxone induced lipid peroxidation and its inhibition with various antioxidants: Part II. Evaluation of glutathione and protocol as antioxidants. *Acta Pol. Pharm.* 57:385-390.
- ❖ Sans- Sabafren J. (2001). *Hematología clínica*. Cuarta edición. Ed. Hartcourt. Madrid, España. pp. 18-33.
- ❖ Sauerwein R., Mulder J, Mulder L., Lowe B., Peshu N. (1997). Inflammatory mediators in children with protein energy malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 65:1534-1539.
- ❖ Scrimshaw S.N., SanGiovanni P.J. (1997). Synergism of nutrition, infection, and immunity: an overview. *Am. J. Clin. Nutr.* 66:4664S-77S.
- ❖ Sestili P., Alfieri R., Carnicelli D., Martinelli C., Barbieri I., Bonelli M., Petronini P.G., Brigotti M. (2005). Shiga toxin1 and ricin inhibit repair of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced DNA single strands breaks in cultured mammalian. *DNA repair.* 4:271-277.
- ❖ Sorensen P.J., Jensen M.K. (1981). Cytogenetic studies in patients treated with trimethoprim-sulfamethoxazole. *Mutat. Res.* 89:91-94.
- ❖ Steffen S.E., Bervant F.R. (2000). Purification and characterization of the RecA protein from *Streptococcus pneumoniae*. *Arch. Biochem. Biophys.* 382:303-309.
- ❖ Thakur S., Gupta N., Nakkar P. (2004). Serum copper and zinc concentrations and their relation to superoxide dismutase in severe malnutrition. *Eur. J. Pediatr.* 163:742-744.
- ❖ Thomson E., Perry P. (1988). The identification of micronucleated chromosomes: a possible assay for aneuploidy. *Mutagen.* 3:415-418.
- ❖ Torous D., Dertinger S., Hall N., Tometsko C. (1998). An automated method for discriminating aneugen- vs. Clastogen-induced micronuclei. *Environ. Mol. Mutagen.* 31:340-344.

- ❖ Torous, S., Dertinger, N., Hall, C., Tometsko C. (2000). Enumeration of micronucleated reticulocytes in rat peripheral blood: a flow cytometric study. *Mutat. Res.* 465:91-99.
- ❖ Torous D., Hall N., Murante F., Gleason S., Tometsko C., Dertinger S. (2003). Comparative scoring of micronucleated reticulocytes in rat peripheral blood by flow cytometry and microscopy. *Toxicol. Sci.* 74:309-314.
- ❖ Vázquez G. E. (1998). Diagnóstico del estado nutricional en la infancia. *Acta Ped. de Méx.* 19: S1-S10.
- ❖ Vega-Franco L. (1999). Hitos conceptuales en la historia de la desnutrición proteico-energética. *Salud Públ. de Méx.* 41:328-333.
- ❖ Wang G., Conover R.C., Okzak A.A., Alamuri P., Johnson M.K., Maier R.J. (2005). Oxidative stress defense mechanism to counter iron-promoted DNA damage in *Helicobacter pylori*. *Free Radic. Res.* 39:1183-1189.
- ❖ Wapnir R. (2000). Zinc deficiency, malnutrition and the gastrointestinal tract. *J. of Nutr.* 130:1388S-1392S.
- ❖ WEB Médica Argentina. <http://www.webmedicaargentina.com.ar/>. (2006). Consultada en
- ❖ Wickramasinghe S.N., Fida S. (1994). Bone marrow cells from vitamin B12 and folate deficient patients misincorporate uracil into DNA. *Blood.* 83:1656-1661.
- ❖ Zhang J.Z., Henning S.M., Swendseid M.E. (1993). Poly (ADP-ribose) polymerase activity and DNA strand breaks are affected in tissues of niacin-deficient rats. *J. Nutr.* 123: 1349-1355.

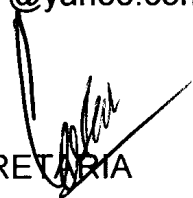
Los miembros del jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa, abajo firmantes, aprobaron la tesis titulada "EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICRONÚCLEOS EN ERITROCITOS DE NIÑOS CON DESNUTRICIÓN MODERADA Y GRAVE " el día 31 de octubre de 2006.

Dr. Miguel Betancourt Rule  
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Ciencias de la Salud  
betxanum.uam.mx



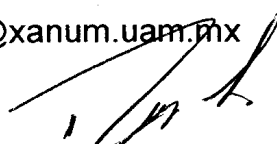
PRESIDENTE

Dra. María del Carmen García Rodríguez  
Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, UNAM  
Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental  
Bioterio, Campo II  
maricar\_67@yahoo.com



SECRETARIA

Dra. Leonor Rodríguez Cruz  
Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Ciencias de la Salud  
leor@xanum.uam.mx



VOCAL