

**UNIVERSIDAD DE ALCALÁ
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
UNIDAD I+D ASOCIADA AL CNB-CSIC**

**ALTERACIONES INMUNOINFLAMATORIAS EN LA
DESNUTRICIÓN INFANTIL. EFECTO BIOLÓGICO DE LA
RECUPERACIÓN NUTRICIONAL.**

TESIS DOCTORAL

NAYDA SORAYA PEREIRA

ALCALÁ DE HENARES, 2012

**UNIVERSIDAD DE ALCALÁ
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
UNIDAD I+D ASOCIADA AL CNB-CSIC**



**ALTERACIONES INMUNOINFLAMATORIAS EN LA
DESNUTRICIÓN INFANTIL. EFECTO BIOLÓGICO DE LA
RECUPERACIÓN NUTRICIONAL.**

TESIS DOCTORAL

Nayda Soraya Pereira

DIRECTOR DE TESIS

Melchor Álvarez de Mon Soto

Catedrático de Medicina y Departamento de Medicina
Universidad de Alcalá

AGRADECIMIENTO

Toda investigación requiere de la participación de un equipo multidisciplinario de profesionales. Por eso de una manera sencilla, pero sincera deseo expresar mi agradecimiento a las siguientes personas e instituciones:

- A La Universidad del Zulia y la Universidad de Alcalá de Henares, quienes a través del convenio de Doctorado en Conjunto, me brindaron la oportunidad de seguir desarrollándome como profesional.

- Al Vicerrectorado Académico representado por la Dra. Judith Aular de Durán y especialmente a la Profesora Xiomara Arrieta, por el aporte económico aprobado para la culminación de la fase experimental de esta investigación.

- A los Dres. Melchor Álvarez de Mon y Nereida Valero por consolidar y mantener las bases para que este Programa de Doctorado sea una realidad en nuestra Alma Mater.

- Al Servicio de Educación y Recuperación Nutricional del Hospital Chiquinquirá por su valiosa colaboración en la selección y evaluación integral del estado nutricional de los niños de este estudio.

- Al Dr. Climaco Cano y todo el personal del CIEM por manifestarme su apoyo incondicional. Mención especial merece la MgSc. Anilsa Amel por haber compartido sus conocimientos, pero sobre todo su amistad y solidaridad en los momentos de mayor ansiedad durante la ejecución de la fase experimental.

- A la Dra. Paula Dorante por su ayuda desinteresada.

- Al Dr. Edgardo Mengual por el análisis estadístico de los resultados obtenidos en la presente investigación.

- A mis grandes amigas Evelyn, Miriam y Cristina, por su cariño sincero y apoyo incondicional durante los momentos más aciagos de mi vida. Muchachas, se les quiere bonito.

- A las Lcdas. María Lucía, Priscila y Sandra por su afecto sincero.
- A María, Olida y Raquel, por tener siempre una palabra de aliento y darme la esperanza de que todo obra para mi bien.
- Al personal administrativo y obrero de la Escuela de Bioanálisis. De manera particular al Sr. José Gregorio García (Cheito), por su buena disposición siempre que lo necesité.
- A los esposos Arosemena, por su cariño, paciencia y buenos consejos. Dios les continúe bendiciendo.
- A Maribel Graterol (La Nana) por tomar el timón de mi casa en los momentos en que era necesario soltar.
- Al Economista Gustavo Velásquez, por su amistad y estímulo constante, buscando siempre la manera que descubra y crea en mis potencialidades.
- A todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron al desarrollo de la presente Tesis Doctoral.

DEDICATORIA

A Dios, por darme fortaleza, perseverancia y sabiduría en este nuevo reto profesional. De esta cosecha te ofrezco una ofrenda regada con amor, humildad y gratitud.

A mis hijos, con la sincera intención de un ejemplo a seguir. Que nada, ni nadie los detenga en la realización de sus más nobles ideales.

A la memoria de mi Madre, quien siempre se sintió orgullosa de mí.



INDICE

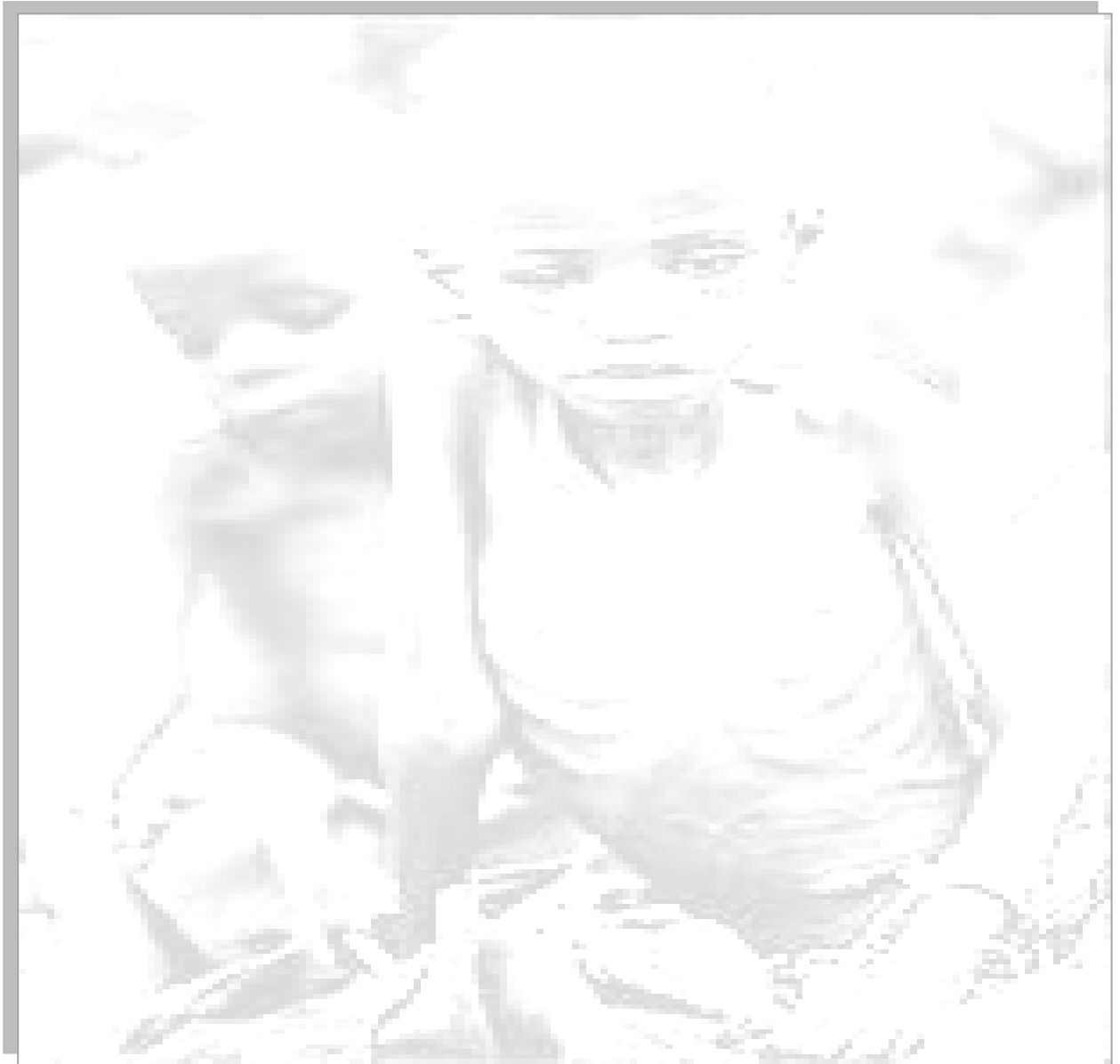
CONTENIDO**Página****Abreviaturas****Summary****I. Introducción**

I.1.- Definición	1
I.2.- Etiología	1
I.3.- Epidemiología	2
I.4.- Factores de riesgo	5
I.5.- Fisiopatología y Respuesta Adaptativa	6
I.5.1.- Movilización y Gasto de Energía	7
I.5.2.- Degradación y Síntesis de Proteínas	7
I.5.3.- Hematología y Transporte de Oxígeno	9
I.5.4.- Función Cardiovascular y Renal	9
I.5.5.- Electrolitos	9
I.5.6.- Función Gastrointestinal	9
I.5.7.- Sistema Nervioso Central	9
I.5.8.- Respuestas Adaptativas	10
I.6.- Clasificación	10
I.6.1.- Clasificación Etiológica	10
I.6.2.- Clasificación Clínica	11
I.6.3.- Clasificación por Severidad o Intensidad	14
I.6.4.- Clasificación por el Tiempo de Evolución	15
I.7.- Diagnóstico	15
I.7.1.- Signos Universales	15
I.7.2.- Signos Circunstanciales	16
I.7.3.- Signos Agregados	16
I.8.- Indicadores antropométricos	16
I.8.1.- Peso para la Edad	17
I.8.2.- Peso para la Talla	17
I.8.3.- Talla para la Edad	17
I.9.- Respuesta Inmunitaria en el Desnutrido	17
I.10.- Citocinas	20

I.10.1.- Definición	20
I.10.2.- Propiedades generales de las citocinas	21
I.10.3.- Síntesis de Citocinas	22
I.10.4.- Interleucina 1 (IL-1)	25
I.10.5.- Interleucina 4 (IL-4)	26
I.10.6.- Interleucina 6 (IL-6)	28
I.10.7.- Interleucina 10 (IL-10)	29
I.10.8.- Interleucina 12 (IL-12)	30
I.10.9.- Interleucina 17 (IL-17)	31
I.10.10.- Interferon- γ (IFN- γ)	33
I.10.11.- Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α)	35
I.11.- Reactantes de Fase Aguda	36
I.11.1.- Proteína C Reactiva	37
I.11.2.- Componente C3 del Complemento	38
I.11.3.- PCR y C3 en el Desnutrido	39
I.12.- Micronutrientes y Desnutrición	39
I.12.1.- Cinc	40
I.13.- Estrés Oxidativo y Desnutrición	43
I.14.- Recuperación Nutricional	46
I.15.- Desnutrición Infantil Hoy	48
II.- Hipótesis y Objetivos	51
III.- Materiales y Métodos	
III.1.- Diseño del Estudio	55
III.1.1.- Tipo de Diseño	55
III.1.2.- Período de Estudio	55
III.1.3.- Selección de la Población y Procedencia	55
III.1.4.- Evaluación Integral del Estado Nutricional	56
III.1.5.- Criterios de Inclusión	59
III.1.6.- Criterios de Exclusión	59
III.1.7.- Grupo Control	59
III.2.- Metodología de Laboratorio	60
III.2.1.- Limpieza del Material	60
III.2.2.- Toma y Recolección de la Muestra	60

III.2.3.- Ámbito de Estudio	61
III.3.- Métodos	61
III.3.1.- Determinación de los Niveles Séricos de Citocinas	61
III.3.1.1.- Cuantificación de IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α	61
III.3.1.2.- Cuantificación de IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α	63
III.3.2.- Determinación de PCR y Complemento C3	64
III.3.3.- Determinación Analítica de Cinc	64
III.3.3.1.- Equipos	65
III.3.3.2.- Reactivos	65
III.3.4.- Determinación de Oxido Nítrico	66
III.3.5.- Determinación de Malonaldehido	67
III.4.- Programa de Recuperación Nutricional	67
III.4.1.- Normas Generales del Programa	67
III.4.2.- Administración del Programa de Recuperación Nutricional	68
III.5.- Organización de la Información Recogida	72
III.5.1.- Descripción de las Variables de la Base de Datos	72
III.5.1.1.- Variables Generales de los Grupos en Estudio	72
III.5.1.2.- Variable Grupo	72
III.5.1.3.- Variable Clínica	72
III.5.1.4.- Variables Cuantitativas	73
III.6.- Análisis Estadístico	73
IV.- Resultados	
IV.1.- Datos Clínicos	75
IV.2.- Determinación Sérica de Citocinas	76
IV.2.1.- Citocinas Proinflamatorias en Niños con Distintos Grados de Déficit Nutricional	76
IV.2.2.- Citocinas Antiinflamatorias en Niños con Distintos Grados de Déficit Nutricional	78
IV.2.2.1.- Determinación de IL-4	78
IV.2.2.2.- Determinación de IL-10	79
IV.3.- Determinación de Citocinas en Niños Controles y Niños Desnutridos	80

IV.4.- Determinación Sérica de Proteínas de Fase Aguda	81
IV.4.1.- Proteína C Reactiva	81
IV.4.2.- Complemento C3	83
IV.5.- Determinación Sérica de Cinc	83
IV.6.- Determinación Sérica de Citocinas antes y después de la Recuperación Nutricional	85
IV.6.1.- Determinación de IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α	85
IV.7.- Determinación Sérica del Perfil Oxidativo antes y después de la Recuperación Nutricional.	87
IV.7.1.- Concentración de Oxido Nitrico y Malonaldehido	87
IV.8.- Porcentaje de Disminución antes y después del Tratamiento	89
IV. 9.- Correlación entre las concentraciones séricas de IL-12, IL-17, IFN-γ y TNF-α con las variables clínicas y antropométricas antes y después del tratamiento	90
V.- Discusión	
V.1.- Respuesta Inflamatoria en el Niño con Distintos Grados de Déficit Nutricional	92
V.1.1.- Citocinas Proinflamatorias	92
V.1.2.- Determinación de Proteína C Reactiva	95
V.1.3.- Determinación del Componente C3	99
V.2.- Determinación de IL-4 e IL-10	102
V.3.- Determinación de Cinc	108
V.4.- Respuesta Inflamatoria en el Niño Desnutrido Grave antes y después del la Recuperación Nutricional	113
V.4.1.- Determinación de IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α	113
V.5.- Determinación de Oxido Nitrico y Malonaldehido	123
VI.- Conclusiones	126
VII.- Referencias Bibliográficas	128
VIII.- Anexo	147
IX. Publicaciones	153



ABREVIATURAS

Antígenos Leucocitarios Humanos:	Espectrometría de Absorción
HLA	Atómica con Atomización
Centro Nacional de Estadísticas de	Electrotérmica: ETA-AAS
la Salud: NCHS	Eutróficos Infectados: EI
Cinc: Zn	Eutróficos Sin Infección: ESI
Complejo Mayor de	Factor de Crecimiento
Histocompatibilidad de clase II:	Transformante Beta: TGF-β
CMH-II	Factor de Necrosis Tumoral Alfa:
Complemento C3: C3	TNF- α
Daltons: Da	Gramo: g
Decilitro: dL	Índice de Masa Corporal: IMC
Desnutrido Grave: DG	Inmunoanálisis Enzimático: ELISA
Desnutridos Graves Infectados: DGI	Instituto Nacional de Nutrición: INN
Desnutrido Grave Sin Infección:	Interleucina: IL
DGSI	Interleucina 1: IL-1
Desnutrido Grave con Terapia	Interleucina 2: IL-2
Nutricional: DGTN	Interleucina 3: IL-3
Desnutrido Leve: DL	Interleucina 4: IL-4
Desnutrido Moderado: DM	Interleucina 6: IL-6
Desnutrición Proteico-Energética:	Interleucina 8: IL-8
DPE	Interleucina 10: IL-10
Desviación Score: DS	Interleucina 12: IL-12
Especies Reactivas de Oxígeno:	Interleucina 17: IL-17
EROS	Interleucina 23: IL-23
	Interferon Gamma: INF-γ

Litro: L

Microgramo: μg

Micromol: μM

Miligramo: mg

Organización Panamericana de la Salud: OPS

Natural Killer: NK

Proteína C Reactiva: PCR

Radicales Libres de Oxígeno: RLOx

Servicio de Educación y Recuperación Nutricional: SERN

Sistema de Información para la Vigilancia Alimentaria y Nutricional: SISVAN



SUMMARY

IMMUNOINFLAMATORIAS ALTERATIONS IN CHILD MALNUTRITION. BIOLOGICAL EFFECTS OF NUTRITIONAL RECOVERY

Undernourishment is a nutritional síndrome characterized by a multifactorial status in which the energetic and proteic deficit is predominant; this constitutes a public health problem due to its high prevalence and relationship with the mortality rate, with the physical growth deterioration, as well as an inadequate social and economic development. The undernourished child shows a dysfunction in his or her immune and oxidative response that can significantly increase the morbidity and mortality by infections. In this study, the seric concentrations of a soluble mediator group (IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, IFN- γ and TNF- α), acute phase reactants (reactive protein C and C3), micronutrients (zinc) and oxidative stress (NO and MDA) were determined in children with different levels of nutritional deficit and in children with severe or serious undernourishment undergoing nutritional recovery. The selected population was constituted of 149 children (06 mo – 6 years old), from socio-economic levels IV and V, nutritionally classified according to clinic and anthropometric criteria in eutrophies without infection (n= 25), infected eutrophies (n= 20), infected undernourished (n= 20), non- infected undernourished (n= 64), and seriously undernourished (n= 20). Enzymatic immuneanalysis was used to determine the seric concentrations from the different cytokines, turbidimetry for the reactive protein C and C3 concentrations, the instrumental technique of atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization (ETA-AAS) to determine zinc, the Gries reaction and the tiobarbituric acid trial to determine nitric acid and malonaldehyde, respectively. Analyzing the results, IL-1 α showed a significant increase ($p < 0.001$) in its concentrations on severe undernourished (7.53 ± 3.46 pg/mL). An equal behaviour was observed in TNF- α , which showed a significant increase in its seric values ($p < 0.05$) in the severely undernourished (34.79 ± 6.21 pg/mL). IL-6 showed significant changes ($p < 0.01$) regarding the severely undernourished (32.12 ± 10.26 pg/mL). In relation to the reactive Protein C seric concentrations, findings showed that the severely undernourished infected increased its value significantly (80.80 ± 38.39 mg/L) compared to the non infected (8.17 ± 3.06 mg/L) ($p < 0.001$). There were also statistically significant differences among the severely undernourished infected and the group of infected eutrophic ($p < 0.001$) which presented higher values. In the undernourished infected, a significant

difference was found among the severely undernourished regarding the rest of the groups (mild and moderate) and the eutrophic control group ($p < 0.05$); however, their concentrations remained within the normal range of values. C3 component, on the other hand, showed a decrease in its seric values (1.04 ± 28 g/L) in the group of severely undernourished with significant differences ($p < 0.001$) for all the selected groups. The results of the seric concentrations of Zn gave significant differences ($p < 0.001$) among the severely undernourished group (15.48 ± 10.44 $\mu\text{g/dL}$) and the mildly undernourished (39.73 ± 14.97 $\mu\text{g/dL}$) and moderately undernourished (35.07 ± 28.13 $\mu\text{g/dL}$). Regarding the daily intake of Zn, a statistically significant difference ($p < 0,001$) was observed only in the severely undernourished (1.87 ± 0.54 mg/day) when compared to the rest of the groups and the eutrophic control. In relation to the severely undernourished undergoing nutritional recovery, a statistically significant difference was observed ($p < 0.0001$) in the seric concentrations of IL-12, IL-17, TNF- α , NO and MDA before and after treatment. The sum of these results leads to the conclusion that, in the undernourished, the capacity to produce soluble and inflammatory mediators is preserved, which concentrations are affected in relation to the intensity of the nutritional deficit, being this last aspect of influence on the concentrations and intake of Zinc. Regarding the nutritional recovery, this seems to favor the immune and oxidative response in the severely undernourished due to an important decrease produced in the seric values of cytokines and oxidative stress markers after the treatment.

Key words: *Undernourishment, cytokines, acute phase reactants, micronutrients, oxidative stress.*



I.- INTRODUCCIÓN

I.1. DEFINICIÓN

La desnutrición proteico-energética (DPE) es un síndrome nutricional caracterizado por un estado multifactorial donde predomina el déficit energético y proteico y es el resultado de una dieta inadecuada en términos de cantidad y calidad que no provee al organismo de suficientes energías, macro y micronutrientes específicos para cubrir las necesidades del individuo, de manera que le permita un crecimiento y desarrollo adecuado (Waterlow, 1996).

Una definición más amplia es la que considera a la desnutrición como un estado deficiente de nutrientes. El término expresa todas las condiciones en las que existe una deficiencia en la ingesta, absorción o utilización de los mismos, así como una situación de consumo o pérdida excesiva de calorías, que afecta el aporte y metabolismo de los principales nutrientes (Hernández *et al.*, 1998). Otra definición indica que la desnutrición es el hambre de los tejidos, la ausencia de proteínas, calorías, vitaminas y de iones inorgánicos, por lo que convierte a las personas que la padecen, en presa fácil de las enfermedades. En particular cuando el ambiente está contaminado, las infecciones y las parasitosis múltiples se instalan sin resistencia en los órganos afectados por el hambre (Martínez *et al.*, 2009).

I.2- ETIOLOGÍA

La etiología de la desnutrición puede ser:

Primaria: cuando obedece a un aporte insuficiente de nutrientes y/o episodios repetidos de diarreas o infecciones de vías respiratorias.

Secundaria: Cuando es debida a una enfermedad subyacente que conduce a una ingestión o absorción inadecuadas, o a la utilización excesiva de nutrimentos.

En la mayoría de los países de economías emergentes y en algunas áreas marginadas de países industrializados, cuando hay desnutrición endémica ésta presenta ciertos rasgos característicos: peso bajo al nacer, prevalencia elevada de enfermedades infecciosas, estatura pequeña de sus habitantes, tasas elevadas de mortalidad, particularmente en niños menores de cinco años y expectativas de vida más corta (CERPE, 2006).

De tal manera que la desnutrición es la resultante de un círculo vicioso que perpetúa y agrava el subdesarrollo, empeorando el estado de salud y la nutrición de la comunidad. En un alto porcentaje de los casos la causa de la desnutrición es debida a una baja ingesta de nutrientes, la cual es insuficiente para cubrir las necesidades, agregándose a éstas en cualquier momento la infección que aumenta la severidad de este cuadro.

I.3. EPIDEMIOLOGÍA

La DPE representa un denominador común en los países de economías emergentes y su efecto negativo sobre la población infantil sigue siendo un grave problema de salud pública que se asocia a las condiciones socioeconómicas de estos países, en donde la pobreza, el mal abastecimiento de agua potable, la insalubridad, la falta de educación, los servicios de atención a la salud insuficiente y la educación materno-infantil ineficaz, contribuye en un gran porcentaje a esta situación (Durán *et al.*, 2006). (Figura 1). La magnitud del problema varía de un país a otro y en las diferentes áreas geográficas de un mismo país. Sin embargo, se

reconoce que cuando menos la mitad de las muertes que ocurren cada año en nuestro planeta son atribuibles a la DPE.

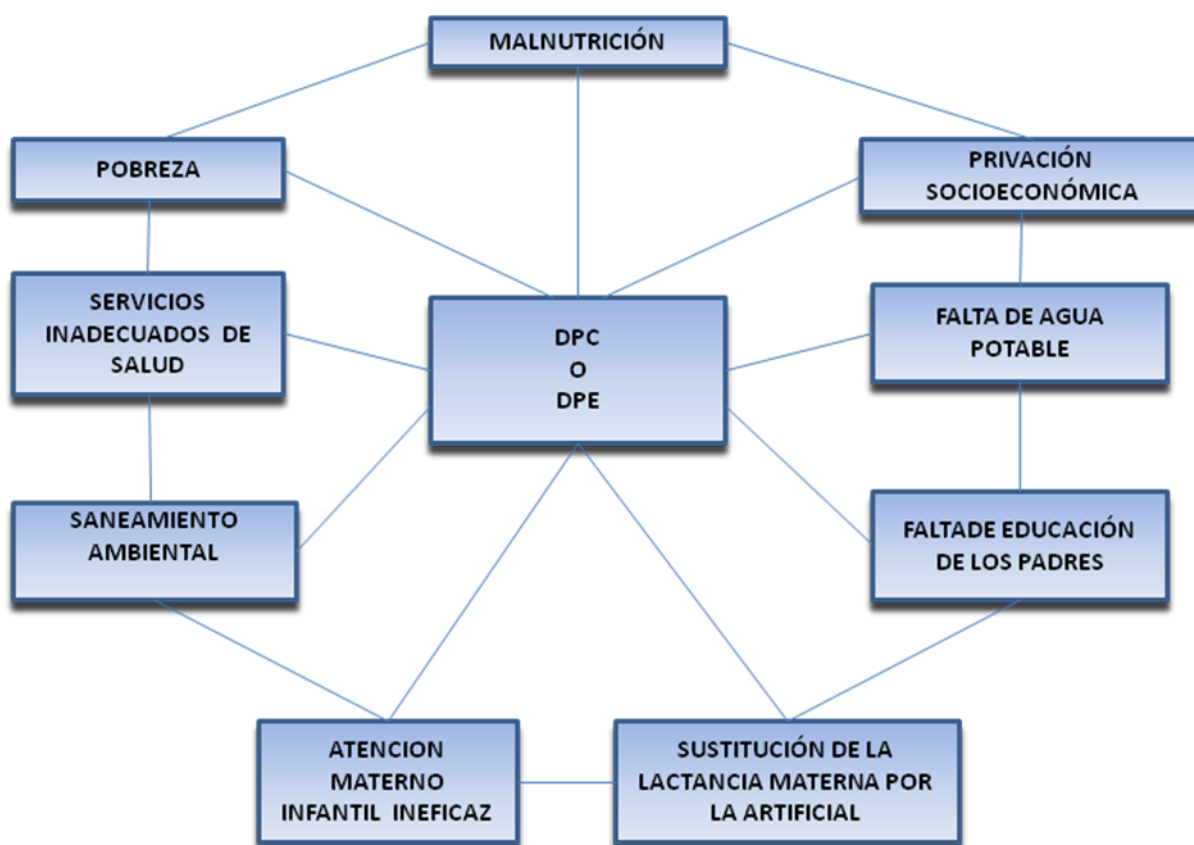


Figura 1.- Red de factores interactivos que causan DPE.

Fuente: Food Nutr Bull. 2006

A nivel mundial el 54% de la mortalidad debido a enfermedades infecciosas en niños menores de 5 años, está asociada a la desnutrición (WHO, 2004). El informe estadístico de la infancia 2000 señala que en los últimos 20 años una de cada cinco personas incluidos 600 millones de niños) presentan algún grado de desnutrición (UNICEF, 2008). En América Latina más del 50% de los niños menores de 6 años presentan desnutrición y de estos, el 41% sufre retraso en el crecimiento (Martínez,

2008). La Organización Panamericana de la Salud (OPS) estima que todos los años aproximadamente medio millón de niños y niñas mueren en la región antes de alcanzar los cinco años de edad. Se estima que aproximadamente el 27% de estas muertes se debe a enfermedades infecciosas y a trastornos nutricionales, lo que representa más de 150.000 defunciones anuales de menores de cinco años en todo el continente americano. Entre estas enfermedades, las enfermedades respiratorias (neumonía) y las enfermedades diarreicas, son las causas principales de mortalidad **(OPS, 2005).**

En Venezuela, los grupos etarios más afectados por desnutrición son los niños menores de 2 años y los niños de 2 a 6 años, y de acuerdo al Instituto Nacional de Nutrición (INN) el índice más alto de déficit nutricional en niños, niñas y adolescentes, se observó en los estados Apure (17,58%), Bolívar (17,58%), Delta Amacuro (16,16%), Guárico (15,71%), Monagas (15,45%), Anzoátegui (15,32%), Portuguesa (15,09%), Miranda (14,74%), Barinas (14,28%), Yaracuy (14,26%), Amazonas (14,17%) y Sucre (13,90%), valores estos superiores al promedio nacional (13,34%) **(INN, 2005).**

En el Estado Zulia, el Sistema de Información para la Vigilancia Alimentaria y Nutricional (SISVAN) realizó una evaluación sobre la situación nutricional en niños menores de 15 años según grupo de edad y distrito sanitario, encontrando en el Municipio Maracaibo un déficit del 14,9 % para los niños entre 0 a 2 años y del 21,12% para niños entre 2 a 6 años de vida **(SISVAN, 2005).** Tales antecedentes muestran la trascendencia del problema del déficit nutricional para el desarrollo económico y social del estado; así como el hecho de que la situación de pobreza

alcanza niveles alarmantes debido a los bajos ingresos familiares que solo cubren escasamente las necesidades básicas (**Martínez et al., 2009**).

I.4. FACTORES DE RIESGO

La mala nutrición de la madre y las infecciones intercurrentes durante el embarazo son factores frecuentes de niños prematuros y desnutrición en utero. No es raro que niños nacidos en estas condiciones de desventaja nutricia en su pasado inmediato, sean víctimas de prácticas inadecuadas de alimentación, especialmente en regiones en donde la lactancia materna está siendo reemplazada desde etapas muy tempranas de vida por fórmulas de alimentación preparadas de manera deficiente y en malas condiciones de higiene (**Flores, 1995**).

La desnutrición puede presentarse en todas las edades, sin embargo, es más notoria y grave entre los 6 y 36 meses de edad. Después del destete, que con frecuencia se inicia antes del cuarto mes, el niño recibe poco o ningún alimento con leche, sus derivados u otros productos de origen animal. La combinación de una dieta baja en energía y proteínas aunado a frecuentes infecciones digestivas y respiratorias propicia un avance lento y progresivo hacia una desnutrición grave (**Flores, 1995**).

En las zonas rurales y urbanas marginadas, el ciclo infección-desnutrición se debe a varios factores (**Velásquez Pérez et al., 1998**) entre los cuales destacan:

- 1.- El abandono de la lactancia materna
- 2.- La ablactación temprana (antes de los dos meses de edad) o muy tardía (después del sexto mes de edad).

3.- El uso inadecuado de los sucedáneos de la leche materna.

4.- Las infecciones gastrointestinales frecuentes en el niño.

Por otro lado en regiones o países subdesarrollados la pobreza es causa y consecuencia de la falta de educación, mala salud de la población, comunicación deficiente, baja productividad, balance económico desfavorable e inadecuada utilización de los recursos naturales, lo cual conduce a errores en el consumo y a una inadecuada distribución de los alimentos entre los miembros de la familia, particularmente desfavorable hacia los niños pequeños (**Martínez et al., 2009**).

I.5- FISIOPATOLOGÍA Y RESPUESTAS ADAPTATIVAS

A través de una serie de mecanismos fisiológicos, el organismo tiende a mantener un equilibrio dinámico ante la ingesta de energía y cuando existen periodos largos de restricción energética y/o proteica, este mismo organismo se adapta en forma progresiva a tal restricción con el objeto de mantener un estado funcional adecuado tanto como lo permita el suministro limitado de nutrientes.

La adaptación nutricional significa que para sobrevivir a dos agresiones sinérgicas, la carencia de nutrientes y las infecciones frecuentes, el organismo modifica sus patrones biológicos de normalidad y crea nuevas condiciones homeostáticas (**Torun et al., 2002**).

En la medida en que se incrementa el déficit nutricional el organismo se ajusta como medida compensatoria al cambio de abastecimiento de nutrientes reduciendo sus niveles funcionales o cambiando el tamaño o estado de los compartimentos corporales afectados. Si en este punto el suministro de alimentos continúa siendo cada vez más bajo que el aceptado por el organismo, sobreviene la muerte. Sin

embargo, en la mayoría de los casos el individuo es capaz de vivir en un estado adaptado a una ingestión disminuida, fenómeno denominado “homeorresis” (Torun *et al.*, 2002), en el cual la mayoría de las funciones están alteradas y tienen las siguientes características:

I.5.1. Movilización y Gasto de Energía: El gasto de energía desciende con rapidez tras la disminución de la ingesta de sustratos calóricos y ello explica la reducción de los periodos de juego y actividad física que se observan con periodos de descanso más prolongados y menor trabajo físico. Cuando la disminución del gasto de energía no puede compensarse con la ingesta insuficiente, las reservas de la grasa corporal se movilizan y el tejido adiposo y el peso corporal disminuyen. La masa magra se reduce a una velocidad menor como consecuencia del catabolismo de las proteínas del músculo que promueve una mayor liberación de aminoácidos. Conforme la deficiencia de energía se vuelve más grave, la grasa subcutánea se reduce en forma notoria y el catabolismo de proteínas lleva al desgaste muscular. Las proteínas viscerales se conservan por un tiempo mayor, especialmente en pacientes con marasmo (Suskind, 1992; Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988).

I.5.2. Degradación y Síntesis de Proteínas: La baja disponibilidad de proteínas reduce la síntesis de estas. Las adaptaciones del organismo permiten conservar las proteínas estructurales y mantener las funciones esenciales que dependen de las mismas, lo cual conduce a cambios enzimáticos que favorecen la degradación de la proteína del músculo y la síntesis hepática de proteínas, así como la movilización de sustratos de energía desde los depósitos de grasa (Suskind, 1992; Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988).

La velocidad de síntesis de la albúmina disminuye, hay un movimiento desde las reservas extravasculares hacia las reservas intravasculares para ayudar a mantener niveles adecuados circulantes de esta proteína ante la disminución de su síntesis. Los mecanismos de adaptación fallan cuando el agotamiento de proteínas se vuelve muy grave y la concentración de las mismas en el suero disminuye. La reducción secundaria de la presión oncótica intravascular y la fuga de líquido hacia el espacio extravascular contribuyen a la formación del edema del kwashiorkor (Suskind, 1992; Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988).

I.5.3. Hematología y Transporte de Oxígeno: La disminución de la concentración de hemoglobina y de masa de eritrocitos que se observa en casi todos los casos de DPE grave es un fenómeno de adaptación que se relaciona cuando menos en parte con los requerimientos de oxígeno por parte de los tejidos. El decremento de la masa corporal magra y la actividad física menor de los pacientes con desnutrición también disminuyen la demanda de oxígeno.

El descenso simultáneo de los aminoácidos de la dieta resulta de una disminución de la actividad hematopoyética, que reserva los aminoácidos para la síntesis de otras proteínas más necesarias. En tanto los tejidos reciben suficiente oxígeno, esta respuesta debe considerarse una forma de adaptación y no una forma “funcional” de anemia. Si no se cuenta con suficiente hierro, ácido fólico y vitamina B2 ocurre anemia funcional con hipoxia tisular secundaria (Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988).

I.5.4. Función Cardiovascular y Renal: El gasto cardiaco, la frecuencia cardiaca y la presión arterial disminuyen y la circulación central cobra mayor importancia que la circulación periférica. Los reflejos cardiovasculares se alteran y

ocasionan hipotensión postural y disminución del retorno venoso. La forma principal de compensación hemodinámica la constituye la taquicardia y no el aumento del volumen latido. Tanto el flujo plasmático renal como la velocidad de filtrado glomerular pueden disminuir a causa del descenso del gasto cardiaco, aunque al parecer la capacidad de excretar líquidos y de concentrar y acidificar la orina se conservan (Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988).

I.5.5. Electrolitos: El potasio corporal total disminuye a causa de la reducción de proteínas musculares y de la pérdida del potasio del compartimiento intracelular. La acción baja de la insulina y la disminución de los sustratos de energía dentro de la célula reducen la disponibilidad de ATP y fosfocreatina. Lo anterior conduce a una entrada a la célula de Sodio (Na⁺) y agua con la consecuente sobrehidratación intracelular (Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988).

I.5.6. Función Gastrointestinal: La absorción de lípidos y disacáridos pueden alterarse y la velocidad de absorción de glucosa disminuir en la deficiencia grave de proteínas. También puede observarse menor producción de sustancias gástricas, pancreáticas y biliares, lo cual altera aún más las funciones de absorción que se manifiestan con diarrea y quizás también por la motilidad intestinal irregular y el sobrecrecimiento bacteriano. La diarrea incrementa la mal absorción y puede agravar más el estado nutricional (Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988).

I.5.7. Sistema Nervioso Central: Los pacientes que cursan con DPE a edad temprana pueden presentar disminución del crecimiento cerebral, de la mielinización de los nervios, de la producción de neurotransmisores y de la velocidad de conducción nerviosa. Aún no se demuestran en forma clara las implicaciones

funcionales de estas alteraciones a largo plazo y no pueden correlacionarse con la conducta posterior ni con el nivel de inteligencia (Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988).

I.5.8. Respuestas Adaptativas:

- Detención de crecimiento y desarrollo.
- Glicemia normal a expensas de proteínas y grasas.
- Reducción de la síntesis de proteínas viscerales y musculares.
- Reducción en la concentración de la hemoglobina y glóbulos rojos.
- Disminución del flujo plasmático renal y filtrado glomerular.
- Disminución de linfocitos T y complemento sérico.
- Disminución de IgA.
- Disminución de secreción gástrica y pancreática, atrofia de vellosidades Intestinales.
- Alteraciones endocrinológicas.

I.6. CLASIFICACIÓN

Para elaborar el diagnóstico de desnutrición se requiere analizar la historia alimentaria, la frecuencia y severidad de las enfermedades previas, reconocer los signos y síntomas propios de esta enfermedad, medir el crecimiento y realizar algunas pruebas bioquímicas.

I.6.1.- CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA:

A) Primaria: Se presenta cuando el aporte de nutrientes es inadecuado para cubrir las necesidades y/o episodios repetidos de diarrea o infecciones de vías

respiratorias. Esta forma primaria de desnutrición es producto de la pobreza y la ignorancia, se observa con más frecuencia en regiones o países en vías de desarrollo (Torun *et al.*, 2002).

B) Secundaria: cuando existe alguna condición subyacente que conduce a una inadecuada ingestión, absorción, digestión o metabolismo de los nutrientes, generalmente ocasionado por un proceso patológico como infecciones agudas, sepsis o problemas crónicos como la diarrea persistente, Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, cardiopatías congénitas, neumopatías, enfermedad renal avanzada y muchos tipos de cáncer (Torun *et al.*, 2002).

C) Mixta: se presenta cuando coexisten las dos causas anteriores. El sinergismo entre ingesta inadecuada e infección es el ejemplo clásico de este cuadro y tiene como sustrato metabólico el desequilibrio entre el mayor gasto de nutrimentos y la necesidad no satisfecha de los mismos (Torun *et al.*, 2002).

I.6.2.- CLASIFICACIÓN CLÍNICA:

La DPE es un nombre genérico para un amplio espectro de estados de deficiencia de proteínas y energía y son clasificados como: energética, proteica y energética-proteica.

Las manifestaciones clínicas iniciales son inespecíficas, incluyen: reducción en la velocidad de crecimiento, disminución en la actividad física y apatía general. Al incrementar el déficit de proteínas y energía, las manifestaciones primarias se hacen más evidentes; sin embargo, sólo cuando la DPE es grave, los signos y síntomas específicos se hacen evidentes. Los términos marasmo, kwashiorkor y marasmo-

kwashiorkor se usan para designar expresiones clínicas de desnutrición calórico-proteica avanzada o de tercer grado (Manary *et al.*, 1998; Suskind, 1992).

La desnutrición tipo marasmo se debe a un déficit parcial o total de energía y nutrientes o a su mala utilización, se aprecia pérdida de grasa o masa muscular, el niño es extremadamente delgado con un peso bajo para su edad, anoréxico con disminución de grasa subcutánea manteniendo valores de proteínas séricas adecuadas, por lo que no se aprecia edema. La piel luce seca y floja, el pulso suele ser lento y el metabolismo basal tiende a estar reducido. El cabello es escaso, delgado, seco y fácilmente desprendible. Los niños que sufren marasmo están particularmente expuestos a enfermedades infecciosas y es elevado su índice de mortalidad (Manary *et al.*, 1998; Suskind, 1992; Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988). (Figura 2).



Figura 2.- Niño con Marasmo

Fuente: <http://Stolenchildhood.net/entry/a-photo-report-of-underprivileged-children-worldwide/>

Por su parte, la desnutrición tipo kwashiorkor tiene su origen en la disminución del aporte proteico o el aumento de requerimientos nitrogenados, como puede ocurrir en el curso de infecciones graves, politraumatismos e intervenciones quirúrgicas. Las características clínicas son: edema que puede llegar hasta la anasarca, disminución de la masa muscular y cambios a nivel de piel y faneras. Hay retraso en el crecimiento, anorexia, apatía, llanto y expresión de tristeza. Las alteraciones del cabello van desde el pelo ralo, escaso o con grandes zonas de calvicie hasta los cambios de textura: frágil, fino y seco que se desprende con facilidad. El hallazgo bioquímico más importante es el descenso de las proteínas séricas (albúmina) (Manary *et al.*, 1998; Suskind, 1992; Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988). (Figura 3).



Figura 3.- Niño con Kwashiorko.

Fuente: <http://Stolenchildhood.net/entry/a-photo-report-of-underprivileged-children-worldwide/>

En las formas mixtas de DPE se observan signos clínicos de marasmo y kwashiorkor. Se considera que un paciente con marasmo puede desarrollar edema por agudización de su cuadro, con pérdidas proteicas importantes como consecuencia de una infección aguda (Manary *et al.*, 1998; Torun *et al.*, 2002; Vega-Franco, 1988).

I.6.3- CLASIFICACIÓN POR SEVERIDAD O INTENSIDAD:

La clasificación de Gómez, una de las más usadas, utiliza el índice peso/edad, que resulta muy útil para niños menores de cinco años (Vásquez-Garibay, 1996).

La severidad de la desnutrición se reconoce clínicamente y se clasifica según el déficit de peso que tengan los niños en relación al peso con el percentil 50 de los niños de su misma edad. Los valores pueden ser locales o internacionales y la desnutrición se clasifica de la siguiente manera:

Grado	Déficit
1o	10 al 24 %
2o	25 al 39 %
3o	> al 40 %

** Los niños que presentan edema independientemente de su déficit se clasifican como tercer de grado.*

Una desventaja de esta clasificación es que no permite diferenciar entre un evento agudo y uno crónico, ni tiene la misma confiabilidad para niños mayores de cinco años. La clasificación de Waterloo utiliza el peso, talla y la edad y los agrupa

en dos índices peso/talla (P/T) y talla/edad (T/E) (Waterloo, 1996). El P/T indica la presencia de un déficit de peso con respecto a la estatura actual (desnutrición presente o emaciación), mientras que T/E evidencia desnutrición pasada o desmedro. Mediante esta clasificación se puede saber si la desnutrición es actual (peso bajo), desnutrición es pasada (talla/edad baja), o ambas.

De esta manera es posible hacer una distinción entre los niños que están muy delgados (emaciados o con desnutrición aguda), los que son de talla baja y aquellos que son delgados y pequeños (emaciación o con desnutrición crónica agudizada).

I.6.4.-CLASIFICACIÓN POR EL TIEMPO DE EVOLUCIÓN:

De acuerdo al tiempo de evolución podemos clasificar la desnutrición en un proceso agudo donde observamos déficit en peso sin deterioro de talla. Los procesos crónicos manifiestan en forma evidente déficit en talla y los crónicos agudizados, son niños con deterioro en talla en donde además se observa una pérdida de peso importante (Torun *et al.*, 2002).

I.7. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico en la DPE es primordialmente clínico. Los signos clínicos se clasifican en:

I.7.1. Signos Universales: Son aquellos que siempre están presentes en los niños desnutridos; su intensidad dependerá de la magnitud del déficit de nutrimentos, de la etapa de crecimiento y del tiempo de evolución y son: dilución, hipofunción y atrofia, y ocasionan detención de crecimiento y desarrollo (Torun *et al.*, 2002).

I.7.2. Signos Circunstanciales: Su presencia es circunstancial, pueden o no estar presentes y son características del tipo de desnutrición ya sea marasmo, kwashiorkor o mixta, como hipotrofia muscular, hipotonía, edema, lesiones dermatológicas (Torun *et al.*, 2002).

I.7.3. Signos Agregados: Son aquellos que se encuentran presentes en el niño desnutrido solamente y a consecuencia de diversos procesos patológicos que se agregan, como insuficiencia respiratoria, fiebre, deshidratación y otros (Torun *et al.*, 2002).

I.8. INDICADORES ANTROPOMÉTRICOS

En general para medir el estado nutricional del paciente pediátrico se hace necesario recolectar una serie de indicadores antropométricos entre los cuales se encuentran: peso para la talla (P/T), talla para la edad (T/E) y peso para la edad (P/E); establecidos en base a patrones internacionales recomendados por la Organización Mundial de la Salud y el Centro Nacional de Estadísticas de la Salud de los Estados Unidos de América (Estándares OMS/NCHS) (WHO, 2006). Estos estándares son los más adecuados para ser empleados como referencia y junto con la evaluación clínica, bioquímica y dietética, se obtiene el diagnóstico nutricional integral, que permite ubicar al niño dentro de las categorías: leve, moderado y grave. Dado que las cifras de peso y talla en niños menores de cinco (5) años siguen una distribución semejante en distintas poblaciones infantiles, se considera válido el uso en América Latina de los patrones internacionales (OMS/NCHS).

I.8.1. Peso para la Edad (P/E)

El P/E se utiliza en los niños y se valora como el porcentaje del peso esperado o ideal para una edad determinada. El déficit de peso evalúa tanto la desnutrición presente como la pasada ya sea debida a un proceso agudo o crónico.

I.8.2. Peso para la Talla (P/T)

El peso para la talla P/T ha reemplazado al P/E como criterio para el diagnóstico de desnutrición aguda o presente. Es muy útil para evaluar el impacto de los programas de intervención nutricional. Este cociente indica el estado nutricional actual y permite detectar casos de desnutrición aguda comparándolo con gráficas estandarizadas para niños y adolescente.

I.8.3. Talla para la Edad (T/E)

La T/E cuando se encuentra disminuida es evidencia de una desnutrición crónica o pasada. No es útil en los programas de intervención nutricia; sin embargo, es el indicador que nos permite diferenciar los procesos crónicos y pasados de los presentes y agudos y de ahí su valor en investigación social

I.9. RESPUESTA INMUNITARIA EN EL DESNUTRIDO

La desnutrición es un proceso complejo que afecta a todo el organismo no sólo por la pérdida de peso y los cambios metabólicos que se presentan, sino también por las alteraciones que se originan en el sistema inmunitario, lo cual hace al individuo más susceptible a las infecciones (**Amesty et al., 2003**).

Los niños desnutridos no pueden desarrollar una buena respuesta inmunitaria contra las inmunizaciones que reciben, es muy larga la lista de alteraciones que pueden aparecer a medida que se instala y progresa el cuadro clínico de la

desnutrición, todas ellas estudiadas (Amesty *et al.*, 1997; Chandra, 1997; Marcos, 2000; Sánchez-Álvarez; 1999).

Es muy común observar que los casos de desnutrición más grave evolucionan junto con las alteraciones en el sistema inmunitario que se asocian frecuentemente con infecciones que se presentan. Algunos de los cambios histológicos más importantes de los niños desnutridos se encuentran en el tejido linfoide, particularmente en el timo, el cual reduce su tamaño y disminuye su contenido de linfocitos (Chandra, 1997). También disminuyen las cantidades de linfocitos T circulantes y se reduce el tamaño de la áreas timo-dependientes de los órganos linfoides secundarios como el bazo y los ganglios linfáticos (Savino, 2002), lo cual trae como consecuencia la incapacidad del desnutrido para controlar la invasión de microorganismos potencialmente patógenos y la susceptibilidad que tienen para presentar infecciones graves aumenta.

Sin embargo, los linfocitos T no son las únicas células que tienen sus funciones alteradas a causa de la desnutrición. Los tejidos linfáticos son particularmente vulnerables a los efectos dañinos de la desnutrición y la atrofia linfoide es un aspecto notable de la carencia nutricional (Chandra, 1982; Savino, 2002). Se sabe que todas las células del sistema inmunológico y sus productos, tales como las citocinas, interferones y complemento, dependen de reacciones metabólicas que emplean diversos nutrientes como cofactores críticos para sus acciones y actividades.

La mayoría de los mecanismos de defensa del huésped se afectan con la desnutrición. Los pacientes con Desnutrición Proteico-Energética (DPE) presentan

alteración de la hipersensibilidad cutánea retardada, pobre proliferación de linfocitos estimulados con mitógenos, disminución de la síntesis de ADN, reducción en el número de linfocitos T, disminución del factor tímico sérico, un menor número de células CD4+, reducción de la relación CD4+/CD8+, alteración de la producción de interferón gama y de IL-2, alteración de la actividad del complemento (especialmente reducción de C3, C5, del factor B y de toda la actividad hemolítica), una respuesta inadecuada de anticuerpos a ciertos antígenos, disminución de la afinidad de los anticuerpos, alteración de la respuesta de la inmunoglobulina A secretoria y disfunción de los fagocitos (Amesty *et al*, 1997; Amesty *et al*, 2003; Amesty *et al*, 2004; Beisel, 1996; Chandra RK, 1997; Marcos, 2000; Sánchez-Álvarez,1999). En la inmunidad mediada por células, la desnutrición produce una disminución cuantitativa de los linfocitos T (Chandra *et al*, 1982).

A nivel molecular, el daño de las células inmunológicas como resultado de diversas deficiencias nutricionales como son la deficiencia de vitamina A, vitamina E, cinc, cobre, selenio; además de la DPE, se produce a través de estrés oxidativo por aumento de radicales libres (Ganong, 1997).

El deterioro de la inmunidad humoral y celular en el desnutrido indica que la cinética de la respuesta inmunitaria está modificada, incluyendo a un grupo de proteínas inmunomoduladores denominadas citocinas, las cuales en los últimos años han sido ampliamente estudiadas en una variedad de condiciones clínicas, pero escasamente en la DPE (Amesty *et al.*, 2003; KE Elizabeth, 2009).

I.10. CITOCINAS.

I.10.1. DEFINICIÓN

Las citocinas son factores solubles de carácter pleiotrópico liberados principalmente por leucocitos, y constituyen una vía esencial de interacción entre los diferentes tipos celulares del sistema inmunitario, y entre éste y el resto del organismo. Las citocinas intervienen en el desarrollo del sistema inmunitario controlando la proliferación y movilización de células madre hematopoyéticas, así como de las diferentes subpoblaciones de linfocitos T que participan en la respuesta inmunitaria. Estas moléculas intervienen en la regulación del sistema inmunitario, los procesos inflamatorios y están implicadas en las respuestas frente a agentes infecciosos que en ocasiones pueden ser responsables de procesos patológicos (Geginat *et al.*, 2001; Moore *et al.*, 2002).

Son moléculas de bajo peso molecular, normalmente entre 15-30 KDa, constituidas por 120-180 aminoácidos. Aunque en general son producidas por leucocitos, determinadas citocinas pueden también ser secretadas por otros tipos celulares. Originariamente se estableció el término linfocina para denominar productos biológicos producidos por linfocitos en respuesta al antígeno. Posteriormente su uso se amplió a moléculas de características similares secretadas por otros tipos celulares, por lo que se utilizó el término más amplio de citocina. El término interleucina (IL) se aplicó a aquellas moléculas que servían como señales de comunicación entre distintos tipos de leucocitos, numerándose correlativamente a medida que se descubrían (IL-1, IL-2, etc.). No obstante, algunas de ellas se detectaron inicialmente en ensayos funcionales *in vitro* y aún conservan su denominación original de acuerdo con la función biológica que permitió su

identificación, como es el caso del factor de necrosis tumoral (TNF) y el factor transformador de tejidos (TGF) (Aguzzi *et al.*, 2005; Gosain *et al.*, 2005; Stephen, 2002).

En general, poseen una vida media muy corta y actúan a muy bajas concentraciones, del orden de los picogramos, mediante la unión a receptores de alta afinidad presentes en la superficie de la propia célula productora o en otros muy variados tipos celulares, y contribuyen a la activación, blastogénesis y/o diferenciación en células efectoras, regulando también otros procesos como la apoptosis, adquisición de capacidad citotóxica y recirculación de leucocitos (Alvarez-Mon *et al.*, 1985).

I.10.2. PROPIEDADES GENERALES DE LAS CITOCINAS

La producción de las citocinas suele ser breve (transitoria), limitada al lapso de tiempo que dura el estímulo (es decir, el agente extraño) En muchos casos ello se debe a que los correspondientes ARNm tienen una corta vida media. Considerando las diversas citocinas, éstas pueden exhibir una o varias de las siguientes cualidades:

Pleiotropía: Múltiples efectos al actuar sobre diferentes células.

Redundancia: Varias citoquinas pueden ejercer el mismo efecto.

Sinergismo: Dos o más citoquinas producen un efecto que se potencia mutuamente. Por ejemplo: la acción conjunta de IL-4 e IL-5 induce en células B el cambio de clase para que produzcan Ig E.

Antagonismo: Inhibición o bloqueo mutuo de sus efectos. Por ejemplo: el IFN-gamma bloquea el cambio de clase promovido por IL-4.

Las citocinas ejercen un efecto autocrino cuando se unen a receptores presentes en la propia célula productora. Su efecto paracrino, lo ejecutan sobre diferentes tipos celulares que se encuentran en su vecindad y en algunos casos pueden liberarse a la circulación sanguínea o linfática, ejerciendo efectos en otros órganos y tejidos, actuando de forma endocrina como las hormonas (Aguzzi *et al.*, 2005). (Figura 4).

Muchas de las características biológicas de las citocinas se pueden explicar por la estructura y amplia distribución celular de sus receptores. Así, la secreción de una citocina puede estar inducida, potenciada o inhibida por otra citocina que, a su vez, puede incrementar o inhibir la expresión de sus receptores (Hunter, 2005).

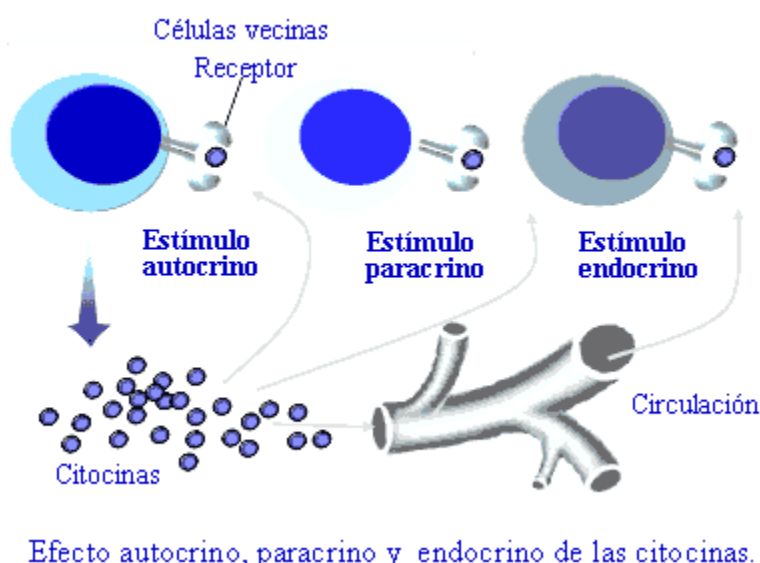


Figura 4. Efecto de las citocinas. Fuente: www.duke.edu

I.10.3. SÍNTESIS DE CITOCINAS

Una gran variedad de células pueden producir citocinas, pero estas son sintetizadas especialmente por los linfocitos T CD4+ o linfocitos T colaboradores:

Th1 y Th2. Esta división en 2 subtipos se basó en el panel de citocinas que estos eran capaces de secretar una vez activados y con las que modulaban a diversos tipos de células. Se denominó Th1 a los linfocitos secretores de Interferón- γ (IFN- γ) e Interleucina 2 (IL-2), y se denominó Th2 a los linfocitos que liberan Interleucina 4 (IL-4) e Interleucina 13 (IL-13) (Hernández, 2009; Mosmann *et al*, 1989). (Figura 5). Existe un tercer tipo de células colaboradoras, las células Th3, que deprimen la respuesta.

Esta clasificación de las células colaboradoras ha sido revisada actualmente debido a descubrimientos recientes, como la identificación de la familia de citocinas de la Interleucina 17 (IL-17) y el estudio de sus funciones efectoras. La existencia de un tercer grupo de células reguladoras se dedujo tras comprobar que las células T tratadas con péptidos microbianos en presencia de *Borrelia burgdorferi* (el agente de la enfermedad de Lyme) producían IL-17; pero a esta citocina no la elaboran las Th1 ni las Th2, lo que implica la existencia de un nuevo subgrupo de linfocitos T(CD4+) que secretan IL-17 y que coordinan la respuesta inmunitaria de un modo diferente a las Th1 o a las Th2 (Hernández, 2009; Infante-Duarte *et al.*, 2000).

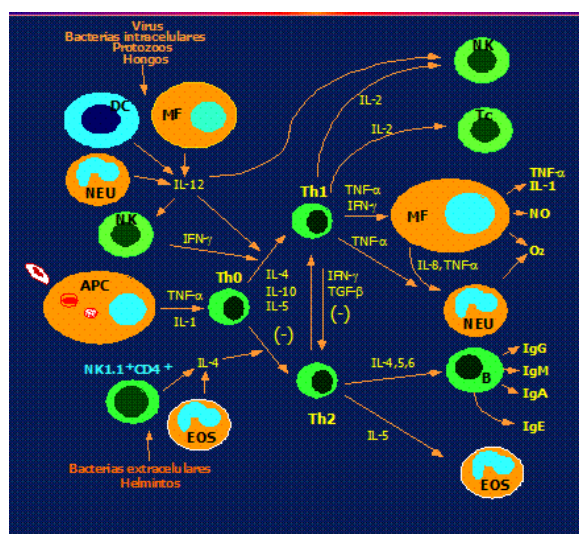


Figura 5. Síntesis de Citocinas
Fuente: www.epidemiologíamolecular.com

A estas células se las denomina Th17, son el tercer tipo de células colaboradoras reconocido por la comunidad científica y desempeñan un papel fundamental en la respuesta contra bacterias de crecimiento extracelular y hongos. Asimismo, se ha descrito para ellas un efecto proinflamatorio que les permite hacer de puente entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa (Bettelli *et al.*, 2007; Matsuzaki *et al.*, 2007). (Tabla 1).

Tabla 1
Células T Colaboradoras

Tipo Celular	Agente Estimulador	Factor de Diferenciación	Citocinas Secretadas
TH1	Bacterias extracelulares y virus	IL-12	IL-2, IFN- γ
TH2	Helminthos	IL-4	IL-4, IL-5, IL-13
TH17	Bacterias extracelulares y hongos	TGF- β	IL-17, IL-6

Las citocinas implicadas en el control de la actividad Th17 son la Interleucina 23 (IL-23), el Factor de Crecimiento Transformante- β (TGF- β) y la Interleucina 6 (IL-6). El TGF- β y la IL-6 promueven la diferenciación de los linfocitos quiescentes en Th17 y una vez diferenciados la citocina que induce la proliferación de estas células es la IL-23 (McGeachy *et al.*, 2007).

Los diferentes tipos de células colaboradoras se inactivan mutuamente, de modo que los Th1 (a través del IFN- γ) inhiben selectivamente la actividad de los Th2 y los Th17. A su vez, los Th2 inhiben la proliferación de los Th1 y los Th17 mediante

la IL-10 y la IL-4, y los Th17 inhiben a Th1 y a Th2 (Bettelli *et al.*, 2007; Gajewski *et al.*, 1989; Ivanov *et al.*, 2007).

I.10.4. INTERLEUCINA 1(IL-1)

La IL-1 es producida fundamentalmente por monocitos y macrófagos, pero también por células dendríticas, endoteliales, NK y otros tipos celulares. Existen dos formas, IL-1 α e IL-1 β que, aunque solamente tienen un 25% de homología en su secuencia aminoacídica, comparten el mismo receptor y ejercen efectos biológicos similares. Parte de sus efectos pro-inflamatorios se debe a que induce la liberación de histamina en los mastocitos, generando vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular en el lugar de la inflamación. Es el principal pirógeno endógeno, induciendo fiebre a través de la producción de prostaglandinas. También promueve la síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos y actúa sobre el SNC induciendo sueño y anorexia, típicamente asociados con los procesos infecciosos (Abbas *et al.*, 2009). **(Figura 6)**.

Así mismo, la IL-1 actúa sobre una variedad de células para generar un rango de acciones incluyendo crecimiento linfocitario, proliferación fibroblástica, proteólisis muscular, fiebre y leucocitosis (Akira *et al.*, 1990). Asimismo induce la síntesis de IL-6 por parte de células fagocitarias y endoteliales (Dinarello, 1987). A pesar de las grandes similitudes con el TNF, la IL-1 no produce por si misma a diferencia de este, injuria tisular, tampoco es letal; incluso a altas concentraciones no tiene efectos anti-tumorales sobre líneas celulares, no aumenta la expresión de moléculas HLA y aumenta la producción de los precursores de la médula ósea (Dinarello, 1987).

Las investigaciones realizadas por Keenan *et al.*, (1991) en el humano revelan

que los linfocitos de pacientes con DPE presentan una capacidad reducida para producir citocinas. Algunos investigadores reportan en niños desnutridos con marasmo y kwashiorkor, niveles intracelulares y extracelulares de IL-1 sintetizadas por células mononucleares de sangre periférica, con una afectación más significativa en los pacientes con kwashiorkor (Bhaskaram *et al.*, 1986). Estas afectaciones de la IL-1 se han relacionado con la incapacidad de niños desnutridos para activar su reacción febril frente a agentes infecciosos, aspecto que incide en el diagnóstico de procesos sépticos en estos pacientes (Muñoz *et al.*, 1994).



Figura 6. Acciones de la IL-1 sobre diferentes órganos

Fuente: http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/texto_pdf/tema_09.pdf

I.10.5. INTERLEUCINA 4 (IL-4)

La IL-4 es una molécula pleiotrópica e inflamatoria, producida por los linfocitos T colaboradores (Th2), pero también la producen las células cebadas, los mastocitos y los basófilos. Promueve la multiplicación de los linfocitos B en reposo y actúa en

forma autocrina sobre su crecimiento. En los mastocitos induce la síntesis y liberación del fragmento receptor (CD23) para el Fc de la IgE, principal inmunoglobulina en las reacciones de hipersensibilidad inmediata (alérgica) y la producción de IL-4 es importante para el desarrollo de las alergias, de allí que la IL-4 es una citocina que se produce en gran cantidad en pacientes alérgicos y parasitados. Es la citocina más importante que regula la producción de anticuerpos IgE y el desarrollo de células Th2 a partir de células T colaboradoras, CD4 vírgenes. IL-4, es característica de las subpoblaciones Th2 y actúa como citocina inductora y efectora de estas células (Abbas *et al.*, 2009; Gemmell *et al.*, 1994; Kasakura *et al.*, 1998; Regueiro *et al.*, 2002).

La IL-4 promueve un patrón de cambio de clase que produce IgG que no activa la vía de complemento, aumenta también el grado al cual cambian las células B de IgM a IgE. Este efecto en la producción de IgE se engrana con la diferenciación y activación de eosinófilos por IL-5, ya que estas células están dotadas en abundancia de receptores Fc ϵ , que unen IgE (Villarroel *et al.*, 2008) (Figura 7).

En un trabajo realizado en nuestro medio, se encontró un incremento significativo de esta citocina en los desnutridos con relación al grupo control, incremento que resultó estar en relación directa con el grado de déficit nutricional, hecho que parece estar condicionado con el grado de infestación parasitaria que presentaron los niños desnutridos (Villarroel *et al.*, 2008) .

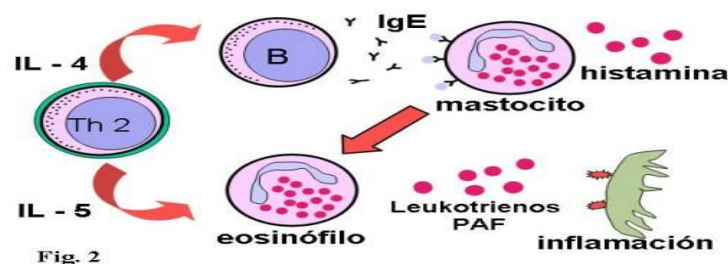


Figura 7. Acción de la IL-4 e IL-5 en procesos alérgicos
Fuente: www.alergoaragon.es

I.10.6. INTERLEUCINA 6 (IL-6)

Es una citocina de aproximadamente 26kDa que es sintetizada fundamentalmente por monocitos/macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, linfocitos T y células del estroma de la médula ósea. Junto con la IL-1 es la principal inductora de la síntesis de proteínas de fase aguda, sobre todo de fibrinógeno (Streez K *et al.*, 2001). Además de su efecto en la inflamación, se ha observado que promueve la diferenciación de linfocitos B hacia células plasmáticas, induciendo la producción de inmunoglobulinas. También puede aumentar la producción de IL-2 y el desarrollo de los precursores hematopoyéticos dependientes de la IL-3. Esta interleucina favorece la diferenciación de células B humanas, sobre las células B *in vitro* aumenta la síntesis y secreción de inmunoglobulinas sin estimular cambios en el isotipo. (Figura 8).

La IL-6 precisa de la IL-2, aunque sea en cantidades mínimas, para ejercer su acción favorecedora de la diferenciación. Además, actúa como coestimulador de la activación de las células T y de los timocitos (Barton, 1996), y como factor estimulante del hepatocito induce la síntesis de proteínas de fase aguda como son: la Proteína C

Reactiva (PCR), la α 1 antitripsina, la α 1-glicoproteína ácida, fibrinógeno y C3 (Bauman *et al.*, 1994).

Estudios realizados en niños desnutridos con o sin infección, señalan que la capacidad para producir esta citocina en ambos grupos de pacientes se encuentra preservada (Vethencourt *et al.*, 1994). Sin embargo, otros estudios realizados in vitro muestran que las concentraciones de IL-6 están disminuidas en niños con desnutrición severa (Doherty *et al.*, 1994).

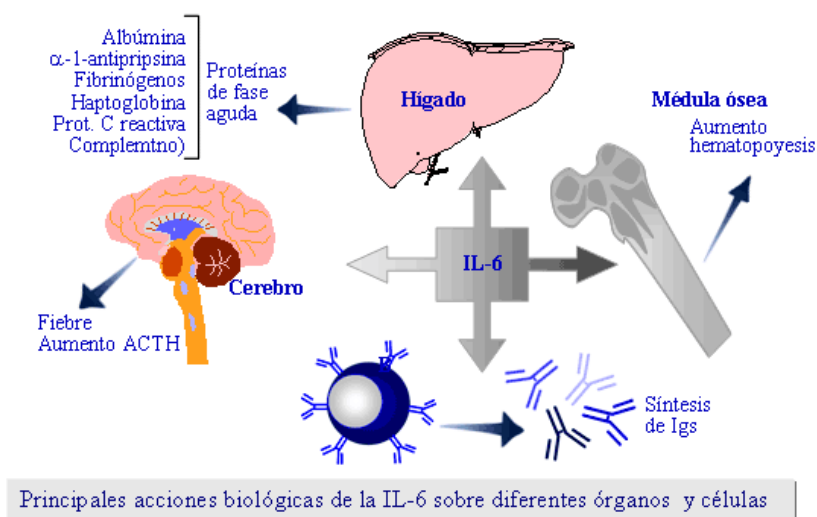


Figura 8. Acciones biológicas de la IL-6 sobre diferentes órganos.

Fuente: http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/texto_pdf/tema_09.pdf

I.10.7. INTERLEUCINA 10 (IL-10)

La IL-10 es un miembro de la familia de citocinas de cuatro hélices α y probablemente actúa como un homodímero. Es producida por linfocitos del tipo Th2, células T CD8, así como también por monocitos/macrófagos, linfocitos B, queratinocitos y otros varios tipos celulares (Hernández *et al.*, 2001; Moore *et al.*, 1993). Es la citocina inmunosupresora por excelencia, inhibiendo la síntesis de otras

citocinas, entre las que podemos citar IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-12, y la expresión del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase-II (CMH-II) y moléculas de adhesión en monocitos (**Figura 9**). Desactiva además macrófagos al suprimir su producción de oxígeno reactivo, óxido nítrico y proteínas de adhesión.

La IL-10 ejerce además múltiples actividades inmunomoduladoras. Se ha visto que es un cofactor para el crecimiento de líneas y colonias de células mastocíticas in vitro. Además, se considera clave en la respuesta Th2 al inducir la diferenciación de linfocitos B en plasmocitos y secretores de inmunoglobulinas. La IL-10 puede actuar, no sólo como potenciador de la inmunidad humoral sino también como supresor general de la respuesta inmunitaria celular, con disminución del IFN- γ y del TNF- α (Abbas *et al.*, 2009; Joost *et al.*, 2002; Stites *et al.*, 1999).

Una investigación llevada a cabo en niños desnutridos con distintos grados de déficit nutricional, reportó un aumento en la concentración de esta citocina en los desnutridos moderados y graves en relación con los desnutridos leves y los niños eutrófico (Villarreal *et al.*, 2008). Rodríguez y col. mostraron valores elevados de IL-10 en los desnutridos graves conjuntamente con valores elevados de IL-4, señalando que estos resultados son consecuencia de un daño en la capacidad de activación de las células inmunitarias (Rodríguez *et al.*, 2005).

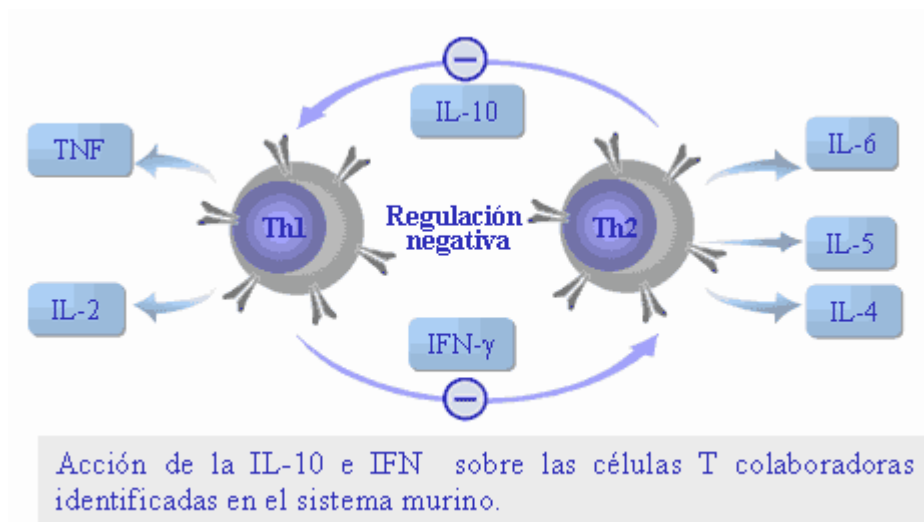


Figura. 9. Efectos biológicos de IL-10.

Fuente: www.duke.edu

I.10.8. INTERLEUCINA 12 (IL-12)

Es producida mayoritariamente por monocitos/macrófagos, pudiendo también ser inducida por células dendríticas y linfocitos B. La actual importancia de esta citocina deriva de su capacidad de dirigir la diferenciación de los linfocitos Th hacia células efectoras tipo Th1. La forma madura de esta molécula (p75) está compuesta de dos subunidades, p35 y p40 y la síntesis de ambas subunidades está regulada diferencialmente, siendo ambas necesarias para la actividad funcional del heterodímero. IL-12 incrementa la actividad citotóxica de las células NK, induce células LAK (linfocitos asesinos activados por linfocinas) por linfocitos T y células NK, activa e incrementa la producción de IFN- γ y linfocitos T citotóxicos (Abbas *et al.*, 2009; Trincheri *et al.*, 1997). Aunado a esto, tiene un amplio rango de actividades incluyendo la regulación de síntesis de citocinas y de las células TH1, mientras que su ausencia cambia el balance hacia citocinas tipo TH2.

En un estudio basado sobre la respuesta inflamatoria en niños con desnutrición grave y anemia, en el cual se determinó un grupo de citocinas incluyendo la IL-12, se observó un aumento de la concentración de esta citocina, siendo mayor en los niños con kwashiorkor que en los niños marasmáticos (Velásquez *et al.*, 2008).

I.10.9. INTERLEUCINA 17 (IL-17)

La Interleucina 17 (IL-17) pertenece a la familia de citocinas llamada IL-17. Actualmente se conocen 6 moléculas diferentes que se nombran desde IL-17A a IL-17F. La IL-17A es la más importante y por eso se denomina genéricamente como IL-17. El receptor para ésta citocina se encuentra en una amplia variedad de células y tejidos, tanto del sistema inmune (linfocitos B y T, monocitos, células de serie mieloide y estroma de médula ósea) como no inmunes (células epiteliales, fibroblastos, células endoteliales) (Dong, 2006; Kawaguchi *et al.*, 2004; Moseley *et al.*, 2003; Serrano, 2009).

La IL-17 es una citocina proinflamatoria inducida principalmente por células T cooperadoras Th17, pero también por células asesinas naturales, células dendríticas y células T CD8. Promueve la producción de mediadores de inflamación como IL-1, IL-6, TNF- α , IL-8, prostaglandina E2, quimiocinas y metaloproteasas; además de su papel esencial en el reclutamiento, activación y migración de otras células del sistema inmune (Girard *et al.*, 2011; Kolls *et al.*, 2004). La IL-17A como citocina proinflamatoria, actúa en una variedad de tejidos dentro del organismo y se ha relacionado con el desarrollo de enfermedades autoinmunes, osteoartritis, cáncer, rechazo a aloinjertos y procesos inflamatorios crónicos de la vía aérea (Girard *et al.*, 2011), identificándose como su principal papel biológico la activación y expansión

rápida de neutrófilos durante procesos infecciosos u otro tipo de injurias (Moseley *et al.*, 2003; McKanzie *et al.*, 2006).

En el 2006 tres estudios señalaron que la combinación de TGF- β y la citocina pleiotrópica IL-6, es necesaria para inducir la producción de IL-17 sobre células T nativas (Veldhoen *et al.*, 2006; Wynn, 2006; Mangan *et al.*, 2006). Además, las combinaciones de IL-6 o TGF- β más IL-21, de IL-1 β más IL-6, o de IL-1 β más IL-23, se han propuesto como factores inductores de Th-17 en humanos.

Investigaciones sobre la síntesis de citocinas proinflamatorias en el desnutrido han sido realizadas (Amesty *et al.*, 2003; Bhaskaram *et al.*, 1986; Dinarello, 1987; Doherty *et al.*, 1994; Giomvambatista *et al.*, 2000; Keenan *et al.*, 1991; Moldawer, 1997; Muñoz *et al.*, 1994; Vethencourt *et al.*, 1994). No obstante, a pesar de la comprobada acción proinflamatoria de la IL-17 en diversas patologías (Girard *et al.*, 2011; McKanzie *et al.*, 2006; Moseley *et al.*, 2003;), su comportamiento en la desnutrición no ha sido investigado hasta el momento, lo cual hace interesante su determinación ya que las carencias nutricionales afectan la inmunocompetencia tanto natural como adquirida, pudiendo modificar la capacidad de esta citocina para ejercer una modulación sobre las líneas celulares Th1, Th2 y Treg (Afzali *et al.*, 2009; Bi *et al.*, 2010), así como también la síntesis de otros mediadores de inflamación como IL-1, IL-6, TNF- α y quimiocinas.

I.10.10. INTERFERON GAMMA (IFN. γ)

Es producido por linfocitos Th1, linfocitos T citotóxicos y por células NK. Además de su efecto antiviral posee una importante actividad inmunomoduladora. Incrementa la expresión de antígenos de CMH de clase I y II en varios tipos celulares, lo que facilita su función presentadora de antígeno y activa a los macrófagos,

incrementando su capacidad tumoricida y de defensa contra las infecciones **(Figura 10)**.

El IFN- γ actúa de forma autocrina sobre las propias células NK que lo producen, aumentando su actividad citolítica y, como consecuencia, incrementando su efecto antitumoral. Sobre los linfocitos Th2 inhibe la proliferación, de manera que su presencia durante la estimulación antigénica induce la diferenciación de linfocitos T hacia células efectoras tipo Th1 favoreciendo, por lo tanto, el desarrollo de las respuestas inflamatorias **(Smith et al., 2005)**.

En una investigación donde se correlacionó la producción de IFN- γ en células mononucleares de sangre periférica de niños desnutridos y con susceptibilidad a la amibiasis **(Haque et al., 2000)**, se observó que la producción de esta citocina se encuentra asociada al estado nutricional. En otro estudio llevado a cabo en niños desnutridos utilizando citometría de flujo, se obtuvo una disminución en las concentraciones de IFN- γ en comparación con las encontradas en los niños eutróficos infectados y sin infección **(Rodríguez et al., 2005)**.

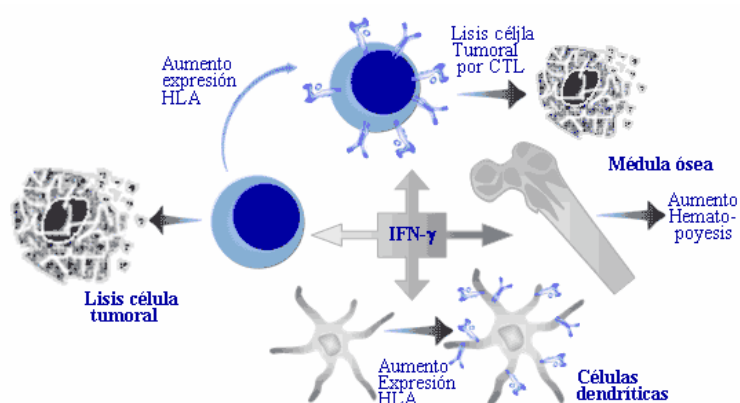


Fig 10. Acciones del IFN- γ sobre médula ósea y células.
Fuente: Aguzzi et al, 2005

I.10.11. FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TNF)

El TNF es el principal mediador de los mecanismos de defensa contra las infecciones bacterianas Gram negativos. Consiste de dos péptidos diferentes con múltiples actividades inmunológicas locales e inflamatorias sistémicas: el TNF- α y el TNF- β . El TNF- α es producido por macrófagos activados y otras células, y tiene un amplio espectro de acciones biológicas sobre muchas células blanco inmunitarias y no inmunitarias. El TNF- β es un producto de los linfocitos T y también es llamado linfoxina. Ambos se unen al mismo receptor sobre células blanco y por consecuencia tienen la misma actividad biológica. Otras fuentes celulares son los linfocitos T activados, células NK y los mastocitos activados. A bajas concentraciones el TNF induce en las células endoteliales la secreción de IL-8, también actúa sobre los neutrófilos unidos al endotelio vascular estimulando su extravasación, estimula su autoproducción y la de IL-1 e IL-6 por parte de monocitos y otras células, aumenta la expresión de las moléculas de HLA de clase I potenciando el efecto de los linfocitos T citotóxicos (**Abbas et al., 2009**).

Las investigaciones referentes al TNF han demostrado un aumento de la síntesis de esta citocina, lo cual puede contribuir a acelerar el déficit ponderal o la progresión de la caquexia en los pacientes desnutridos (**Dinarelli, 1987; Moldawer, 1997**). Otros trabajos señalan igualmente que los niños con desnutrición grave presentan niveles séricos elevados de TNF (**Giomvambatista et al., 2000**). Por su parte, Muñoz et al., (1994), describieron una disminución en la producción de TNF- α en niños marasmáticos.

I.11. REACTANTES DE FASE AGUDA

Las reactantes de fase aguda son un grupo heterogéneo de proteínas que se sintetizan en el hígado y cuya cantidad en la circulación aumenta rápidamente en presencia de inflamación y de necrosis tisular. Entre ellas se incluyen las proteínas de la coagulación, fibrinógeno y protrombina; proteínas transportadoras, como haptoglobina, transferrina y ceruloplasmina; componentes del complemento, como C3 y C4; inhibidores de proteasas; y proteínas diversas como albúmina, fibronectina, proteína C reactiva y proteína A del amiloide. (Amesty *et al.*, 2004).

Dentro de las proteínas inducidas durante esta respuesta, la proteína C reactiva (PCR) y el Componente C3 del sistema de complemento, son las más utilizadas como ayuda diagnóstica y en la evolución de enfermedades que cursan con procesos inflamatorios, infecciosos o de destrucción de tejidos (Dowton *et al.*, 1998; Jaye *et al.*, 1997; Kusner, 1982).

I.11.1. Proteína C Reactiva (PCR)

Es una proteína polimérica no glicosilada compuesta por 5 subunidades esféricas, aparentemente idénticas, con un peso molecular de 110 a 140 Da, con coeficiente de sedimentación 7,5S y un punto isoelectrético de 4,82, y que desde el punto de vista estructuralmente pertenece a la familia de las pentraxinas, (Amesty *et al.*, 2004; Pepys, 1981; Villarroel, 1998). (Figura 11).

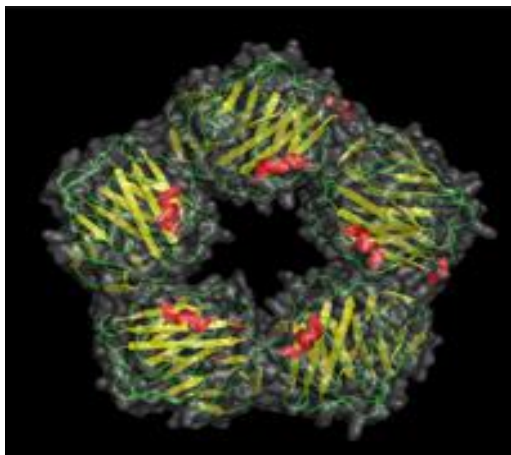


Figura 11. Estructura de la PCR
Fuente: www.proteinas.org.es

La PCR se une a múltiples proteínas de la pared de microorganismos cumpliendo así funciones de opsonización además de activar el sistema de complemento (Fleck, 1996). Es predominantemente sintetizada en el hígado por la acción modulada de citocinas proinflamatorias como la interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) y el Factor de Necrosis Tumoral (FNT). Su secreción comienza a las 4-6 horas del estímulo, duplicándose cada 8 horas, con un pico a las 36-50 horas. Su disminución es representativa de la mejoría clínica y de la eficiencia de la intervención terapéutica (Pepys, 1981; Yue *et al.*, 1996).

La detección de los niveles elevados de esta proteína en el suero no es específica para una determinada enfermedad; sin embargo, resulta un indicador útil en los procesos inflamatorios o infecciosos ya que estos últimos actúan como un potente estímulo de fase aguda, y ha sido observada una fuerte asociación entre los niveles circulantes de esta proteína y la presencia de infección en los niños desnutridos (Sawerwein *et al.*, 1997).

Numerosos son los estudios realizados sobre la PCR en diversas situaciones clínicas (Dowton *et al.*, 1998; Jayes *et.al.*, 1997; Kusner, 1982; Santolaya *et al.*, 1994; Sormunen *et al.*, 1999); sin embargo, son escasos en relación a la cinética de esta proteína en situaciones de daño tisular o infecciones en el niño desnutrido. A este respecto los trabajos existentes no son coincidentes y en su totalidad han sido realizados en niños con desnutrición severa o grave. Morlese *et al.*, (1998), reportan concentraciones elevadas de PCR en desnutridos marasmáticos infectados. Contario a los resultados anteriores, Sawerwin *et al.*, (1997), señalan un marcado aumento de esta proteína en niños con kwashiorkor no así en niños marasmáticos. Por otra parte, Doherty *et al.*, (1993), obtienen una disminución de las proteínas de fase aguda en niños severamente desnutridos.

I.11.2. COMPONENTE C3 DEL COMPLEMENTO

El C3 es una proteína de 185 kDa (subunidad alfa 110 kDa y subunidad beta (75 kDa), producida exclusivamente por el hepatocito (Carroll, 2004) Es la proteína del complemento más abundante y la acción enzimática de la convertasa de C3 sobre esta molécula origina C3a que estimula la inflamación (anafilotoxina) y C3b que se une a la superficie del microorganismo donde actúa como una opsonina (Carroll, 2004).

En la malnutrición por déficit el C3 se encuentra disminuido, lo que conduce a una mayor susceptibilidad a las infecciones bacterianas debido a que sus fragmentos C3a y C5a están involucrados en la quimiotaxis de neutrófilos, la inactivación de endotoxinas y la destrucción de bacterias, así como también en la neutralización viral y células infectadas por virus por lo que los microorganismos

relativamente inocuos pueden originar una infección grave y a menudo fatal en el desnutrido (Villarroel, 1998).

I.11.3. PCR Y C3 EN EL DESNUTRIDO

La variación en las concentraciones séricas de dichas proteínas ha sido usada para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad activa. En la desnutrición estas concentraciones pueden estar disminuidas, lo que ha motivado a los investigadores del área a realizar múltiples y diversos estudios relacionados con la malnutrición por déficit y a los efectos que ésta en la salud del niño (Amesty *et al.*, 1997; Kosmos *et al.*, 1997). Aunque muchos de los resultados obtenidos en estas investigaciones no son totalmente coincidentes, en su gran mayoría se han reportado depleciones de las proteínas de fase aguda en el desnutrido.

En relación al componente C3, algunos estudios reportan disminución de su concentración en los cuadros de desnutrición, mientras que otros estudios señalan que este componente no sufre cambios significativos (Chandra, 1997). Por otra parte, las concentraciones de PCR en niños eutróficos con procesos infecciosos e inflamatorios muestran un aumento importante de la misma, en contraposición con la disminución que se observa en los niños desnutridos (Amesty *et al.*, 2004; Santolaya *et al.*, 1994; Sormunen *et al.*, 1999). Diversos trabajos señalan niveles elevados de PCR en desnutridos marasmáticos infectados, y otros reportan un marcado aumento de esta proteína en niños con kwashiorkor, pero no en niños marasmáticos (Amesty *et al.*, 2004; Sawyerwein *et al.*, 1997 Doherty *et al.*, 1993).

I.12. MICRONUTRIENTES Y DESNUTRICIÓN

El término "micronutrientes" se refiere a las vitaminas y los minerales que son

indispensables para el ser humano, que se necesitan en cantidades mínimas para los diferentes procesos bioquímicos y metabólicos del organismo. El cuerpo humano no puede sintetizar las vitaminas ni los minerales y, por lo tanto, se deben obtener de los alimentos y en circunstancias especiales mediante la suplementación de compuestos sintéticos. Estos nutrientes son parte esencial de enzimas y proteínas que son vitales para el crecimiento físico y el desarrollo cognitivo, el mantenimiento fisiológico y la resistencia a la infección (**Daza et al., 2001**).

Las deficiencias de micronutrientes son una parte importante, aunque no aislada, del más amplio y serio problema del hambre crónica y la desnutrición, que afecta a un número muy elevado de madres y niños en áreas rurales y zonas marginales de las grandes ciudades en rápido crecimiento.

En la DPE existe no sólo un déficit en la ingesta de proteínas y calorías sino también de macro y micronutrientes. De esta variedad de nutrientes se destaca el cinc (Zn) en la nutrición humana por su distribución en el organismo, fuentes dietéticas, biodisponibilidad, absorción, transporte, excreción, homeostasis, funciones bioquímicas y otros aspectos de su metabolismo (**Hernández et al., 2000**), adquiriendo especial connotación en el niño desnutrido.

I.12.1. Cinc (Zn)

El Cinc (Zn) es un elemento traza que ha recibido recientemente un considerable interés, debido a que existen evidencias demostradas que su déficit puede tener graves consecuencias en el humano, de allí que se considere como un componente esencial para la vida ya que participa como cofactor de las enzimas necesarias para la síntesis proteica, de ácidos nucleicos, procesos de oxidación y

otras funciones biológicas (**Hambridge, 2000**). En modelos animales la deficiencia de Zn se ha demostrado que afecta la piel, los tractos gastrointestinal y respiratorio, y los sistemas esquelético, inmunitario y reproductivo (**Shankar et al., 1998**).

En el humano el contenido de Zn oscila entre 1,5 a 2,5 gramos. El metal se encuentra prácticamente en la totalidad de las células, pero existe en mayor abundancia en tejidos como músculo esquelético, corazón y otros, en ellos las concentraciones son relativamente estables y no responden a las variaciones en el contenido del metal en la dieta (**WHO, 1996**). El sitio de absorción primario es el intestino delgado y su excreción ocurre principalmente a través de las heces. En condiciones normales, el Zn captado por el intestino es igual al total del Zn ingerido en la dieta diaria concentrándose en el hígado. El intestino delgado mantiene básicamente su homeostasis, mediante cambios en la cantidad de nutrimentos que se absorbe o en la excreción fecal del Zn endógeno. Una cantidad importante de este último que se secreta a la luz intestinal, es reabsorbido de forma continua para evitar un balance negativo del metal, por lo que cualquier modificación en la fisiología normal del tracto digestivo, afectará marcadamente la homeostasis del metal (**Krebs, 1996; Jackson et al., 1984**).

Las concentraciones séricas de Zn experimentan oscilaciones circadianas (**Lifschitz, 1971**) y guardan relación directa con el consumo de alimentos ricos en este micronutriente, tales como: carnes rojas, mariscos y en menor proporción lácteos, tubérculos y hortalizas (**Murphy et al., 1975**). Su biodisponibilidad depende de la presencia de fibras y ácido fítico o fitatos contenidos especialmente en las legumbres y los cereales, los cuales forman complejos insolubles con el Zn y compiten con su absorción (**Lönnerdal, 2000**). El ácido fítico es la forma principal en la que se almacena

el fósforo en los cereales, las leguminosas y las oleaginosas, y es el inhibidor más potente de la absorción del Zn. En relación con las fibras dietéticas, se ha señalado que aquellas insolubles como la celulosa y la lignina, se encuentran especialmente en los cereales, las cuales por su acción quelante con el zinc interfieren también con la absorción de este micronutriente **(Rosado et al., 1995)**.

La importancia del Zn como elemento traza en el humano fue reconocida cuando Prasad et al., (1995), describieron un grupo de adolescentes iraníes con hipogonadismo y talla baja, quienes consumían alimentos muy deficientes en este metal. Posteriormente Moyhanam en 1974 describió el defecto congénito de la deficiencia de Zn en la enfermedad conocida como acrodermatitis enteropática, caracterizada clínicamente por lesiones dermatológicas periorificiales, hipogonadismo, talla baja y un aumento de la susceptibilidad a infecciones **(Moynahan, 1974)**. Otras condiciones clínicas pueden cursar también con deficiencia de Zn **(Agget et al., 1995; Bhatanagar et al., 2004)**; sin embargo, el déficit en la ingesta parece ser la causa más común en la carencia de este metal.

La deficiencia Zn se ha demostrado tanto en niños como en adultos en muchos países del mundo, especialmente en la población infantil de los países en vías de desarrollo **(Black, 2003)**, en quienes la ingesta inadecuada de este micro nutriente junto con un escaso consumo de calorías y proteínas lleva a los cuadros de desnutrición infantil o DPE; síndrome nutricional que se ve acompañado de un escaso consumo de alimentos ricos en Zn y de un manejo inadecuado o disminuido de los mecanismos compensatorios que normalmente regulan la homeostasis del metal **(Jackson et al., 1984; Coello-Ramírez, 1996)**, además de la pérdida de este

microelemento como consecuencia de diarreas o procesos infecciosos, los cuales se observan frecuentemente en el niño desnutrido **(Bahijri, 2001; Patwari, 1999)**.

La desnutrición es un problema presente en el mundo y se ha visto incrementada en la mayoría de los países de América Latina y del Caribe como consecuencia de la inflación y el incremento en el costo de la cesta alimentaria, los cuales tienen un impacto directo sobre el nivel de acceso y consumo de alimentos **(Bauce et al., 1999)**. En Venezuela el deterioro socioeconómico de los últimos 20 años ha incidido negativamente en la disponibilidad de recursos para satisfacer las necesidades básicas de alimentación sobre todo de la población más desposeída, produciéndose un cambio en el patrón alimentario con poco acceso a los alimentos ricos en Zn, como son las proteínas y un alto consumo de cereales que compiten con la biodisponibilidad de este micronutriente; situación que ha traído como consecuencia un incremento en los índices de desnutrición infantil **(Lara, 1989; ILIS, 1995; López et al., 1996)**.

Actualmente está bien documentado el papel que desarrolla el Zn en el organismo humano. Su deficiencia nutricional puede afectar el crecimiento y el desarrollo, las funciones inmunes y cognitivas, y el suplemento de este micronutriente a lactantes y niños con diarreas agudas y crónicas, es esencial para mantener defensas adecuadas contra las infecciones y para muchas otras funciones metabólicas y fisiológicas **(Daza, 2001)**.

I.13. ESTRÉS OXIDATIVO Y DESNUTRICIÓN

El estrés oxidativo es producido por un incremento en la exposición a los agentes oxidantes o bien un descenso en la protección contra estos **(Souki et al.,**

2007). De hecho, se define como un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y la protección antioxidante, lo cual puede causar daño a proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos, por lo tanto enzimas, proteínas estructurales, membranas, carbohidratos simples y compuestos, ADN y ARN, son todos ellos susceptibles de daño oxidativo (Kelly *et al.*, 1995; Lowestein, 1994). A su vez, el estrés oxidativo altera la actividad de las principales enzimas antioxidantes, por lo cual la determinación de su actividad es una medida de los sistemas de defensa antioxidantes contra la acción deletérea de estas especies reactivas (Dalle-Donne *et al.*, 2006; Gutiérrez-Salinas, 2006).

En los pacientes de edad pediátrica la lesión oxidativa ha sido relacionada con numerosas enfermedades y entidades clínicas. En niños desnutridos afectados por diarreas se ha observado que las especies reactivas de oxígeno (ERO) y las defensas antioxidantes depletadas, están implicadas en la patogénesis y perpetuación de la lesión intestinal. Los estudios realizados en infantes desnutridos y en particular desnutridos graves (kwashiorkor), demostraron concentraciones disminuidas de vitaminas antioxidantes, de glutatión peroxidasa y de su cofactor que es el selenio, los cuales contribuyen a la protección frente al ataque de radicales libres (Granot, 2004). Otros trabajos realizados en niños con desnutrición severa señalan que estos sufren estrés oxidativo y las deficiencias de nutrientes esenciales en este grupo de pacientes se asocian con estas alteraciones, contrario a lo que ocurre en los niños eutróficos (Álvarez *et al.*, 1999).

El estrés oxidativo puede ser evaluado a través de la determinación de la peroxidación lipídica y de la capacidad antioxidante (Henry *et al.*, 1991). De interés relevante para los investigadores es también la determinación del óxido nítrico (NO),

radical libre inorgánico gaseoso, que se origina de la acción de la enzima óxido nítrico sintetasa sobre el aminoácido esencial L-arginina (Moneada, 1992) y cuya relación con la desnutrición ha sido poco estudiada.

En condiciones fisiológicas regula el tono vasomotor, inhibe la adhesión leucocitaria al endotelio, la agregación plaquetaria y la proliferación del músculo vascular liso; además suprime la inmunidad por células T y modula la regulación diferencial de la síntesis de citocinas (Moneada, 1992; Vallance *et al.*, 2001). Por otra parte la generación en cantidades excesivas del NO, en conjunto con la producción de superóxido (O_2), produce el potente oxidante peroxinitrito (ONOO⁻), el cual está asociado a la acción citostática y citotóxica de los macrófagos (Xia *et al.*, 1997) y la producción de procesos patológicos (Ferrer-Sueta *et al.*, 2009).

La producción de NO es un proceso complejo, su síntesis esta catalizada por al menos tres isoformas de la sintetasa del NO (NOS); dos de estas isoformas son constitutivas y calcio dependientes, siendo una de las más originalmente descritas en las células endoteliales (e NOS, NOS 3) y la otra en el tejido nervioso (n NOS, NOS 1), las cuales han sido luego halladas en otros tejidos; la tercera isoforma (i NOS, NOS 2) es inducible por citocinas inflamatorias como la IL-1 β o el Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α) en los macrófagos y otros tipos de células (Beck *et al.*, 1999; Ferrer-Sueta *et al.*, 2009; Moneada, 1992; Vallance *et al.*, 2001; Xia *et al.*, 1997).

Muchas funciones han sido atribuidas al NO, sin embargo; escasos son los trabajos donde se correlacionan los niveles de este con la desnutrición. Un estudio realizado en un grupo de niños desnutridos, reveló que el promedio de los valores de NO fue significativamente menor, encontrándose además diferencias

estadísticamente significativas con los otros parámetros de desnutrición (**Souskin et al., 2007**).

En lo que respecta a la peroxidación lipídica, la investigación clínica en esta área había estado en desventaja debido a la falta de marcadores biológicos válidos. En la actualidad uno de los marcadores utilizado con mayor frecuencia es el malonaldehído (MDA), un producto final de la peroxidación lipídica que puede servir como marcador del estrés oxidativo y del daño tisular mediada por radicales libres de oxígeno (RLOx). Durante el estrés oxidativo, los RLOx reaccionan con los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares, lo que genera un metabolito final, el MDA, que se identifica en el laboratorio e indica la presencia de RLOx, cuya concentración es directamente proporcional al daño en el organismo (**Nielsen et al., 1997**).

Un estudio llevado a cabo en niños y adolescentes de nuestro medio, señaló un aumento de las concentraciones de MDA en el sexo masculino en relación con el sexo femenino y cuando se analizaron los grupos por edad pero sin diferenciar el sexo, se observaron también diferencias significativas (**Souskin et al., 2007**). Numerosos trabajos señalan cambios en los niveles de MDA y NO en sujetos de edad pediátrica como consecuencia de ciertos estados patológicos; no obstante, sus efectos en la desnutrición no han sido establecidos con exactitud.

I.14. RECUPERACIÓN NUTRICIONAL

Para afrontar de manera efectiva la desnutrición, se han implementado distintas estrategias tales como: programas de suplementación de nutrientes, ejecutados en grupos de riesgo o en población general de manera ambulatoria,

programas de educación para las madres o cuidadores, centros cerrados de recuperación nutricional, centros abiertos, programas de colocación familiar en hogares sustitutos calificados y centros de referencia ambulatorios (**Castillo, 2000; Puentes, 1986**).

El concepto de centro de recuperación nutricional introducido por Bengoa, lo define como "centros organizados en instalaciones que permiten mantener a los niños internos, o centros similares a guarderías donde los niños malnutridos son atendidos varias horas del día y cuyo objetivo es educar a las madres a través de la recuperación nutricional de los niños", estableciéndose así tres tipos de atención nutricional: la hospitalaria, la ambulatoria y los centros abiertos de recuperación nutricional o regímenes de seminternado (**Bengoa, 1955**).

Independientemente del tipo de intervención que se realice, la meta final es la recuperación integral del niño para lo cual se trazan objetivos a corto, mediano y largo plazo. A corto plazo: iniciar la recuperación nutricional, educar a las madres en lo referente a preparación de los alimentos que permitan mantener un estado nutricional satisfactorio, crear conciencia de enfermedad en los familiares y aportar herramientas para mejorar los aspectos psicológicos que estén incidiendo en la evolución del paciente. A mediano plazo continuar el proceso de recuperación y prevenir la desnutrición de otros niños del entorno a través de la educación nutricional impartida a la madre y a largo plazo el objetivo más preponderante es mejorar el estado nutricional y de salud en la comunidad intervenida (**Mariño et al., 2003**).

La gran variabilidad en las cifras de recuperación nutricional reportadas en los distintos trabajos publicados está posiblemente relacionada con el empleo de

criterios de recuperación diferentes, modalidades de atención diferentes y grupos de población no comparables desde el punto de vista estadístico. La mayoría de los estudios sobre recuperación nutricional y modalidades de atención han sido realizados en desnutridos graves (**Chapco et al., 1994; Khanum et al., 1994; Khanum et al., 1998; Heikens et al., 1994; Mariño et al., 2003; Massa et al., 1980; Reneman et al., 1997**).

I.15. DESNUTRICIÓN INFANTIL HOY

A más de una década de la Cumbre Mundial sobre la Alimentación (CMA) celebrada en Roma, donde los jefes de Estado y de Gobierno de más de 180 naciones que participaban, se comprometieron a erradicar uno de los peores azotes que pesan en la conciencia colectiva de la sociedad como lo es el hambre, se encuentra la triste realidad de que prácticamente no se ha conseguido avance alguno hacia ese objetivo, ya que según estimaciones de la FAO, existen 854 millones de personas desnutridas a escala mundial, en donde uno de cada cuatro niños y niñas menores de cinco años pesa menos de lo normal, es decir 146 millones de niños menores de 5 años tienen bajo peso (**FAO, 1996**).

Los estragos que provoca la desnutrición que se padece en la infancia son lo más lamentados por una sociedad, ya que en esta etapa el mayor impacto lo sufre el cerebro del niño, en el que se producirán alteraciones metabólicas y estructurales irreversibles. El hambre y la desnutrición no son consecuencias sólo de la falta de alimentos, sino también de la pobreza, la desigualdad y los errores en el orden de las prioridades de la voluntad política. Con un esfuerzo colectivo en el ámbito internacional, nacional y comunitario, terminar con la desnutrición infantil es no solo un objetivo factible, sino también necesario y prioritario (**Ortíz et al., 2007**).

Las estrategias actuales de respuesta a la desnutrición tienen serias limitaciones. En lugares donde no se dispone de alimentos ricos en nutrientes o donde la gente no tiene recursos suficientes para adquirirlos, los programas que se centran en el cambio de hábitos en la elección de alimentos y en las prácticas de higiene personal y de lactancia materna no son suficientes para atajar el problema.

Abordar los retos a largo plazo de la pobreza y la seguridad alimentaria es importante, pero cubrir las necesidades de los niños desnutridos de hoy requiere estrategias específicas, dirigidas a asegurar que los menores de 2 años tengan acceso a la nutrición mínima necesaria. Las intervenciones actuales, que no pueden asegurar la debida atención nutricional deben ser revisadas y hay que crear nuevas estrategias dirigidas a estos niños.



II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La desnutrición es una de las condiciones patológicas que provoca mayor morbilidad y mortalidad en la población infantil a nivel mundial. La causa de este dramático y endémico síndrome está bien identificada y desafortunadamente está relacionada con la disminución de la ingesta. Sin embargo, los efectos y las consecuencias fisiopatológicas de la desnutrición son múltiples, afectando a diversos órganos y tejidos de los niños que la padecen y permaneciendo sin entender y caracterizar muchos de sus mecanismos patogénicos.

Entre los diferentes sistemas biológicos que se alteran en la desnutrición infantil se incluye el inmunitario inflamatorio. Se ha establecido que en estos pacientes se produce una alteración funcional que provoca un estado de inmunodeficiencia, trayendo como consecuencia la predisposición a infecciones que se traduce en una causa importante de morbilidad e incluso mortalidad en los desnutridos.

El sistema inmune inflamatorio es una compleja red de células y moléculas distribuidas por todo el organismo. Entre estos componentes las citocinas son moléculas solubles de especial relevancia en la regulación de la respuesta inmunitaria y en la inducción de la fase efectora. Este sistema pleiotrópico y redundante de las citocinas se organiza de acuerdo con diferentes criterios de análisis biológicos como son la identificación de las células productoras o respondedoras y las actividades inducidas.

Se ha identificado un grupo de citocinas proinflamatorias del sistema monocito-marófago como son: IL-1, IL-6, TNF- α . Otro grupo de citocinas son las secretadas preferentemente por los linfocitos Th1 como INF- γ por los Th2 como IL-4 o por los

Th17 como IL-17. En el predominio de uno u otro patrón de activación se incluyen también otras citocinas como la IL-12.

Estudios previos han descrito anomalías con resultados controversiales en los niveles séricos de citocinas. En esta investigación se plantea que el estudio sistemático de una población amplia de niños con distintos grados de déficit nutricional, permitirá establecer la existencia de alteración en estas moléculas del sistema inmunitario inflamatorio y su posible asociación a la severidad, más aún en el análisis simultáneo de citocinas representativas de los diferentes grupos funcionales que permitirá avanzar en la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos o la aceptación del sistema inmune por la desnutrición.

En base a lo antes expuesto, esta hipótesis plantea: 1.- el análisis de las concentraciones séricas de mediadores de inflamación y micronutrientes en relación a la severidad del déficit nutricional y 2.- el análisis de la modificación y posible reversibilidad de las concentraciones séricas de citocinas y estrés oxidativo en las formas graves o severas de desnutrición sometidas a recuperación nutricional.

OBJETIVOS GENERALES

1.- Caracterizar del estado funcional del sistema inmune en el niño desnutrido, mediante la determinación de mediadores solubles, reactantes de fase aguda y micronutrientes.

2.- Analizar la variación de las citocinas y del estrés oxidativo en el niño desnutrido grave sometido a tratamiento nutricional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Cuantificar las concentraciones séricas de citocinas circulantes (IL-1- α , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α) en niños con distintos grados de déficit nutricional.
- 2.- Determinar las concentraciones séricas de Proteína C Reactiva y Complemento C3 en niños con distintos grados de déficit nutricional.
- 3.- Determinar las concentraciones séricas de Zinc en niños con distintos grados de déficit nutricional.
- 4.- Analizar las concentraciones séricas de IL-12, IL-17, IFN- γ y TNF- α en el niño desnutrido grave antes y después del tratamiento nutricional.
- 5.- Analizar las concentraciones séricas de Óxido Nítrico y Malonaldehído en el niño desnutrido grave antes y después del tratamiento nutricional.



III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

III.1.1 Tipo de Diseño

Se realizó un estudio de tipo explicativo, prospectivo, longitudinal, cuasi experimental.

III.1.2. Período de Estudio

Esta investigación fue realizada durante el periodo comprendido entre el año 2009 y año 2011.

III.1.3. Selección de la Población y Procedencia de la Misma

Se seleccionaron de acuerdo a criterios clínicos y antropométricos 154 niños en edades comprendidas entre 6 meses y 6 años, con sexo y condiciones socioeconómicas comparables, pertenecientes a familias de bajos ingresos (estratos IV y V) según Método de Graffar modificado (Méndez-Castellano., 1986), los cuales se agruparon de la siguiente manera:

1.- Eutróficos sin Infección (n= 25): integrado por niños sanos con peso y talla adecuada para su edad cronológica.

2.- Eutróficos Infectados (n= 25): formado por niños con procesos infecciosos (neumonía, sepsis o meningitis) que no se encuentran bajo medicación al momento de la muestra, con peso y talla adecuados para su edad cronológica.

3.- Desnutridos Infectados (n= 20): integrado por niños desnutridos con procesos infecciosos tipo neumonía, sepsis o meningitis.

4.- Desnutridos sin Infección (n= 64): integrado por niños con distintos grados de déficit nutricional, agrupados en leves, moderados y graves.

5.- Desnutridos Graves (n= 20): integrado por niños con desnutrición severa sin infección, sometidos a recuperación nutricional.

Estas poblaciones provienen del Servicio de Pediatría, del Servicio de Educación y Recuperación Nutricional (SERN) del Instituto Nacional de Nutrición ubicado en el Hospital Chiquinquirá de la ciudad de Maracaibo y de diferentes hogares de cuidado diario del Municipio Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, los cuales son centros de atención integral en nutrición, salud, cuidado y socialización para hijos de madres trabajadoras, financiados por el Gobierno Nacional.

Los niños fueron seleccionados al momento de su ingreso al Servicio de Pediatría, al SERN y a los hogares de cuidado diario, para ello se utilizó un instrumento de registro (ver anexo) que permitió conocer la evaluación nutricional integral, antecedentes de procesos infecciosos y resultados de pruebas complementarias de laboratorio. La condición nutricional se evaluó de manera general a través de la interrelación de los indicadores del estado de nutrición: antropométricos, clínicos, dietéticos y bioquímicos, realizada por especialistas en el área de pediatría, nutrición y bioanálisis.

III.1.4. Evaluación Integral del Estado Nutricional

La condición nutricional en este grupo de pacientes se evaluó de manera integral a través de la interrelación de los indicadores del estado de nutricional. La evaluación antropométrica se llevó a cabo utilizando las variables: edad, peso y talla,

las cuales al ser relacionadas entre sí permiten conocer los indicadores nutricionales de dimensiones corporales: peso para la edad (P/E), talla para la edad (T/E), peso para la talla (P/T), índice de masa corporal (IMC) e índice de Mac Laren. Para la estimación del déficit nutricional se utilizó un método recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), por su capacidad para determinar el estado nutricional como es el Z score y las desviaciones score (DS), el cual muestra el número de desviaciones estándar por debajo o por encima del valor medio de referencia (**Dibley et al., 1987; WHO, 1999**).

Una vez evaluado el paciente desde el punto de vista antropométrico, se procede a clasificarlo y a orientar el diagnóstico nutricional y la conducta a seguir en cada caso en particular. En general para medir el estado nutricional del paciente pediátrico se hace necesario recolectar una serie de indicadores antropométricos entre los cuales se encuentran: P/T, T/E y P/E; establecidos en base a patrones internacionales recomendados por la Organización Mundial de la Salud y el Centro Nacional de Estadísticas de la Salud de los Estados Unidos de América (Estándares OMS/NCHS) (**WHO, 2006**). Estos estándares son los más adecuados para ser empleados como referencia y junto con la evaluación clínica, bioquímica y dietética, se obtiene el diagnóstico nutricional integral, que permite ubicar al niño dentro de las categorías: leve, moderado y grave. Dado que las cifras de peso y talla en niños menores de cinco (5) años siguen una distribución semejante en distintas poblaciones infantiles, se considera válido el uso en América Latina de los patrones internacionales (OMS/NCHS).

Los siguientes valores de corte indican los diferentes niveles de severidad:

.- Peso para la edad y talla para la edad: < -3 DS, < - 2DS y > + 2DS > + 3 DS.

.- Peso/longitud/estatura; IMC, circunferencia cefálica/ circunferencia media del brazo: < -3DS, < -2 DS, < -1 DS y > + 1DS, >+ 2DS, > +3DS.

De acuerdo a estos criterios los pacientes de la presente investigación fueron divididos de la manera siguiente: desnutridos graves infectados (DGI, n= 20), desnutridos graves sin infección (DGSI, n= 20), eutróficos infectados (EI, n= 25), eutróficos sin infección (ESI, n= 25), desnutridos graves con terapia nutricional (DGTN, n= 20), desnutridos leves (DL, n=22) y desnutridos moderados (DM, n= 22). La evaluación antropométrica y clínica permitió ubicar a todos los desnutridos graves dentro de los grupos marasmáticos o no edematosos y mixtos.

Para la evaluación clínica se consideró el examen físico, tomando en cuenta los signos clínicos que se presentan en la desnutrición tales como: edema, palidez cutáneo-mucosa, estado del panículo adiposo, cambios en el cabello, dermatitis, hepatomegalia.

Dentro de los indicadores de laboratorio se determinaron: proteínas totales y fraccionadas, glicemia, urea, creatinina, calcio iónico, sodio, potasio, colesterol, triglicéridos, fosfatasa alcalina, transaminasas, bilirrubinas, proteína C reactiva (PCR), hematología completa y velocidad de sedimentación. También fueron realizados exámenes de orina y heces.

La evaluación dietética por su parte permitió obtener una medida lo más precisa posible del consumo promedio de energía y nutrientes; así como la cantidad y calidad de los alimentos. Para tal fin se empleó un método de recolección de información (recordatorio de 24 horas), registrando en una encuesta todos los alimentos y bebidas consumidos en el lapso de las últimas 24 horas anteriores a la

consulta. Se utilizaron modelos de alimentos y medidas prácticas para mejorar la estimación del tamaño de las raciones (SCDE, 1986) La cantidad de alimentos obtenidos se transformaron en términos de energía y nutrientes utilizando la tabla de composición de alimentos del INN de Venezuela (INN, 1999).

III.1.5. Criterios de Inclusión

- a. Niños sanos eutróficos
- b. Niños eutróficos con evidencia clínica de infección meníngea, pulmonar o sepsis antes del inicio del tratamiento antibiótico
- c. Niños con desnutrición sin evidencia clínica de infección activa
- d. Niños con desnutrición con evidencia clínica de infección meníngea, pulmonar o sepsis antes del inicio del tratamiento antibiótico

III.1.6. Criterios de Exclusión

Los niños desnutridos y eutróficos sin infección, que presentaran algún procesos infecciosos o inflamatorios, que estuviesen recibiendo medicamentos (Aines, antibióticos y esteroides) durante más de 48 horas antes de la toma de la muestra, o que estuviesen incluidos en un programa de recuperación nutricional, fueron excluidos de la investigación.

III.1.7.- Grupo Control

Este grupo estuvo conformado por 25 niños sanos (eutróficos), con un rango de edades y condiciones socioeconómicas similares al grupo de pacientes seleccionados (desnutridos), sin antecedentes de infección para el momento de la toma de la muestra y con resultados negativos a las pruebas de laboratorio.

III.2. METODOLOGÍA DE LABORATORIO

III.2.1. Limpieza del Material

Dado que uno de los objetivos fue determinar los niveles séricos de Zinc (Zn), se hizo necesario emplear estrictos controles para evitar la contaminación durante la toma de la muestra, especialmente en lo relativo al lavado y manipulación del material a utilizar, el cual se enjuagó con agua de alta calidad, grado I ASTM (ASTM, 1977), manteniéndose en remojo por 24 horas en una solución de Sodosil (detergente alcalino no fosfatado) y posteriormente enjuagado con agua tridestilada y desionizada. Dicho material fue colocado en una estufa a 40°C para su secado.

III.2.2. Toma y Recolección de la Muestra

Previa autorización de la Coordinación de los hogares de cuidado diario, del Comité de Bioética del Departamento de Pediatría del Hospital Chiquinquirá y con el consentimiento de los padres, se procedió a la obtención de las muestras de sangre en condiciones de ayuno entre las 7:00 am y las 9:00 am (para evitar las variaciones circadianas del Zn). A cada niño en estudio, le fue extraído 8 mL de sangre de la vena cubital anterior, la cual fue colocada en tubos de polipropileno sin anticoagulante y centrifugada a 1000 g. En el caso de los pacientes infectados se realizó en las siguientes 12 horas del ingreso hospitalario.

Una vez obtenido el suero, éste se repartió en alícuotas colocadas en tubos eppendorf, guardándose unos a – 70 °C para las determinaciones de citocinas, proteína C reactiva, C3, NO y MDA hasta el momento de su estudio en el laboratorio. Para las determinaciones analíticas de Zn, las muestras se conservaron a 4°C.

Para los niños sometidos al programa de recuperación nutricional, la muestra

se tomó antes de iniciar al tratamiento para la determinación de IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α , NO y MDA; permaneciendo en el Servicio de Educación y Recuperación Nutricional del Hospital Chiquinquirá por 8 semanas. Finalizado dicho programa de recuperación, se tomó una segunda muestra de sangre, la cual se procesó de la manera anteriormente descrita.

III.2.3. Ámbito de Estudio

Las concentraciones séricas de citocinas, proteína C reactiva y Complemento C3 se determinaron en el Laboratorio Clínico de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia (LUZ), Maracaibo, Venezuela. Los niveles séricos de NO y MDA se determinaron en el Centro de Investigación de Enfermedades Endocrinometabólicas de la Facultad de Medicina de LUZ. En relación a las determinaciones analíticas de Zn, estas se realizaron en el Laboratorio de Instrumentación Analítica de la Facultad Experimental de Ciencias de LUZ.

III.3. MÉTODOS

III.3.1.- Determinación de los Niveles Séricos de Citocinas

III.3.1.1.- Cuantificación de IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α

La concentración sérica de las citocinas investigadas (IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α) se determinó empleando la técnica de Inmunoanálisis Enzimático (ELISA) de doble anticuerpo (Quantikine Immunoassays. R&D Systems). En este ensayo las citocinas presentes en la muestra de suero reaccionaron con los anticuerpos monoclonales respectivos previamente adsorbidos a la superficie de los micropozos de una placa de microtitulación. Un segundo anticuerpo policlonal conjugado a una enzima (peroxidasa) se une al complejo anticuerpo-citocina del paciente. La enzima actúa sobre un sustrato (peróxido de hidrógeno) y ocurre la liberación de oxígeno, el

cual oxida a un colorante (tetrametilbencidina) integrado al sustrato, produciendo la aparición de una coloración. La reacción se mide en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm y a una segunda lectura de 540 nm. La absorbancia resultante de la diferencia entre la primera y segunda lectura es llevada a una gráfica construida en base a las absorbancias de los estándares (en el eje de las ordenadas) y sus concentraciones (en el eje de las abcisas). Esta curva estándar se elabora para determinar los niveles séricos de citocinas en pg/mL de los niños estudiados.

.- Observaciones Metodológicas:

Especificidad del Ensayo: cada kit reconoce cada una de las citocinas (IL-1- α , IL-4, IL-6, IL-10 y TNF- α) en sus formas naturales y recombinantes humanas, sin presentar interferencias significativas o reacciones cruzadas con otras citocinas presentes en el suero.

Sensibilidad del Ensayo:

La sensibilidad de este ensayo es capaz de detectar de:

- IL-1- α menos de 0.5 pg/mL .
- IL-4 menos de 10 pg/mL
- IL-6 menos de 0.70 pg/mL.
- IL-10 menos de 3.9 pg/mL.
- TNF- α menos 4.4 pg/mL

Coeficiente de Variación: El coeficiente de variación de ELISA para todas las citocinas analizadas ha sido determinado, siendo menos del 10%.

III.3.1.2 Cuantificación de IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α

Las concentraciones séricas de las citocinas IL-12, IL-17, IFN- γ y TNF- α se determinaron mediante la técnica de Inmunoensayo Enzimático (ELISA) cuantitativo tipo sandwich (Thermo Scientific). En esta un anticuerpo monoclonal de captura específico para cada citocina es fijado a la fase sólida de los micropozos de la placa de microtitulación donde reaccionará con las muestras y los controles. Posterior a esto se agregó un anticuerpo monoclonal biotinilado, y luego de un periodo de incubación y lavado se agregó un complejo de estreptavidina-peroxidasa que se unió al anticuerpo biotinilado. Después de otro periodo de incubación y lavado, se agregó el sustrato TMB. La reacción enzima-sustrato se evidenció por el desarrollo de un color cuya intensidad fue directamente proporcional a la concentración de la citocina presente en la muestra y que puede ser leída a 450nm. El cálculo de las concentraciones se determinó mediante una curva de regresión lineal de densidad óptica vs concentración, que se obtuvo con estándares de concentraciones conocidas procesados simultáneamente con las muestras. Los resultados fueron expresados en pg/ml.

Observaciones Metodológicas:

Especificidad del Ensayo: cada kit reconoce cada una de las citocinas (IL-12, IL-17, IFN- γ y TNF- α) en sus formas naturales y recombinantes humanas, sin presentar interferencias significativas o reacciones cruzadas con otras citocinas presentes en el suero.

Sensibilidad del Ensayo:

La sensibilidad de este ensayo determina que este es capaz de detectar de:

- IL-12 menos de 5 pg/mL
- IL-17 menos de 15 pg/mL
- IFN- γ menos de 2 pg/mL.
- TNF- α menos de 2 pg/mL

Coeficiente de Variación: El coeficiente de variación de ELISA para todas las citocinas analizadas ha sido determinado, siendo menos del 10%.

III.3.2.- Determinación de Proteína C Reactiva y Complemento C3

Los niveles séricos de proteína C reactiva y de C3 se determinaron empleando el método turbidimétrico (Orion Diagnostic). Este método se basa en la reacción antígeno-anticuerpo que mide la disminución de la intensidad de un haz de luz incidente (causada por dispersión, reflexión y absorción de la luz), cuando pasa a través de una suspensión de partículas. La disminución de la intensidad del haz de luz puede expresarse como porcentaje de transmisión o como absorbancia. Los valores se expresan en mg/L para la proteína C reactiva, y en G/L para el componente C3 del complemento.

III.3.3.- Determinación Analítica de Cinc

La determinación espectroquímica de las concentraciones de Zn, se realizó mediante la técnica instrumental de la espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETA-AAS). Esta técnica se basa en la propiedad que tienen los átomos de absorber radiación electromagnética a ciertas y específicas longitudes de onda (de acuerdo al elemento químico que se desea determinar) durante su trayecto a través del paso óptico. Así, conforme el número de átomos se incrementa en el paso óptico, aumenta la magnitud de la absorción. De la medición

de la cantidad de radiación absorbida se puede hacer la determinación cuantitativa y específica de un elemento en particular, aún en presencia de otros. Esto se logra mediante el uso de fuentes especiales de radiación electromagnética (lámpara de cátodo hueco) y la selección cuidadosa de la longitud de onda de la radiación electromagnética que interactúa con la nube atómica.

La radiación electromagnética originada por la fuente de radiación, a la longitud de onda de resonancia y de intensidad inicial I_0 , se enfoca sobre un horno de grafito, el cual contiene átomos en estado fundamental. La intensidad inicial de la radiación disminuye en una cantidad proporcional a la concentración de los átomos existentes en el paso óptico. Luego, la radiación electromagnética se dirige sobre un detector (tubo fotomultiplicador), donde se evalúa la intensidad disminuida, I . La cantidad de radiación absorbida se determina por comparación de I e I_0 .

III.3.3.1. Equipos

Para la determinación analítica de Zn se usó un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin-Elmer Modelo 2380, USA), acoplado a un horno de grafito (Perkin-Elmer Modelo HGA-500). Se usó un muestreador automático (Perkin-Elmer Modelo AS-40). Las absorbancias integradas se imprimieron en un impresor secuencial (Perkin-Elmer Modelo PRS-10). Para la digestión del material certificado, se empleó un horno microondas marca CEM (USA), modelo MDS-81D, con válvulas de despresurización.

III.3.3.2. Reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico. Todas las soluciones estándar se prepararon en una matriz de ácido nítrico HNO_3 0,01 M. Las soluciones

concentradas de Zn (ca. 1000 mg/L) se prepararon a partir de un Titrisol de Zn (Fixanal, Riedel de Haën, Alemania). Las soluciones patrones para la curva de calibración se prepararon diariamente por dilución directa de las soluciones concentradas de los analitos en HNO₃ 0,01 M. Los patrones empleados en la preparación de la curva de trabajo fueron: 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 µg/L de Zn. Estos patrones se prepararon a partir de soluciones intermedias de 100 µg/L del metal estudiado. Para la dilución de las muestras de suero se empleó Triton X-100. Todas las soluciones se prepararon con agua grado I ASTM, en balones aforados de polietileno lineal (Nalgene, USA). El ácido nítrico concentrado (Merck, Alemania) contenía concentraciones de Zn no detectables por ETA-AAS. La evaluación de la exactitud de los métodos se realizó a través del análisis de dos patrones certificados: Metales en Agua Potable: "Metals in Drinking Water" del High-Purity Standards, USA, HPS No. CRM 590321, y Tejido de Ostra: "Oyster Tissue" del National Institute of Standards and Technology, USA, NIST No. SRM-1566a.

III.3.4. Determinación de Óxido Nítrico (NO)

La formación de NO se determinó a partir de la detección de nitritos/nitratos en el suero de los niños desnutridos y niños eutróficos. La determinación de NO se basa en la Reacción de Griess (**Archer, 1993**). Para ello se empleó el kit de análisis de Oxido Nítrico QuantichromTM de la casa comercial Bioassay Systems (Hayward, USA), y es la técnica estándar para medir nitrito orgánico. La prueba se fundamenta en que la adición de nitritos y ácido sulfanílico interactúan con N-(1-naftil)-etilendiamina, generando un producto que es fácilmente monitoreado por espectrofotometría a 550 nm. Los valores fueron expresados en µM.

III.3.5. Determinación de Malonaldehído (MDA)

El contenido de MDA (un producto de la hidrólisis de hidroperóxidos de lípidos) se determinó a través del ensayo con ácido tiobarbitúrico (**Draper et al., 1993**), (NWLSS™ Malondialdehyde Assay, Vancouver, WA). A un volumen de suero (50 µL) se adicionó un volumen de una solución que contenía 50 µL de Dodecilsulfato Sódico (SDS), 375 µL de ácido acético, 375 µL de ácido tiobarbitúrico a pH 3,5 y 150 µL de agua destilada. La mezcla completa se calentó a 95°C por 60 minutos, luego el sustrato cromogénico fue extraído hacia la fase orgánica con butanol/piridina (15:1). La absorbancia de la capa orgánica se midió a 532 nm. Se utilizó como estándar externo el MDA bis-dimetil acetato y los resultados se expresaron µM.

III.4. Programa de Recuperación Nutricional

Los objetivos de este Programa están demarcados dentro de las recomendaciones de la OMS (**OMS, 1999**) tales como son reducir el riesgo de mortalidad por desnutrición, acortar el tiempo de estancia hospitalaria, facilitar la rehabilitación y evitar las recidivas

III.4.1. Normas Generales del Programa

Se debe prestar especial atención al tratamiento dietético, no solo porque ocupa un lugar central en la rehabilitación nutricional, sino porque un tratamiento inadecuado puede contribuir a la muerte del paciente desnutrido grave, particularmente en los primeros días de iniciado el soporte nutricional (**Torun, 2001**).

Dentro de estas normas se incluyen:

- 1.- Comenzar el tratamiento dietético lo más pronto posible.

- 2.- Usar una dieta con buena calidad nutricional.
- 3.- Dar inicialmente cantidades pequeñas de nutrientes.
- 4.- Aumentar esas cantidades de forma lenta y gradual.
- 5.- Evitar el ayuno, aún durante pocas horas.
- 6.- Ayudar al paciente a comer, pero sin forzarlo.
- 7.- No usar alimentación intravenosa.
- 8.- No interrumpir la lactancia materna.
- 9.- Administrar suficientes líquidos, en proporción a la cantidad de energía (calorías) en la dieta.
- 10.- Suplementar la dieta con calorías, minerales y vitaminas.
- 11.- No dar hierro durante la primera semana.
- 12.- Tener paciencia y mostrar afecto al niño(a) desnutrido, especialmente al alimentarlo.
- 13.- No dejar que el/la niño(a) coma solo(a), sin supervisión.
- 14.- Involucrar a la madre, parientes y cuidadores en la alimentación.
- 15.- Evaluar el progreso del niño(a) diariamente.

III.4.2. Administración del Programa de Recuperación Nutricional

El Programa se inicia una vez que los niños se encuentren libres de infección, diarrea o cualquier patología que pudiera alterar la recuperación nutricional. Se realiza a través de tres fases de intervención cuyos objetivos fundamentales son

reducir el riesgo de mortalidad, acortar el tiempo de estancia hospitalaria, facilitar la rehabilitación y evitar las recaídas.

1.- Fase aguda o de tratamiento inicial: Comienza con el ingreso al SERN y finaliza cuando el niño estabiliza su condición clínica y recupera el apetito; si la evolución es satisfactoria esta fase dura en promedio 7 días. Es un periodo muy crítico donde se corrigen las carencias específicas y las descompensaciones metabólicas. Si el paciente presenta deshidratación y está consciente se utiliza la rehidratación oral con suero hipomolar, reducido en Na, con potasio, glucosa, zinc, magnesio y cobre (SoReMal o ReSoMal, según siglas en ingles).

Si no hay tolerancia oral o hay alteraciones del sensorio se utiliza la vía endovenosa con el esquema para desnutridos en las diferentes fases de expansión, iniciando con 10 a 15 mL/kilo en la primera hora. La solución indicada debe ser Ringer Lactato + Sol Dextrosa al 5% + Cloruro de K (2 meq/100 mL). La indicación de terapia antimicrobiana depende de la sospecha clínica, resultados de laboratorio y radiología. La alimentación durante esta fase debe darse lo más rápido posible, si las condiciones del paciente lo permiten. Se inicia con dieta líquida de fácil digestión y adecuado valor nutritivo, el volumen a suministrar es de 90 mL a 130 mL/kg/día, administrado en pequeños volúmenes a intervalos cortos durante el día y la noche. El aporte inicial de proteínas (principalmente proteína láctea) es de 0.8 a 1.0 grms/kilo/día con un aporte calórico de 70 a 100 Kcal, previniendo el síndrome de realimentación.

En los niños menores de 6 kilos las fórmulas aportan el requerimiento necesario para esta fase. Son fórmulas infantiles de inicio sin lactosa. En niños

mayores de 6 kilos el aporte se comparte entre la fórmula (60 a 70 Kcal/kg/día) y alimentación complementaria (20 a 30 kcal/kg/día). La suplementación de micronutrientes en esta fase consiste en Vitaminas, tales como A, B, C y D al doble de la dosis; así como también de electrolitos y minerales como Zinc, Cobre, Calcio y Potasio. Debe evitarse las sales de hierro como tratamiento de la anemia ya que se ha observado aumento de la mortalidad en desnutridos graves que lo recibieron **(Waterlow, 1996; Álvarez, 1994)**.

En pacientes edematosos con fines únicamente terapéuticos, se trabaja con peso seco, el cual corresponde al 74% de su peso ideal **(Buchman, 1997)**

2.- Fase de rehabilitación: Una vez desaparecidas las alteraciones electrolíticas, el edema, controlado el proceso infeccioso y recuperado el apetito, se inicia esta fase con una duración de 6 a 8 semanas, cuyos objetivos son: 1.-Lograr la rehabilitación rápida y segura, 2.- Minimizar los efectos adversos de la hospitalización, 3.- Estimular el desarrollo del niño y 4.- Evitar las recaídas.

El volumen a suministrar en esta fase es de 130 a 150 mL/kg/día distribuidos en un promedio de 6 a 8 tomas al día. El aporte de proteína (principalmente proteína animal) es de 3.9 a 4.9 g/kg/día, con un aporte calórico de 150 a 250 kcal/kg/día. En los niños con peso inferior a 6 kilos, la fórmula aporta el requerimiento calórico-proteico para esta fase. En aquellos niños con peso superior a 6 kilos, el aporte se comparte entre la fórmula (75 a 150 kcal/kg/día) y la alimentación complementaria (50 a 100 kcal/kg/día).

Posteriormente dependiendo de la evolución del paciente se reduce el volumen de la fórmula y se aumenta la alimentación complementaria de modo que el aporte queda en partes iguales. Se continúa con la suplementación de electrolitos, minerales y vitaminas e igualmente con la lactancia materna de ser posible. También se suministran formulas infantiles de inicio, seguimiento o fórmulas especiales (soya-hidrolizados sin lactosa) en caso de intolerancia o alergia a la proteína de vaca. En los niños menores de 6 meses se mantiene la lactancia materna verificando el volumen producido por la madre, y en caso de no haber recibido, se intenta su reinicio.

3.- La fase de seguimiento: En esta fase se trata de prevenir las recaídas y vigilar el crecimiento y desarrollo del niño. Las indicaciones incluyen un plan de alimentación acorde a su recuperación y en algunos pacientes suplementos nutricionales con fórmulas poliméricas y ajustes de micronutrientes incluyendo hierro.

El primer control una vez que el niño ha sido dado de alta se realiza a la primera semana después del egreso, luego a la segunda semana, posteriormente al primer mes y así sucesivamente hasta el sexto mes. Si la evolución es completamente satisfactoria se realizaran como mínimo 2 controles al año, considerándose como evolución satisfactoria si el peso para la talla se mantiene superior al percentil 10 del P/T, según valores de referencia de la OMS-INN. Se registran como recaídas aquellos pacientes que después de alcanzar la recuperación del estado nutricional presentan nuevamente un deterioro del mismo.

III.5. ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN RECOGIDA

III.5.1. Descripción de las variables de la base de datos.

III.5.1.1. Variables Generales de los grupos en estudio

1.- Historia clínica: Creada para control, manejo e identificación de los pacientes.

2.- Identificación de las muestras de los pacientes: Cada muestra dependiendo del grado de déficit nutricional se le asignaba un número y un código, por ejemplo: 1DL (muestra 1, desnutrido leve), 2DGI (muestra 2, desnutrido grave infectando), 3 DGAT (muestra 3, desnutrido grave antes del tratamiento), 4 DGDT (muestra 4, desnutrido grave después del tratamiento). Las muestras de los eutróficos se identificaron de igual manera: 1EI (muestra 1, eutrófico infectado), 2 ESI (muestra 2, eutrófico sin infección).

III.5.1.2. Variable grupo

Los datos recogidos se tabularon en una base de datos como variable cualitativa con los siguientes valores:

Sexo:

1= Femenino

2= Masculino

III.5.1.3. Variable Clínica

DL: Desnutrido Leve

DM: Desnutrido Moderado

DG: Desnutrido Grave

DGI: Desnutrido Grave Infectado

DGAT: Desnutrido Grave antes del Tratamiento

DGDT: Desnutrido Grave después del Tratamiento

EI: Eutrófico Infectado

ESI: Eutrófico sin Infección

III.5.1.4. Variables Cuantitativas

Edad: Expresada en meses y años

Peso: Expresado en Kilogramos

Talla: Expresada en metros y centímetros

Citocinas: Expresadas en pg/mL.

Proteína C Reactiva: Expresados en mg/L

Complemento C3: Expresados en G/L

Zinc: Expresado en $\mu\text{g/dL}$

Oxido Nítrico y Malonaldehido: Expresados en μM

III.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron cargados en el programa estadístico SPSS, versión 17 (SPSS, Chicago, IL). Los resultados fueron expresados como promedio \pm desviación estándar. Para determinar la significación estadística se utilizaron las pruebas ANOVA, post test de Tukey y t de Student, según correspondiese, previa conversión logarítmica, a pesar de ellos se muestran valores no transformados en los resultados. La correlación entre las variables se realizó con la prueba de Correlación Rho de Spearman. Para el análisis estadístico fue considerado como índice de confianza el 95% y el criterio para la significancia estadística fue $p < 0,05$.



IV. RESULTADOS

IV.1. Datos Clínicos

Se estudiaron 149 niños de acuerdo a criterios clínicos y antropométricos, de los cuales 45 (30.2%) fueron niños eutróficos y 104 (69.8%) fueron niños desnutridos.

Tabla 2. Distribución de los Niños de acuerdo a su Condición Nutricional

Condición Nutricional	Cantidad	Porcentaje
Eutróficos Sin Infección	25	16.8%
Eutróficos Infeccionados	20	13.4%
Desnutridos Infeccionados	20	13.4%
Desnutridos sin infección		
Leves	22	14.8%
Moderados	22	14.8%
Graves	20	13.4%
Desnutridos Graves (TRN)	20	13.4%

TRN: Terapia de Recuperación Nutricional

De los 45 niños eutróficos, 25 (16.8%) no presentaron infección y 20 (13.4%) presentaron procesos infecciosos. En referencia a los niños desnutridos, 20 de ellos (13.4%) manifestaron etiologías de origen infeccioso y el resto, 84 (56.4%) se agruparon de acuerdo a la intensidad de su déficit nutricional en: 22 desnutridos leves (14.8%), 22 desnutridos moderados (14.8%), 40 desnutridos graves (26.8%).

De estos últimos, 20 (13.4%) fueron incorporados al programa de recuperación nutricional, recibiendo la misma atención médica y tratamiento nutricional.

IV.2.- Determinación Sérica de Citocinas.

IV.2.1. Citocinas Proinflamatorias en Niños con Distintos Grados de Déficit Nutricional.

Los resultados de las concentraciones séricas de IL-1 α , IL-6 y TNF- α se representan en la Figura 12. Se encontró para la IL-1 α un aumento significativo en los desnutridos graves ($7,53 \pm 3,46$ pg/mL, $p < 0,001$) en relación con el resto de los grupos (desnutridos leves: $2,47 \pm 0,77$ pg/mL y desnutridos moderados: $1,86 \pm 1,06$ pg/mL;), siendo el grupo control quien mostró el valor más bajo ($2,00 \pm 0,51$ pg/mL).

En cuanto a las concentraciones de IL-6 se observó un comportamiento similar a la IL-1 α , con un aumento estadísticamente significativo en los desnutridos graves ($32,12 \pm 10,26$ pg/mL $p < 0,01$), al compararlo con los desnutridos leves ($13,50 \pm 4,96$ pg/mL), desnutridos moderados ($19,66 \pm 6,05$ pg/mL) y el grupo control ($20,12 \pm 5,57$ pg/mL). Los desnutridos leves por su parte, presentaron una disminución significativa ($p < 0,01$) con respecto al grupo control y a los desnutridos moderados. Igualmente el TNF- α , presentó un aumento significativo ($p < 0,05$) en el grupo de desnutridos graves ($34,79 \pm 6,21$ pg/mL), pero solo en relación al control eutrófico ($28,19 \pm 8,52$ pg/mL).

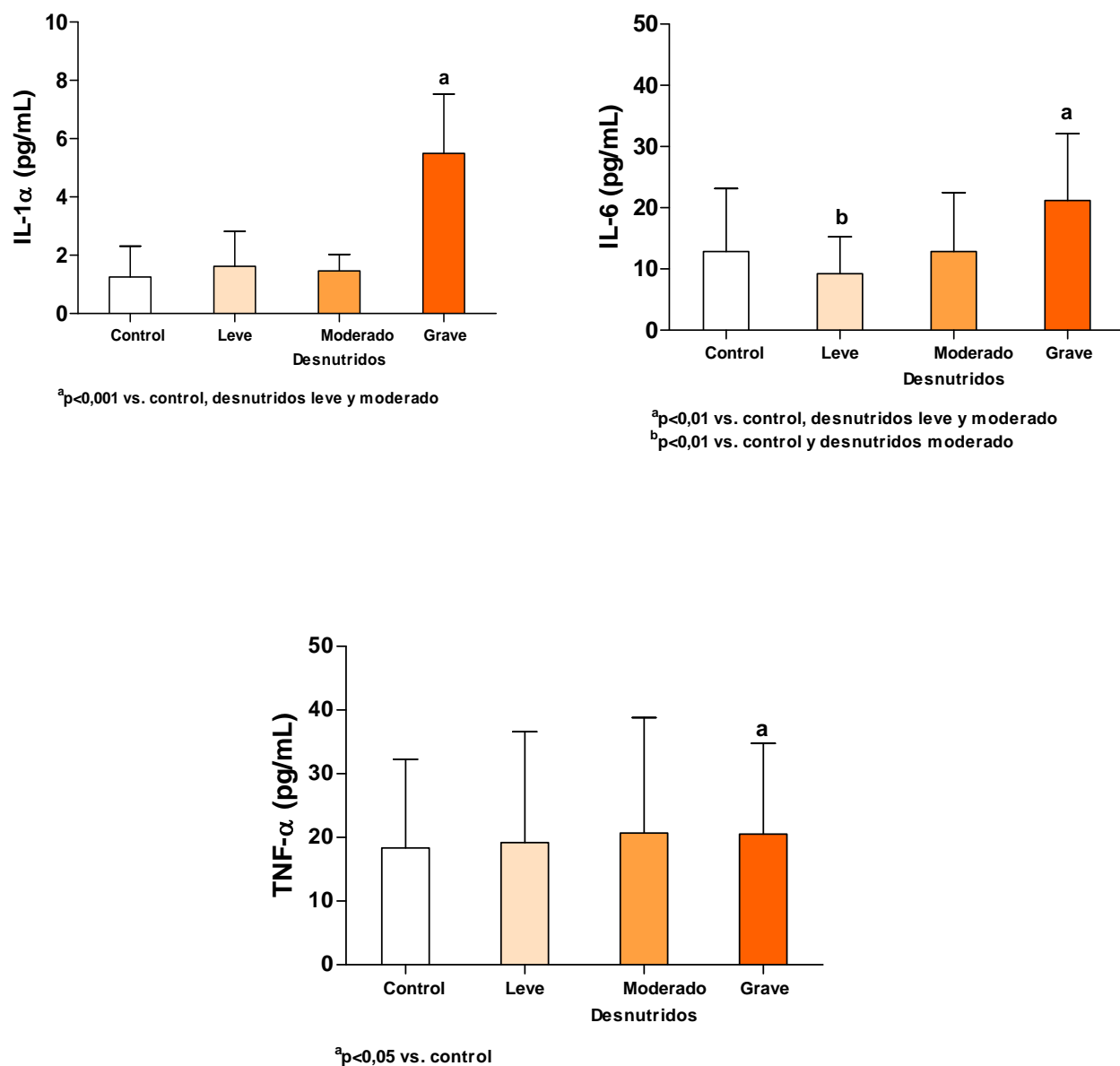


Figura 12.- Concentraciones séricas de citocinas proinflamatorias en niños con distintos grados de déficit nutricional. Las concentraciones de la IL-1 α , IL-6 y TNF- α , se determinaron por el método de ELISA en sueros de niños desnutridos (leves, moderados y graves) y sus controles eutróficos. Los resultados se expresan como $\bar{X} \pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA, post hoc test de Tukey.

El análisis de correlación de Spearman's (2 colas) reveló una correlación positiva de 0,690 entre la IL-1 y la IL-6, con un nivel de significancia de 0,0001, el cual se muestra en la Figura 13.

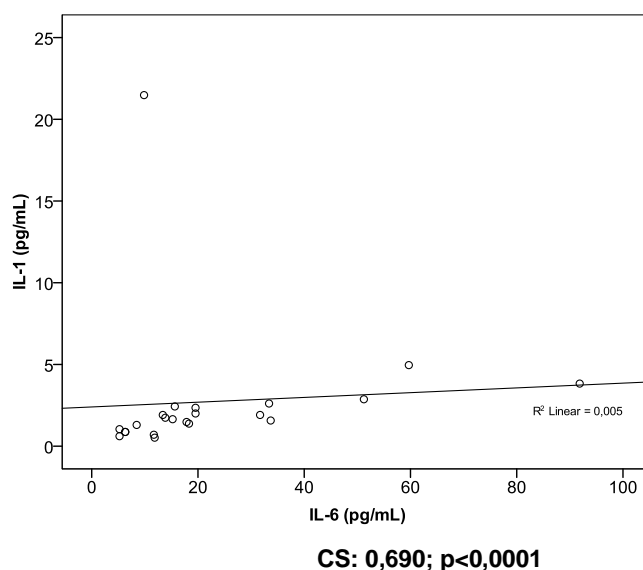


Figura 13.- Correlación entre las concentraciones séricas de IL-1 e IL-6 en niños con distintos grados de déficit nutricional. CS: correlación de Spearman.

IV.2.2. Citocinas Anti-inflamatorias en Niños con Distintos Grados de Déficit Nutricional.

IV.2.2.1.- Determinación de IL-4.

La concentración sérica de esta citocina en los diferentes grupos de desnutridos y el grupo control, se muestra en la Figura 14. Se observó que los desnutridos graves ($0,55 \pm 0,006$ pg/mL) presentaron un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,0001$) con respecto a los desnutridos leves ($0,46 \pm 0,04$ pg/mL), desnutridos moderados ($0,48 \pm 0,10$ pg/mL) y el grupo de niños controles ($0,37 \pm 0,004$ pg/mL). También se observó una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los eutróficos (grupo control) y los desnutridos moderados.

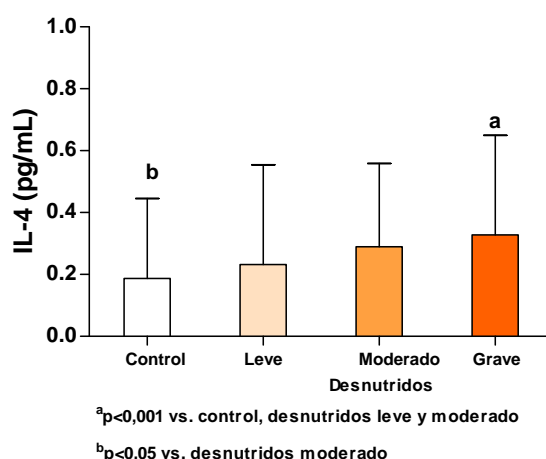


Figura 14.- Concentración sérica de IL-4 en niños con diferentes grados de déficit nutricional. La concentración de la IL-4 se determinó por el método de ELISA en sueros de niños eutróficos (control), desnutridos leves, desnutridos moderados y desnutridos graves. Los resultados se expresan como $X \pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA, post hoc test de Tukey.

IV.2.2.2.- Determinación de IL-10.

En relación a la IL-10, los controles exhibieron una disminución significativa ($p < 0,001$) de su concentración sérica ($6,53 \pm 2,59$ pg/mL) al compararlos con los desnutridos moderados ($9,91 \pm 3,17$ pg/mL) y los desnutridos graves ($10,88 \pm 5,13$ pg/mL), resultados que se observan en la Figura 15.

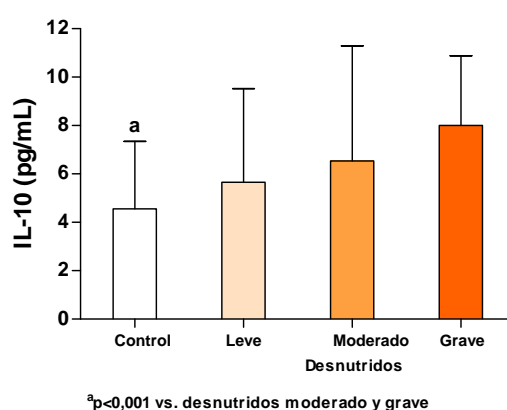


Figura 15. Concentración sérica de IL-10 en niños con diferentes grados de déficit nutricional. La concentración de la IL-10 se determinó por el método de ELISA en sueros de niños eutróficos (control), desnutridos leves, desnutridos moderados y desnutridos graves. Los resultados se expresan como $X \pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA, post hoc test de Tukey.

IV.3. Determinación de Citocinas en Niños Controles y Niños

Desnutridos

En la Figura 16 se muestran las concentraciones de las diferentes citocinas al comparar los controles eutróficos con los desnutridos. No se observaron diferencias significativas entre ambos grupos (IL-1 α , control: $2,00\pm 0,51$ y desnutridos: $3,95\pm 1,76$; IL-4, control: $0,37\pm 0,004$ y desnutridos: $0,50\pm 0,04$; IL-6, control: $20,12\pm 5,57$ y desnutridos: $21,76\pm 7,09$; IL-10, controles: $6,53\pm 2,59$ y desnutridos: $9,72\pm 3,74$; TNF- α , control: $28,19\pm 8,52$ y desnutridos: $33,27$ pg/mL). Los niveles séricos de TNF- α fueron superiores al resto de las citocinas.

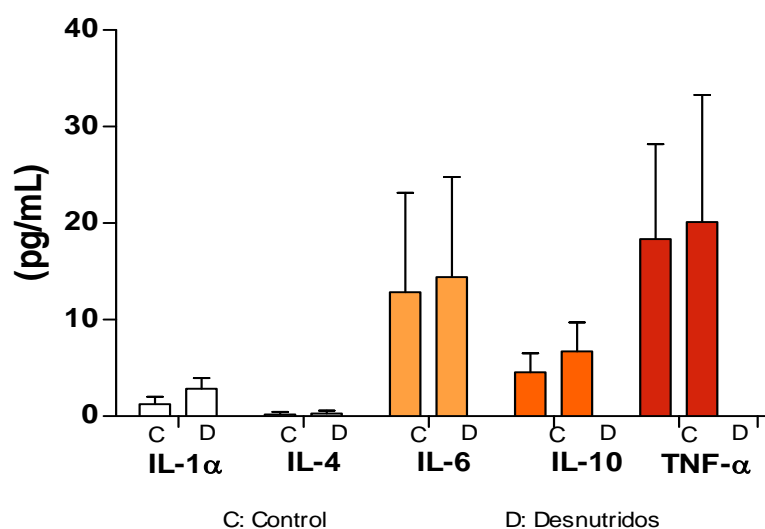
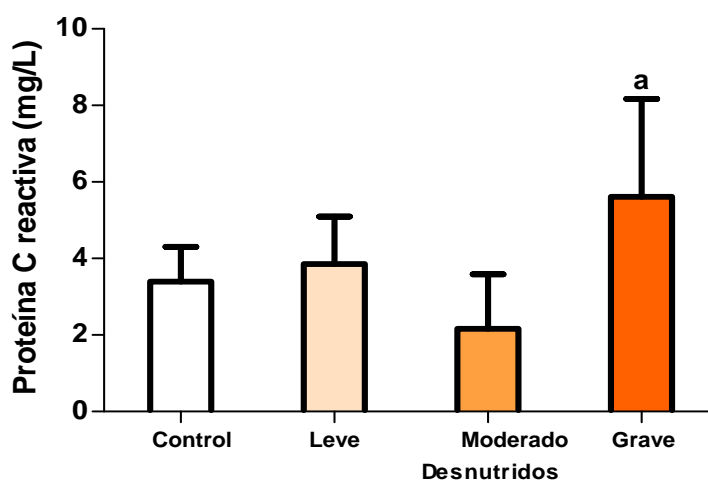


Figura 16. Concentraciones séricas de citocinas en niños controles y en niños desnutridos. Las concentraciones de las citocinas: IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-10 y TNF- α , se determinaron por el método de ELISA en suero de niños eutróficos (controles) y niños desnutridos. Los resultados se expresan como $X\pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA, post hoc test de Tukey.

IV.4.- Determinación Sérica de Proteínas de Fase Aguda.

IV.4.1. Proteína C Reactiva.

Con respecto a las concentraciones séricas de PCR en niños con distintos grados de déficit nutricional, la Figura 17 muestra como los desnutridos graves (8.17 ± 3.06 mg/L) presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) con el resto de los grupos estudiados; es decir, desnutridos leves (4.73 ± 2.98 mg/L), desnutridos moderados (3.17 ± 1.15 mg/L) y el grupo control eutrófico (4.04 ± 2.75 mg/L). Sin embargo, su concentración promedio se mantuvo dentro del valor de referencia (10 mg/L).



^a $p < 0,04$ vs. control, desnutridos leve y moderado

Figura 17. Concentraciones séricas de Proteína C Reactiva en niños con diferentes grados de déficit nutricional. Las concentraciones séricas de PCR se determinaron por el método turbidimétrico en suero de niños eutróficos (controles) y niños desnutridos. Los resultados se expresan como $X \pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA, post hoc test de Tukey.

Al analizar en la Figura 18 los valores séricos de PCR en los desnutridos graves infectados y eutróficos infectados así como los del grupo control, se observó que en ambos grupos de infectados los valores promedios fueron significativamente superiores a los del control ($p < 0,001$). Sin embargo, los valores de PCR en los eutróficos infectados ($241,60 \pm 105,60$ mg/L) fueron muy superiores al de los desnutridos infectados ($80,80 \pm 38,39$ mg/L) con diferencias significativas ($p < 0,001$) entre ambos grupos. En la misma Figura se aprecia como las concentraciones séricas de PCR en los desnutridos graves infectados ($80,80 \pm 38,39$ mg/L) mostraron un incremento significativo ($p < 0,001$) al compararlas con el grupo de desnutridos graves no infectados ($8,17 \pm 3,06$ mg/L).

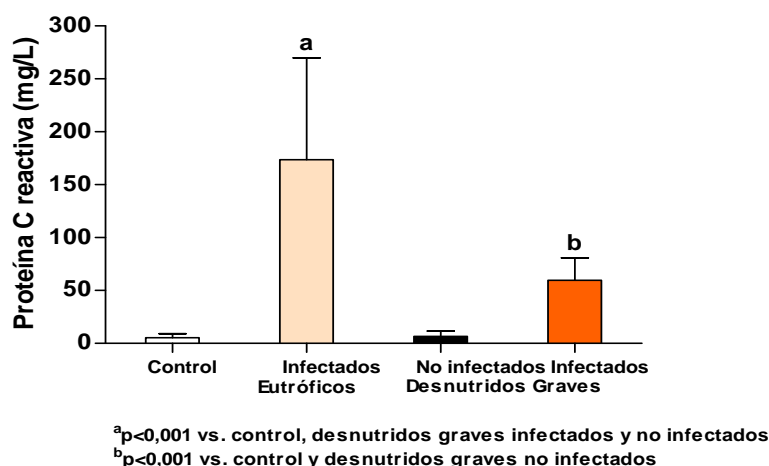


Figura 18.- Concentraciones séricas de Proteína C Reactiva en niños desnutridos graves con y sin infección y sus respectivos controles. Las concentraciones séricas de PCR se determinaron por el método turbidimétrico en suero de niños eutróficos (controles) y niños con desnutrición severa, infectados y no infectados. Los resultados se expresan como $X \pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA, post hoc test de Tukey.

IV.4.2. Complemento C3.

En la Figura 19 se muestran las concentraciones séricas del componente C3 del complemento de acuerdo a la severidad del déficit nutricional. Puede observarse que el valor promedio de esta proteína para los desnutridos leves, moderados y graves fue de 1.41 ± 5.06 g/L, 1.41 ± 12.2 g/L y 1.04 ± 28 g/L respectivamente. El grupo control (eutrófico) presentó un promedio de 1.72 ± 32 g/L, obteniéndose para todos los grupos estudiados diferencias significativas ($p < 0.001$).

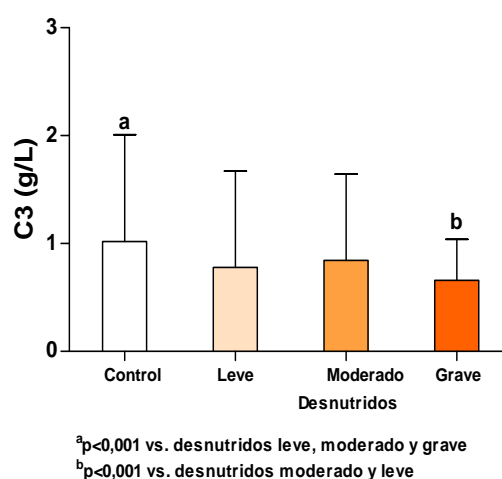


Figura 19. Concentraciones séricas de C3 en niños con diferentes grados de déficit nutricional. Las concentraciones séricas del componente C3 se determinaron por el método turbidimétrico en suero de niños eutróficos (controles) y niños desnutridos. Los resultados se expresan como $X \pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA, post hoc test de Tukey.

IV.5.- Determinación Sérica de Cinc.

Los resultados de las concentraciones séricas de Zn en los niños con diferentes grados de desnutrición y el grupo control (eutróficos) se muestran en la Figura 20. Se encontró que los valores en los desnutridos leves fueron de $39,73 \pm 14,97$ $\mu\text{g/dL}$, en los desnutridos moderados $35,07 \pm 28,13$ $\mu\text{g/dL}$ y en los desnutridos

graves $15,48 \pm 10,44 \mu\text{g/dL}$, valores disminuidos en los tres grupos con diferencias significativas de $p < 0,0001$ en relación con el grupo control ($76,71 \pm 33,29 \mu\text{g/dL}$). De igual manera se encontraron diferencias significativas ($p < 0,001$) entre el grupo de desnutridos graves y los desnutridos leves y moderados.

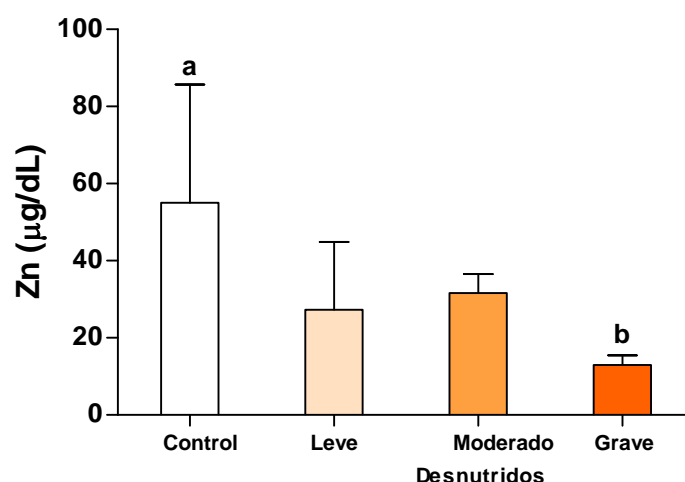


Figura 20.- Concentraciones séricas de Cinc en niños con diferentes grados de déficit nutricional. La determinación analítica de las concentraciones séricas de Cinc se realizó mediante la técnica instrumental de espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETA-AAS) en niños eutróficos (controles) y niños desnutridos. Los resultados se expresan como $X \pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA, post hoc test de Tukey.

El recordatorio de 24 horas permitió calcular la ingesta diaria de Zn en los niños desnutridos y el grupo control, la cual aparece representada en la Figura 21. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la ingesta de Zn entre los desnutridos leves ($5,48 \pm 0,98 \text{ mg/día}$), los desnutridos moderados ($4,99 \pm 1,94 \text{ mg/día}$) y los controles ($6,22 \pm 0,98 \text{ mg/día}$), valores que difirieron significativamente ($p < 0,001$) de los desnutridos graves ($1,87 \pm 0,54 \text{ mg/día}$).

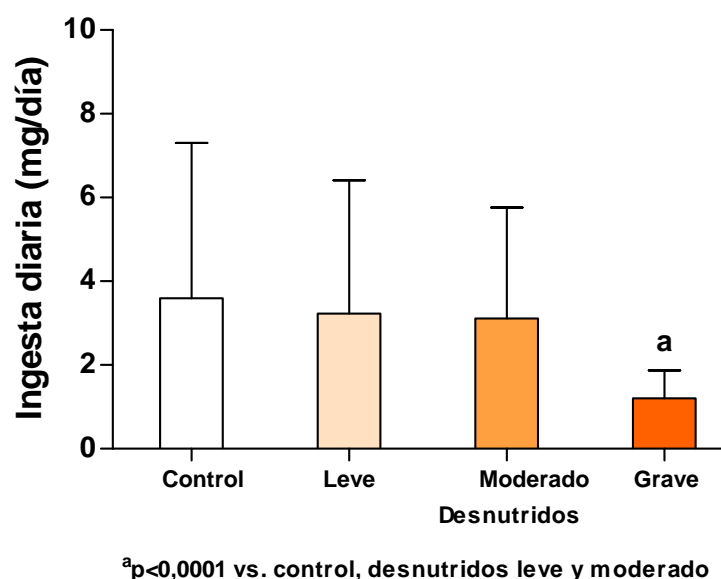


Figura 21.- Ingesta diaria de Zinc en niños con diferentes grados de déficit nutricional. La determinación de la ingesta diaria fue calculada a través del recordatorio de 24 horas, realizado a los niños controles (eutróficos) y niños desnutridos. Los resultados se expresan como $\bar{X} \pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA, post hoc test de Tukey.

IV.6. Determinación Sérica de Citocinas antes y después de la Recuperación Nutricional.

IV.6.1. Determinación de IL-12, IL17, IFN- γ y TNF- α .

El comportamiento de las concentraciones séricas de IL-12, IL-17, IFN- γ y TNF- α en los niños con desnutrición grave antes (AT) y después del tratamiento (DT) de recuperación nutricional, se representan en la Figura 22. Pudo observarse diferencias significativas entre el grupo control eutrófico y el grupo de desnutridos graves antes de recibir el tratamiento nutricional: IL-12 (control: $117,78 \pm 37,2$ pg/mL, AT: $215,36 \pm 81,98$ pg/mL; $p < 0,001$), IL-17 (control: $33,79 \pm 23,08$ pg/mL, AT: $61,89 \pm 24,78$ pg/mL; $p < 0,001$), IFN- γ (control: $0,31 \pm 0,19$ pg/mL, AT: $215,35 \pm 82,0$ pg/mL; $p < 0,001$) y TNF- α (control: $5,48 \pm 5,71$ pg/mL, AT: $14,3 \pm 6,33$ pg/mL).

Igualmente en la misma figura se observan como las concentraciones de estas citocinas disminuyen significativamente ($p < 0,0001$) después del tratamiento: IL-12 (AT: $215,36 \pm 81,98$ y DT: $143,23 \pm 26,90$), IL-17 (AT: $61,89 \pm 24,78$ y DT: $36,23 \pm 8,46$), IFN- γ (AT: $215,35 \pm 82,0$ y DT: $0,28 \pm 0,11$) y TNF- α (AT: 14.3 ± 6.33 pg/mL, DT: 6.99 ± 5.67 pg/mL). No se observaron diferencias significativas entre el control y los desnutridos después del tratamiento.

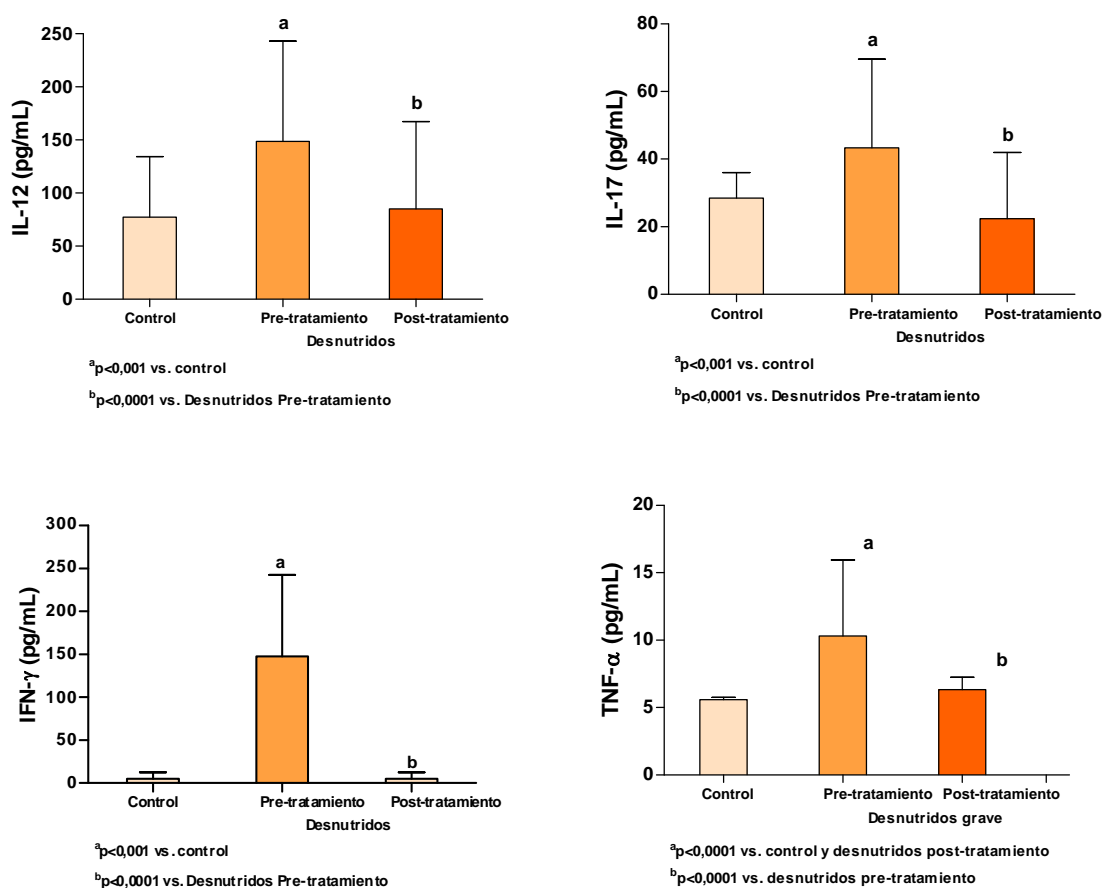


Figura 22.- Concentraciones séricas de IL-12, IL-17, IFN- γ y TNF- α en niños con desnutrición grave, antes y después del tratamiento de recuperación nutricional. Las concentraciones se determinaron por el método de ELISA en sueros de niños eutróficos y desnutridos graves antes y después del tratamiento. Los resultados se expresan como $X \pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA y post hoc test de Tukey.

El análisis de correlación de Spearman reveló una correlación positiva de 1,000 entre la IL-12 y el IFN- γ , con un nivel de significancia de 0,0001, el cual se muestra en la Figura 23.

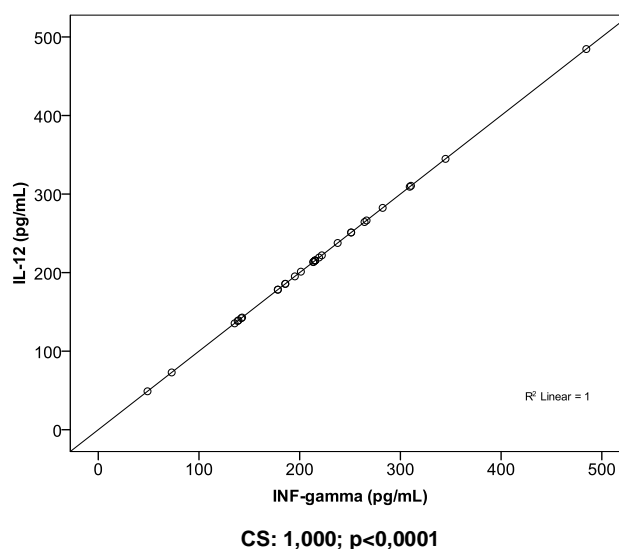


Figura 23.- Correlación entre las concentraciones séricas de IL12 e IFN- γ en el niño desnutrido grave. CS: correlación de Spearman.

IV.7. Determinación Sérica del Perfil Oxidativo Antes y Después de la Recuperación Nutricional.

IV.7.1. Concentración de Óxido Nítrico y Malonaldehido.

En relación al Perfil Oxidativo, las concentraciones séricas de NO y MDA en niños con desnutrición severa o grave, antes (AT) y después (DT) del tratamiento de recuperación nutricional, se representan en la Figura 24. Se evidenció en los desnutridos un aumento significativo ($p < 0,001$) de las concentraciones de NO ($45,86 \pm 13,41 \mu\text{M}$) y MDA ($3,29 \pm 1,18 \mu\text{M}$) previo al tratamiento cuando se compararon con el grupo control (NO: $33,48 \pm 8,70 \mu\text{M}$ y MDA: $2,09 \pm 2,30 \mu\text{M}$).

Posterior al tratamiento, se obtuvo una disminución significativa ($p < 0,0001$) de los niveles basales de NO ($30,85 \pm 15,13 \mu\text{M}$) y MDA ($1,54 \pm 0,72 \mu\text{M}$) en los niños desnutridos graves. El promedio del perfil oxidativo en estos últimos, fue similar al nivel alcanzado por el grupo control.

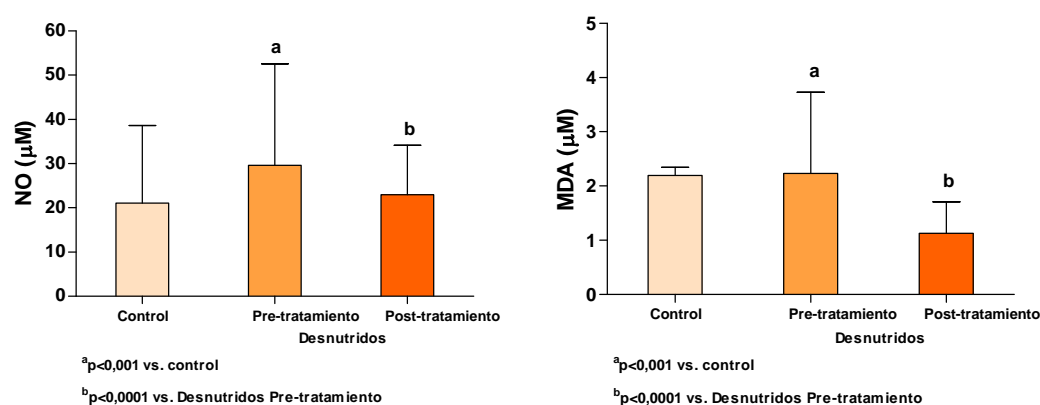
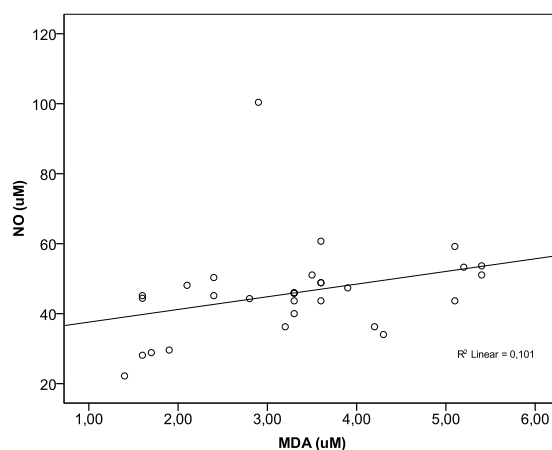


Figura 24.- Concentraciones séricas de NO y MDA en niños con desnutrición grave antes y después del tratamiento de recuperación nutricional. Las concentraciones de NO y MDA se determinaron mediante ensayo de diazotización y la formación de derivados del ácido tiobarbitúrico en suero de niños eutróficos y desnutridos graves antes y después del tratamiento de recuperación nutricional. Los resultados se expresan como $X \pm DE$ y la significancia fue determinada con ANOVA, post hoc test de Tukey.

El análisis de correlación de Spearman's reveló una correlación positiva de 0,464 entre el NO y el MDA, con un nivel de significancia de 0,009, el cual se muestra en la Figura 25



CS: 0,464; $p < 0,009$

Figura 25.- Correlación entre las concentraciones séricas de NO y MDA en el niño desnutrido grave. CS: correlación de Spearman.

IV.8. Porcentaje de Disminución antes y después del tratamiento.

El tratamiento de recuperación nutricional condujo a una variada reducción en el porcentaje de citocinas y del perfil oxidativo en los pacientes con desnutrición grave: (INF- γ : $99,84 \pm 0,12$; IL-12: $22,41 \pm 28,40$; IL-17: $36,99 \pm 24,28$; TNF- α : $21,11 \pm 20,28$; NO: $31,67 \pm 25,45$ y MDA: $45,55 \pm 37,00$), exhibiendo el IFN- γ y el MDA, los mayores porcentajes de reducción con significancia estadística ($p < 0,0001$) posterior al tratamiento. Figura 26.

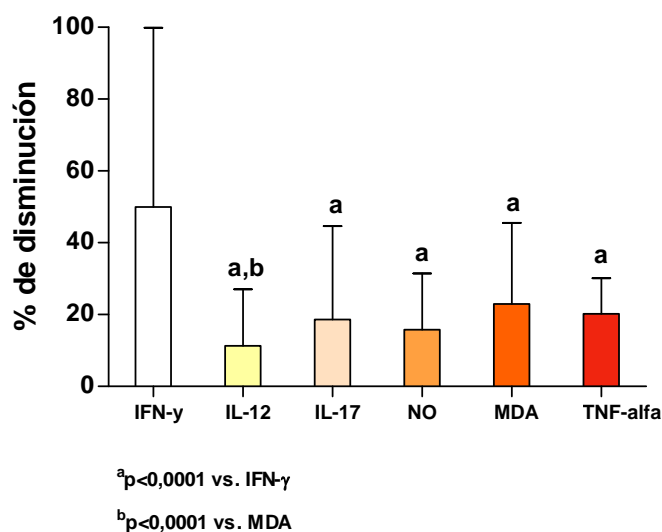


Figura 26.- Porcentaje de disminución de las concentraciones séricas citocinas proinflamatorias, NO y MDA en niños con desnutrición grave antes y después del tratamiento de recuperación nutricional. Las concentraciones séricas de IL-12, IL-17, IFN- γ y TNF- α , se determinaron por el método de ELISA, el Óxido Nítrico por el ensayo de diazotización y el MDA por la formación de derivados del ácido tiobarbitúrico. La significancia fue determinada con ANOVA y el post test de Tukey. Los datos representan $X \pm DE$ del porcentaje de disminución de acuerdo al valor inicial (antes del tratamiento).

IV.9. Correlación entre las concentraciones de IL-12, IL-17, IFN- γ y TNF- α con las variables clínicas y antropométricas antes y después del tratamiento.

Al analizar las concentraciones séricas de las diferentes citocinas con las variables clínicas y antropométricas, tales como Peso, Talla, Sonrisa Social, Reactividad, Apetito y Dermatitis, antes y después del tratamiento, se encontró que no hubo correlación entre las mismas.



V. DISCUSIÓN

En el desarrollo de la discusión se sigue un orden similar al de la exposición de resultados.

V.1- Respuesta Inflamatoria en el Niño con Distintos Grados de Déficit Nutricional.

En la presente investigación se dispuso estudiar el nivel circulante de la IL-1- α , la IL-6 y el TNF- α , por ser mediadores claves de la respuesta inmunitaria/inflamatoria con relevantes efectos sistémicos. Asimismo, la estrategia de investigación del estado inflamatorio de los niños denutridos se completó con la cuantificación de parámetros establecidos como marcadores biológicos tales como la proteína C reactiva (PCR) y el componente C3 del complemento.

V.1.1.- Citocinas Proinflamatorias.

En la DPE existen diferentes deficiencias nutricionales que participan en la patogenia de diferentes alteraciones del sistema inmunitario que condicionan anomalías funcionales en la respuesta inmune específica e inespecífica. Así, se ha establecido la existencia de alteraciones en la producción de inmunoglobulinas, de citocinas y de otros parámetros de función de las células inmunitarias (Amesty *et al.*, 2003; Beisel, 1982; Chandra, 1983; Chandra, 1992; Sánchez, 1999; Vásquez-Garibay, 2003).

Como se señaló en la introducción, las citocinas constituyen una compleja red molecular con capacidad de regular la función de células del sistema inflamatorio-inmunológico y de otras pertenecientes a diferentes tejidos

órganos. Por el patrón de efectos inducidos se clasifican en diferentes grupos como las proinflamatorias, inmunosupresoras, proalérgicas, hematopoyéticas y otras. La IL-1 α , IL-6 y TNF- α se incluyen en el grupo de proinflamatorias y además poseen importantes efectos neuroendocrinos con acciones sobre neuronas y diversos tejidos incluyendo el graso, hígado y muscular. Estas proteínas reguladoras han sido objeto de estudio en numerosas condiciones clínicas (Coutinho *et al.*, 2006; Hober *et al.*, 1993; Kuno *et al.*, 1994; Pullicino *et al.*, 1990; Whicher *et al.*, 1990), no obstante han sido poco estudiadas en el niño desnutrido.

Por las razones fisiopatológicas previamente descritas, el estudio de estas citocinas proinflamatorias en la desnutrición ha constituido un objetivo de diferentes grupos de investigación. Sin embargo, los estudios realizados para medir la capacidad de producción de la IL-1 y del TNF en estos pacientes no han sido concluyentes y existen resultados divergentes. Las investigaciones de Kauffman *et al.*, (1986), Keenan *et al.*, (1982) y Bradly *et al.*, (1989), reportan disminución de la IL-1 en pacientes con déficit nutricional. Bhaskaran *et al.*, (1986), señalaron específicamente que en niños con desnutrición severa o grave, se objetivaba una disminución importante en la actividad de la IL-1. Por el contrario, Malavé *et al.*, (1993), encontraron niveles elevados de esta citocina, resultados que coinciden con los de la presente investigación, donde se observó elevación significativa de IL-1 α ($p < 0,001$) en el grupo de desnutridos graves en relación con los desnutridos leves, desnutridos moderados y el grupo control.

Resulta interesante señalar que las diferencias entre los resultados reportados por los distintos investigadores y aún con los encontrados en este trabajo, podrían estar condicionadas por el tipo de desnutrido estudiado, ya que se ha comprobado que la disminución en la síntesis de IL-1 parece ser específica para la deficiencia de proteínas (kwashiorkor) y no tanto para el déficit de energía (marasmo) (**Drabink, 2000**), los cuales conformaron el grupo de desnutridos graves de esta investigación.

En referencia al TNF, los resultados de la presente investigación mostraron en el grupo de desnutridos graves, un aumento significativo de éste ($p < 0,05$) en relación con el grupo de eutróficos. Estos resultados son similares a los de Giovambatista *et al.*, (2000), quienes obtuvieron niveles séricos elevados de TNF en los niños desnutridos, encontrando paradójicamente valores disminuidos de esta citocina en los estudios realizados *in vitro* en estos mismos pacientes. Trabajos llevados a cabo en niños desnutridos venezolanos, utilizando cultivos celulares sin estímulo, mostraron concentraciones elevadas de TNF (**Vethencourt *et al.*, 1994**). Por el contrario, Berberoglu, (2001) no encontró variación en las concentraciones de niños desnutridos en comparación con su grupo control.

El aumento significativo de los niveles séricos de IL-1 α y TNF- α en los niños con desnutrición grave de esta investigación puede explicarse por diferentes mecanismos no mutuamente excluyentes. Entre ellos se incluye la persistencia de agentes infecciones y sus productos por depresión de los mecanismos inmunitarios responsables de su eliminación, y a una traslocación

de bacterias y endotoxina a través de la mucosa intestinal (Malavé et al., 1993). Otra posible explicación podría estar basada en la acción de los oxidantes que incrementan la producción de estas citocinas en respuesta a un estímulo inflamatorio, activando el factor de transcripción nuclear o NF kappa B y la acción de la respuesta neuroendocrina al stress de la enfermedad (Grimble., 1994; Grimble., 1998).

En referencia a la IL-6, los mecanismos que regulan la producción de IL-1 α y TNF- α , no son compartidos por esta citocina. Sin embargo, es bien conocida la fuerte asociación entre estas tres proteínas inmunoreguladoras, y entre los factores que incrementan la expresión de IL-6 se encuentra la acción conjunta de IL-1 y TNF (Laugford, 1992). En el presente trabajo el aumento significativo de IL-6 ($p < 0,01$) en los desnutridos graves en comparación con el resto de los grupos, refuerza el concepto de la interacción de la IL-1 y el TNF sobre esta citocina. Estos hallazgos coinciden con los resultados de Vethencourt *et al.*, (1994) y Sauerwein *et al.*, (1997), pero contrastan con los reportados por Doherty *et al.*, (1994), quienes señalaron valores disminuidos de esta citocina en los niños con desnutrición severa.

V.1.2.- Determinación de Proteína C Reactiva.

Es bien conocida la alta frecuencia de procesos infecciosos que presenta el desnutrido, por lo que la respuesta de fase aguda ha sido estudiada por varios autores (Amesty *et al.*, 2004; Gabay *et al.*, 1999; Pepys, 1981). En las primeras investigaciones, Razban *et al.*, (1975) utilizando un método semicuantitativo para detectar PCR en niños nigerianos desnutridos,

encontraron que esta proteína estuvo presente en el 93% de los niños estudiados y sólo en el 16% de los niños controles. Sin embargo, los datos aportados en este estudio, especialmente los correspondientes al estado clínico y en particular a las infecciones, no se detallan.

Doherty *et al.*, (1993) utilizando un método inmunoenzimático para medir PCR en desnutridos graves con y sin infección, reportaron un incremento significativo de los valores de esta proteína solo en el 54% de los niños desnutridos infectados.

Estos resultados contrastan con los reportados por Morlese *et al.*, (1998) y por Ekanen *et al.*, (1997) al mostrar valores incrementados de PCR en los desnutridos graves infectados con diferencias significativas al compararlos con los desnutridos no infectados. Tales resultados son similares a los encontrados en la presente investigación donde se obtuvo una elevación significativa de PCR ($p < 0,001$) en el grupo de desnutridos infectados en comparación con el grupo de los no infectados y coinciden con un estudio realizado en desnutridos venezolanos (Campos *et al.*, 2001) al medir la respuesta de esta proteína en desnutridos no infectados e infectados.

Al comparar el incremento de la PCR en los desnutridos infectados con los eutróficos infectados, se encontró que estos últimos mostraron diferencias estadísticamente significativas en relación con el primer grupo, resultados que difieren con los reportados por Malavé *et al.*, (1998) y Campos *et al.*, (2001) en niños venezolanos; hecho que pudiera estar determinado en que no se señala en estas investigaciones el tipo de desnutrido grave estudiado (marasmático o

kwashiorkor); y en este sentido se ha demostrado que existen diferencias significativas en la producción de PCR dependiendo el tipo de desnutrición, siendo menor en los marasmáticos (tal como fueron los desnutridos graves de este estudio) con relación a los desnutridos con kwashiorkor (Reio *et al.*, 2002; Sauerwein *et al.*, 1997).

Por otra parte, la diferencia encontrada en la producción de PCR del desnutrido grave infectado en relación con el eutrófico infectado pudiera explicarse con base en: 1.- La respuesta inflamatoria que ocurre durante los procesos infecciosos conlleva a un gasto metabólico traducido en una movilización de aminoácidos del músculo esquelético al hígado para producir proteínas de fase aguda. 2.- Existe una disfunción de las células de Kuffer debido probablemente a una síntesis disminuida del factor estimulante de colonias, que provoca secundariamente una disminución significativa de la proliferación y diferenciación del hepatocito, tal como fue demostrado en ratas desnutridas (Lyouni *et al.*, 1998). Investigaciones llevadas a cabo por Golden *et al.*, (1997), reportan que en el desnutrido marasmático se reduce de manera apreciable la tasa de recambio proteico con la finalidad de conservar energía y aminoácidos, por lo cual la síntesis proteica se encuentra disminuida.

Otro aspecto importante, es el hecho de que la producción de PCR depende de manera directa de la síntesis de las citocinas proinflamatorias IL-1, IL-6 y TNF (Castell *et al.*, 1990; Moshage, 1997; Pullicino *et al.*, 1997) especialmente de la IL-6 (Castell *et al.*, 1988). Una disminución de la capacidad funcional de esta última citocina pudiera explicar la síntesis disminuida de PCR en el desnutrido

infectado en comparación con el eutrófico infectado. Malavé et al., (1998), reportan elevación de IL-6 de manera similar en desnutridos y eutróficos infectados; sin embargo, en un estudio realizado en nuestro medio en desnutridos marasmáticos (**Amesty et al., 2002**) se encontró que los desnutridos infectados elevaban sus valores iniciales de IL-6, pero en menor cuantía con diferencias estadísticamente significativas al compararlos con los eutróficos infectados, por lo que se podría asumir que este tipo de desnutrido presenta una síntesis reducida de PCR debido a una disminución de la capacidad funcional de la IL-6.

Por otra parte, un resultado de PCR tiene significancia cuando su valor es superior a 10 mg/l, no obstante, cuando se trata de procesos infecciosos su cuantificación permite distinguir un proceso bacteriano de un proceso viral, especialmente cuando se trata de meningitis, neumonía o sepsis (**Dowton et al., 1998; Sasaki et al., 2002; Sormunen et al., 1994**), situaciones clínicas donde las concentraciones son mayores de los 20 mg/L. Algunos investigadores coinciden que valores superiores a 60 mg/L son los que permiten diferenciar verdaderamente una infección bacteriana de una infección viral (**Virkki et al., 2002**).

En la presente investigación se encontró que el 100% de los eutróficos infectados tenían concentraciones de 60 mg/L o más, de los cuales el 90% tenían concentraciones superiores a 100 mg/L, mientras que en los desnutridos infectados solo el 70% mostró valores mayores a 60 mg/L, y de ellos solo 6 (30%) presentaron concentraciones muy elevadas (mayor de 100 mg/L). Es

importante señalar que solo 2 casos presentaron valores (12 mg/L y 15 mg/L) por debajo de 20 mg/L. Este ligero incremento sobre la concentración normal de PCR (10 mg/L) debe considerarse de valor en el desnutrido infectado marasmático, ya que su capacidad para sintetizar esta reactante de fase aguda se encuentra disminuida.

Con relación a las concentraciones de PCR en los grupos de desnutridos sin infección (leves, moderados y graves) es importante señalar que el valor promedio para los desnutridos graves mostró diferencias significativas con los otros grupos; sin embargo, las concentraciones de PCR estuvieron elevadas pero dentro del rango normal. Estos resultados pudieran explicarse por la presencia de infecciones subclínicas para el momento de la evaluación, no demostradas por los estudios complementarios realizados. Resulta importante destacar que en la literatura revisada, solo el trabajo reportado por Doherty et al., (1993) señala que los desnutridos moderados y graves presentan valores dentro de lo normal.

V.1.3.- Determinación del Componente C3.

En referencia al componente C3 del complemento, las determinaciones séricas de esta proteína en el desnutrido han sido de interés para algunos investigadores (Amesty et al., 1996; Doherty et al., 1993; Razban et al., 1975; Scrimshaw et al., 1997), encontrando valores disminuidos en el desnutrido con y sin infección probablemente debido al daño hepático producto de la malnutrición por déficit y al consumo elevado de C3 por la infección asociada.

Esta reducción del C3 en el desnutrido también se ha interpretado como que es debida a un consumo aumentado del complemento activado o a una disminución de su síntesis por el hepatocito (**Sawerwein et al., 1997**). Por otra parte, los cambios en las concentraciones de C3 en el desnutrido pueden deberse a cambios en el metabolismo proteico debido a que se correlacionan frecuentemente con parámetros bioquímicos como las proteínas séricas (**Sakamoto et al., 1998**).

Las investigaciones realizadas por Haller *et al.*, (1978), Sakamoto *et al.*, (1998) y Sánchez Álvarez, (1999) en niños desnutridos sin infección clínica manifiesta, reportan una disminución en la concentración sérica del complemento C3, resultados que coinciden con los realizados en nuestro medio por Amesty *et al.*, (2000) Campos *et al.*, (2003) y Vicente *et al.*, (1998).

Las concentraciones séricas del C3 en este estudio, disminuyeron de manera significativa en el grupo de desnutridos graves en comparación con el resto de los grupos (leves y moderados) y el grupo control. Estos resultados pueden ser el producto de diversas alteraciones que sufre el sistema inmunitario durante la malnutrición por déficit, manifestadas especialmente por una disminución significativa de las sub-poblaciones linfocitarias CD3 y CD4 así como también del componente C3 (**Amesty et al., 1996; Chandra et al., 1994; Katz et al., 1977**). Además, se debe resaltar que la misma incompetencia en el desnutrido favorece la presencia de procesos infecciosos que de manera reiterativa activan este sistema de amplificación de la respuesta inmunitaria,

favoreciendo la hipocomplementemia; hecho más evidente en la medida en que progresa el déficit nutricional (Chandra, 1971; Sánchez Álvarez 1999).

Al evaluar las concentraciones de C3 para los desnutridos leves y moderados, se observó también una diferencia significativa entre ambos grupos, y aunque era de esperarse una disminución de este componente en los desnutridos moderados, no obstante su concentración no difirió de la de los desnutridos leves, resultados que coinciden con los reportados por Rikimaru *et al.*, (1998).

En lo que respecta al grupo control, el valor promedio de su concentración presentó significancia estadística con el resto de los desnutridos, lo cual era de esperarse dado su condición de niños eutróficos. En la literatura consultada solo el trabajo reportado por González *et al.*, (2003), refiere concentraciones para C3 de $172,21 \pm 38,22$ mg/dl ($1,72 \pm 0,38$ g/L) para su grupo de niños controles al utilizar la técnica de inmunodifusión radial, concentraciones que coinciden con las encontradas en el presente estudio ($1,72 \pm 3,2$ g/L).

Resulta importante señalar que al igual que la PCR, las concentraciones séricas de C3 para todos los grupos estudiados se mantuvieron dentro del rango de referencia: $0,3 \pm 3,2$ g/L. De igual modo los niños con desnutrición severa presentaron el cuadro clínico tipo marasmo, no pudiendo ser comparados con niños con kwashiorkor ya que no se encontraron dentro de la población seleccionada, lo cual amerita un estudio posterior en

donde se comparen los niveles séricos de estas reactantes de fase aguda tanto en los marasmáticos como en los kwashiorkor.

V.2. Determinación de IL4 e IL10

La desnutrición infantil es un problema complejo que compromete básicamente todos los órganos y sistemas incluyendo el sistema inmunitario. Desde hace más de tres décadas se han estudiado los aspectos relacionados con la inmunidad humoral, celular y la inmunidad innata (Amati *et al.*, 2003, Bhaskaran., 2002; Chandra., 1994; Chandra., 2002; Keusch., 2003) y más recientemente las proteínas que intervienen en la respuesta inmunitaria y que son conocidas como citocinas, tales como la IL-1, la IL-2, la IL-4, TNF, la IL-6 , la IL-10, entre otras (Amesty *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2005).

De las citocinas anteriormente mencionadas, ha sido demostrado que algunas de ellas como la IL-1, la IL-6 y el TNF sufren cambios en su concentración en el niño con desnutrición (24); de la IL-2 se han descrito algunos resultados (24) y sin embargo, poco se conoce sobre el comportamiento de la IL-4 y la IL-10 en el niño desnutrido.

En la presente investigación donde se estudiaron las concentraciones séricas de la IL-4 e IL-10 en niños con distintos grados de déficit nutricional (leve, moderado y grave) sin infección activa ni otra enfermedad inflamatoria concurrente, se produce una elevación de los niveles séricos de ambas citocinas que alcanzan significancia estadística en los desnutridos graves y para la IL-10 en los desnutridos moderados. Esto manifiesta que en la desnutrición se produce una alteración funcional del sistema inmunitario con

incremento de estas citocinas reguladoras secretadas preferentemente por linfocitos T cooperadores del patrón Th2, lo cual puede conllevar a un efecto inmunosupresor de la respuesta efectora linfocitaria T citotóxica, facilitando el desarrollo de infecciones intracelulares.

La IL-4 es una citocina que regula la producción de la inmunoglobulina E (IgE), que se encuentra asociada con los procesos alérgicos y como mecanismo de inmunidad contra los parásitos helmintos (Cooper *et al.*, 2000; Geiger *et al.*, 2002; Hagel *et al.*, 1993). Algunas investigaciones (Hagel *et al.*, 1993; Hagel *et al.*, 1995) han estudiado la respuesta de IL-4 e IgE contra el áscaris lumbricoides en el niño desnutrido. Hagel *et al.*, (1993), reportaron en un grupo de desnutridos venezolanos parasitados, viviendo en condiciones de pobreza, que tanto la IL-4 como la IgE se encontraban elevadas, resultados que según los autores sugiere una estimulación policlonal para la síntesis de IgE. Posteriormente estos mismos autores (Hagel *et al.*, 2003), en un interesante trabajo realizado en niños parasitados con iguales condiciones socioeconómicas, encontraron valores elevados de IgE que contrastaron con un bajo nivel de este anticuerpo específico para *Áscaris lumbricoides* y para otros alérgenos, pero el hallazgo más relevante fue que después del tratamiento antihelmíntico, los valores de IgE antiáscaris en el grupo de desnutridos no sufrió ninguna modificación a diferencia del grupo de niños controles que si lo hicieron, hecho que incrementa la susceptibilidad del desnutrido a la infestación por estos parásitos.

En nuevas investigaciones Hagel *et al.*, (2003) reporta que estos hallazgos son el resultado de una respuesta defectuosa de la célula T en el desnutrido como consecuencia de un desbalance en las subpoblaciones de linfocitos T en y la respuesta de las células T de memoria, debido a una maduración defectuosa de estas células y en consecuencia una respuesta disminuida en la producción de IgE contra el parásito. El estudio de Rodríguez *et al.*, (2005), señala las diversas anormalidades de la respuesta inmunitaria con incremento de IL-4 en las subpoblaciones linfocitarias de niños desnutridos.

Los resultados de la investigación anterior soportan los hallazgos de este estudio en lo que respecta a la IL-4, al encontrar un incremento estadísticamente significativo de esta citocina en los desnutridos con relación al grupo control, incremento que resulta estar en relación directa con el grado de déficit nutricional.

Los pacientes de esta investigación no presentaban manifestaciones clínicas, ni analíticas, sugestivas de infección parasitaria. Por lo tanto, se sugiere que la desnutrición se acompaña de una severa alteración funcional del sistema inmunitario que condiciona este aumento progresivo de los niveles de IL-4 independientemente de la existencia de parasitaciones o cuadros de atopía/alergia.

La IL-10, media importantes efectos inmunoreguladores. Rodríguez *et al.*, (2005) han reportado un incremento en las concentraciones intracelulares de IL-4 e IL-10. Con relación a esto, las citocinas tipo Th2 (IL-4 e IL-10) son

ampliamente conocidas como factores de supresión para la respuesta tipo Th1 (Sher *et al.*, 1992). Además, inhibe la síntesis de varias citocinas derivadas de células Th1 incluyendo IL-2, IFN- γ y TNF- α (Benjamín *et al.*, 1992) y citocinas derivadas de monocitos (IL-12) (D'Andrea *et al.*, 1993). También, se considera que IL-10 es la causa principal de la inefectiva respuesta inmunológica contra patógenos (Moore *et al.*, 2001).

Niveles elevados de IL-10 inhiben la producción de IL-12 en células de la respuesta inmunológica innata y se considera que éstas son estrategias utilizadas por algunos patógenos para reprimir el mecanismo de defensa inmunológico por parte del organismo (McGuirk *et al.*, 2002). Aunado a esto, la IL-10 tiene efectos directos en las células T CD4+ suprimiendo la secreción de IL-12, IFN- γ y TNF- α , así como de otras citocinas (de Waal Malefyt *et al.*, 1992), por lo que el incremento de IL-10 podría estar asociado con una disminución en la síntesis de IFN e IL-2, tal como fue observado por Rodríguez *et al.*, (2005).

En la presente investigación se encontró que los desnutridos moderados y graves mostraron incremento de los valores séricos de IL-10 con diferencias significativas en relación con los desnutridos leves así como con los niños eutróficos que sirvieron de grupo control. Resultados similares a estos han sido reportados por Sánchez-Aranda (2007), al observar un aumento de las concentraciones plasmáticas de esta citocina en niños con desnutrición de segundo y tercer grado en comparación con los desnutridos de primer grado y con los niños eutróficos infectados y sin infecciones asociadas.

Estudios in vitro han demostrado que la IL-10 inhibe la activación y proliferación de células T de sangre periférica humana (Yssel *et al.*, 1992), así como también inhibe la expresión de moléculas coestimuladoras importantes para la activación de células T (Willems *et al.*, 1994). Del mismo modo, en otro estudio se demostró que la proliferación de células T inducida por mitógenos, fue suprimida más del 50% al administrar IL-10 a voluntarios humanos (Chernoff *et al.*, 1995).

En trabajos experimentales realizados en ratones han mostrado un incremento de IL-10 en animales con déficit de vitamina A (Stephensen *et al.*, 2004). Es conocido que el desnutrido tiene déficit de vitamina A y de otros micronutrientes como el cinc (Zn), sin embargo los resultados reportados por algunos investigadores en relación con esta vitamina e IL-10 son divergentes (Amaya-Castellanos *et al.*, 2002; Kilic *et al.*, 2005; Leal *et al.*, 2004). Con respecto al Zn no se han encontrado variaciones de esta citocina en individuos deficientes de este nutriente (Beck *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2000).

Los hallazgos de la presente investigación resultan interesantes no solo en lo que respecta a la IL-4 sino en lo relacionado con la IL-10, surgiendo la interrogante del por qué esta citocina se eleva con diferencias significativas en desnutridos moderados y graves. Es probable que exista en el desnutrido un descontrol en algunos de los factores reguladores de la respuesta inmune, entre ellos los linfocitos TCD4⁺ CD25⁺ conocidos como linfocitos reguladores (Tr), los cuales tienen un perfil peculiar de producción de citocinas especialmente elevada de IL-10, pero no de IL-4 ni de IL-2, por lo que podría

asumirse que el desnutrido, presenta un incremento en la subpoblación de linfocitos reguladores (**Boris et al 1998; Marcos et al., 2003; Papiernick, 2001; Shevach, 2001**).

Por otra parte, el aumento en las concentraciones séricas de esta citocina, podría estar relacionado con una deficiente capacidad de activación y proliferación de las células fagocíticas y citotóxicas observadas en este grupo de pacientes (**Willems et al., 1994, Yssel et al., 1992**), lo cual no hace posible en el desnutrido el desarrollo de una adecuada respuesta a la infección. En relación a este último aspecto, la gran mayoría de bacterias gran positivas y gram negativas inducen directamente la producción de IL-10 por los monocitos, macrófagos y células dendríticas. El papel biológico esencial de la IL-10 parece ser el de regulador homeostático del sistema inmunitario, por lo que la infección y colonización crónica o continuada por diversos microorganismos conducen a una mayor producción de IL-10, hecho que sugiere que otra razón para el incremento de IL-10 en el desnutrido puedan ser las infecciones repetidas que se observan frecuentemente en ellos, especialmente en el desnutrido grave (**Raqib et al.,1995**).

Los resultados del presente estudio refuerzan lo reportado por otros investigadores (**Hagel et al., 1993; Hagel et al.,1995; Rodríguez et al., 2005**), al encontrar elevaciones significativas de la IL-4 e IL-10 en el niño desnutrido, elevaciones que guardan relación con el grado de déficit nutricional y cuyo significado para la IL-10 debe ser dilucidado al no poderse suprimir una respuesta inflamatoria por su elevación sostenida.

V.3. Determinación de Cinc (Zn)

El Zn presenta variaciones importantes en el ser humano dependiendo de una diversidad de factores tales como fisiológicos, genéticos, clínicos y nutricionales (Agget *et al.*, 1995; Hambridge, 2000; Wapnir, 2000). Los factores dietéticos parecen jugar el papel más importante y es indudable que ellos se encuentran estrechamente asociados con el déficit de ingesta de proteínas tal como ocurre en el niño con DPE (Chuwa *et al.*, 1996; Panday *et al.*, 1983).

En la presente investigación se encontraron valores muy bajos de Zn en los desnutridos graves marasmáticos, los cuales difirieron significativamente ($p < 0,0001$) con el grupo control. Al comparar estos resultados con las investigaciones realizadas en desnutridos graves de diferentes países en desarrollo, se encontraron variaciones en las concentraciones de este micronutriente. Así, Zain *et al.*, (1978), no reportaron cambios en las concentraciones de Zn en niños paquistaníes con desnutrición severa o grave tipo marasmático, pero sí en los niños con kwashiorkor, resultados que son similares a los de Fisberg *et al.*, (1984).

Por el contrario, Golden *et al.*, (1979) reportaron en niños jamaquinos con marasmos, una disminución significativa de las concentraciones de Zn, lo cual concuerda con los resultados de la presenta investigación y con los de Tanzer *et al.*, (1988) en niños de Turquía, con los de Singla *et al.*, (1996) en niños de la India y con los de Khaldi *et al.*, (1995) en niños tunecinos.

En lo que respecta a las concentraciones de Zn en los desnutridos leves y moderados, se observó en el presente trabajo una disminución significativa

de los valores de este oligoelemento guardando relación con el déficit nutricional, y diferencias significativas ($p < 0,001$) con el grupo control. Debe señalarse que son escasos los ensayos realizados sobre el Zn en niños con estos grados de desnutrición. Panday *et al.*, (1983) en una investigación hecha en niños de Bombay, reportaron valores disminuidos de este micronutriente para estos grupos, coincidiendo con los encontrados por Singla *et al.*, (1996), que concuerdan con los del presente estudio.

Los resultados de esta investigación en los desnutridos leves y moderados se tornan interesantes por el hecho de que la población estudiada, incluyendo los controles, correspondía a niños del mismo estrato socioeconómico (IV y V, según escala de Graffar), que asistía a los hogares de cuidado diario (con excepción de los desnutridos graves) y recibían en estos centros de atención la alimentación en el desayuno, almuerzo y cena durante 5 días a la semana, por lo que el aporte nutricional de este micronutriente en los alimentos consumidos no debía ser diferente; sin embargo, los resultados relacionados con la ingesta, mostraron que la misma varió aunque no de manera significativa con el grupo control. Por otra parte, los valores séricos del metal tuvieron un comportamiento distinto, ya hubo diferencias significativas entre el grupo control con los desnutridos leves y moderados.

Varios pueden ser los factores que puedan explicar estos resultados. Se ha establecido que el consumo diario de Zn para la población venezolana y en particular para el grupo etario seleccionado, está entre 8 y 10 mg (MSDS, 2000), no obstante, la ingesta de este micronutriente se encontró en todos los grupos

estudiados por debajo del valor recomendado, hecho que pudiera estar dado (de acuerdo al interrogatorio realizado a las madres), por un déficit en la ingesta de nutrimentos ricos en Zn, con un elevado consumo de fibras y fitatos durante las cenas y fines de semana, lo cual fue especialmente notable en los desnutridos leves y moderados. Este patrón alimentario que conduce a una escasa biodisponibilidad del Zn, aunado a la disminución de los mecanismos compensatorios en el desnutrido, probablemente sean los elementos condicionantes para que las concentraciones del mismo se vieran modificadas de manera directa con el grado de desnutrición y explicaría la correlación positiva entre la ingesta y la concentración de Zn.

En lo que respecta a los desnutridos graves quienes presentaron valores muy bajos del metal, los factores mencionados anteriormente se acentuaron, ya que además de una alimentación carente en proteínas y calorías y rica en cereales, se sumaron a los antecedentes de cuadros diarreicos en forma frecuente (90% aproximadamente), situación que contribuyó a que en ellos los valores fueron tan bajos. Este aspecto de la asociación de deficiencia de Zn y diarrea en el desnutrido, ha sido demostrado en otras investigaciones (**Bahijri, 2001; Wapnir, 2000; Scott et al., 2000**).

Cabe destacar que la deficiencia de Zn se ha demostrado no solo en el niño desnutrido sino también en niños eutróficos (**Solano et al., 1998**) encontrándose un amplio rango de valores en las diferentes regiones del mundo. Esta variación de resultados pudiera ser atribuida a diversos factores, entre ellos el manejo inadecuado de la muestra con contaminación del metal

del medio ambiente, metodología inapropiada o a variaciones interindividuales (Cornelis *et al.*, 1980). Esto último pudiera ser el reflejo de que los elementos trazas están modificados por los hábitos alimentarios, lo que condiciona la diferencia de concentraciones no solo de acuerdo al área geográfica, sino aún dentro de una misma región o país.

El estudio realizado por Amaya *et al.*, (1997), en una población infantil marginal de la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, mostró que el 41% de los niños con algún grado de desnutrición, sin categorización del estado nutricional, tenía valores bajos de Zn ($57.29 \pm 10,6 \mu\text{g/dL}$) y el 33.89% de la población mostró también valores disminuidos ($67.7 \pm 11,4 \mu\text{g/dL}$). En el presente estudio el grupo control presentó valores de $76.71 \pm 33.29 \mu\text{g/dL}$, los cuales resultaron superiores a los del investigador ya citado, pero inferiores a los valores reportados por Estévez *et al.*, (1988), en una población infantil marginal de la misma ciudad ($80\text{-}120 \mu\text{g/dL}$).

Burguera *et al.*, (1988) en una población de niños eutróficos de los Andes Venezolanos, encontraron que en el grupo etario por debajo de los 6 años, los valores promedio de Zn fueron de $93.1 \pm 18.9 \mu\text{g/dL}$, los cuales resultaron más elevados que los reportados en nuestra región. Estudios realizados en otras áreas geográficas como en Denver (en los Estados Unidos de América) por Hambridge *et al.*, (1984) en niños de bajas condiciones socioeconómicas, mostraron concentraciones de $74.5 \mu\text{g/dL}$, valores similares a los encontrados en la presente investigación; mientras que Donangelo *et al.*, (1984) en Brasil reportaron valores más elevados ($98.3\mu\text{g/dL}$).

Estos resultados permiten recomendar la administración de Zn o de alimentos fortificados con este micronutriente como medida terapéutica o suplementaria, no solo en el niño desnutrido cualquiera sea su grado de desnutrición sino también en el niño eutrófico procedentes de familias de niveles socioeconómico muy bajos, beneficio que ha sido demostrado por diferentes investigadores en diversas regiones del mundo (**Bhutta et al., 1999, Castillo-Durán et al., 2001, Elisabeth et al., 2000; Grandio et al., 1998; Hemalatha et al., 1993; Versieck et al., 1980**).

Es indudable el creciente interés sobre el Zn en el humano y específicamente en la desnutrición infantil, donde la carencia de este mineral aunado al déficit de proteínas, ejercen un efecto mancomunado sobre la integridad de las funciones del sistema inmunitario y otros sistemas. Algunos de estos efectos ya han sido bien demostrados (**Fraker et al., 2000; Bhaskaran, 2001; Fraker, 2005, Fraker et al., 2004**). Los resultados del presente trabajo alertan sobre la necesidad de realizar estudios sobre las concentraciones séricas de Zn en niños con niveles socioeconómicos más elevados (estratos I,II y III de Graffar), a fin de determinar cómo se encuentran las concentraciones de este micronutriente en estos grupos poblacionales. De igual modo, estos resultados pueden servir de base para que las instituciones de salud correspondientes, implementen programas para la administración de Zn a los niños que se encuentran categorizados en los estratos IV y V de Graffar y que asistan a las consultas especializadas de nutrición infantil y a los hogares de cuidado diario.

V.4.- Respuesta Inflamatoria en el Niño Desnutrido Grave antes y después de la Recuperación Nutricional.

La desnutrición es un síndrome complejo en el que se producen múltiples deficiencias de nutrientes afectando claramente al sistema inmunitario. Los estudios en modelos animales provocando deficiencias individuales de un solo nutriente, han sido necesarios para obtener un mejor conocimiento de las consecuencias que el déficit de cada uno puede ocasionar sobre la respuesta inmunitaria. De este modo, se ha confirmado el papel que las proteínas, lípidos, vitaminas y minerales ejercen en el mantenimiento de la inmunocompetencia (Chandra, 2002). En el niño con DPE grave la recuperación nutricional tiene una influencia decisiva en su proceso pro-inflamatorio de respuesta inmunitaria independientemente de reconocer cuál o cuáles son los nutrientes que más influyen en su mejoría (Vásquez-Garibay *et al.*, 2008) .

V.4.1.- Determinación de IL-12, IL-17, IFN- γ y TNF- α .

La IL-12 es producida mayoritariamente por monocitos/macrófagos, aunque su producción también puede ser inducida en células dendríticas y linfocitos B. Esta citocina incrementa la producción de IFN- γ por linfocitos T y células NK, y activa linfocitos T citotóxicos (Hunter, 2005).

En esta investigación se observó un incremento de las concentraciones séricas de IL-12 en los desnutridos graves antes de la intervención nutricional con respecto al grupo control. Este hallazgo podría explicar que aunque en la desnutrición se observa una actividad reducida de monocitos/macrófagos y polimorfonucleares (Chandra, 1992), y existe una modificación importante en la

función de estas células debido al déficit de micronutrientes, lo cual altera sus funciones en la respuesta innata y en los procesos inflamatorios e infecciosos (**Erickson et al., 2000**), el desnutrido conserva la capacidad de producir esta citocina a partir de las células que la sintetizan.

Por otra parte, es sabido que los niños con desnutrición severa o grave están sometidos a la estimulación de múltiples antígenos, lo que conlleva a que se active la secreción de otras citocinas y en consecuencia se propicie la expansión clonal y la diferenciación celular con acción efectora de las células CD4+ sobre macrófagos (**Vásquez-Garibay et al., 2008**), hecho que pudiese sustentar el aumento observado en las concentraciones séricas de IL-12 antes del tratamiento nutricional. Estos resultados concuerdan a los reportados por **Velásquez et al., (2010)** en niños colombianos desnutridos sometidos a recuperación nutricional y en donde se determinaron algunas citocinas proinflamatorias, entre ellas la IL-12, obteniéndose un incremento en los niveles séricos de esta citocina antes de la intervención nutricional con disminución de los mismos posterior al tratamiento (**Velásquez et al., 2010**). En otro estudio llevado a cabo por el mismo investigador sobre la respuesta inflamatoria en niños con desnutrición grave y anemia, se determinó un grupo de citocinas incluyendo la IL-12, observándose un aumento en la concentración de esta citocina, siendo mayor en los niños con kwashiorkor que en los niños marasmáticos (**Velásquez et al., 2008**).

Al término de la recuperación nutricional, se encontró una disminución de las concentraciones séricas de IL-12, lo que probablemente indique un

restablecimiento de la función inmunitaria en el niño desnutrido grave, ya que una síntesis elevada de esta citocina puede resultar en una activación excesiva del sistema inmune lo que causa daño en el tejido del huésped y hasta la muerte, tal como ocurre en las enfermedades autoinmunes durante el curso de infecciones microbianas y/o *shock* séptico (**Borin et al., 1995; Sánchez de la Rosa et al., 2001**).

Otra citocina analizada en este estudio fue el IFN- γ ; glucoproteína de 21 a 24 kDa, producido por las células Th1 y TCD8+ activadas y por las células asesinas naturales. El IFN- γ es un potente activador de los fagocitos mononucleares, favorece la diferenciación de las células TCD4+ vírgenes en la subpoblación de células Th1 e inhibe la proliferación de las células Th2 (**Abbas, 2009; Janeway et al., 1999; Oppenheim, 2000**).

Rodríguez *et al.*, (2005) evaluó en células mononucleares de sangre periférica de niños con desnutrición severa o grave, la producción de citocinas tipo Th1 y tipo Th2, reportando una disminución significativa de las concentraciones de IL-2 e IFN- γ con aumento de las concentraciones de IL-4 e IL-10, concluyendo que el deterioro de la respuesta inmunitaria observada en el desnutrido es debido a alteraciones en el patrón de citocinas, lo cual reduce la defensa inmune en este tipo de pacientes al hacerse más susceptible a las infecciones. En otra investigación (**Haque et al., 20000**) donde se correlacionó el efecto de los micronutrientes sobre la producción de IFN- γ en células mononucleares de sangre periférica de niños desnutridos y con susceptibilidad a la amibiasis, se observó que la producción de esta citocina se encuentra

asociada al estado nutricional, ya que el déficit de Zn se relacionó con un incremento en los niveles de IFN- γ , TNF- α e IL-12. Estos hallazgos contrastan con los estudios de Prasad (2000) en un modelo experimental humano donde la deficiencia de Zn causó un desequilibrio entre las funciones Th1 y Th2, debido a que la producción de IFN- γ (producto de Th1) se encontró disminuída.

Las concentraciones séricas de IFN- γ en los niños desnutridos graves de esta investigación, se encontraron aumentadas antes de iniciar el tratamiento. Una posible explicación de estos resultados pudiera estar basado en el eje IL-12/IFN- γ (Anibarroa *et al.*, 2011; Puddu *et al.*, 1997), en donde la IL-12 secretada por macrófagos induce en las células T y células NK la síntesis de IFN- γ , además de dirigir la diferenciación de los linfocitos Th hacia células efectoras tipo Th1productoras de IL-2 e IFN- γ , el cual produce a su vez una mayor activación de macrófagos. Es importante resaltar que las concentraciones séricas de IFN- γ e IL-12 determinadas en el presente trabajo, arrojaron una correlación positiva estadísticamente significativa, hecho que podría estar fundamentado en que la producción de IFN- γ permite la activación de proteínas citosólicas y factores de transcripción que inducen la síntesis de más IFN- γ y en consecuencia IL-12; así como la expresión del receptor de la IL-12 (IL-12R) como respuesta a esta misma citocina (Dardalhon *et al.*, 2008).

Otra explicación del aumento de esta citocina en el niño desnutrido grave antes de la intervención nutricional pudiera sustentarse en los trabajos de Cantorna *et al.*, (1994; 1995) y de Leal *et al.*, (2004), quienes señalan que los casos de deficiencia de vitamina A se han caracterizado por síntesis elevada

de citocinas tipo Th1 (IFN- γ e IL-2) e insuficiente secreción del fenotipo de células Th2 (IL-4, IL-5 e IL-10).

En un estudio realizado por Palacio *et al.*, (2002) en Chile, se midieron los niveles circulantes de leptina, células proinflamatorias y células T ayudadoras tipo 1 (Th1), producción de citocinas Th2 y la respuesta linfoproliferativa en 15 niños desnutridos antes y después de la recuperación nutricional. Una vez finalizada la recuperación, se observó un aumento significativo en el nivel de leptinas séricas junto con un incremento en la actividad Th1 revelado por una producción elevada de IFN- γ y una supresión de la producción de L-4. Los resultados de la presente investigación son contrarios a los antes mencionados, ya que las concentraciones séricas de IFN- γ posterior al tratamiento disminuyeron sin diferencias significativas con el grupo control, manteniendo el mismo comportamiento que las concentraciones de IL-12.

La clasificación de las células T CD4+ colaboradoras ha sido revisada actualmente debido a la identificación de la familia de la IL-17 y sus funciones efectoras. Las células reguladoras TH 17 productoras de IL-17 desempeñan un papel fundamental en la respuesta contra bacterias de crecimiento extracelular y hongos. Asimismo, se ha descrito para ellas un efecto pro-inflamatorio que le permite hacer de puente entre la inmunidad innata y la inmunidad adquirida (Betteli E. *et al.*, 2007; Matsuzaki G. *et al.*, 2007). Las células Th-17 y su citocina la IL-17 han sido señaladas como potentes inductoras de la inflamación asociadas a varias enfermedades autoinmunes experimentales y condiciones inflamatorias como encefalitis autoinmune experimental (EAE), esclerosis

múltiple (EM), artritis reumatoide (AR), psoriasis, enfermedad de Chron y artritis inflamatorias (Korn et al., 2007; Korn et al., 2009; Singh et al., 2007; Wendling et al., 2009), no obstante su participación en los procesos inflamatorios e infecciosos que ocurren con frecuencia en el paciente desnutrido, no ha sido evaluada hasta el momento.

Para la síntesis de IL-17 ha sido reportada la participación de otras citocinas tales como el Factor Transformante de Crecimiento- β (TGF- β), la IL-6 y la IL-23, las cuales inducen la proliferación de células Th17. Estas a su vez secretan IL-17 que promueve el reclutamiento de leucocitos polimorfonucleares y la producción de GM-CSF, IL-1 α , IL-6 y TNF- α por las células vecinas, lo que provoca un medio ambiente proinflamatorio (Girard et al., 2011; Tapia, 2011).

Los valores aumentados de las concentraciones séricas de IL-17 en los niños desnutridos graves de esta investigación (antes de recibir el tratamiento nutricional) pudieran sustentarse en el hecho de que la producción de IL-6 en este grupo de pacientes se encuentra preservada tal como lo han reportado diversos autores (Amesty et al., 2003; Dinarello, 1987; Vethencourt et al., 1994; Sauerwein et al., 1997), y en un estudio en particular realizado en nuestro medio, se observó el aumento de esta citocina en relación con la severidad del déficit nutricional (Amesty et al., 2003). De allí que un incremento de la IL-6 en el desnutrido grave podría favorecer la síntesis de la IL-17 en este grupo de pacientes al inducir en las células Th17 su producción.

Otro posible mecanismo para explicar el aumento de esta citocina, estaría basado en la acción de IL-17 sobre las células Treg. Como bien se ha descrito, la IL-17 promueve la producción de citocinas proinflamatorias en particular la IL-1, la IL-6 y el TNF- α , que pueden subvertir la función de las células Treg. En procesos proinflamatorios, se inicia la diferenciación de células Th17 que secretan IL-17 y se inhibe la función supresora de las células Treg. Más aún, en un ambiente inflamatorio, las células Treg se pueden diferenciar en células Th17 y secretar IL-17 (Girard *et al.*, 2011).

Las concentraciones séricas de la IL-17 posterior a la recuperación nutricional, mostraron una disminución sin significancia estadística cuando se compararon con los controles eutróficos, pero si con ellos mismos antes del tratamiento ($p < 0,0001$). No existe información sobre el papel que desempeña esta citocina proinflamatoria en la desnutrición y muy específicamente en el desnutrido sometido a recuperación nutricional, por lo que hacen falta más investigaciones que ayuden a dilucidar la función que ejerce la IL-17 sobre la inmunocompetencia del niño desnutrido.

Un aumento significativo de las concentraciones séricas del TNF- α en los niños desnutridos graves antes del inicio del tratamiento también fue observado. Estos resultados son consistentes con los de Amesty *et al.*, (2003), Azevedo *et al.*, (2005), Dülger *et al.*, (2002) y Giovambatista *et al.*, (2000), quienes reportan aumento de esta citocina en los niños con desnutrición proteico-energética cuando se compara con sus controles, aunque la magnitud de esta respuesta sea pobre (Azevedo *et al.*, 2005). Trabajos llevados a cabo en

niños desnutridos venezolanos, utilizando cultivos celulares sin estímulo, mostraron concentraciones elevadas de esta citocina (**Vethencourt et al., 1994**). Por el contrario, Berberoglu, (2001) no encontró variación en las concentraciones de TNF en niños desnutridos en comparación con su grupo control.

La significancia estadística de las concentraciones de TNF- α antes de iniciar el programa de recuperación con respecto al control, podría ser explicado por la persistencia de productos bacterianos, por una sobrecarga bacteriana intestinal y por una probable depresión de las actividad supresora (**Malavé et al., 2003**). Posterior a la terapia nutricional, se observó un descenso significativo de los valores de esta citocina ($p < 0,0001$). Estos resultados son contrarios a los reportados por Velásquez *et al.*, (2010), quien midió la respuesta inflamatoria en niños colombianos con desnutrición proteico-energética antes y después del tratamiento nutricional, encontrando que para el TNF- α no hubo diferencias significativas ni antes ni después del tratamiento; probablemente debido a que el tiempo de intervención nutricional utilizado por el investigador fue menor al empleado en este estudio.

El desnutrido se enfrenta constantemente al conjunto de factores interactivos que establecen el círculo reiterativo desnutrición-infección, que da lugar a los procesos inflamatorios e infecciosos observados en estos pacientes (**Pelletier et al., 1995**). Además, es bien conocido el deterioro de la respuesta inmunitaria en la desnutrición en donde también se modifica la respuesta inflamatoria, en parte, por las alteraciones en la producción y actividad de los

mediadores inflamatorios que incluyen citocinas y proteínas de fase aguda. Los hallazgos publicados en la producción de citocinas *in vitro* por las células mononucleares de sangre periférica de los niños con DPE son limitados y por lo general muestran una disminución en la capacidad de estas células para producir IL -1, IL-6, IL -8 y TNF- α , que median o modulan la respuesta de fase aguda (Abo-Shousha *et al.*, 2005; Giovvambattista *et al.*, 2000). Otros estudios han demostrado que los niños con desnutrición severa ha disminuido la capacidad de producir citocinas Th1 como la IL-2 e IFN- γ , por el contrario, presentan la capacidad aumentada para producir citocinas Th2 como la IL-4 e IL-5, lo que indica que la DPE podría disminuir la relación Th1/Th2 (Rodríguez *et al.*, 2005).

Los niños desnutridos de este estudio no presentaron procesos infecciosos al momento de su inclusión, por lo que cabría la posibilidad de preguntarse si tendrían procesos inflamatorios no detectables al momento de realizar el examen clínico y las pruebas de laboratorios, lo cual también justificaría el aumento en las concentraciones de las citocinas investigadas antes del tratamiento, con disminución de sus concentraciones al finalizar el mismo. Por otra parte, la desnutrición *per se*, pareciera inducir en el desnutrido una situación de estrés que provoca un insulto inflamatorio y en donde la capacidad para sintetizar estos mediadores solubles se encuentra preservada, probablemente debido a una ruptura de proteínas corporales tal como lo señala Jahoor *et al.*, (2008) en niños con desnutrición severa tipo marasmo, similar a los desnutridos de esta investigación. Posterior a la terapia nutricional, las concentraciones de la IL-12, IL-17, IFN- γ y TNF- α , mostraron una disminución de sus valores sin significancia estadística en comparación con los controles

eutróficos, lo que indica que las proteínas comienzan a recuperarse y la injuria inflamatoria, posiblemente, comienza a ser resuelta.

V.5. Determinación de Óxido Nítrico y Malonaldehído

En la DPE existen deficiencias nutricionales que conllevan a los defectos metabólicos e inmunitarios que se observan en este grupo de pacientes. El estrés oxidativo se presenta en diversos estados patológicos en los cuales se altera la funcionalidad celular, contribuyendo o retroalimentando el desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas, cáncer, entre otras (Avello *et al.*, 2006; Gutteredge *et al.*, 1999). Sin embargo, los aspectos relacionados con la lesión oxidativa y el papel de los antioxidantes en la desnutrición han sido poco estudiados. Tatli *et al.*, (2000), han reportado en niños marasmáticos disminución importante de la glutatión peroxidasa. De manera similar Ashour *et al.*, (1999), señalaron disminución de vitaminas antioxidantes y aumento de radicales libres en niños con DPE.

Estudios sobre la capacidad de los individuos desnutridos para producir óxido nítrico (NO) no son consistentes. Así una investigación realizada por Álvarez *et al.*, (1999) en niños con desnutrición, mostró valores séricos de NO disminuidos en comparación con el grupo control. En contraste, los resultados encontrados por Fechner *et al.*, (2001), en niños con desnutrición severa (kwashiorkor), señalan un aumento del NO luego de un periodo de medición de 20 días en relación con su control de niños eutróficos. Estos hallazgos coinciden con los de la presente investigación en donde se observó un

aumento significativo de las concentraciones séricas de NO en los desnutridos graves antes de iniciar la intervención nutricional. Al comparar estas concentraciones con las obtenidas una vez finalizado el tratamiento, se evidenció que las mismas disminuyeron. Similares resultados reporta Canal-Molano *et al.*, (2010) en un estudio realizado en nuestro medio en niños desnutridos graves bajo terapia de recuperación nutricional, en el cual se obtuvo un incremento del NO antes de iniciar el tratamiento, con un descenso de sus concentraciones posterior a la recuperación.

Este hecho puede deberse al suministro de vitaminas y micronutrientes incorporados en la terapia de recuperación nutricional, lo cual probablemente favorezca el balance oxidación – antioxidación al inducir la síntesis y /o el funcionamiento adecuado de enzimas y compuestos esenciales para neutralizar los agentes oxidantes (41). En este sentido, diversas investigaciones (Bao *et al.*, 2008; Canal-Molano *et al.*, 2010; Hernández *et al.*, 2009., Prasad, 2009) coinciden en que el suministro de antioxidantes exógenos o no enzimáticos tales como el ácido ascórbico (vitamina C), β -caroteno o provitamina A, vitamina E (α -tocoferol), micronutrientes (Zn) y proteínas transportadoras de metales como la cupreína y ferritina, anulan la reactividad y/o inhiben la generación de radicales libres.

En relación al MDA, este presentó un aumento significativo de su valores séricos al inicio del programa de recuperación nutricional en comparación con el grupo control de niños eutróficos. Al analizar las concentraciones posterior al tratamiento, se observó un descenso de las mismas en comparación con las

obtenidas antes del soporte nutricional. Al igual que para el NO, la recuperación nutricional parece incidir en la disminución de las concentraciones séricas de MDA, debido probablemente al aporte de fórmulas nutricionales suplementadas además de proteínas y energías, con vitaminas (A, C, E) y minerales, los cuales al comportarse como antioxidantes pueden formar complejos estables que impidan la acción catabólica de los radicales libres en la membrana celular y actuar como potentes protectores de células y lipoproteínas previniendo la peroxidación lipídica y la formación de MDA (Avello *et al.*, 2006; Canal-Molano *et al.*, 2010; Halliwell, 1990).

Si bien el MDA y NO están siendo utilizados cada vez con mayor frecuencia como marcadores biológicos confiables del estrés oxidativo, estos no han sido suficientemente estudiados en el niño desnutrido, lo que amerita seguir realizando investigaciones más exhaustivas en este grupo de pacientes. El comportamiento biológico observado en los niños desnutridos tratados indica que realmente en estos pacientes se produce un estado de estrés oxidativo que puede estar condicionado por las alteraciones metabólicas propias de la desnutrición, así como por el estado de alteración de la regulación del sistema inmunitario/proinflamatorio asociado. La normalización de estos parámetros con la reposición nutricional ponen de manifiesto la relevancia patogénica de la desnutrición en su inducción así como en la reversibilidad del proceso por acción directa de los nutrientes y/o por la recuperación funcional del sistema inmunitario.



VI.-CONCLUSIONES

De este estudio prospectivo en niños desnutrición se concluye que:

1.- Conservan la capacidad para sintetizar citocinas proinflamatorias tales como IL-1 α , IL-6 y TNF- α , en particular estas dos últimas.

2.- Las concentraciones séricas de IL-4 e IL-10 se relacionan de manera directa con el grado de déficit nutricional.

3.- Los no infectados (leves, moderados y graves) conservan la capacidad de síntesis para PCR.

4.- Los infectados muestran niveles de PCR superiores a los no infectados, pero inferiores a los de los niños eutróficos no infectados.

5.- Los graves muestran concentraciones séricas de C3 disminuidas en comparación con los leves, moderados y controles eutróficos.

6.- La ingesta de Zn especialmente en los graves, es inferior a la recomendada para la población infantil venezolana, la cual se asocia con una disminución significativa de las concentraciones de este micronutriente aún en los eutróficos.

7.- Un período de ocho semanas de intervención nutricional mejora y normaliza las concentraciones séricas de IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α , NO y MDA.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas A.K, Lichtman A.H., Pillai, S. Citoquinas en: **Immunología celular y molecular**. Elsevier. 267-301, 2009.
- 2.- Abo-Shousha SA, Hussein MZ, Rashwan IA, Salama M. Production of proinflammatory cytokines: granulocyte-macrophage colony stimulating factor, interleukin-8 and interleukin-6 by peripheral blood mononuclear cells of protein energy malnourished children. **Egipto J Immunol**. 12: 125-31, 2005.
- 3.- Afzali B, Mitchell P, Lechler RI, John S, Lombardi G. Translational Mini-Review Series on Th17 Cells: Induction of interleukin-17 production by regulatory T cells. **Clinical and Experimental Immunology**. 159: 120-130, 2009.
- 4.- Aggett P, Comerford JG. Zinc and Human health. **Nutr Rev**. 53(9) 516-522, 1995.
- 5.- Aguzzi A, Heikenwalder M. Prions, cytokines, and chemokines: a meeting in lymphoid organs. **Immunity**. 22:145-54, 2005.
- 6.- Akira S., Hirano T., Taga T., Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: IL-6 and related molecules (IL-1 and TNF). **FASEB J**. 4: 2860-2867, 1990.
- 7.- Álvarez A. Algunas consideraciones en relación con la administración del hierro. **Bol Med Hosp Inf Mex**. 51(3): 214-219. 1994.
- 8.- Álvarez C, Essenfield- Seckler E. Óxido Nitrico y Desnutrición. En XVII Jornadas de Egresados de los postgrados de Medicina Interna, SVMI. 1999.
- 9.- Álvarez-Mon M, Kehrl JH, Fauci AS: A potential role for adrenocorticotropin in regulating human B lymphocytic functions. **J Immunol**. 135: 3823-6. 1985.
- 10.- Amati L, Cirimele D, Pugliese V, Covelli V, Resta F, Jirillo E. 2003, Nutrition and immunity: laboratory and clinical aspects". **Curr Pharm Des**. 2003; 9 (24): 1924-1931.
- 11.- Amaya D, Urrieta R, Gil N, Molano M, Medrano I, Castejon H. Valores de zinc plasmático en una población infantil marginal de Maracaibo. **Arch Latinoam Nutr**. 47:23-28, 1997.
- 12.- Amaya-Castellanos D, Vilorio-Castejón H, Ortega P, Gómez G, Urrieta J, Lobo P. Deficiencia de vitamina A y estado nutricional antropométrico en niños marginales urbanos y rurales en el Estado Zulia, Venezuela. **Invest Clin**. 43(2): 89-105, 2002.
- 13.- Amesty A, Diez M, Villarroel M, Montiel N, Granados A, Díaz S, et al. Aspectos inmunológicos del desnutrido I. El desnutrido en recuperación nutricional. **Invest Clín**. 37(2):95-111, 1996.
- 14.- Amesty A, Villarroel M, Granados A, Rivero M, Díaz S, Salas D. Aspectos inmunitarios del desnutrido infectado. **Arch Venez Puer Ped**. 60(3):99-106, 1997.
- 15.- Amesty-Valbuena A, Pereira N, Garcia D, Vicente-Villarroel M, Núñez-González J, Cayama N, Villadiego N. Niveles séricos de citocinas proinflamatorias en niños con

- diferentes grados de desnutrición. **Bol Med Hosp Infant Mex.** 60: 14-21, 2003.
- 16.- Amesty A, Pereira N, Castello J, García D, Nuñez J, Cayama N, Morán A, Parra M, Troconiz C. Mediadores de inflamación (Proteína C Reactiva) en el niño con desnutrición proteico-energética y en el niño eutrófico. **Invest Clín.** 45 (1): 55-62, 2004.
- 17.- Anibarroa L, Garet E, Felpeto I, del Campo V, Montes J, González-Fernández A. Eje interleucina 12/interferón gamma en pacientes de tuberculosis en una región europea con alta incidencia de enfermedad. 2011. **Inmunología.** 30(2): 36-44. 2011.
- 18.- Archer S. Measure of nitric oxide in biological model. **FASEB J.** 7:340-60, 1993.
- 19.- Arend WP. Interleukin 1 receptor antagonist. A new member of the interleukin 1 family. **J Clin Invest.** 19: 939-942, 1991.
- 20.- Ashour M, Sulem SI, El Gadbon H, Elwan N. Antioxidant status in children with protein-energy malnutrition (PEM) living in Cairo Egypt. **Eur T Clin Nutr.** 53: 669-673, 1999.
- 21.- ASTM. Standard Specification for Water. American Society for Testing and Material. Philadelphia. Document 1173-1177, 1977.
- 22.- Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. **Atenea N° 494 - II Seminario:** 161-172. 2006.
- 23.- Azevedo ZMA, Victal L, Fonseca K, Camara F, Haeffner Cavaillon N, Cavaillon JM. Increased production of tumor necrosis factor-alpha in whole blood cultures from children with primary malnutrition. **Braz J Med Biol Res.** 38:171-83, 2005.
- 24.- Bahijri SM. Serum Zinc in infants and preschool children in the Jeddah area: effect of diet and diarrhea in relation to growth. **Ann Saudi Medicine.** 21(5-6):324-329. 2001.
- 25.- Bao B, Prasad AS, Beck FWJ. Zinc supplementation decreases oxidative stress, incidence of infection, and generation of inflammatory cytokines insickle cell disease. **Translational Res.** 152:67-80. 2008.
- 26.- Barton BE. The biological effects of interleukine-6. **Med. Res. Rev.** 16: 87-109, 1996.
- 27.- Bauce G, Mata-Meneses E. Conductas alimentarias en familias de diferentes estratos sociales. Área Metropolitana de Caracas. **An Venez Nutr.** 12(1):16-22. 1999.
- 28.- Bauman H, Gauldie J. The Acute Phase Response. **Immunology Today.** 15: 74-80, 1994.
- 29.- Beaudry-Darismi M, Latham M. Nutrition rehabilitation centers - an evaluation of their performance. **J Trop Pediatr Environ Child Health.** 299-332. 1973.
- 30.- Beck F, Prasad A, Kaplan J, Fitzgerald J, Brewer G. Changes in

- cytokine production and T cells subpopulations in experimentally induced zinc – deficient humans. **Am J Physiol.** 272 (6 Pt 1): E1002-07, 1997.
- 31.- Beck KF, Eberhardt W, Frank S, Huwiler A, Messmer UK, Mühl H, Pfeilschifter J. Inducible NO synthase: Role in cellular signaling. **J Exp Biol.** 202: 645-653. 1999.
- 32.- Beisel WR. Single nutrients and immunity. **Am J Clin Nutr.** 35: 17-46, 1982.
- 33.- Beisel W. Nutrition and immune function: overview. **J Nutr.** 1996; 126(S1):2611-15,1996.
- 34.- Bengoa JM. Nutrition et alimentation tropicales. Recueil de conférences du cours de formation de nutritionnistes en Afrique au sud du Sahara organisé par le FAO, l'OMS et le gouvernement français de Marseille. 1955.
- 35.- Berberglu M. Evaluation of the correlation between serum tumor necrosis factor-alpha on relative body mass index (RBMI) in children. **J Pediatr Endocrinol Metab.** 5: 543-547, 2001.
- 36.- Bettelli E, Korn T, Kuchroo VK. Th17: The third member of the effector T cell trilogy. **Curr Opin Immunol.** 19:652–7, 2007.
- 37.- Bhaskaram P, Swakumar B. Interleukin 1 in malnutrition. **Arch Dis Child.** 61:182-5, 1986.
- 38.- Bhaskaram P. Immunobiology of mild micronutrient deficiencies. **Br J Nutr.** 85(2S): 75S-80S, 2001.
- 39.- Bhaskaram P. Micronutrient malnutrition, infection and immunity: an overview. **Nutr Rev.** 60 (5Pt 2): S40-5, 2002.
- 40.- Bhatanagar S, Natchu UMA Ch. Zinc in child health and disease. **Indian J Pediatr.** 71(11):991-995, 2004.
- 41.- Bhutta Z, Nizam S, Igani Z. Zinc supplementation in malnourished children with persistent diarrhea in Pakistan. **Pediatrics.** 103:42-46, 1999.
- 42.- Bi Y, Lui G, Yang R. Reciprocal modulation between TH17 and other helper T cell lineages. **Journal of Cellular Physiology.** 2010.
- 43.- Biron CA, Gazzinelli RT. Effects of IL-12 on immune responses to microbial infections: a key mediator in regulating disease outcome. **Curr Opin Immunol.** 7: 485-96, 1995.
- 44.- Black RE. Zinc deficiency, infectious disease and mortality in the developing world. **J Nutr.** 173:1485S-1489S, 2003.
- 45.- Borish L, Denver C. Updates on cells and cytokines. **J Allergy Clin Immunol.** 101 (3): 293-297, 1998.
- 46.- Bradly SE, Vibhagood a, Kunkel SL, Kauffman CA. Monokine secretion in agin and protein malnutrition. **J Leu Biol.** 45:510-514, 1989.
- 47.-. Buchman A. The comprehensive nutritional assessment. USA. ASPEN 1-15. 1997.
- 48.- Burguera J, Burguera M, Alarcón O. Blood levels of zinc, cobalt, copper, iron and manganese in children in

Mérida, Venezuela. **Trace Elem Med.** 9:194-197, 1992.

49.- Canal-Molano N, Pereira N, Tunez I, Atencio T, Ochoa M, Echeverría M, Núñez González J, Amel A, Molano A. Efecto de la recuperación nutricional en las concentraciones séricas de Óxido Nítrico, Malonaldehído y TNF- α en el niño desnutrido grave. **Arch Venez Puer Ped.** 73(3): 15-19, 2010.

50.- Cantorna MT, Nashold FE, Hayes CE. In vitamin A deficiency multiple mechanisms establish a regulatory T helper cell in balance with excess Th1 and in sufficient Th2 function. **J Immunol.** 52: 1515-1522, 1994.

51.- Cantorna MT, Nashold FE, Hayes CE. Vitamin A deficiency results in a priming environment conducive for Th1 cell development. **Eur J Immunol.** 25: 1673-1679, 1995.

52.- Carroll MC. The complement system in regulation of adaptive immunity. **Nat Immunol.** 5: 981-6, 2004.

53.-Castillo C. Recuperación nutricional en lactantes desnutridos marasmícos. Experiencia chilena. En I Jornadas Científicas V Aniversario del Centro de Atención Nutricional Infantil de Antímano. 2000.

54.- Castillo-Durán C, Perales CG, Hertramp Ed, Marín VB, Rivera FA, Icaza G. Effect of Zinc supplementation on development and growth of Chilean infants. **J Pediatr.** 38(2): 22-235, 2001.

55.- Chandra RK, Gupta S, Singh H. Inducer and suppressor T cell subsets

in protein-energy malnutrition. Analysis by monoclonal antibodies. **Nutr of Rev.** 2: 21-26, 1982.

56.- Chandra RK. Nutrition, immunity and infection: Present knowledge and future directions. **Lancet.** 1983; 1: 688-691, 1983.

57.- Chandra RK. Protein-energy malnutrition and immunological response. **J Nutr.** 122(35): 597-603, 1992.

58.- Chandra RK. Nutrition and the immune system: an introduction. **Am J Clin Nutr.** 66(2): 460S-63S, 1997.

59.- Chandra R. Serum complement and immunoglobulin in malnutrition. *Archive of disease children.* 1975; 50: 225-229. Comentado en **Arch Venez Puer y Pediatr.** 60 (3): 99-106, 1997.

60.- Chandra, R.K. Nutrition and the immune system from birth to old age. **Eur. J. Clin. Nutr.** 56, S73-S76. 2002.

61.- Chapko M, Prual A, Gamatié Y, Maazou A. Randomized Clinical Trial Comparing Hospital to Ambulatory Rehabilitation of Malnourished Children in Niger. **J Trop Pediatr.** 40: 225-30. 1994.

62.- Chuwa LM, Mwiruki G, BiJal MG, Mimbli Ek, Swai AB. Serum iron, zinc, copper and bromiem in malnourished children in Dar es Salaam, Tanzania. **East Afr Med J.** 73:21S-23S, 1996.

63.- Coello-Ramírez P. Deficiencias nutricias específicas en pediatría: importancia del cinc y del cobre en la nutrición del niño: En Heller S, Aguilar J, Cárdenas H, Castillo M. "Nutrición". *Temas de Pediatría.* Asociación Mexicana de Pediatría, AC. México

- D.F.: Interamericana McGrall-Hill. pp. 135-167, 1996.
- 64.- Cooper P, Chico M., Sandoval C, Espinel I, Guevara A, Kennedy M. et al. Human infection with *Ascaris lumbricoides* Is Associated with a Polarized Cytokine Response. **J Infect Dis.** 182:1207-1213, 2000.
- 65.- Cornelis R, Versieck R. Critical evaluation of the literature values of eighteen trace elements in human serum or plasma. In: Bratter P, Schramel P (eds). **Trace elements analytical chemistry in medicine and biology.** De Greyter, Berlin. p 587-592, 1980.
- 66.- Coutinho HM, Leenstra T, Acosta LP, Su L, Jarilla B, Jiz MA, retchen c. cytokines and c-reactive protein are associated with undernutrition in the context of *Schistosoma japonicum* infection. **Am J Trop Med Hyg.** 75(4): 720–726, 2006.
- 67.- Dalle-Donne I., Rossi R., Colombo R., Giustarini D., Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. **Clin Chem.** 52:601-623, 2006.
- 68.- Dardalhon V, Korn T, Kuchroo VK, Anderson AC. Role of Th1 and Th17 cells in organ-specific autoimmunity. **J Autoimmun.** 31:252-256, 2008.
- 69.- Daza CH. Malnutrición de micronutrientes. Estrategias de prevención y control. **Colomb Med.** 32: 79-82. 2001.
- 70.- De Waals Malefit R, Yssel H, Roncarolo MG, Spits H, de Vries JE. Interleukin-10. **Curr Opin Immunol.** 4(3): 14-20. 1992.
- 71.- Delves P, Seamus M, Burton D, Roitt I. *Inmunología: fundamentos. La Aplicación de Efectores.* Capítulo 9. 11ª Edición. Editorial Médica Panamericana. pp: 205-216. 2008.
- 72.- Dibley MJ, Staeling N, Nieburg P, Trowbridge FL. Interpretation of Z-score anthropometric indicators derived from international growth reference. **Ame J Clin Nutri.** 46:749-762. 1987.
- 73.- Dinarello C. The biology of interleukin-1 and comparison to tumor necrosis factor. **Immunology Letters.** 16: 227-232, 1987.
- 74.- Doherty M, Golden M, Raynes J, Griffin G, Mcadam K. Acute phase protein response is impaired in severely malnourished children. **Clin Sci.** 84:169-175, 1993.
- 75.- Doherty JF, Golden MHN, Remick DG, Griffin GE. Production of interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in vitro is reduced in whole blood of severely malnourished children. **Clin Sc.** S6: 347-51, 1994.
- 76.- Donangelo C, Azevedo C. Serum zinc in Brazilian children of families of low income. **Arch Lat Nutr.** 34:290-297, 1984.
- 77.- Dong C. Diversification of T-helper-Cell lineages: Finding the family root of IL-17-producing cells. **Nature Rev Immunol.** 6:329-333, 2006.
- 78.- Dowton B, Colten H. Acute Phase Reactants in inflammation and

- infection. **Seminars in Hematology**. 25(2): 84-90, 1998.
- 79.- Drabink M, Schnure F, Mok K. Effect of protein depletion and short-term parenteral refeeding on the host response to interleukin-1 administration. **J Lab Clin Nutr**. 109: 509-516, 1987.
- 80.- Draper H, Squires E, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods of the determination of malondialdehyde in biological materials. **Free Radic Biol Med**. 15:353-63, 1993.
- 81.- Dülger H, Arik M, Ramazan M, Tarakçioğlu M, Noyan T, Cesur Y and Balahoroğlu R. Pro-inflammatory cytokines in Turkish children with protein-energy malnutrition. **Mediators of Inflammation**. 11: 363–365, 2002.
- 82.- Durán P., Caballero B., Onis M. The association between stunting and overweight in Latin American and Caribbean preschool children. **Food Nutr Bull**. 27: 300-305, 2006.
- 83.- Elisabeth K, Sreedevi P, Narayanan S. Outcome of nutritional rehabilitation with and without zinc supplementation. **Indian Pediatr**. 37: 647-650, 2000.
- 84.- Erickson KL, Medina EA, Hubbard NE. Micronutrients and innate immunity. **Infect Dis**. 182: S5-S10, 2000.
- 85.- Estévez JE, Chacín L, Bonilla E, Villalobos E. Concentraciones séricas de cobre y zinc en una población suburbana del Estado Zulia (Venezuela). **Invest Clin**. 29:97-109, 1988.
- 86.- Fechner A, Böhme C, Gromer S, Funk M, Schirmer R, Becker K. Antioxidant Status and Nitric Oxide in the Malnutrition Syndrome Kwashiorkor. **Pediatric Research**. 49(2): 237-243. 2001.
- 87.- Ferrer- Sueta G, Radi R. Chemical biology of peroxynitrite: kinetics, diffusion and radicals. **ACS Chemical Biology**. 4: 161-177, 2009.
- 88.- Fisberg M, Castillo Duran C, Egana JI, Uauy Dagach R. Plasma zinc and copper in infants with protein-caloric malnutrition. **Arch Latinoam Nutr**. 34(3):568-577, 1984.
- 89.- Fleck A. Clinical and nutritional aspects of changes in acute phase protein during inflammation. *Proc. Nutr. Soc.* 1989, 48: 347-354. Comentado en: **Arch Latinoam Nutr**. 46 (3): 203-209, 1996.
- 90.- Flores-HS. Desnutrición energética-proteínica. En: Casanueva E, Kaufer-Horwitz M, de. *Nutriología Médica. México* D.F. Editorial Panamericana. pp 151-68 (1ra ed). 1995.
- 91.- Fraker P J, King LE, Laakko T, Vollmer TL. The dynamic link between the integrity of the immune system and zinc status. **J Nutr**. 130(5S): 1399S-1406S, 2000.
- 92.- Fraker PJ, King LE. Reprogramming of the immune system during zinc deficiency. **Annu Rev Nutr**. 24: 277-298, 2004.

- 93.- Fraker PJ. Roles of cell death in zinc deficiency. **J Nutr.** 135(5): 359-362, 2005.
- 94.- Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **N Engl J Med.** 340 (6): 448-54, 1999.
- 95.- Gajewski TF, Schell SR, Nau G, Fitch FW. Regulation of T-cell activation: Differences among T-cell subsets. **Immunol Rev.** 111:79–110, 1989.
- 96.- Ganong W. Manual de Fisiología Médica, Decimoquinta Edición Editorial el Manual Moderno S.A. de C. V. México D.F.- Santafé de Bogotá. Pp: 11-46, 1996.
- 97.- Ganong WF. Fisiología Médica. 17ª ed., Manual Moderno. 1997. En: www.fumc.edu.co/fumc/hermesoft/port al/home_1/rec/arc_4641.pdf
- 98.- Geginat J., Sallusto F., Lanzavecchia A. Cytokine-driven proliferation and differentiation of human naïve, central memory, and effector memory CD4+ T cells **J Experim Med.** 194 (12): 1711-1719, 2001.
- 99.- Geiger, Massara C, Bethony J, Soboslay T, Carvalho O, Correa C. Cellular responses and cytokines profiles in *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infected patients. **Parasite Immunol.** 24 (11-12): 499-509, 2002.
- 100.- Gemmell E, Seymour G. Cytokines and T cell switching. **Crit Rev Oral Biol Med.** 5 (3-4): 249-79, 1994.
- 101.- Giomvambatista D, Pinedi E, Sonjurjo A, Chisari A, Rodríguez M, Pérez N. Circulating and nitrogen-induced tumor necrosis factor (TNF) in malnourished children. **Medicina** (Buenos Aires). 60: 339-342, 2000.
- 102.- Girard M, González Diaz S, Canseco Villarreal JI, García Calderin D, Macias Weinmann A. Impaired function of regulatory T-cells in hypersensitivity pneumonitis. **Eur Respir J.** 37(3):632-639, 2011.
- 103.- Golden BE, Golden MHN. Plasma zinc and the clinical features of malnutrition. **Am J Clin Nutr.** 32:2490-2494, 1979.
- 104.- Gosain A, Gamelli RL. A primer in cytokines. **J Burn Care Rehabil.** 26: 7-12, 2005.
- 105.- Grandio Zequeira O, Novo LA, Amador García M, Sánchez Peralta L. Efecto de la suplementación con cinc en la recuperación nutricional. **Rev Cubana Pediatr.** 67(1): 1-4, 1998.
- 106.- Granot E, Kohen Y. Oxidative Stress in Childhood. In Health and Disease States **Clin Nutr.** 23(1):3-11. 2004.
- 107.- Grimble R. Malnutrition and the immune response. Impact of nutrients on cytokine biology in infections. **Trans Royal Soc Trop Med Hyg.** 615-619, 1994.
- 108.- Gronowitz EV, Santos AA, Poutsioka DD, Cannon JG, Wilmore DW, Wolf SM. Production of interleukin-1 receptor antagonist during experimental endotoxemia. **Lancet.** 338: 1423-1424, 1991.

- 109.- Gutiérrez-Salinas J. Qué sabe usted acerca de radicales libres?. **Rev Mex Cien Farm.** 37:69-73, 2006.
- 110.- Gutteridge, J. & Halliwell, B. Reactive oxygen species in biological systems, pp. 189-218, New York, USA: D.L. Gilbert and C.A. Colton, eds. 1999.
- 111.- Hagel I, Lynch N, Pérez M, Di Prisco M, López R, Rojas E. Relationship between the degree of poverty and the IgE response to *Ascaris* infection in slum children. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** 87 (1): 16-8, 1993.
- 112.- Hagel I., Lynch N., Pérez M., Di Prisco M., López R., Rojas E. Modulation of the allergic reactivity of slum children by helminthic infection. **Parasite Immunol.** 15 (6): 311-5, 1993.
113. - Hagel I, Lynch N, Pérez M, Di Prisco M, Lopez R, Rojas E. Nutritional status and the IgE response against *Ascaris lumbricoides* in children from a tropical slum. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** 89 (5): 562-5, 1995.
- 114.- Hagel I, Lynch N, Puccio F, Rodríguez O, Luzondo R, Rodríguez P. Defective regulation of the protective IgE response against intestinal helminth *Ascaris lumbricoides* in malnourished children. **J Trop Pediatr.** 49 (3):136-42, 2003.
- 115.- Halliwell, B. How to characterize a biological antioxidant. **Free Radical Research.** Communication 9, pp. 1-32. 1990.
- 116.- Hambridge K, Walravens P, Brown R, Webster J, White S, Anthony M, Roth M. Zinc nutrition of preschool children in Denver Head Start Program. **Am J Clin Nutr.** 29:734-738, 1976.
- 117.- Hambridge M. Human Zinc deficiency. **J Nutr.** 130: 1344S-1349S, 2000.
- 118.- Haque R, Mondal D, Shu J, Roy S, Kabir M, Davis AN, Duggal P, Petri WA Jr. Correlation of interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells with childhood malnutrition and susceptibility to amebiasis. **Am J Trop Med Hyg.** 76(2):340-4, 2007.
- 119.- Heikens GT, Schofield WN, Dawson SM, Waterlow JC. Long-stay versus short-stay hospital treatment of children suffering from severe protein-energy malnutrition. **Eur. J.Clin. Nutr.** 48:873-882, 1994.
- 120.- Hehlhans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumor necrosis factor/tumor necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. **Immunol.** 115(1): 1-20, 2005.
- 121.- Hemalatha P, Bhaskaram P, Khan M. Role of zinc supplementation in the rehabilitation of severely malnourished children. **Eur J Clin Nutr.** 47:395-399, 1993.
- 122.-Hernández E. R, Correa M.S, Correa M.J. Nutrición y Salud. Manual Moderno. México, D.F. 173-87, 1998.

- 123.- Hernández UM, Alvarado NA. Interleucinas e inmunidad innata. **Rev Biomed.**12: 272-80, 2001.
- 124.- Hernández Fernández C, Izquierdo Estévez A. Beneficios de la suplementación con zinc en la rehabilitación nutricional de los lactantes desnutridos. **Rev Cub Aliment Nutr.** 19(2): 281-289. 2009.
- 125.- Hernández Serrano A. Células colaboradoras (TH1,TH2,TH17) y reguladoras (Treg,TH3,NKT) en la artritis reumatoide. **Reumatol Clin.** 5(S1): 1-5, 2009.
- 126.- Henry Y, Ducrocq C, Drapier J-C, Servent D, Pellat C and Guissani A. Nitric Oxide, a biological effector. **Eur Biophys J.** 20:1-15, 1991.
- 127.- Hober D., Poli L., Roblin B., Gestas P., Chungue E., Granic G., Imbert P., Pecarere J., Verguez-Pascal R., Wattré P. Serum levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-1 beta (IL-1 beta) in dengue-infected patients. **Am J trop Med Hyg.** 48 (3): 324-331, 1993.
- 128.- Hunter CA. New IL-12-family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent functions. **Nat Rev Immunol.** 7: 521-31, 2005.
- 129.- Infante-Duarte C, Horton HF, Byrne MC, Kamradt T. Microbial lipopeptides induce the production of IL-17 in Th cells. **J Immunol.** 165:6107-15. 2000.
- 130.- Instituto Latinoamericano de Investigaciones Sociales. La nutrición en Venezuela. Informe Social I. Capítulo 4. Fundación Friedrich Ebert. Caracas. pp: 53-67, 1995.
- 131.- Instituto Nacional de Nutrición (INN). Tabla de Composición de Alimentos para uso práctico. INN. Caracas. **Serie Cuadernos Azules.** N° 52 pp 97, 1999.
- 132.- Instituto Nacional de Nutrición. Boletín Informativo. Sistema de Vigilancia Alimentaria y Nutricional (SISVAN). pp 48,2005.
- 133.- Ivanov II, Zhou L, Littman DR. Transcriptional regulation of Th17 cell differentiation. **Semin Immunol.** 19:409-17, 2007.
- 134.- Jackson MJ, Jones DE, Edwards RH, Swainbank IG, Coleman ML. Zinc homeostasis in man: studies using a new stable isotope dilution technique. **Br J Nutr.** 51:199-208, 1984.
- 135.- . Jahoor F, Badaloo A, Reid M, Forrester T. Protein metabolism in severe childhood malnutrition. **Ann Trop Paediatr.** 28: 87-101, 2008.
- 136.- Janeway Ch, Travers P, Walport M, Capra J. Immunobiology. 4ta. Edic. Londres. Elsevier Science. pp: 1-635, 1999.
- 137.- Jaye DL, Waites K. Clinical applications of C reactive protein in pediatrics. **J Pediatr Infect Dis.**16: 735-744, 1997.
- 138.- Joost J, Oppenheim MD, Francis W.R. Citocinas. En: Introducción a la Inmunología Humana. Editorial Médica Panamericana. 5º ed. Caracas. pp 165-92, 2000.
- 139.- Kasakura S. A role for T-helper type 1 and tipe 2 cytokines in the pathogenesis human diseases. **Rinsho Byori.** 46 (9): 915-21, 1998.

- 140.- Kauffman CA, Jones PG, Kluger MJ. Fever and malnutrition: endogenous pyrogen/interleukin-1 in malnourished patients. **Am J Clin Nutr.** 44: 449-452, 1986.
- 141.- Kawaguchi M, Adachi M, Oda N, Kokubu F, Huang S. IL-17 cytokine family. **J Allergy Clin Immunol.** 114: 1265-1273, 2004.
- 142.- KE, Elizabeth. Cytokine response in malnutrition. Commentary. **Indian J Med Res.** 130. pp 12-13, 2009.
- 143.- Keenan RA, Bestrian BR, Blackburn GL, Kawamura I, Moldaver LL, Yang RD. An altered response by peripheral leucocytes to synthesis or release leukocyte endogenous mediator in critically ill protein malnutrition patients. **J Lab Clin Med.** pp. 100: 844-857, 1991.
- 144.- Kelly E, Morris S.M. Billiar T.R. Nitric Oxide, Sepsis, and Arginine Metabolism. [review], **JPen** 19(3): 234-238, 1995.
- 145.- Keusch GT. Malnutrition and the thymus gland. En: Cunningham-Rundlles S. Nutrient modulation of the immune response. New York: Marcel Dekker. 283-299, 1993.
- 146.- Keusch G. The History of Nutrition: Malnutrition, Infection and Immunity. **J Nutr.** 133: 336S-340S, 2003.
- 147.- Khaldi F, Ben MA, Hedhili A, Kaabachi N, Genddana N, Mebazoa A, Ben NB. Zincemia, cupremia and infection in malnourished children. **Arch Pediatr.** 2(9):854-857, 1995.
- 148.- Khanum S, Ashworth A, Huttly S. Controlled trial of three approaches to the treatment of severe malnutrition. **Lancet.** 344:1728-32, 1994.
- 149.- Khanum S, Ashworth A, Huttly S. Growth, morbidity, and mortality of children in Dhaka after treatment for severe malnutrition: a prospective study. **Am J Clin Nutr.** 67:940-945, 1998.
- 150.- Kolls JK, Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation. **Immunity.** 21:467-76, 2004.
- 151.- Korn T, Oukka M, Kuchroo V, Bettelli E. Th17 cells: effector T cells with inflammatory properties. **Semin Immunol.** 19(6):362-71, 2007.
- 152.- Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. **Annu Rev Immunol.** 27: 485-517, 2009.
- 153.- Kosmos E. Boxevanis C. Papanichail M. Kordossis I. Daily variation in circulating cytokines and acute phase protein correlates with chemical and laboratory indice in community-acquired pneumonia. **Europ J Clin Invest.** 27: 308-315, 1997.
- 154.- Krebs N. Overview of Zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. **J. Nutr.** 130:1374S-1375S, 2000.
- 155.- Kuno G., Bailey R. Cytokine responses to dengue infection among Puerto Rican patients. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.** 89 (2): 179-182, 1994.
- 156.- Kusner I. The phenomenon of acute phase response. **Ann NY Acad Sci.** 389: 39-48, 1982.

- 157.- Lara PE. Situación nutricional en Venezuela. Su impacto sobre el crecimiento. **An Venez Nutr.** 2: 103-106, 1989.
- 158.- Laugford CP. The biology of acute phase proteins. Dragon Communications Limited. pp: 14, 1992.
- 159.- Leal J, Castejón H, Romero T, Ortega P. Valores séricos de citocinas en niños con desórdenes por deficiencia de vitamina A. **Invest Clin.** 45 (3): 243-256, 2004.
- 160.- Lifschitz MD, Henkin RI. Circadian variation in copper and zinc in man. **J Appl Physiol.** 31:83-92, 1971.
- 161.- López M, Evans R, Jiménez M, Sifontes y, MachIn T. Situación alimentaria y Nutricional de Venezuela. Serie de Fascículos Nutrición Base del Desarrollo. Ed Cavendes. Caracas. 1996.
- 162.- Lönnnerdal BO. Dietary factors influencing zinc absorption. **J Nutr.** 130: 1378S- 1383S, 2000.
- 163.- Lowenstein. C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H. Nitric Oxide: a Physiologic Messenger. **Ann Intern Med.** 120: 227-237, 1994.
- 164.- Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LT. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. **Nat Med.** 10: 98-109, 2004.
- 165.- Malavé Y, Carvajal I, Rojas I, Castillo C. Interleuquina 1 en niños desnutridos. **Arch Ven Puer Pediatr.** 56: 136-142, 1993.
- 166.- Manary M, Broad R, Yorasheski K. Whole – Body protein Kinetiesin Marasmus and Kwashiorkor during acute infection. **Am J Clin Nutr.** 67: 1205-9, 1998.
- 167.- Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO. Transforming growth factor-beta induces development of the TH17 lineage. **Nature.** 441:231-234, 2006.
- 168.- Marcos A. Eating disorders: a situation of malnutrition with peculiar changes in the immune system are conditioned by nutrition. **Eur J Clin Nutr.** 54: S61-64, 2000.
- 169.- Marcos A, Nova E, Montero A. Changes in the immune system are conditioned by nutrition. **Eur J Clin Nutr.** 57 (1): S66-9, 2003.
- 170.- Recuperación nutricional ambulatoria de niños con desnutrición primaria. **Arch Latinoamer Nutr.** 51:64-71, 2001.
- 171.- Mariño E M, Martínez L J, Azuaje A. Recuperación nutricional ambulatoria de niños con desnutrición leve y moderada según dos modalidades de atención: seminternado y ambulatoria. **Arch Latinoamer Nutr.** 53(3):258-266, 2003.
- 172.-Martínez, R. Impacto social y económico de la desnutrición infantil. Hacia la erradicación de la desnutrición infantil en América Latina y el Caribe. Programa Mundial de Alimentos de las Naciones Unidas. 2008.
- 173.- Martínez R, Palma A, Atalah E.,Pinheiro AC. Inseguridad Alimentaria y Nutricional en América

- Latina y el Caribe. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). Programa Mundial de Alimentos. pp 37-38, 2009.
- 174.- Massa E, Lòpez G, Kanashiro H, McLean W, Rosenthal R, Graham G. Una unidad de rehabilitación nutricional para el tratamiento de desnutrición infantil severa. **Arch Latinoamer Nutr.** 30: 417-431, 1980.
- 175.- Matsuzaki G, Umemura M. Interleukin-17 as an effector molecule of innate and acquired immunity against infections. **Microbiol Immunol.** 51:1139-47, 2007.
- 176.- McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, et al. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T (H)-17 cell-mediated pathology. **Nat Immunol.** 8:1390-7, 2007.
- 177.- Méndez Castellano H. Estratificación Social. Método de Graffar Modificado para Venezuela. **Arch Venez Puer Pediatr.** 49:93-104, 1986.
- 178.- Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Instituto Nacional de Nutrición. Dirección Técnica. División de Investigación de Alimentos. Valores de referencia de energía y nutrientes para la población venezolana. Revisión del 2000. Publicación N° 53. **Serie Cuadernos Azules.** Caracas-Venezuela.
- 179.- Moldawer LCE. Proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome. **J Infects Dis.** 163: 1177-84, 1997.
- 180.- Moneada S. Nitric oxide gas: mediator, modulator and pathophysiologic entity. **Clin Med.** 120: 187-191, 1992.
- 181.- Moore MA. Cytokine and chemokine networks influencing stem cell proliferation, differentiation, and marrow homing **J Cell Bioch.** 38: 29-38, 2002.
- 182.- Morlese JF, Forrester T, Hahoor F. Acute phase protein response to infection in severe malnutrition. **Am J Physiol.** 275:112-117, 1998.
- 183.- Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, Reddi AH. Interleukin-17 family and IL-17 receptors. **Cytokine Growth Factor Rev.** 14: 155-174, 2003.
- 184.- Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. **Annu Rev Immunol.** 7:145-73, 1989.
- 185.- Moynahan EJ. Acrodermatitis enteropathica. A lethal inherited zinc deficiency disorder. **Lancet.** 2:399-405, 1974.
- 186.- Muñoz C, Arévalo M, López M, Schlesinger L. Impaired interleukin 1 and tumor necrosis factor production in protein-calorie malnutrition. **Nutr Res.** 14:347-52, 1994.
- 187.- Murphy EW, Willis BW, Watt BK. Provisional tables on the zinc content of foods. **J Am Diet Assoc.** 66:343-347, 1975.
- 188.- Nielsen F., Mikkelsen BB., Nielsen JB., Andersen HR., Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress:

- reference interval and effects of life-style factors. **Clin Chem.** 43:1209-14, 1997.
- 189.- Oppenheim J, Ruscetti F. Citocinas. En: Stites D, Terr A, Parslow T. Inmunología básica y clínica. México. Ed. El Manual Modern. pp: 165-192, 2000.
- 190.- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Cumbre Mundial sobre la Alimentación. Roma-Italia.1996.
- 191.- Organización Mundial de Salud. Tratamiento de la Malnutrición Grave: Manual para Médicos y otros Profesionales Sanitarios Superiores. Pp: 1-58,1999.
- 192.- Ortíz-Andrellucchi A, Sierra Majen L. Desnutrición infantil en el mundo: ¿sentimiento de culpa o de vergüenza?. **Acta Cient Estud.** 5(3): 109-114, 2007.
- 193.- Palacio A, López M, Pérez-Bravo F, Monkerber F, Schlesinger L. Leptin levels are associated with immune response in malnourished infants. **J Clin Endocrinol Metab.** 87: 3040-3046. 2002.
- 194.- Panday V, Parames Wakaram M, Rants J, Soman S, Dacosta H. Nutritional status and serum levels of Mg, Ca, Zn and Cu. **Sci Total Envirom.** 27:261-261, 1983.
- 195.- Papiernik M. Natural CD4+ CD25+ regulatory T cells. Their role in the control of superantigen responses. **Immunol Rev.** 2001; 182: 180-189, 2001.
- 196.- Patwari AK. Diarrhoea and malnutrition interaction. **Indian J Pediatr.** 66: 124S-134S, 1999.
- 197.- Pelletier DL, Frongillo EA, Schoerder DG, Hahicht JP. The effects of malnutrition on child mortality in developing countries. **Bull World Health Organ.** 73: 443-448, 1995.
- 198.- Pepys M. C-Reactive protein. Fifty years on. **Lancet.** 21: 653-656, 1981.
- 199.- Prasad AS. Zinc: An overview. **Nutrition.** 11:93-99, 1995.
- 200.- Prasad AS. Effects of Zinc Deficiency on Th1 and Th2 Cytokine Shifts. **J Infect Dis.** 182(S1): S62–S68, 2000.
- 201.- Prasad A. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care.** 12:646–652. 2009.
- 202.- Puddu P, Fantuzzi L, Borghi P, Varano B, Rainaldi G, Guillemard E, Malorni W, Nicaise P, Wolf SF, Belardelli F, Gessani S. IL-12 induces IFN-gamma expression and secretion in mouse peritoneal macrophages. **J Immunol.** 159 (7): 3490-3497. 1997.
- 203.- Puentes R, Ibañez S, Salvatierra V, Mejias C, Jiménez A. Tratamiento ambulatorio de la desnutrición calórico-proteica del lactante. Consultorio de nutrición infantil. **Rev Chil Pediatr.** 57(1): 91-96, 1986.
- 204.- Pullicino E, Carli F, Poole S, Raffaty B, Malik S, Elia M. The relationship between the circulating concentration of interleukin 6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF) and the

- acute response to elective surgery and accidental injury. **Lymphok Res.** 9: 231-238, 1990.
- 205.- Raqib R, Lindberg A, Wretlind B, Bardhan P, Andersson B, Andersson J. Persistence of local cytokine production in shigellosis in acute and convalescent stages. **Inf Immun.** 63:289-296, 1995.
- 206.- Razban S, Olusi S, serrano M, osunkoya B, adeshina H, Mcfarfanes H. Acute phase protein in children with protein-calorie malnutrition. **Journal of Tropical Medical Hygiene.** 78(12): 264-266. 1975.
- 207.- Regueiro J, López C, González S, Martínez E. Inmunología Biología y Patología del Sistema Inmune. Mensajería Inmunológica: Las Citocinas y sus Receptores, 3ª edición. Madrid (España): Editorial Panamericana. p111-120, 2002.
- 208.- Reneman L, Derwing J. Long-term prospects of malnourished children after rehabilitation at the nutrition rehabilitation center of St Mary's Hospital, Mumias, Kenya. **J Trop Pediat.** 43: 293-296, 1997.
- 209.- Rodriguez L, Gonzalez C, Flores L, Jimenez-Zamudio L, Graniel J y Ortíz R. Assessment by flow cytometry of cytokine production in malnourished children. **Clin Diagn Lab Immunol.** 12(4): 502-7, 2005.
- 210.- Rosado JL, Diaz M. Propiedades físicoquímicas relacionadas con la función gastrointestinal de las fuentes de fibras dietéticas. **Rev Inv Clin.** 47:283-289, 1995.
- 211.- Sánchez Álvarez VM, Inmunocompetencia en la malnutrición proteico-energética. **Rev Cubana Aliment Nutr.** 13(2):129-36, 1999.
- 212.- Sánchez de la Rosa R, Sánchez de la Rosa E, Rodríguez Hernández N. Interleucina-12 vs. enfermedades infecciosas. **Rev Cubana Med.** 40(2):118-2, 2001.
- 213.- Santolaya M, Cofre J, Beresi V. C-reactive protein: A valuable aid for the management of febrile children with cancer and neutropenia. **Clin Infect Dis.** 18: 589-595, 1994.
- 214.- Savino W. The thymus gland is a target in malnutrition. **Eur J Clin Nutr.** 56(Supl 3):46-9, 2002.
- 215.- Sawyerwein R, Mulder J, Mulder L, Lowe B, Peshu N, Pierre N, Vander Meer J, Marsh K. Inflammatory mediators in children with protein-energy malnutrition. **Am J Clin Nutr.** 65:1536-1539, 1997.
- 216.- Scott M, Koski K. Zinc Deficiency Impairs Immune Responses against Parasitic Nematode Infections at Intestinal and Systemic Sites. **J Nutr.** 130: 1412S-1420S, 2000.
- 217.- Scrimshaw N, Sangiovanni J. Synergism of nutrition, infection and immunity: An overview. **American Journal of Clinical Nutrition.** 66 (Suppl 2): 464-477. 1997.
- 218.- Sebnem-Kilic S, Yapici-Kezer E, Ozarda-Ilcol Y, Yakut T, Aydin and Hakki-Ulus I. **J Clin Immunol.** 2005; 25(3):275-280.

- 219.- Sepúlveda M. Soporte nutricional en el niño con estrés metabólico. **IATREIA/VOL.** 12(4): 178-185. 1999.
- 220.- Serrano Hernández A. Células colaboradoras (TH1,TH2,TH17) y reguladoras (Treg,TH3,NKT) en la artritis reumatoide. **Reumatol Clin.** 5(S1):1-5, 2009.
- 221.- Shankar AH, Prasad AS. Zinc and immune function: the biological bases of altered resistance to infection. **Am J Clin Nutr.** 68:447S-465S, 1998.
- 222.- Shevach E. certified professionals: CD4+ CD25+ supresor T cells. **J Exp Med.** 193: F41-F46; 2001.
- 223.- Singh R, Aggarwal A, Misra R. Th1/Th17 cytokine profiles in patients with reactive arthritis/undifferentiated spondyloarthritis. **J Rheumatol.** 34: 2285-2290, 2007.
- 224.- Singla PN, Chand P, Kumar A, Kachhawaha JS. Serum zinc and copper levels in children with protein energy malnutrition. **Indian J Pediatr.** 63(2): 199-203, 1996.
- 225.- Situación de los Derechos de Niñas, Niños y Adolescentes (NNA) a la luz de la Convención sobre los Derechos del Niño. Disponible en: http://www.cerpe.org.ve/boletin/boletin_28/ti28_2.pdf.
- 226.- Situación de Salud en las Américas. Organización Panamericana de la Salud. Capítulo I. 1996.
- 227.- Smith PL, Lombardi G, Foster GR. Type I interferons and the innate immune response-more than just antiviral cytokines. **Mol Immunol.** 42: 869-877, 2005..
- 228.- Solano L, Meertens L, Peña E, Arguello F. Deficiencia de micronutrientes. Situación actual. **An Venez Nutr.** 1: 48-54, 1998.
- 229.- Sormunen P, Kallio MJ, Kilpit, Peltola H. C- reactive protein is useful in distinguishing Gram stain-negative bacterial meningitis from viral meningitis in children. **J Pediatr.** 134(6):725-729, 1999.
- 230.- Souki A, Cano C, Mengual E, García D, Torres D, Almarza J, Urdaneta Y, León L, Chávez Z, Molero E, Medina M, Amell A. Marcadores biológicos de estrés oxidativo: Distribución por edad y sexo de las concentraciones basales de MDA, NO y ácido úrico en niños y adolescentes de Maracaibo-Venezuela. **An Venez Farmacol Toxicol.** 26(2): 92-97, 2007.
- 231.- Spinass A, Keller U, Brockhaus M. Release of soluble receptor of tumor necrosis factor (TNF) in relation to circulating TNF during experimental ndotoxemia. **J Clin Invest.** 90: 533-536, 1992.
- 232.- Stephen Gislason. Immune Mediators Chemical Communication in Immune Networks. Book. Immunology Notes. Disponible en: <http://www.nutramed.com/immunology>.
- 233.- Stephensen C, Jiang X, Freytag T. Vitamin A deficiency increase the in vivo development of IL-10 – positive Th2 cells and decreases development of Th1 cells in mice. **J Nutr.** 2004; 134(10): 2660-6.
- 234.- Stites DP, Abbas AK, Parslow TG. Inmunidad innata: neutrófilos, macrófagos y célula natural killer. En : Inmunología Básica y Clínica. Editorial

- El Manual Moderno. México. 9° Ed. Santa Fe de Bogota. pp 51-91, 1999.
- 235.- Streetz KL, Wustefeld T, Klein C, Manns MP, Trautwein C. Mediators of inflammations and acute phase response in the liver. *Cell Mol Biol.* 47:667-673. 2001.
- 236.- Subcommittee on criteria for dietary evaluation. Coordinating committee in evaluating surveys, food composition surveys. Food and Nutrition Board. Commission of Life Sciences. National Research Council Nutrient Adequacy. National Academy Press. Washington DC. 1986.
- 237.- Suskind R M. The Malnourished Child. En Suskind R M, Textbook of Pediatric Nutrition 2ª ed. New York EUA: Raven Press. pp 127-40, 1992.
- 238.- Tanzer F, Ozalp I. Plasma and leucocytes zinc and copper levels in patient with protein energy malnutrition. *J Trop Pediatr.* 34:306-308, 1988.
- 239.- Tapia F. Linfocitos Th17: Nuevos protagonistas al escenario cutáneo. 2011. (<http://piell.org/blog/archives/category/seccionesdecolaboradores/inmunodermatologia>).
- 240.- Tatli M, Vural H, Kroc H, Kosecik M, Atas A. Altered anti-oxidant status and increase lipid peroxidation in marasmic. *Pediatr Int.* 2000; 42: 289-292.
- 241.- Torun B. Adaptado de: Diplomado a distancia. Módulo II. Tratamiento del niño severamente desnutrido y criterios de recuperación. INCAP. pp 11-12, 2001.
- 242.- Torun V, Viteri FE. Desnutrición Calórico-Proteica. En Nutrición en Salud y Enfermedad. Shils, 9ª Edición. México. McGraw-Hill. pp 1103-34, 2002.
- 243.- Trinchieri G. Interleukin 12: a proinflammatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptative immunity. *Ann Rev Immunol.* 13: 251-276. 1995.
- 244.- UNICEF. El estado mundial de la infancia. pp 109, 2007. Disponible en: <http://www.unicef.org/venezuela/spanish/Cap2.pdf>
- 245.- UNICEF. El estado mundial de la infancia. 2008. Disponible en: www.unicef.org/spanish/sowc08/docs/sowc08sp.pdf.
- 246.- Vallance P, Chan N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. *Heart.* 85: 342-350, 2001.
- 247.- Vásquez-Garibay E. Evaluación nutricia en Pediatría. En Nutrición. Temas de Pediatría. Interamericana. McGraw-Hill. 1996; pp 67-90, 1996.
- 248.- Vega-Franco L, Características clínicas de la desnutrición proteino-energética. En: Alimentación y Nutrición en la Infancia. México D.F.: Mendez Cervantes. pp 153-63 (2ª ed). 1988.
- 249.- Velásquez Pérez A, Larramendy Pita J, Rubio Batista J. Factores de riesgo de desnutrición proteico-energética en niños menores de 1 año de edad. *Revista Cubana Aliment Nutr.* 12(2):82-85, 1998.

- 250.- Velásquez Rodríguez C, Navarro C, González A. Respuesta inflamatoria en niños con desnutrición aguda grave y anemia. **Perspectiva en Nutrición Humana**. 10(2): 131-141, 2008.
- 251.- Velásquez C, Navarro C, Muñoz BC, González A. Inflammatory response in Colombian children with severe protein-energy malnutrition before and after nutritional intervention. **Colomb Med**. 41(2): 121-128. 2010.
- 252.- Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, and Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-Producing T Cells. **Immunity**. 24: 179-189, 2006.
- 253.- Versieck J, Cornellis R. Normal levels of trace elements in human blood plasma or serum. **Anal Chem. Acta**. 116: 217-254, 1980.
- 254.- Vethencourt MA, Pirela M, Sousa P, Acuña M, Cordera R; Baute L. Correlación entre prealbumina, proteína C reactiva e interleukina-6 en niños desnutridos con o sin infección clínica. **Arch Lat Nutr**. 44(3). Suplemento. 1994.
- 255.- Vethencourt MA, Malavé I, Chacón R. Factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa/caquexina) en sobrenadantes de cultivo de células mononucleares (CMSP) de niños con desnutrición proteico-calórica y niños en situación de riesgo nutricional. **Arch Lat Nutr**. 44: (3). Suplemento. 1994.
- 256.- Vicente-Villarroel M, Amesty-Valbuena A, Pereira N, García D, Castillo JL, Nuñez-González, JR. Citocinas TH2 (IL 4 e IL10) en el niño desnutrido. **Arch Venez Puer Ped**. 71(2): 42-47, 2008.
- 257.- Villarroel-Vicente, Monserrat. Proteínas inespecíficas de respuesta inmune en el desnutrido grave. Maracaibo, Venezuela: Universidad del Zulia, Facultad de Medicina. Trabajo de ascenso; 1998.
- 258.- Wapnir RA. Zinc deficiency, malnutrition and gastrointestinal tract. **J Nutr**. 130:1388S-1392S, 2000.
- 259.- Waterlow JC. Malnutrición Proteico-Energética. Organización Panamericana de la Salud. Capítulo I. 1996.
- 260.- Wendling D, Cedoz JP, Racadot E. Serum and synovial fluid levels of p40 IL12/23 in spondyloarthropathy patients. **Clin Rheumatol**. 28:187-190, 2009.
- 261.- Whicher JT, Evans SW. Citokines in disease. **Clin Chem**. 36: 1269-75, 1990.
- 262.- WHO. Zinc. Trace elements in human nutrition and health. Geneva: WHO; 1996: 72-104.
- 263.- WHO Multicentre Growth Reference Study Group: WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. Geneva, World Health Organization, 2006. Disponible en: http://www.who.int/childgrowth/standards/technical_report/en/index.html.
- 264.- Willens. IL-10 inhibits B7 and intracellular adhesion molecule-1

- expression on human monocytes. *Eur J Immunol.* 24(4): 1007-1009. 1994.
- 265.- Wynn TA. T(H)-17: a giant step from T(H)1 and T(H)2. **Nat Immunol.** 6(11):1069-1070, 2005.
- 266.- Xia Y, Zweier L. Superoxide and peroxynitrite generation from inducible nitric oxide synthase in macrophages. **Proc Natl Acad Sci.** 94: 6854-6958, 1997.
- 267.- Yssel H, De Waal Malefit R, Roncarolo MG, Abrams JS, Labesmaa R, Spit H, de Vries JE. IL-10 is produced by subsets of human CD4+T cells clones and peripheral blood T cells. **J Immunol.** 149(7): 2378-2384. 1992.
- 268.- Yue C., Muller-Greven J., Dailey P., Lozanski G., Anderson V., Macintyre S. Identification of a C-reactive Protein Binding Site in Two Hepatic Carboxylesterases Capable of Retaining C-reactive Protein within the Endoplasmic Reticulum. **J. Biol. Chem.** 271: 2245-2250, 1996.
- 269.- Zain BK, Haquani AH, Iffat-Un-Nisa. Serum copper and zinc levels in protein-caloric malnutrition. **Trop Pediatr Env Child Health.** Vol 24(4):198-199, 1978.



VIII. ANEXOS

HISTORIA CLÍNICA

Número de Historia: _____

Paciente N°: _____

Fecha de consulta: _____

Datos aportados por: _____ Parentesco: _____

Instrucción u oficio de la madre: _____ Padre: _____

Paciente: _____ Fecha de nacimiento: _____

Eda cronológica: _____ Edad decimal: _____ Sexo: _____

Raza blanca: _____ Indio: _____ Negro: _____ Mestizo: _____

Dirección: _____ Teléfono: _____

ANTECEDENTES PERINATALES:

AEG: _____ RCI: _____ Peso: _____ Talla: _____

Acude a cuidado diario, preescolar o colegio: Si: _____ No: _____

Cuidados por: _____

Lonchera o merienda en el colegio: Si: _____ No: _____

Actividad física: Si: _____ No: _____ Cual: _____ Horario: _____

Recibe tratamiento: _____

Hierve el agua para tomar o cocinar alimentos: Si: _____ No: _____

RECORDATORIO DE 24 HORAS

Desayuno-Hora: _____ Merienda-Hora: _____

Almuerzo-Hora: _____ Merienda-Hora: _____

Cena-Hora: _____

Realiza meriendas: Siempre: ___ Nunca: ___ Ocasionalmente: ___ Cuantas: _____

Presencia de distracciones: Si: _____ No: _____ Cuales: _____

FRECUENCIA SEMANAL DE CONSUMO DE GRUPOS DE ALIMENTOS

Lácteos: _____ Almidones: _____ Granos: _____ Huevos: _____ Carnes

Frutas: _____ Grasas: _____ Vegetales: _____ Maltas _____ Golosinas:

Frituras: _____ Refrescos: _____

Predominio de consistencia de alimentos: Líquidos: ___ Blandos: ___ Sólidos: ___

Apetito: Bueno: _____ Regular: _____ Malo: _____

Inicio de la pérdida o aumento del apetito:

Dificultad para la masticación: Si: ___ No: ___ Deglución: Si: _____ No: ___

Utiliza biberón: Si: _____ No: _____ Usa utensilios: Si: _____ No: _____

Malnutrición en la familia: _____

DIAGNOSTICO DE OTRAS PATOLOGIAS

EXAMEN FISICO

EVALUACION ANTROPOMETRICA

Talla: _____ P: _____ P/T: _____
Peso: _____ P: _____ P/E: _____
CC: _____ P: _____ T/E: _____

ESTADIO DE MADURACION SEXUAL. TANNER: _____

ESTRATIFICACIÓN SOCIAL

GRAFAR: I _____ II _____ III _____ IV _____ V _____

EVALUACION CLINICA

Estado general

Apatía
Palidez
Irritabilidad
Hiperqueratosis

Labios

Estomatitis
Quilosos

Piel

Petequias
Dermatitis

Cabello

Despigmentación
Hepatomegalia
Desprendimiento
Sequedad
Esplenomegalia

Encías

Esponjosas
Sangrantes

Abdomen

Ascitis

Ojos

Xerosis

Lengua

Atrofia de Paladar
Lengua Magenta
Glositis

Uñas

Frágiles

Otros signos

Edema

Atrofia Muscular

Cardiomegalia

Alergias: Si: _____ No: _____

Tipo:

EVALUACION DE LABORATORIO

Hemoglobina: _____ gr% Hematocrito _____ gr%

Cuenta Blanca _____ mm³

Hemograma: Linfocitos: _____ Monocitos: _____

Eosinófilos: _____ Basófilos: _____

Glicemia: _____ mg/dl Urea: _____ mg/dl

Creatinina: _____ mg/dl Fosfatasa alcalina: _____ mg/dl

Colesterol: _____ mg/dl Triglicéridos: _____ mg/dl

NO: _____ μM MDA: _____ μM

IL-1: _____ pg/mL IL-4: _____ pg/mL

IL-6: _____ pg/mL IL-10: _____ pg/mL

IL-12: _____ pg/mL IL-17: _____ pg/mL

INF-γ: _____ pg/mL TNF-α: _____ pg/mL

Heces:

Orina:

INFORMACION SOCIAL

A.- Grupo familiar: _____

B.- Profesión del jefe de familia: _____

C.- Nivel de instrucción de la madre o el padre: _____

D.- Fuente de ingreso: _____

E.- Condiciones de alojamiento: _____

F.- Gatos de alimentos: _____

DIAGNOSTICO NUTRICIONAL

Desnutrición Leve: _____

Desnutrición Moderada: _____

Desnutrición Grave Marasmo: _____

Kwashiorkor: _____

Marasmo/Kwashiorkor: _____

OBSERVACIONES



IX. PUBLICACIONES