

Enfermedad perinatal y viabilidad celular renal postmortem *in vitro* en el Hospital Universitario del Valle, Cali

Alvaro Dueñas L., M.D.¹, William David Criollo, Bact.²,
Ana Julia Miranda de Bernal, Trab. Soc.³, José Ever Piamba, Tec. Lab.⁴

RESUMEN

Se estudiaron 357 neonatos - 3 días de edad, fallecidos en la sala de Cuidados Intensivos del Recién Nacido (CIRENA) y 39 mortinatos de la sala de partos, del Hospital Universitario del Valle (HUV) en Cali, Colombia, para buscar posibles relaciones entre los antecedentes de enfermedad perinatal y la viabilidad celular renal postmortem (VCRP) *in vitro*. Se logró demostrar una VCRP total de 60%. Ésta fue significativamente mayor en mortinatos $\leq 2,500$ g de peso (88%), y significativamente menor en neonatos de $> 2,500$ g de peso al nacer con antecedente materno de eclampsia (26%). Además, se observó una tasa de mortalidad hospitalaria de 22% en los 3,628 neonatos admitidos a CIRENA entre octubre 1, 1992 y diciembre 31, 1994. El mayor riesgo de muerte fue para los neonatos ≤ 3 días de edad (16%) y el menor para aquellos entre los 4 y 7 días de edad (2%). Los antecedentes maternos de enfermedad perinatal más comunes fueron eclampsia (33%) y ruptura prematura de membranas (31%). La mayoría de los neonatos admitidos a CIRENA (73%) fueron $\leq 2,500$ g de peso al nacer.

Palabras claves: Cultivos celulares. Riñón. Eclampsia. Enfermedad perinatal.

El desarrollo de los cultivos celulares *in vitro* se originó en los trabajos de Harrison y Carrel en relación con las perspectivas del transplante de órganos^{1,2}. Su aplicación en la investigación médica adquirió enorme importancia en los trabajos de Enders, Weller y Robbins, quienes descubrieron que el virus de la poliomielitis se podía replicar en cultivos de células *in vitro* provenientes de tejido embrional de riñón humano y otros órganos³. Este hecho condujo al descubrimiento de muchos virus y al desarrollo de vacunas contra la poliomielitis y el sarampión entre otras^{4,5}.

En las últimas dos décadas, la metodología de los cultivos celulares *in vitro* ha visto aplicación en un

campo muy amplio de la investigación biomédica. El costo y la dificultad cada vez mayores de investigar en animales de experimentación *in vivo* ha estimulado la adopción de los cultivos celulares *in vitro*. Los estudios experimentales *in vivo* en animales de laboratorio presentan limitaciones particulares no sólo por la sensibilidad creciente que despiertan en grupos sociales orientados a proteger a los animales y a conservar las especies, sino también por razones económicas. Estas, son obviamente determinantes en países con escasos recursos para los estudios científicos. En los últimos 50 años, la tecnología de los cultivos de células *in vitro* ha tenido un crecimiento extraordinario

y ofrece una alternativa muy eficaz a la experimentación con animales, para el desarrollo de las investigaciones biomédicas. Hsu⁶ resumió las ventajas de los sistemas de cultivos celulares. Aunque su aplicación más importante se ha visto en el estudio de los virus en los aspectos básicos, epidemiológicos, clínicos y de desarrollo de vacunas, su contribución al avance de la investigación en otras áreas de la medicina y la biología ha sido muy significativa. Si bien es cierto que el uso de animales es aún imprescindible para algunos tipos de experimentación médica, hay muchas situaciones en las que la tecnología de las células vivas *in vitro* puede reemplazar de manera muy eficiente a los primeros.

Por otra parte, hay gran cantidad de estudios que son posibles de realizar mediante los cultivos celulares *in vitro*. Por ejemplo, la replicación y transcripción de ácido deoxirribonucleico, síntesis de proteínas, hormonas y enzimas, metabolismo ener-

1. Profesor Titular (R), Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Básicas Médicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle. Director Programa IN VITRO, Cali, Colombia.
2. Bacteriólogo, Programa IN VITRO, Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Básicas Médicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
3. Trabajadora Social, Coordinadora Programa IN VITRO, Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Básicas Médicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
4. Técnico de Laboratorio, Programa IN VITRO, Departamento de Microbiología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

gético, transformación celular e investigación en citogenética, y en el conocimiento de los mecanismos de la carcinogénesis. Es de considerable importancia e interés, la introducción de la tecnología de fusión celular *in vitro* de especies diferentes (hibridación) que condujo al desarrollo tecnológico de los anticuerpos monoclonales y a todo un nuevo campo de estudio dentro de la genética⁷⁻⁹.

Los cultivos celulares primarios son el crecimiento inicial de las células extraídas de un tejido. Estos cultivos conservan las propiedades de las células iniciales en los primeros dos o tres subcultivos, pero el crecimiento celular se agota después de más subcultivos y/o las células pierden algunas de sus características biológicas. Los cultivos celulares primarios derivados de tejido pulmonar normal o dérmico se convierten en líneas celulares diploides de fibroblastos de crecimiento finito que permiten 20 ó más subcultivos antes que decline su crecimiento. Los cultivos celulares originados en tumores malignos se pueden multiplicar infinitamente y dar lugar a líneas celulares de crecimiento continuo ("inmortales")¹⁰.

El empleo de la tecnología de los cultivos celulares ha sido posible por el establecimiento de los bancos de células que mantienen congeladas en nitrógeno líquido (-190° C) una gran diversidad de líneas celulares y de crecimiento continuo a disposición de la comunidad científica mundial. El más importante es el American Type Culture Collection (ATCC) en Rockville, Maryland, que posee en la actualidad más de 2,500 tipos de líneas celulares e hibridomas, que se derivan de 40 especies distintas de animales y muchas de origen humano.

Las líneas celulares diploides y de crecimiento continuo, no cubren la susceptibilidad necesaria para el ais-

lamiento de todos los virus que se asocian con infecciones limitadas al hombre. Solamente los cultivos primarios de células epiteliales que se derivan de tejido renal de primate no humano (e.g., Rhesus), presentan esta aptitud^{11,12}. Su alto costo no permite adaptarlos de rutina para estudios de virus en medios con bajos recursos económicos. Los cultivos celulares que se hacen a partir de tejido renal neonatal humano postmortem (CRH) son una excelente opción para tal fin, por su gran susceptibilidad para el aislamiento de todo tipo de virus de infecciones propias del hombre¹³ y su menor costo. Por ejemplo los adenovirus, que tienen gran importancia en la etiología de neumonías fatales en niños, se aíslan con mayor eficiencia en este tipo de cultivos celulares que en cualquier otro. La utilidad de estos cultivos celulares en el estudio de las infecciones por virus entéricos también la destacaron Ramos-Álvarez *et al.* en México. Otros autores además han enfatizado la preferencia de CRH para el aislamiento de adenovirus¹⁴⁻¹⁷. Asimismo se publicaron varios estudios epidemiológicos y clínicos hechos en Cali con esta metodología, sobre infecciones virales gastrointestinales, respiratorias y del sistema nervioso central en niños, y del sistema genitourinario en mujeres¹⁸⁻²². Esta ventaja se extiende al estudio de los adenovirus como modelo de carcinogénesis viral pues son los únicos virus humanos en los que se ha demostrado su capacidad de producir cáncer cuando se inoculan en hamsters²³. Los cultivos celulares primarios de tejido renal humano postmortem constituyen, por tanto, un excelente sistema para estudios biomédicos.

La viabilidad de las células extraídas de tejido de animales de experimentación es casi del 100%. Esta alta viabilidad celular se debe al estado fisiológico normal del animal y al cor-

to tiempo entre el sacrificio y la obtención del tejido²⁴. No se han encontrado publicaciones sobre viabilidad celular *in vitro* de tejido renal neonatal humano postmortem en relación con enfermedad perinatal. El presente estudio pretende conocer las posibles relaciones entre los antecedentes de enfermedad perinatal y la viabilidad de las células renales cultivadas *in vitro* a partir de tejido neonatal postmortem en el Hospital Universitario del Valle (HUV) en Cali, Colombia, para mejorar la eficiencia de este recurso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Datos clínicos. Se recolectaron los datos de antecedentes maternos de enfermedad perinatal de todas las admisiones de neonatos ≤ 3 días de edad referidos por la sala de partos del HUV y otros centros periféricos de atención médica, a la sala de Cuidado Intensivo del Recién Nacido (CIRENA), y de los mortinatos del HUV en Cali, Colombia, por un período de 27 meses, entre octubre 1 de 1992 y diciembre 31 de 1994.

Los estudios postmortem se efectuaron en los neonatos fallecidos dentro del HUV ≤ 3 días de edad y en los mortinatos, previa autorización informada. No se consideraron para necropsia los casos de neonatos fallecidos ≥ 4 días de edad, para evitar un mayor riesgo de infección nosocomial (observaciones personales). Tampoco se examinaron los casos no autorizados, o que pudieran presentar algún deterioro macroscópico o con > 3 horas postmortem.

Obtención de tejido renal. El tejido renal se obtuvo del neonato dentro de las primeras 3 horas post-mortem mediante técnica aséptica. En breve, se aplicó con guantes y gasa estéril una solución al 10% de yodo (Wescodyne®) sobre el dorso del cuerpo. Con instrumentos igualmente

estériles, se hizo una incisión paravertebral bilateral y se disecó el tejido hasta obtener tejido renal. Este se colocó inmediatamente en un recipiente estéril con medio de transporte (medio mínimo esencial de Eagle en sales de Hank) adicionado de peptona y antibióticos, refrigerado a 4° C y mantenido así hasta su proceso en el laboratorio.

Obtención de células renales. El tejido renal se transportó a 4° C en el medio antes descrito y se procesó en el laboratorio de In Vitro del Departamento de Microbiología de la Universidad del Valle, en Cali, Colombia, dentro de las primeras 24 horas de su recolección. El tejido se cortó en fragmentos pequeños en condiciones de esterilidad, con el empleo de una cabina de flujo laminar de bioseguridad y técnicas asépticas. La extracción de las células se efectuó por digestión enzimática de acuerdo con técnicas convencionales modificadas por Freshney mediante el uso de colagenasa tipo IV. Las células se suspendieron después en medio mínimo esencial de Eagle en sales de Hank. La viabilidad de las células se determinó por el método de exclusión de azul tripán. Este es un colorante vital al que es impermeable la membrana celular de las células vivas, pero no lo es la de las células muertas, que sí se tiñen por el colorante^{10,25}. Para la coloración se mezclaron 0.1 ml de suspensión de células y 0.9 ml de solución de azul tripán al 0.4%.

El recuento de las células viables se hizo al microscopio (10X) en un hemacitómetro (cámara de Neubauer). Se definió "caso con células viables" aquel donde la viabilidad celular o número de células identificadas al microscopio en términos de exclusión de azul tripán fue $\geq 50\%$.

Estudios microbiológicos. Se realizaron estudios microbiológicos postmortem en los casos recolecta-

dos en 1994, con hemocultivo por punción intracardíaca, cultivo de fluido intratisular y cultivo de la suspensión misma de las células renales. En los casos con células no viables se omitió el cultivo de fluido intratisular y las células renales se inocularon en cultivos de fibroblastos de pulmón humano para investigar la presencia de citomegalovirus (CMV).

Cada una de las muestras se inoculó en 3 medios de cultivo diferentes: tioglicolato de sodio, tripticasa soya e infusión cerebro corazón (BHI). Se incubaron por 15 días a 37° C. Luego se hicieron repiques de estos medios en agar sangre de cordero y en agar chocolate con isovitalex. Se consideraron negativas las muestras que a las 48 horas de incubación en recultivo no mostraban crecimiento bacteriano.

Se definió como caso con sepsis aquel con cultivos para ≥ 1 bacteria(s) significativamente patógena(s) en > 1 de las muestras.

Análisis estadístico. Para realizar el análisis estadístico se definió proporción de viabilidad como el cociente de dividir el número de casos viables entre el total de necropsias realizadas. Como medida de fuerza de asociación se utilizó la razón de proporciones (RP) con intervalos de confianza (IC) de 95%, descrito en el paquete estadístico EPI INFO versión 6.0 (Statcal). Como prueba de significancia estadística se aplicó el χ^2 de Mantel-Haenszel.

RESULTADOS

Entre octubre 1 de 1992 y diciembre 31 de 1994, la sala de CIRENA del HUV, registró 3,628 admisiones de neonatos (≤ 28 días de edad). Esto equivale a un promedio de 134 admisiones por mes ó 4.5 por día. De estos, 2,578 (71%) fueron de sala de partos intrahospitalaria y 897 (25%)

fueron referidos de otros centros periféricos. No se logró establecer la procedencia de 153 (4%) admisiones. Casi todas las admisiones (68%) fueron de neonatos ≤ 3 días de edad.

En total se registraron 787 muertes neonatales para una tasa de mortalidad hospitalaria de 22%, con un mayor riesgo para el grupo de 0-3 días de edad con 587 (16%) muertes y el menor riesgo para el grupo de 4-7 días de edad con 58 (2%) muertes. Si la edad del neonato era igual o mayor a 8 días, su riesgo de muerte intrahospitalaria era de 4% (Cuadro 1); 73 neonatos de este último grupo murieron el mismo mes de admisión y los 69 restantes murieron el mes calendario siguiente o siguientes, con una estancia promedio de 17 días. Se observó entonces, una tasa total de sobrevivencia del neonato a la hospitalización en CIRENA cercana a 80%.

Se lograron analizar los antecedentes maternos de enfermedad perinatal en 1,214 neonatos (49%) del total de 2,469 registrados con ≤ 3 días de edad. No hubo información sobre los antecedentes maternos en los restantes 1,255 neonatos.

De ellos, 889 (73%) o casi 3 de cada 4 fueron neonatos con $\leq 2,500$ g de peso al nacer o bajo peso al nacer (BPN). El antecedente de enfermedad perinatal más frecuente en ambos grupos fue eclampsia con un total de 407 (33%) casos, seguido por ruptura

Cuadro 1
Mortalidad Hospitalaria en Sala de CIRENA*. Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia
Octubre 1, 1992 - Diciembre 31, 1994

Edad muerte	N° muertes	N° total admon	(%)	Mortalidad (%)
0 - 3	587	2,469	(68)	(16)
4 - 7	58	645	(18)	(2)
≥ 8	142	514	(14)	(4)
Total	787	3,628	(100)	(22)

* Cuidado Intensivo del Recién Nacido

Cuadro 2
Frecuencia de Antecedentes Maternos de Enfermedad Perinatal vs. Peso al Nacer en Neonatos ≤ 3 Días de Edad. CIRENA. Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia. Octubre 1, 1992-Diciembre 31, 1994

Enfermedad perinatal	Peso al nacer				Total	(%)
	≤2,500 g	(%)	> 2,500 g	(%)		
Eclampsia	305	(34)	102	(31)	407	(33)
RPM*	292	(33)	81	(25)	373	(31)
Infección urinaria	76	(9)	38	(12)	114	(9)
Abruptio placentae	73	(8)	29	(9)	102	(8)
Hipertensión arterial	77	(9)	20	(6)	97	(8)
Corioamnionitis	39	(4)	19	(6)	58	(5)
Diabetes	16	(2)	26	(8)	42	(3)
Prolapso de cordón	10	(1)	9	(3)	19	(2)
Rubéola	1		1		2	
Total	889	(100)	325	(100)	1,214	(100)

* Ruptura prematura de membranas

prematura de membranas con un total de 373 (31%) casos. Estas dos complicaciones comprometen por tanto a casi 2 de cada 3 neonatos ≤3 días de edad (Cuadro 2).

De las 587 muertes informadas en el grupo de neonatos ≤3 días de edad, se realizaron 357 (61%) necropsias. Hubo un total de 39 necropsias en mortinatos, sumando 396 casos examinados postmortem. De éstos 321 (81%) tenían BPN. Un total de 96 (24%) casos tenían antecedente materno de eclampsia y 55 (14%) de ruptura prematura de membranas. No hubo información sobre antecedentes maternos de enfermedad perinatal en 155 (39%) de los casos examinados postmortem (Cuadro 3).

En general hubo un orden de frecuencia similar en la distribución de los antecedentes de enfermedad perinatal y peso al nacer entre los casos examinados postmortem y el total de los 1,214 neonatos en el Cuadro 2, lo que sugiere una muestra adecuada para los casos en estudio.

En este trabajo, en total se obtuvieron 239 casos con células renales viables postmortem de 396 necropsias realizadas, de donde resulta una viabilidad celular renal postmortem (VCRP) global de 60%. Al analizar los datos de VCRP de acuerdo con peso al nacer, se obtuvieron 59% más de VCRP en los casos con BPN (65%) que en los de mayor peso (41%), es decir, una razón de 1.6 (IC 95% = 1.2-2.08). Esta diferencia fue estadísticamente significativa (p = 0.00018).

Cuando se analizaron los datos de VCRP de acuerdo con el peso al nacer y los antecedentes maternos de enfermedad perinatal se obtuvo una VCRP de 64% en los casos de BPN con antecedente perinatal de eclampsia. Este valor fue 2.5 (IC 95% = 1.2-5.9) veces mayor que la VCRP de los casos de mayor peso con igual antecedente (26%). Esta diferencia fue estadísticamente significativa (p = 0.0013). Al analizar los datos de VCRP de acuerdo con los distintos antecedentes maternos de enfermedad perinatal, se observó la más alta VCRP en corioamnionitis, (67%); luego infección urinaria, (64%); ruptura prematura de membranas,

Cuadro 3
Viabilidad Celular Renal Postmortem (VCRP) vs. Antecedente Materno de Enfermedad Perinatal y Peso al Nacer en Neonatos ≤3 Días de Edad y Mortinatos. Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia. Octubre 1, 1992-Diciembre 31, 1994

Enfermedad perinatal	Peso al nacer (g)									RP	Intervalo confianza (95%)	Valor p
	-2,500		>2,500		total		VCRP ≤2,500		VCRP >2,500			
	# casos viables (VCRP-%)	# necrop.	# casos viables (VCRP-%)	# necrop.	# casos viables (VCRP-%)	# necrop.						
Corioamnionitis	6 (86)	7	2 (40)	5	8 (67)	12	2.14	0.7 - 6.54	0.1128			
Infección urinaria	12 (67)	18	4 (57)	7	16 (64)	25	1.17	0.6 - 2.40	0.6625			
RPM	25 (63)	40	9 (60)	15	34 (62)	55	1.04	0.6 - 1.68	0.8662			
Eclampsia	47 (64)	73	6 (26)	23	53 (55)	96	2.47	1.2 - 5.01	0.0013*			
Hipertensión arterial	4 (67)	6	4 (44)	9	8 (53)	15	1.50	0.6 - 3.78	0.4142			
Diabetes	2 (67)	3	0	1	2 (50)	4	-	-	-			
Prolapso cordón	2 (50)	4	2 (40)	5	4 (44)	9	1.25	0.3 - 5.35	0.7772			
Abruptio placentae	4 (25)	16	4 (57)	7	8 (35)	23	0.44	0.2 - 1.27	0.1452			
Rubéola	0	1	0	1	0	2	-	-	-			
Sin dato	106 (69)	153	0	2	106 (68)	155	-	-	-			
Total	208 (65)	321	31 (41)	75	239 (60)	396	1.6	1.2 - 2.08	0.00018*			

* Estadísticamente significativa

Cuadro 4

Viabilidad Celular Renal Postmortem (VCRP) vs. Peso al Nacer y Diagnóstico de Muerte en Neonatos ≤ 3 Días de Edad y Mortinatos. Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia. Octubre 1, 1992-Diciembre 31, 1994

Dx. Muerte	Peso al nacer (g)						RP	IC (95%)	Valor p
	$\leq 2,500$		$> 2,500$		Total				
	# casos viables (VCRP %)	#de necropsias	# casos viables (VCRP %)	# de necropsias	# casos viables (VCRP %)	#de necropsias			
Prematurez, EMH, SDR, anoxia, asfixia perinatal	164 (66)	249	19 (59)	32	183 (65)	281	1.1	0.8-1.5	0.4692
Hemorr. cerebral, pulmonar, sepsis									
broncopneum.	30 (54)	56	9 (45)	20	39 (51)	76	1.2	0.7-2.05	0.5131
Mortinatos	14 (88)	16	3 (13)	23	17 (44)	39	6.71	2.3-19.6	0.0000053*
Total	208 (65)	321	31 (41)	75	239(60)	396	1.6	1.2-2.08	0.00018*

EMH = Enfermedad de membrana hialina

SDR = Síndrome de dificultad respiratoria

* Estadísticamente significante

(62%); eclampsia, (55%); hipertensión arterial, (53%); diabetes, (50%); prolapso de cordón, (44%); abruptio placentae, (35%); y rubéola, (0%). Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significantes (Cuadro 3).

Más de 70% de los casos post-mortem examinados, tenían registro de diagnóstico de muerte "prematurez, enfermedad de membrana hialina (EMH), síndrome de dificultad respiratoria (SDR), anoxia y/o asfixia perinatal" y uno de cada 5 casos tenía registro de "hemorragia cerebral, hemorragia pulmonar, sepsis, y/o broncopneumonía." De cada 10 necropsias realizadas, una fue en mortinatos.

Se obtuvo una VCRP 6.7 (IC 95% = 2.3-19.6) veces mayor en mortinatos - 2,500 g (88%) que en mortinatos de mayor peso (13%). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p = 0.0000053$). No se encontró diferencia significativa entre los otros grupos analizados (Cuadro 4).

En 1994, se recolectaron 145 casos postmortem para estudios microbiológicos de los cuales 79 (54%) tenían células renales viables y 66 (46%) eran no viables (Cuadro 5). De estos, 133 (92%) fueron estériles y en sólo 12 (8%) casos crecieron bacte-

Cuadro 5
Viabilidad Celular Renal Postmortem (VCRP) vs. Status Microbiológico. Cirena. Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia. Enero, 1 1994 - Diciembre 31, 1994

	Casos		Total (%)
	viables (%)	no viables (%)	
Estériles	77 (53)	56 (39)	133 (92)
Sépticos	2 (1)	10 (7)	12 (8)
Total	79 (54)	66 (46)	145 (100)

Chi² Manthel-Haenszel = 7.49

Valor de p = 0.0062

RP = 3.5 (IC 95% : 1.0 - 12.41)

rias patógenas en cultivo, que se clasificaron como sépticos. De los 12 casos sépticos, 10 (83%) fueron casos no viables ($p = 0.0062$).

En orden de frecuencia, las bacterias aisladas de los casos sépticos no viables fueron **Escherichia coli**, 3; **Pseudomona aeruginosa**, 3; **Klebsiella pneumoniae**, 2; y **Staphylococcus aureus**, 2. En los dos casos sépticos con células viables, las bacterias aisladas fueron **S. aureus** y **P. aeruginosa**. El contaminante superficial más frecuente de los casos "estériles" con células renales viables fue **S. epidermidis**. En sólo 1 caso (2%) de los 66 no viables se demostró la

presencia de CMV.

DISCUSIÓN

El servicio de CIRENA del HUV, es el nivel público más alto (Nivel III) de atención médica neonatal en la zona. Es pues un centro de referencia que cubre los casos críticos de múltiples centros médicos periféricos y de la sala de partos intrahospitalaria, siendo esta última responsable por más de 70% de los ingresos.

Para el período del estudio la tasa de mortalidad hospitalaria en este servicio es de 22% ó 1 de cada 5 admisiones (1:4), con el mayor riesgo de muerte (16%) en los primeros 3 días de edad, cuando ingresa una gran proporción (68%) de neonatos. Son pues, los primeros 3 días de edad del neonato los más críticos en la sala de cuidado intensivo. El período de hospitalización en cuidado intensivo menos crítico para el neonato es el de 4 a 7 días de edad, cuando mueren menos de 2%. Si el neonato tiene 8 ó más días de edad durante la hospitalización en CIRENA, su riesgo de muerte aumenta de nuevo, lo que indica muy probablemente un problema médico más complejo que requiere mayor tiempo de atención y cuidado.

La mayoría (casi 3 de cada 4) de las admisiones a CIRENA, son neonatos de BPN al nacer, y casi 2 de cada 3, tienen antecedente perinatal de eclampsia o ruptura prematura de membranas.

Los casos postmortem examinados tienen una distribución de antecedente materno de enfermedad perinatal similar a la población del total de neonatos admitidos lo que demuestra la gran importancia de tales antecedentes al ingreso. Los diagnósticos de muerte que se informan con más frecuencia (71%) son "prematurez, EMH, SDR y anoxia y/o asfixia perinatal."

Es pues, necesario continuar con las investigaciones médicas multidisciplinarias con el fin de reducir la tasa de mortalidad hospitalaria y mejorar la salud del recién nacido y su madre. El examen postmortem es una herramienta invaluable que intenta descubrir la causa de muerte, entender la historia natural de la enfermedad y elucidar mecanismos de función a nivel celular que permitan comprender mejor al hombre y su entorno.

El tejido renal postmortem de neonatos es un excelente ejemplo de un recurso adecuado para la obtención de cultivos celulares primarios en la investigación biomédica. En los laboratorios del Programa In Vitro del Departamento de Microbiología de la Universidad del Valle, se demuestra que a partir de casos de neonatos postmortem y mortinatos en el HUV se puede lograr una VCRP de 60%. La viabilidad más baja en humanos se debe quizá al antecedente de enfermedad que produjo la muerte, en combinación con mayor tiempo entre muerte y obtención del tejido.

Las observaciones en esta experiencia sugieren que la VCRP disminuye 10% por hora postmortem hasta el momento de conseguir el tejido.

Una vez que se obtiene el tejido en condiciones adecuadas de medio y transporte, la VCRP se estabiliza hasta por 24 horas. La viabilidad celular aumenta significativamente en mortinatos $\leq 2,500$ g de peso (88%) y neonatos fallecidos con ≤ 3 días de edad y BPN (65%). Esta mayor viabilidad en el tejido renal se puede relacionar con el grado de prematurez en muchos casos y por ello con el grado de indiferenciación celular del tejido embrionario que se refleja en mayor actividad de la multiplicación celular. Como este estudio no determinó la edad gestacional con respecto a peso al nacer, no es posible confirmar esta presunción.

La VCRP disminuye de modo significativo en neonatos fallecidos ≤ 3 días de edad y de $> 2,500$ g de peso con antecedente materno de eclampsia (26%). Este hallazgo y las posibles implicaciones en la función renal del neonato ameritan estudios más amplios. Por ahora, este dato apoya aún más la conducta establecida de adelantarse el parto en la eclampsia para controlar este estado en la madre, pues también podría favorecer al neonato y prevenir un posible deterioro de su función renal, si la disminución de tal viabilidad *in vitro* es un reflejo del daño celular *in vivo*.

Se observa también una disminución en la viabilidad celular en casos sépticos ($p = 0.0062$). Sin embargo, las células renales viables sépticas se pueden tratar *in vitro* con antibióticos de amplio espectro (penicilina, gentamicina, estreptomycin, anfotericina) de donde resultan cultivos celulares de la misma calidad y esterilidad que los no sépticos. Esto establece que la infección celular puede ser erradicable con el tratamiento *in vitro* apropiado. Ahí se ofrece una situación práctica favorable en la tecnología de cultivos celulares primarios de origen huma-

no. Los estudios en este campo deben continuar para buscar mecanismos que mejoren la eficiencia de los cultivos de células renales *in vitro*.

SUMMARY

In order to determine possible relationships between perinatal disease and post mortem neonate kidney cell viability *in vitro*, 357 neonates ≤ 3 days of age who died at the intensive care unit (CIRENA) and 39 stillbirths of Hospital Universitario del Valle (HUV) in Cali, Colombia were assessed. The total post mortem kidney cell viability was 60%. It was significantly higher among stillbirths with $\leq 2,500$ g of weight (88%), and significantly lower among neonates with a birth weight $> 2,500$ g and maternal history of eclampsia (26%). In addition, a 22% hospital mortality for the 3,628 neonatal admissions to CIRENA between October 1, 1992 and December 31, 1994 was observed. The highest death risk was for neonates ≤ 3 days of age (16%) and the lowest for those between 4-7 days old (2%). The most frequent maternal history of perinatal disease was eclampsia (33%) and premature rupture of membranes (31%). Most of the neonates admitted to CIRENA (73%) had $\leq 2,500$ g 4 weight at birth.

AGRADECIMIENTOS

Por su interés y decisiva colaboración a los doctores Carlos Starck y Héctor Fabio Montes, jefes de la sala de recién nacidos; al Departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario del Valle; a la Fundación CIRENA y a todo el personal médico, de enfermería, trabajo social y administrativo de la sala por su valiosa ayuda en el desarrollo del estudio.

REFERENCIAS

1. Harrison RG. Observations on the living developing nerve fiber. *Proc Soc Exp Biol Med* 1907; 4: 140-43.
2. Carrel A. On The permanent life of tissue outside the organism. *J Exp Med* 1912; 15: 516-28.
3. Enders JF, Weller TH, Robbins FC. Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissues. *Science* 1949; 109: 85-7.
4. Sabin AB. Present position of immunization against poliomyelitis with live virus vaccines. *Br Med J* 1959; 1: 663-80.
5. Enders JF, Peebles TC. Propagation in tissue cultures of cytopathogenic agents from patients with measles. *Proc Soc Exp Biol Med* 1954; 86: 277-86.
6. Hsu TC. *Cells in culture in biology, medicine and public health. In the future of animals, cells, models, and systems in research, development, education, and testing.* Proceedings of a Symposium Institute of Laboratory Animal Resources Division of Biological Sciences Assembly of Life Sciences. Washington, National Academy of Sciences, 1977, pp. 180-84.
7. Freshney RI. *In Culture of animal cells.* New York, Alan R. Liss, 1987, pp. 1-6.
8. Harris H, Watkins JF. Hybrid cells from mouse and man: Artificial heterokaryons of mammalian cells from different species. *Nature* 1965; 205: 640-46.
9. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495-97.
10. Schmidt NJ. Cell culture techniques for diagnostic virology. In Lennette EH, Schmidt NJ (ed.) *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections.* Washington, American Public Health Association, 1979, pp. 65-139.
11. Horstmann DM. The Picornavirus group. In *Viral and rickettsial infections of man.* Horsfall FL, Tamm I. 4th. ed. Philadelphia, JB Lippincott Co., 1965, pp. 425-29.
12. Melnick JL. Echovirus. In Horsfall FL, Tamm I. *Viral and rickettsial infections of man.* 4th. ed. Philadelphia, JB Lippincott Co., 1965, pp. 513-45.
13. Stulberg CS, Page RH, Berman L. Comparative behavior of 16 Echovirus types in fibroblast-like and epithelial-like human cell strains. *Proc Soc Exp Biol Med* 1958; 97: 355-59.
14. Chang C, Lepine P, Lelong M *et al.* Severe and fatal pneumonia in infants and young children associated with adenovirus infections. *Am J Hyg* 1958; 67: 367-78.
15. Ginsberg HS, Dingle JH. The Adenovirus group. In Horsfall FL, Tamm I. *Viral and rickettsial infections of man.* 4th. ed. Philadelphia JB Lippincott Co., 1965, pp. 860-91.
16. Ramos-Álvarez M, Mayes O, Bustamante L, Martin S. Cultivation of post mortem human kidney tissue and its susceptibility to enteroviruses. *Bol Med Hosp Infant Mex* (Engl ed) 1960; 1: 165-69.
17. Kasel JA. Adenovirus. In Lennette EH, Schmidt NJ. *Diagnostic procedures for viral rickettsial and chlamydial infections.* 5th. ed. Washington, American Public Health Association, 1979, pp. 229-55.
18. Newell K, Dover AS, Clemmer D *et al.* Las enfermedades diarreicas de la infancia en Cali, Colombia. Diseño e informe resumido de un estudio sobre los agentes patógenos aislados. *Bol Ofic Sanit Pan* 1976; 81: 28-43.
19. Berman S, Dueñas A, Bedoya A, *et al.* Acute lower respiratory tract illnesses in Cali, Colombia: a two year ambulatory study. *Pediatric* 1983; 71: 210-18.
20. Dueñas A. *Opportunities for studies on acute respiratory infections in children of Colombia.* Workshop on Acute Respiratory Infections among Children of the World. Proceeding of a Conference held May 18-19, 1983 at the University of North Carolina, School of Medicine, Chapel Hill, North Carolina, Wallace, A, Clyde, Jr. Etc. Floyd W Dennt, Guest editors.
21. Dueñas A, Escobar JA, Medina P, Belsey MA. Estudios de virus en síndromes infecciosos agudos del sistema nervioso. *Acta Med Valle* 1976; 7: 7-12.
22. Dueñas A, Adams E, Melnick JL, Rawls E. Herpesvirus Type 2 in a prostitute population. *Am J Epidemiol* 1972; 95: 483-89.
23. Trentin JJ, Yabe Y, Taylor G. The quest for human cancer viruses. *Science* 1962; 137: 835-41.
24. *Viability of monkey kidney cells.* Bio Whittaker, Inc. Walkersville, Maryland, 1997.
25. Freshney RI. Tumor cells disaggregated in collagenase. *Lancet* 1972; 2: 488-89.