

AUMENTO DE RUPTURAS CROMOSÓMICAS EN NIÑOS CON ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO

Marta E. Cruz*, Velia C. de Tuna*, Louella Cunningham*, Lila Umaña*, Carlos de Céspedes*

Key Words Index: Chromosome, rupture, iron deficiency anemia.

RESUMEN

Se trató de establecer la relación entre la presencia de fracturas cromosómicas y la anemia por deficiencia de hierro en niños.

De 16 niños que cumplieron los requisitos para la investigación, 7 corresponden al grupo en estudio y 9 a casos control.

Los niños se evaluaron antes y después de 3 meses del tratamiento con sulfato ferroso.

Se analizó un promedio de 79 mitosis por niño, obtenidos por cultivo de linfocitos de sangre periférica, encontrándose un mayor porcentaje, estadísticamente significativo ($p = 0.0037$) de fracturas cromosómicas en los niños anémicos con respecto a los controles. Posterior al tratamiento, la reducción del número de fracturas fue también estadísticamente significativa ($p = 0.0335$), pero sin alcanzar las cifras de los controles, a pesar de la normalización de los valores hematológicos. Descriptores: cromosomas, rupturas, anemia ferropénica. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1986; 7(3):255-261.

INTRODUCCIÓN

La deficiencia de hierro es la causa más común de las anemias, tanto en los países en desarrollo como en los industrializados (9, 12, 18, 30, 35). También es un hecho conocido que la deficiencia de este mineral produce además de las alteraciones hematológicas, otras que se localizan a nivel de órganos y tejidos (4, 6, 8, 10, 16, 25).

Se ha relacionado el hierro con procesos de replicación de ADN, como parecen demostrarlo los trabajos de Robbins, E. and T. Pedersen (27), quienes encontraron que los compuestos de hierro juegan un papel importante en el proceso mitótico.

En la desnutrición energético proteica, se ha

* Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA), Apdo. 4, Tres Ríos. Costa Rica.

** Facultad de Medicina, Universidad de Costa Rica, San Pedro, Montes de Oca. Costa Rica.

Trabajo presentado en el IV Congreso Nacional de Pediatría, 1985. San José, Costa Rica.

reportado un aumento significativo en la incidencia de rupturas cromosómicas, tanto en niños (1, 3, 15), como en animales de laboratorio (20, 22, 34).

Se sabe que en Costa Rica, al igual que en otros países del área centroamericana, los niños preescolares constituyen un grupo de población muy susceptible a padecer de anemia ferropénica, como lo demuestran las últimas dos Encuestas Nutricionales realizadas en el país (11, 32).

Además están los hallazgos casuales ocurridos en el Laboratorio de Citogenética de INCIENSA. Se observó que niños con anemia ferropénica mostraban un porcentaje de fracturas cromosómicas mayor del esperado para niños sanos, el cual disminuía con la administración de hierro. Esto nos motivó para llevar a cabo este estudio en niños pequeños que padecieran de anemia ferropénica libres de otras complicaciones, buscando en forma controlada la posible asociación entre deficiencia de hierro y aumento en el número de fracturas cromosómicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Grupo experimental:

Se seleccionó 12 niños con anemia por deficiencia de hierro, que cumplieron con los siguientes requisitos: ser menor de 3 años, no haber estado expuestos a rayos X en los 6 meses anteriores a la toma de la muestra (5,24) ni haber sufrido infecciones virales (2,23) o tratamiento con antibióticos en el último mes, tener peso para talla y talla para edad adecuados, de acuerdo a las tablas del N.C.H.S. (National Center for Health Standards). Cinco de los niños fueron eliminados del estudio, por no cumplir con alguno de los requisitos. Todos los niños fueron evaluados por un pediatra.

Los datos antropométricos y hematológicos del grupo de estudio, se resumen en los Cuadros 1 y 3.

A los niños del grupo experimental, se les tomó una muestra de sangre periférica por punción del dedo, al inicio y al final de un período de 3 meses de administración de FeSO_4 (6 mg/kg/día de hierro elemental). A los niños control se les tomó la muestra una sola vez, para realizar los

siguientes análisis:

1. Para detectar las fracturas cromosómicas, se sembró 2 capilares de sangre total heparinizada en 5 ml de medio Mc Coy's 5A (Gibco) complementando al 15 por ciento con suero fetal bovino, adicionado de glutamina (0.3 mg/ml conc. final) y fitohemaglutinina M (Difco) (50 ml por cultivo de 5 ml de medio) e incubados por 72 horas, procesándose de acuerdo a las técnicas usuales (19). Los cultivos se hicieron por duplicado. El número total de fracturas se determinó en 79 mitosis como promedio, tanto en los niños del grupo de estudio, como en los controles. Las rupturas cromosómicas fueron clasificadas de acuerdo a E. Gebhart (13).
2. Análisis hematológico (por duplicado)
 - a. Concentración de hemoglobina por método rutinario de la cianometahemoglobina (33).
 - b. Hematocrito por el método del microhematocrito (29).
 - c. Protoporfirina eritrocítica unida al zinc. Se analizó en sangre heparinizada y protegida de la luz, utilizando el método automatizado en un hematofluorómetro (26).

Los siguientes parámetros fueron considerados como indicadores de una deficiencia de hierro:

- i. Valores de hemoglobina inferiores a 10 g/dl de sangre.
- ii. Valores de protoporfirina eritrocitaria unida a zinc (PE-Zn) mayores de 3.5 ug/g de hemoglobina.
- iii. Respuesta positiva a tratamiento con sulfato ferroso: aumento significativo de hemoglobina.

El análisis estadístico de los datos se realizó por contraste de promedios, utilizando la "T" de student.

Grupo control:

De los 12 niños no anémicos seleccionados inicialmente, 3 no cumplieron los requisitos del estudio. Las características hematológicas y antropométricas de los 9 niños, se resumen en los cuadros 2 y 4.

RESULTADOS

En los cuadros 1 y 2 se muestran las características de edad, sexo y medidas antropométricas de los niños del grupo experimental y del grupo control respectivamente. Los datos hematológi-

cos del grupo control se muestran en el cuadro 4 y en el cuadro 3 los valores hematológicos de los niños del grupo anémico, antes y después del tratamiento con hierro. En todos hubo respuesta terapéutica, la cual en cifras de hemoglobina implicó aumentos individuales comprendidos entre 0.8 y 3.9 gramos por decilitro. Además la diferencia entre los promedios de hemoglobina y hematocrito resultó estadísticamente significativa ($p = 0.0012$ y $p = 0.018$) respectivamente. En cuanto a las cifras a PE-Zn hubo descensos muy evidentes a nivel de cuatro niños, pero aún así, la diferencia de promedios no fue significativa ($p = 0.0912$). Únicamente en 3 niños, la cifra alcanzó los niveles de normalidad después del tratamiento, lo cual señala que en los cuatro restantes aún persistía la deficiencia de hierro para eritropoyesis.

En el cuadro 5 se indica el número absoluto de fracturas cromosómicas encontradas en las mitosis observadas en cada niño del grupo control y la cifra correspondiente a los porcentajes. El valor más alto corresponde al 2.4 por ciento y el promedio a 1.1 por ciento. En el cuadro 6, aparece el mismo tipo de información para todos los niños del grupo anémico, al inicio y al final del tratamiento con hierro.

En todos estos niños el porcentaje de fracturas antes del tratamiento fue superior a 3.2 por ciento y por ende superior al de cualquiera de los niños controles. La diferencia entre los promedios correspondientes (controles y anémicos antes del tratamiento) resultó estadísticamente significativa ($p = 0.0037$) Cuadro 7. Al final del tratamiento, en cuatro de los 7 niños (A-3, A-4, A-5 y A-6) el porcentaje de fracturas cromosómicas había disminuido drásticamente, en dos de ellos (A-2 y A-7) la cifra se mantuvo siendo superior a cualquiera de las correspondientes a los niños control y en uno subió (A-1). La diferencia entre los promedios de porcentaje inicial y final, resultó estadísticamente significativa ($p = 0.0335$).

El Cuadro 7 muestra que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los valores promedio de hemoglobina y hematocrito de los niños anémicos al final del tratamiento y los de los controles ($p = 0.162$) y $p = 0.490$) respectivamente, lo cual indica que el estado de anemia de los niños se recuperó con el tratamiento. Sí hubo diferencia para los valores de protoporfirina ($p = 0.008$) y de porcentaje de fracturas cromosómicas ($p = 0.014$), lo cual sugiere que aún ante esa normalidad hematológica aparentemente, persiste la carencia de hierro.

CUADRO 1**CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS DE LOS NIÑOS CON ANEMIA
POR DEFICIENCIA DE HIERRO AL INICIO DEL ESTUDIO**

Código	Sexo	Edad Meses	Peso Kilog.	Talla CM.	% Adecuación P/T*	% Adecuación T/E*
A1	M	24	11.6	86.0	94.0	100.5
A2	M	14	9.6	76.0	95.6	97.0
A3	M	14	9.8	79.0	91.6	100.8
A4	M	15	10.4	76.0	103.5	95.7
A5	M	16	10.8	83.0	93.7	103.2
A6	M	04	7.4	64.5	106.3	101.3
A7	F	13	10.5	75.4	108.5	99.9
\bar{x}		14,3	10.0	77.1	99.0	99.8

* De acuerdo a las Tablas del N.C.H.S.

P/T = Peso para talla

T/E = Talla para edad

CUADRO 2**CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS DE LOS NIÑOS DEL GRUPO CONTROL**

Código	Sexo	Edad Meses	Peso Kilog.	Talla CM.	% Adecuación P/T*	% Adecuación T/E*
C-1	F	24	9.8	76.0	98.4	90.0
C-2	M	19	11.6	84.0	98.9	100.8
C-3	M	17	11.2	82.0	98.9	100.7
C-4	M	06	7.4	69.5	88.0	102.5
C-5	M	17	13.6	81.0	122.3	99.5
C-6	M	09	8.7	77.0	84.7	106.5
C-7	M	15	10.7	69.0	121.0	86.9
C-8	F	31	11.8	88.5	93.7	98.1
C-9	F	09	9.2	71.5	104.9	101.5
\bar{X}		16.3	10.4	77.6	101.2	98.5

* De acuerdo a las Tablas del N.C.H.S.

P/T = Peso para talla

T/E = Talla para edad

CUADRO 3

**CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DE LOS NIÑOS ANÉMICOS
AL INICIO Y FINAL DEL TRATAMIENTO**

Código	Hb g/dl		Hematocrito %		PE-Zn ug/g Hb**	
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final
A-1	7,2	10,6	30	33	5,3	5,3
A-2	8,8	10,3	30	39	12,1	3,2
A-3	9,4	11,5	30	34	6,5	4,1
A-4	8,3	10,7	27	33	7,4	3,8
A-5	9,8	13,7	32	39	5,8	2,6
A-6	9,5	10,7	32	34	-	2,7
A-7	9,9	10,7	30	32	6,2	6,6
\bar{X}	9,0	11,2	30,1	34,9	7,2	4,0
P	0,0012		0,0018		0,0912*	

* Diferencia estadísticamente no significativa

** PE-Zn = Protoporfirina eritrocítica unida al zinc.

CUADRO 4

**CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS
DE LOS NIÑOS DEL GRUPO CONTROL**

Código	Hb g/dl	Hto %	PF-Zn* ug/g Hb
C-1	11,8	33	2,1
C-2	12,4	36	3,3
C-3	12,3	36	2,6
C-4	10,8	33	2,4
C-5	12,2	37	3,7
C-6	10,9	33	3,0
C-7	10,7	35	1,6
C-8	12,5	37	1,5
C-9	11,5	34	1,7
\bar{X}	11,7	34,9	2,4

* PF-Zn = Protoporfirina eritrocítica unida al zinc.

CUADRO 5

**FRACTURAS CROMOSÓMICAS
EN LOS NIÑOS CONTROL**

Código	No. Mitosis (Observadas)	No. Fracturas (Por Niño)	% Fracturas
C-1	70	1	1,4
C-2	85	0	0
C-3	85	1	1,2
C-4	85	0	0
C-5	85	2	2,4
C-6	70	1	1,4
C-7	70	1	1,4
C-8	80	0	0
C-9	85	2	2,4
\bar{X}	79,4	0,9	1,1

CUADRO 6
FRACTURAS CROMOSÓMICAS EN NIÑOS ANÉMICOS
AL INICIO Y FINAL DEL TRATAMIENTO

Código	No. Mitosis		Fracturas			
	Inicio	Final	Inicio		Final	
			No.	%	No.	%
A-1	95	80	3	(3.2)	4	(5.0)
A-2	50	85	2	(4.0)	4	(4.7)
A-3	80	85	6	(7.5)	0	(0.0)
A-4	75	80	5	(6.7)	1	(1.3)
A-5	75	85	14	(18.7)	4	(4.7)
A-6	90	80	14	(15.6)	2	(2.5)
A-7	80	62	3	(3.8)	2	(3.2)
\bar{X}	78.8	81.4	6.7	(8.5)	2.4	(3.2)

P = 0.0335

CUADRO 7
COMPARACIÓN DE LOS VALORES PROMEDIO DE LOS NIÑOS ANÉMICOS
ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON LOS DE LOS CONTROLES

Parámetro	Anémicos		Controles
	Antes tr.	Desp. tr.	
Hemoglobina g/dl	8.99 a	11.15 b	11.68 b
Hematocrito %	30.14 a	34.86 b	34.89 b
Protoporfirina (PE-Zn ug/gHb)	7.22 a	4.03 a	2.43 b
Fracturas %	8.50 a	3.05 b	1.13 d

Las diferencias entre valores con letras diferentes (a-b, a-d, b-d) son estadísticamente significativas, (P < 0.01) mientras que valores con letras iguales (a-a, b-b), no lo son.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En los últimos 15 años, han salido a la luz investigaciones en humanos y en animales que evidencian la asociación entre rupturas cromosómicas e intercambio de cromáticas hermanas y la deficiencia proteínica energética (1,3,21-28). Sin embargo, no se encontró ningún informe previo con relación a la carencia de hierro, a pesar de ser esta la deficiencia nutricional más frecuente.

Según German (14) las rupturas cromosómicas tienen consecuencias muy variadas incluyendo muerte celular, lo cual puede ser causa de un desarrollo embrionario anormal. Por lo tanto, se presume que uno de los posibles mecanismos en la génesis de los defectos congénitos, es la muerte celular en los órganos en desarrollo (14). Además se conoce con certeza, que para que ocurran rearrreglos cromosómicos es necesaria la ruptura previa de cromosomas (31). También se sabe que durante el desarrollo embrionario, esto tiene implicaciones de una gravedad que va a depender tanto del período de embriogénesis como del tipo de células, es decir, si afecta las germinales o las somáticas.

Los cambios cromosómicos que ocurren en la célula, sin producirle la muerte, pueden dar origen a translocaciones, inversiones, deleciones o duplicaciones de segmentos de cromatina, transmisibles de célula a célula (14,31).

Con los conocimientos actuales es difícil identificar las consecuencias clínicas derivadas de las fracturas cromosómicas que ocurren después del nacimiento. El presente trabajo tiene algunas limitaciones, como el tamaño de la muestra y el hecho de trabajar con seres humanos, lo cual hace difícil controlar todos los factores ambientales que favorecen el aumento en la frecuencia de fracturas cromosómicas (2,5,23,24). Sin embargo, creemos importante reportar la asociación encontrada entre estas y la anemia ferropriva. Es importante resaltar la gran diferencia entre el número de rupturas cromosómicas antes y después del tratamiento con hierro en cuatro de los niños del grupo anémico. Es posible que a esto se deba la fuerte diferencia estadística entre los dos promedios de porcentajes, a pesar de que en los 3 niños restantes, el comportamiento fue diferente. No obstante, en los tres, el número de rupturas siguió siendo superior al de los niños controles.

En los niños A1 y A7 persistió la deficiencia de hierro para eritropoyesis (de acuerdo a la cifra de PE-Zn) y eso explicarla la no recupera-

ción cromosómica.

El comportamiento del niño A-2 resulta inexplicable para los efectos de este estudio, ya que a pesar de haber recuperado casi su deficiencia de hierro, persistió la cromosómica.

El hierro forma parte de enzimas tan importantes como a ribonucleótido reductasa (17) y además actúa como cofactor de otras. Una deficiencia de hierro podría alterar la síntesis de los ácidos nucleicos, haciendo al cromosoma más susceptible a sufrir rupturas.

Mediante este informe, dejamos la inquietud de si esta asociación que resultó estadísticamente significativa, a pesar de las limitaciones metodológicas apuntadas, puede ser causa directa de rupturas cromosómicas, y de ser así, si podría contribuir a la génesis de malformaciones genéticas defectos en el crecimiento y desarrollo. Pretendemos además que sirva como base para futuros estudios en este tópico, utilizando una muestra más grande de niños, con seguimiento a mayor plazo, hasta lograr la recuperación total, no sólo de la anemia, sino de la deficiencia latente de hierro, para lo cual se deberá medir los niveles de ferritina sérica (7). Asimismo, creemos deben hacerse experimentos con animales de laboratorio, lo que permitiría un mejor control de las diferentes variables.

ABSTRACT

The presence of chromosome breaks in iron deficient anaemic children (n= 7) was studied. The control group was nine healthy matched children.

The chromosomal evaluation was performed before and after supplemental iron treatment.

A significant increase in chromosome breaks was found in the anaemic group when compared to the control group ($p= 0.0037$).

Moreover, the anemic group showed a significant reduction of the rate of chromosome breaks after iron treatment ($p= 0.0335$).

The possible role of such chromosome abnormalities is discussed.

BIBLIOGRAFÍA

1. Armendares, S., F. Salamanca and S. Frenck. Chromosome abnormalities in severe protein calorie malnutrition. *Nature* 1971; 232: 271-273.
2. Bartsh, H.D. Virus induced chromosomal alterations in mammals and man. In: *Chemical mutagenic in mammals and man*. Berlin: Springer Verlag, 1970; 420-432.

3. Betancourt, M., J.M. De la Roca, M.E. Sáenz, R. Díaz and J. Cravioto. Chromosome aberrations in protein calorie malnutrition. *Lancet* 1974; 1: 168.
4. Bothwell, T.H. and R.W. Charlton. A general approach to the problems of iron deficiency and iron overload in the population at large. *Sem. Hematol* 1982; 19: 54-67.
5. Buckton, K.E., P.A. Jacobs, W.M. Court-Brown., R. Doll. A study of the Chromosome damage persisting after X-ray therapy for the ankylosing spondylitis. *Lancet* 1962; 1:676-682.
6. Canale, V., P. Lanzkowsky. Cellular growth in specific nutritional deficiency states in rats. I. Iron deficiency anaemia in post-weaning period. *Br. J. Haematol*, 1970; 19:579-586.
7. Cook, J.D. Clinical Evaluation of Iron deficiency. *Seminar in Hematology* 1982; 19:6-17.
8. Dallman, P.R. Manifestations of iron deficiency. *Sem. Hematol*. 1982; 19:19-30.
9. Dallman, P.R. y P.C. Johnson. Prevalence and causes of anemia in the United States. *Am. J. Clin. Nutr.* 1984; 39:437-445.
10. Dallman, P.R. Biochemical basis for the manifestations of iron deficiency. *Ann. Rev. Nutr.* 1986; 6:13-40
11. Flores, M. y J. Aranda-Pastor. Evaluación dietética a nivel nacional en Costa Rica: Cambios en una década. *Arch. Latinoam. Nutr.* 1980; 30:432-450.
12. Flores, M., J. Rodríguez, I. Santisteban, A.G. Aráuz y C. de Céspedes. Un problema nutricional activo: La deficiencia de hierro y anemia en la mujer embarazada. *Rev. Cost. Cienc. Med.* 1984; 5:52-60.
13. Gebhart, E. The treatment of human chromosome in vitro: Results In: *Chemical mutagens in mammals and man*. Berling: Vogel, 1979; 367-382.
14. German, J. Clinical Implication of chromosome breakage. In: *Genetic damage in man caused by environmental agents*. Edited by Kare Berg New York: Academic Press, 1979; 65-86.
15. Gupta, R., M. Gupta and I.N. Ramdeo. Chromosomal abnormalities in protein calorie malnutrition. *Am J. Clin. Nutr.* 1977; 30:1974-1978.
16. Huebers, H., C.A. Funch. Clinical aspects of iron deficiency. *Sem. Hematol*. 1982; 19:3-5.
17. Jacobs, A. The non-hematological effects of iron deficiency. *Clin. Sci. Mol. Med.* 1977; 53:105-109.
18. Lechtig, A. y G. Arroyave. El problema nutricional en América Latina: definición causas y líneas de acción para aliviarlo. *Bol. Of. Sanit Panam.* 1979; 86:478-494.
19. Moorhead, P.S., P.C. Nowell, W.J. Mellman, D.M. Battips and D.A. Hungerford. Chromosome preparations of leukocyte cultural from the man peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* 1960; 20:613-616.
20. Murthy, P.B. Elevated fetal chromosomal damage in malnourished pregnant rats. *Metabolism*. 1984; 36:489-490.
21. Murthy, P.B., P. Bhaskaram and S.G. Srikantia. Sister chromatid exchanges in protein-energy malnutrition. *Hum. Genet.* 1980; 55:405-406.
22. Murthy, P.B. and S.C. Srikantia. S. C. E. frequency in malnourished mice. *Metabolism*. 1981; 30:1-2.
23. Nichols, W.W. The Role of viruses in the etiology of chromosomal abnormalities. *Am. J. Hum. Gen.* 1986; 18:81-92.
24. Nordenson, I., C. Beckman, L. Beckman and R. Lemperg. Chromosomal aberrations in children exposed to diagnostic X rays. *Hereditas*. 1980; 93:177-179.
25. Oskie, F.A. and H.A. Pearson. Introduction to: *Iron nutrition revisited*. Infancy, childhood, adolescence. Columbus, Ohio: Ross Laboratories, 1980; 1-2.
26. Piomelli, S. Free erythrocyte porphyrins in the detection of undue absorption of Pb and iron deficiency. *Clin. Chem.* 1977; 23:264-269.
27. Robbins, E. and T. Pederson. Iron: Its intracellular localization and possible role in cell division. *Proc. Natl Acad. Sci.* 1970; 66:1244-1251.
28. Sadasivan, G and T.C. Raghuram. Chromosomal aberrations in malnutrition. *Lancet*. 1973; 2:574.
29. Sáenz, G.F., G. Arroyo, F. Atmella, M. Alvarado, K. Schosinsky. Hematología Teórico-Práctica: *Morfología hematológica*. San Pedro de Montes de Oca. Editorial Universidad de Costa Rica, 1977; 81-82.
30. Sjölin, S. Anaemia in Adolescence, *Nutr. Rev.* 1981; 39:96-98.
31. Strickberger, N.W. *Genetics* 2da. ed. London: P. Collier MacMillan, 1976: cap. 22:495-529.
32. Tuna de Velia, C. Díaz Amador. Evaluación hematológica de la población preescolar de Costa Rica. Un análisis de la Encuesta Nutricional de 1982 - Resumen presentado en Congreso Nacional de Salud ACOSP — abril 1987; San José, Costa Rica.
33. Valenciano, E., K. Schosinsky y G. F. Sáenz, Estudio crítico y experimental de la hemoglobinometría. *Sangre* 1979; 24:1133-1141.
34. Vijayalaxmi. Chromosomal aberrations in malnutrition. *Metabolism* 1975; 24:1415-1417.
35. Viteri, F.E. and M.A. Guzmán. Haematological status of the Central American Population: Prevalence of individuals with haemoglobin levels below "normal". *Br. J. Haematol*, 1972; 23:725-735.