

Tesis de Posgrado

Estudio de las interrelaciones entre nutrición y respuesta inmune en modelo experimental, en ratas en crecimiento

Slobodianik, Nora Haydée

1985

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Slobodianik, Nora Haydée. (1985). Estudio de las interrelaciones entre nutrición y respuesta inmune en modelo experimental, en ratas en crecimiento. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1943_Slobodianik.pdf

Cita tipo Chicago:

Slobodianik, Nora Haydée. "Estudio de las interrelaciones entre nutrición y respuesta inmune en modelo experimental, en ratas en crecimiento". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1985.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1943_Slobodianik.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESTUDIO DE LAS INTERRELACIONES ENTRE NUTRICION Y
RESPUESTA INMUNE EN MODELO EXPERIMENTAL,
EN RATAS EN CRECIMIENTO

TESIS

Nora Haydée Slobodianik

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. María Esther Río de Gómez del Río

LUGAR DE TRABAJO:

*Departamento de Bromatología y Nutrición
Experimental. Facultad de Farmacia y Bio
química. Universidad de Buenos Aires.*

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTORA EN
CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

1985

1943
E 2

A mis padres

A mis hijas

A Bernardo

Mi especial y sincero agradecimiento a la Prof. Dra. María Esther Rlo de Gómez del Rlo, Directora de Tesis, quién me ha brindado su constante e incondicional apoyo y estímulo desde mi ingreso al Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental de la Facultad de Farmacia y Bio - química.

Mi sincero agradecimiento a la Dra. María Estela Roux, Miembro de la Carrera del Investigador Científico (CONICET) por sus oportunos consejos, su desinteresada colaboración y su invaluable asesoramiento en todos los aspectos relacionados a Inmunidad Celular y Secretoría, desarrollados en mi trabajo de Tesis.

*Mi especial agradecimiento al
Prof. Dr. Juan Claudio Sanahuja
por la oportunidad que me
brindó para iniciarme en la
investigación científica y por
sus continuas y apreciadas
muestras de confianza.*

Agradezco también a:

- * Prof. Dra. Alcira Battlle por el asesoramiento brindado en carácter de Consejero de Estudios.
- * Prof. Dra. María L. Pita Martín de Portela, por sus constantes y espontáneas palabras de estímulo.
- * Prof. Dra. Sara J. Closa por su apoyo incondicional.
- * Bioquímicas Rosa Cosarinsky, Silvia Langini y María del Carmen López por su inapreciable y espontánea colaboración en las determinaciones experimentales.
- * Personal Docente del Departamento de Fisiología Humana y en especial a la Prof. Dra. Gloria Griemberg del Departamento de Análisis Clínicos (Sección Inmunoserología) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, por el valioso préstamo de los microscopios, equipos imprescindibles para el desarrollo de este trabajo.

- * CONICET, por los subsidios con que apoyó la realización de este trabajo.
- * Sra. Lia Culotta de Calafat, Técnica de CONICET, por la confección de las dietas experimentales y adjudicación y mantenimiento de los animales de experimentación.
- * Todos mis amigos y compañeros del Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental, quienes me alentaron en todo momento.
- * Lilibiana Ferraris por su empeño en la transcripción del manuscrito.

*Este trabajo ha sido parcialmente publicado con
aprobación de la Directora de Tesis en:*

COMUNICACIONES BIOLÓGICAS:

- * EFFECT OF SEVERE PROTEIN DEFICIENCY ON THE EXPRESSION OF SURFACE AND INTRACELLULAR MARKERS OF LYMPHOID ORGANS IN GROWING RATS.

María E. Roux, María E Río, Nora H. Slobodianik, Rosa Co
sarinsky, Silvia Lanqini, J.C. Sanahuja.

Vol. 2 (Nº 2) 175 (1983).

- * EFFECT OF CASEIN ON THE RECOVERY OF LYMPHOID ORGANS SURFACE AND INTRACELLULAR MARKERS IN GROWING RATS.

Nora H. Slobodianik, Silvia Lanqini, María E. Río, Juan C.
Sanahuja, María del Carmen López, María E. Roux.

Vol.3 (2): 191 (1984).

NUTRITION REPORTS INTERNATIONAL

- * EFFECT OF SEVERE PROTEIN DEFICIENCY ON SURFACE AND
INTRACELLULAR MARKERS ON GROWING RATS' LYMPHOID ORGANS.
Nora H. Slobodianik, Rosa C. Cosarinsky, Silvia H. Langini,
María E. Roux, María E. Río, Juan C. Sanahuja.
29 (4): 957 (1984).

- * SURFACE AND INTRACELLULAR MARKERS OF GROWING RATS'
LYMPHOID ORGANS AFTER NUTRITIONAL RECOVERY.
Nora H. Slobodianik, Silvia H. Langini, María E. Río,
Juan C. Sanahuja, María del C. López, María E. Roux.
31 (6): 1247 (1985).

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

LP_{20} : Lote de animales que durante la ingestión de la dieta libre de proteína perdieron no menos del 20% del peso al destete.

LP_{25} : Lote de animales que durante la ingestión de la dieta libre de proteínas perdieron no menos del 25% del peso al destete.

C : Lotes controles.

t_0 : Tiempo inicial al destete.

R : LP_{25} realimentado con las dietas de recuperación.

R' : LP_{20} realimentado con las dietas de recuperación.

$R_{15(5)}$: LP_{25} realimentado con caseína al 15% durante 5 días.

$R_{15(9)}$: LP_{25} realimentado con caseína al 15% durante 9 días.

$R_{20(5)}$: LP_{25} realimentado con caseína al 20% durante 5 días.

$R_{20(9)}$: LP_{25} realimentado con caseína al 20% durante 9 días.

$R_{20(21)}$: LP_{25} realimentado con caseína al 20% durante 21 días.

$R_{20(40)}$: LP_{25} realimentado con caseína al 20% durante 40 días.

R' $_{15(9)}$: LP_{20} realimentado con caseína al 15% durante 9 días.

$R'_{20(9)}$: LP₂₀ realimentado con caseína al 20% durante 9 días.

$$\bar{P} = \frac{P_0 + P_f}{2}$$

VGP : Velocidad de ganancia ponderal.

$P^{0.75}$: Masa metabólicamente activa.

T_H : Población celular T colaboradora.

T_S : Población celular T supresora.

T_C : Población celular T citotóxica.

α_{cit} : Población celular B que contiene IgA.

α_{sup} : Población celular B que expresa IgA.

c AMP : adenosín 3',5' monofosfato cíclico.

c GMP : guanosín 3',5' monofosfato cíclico.

DNA : Acido desoxirribonucleico.

TdT : Deoxinucleotidil transferasa terminal.

INDICE

<u>CAPITULO 1: INTRODUCCION</u>	Pág.
1. Interrelaciones entre dieta y estado de salud:..	1
2. Sistema inmune: Aspectos básicos:	4
3. Inmunidad secretoria:.....	8
4. Interrelaciones entre estado nutricional y sistema inmune:.....	10
i) Stress nutricional e inmunidad humoral:.....	10
ii) Stress nutricional e inmunidad secretoria:...	12
iii) Stress nutricional e inmunidad celular:.....	13
 OBJETIVO DEL TRABAJO	 15
 <u>CAPITULO 2: MATERIAL Y METODOS</u>	
I) Animales de experimentación:	17
II) Dietas:	19
i) Forma de alimentación:.....	20
III) Metodología	
ii) Preparación de suspensiones celulares:.....	21
iii) Caracterización de las distintas poblaciones celulares T y B:	21
a) Marcadores antigénicos de la superficie celular:.....	22
b) Marcadores antigénicos intracitoplasmáticos:.....	23
- Antisueros utilizados:.....	23
IV) Análisis de los resultados obtenidos:.....	24

CAPITULO 3: RESULTADOS

Pág.

3A) LOTES CONTROLIS ALIMENTADOS DESDE EL DESTETE CON DIETA STOCK;	25
I) Evolución del peso corporal, el peso del timo y ganglio mesentérico:.....	25
II) Recuento celular en timo y ganglio mesentérico:	25
III) Marcadores específicos de los órganos estudiados:.....	30
Timo:	30
Ganglio Mesentérico:	31
3B) LOTES EXPERIMENTALES ALIMENTADOS DESDE EL DESTETE CON DIETA LIBRE DE PROTEINA;	32
I) Evolución del peso corporal y del peso del timo y ganglio mesentérico:.....	32
II) Recuento celular en timo y ganglio mesentérico:.....	36
III) Marcadores específicos de los órganos estudiados:.....	38
Timo:	38
Ganglio Mesentérico:	39
3C) EFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL SOBRE DESNUTRICION DE TERCER GRADO (LP ₂₅):.....	40
I) Consumo de dieta, energía y proteína:.....	40
II) Peso corporal y velocidad de ganancia ponderal:.....	42
III) Evolución del peso del timo y ganglio mesentérico:.....	42

IV) Recuento celular en timo y ganglio mesentérico:.....	Pág. 46
V) Marcadores específicos de los órganos estudiados:.....	52
timo:	52
Ganglio Mesentérico:.....	54
3D) EFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL SOBRE DESNUTRICION DE SEGUNDO GRADO (I.P. ₂₀):.....	57
I) Consumo de dieta, energía y proteína:.....	58
II) Peso corporal y ganancia ponderal:.....	59
III) Evolución del peso del timo:.....	60
IV) Recuento celular y población celular T W3/13 ⁺ en timo:.....	61

CAPITULO 4: DISCUSION

EFECTO DE LA DEPLECION PROTEICA Y LA POSTERIOR RECUPERACION NUTRICIONAL:	64
A) Evolución del peso corporal:	64
B) Evolución del peso del timo y ganglio mesentérico:.....	66
C) Proliferación celular en timo y ganglio mesentérico:.....	68
D) Marcadores específicos en timo y ganglio mesentérico:.....	70
- Timo: Población celular T W3/13 ⁺ :	70
- Ganglio mesentérico: a) Población celular T W3/13 ⁺ :	74
b) Población celular B que expresa y/o contiene IqA:.....?	75

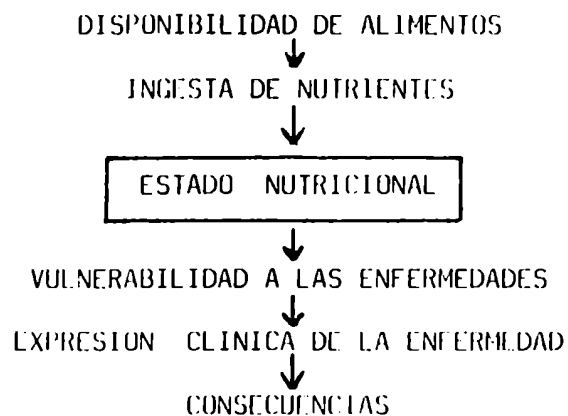
	Pág.
RESUMEN Y CONCLUSIONES:	78
APENDICE:	83
BIBLIOGRAFIA:	86

CAPITULO 1

INTRODUCCION

1) INTERRELACIONES ENTRE DIETA Y ESTADO DE SALUD

Durante los últimos 40 años se han realizado avances significativos en el conocimiento de los aspectos bioquímicos y clínicos que resultan de las deficiencias nutricionales; en tal sentido la importancia de la dieta en el mantenimiento del estado de salud es ampliamente aceptada y reconocida (1-4). Desde un punto de vista general el alimento se relaciona con la salud a través de la siguiente cadena de eventos (5):



En esta cadena el punto crítico es el ESTADO NUTRICIONAL, resultante por una parte del aporte de nutrientes y por otra de su digestión, absorción y utilización, pudiendo influir sobre el mismo, además, otros factores tales como la contaminación y la infección.

Desde el punto de vista fisiológico la malnutrición es un estado nutricional que resulta de un desequilibrio producido entre las necesidades específicas de nutrientes esenciales y energía que plantea el organismo, y su provisión por parte de los alimentos, que como conse - cuencia da lugar a una capacidad funcional alterada, una integridad es - tructural deficiente o un desarrollo fisiológico anormal (2,3).

Estudios epidemiológicos y clínicos han señalado que la defi - ciencia nutricional conduce a un aumento significativo de la susceptibi - lidad a la infección, situación que es especialmente común en los paí - ses en desarrollo y en áreas marginales de países desarrollados donde la desnutrición y la infección frecuentemente coexisten (6-11).

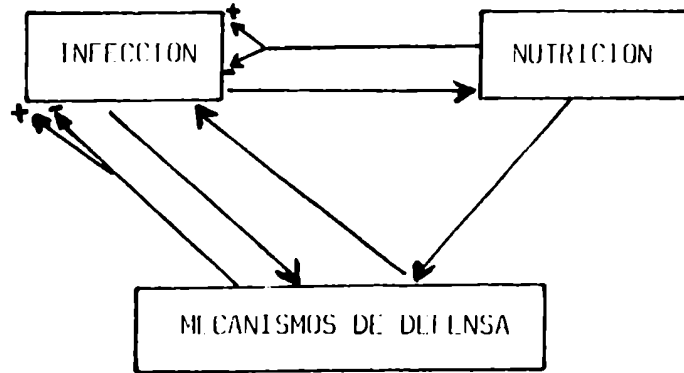
Aunque el estado de nutrición y el estado inmune modulan la susceptibilidad a la infección, la infección "per se" tiene además un efecto de retroalimentación sobre el estado nutricional; por otra par - te se ha demostrado que el estado nutricional es el factor que determi - na que, ante la presencia de un agente patógeno (virus, bacterias, etc) el equilibrio se desplace hacia la infección subclínica o hacia la enfermedad o muerte (5,12-15).

La asociación existente entre desnutrición y vulnerabilidad a las enfermedades puede explicarse como consecuencias de las alteracio - nes funcionales provocadas por desequilibrios nutricionales; entre es - tas alteraciones resalta como de vital importancia la depresión de los mecanismos de defensa, depresión que podría deberse a la deficiencia o exceso de nutrientes específicos en combinación o no con malnutrición calórico-proteica(5,12,14,15).

En la figura 1 se esquematizan las complejas interacciones en - tre las variables que incluyen el estado de nutrición, la infección y

Los mecanismos de defensa del huésped.

FIGURA 1



Adaptado de: "Nutrition, Infection, specific responses and non-specific host defenses: a complex interaction" (16).

Teniendo en cuenta que en los mecanismos de defensa del huésped interviene el sistema de vigilancia inmunológica, para poder analizar y entender la estrecha vinculación entre estado nutricional e inmunidad es conveniente recordar algunos conceptos básicos del sistema inmune.

2) SISTEMA INMUNE: Aspectos básicos.

Los vertebrados poseen un mecanismo de vigilancia, llamado sistema inmune, que los protege de microorganismos patógenos tales como bacterias, virus, parásitos y células cancerígenas. El sistema inmune reconoce específicamente y elimina selectivamente los invasores extraños por un proceso conocido como respuesta inmune (17). La protección, es provista por un sistema dual constituido por dos sistemas básicos de defensa contra el agente agresor; ambos sistemas son adaptativos y responden específicamente a la mayoría de los agentes extraños. La dualidad del sistema inmune resulta de dos poblaciones de células linfoides morfológicamente indistinguibles, llamadas linfocitos: los linfocitos T que incluyen células que median la respuesta inmune celular y los linfocitos B que son responsables de la respuesta inmune humoral provista por los anticuerpos que circulan a través de sangre y linfa (17).

El sistema linfoide está compuesto por los órganos linfoides primarios (médula ósea y timo), los linfocitos B y T que ellos producen y una serie de órganos linfoides secundarios que son los sitios en donde se inicia la respuesta inmune. Los órganos linfoides secundarios incluyen los ganglios linfáticos, bazo, amígdalas, adenoides, placas de Peyer y apéndice. Estos órganos están interconectados por el sistema circulatorio que transporta los linfocitos B y T; este sistema está compuesto por dos compartimentos: el torrente sanguíneo y el sistema linfático (18,19). El sistema defensivo es puesto en marcha por la entra-

da del antígeno al organismo, el cual es atrapado por células accesorias (macrófagos, células dendríticas, células interdigitantes, células de Langerhans), que son las encargadas de concentrarlo en los órganos linfoides y presentarlos a los linfocitos.

El desarrollo del sistema inmune difiere de especie a especie, siendo sin embargo importante señalar que el período perinatal se caracteriza en todas ellas por cambios dramáticos en la diferenciación celular, reflejo de la rápida exposición del individuo al medio ambiente(20).

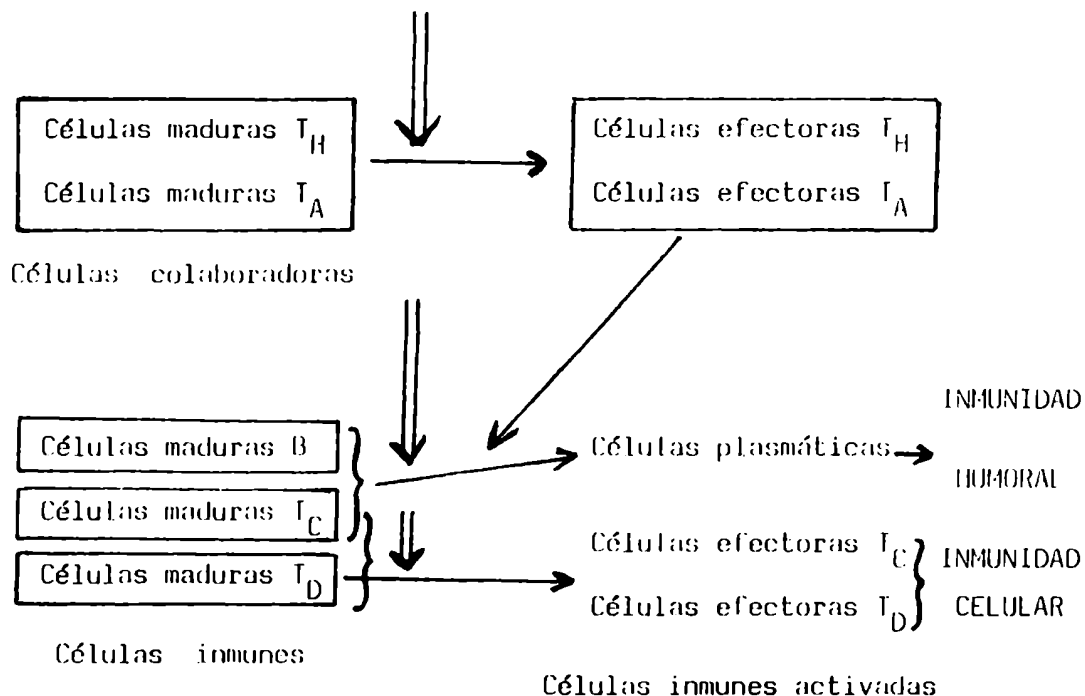
Durante la maduración de las células B y las células T, existen los pasos de diferenciación considerados antígeno-independiente que tienen lugar en la médula ósea y timo, donde estas células se transforman en inmunocompetentes, es decir que adquieren receptores de superficie y de toda la maquinaria celular necesaria para responder a la estimulación antigénica (células vírgenes). La segunda etapa de diferenciación, antígeno-dependiente, da como resultado células de memoria y células efectoras, probablemente a través de un tipo intermedio de células inmunocompetentes llamadas células maduras (20).

Cada paso del proceso de maduración está caracterizado por la presencia de una serie de antígenos de superficie que son considerados marcadores de diferenciación (20,21).

En la figura 2 se esquematiza la serie de reacciones celulares en cascada que conducen a la respuesta inmune.

FIGURA 2

ANTIGENO + CELULAS ACCESORIAS → CELULAS ACCESORIAS PRESENTADORAS DEL ANTIGENO



Adaptado de: "Immunology", capítulo 8 (20).

Dentro de las células T maduras existen distintas subpoblaciones que cumplen diferentes funciones. Las células T maduras-colaboradoras (T_H) y amplificadoras (T_A), interaccionan con el antígeno presentado por las células accesorias, proliferan y se diferencian en sus formas efectoras. Las células efectoras T_H, específicamente interactúan con células maduras B en presencia del antígeno, induciendo a esas células B a proliferar y diferenciarse en células plasmáticas que son las responsa -

bles de la secreción de anticuerpos, mediadores de la respuesta inmune humoral. En forma análoga, las células efectoras T_A estimulan la proliferación y diferenciación de las células T citotóxicas (T_C); estas células T_C son citotóxicas para la clase de células que expresan el antígeno y son responsables, en parte, de la inmunidad celular. Las células efectoras T_D responsables de la hipersensibilidad retardada, ayudan a retirar y contener al antígeno en su sitio de entrada iniciando reacciones inflamatorias. Existe, además una quinta clase de células T -T supresoras (T_S) - que están involucradas en la tolerancia inmunológica y participan en la regulación de la respuesta inmune (18,20).

3) INMUNIDAD SECRETORIA

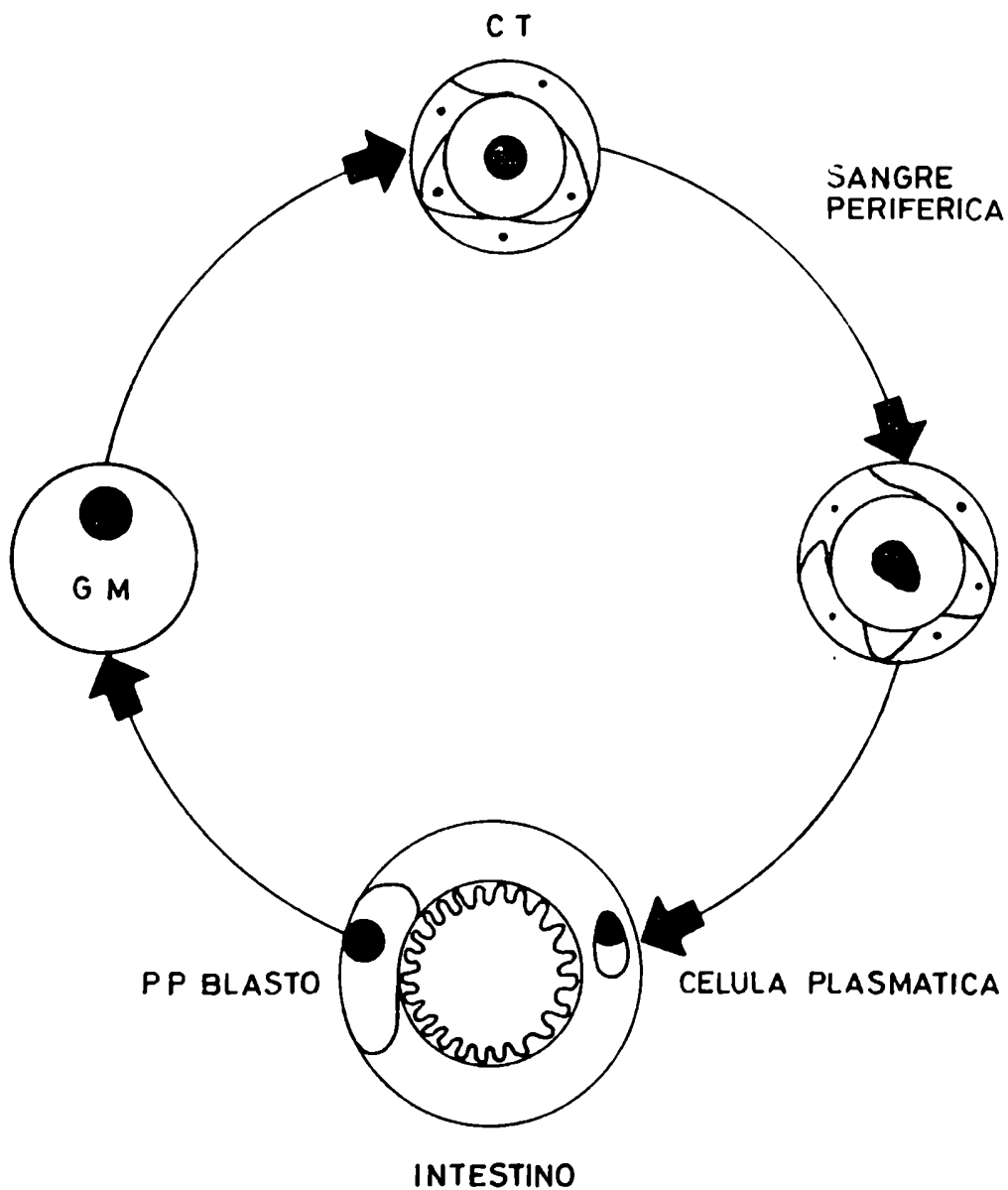
Las superficies de mucosas, y especialmente las del tracto gastrointestinal y respiratorio, están sujetas a largos y continuos estímulos antigénicos. Las estructuras linfoepiteliales organizadas del tracto gastrointestinal -llamadas Tejido linfático asociado al intestino- es tán cubiertas por epitelio especializado a través del cual las macromoléculas pueden pasar fácilmente; estas estructuras que incluyen placas de Peyer y ganglio mesentérico son comunes a varias especies: hombre, conejo, rata, ratón, perro y mono (22-26).

La estimulación antigénica de las células B precursoras de inmunoglobulina IgA en el intestino, es esencial para iniciar su activación, proliferación y subsiguiente migración a las otras mucosas, así como para la síntesis y unión de la IgA al componente secretorio, para producir IgA secretoria (23,24).

En la figura 3 se presenta el esquema para el ciclo celular de la IgA. Los linfocitos que se originan en los tejidos linfáticos organizados de las placas de Peyer (PP) migran vía linfáticos a los ganglios mesentéricos (G.M.), donde se dividen y diferencian; de ahí, también vía linfáticos llegan al conducto torácico (CT), volcándose como plasmablastos IgA al torrente sanguíneo por donde circulan hacia su destino final: lámina propia del intestino delgado, bronquios o glándula mamaria post partum, dando lugar a la aparición de células plasmáticas IgA (22-25).

Las células plasmáticas que secretan IgA predominan en los tejidos gastrointestinales y respiratorios; esto ha sido el motivo clave para el desarrollo del concepto de inmunidad local en el intestino y otras superficies de mucosa (22,26-30).

FIGURA 3

CICLO CELULAR DE LA IgA

CT: Conducto torácico; GM: Ganglio Mesentérico; PP: Placa de Peyer
 Tomado de "Importancia biológica del ciclo celular de la IgA en relación a las macromoléculas que penetran en el tracto gastrointestinal" (24).

4 - INTERRELACIONES ENTRE ESTADO NUTRICIONAL Y SISTEMA INMUNE

Las deficiencias nutricionales pueden alterar profundamente los mecanismos de defensa específicos del huésped aumentando la susceptibilidad a la enfermedad e infección, siendo frecuentemente observadas alteraciones inmunológicas secundarias a la malnutrición, a nivel de inmunidad humoral, secretoria y celular (13,31-34).

4i) Stress Nutricional e Inmunidad Humoral

Diferentes investigadores han descrito una depresión en la respuesta inmune humoral en la malnutrición, aún cuando otros autores han encontrado la concentración sérica de inmunoglobulinas totales y específicas normal y, también elevada, siendo este hallazgo atribuido a la presencia de infección concurrente (32,34-40). Por otra parte, se ha demostrado que durante un proceso infeccioso hay aceleración en el catabolismo de las γ globulinas que parece estar compensado por un incremento en su síntesis (36). Por consiguiente, al discutir las modificaciones que presenta el sistema inmune en el niño malnutrido, no se puede asociar dichas modificaciones con ninguna deficiencia nutricional específica puesto que su estado nutricional suele estar confundido con infecciones superpuestas (34). Al respecto, trabajos de Lechtig y col. sobre inmunoglobulinas séricas en niños pre-escolares con malnutrición calórico-proteica severa, mostraron niveles altos de IgA respecto de niños controles del mismo medio ambiente, mientras que los niveles de IgM e IgG se mantenían dentro de rangos normales (41,42); debido a la alta incidencia de infecciones digestivas y respiratorias en esos niños, los autores sugieren que los niveles de inmunoglobulinas pueden estar más influidos por la infección concomitante que por la malnutrición per se. Por otra parte, estudios de campo de nuestro grupo, realizados durante un programa de complementación alimentaria

en escolares del N.E. argentino, en donde cada niño fue su propio control, indicaron que dentro del mismo ecosistema, los niveles séricos de IgA estarían más influidos por el estado nutricional y la ingesta proteica que por el ecosistema "per se" (37). Además, trabajos de nuestro grupo en ratas prepúberes con un cuadro de desnutrición de tercer grado, mostraron niveles normales de γ globulinas totales (43). Estudios realizados por Chandra en sangre periférica de niños con malnutrición calórico-proteica severa, en los que determinó las subpoblaciones celulares T y B por técnicas de formación de rosetas, mostraron disminución en la población celular T con aumento en los niveles de la deoxinucleotidil transferasa terminal, aumento que el autor correlaciona con la incidencia de células nulas (44). Estos resultados avalarían las especulaciones efectuadas por algunos autores de acuerdo a los conceptos actuales sobre respuesta inmune humoral que consideran que al estar la población celular T deprimida, también habría supresión de la población T supresora que provocaría la producción descontrolada de anticuerpos no específicos (34,45).

En el caso de la malnutrición calórico-proteica y su posterior recuperación, se ha observado una marcada falta de uniformidad en las respuestas a diferentes antígenos, medidas por la formación de anticuerpos; esta falta de uniformidad va desde la producción adecuada de anticuerpos hasta una disminución en la afinidad del anticuerpo y presencia de complejos inmunes después de la inmunización con ciertos antígenos (14,34,46-48). Esta amplia gama de resultados probablemente sea consecuencia, en la mayoría de los estudios, de la falta de control de variables críticas dentro de las cuales deben mencionarse: el grado de severidad de la malnutrición, la presencia de infección y vía de administración del antígeno.

Los distintos componentes del sistema del complemento se ven afectados por los diferentes grados de malnutrición, con la consiguiente disminución en la función hemolítica, siendo los más afectados: C_{1q} ,

C_{1s} , C_3 , C_5 , C_8 y C_9 . La vía alterna del sistema, se encuentra también deprimida y en particular el proactivador C_3 o Factor B (33,49-52). Los niveles de la mayoría de los componentes del sistema, tienden a recuperarse con la administración de una dieta adecuada (32,34).

4ii) Stress Nutricional e Inmunidad Secretoria

La superficie de las mucosas están bañadas por las secreciones -lágrimas, saliva, secreciones genitourinarias, secreciones intestinales, secreciones nasofaríngeas, secreciones bronquiales y secreción láctea-, cuya función primordial es la de proteger al huésped de los agentes patógenos. Estas secreciones contienen IgA secretoria, y en menor grado IgG secretoria, células T y macrófagos (32,53,54). La IgA-inmunoglobulina predominante en las secreciones- es sintetizada por las células plasmáticas que se encuentran cerca de la superficie de las mucosas; para que esta inmunoglobulina sea transportada a las secreciones requiere de su unión al componente secretorio que es sintetizado por las células epiteliales (24).

La superficie de las mucosas de los niños y animales con stress nutricional severo es particularmente susceptible a la colonización o invasión por microorganismos (32,54). Diversos estudios han demostrado que la IgA secretoria de lágrimas y saliva de niños moderadamente malnutridos se encuentra significativamente disminuída respecto de los niños controles que viven en idénticas condiciones ambientales, hecho que ha sido confirmado en secreciones nasofaríngeas de niños que sufren de malnutrición calórico proteica severa (32,54-56). En modelo experimental en cobayos con deficiencia proteica marginal también se observa niveles disminuídos de IgA secretoria en lágrimas y secreciones vaginales (54). Los mecanismos por los cuales la malnutrición influye sobre los niveles de la IgA secretoria podrían ser consecuencia de diversos factores; entre ellos pueden mencionarse la disminución en la prolife-

ración celular acompañada de un reducido número de linfocitos que expresan IgA en la mucosa, cantidad inadecuada de componente secretorio producido por las células epiteliales y un número inadecuado de células T_H funcionantes (53,57).

4iii) Stress Nutricional e Inmunidad Celular

Los efectos de la malnutrición proteica y de la calórico-proteica, así como de la deficiencia de otros nutrientes esenciales específicos sobre el sistema inmune mediado por células, han sido evaluado "in vivo" por pruebas cutáneas e "in vitro" por el número de linfocitos T y por estimulación antigénica y mitogénica de linfocitos aislados; en todos los casos se observó depresión de las reacciones de hipersensibilidad retardada "in vivo", reducción del número de linfocitos T circulantes y disminución de la respuesta a antígenos T dependientes. Estos hechos han sido explicados en función de la disminución del número y capacidad funcional de los linfocitos T como consecuencia de la atrofia tímica observada (34,44,58-66).

A diferencia de los otros sistemas de defensa, la malnutrición calórico-proteica no parece deprimir la capacidad quimiotáctica y fagocítica de los leucocitos polimorfonucleares; a pesar de esto, algunos investigadores han descrito depresión de la función bactericida en pacientes malnutridos infectados (34).

La mayoría de los observadores han demostrado que la magnitud del daño inmunológico en los diferentes tipos y grados de malnutrición calórico-proteica, se correlaciona con el grado de pérdida de peso, uno de los síntomas clínicos más importantes en este tipo de desnutrición (34).

A continuación se resumen los principales defectos inmunológicos secundarios a la malnutrición que surgen de investigaciones actuales:

Inmunidad Humoral

- Aumento de las inmunoglobulinas séricas, probablemente debido a infecciones concomitantes.
- Disminución del complemento sérico.
- Reducida capacidad de formación de anticuerpos.

Inmunidad Secretoria

- Disminución de los niveles de IgA secretoria.

Inmunidad Celular

- Atrofia de timo y órganos linfoides.
- Disminución del número y capacidad funcional de los linfocitos T.

De todo lo expuesto surge que la interacción entre estado nutricional y sistema inmune es compleja, incluyendo muchos factores que pueden afectar la interpretación de los resultados, siendo de importancia mencionar: tipo y duración de la desnutrición, edad del sujeto, presencia de deficiencias de nutrientes específicos, infección y enfermedad concurrente.

Como consecuencia de este número de variables y con el fin de clarificar la información actual, aparentemente paradójica, Watson plantea la necesidad de formular adecuados modelos experimentales en los cuales se defina con precisión el stress nutricional (54).

La rehabilitación nutricional adecuada podría revertir el daño inmunológico, parcial o totalmente, dependiendo esto de la magnitud de la restricción, duración de la misma y etapa de la vida en la cual se produjo. Si la malnutrición severa ocurre durante los primeros periodos del desarrollo y diferenciación del sistema inmune, los efectos adversos pueden ser prolongados o irreversibles.

OBJETIVO DEL TRABAJO

Lo expuesto precedentemente, pone en evidencia que existen ciertos aspectos de las interrelaciones entre estado nutricional y sistema inmune que aún no se hallan claramente dilucidados. Para tratar de aclarar ese aspecto se han realizado estudios en modelos experimentales, la mayoría de los cuales simulan el tipo de malnutrición calórico proteica severa; sin embargo en una gran proporción de los mismos se han utilizado animales maduros que no son representativos de la etapa del desarrollo en que la malnutrición humana es el cuadro prevalente (34).

Por otra parte tampoco existen estudios longitudinales en animales durante el período de crecimiento activo, en los que se haya determinado el efecto sobre el sistema inmune de la malnutrición proteica severa y de la posterior realimentación con diferentes niveles de proteínas en la dieta de recuperación. Por esas razones, hemos considerado de importancia diseñar un modelo experimental en rata en período de crecimiento activo, que nos permitirá cubrir los siguientes objetivos:

- a) Estudiar el efecto de diferentes grados de depleción proteica sobre el sistema inmune celular y secretorio.
- b) Estudiar los efectos que provocan la administración de dietas de recuperación con diferentes niveles de proteína.
- c) Analizar la dependencia de los efectos observados, con respecto al tiempo de ingesta de la dieta de recuperación.

Para poder llegar a estos objetivos y teniendo en cuenta que la respuesta inmune se inicia en los órganos linfoides, los que por su cinética de proliferación celular son particularmente susceptibles a la deficiencia proteica, se determinaron los cambios en el peso y en el número de células de timo y ganglio mesentérico, órganos de impor -

tancia fundamental a nivel de inmunidad mediada por células e inmunidad secretoria respectivamente.

Además, se estudiaron los determinantes antigénicos específicos en la superficie de la membrana celular de timocito y de las células T de ganglio mesentérico; en este órgano linfóide también se estudiaron las células B que expresan y/o contienen IgA.

CAPITULO 2

MATERIAL Y METODOS

I) ANIMALES DE EXPERIMENTACION

En todas las experiencias se utilizaron ratas de la cepa Wistar de colonia cerrada, provenientes del vivero del Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Las ratas en experiencia se alojaron individualmente en jaulas de piso de malla y el agua y las dietas se les ofrecieron "ad libitum". La temperatura del cuarto se mantuvo entre 18°C y 20°C, mediante equipos de aire acondicionado. Las ratas (6-8 crías por madre) se destetaron al llegar a un peso entre 35-40 gramos (21-23 días) (t_0); a partir de ese momento se mantuvieron con dieta libre de proteínas hasta pérdida de 20 ó 25% del peso inicial. Sobre estos animales se estudió:

- a) El efecto de la depleción proteica y
- b) El efecto de la realimentación: Sobre aquellos animales que durante el período de ingestión de la dieta libre de proteínas perdieron no menos del 25% del peso inicial, lográndose así un modelo experimen-

tal para malnutrición de tercer grado (67,68), se estudió el efecto de la recuperación durante períodos cortos (5 y 9 días) y prolongados (21 y 40 días).

Sobre aquellos animales que durante el período de depleción proteica perdieron alrededor del 20% del peso inicial -modelo de desnutrición de segundo grado (67,68)- se estudió el efecto de la recuperación nutricional sólo durante períodos cortos.

Como controles de nutrición normal se utilizaron grupos de ratas que, desde el destete recibieron dieta stock de vivero. Estos animales fueron sacrificados a las 12 días, al destete (21-23 días), y a los 39, 45, 60 y 80 días de edad.

Al comienzo y al finalizar el período experimental los animales fueron pesados, calculándose el aumento de peso diario, que fue posteriormente expresado como velocidad de ganancia ponderal (VGP).

$$\text{VGP (g/100 rata/día)} = \frac{(P_f - P_i) \cdot 100}{\frac{1}{2} (P_i + P_f) \cdot \text{día}}$$

Cada experiencia fue realizada dos veces con lotes de 6-8 animales.

II) DIETAS

La composición de las dietas utilizadas se detalla en la Tabla 1.

TABLA I

COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

<u>COMPONENTE</u>	<u>DIETA EXPERIMENTAL *</u>		
	al 0 %	al 15 %	al 20 %
Caseinato de Calcio ¹	0	17.35	23.13
Mezcla de sales ²	5.00	5.00	5.00
Vitaminas Hidrosolubles ³	0.25	0.25	0.25
Colina ⁴	0.15	0.15	0.15
Aceite de maíz ⁵	5.00	5.00	5.00
Dextrina c.s.p.	100.00	100.00	100.00
* Cantidad total de proteína	0	15.00	20.00

1: Conteniendo 13.84% de Nitrógeno (86.5% de proteína).

2: Según Harper A.E. (ver Apéndice)(69).

3: Según Harper A.E. (ver Apéndice)(69).

4: Como citrato de colina.

5: Conteniendo la mezcla de vitaminas liposolubles.(ver Apéndice)

Las dietas fueron iso-calóricas y aportaron 4.05 Kcal/g., siendo la única variable el contenido proteico (0%, 15% y 20% respectivamente) y completas en todos los otros nutrientes esenciales según recomendaciones de A.E.Harper (69,70).

Como dieta control se utilizó dieta stock de nuestro vivero^{**} conteniendo 24.6 % de proteína.

i) Forma de alimentación

De las utilizadas comunmente en Nutrición Experimental, hemos seleccionado para nuestro trabajo la técnica de alimentación "ad libitum". En ésta se ofrece a los animales una cantidad de dieta superior a la que pueden consumir y en los casos que corresponde se determina la ingesta voluntaria después de un lapso determinado por pesada del remanente.

En los lotes realimentados, el consumo se determinó periódicamente; a partir de ese dato se calculó la ingesta calórica y proteica diaria, expresándose los resultados en función de la masa metabólicamente activa; $\text{Kcal/día/Peso}^{0.75}$ y $\text{mg de proteína/día /Peso}^{0.75}$, respectivamente. Para el cálculo de $\text{Peso}^{0.75}$ se utilizó el promedio entre el peso al comienzo (P_0) y al final del período experimental (P_f).

A los fines de su identificación en este trabajo, los lotes que consumieron la dieta libre de proteína, caseína al 15%, caseína al 20% o stock, se denominaron: LP, R₁₅, R₂₀ y C, respectivamente.

III) METODOLOGIA

i) Al final de cada período experimental los animales se mantuvieron 3-4 horas en ayuno; luego fueron pesados y sacrificados, previa anestesia.

** Cargill, Alinsa S.A.

sia con éter, extrayéndoseles timo y ganglio mesentérico.

ii) Preparación de las suspensiones celulares

Se prepararon suspensiones celulares monodispersas de timo y ganglio mesentérico. Cada órgano fue colocado, en el momento de su extracción en medio de cultivo RPMI 1640 y suero bovino fetal al 10 % (RPMI 1640/SBF), trabajándose siempre a 4°C; antes de prepararse las suspensiones celulares estos órganos fueron pesados.

Para la preparación de la suspensión celular, los ganglios mesentéricos se desmenuzaron a través de tamices de nylon especialmente apoyados sobre placas de Petri mediante el uso del émbolo de una jeringa plástica; durante todo el procedimiento el tejido y el tamiz se encontraban embebidos en RPMI 1640/SBF.

Las células de timo se extrajeron mediante el uso de pinzas especiales de cirugía desmenuzando con ellas en forma muy suave los tejidos.

Todas las suspensiones celulares se lavaron dos veces en RPMI 1640/SBF y fueron filtradas a través de lana de nylon para eliminar las partículas groseras, lípidos y células muertas.

La viabilidad de las células se determinó por el método de exclusión del azul tripán 0.1% en salina y el recuento celular se efectuó usando una cámara contadora (Cámara de Neubauer)(23,71).

iii) Caracterización de las distintas poblaciones celulares T y B

Para caracterizar la población celular T, de rata, se determinó el marcador de superficie W3/13 (72,73). Para caracterizar la población celular B se determinó la IqA de la superficie celular e intracitoplasmática.

Los marcadores antigénicos de superficie e intracitoplasmáticos fueron caracterizados por la técnica de la inmunofluorescencia in-

indirecta (25,74).

a) Marcadores antigénicos de la superficie celular

Los determinantes antigénicos de la superficie celular fueron caracterizados utilizando suspensiones de células vivas. Las células (10^6 - 10^7) se resuspendieron en 0.1 ml del primer antisuero mono específico o monoclonal diluido en salina bufferada pH 7.2 y se incubó la mezcla a 4°C durante 30 minutos. A continuación se añadió en frío, 1 ml de solución de azida sódica al 0.1% diluida en salina bufferada. Las células se lavaron colocando la suspensión sobre 2 ml de suero bovino fetal que contenía azida sódica al 0.1% y se centrifugaron durante 10 minutos en frío a 150xG. Las células sedimentadas, libres del antisuero no unido, se resuspendieron en 0.1 ml del correspondiente antisuero marcado con isotiocianato de fluoresceína, previamente diluido en salina bufferada, y la mezcla se incubó a 4°C durante 30 minutos. Las células fueron lavadas nuevamente como ya se ha descrito. El sedimento celular, libre del antisuero marcado, se resuspendió en suero bovino fetal y azida sódica y se mantuvo a 4°C; las células marcadas fueron puestas entre porta y cubreobjetos, efectuándose la lectura al microscopio Zeiss de fluorescencia con epiiluminación. Para preservar la fluorescencia, cuando la lectura no se hacía en forma inmediata, se hicieron frotis que se fijaron con metanol durante 15 minutos; a continuación se colocó una gota de glicerol en salina bufferada (9:1) como líquido de montaje del cubreobjeto. Se contó el número de células fluorescentes y el número total de células vistas bajo contraste de fase; el porcentaje de células fluorescentes se calculó después de contar un total de 400-800 células.

b) Marcadores antigénicos intracitoplasmáticos

Para el estudio de los antígenos intracitoplasmáticos se hicieron frotis con las suspensiones celulares. Estos frotis se fijaron en metanol durante 30 minutos; se lavaron con salina buffereada y luego se incubaron con el primer antisuero durante media hora a temperatura ambiente, en cámara húmeda; luego se lavaron 3 veces, durante 10 minutos cada vez, con salina buffereada, repitiendo el procedimiento posteriormente con antisuero marcado con isotiocianato de fluoresceína; se lavaron nuevamente 3 veces con salina buffereada durante 10 minutos cada vez. A continuación se colocó una gota de glicerol en salina buffereada (9:1) como líquido de montaje del cubreobjeto. El porcentaje de células fluorescentes se determinó como en el caso de los antígenos de superficie.

Antisueros utilizados

Para la caracterización de la población celular T se utilizó como primer antisuero el anticuerpo monoclonal Xenogénico W3/13, fabricado en ratón, y como segundo antisuero la fracción IgG de conejo conjugada al isotiocianato de fluoresceína con actividad anti IgG de ratón (Accurate Chemicals).

Para la determinación de los marcadores antigénicos de la superficie e intracitoplasmáticos de la población celular B, se utilizó como primer antisuero anti IgA de rata -específico para cadena α , fabricado en oveja- y como segundo antisuero la fracción IgG de conejo conjugada al isotiocianato de fluoresceína con actividad anti IgG de oveja (Cappel Lab.).

IV) ANALISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

El análisis estadístico de la información obtenida fue realizada utilizando el test de Student y el χ^2 (75), considerándose significativas las diferencias de medias con un $p \leq 0.01$; no obstante, se consignan en el texto como probablemente significativas las diferencias de medias con $p \leq 0.05$.

CAPITULO 3

RESULTADOS

3 A - LOTES CONTROLES ALIMENTADOS DESDE EL DESTETE CON DIETA STOCK

I) Evolución del peso corporal, el peso del timo y ganglio mesentérico

La Tabla 2 muestra el peso corporal, el peso del timo y ganglio mesentérico, entre los 12 y 80 días de vida, observándose en todos los casos la evolución esperada, en función de la edad (Figuras 4 y 5). Esta información fue utilizada como marco de referencia para analizar el comportamiento de los lotes experimentales.

Resumen: Se observó un aumento en el peso corporal, en el peso del timo y en el del ganglio mesentérico durante el período estudiado (12 a 80 días de vida); al expresarse el peso de los órganos en función de la masa metabólicamente activa, el timo mostró su involución normal a partir de los 50 días (Figura 5), mientras que en el ganglio mesentérico el peso se mantuvo constante.

II) Recuento celular en timo y ganglio mesentérico

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos para el recuento

TABLA 2
EVOLUCION DEL TIPO Y GANGLIO MESENTERICO EN RELACION
AL PESO CORPORAL EN LOTES CONTROLES*

EDAD (días)	PESO CORPORAL	<u>TIMO</u>		<u>GANGLIO MESENTERICO</u>		
		mg	mg/p ^{0.75}	mg	mg/p ^{0.75}	
12	\bar{X}	25.4	69.33	6.11	35.73	3.13
	DE	\pm 2.2	\pm 29.1	\pm 2.49	\pm 11.66	\pm 0.88
	ESM	\pm 0.8	\pm 10.3	\pm 0.88	\pm 4.12	\pm 0.31
21-23 (t ₀)	\bar{X}	35.4	140.9	9.73	76.66	5.31
	DE	\pm 2.7	\pm 27.0	\pm 1.78	\pm 7.57	\pm 0.65
	ESM	\pm 0.9	\pm 16.5	\pm 0.56	\pm 2.39	\pm 0.21
30	\bar{X}	56.6	221.49	10.78	93.26	4.53
	DE	\pm 5.4	\pm 12.08	\pm 0.89	\pm 11.98	\pm 0.55
	ESM	\pm 2.4	\pm 5.40	\pm 0.40	\pm 5.36	\pm 0.25
39	\bar{X}	89.2	233.42	7.98	135.66	4.73
	DE	\pm 16.8	\pm 48.3	\pm 1.27	\pm 35.3	\pm 1.24
	ESM	\pm 4.2	\pm 12.0	\pm 0.32	\pm 8.83	\pm 0.31
45	\bar{X}	98.1	346.0	10.98	170.0	5.37
	DE	\pm 11.4	\pm 58.7	\pm 1.16	\pm 64.4	\pm 1.89
	ESM	\pm 3.6	\pm 19.6	\pm 0.39	\pm 21.5	\pm 0.63
60	\bar{X}	164.4	370.5	8.09	251.0	5.48
	DE	\pm 20.6	\pm 40.3	\pm 0.58	\pm 83.5	\pm 1.85
	ESM	\pm 9.2	\pm 18.0	\pm 0.26	\pm 37.3	\pm 0.83
80	\bar{X}	191.9	287.9	5.69	306.6	6.12
	DE	\pm 41.7	\pm 51.8	\pm 1.11	\pm 59.6	\pm 1.67
	ESM	\pm 18.6	\pm 23.2	\pm 0.50	\pm 26.7	\pm 0.75

* n = 6-8 animales por lote.

FIGURA 4

EVOLUCION DEL PESO CORPORAL DE LOS LOTES CONTROLES

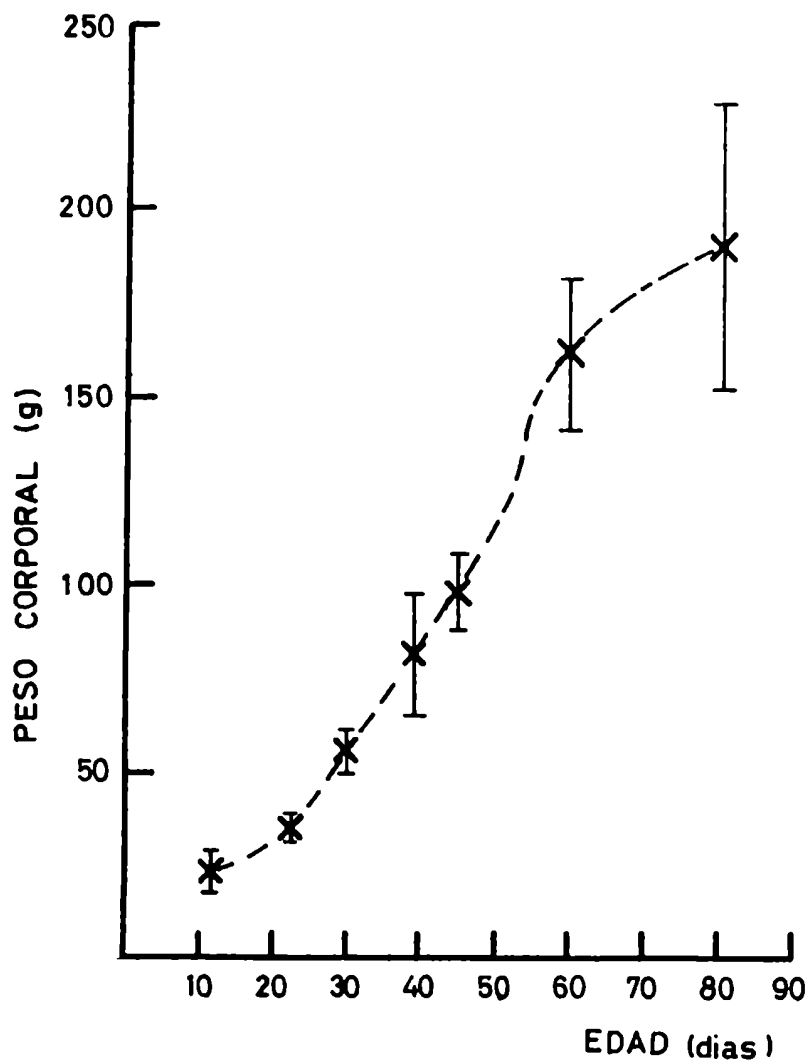


FIGURA 5

EVOLUCION DEL PESO DEL TIMO Y GANGLIO MESENTERICO EN RELACION AL PESO CORPORAL EN LOTES CONTROLES

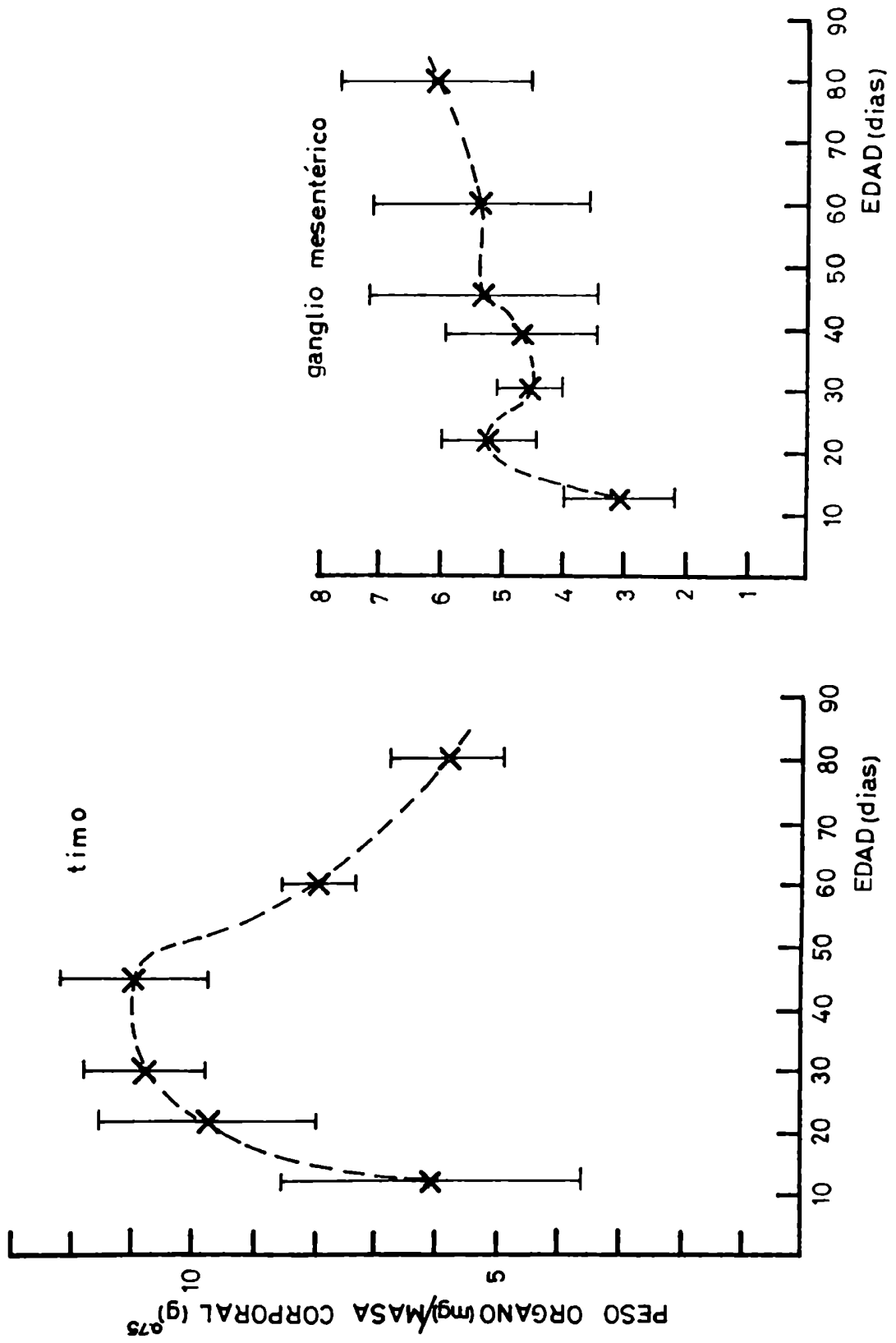


TABLA 3
 EVOLUCION DEL TIMO Y GANGLIO MESENTERICO EN LOTES CONTROLES *
RECUESTO CELULAR

EDAD (días)	<u>TIMO</u>			<u>GANGLIO MESENTERICO</u>		
		Cél.10 ⁷ /ml	Cél.10 ⁷ /g tej.	Cél.10 ⁷ /ml	Cél.10 ⁷ /g tej.	
12	\bar{X}	11.9	147.7	0.4	15.4	
	DE	\pm 2.9	\pm 35.6	\pm 0.2	\pm 10.4	
	ESM	\pm 1.3	\pm 15.9	\pm 0.1	\pm 4.6	
21-23 (t ₀)	\bar{X}	19.7	135.2	0.6	8.6	
	DE	\pm 8.4	\pm 58.2	\pm 0.4	\pm 4.7	
	ESM	\pm 3.8	\pm 26.1	\pm 0.1	\pm 2.1	
30	\bar{X}	22.5	102.3	1.4	14.9	
	DE	\pm 12.5	\pm 58.0	\pm 1.1	\pm 12.3	
	ESM	\pm 5.6	\pm 25.9	\pm 0.5	\pm 5.5	
39	\bar{X}	48.0	207.0	1.7	13.1	
	DE	\pm 20.9	\pm 90.0	\pm 1.1	\pm 8.1	
	ESM	\pm 9.4	\pm 40.0	\pm 0.5	\pm 3.6	
45	\bar{X}	66.2	180.0	2.9	18.4	
	DE	\pm 24.0	\pm 48.0	\pm 1.5	\pm 12.1	
	ESM	\pm 10.8	\pm 21.0	\pm 0.7	\pm 5.4	
60	\bar{X}	17.9	46.2	4.3	16.4	
	DE	\pm 1.5	\pm 2.4	\pm 0.9	\pm 3.8	
	ESM	\pm 0.7	\pm 1.2	\pm 0.5	\pm 1.9	
80	\bar{X}	35.8	120.6	2.5	8.4	
	DE	\pm 17.7	\pm 47.8	\pm 0.8	\pm 3.5	
	ESM	\pm 7.9	\pm 21.4	\pm 0.4	\pm 1.6	

* n = 6-8 animales por lote.

to celular en timo y G.M., expresándose los valores en cél. 10^7 /ml de sus -
pensión y cél. 10^7 /g de tejido. En resumen, de esta tabla surge que en G.M.y
de acuerdo a lo esperado, los valores aumentaron con la edad. En timo los
valores aumentaron con la edad hasta la pubertad (45-55 días de vida), a par
tir de la cual el número de células disminuyó.

III) Marcadores específicos de los órganos estudiados

TIMO

En la Tabla 4 se presentan los valores obtenidos para la población
celular T W3/13⁺ en timo, de los lotes controles entre 12 y 80 días de vida.

TABLA 4
PORCENTAJE DE CELULAS LINFOIDES W3/13⁺ EN TIMO DE RATAS CONTROLES

EDAD (días)	% CELULAS W3/13 ⁺ (*)
12	\bar{X} 17.1 DE \pm 5.8 ESM \pm 1.8
21-23 (t_0)	\bar{X} 8.2 DE \pm 3.5 ESM \pm 1.0
39	\bar{X} 92.0 DE \pm 1.4 ESM \pm 0.5
45	\bar{X} 87.6 DE \pm 7.2 ESM \pm 3.2
60	\bar{X} 90.3 DE \pm 4.9 ESM \pm 2.8
80	\bar{X} 68.7 DE \pm 5.2 ESM \pm 2.3

(*) n = 6-10 Fueron leídas 400-800 células.

Un aumento significativo en el porcentaje de células linfoides W3/13⁺ se observó entre los 21 y 39 días de edad; a partir de esta edad y hasta los 60 días de vida, no se observaron diferencias significativas entre los lotes. Una disminución en el porcentaje de esta población celular se observó después de los 60 días de edad.

Resumen: El comportamiento observado corresponde a controles normales de rata Wistar entre 12-80 días de vida, de nuestra colonia cerrada. Este comportamiento coincide con lo mencionado por la bibliografía internacional, siendo necesario hacer hincapié en la involución tímica observada entre los 45 y 55 días de edad.

GANGLIO MESENTERICO

En la Tabla 5 se presentan los porcentajes de células linfoides W3/13⁺ y el porcentaje de células B que expresan IgA (α_{sup}) y el porcentaje de células B que contienen IgA (α_{cit}) en G.M. de los lotes controles normales desde de 12 a 80 días de vida.

TABLA 5
PORCENTAJE DE CELULAS LINFOIDES W3/13⁺ Y α POSITIVAS EN GANGLIO
MESENTERICO DE RATAS CONTROLES

EDAD (días)		% cél. W3/13 ⁺ (*)	% cél. α_{cit} ⁺ (*)	% cél. α_{sup} ⁺ (*)
12	\bar{X}	15.4	nd	nd
	DE	\pm 5.8		
	ESM	\pm 2.4		
21-23(t ₀)	\bar{X}	13.5	1.5	2.2
	DE	\pm 3.1	\pm 0.4	\pm 0.7
	ESM	\pm 1.1	\pm 0.2	\pm 0.2
39	\bar{X}	33.3	13.7	37.0
	DE	\pm 11.5	\pm 4.4	\pm 12.5
	ESM	\pm 4.5	\pm 1.3	\pm 4.7
45-80	\bar{X}	62.0	59.8	36.5
	DE	\pm 9.8	\pm 10.5	\pm 8.6
	ESM	\pm 3.7	\pm 3.2	\pm 3.2

(*) n: 6-10. Fueron leídas 400-800 células.

Para las poblaciones celulares W3/13⁺ y α_{cit}^+ se produjo un aumento entre los 21 y los 80 días, no observándose diferencias entre los lotes, para la población α_{sup}^+ , a partir de los 39 días de edad.

La evolución de los resultados coincide con lo mencionado por la bibliografía internacional (76,77).

Resumen: En G.M. los valores de la población celular que expresa IgA (α_{sup}) se mantuvieron constantes a partir de los 39 días de edad; los valores de la población celular W3/13⁺ y de las células que contienen IgA (α_{cit}) se mantuvieron constantes a partir de los 45 días de vida.

3 B - LOTES EXPERIMENTALES ALIMENTADOS DESDE EL DESTETE CON DIETA LIBRE DE PROTEINA

1) Evolución del peso corporal y del peso del timo y ganglio mesentérico.

En la Tabla 6 se encuentran tabulados los valores de peso corporal y peso de timo y ganglio mesentérico, obtenidos para los lotes sometidos desde el destete a depleción proteica, alcanzándose dos niveles de depleción: uno, en el cual los animales perdieron aproximadamente el 20% de su peso inicial al destete (grupo LP₂₀) y otro en que perdieron alrededor del 25% de dicho peso (grupo LP₂₅) (Figura 6). Pese a ello, no se observaron diferencias significativas en el peso del timo ni del G.M. entre ambos grupos experimentales. Se debe remarcar que el peso de los animales (que se encontraba entre los 36 y 38 días de vida), así como el peso del timo -expresado como mg de órgano/Peso^{0.75}- fue estadísticamente diferente del correspondiente control normal de igual edad (25.8 y 28.9 vs 89.2 ; 5.1 y 2.8

TABLA 6
EVOLUCION DEL TIMO Y GANGLIO MESENTERICO EN RELACION AL PESO CORPORAL
EN LOTES EN DEPLECION PROTEICA

LOTE*	% DE DEPLECION	EDAD (días)	PESO CORPORAL (g)	TIMO		GANGLIO MESENTERICO	
				mg	mg/P ^{0.75}	mg	mg/P ^{0.75}
LP ₂₀	18.5 \pm 1.5	36-38	\bar{X} 25.8 ^(a) DE \pm 0.9 ESM \pm 0.4	58.9 ^(a)	5.13 ^(b)	68.0 ^(b)	5.94
				\pm 21.1	\pm 1.73	\pm 14.6	\pm 1.24
				\pm 10.5	\pm 0.90	\pm 7.3	\pm 0.62
LP ₂₅	25.0 \pm 2.5	36-38	\bar{X} 28.9 ^(a) DE \pm 3.7 ESM \pm 1.1	34.5 ^(a)	2.82 ^(a)	68.1 ^(b)	5.45
				\pm 24.7	\pm 2.10	\pm 22.6	\pm 2.03
				\pm 7.1	\pm 0.60	\pm 6.8	\pm 0.61
C	0	39	\bar{X} 89.2 DE \pm 16.8 ESM \pm 4.2	233.4	8.00	135.7	4.78
				\pm 48.3	\pm 1.30	\pm 35.3	\pm 1.23
				\pm 12.1	\pm 0.30	\pm 8.8	\pm 0.32

* n = 6-8 animales por lote.

- a) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.0001$ con respecto a C.
b) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.002$ con respecto a C.

FIGURA 6

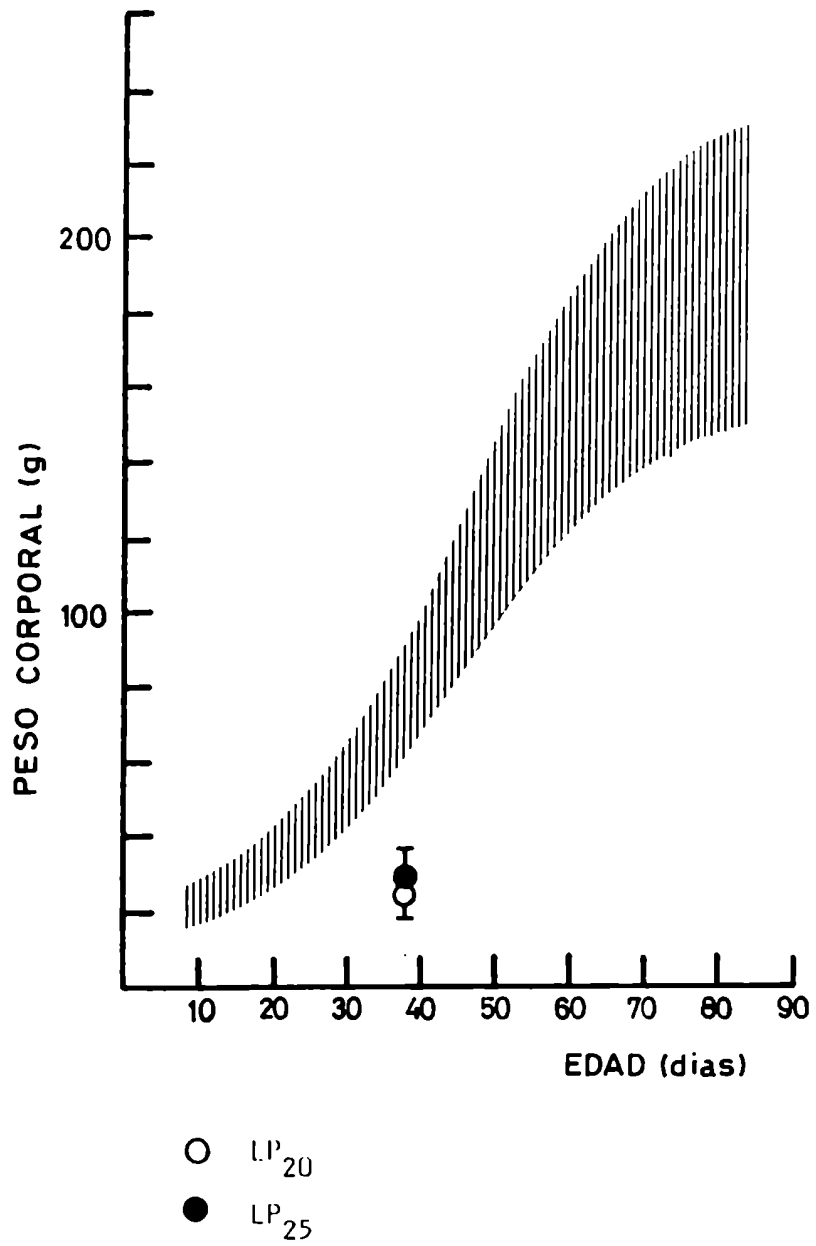
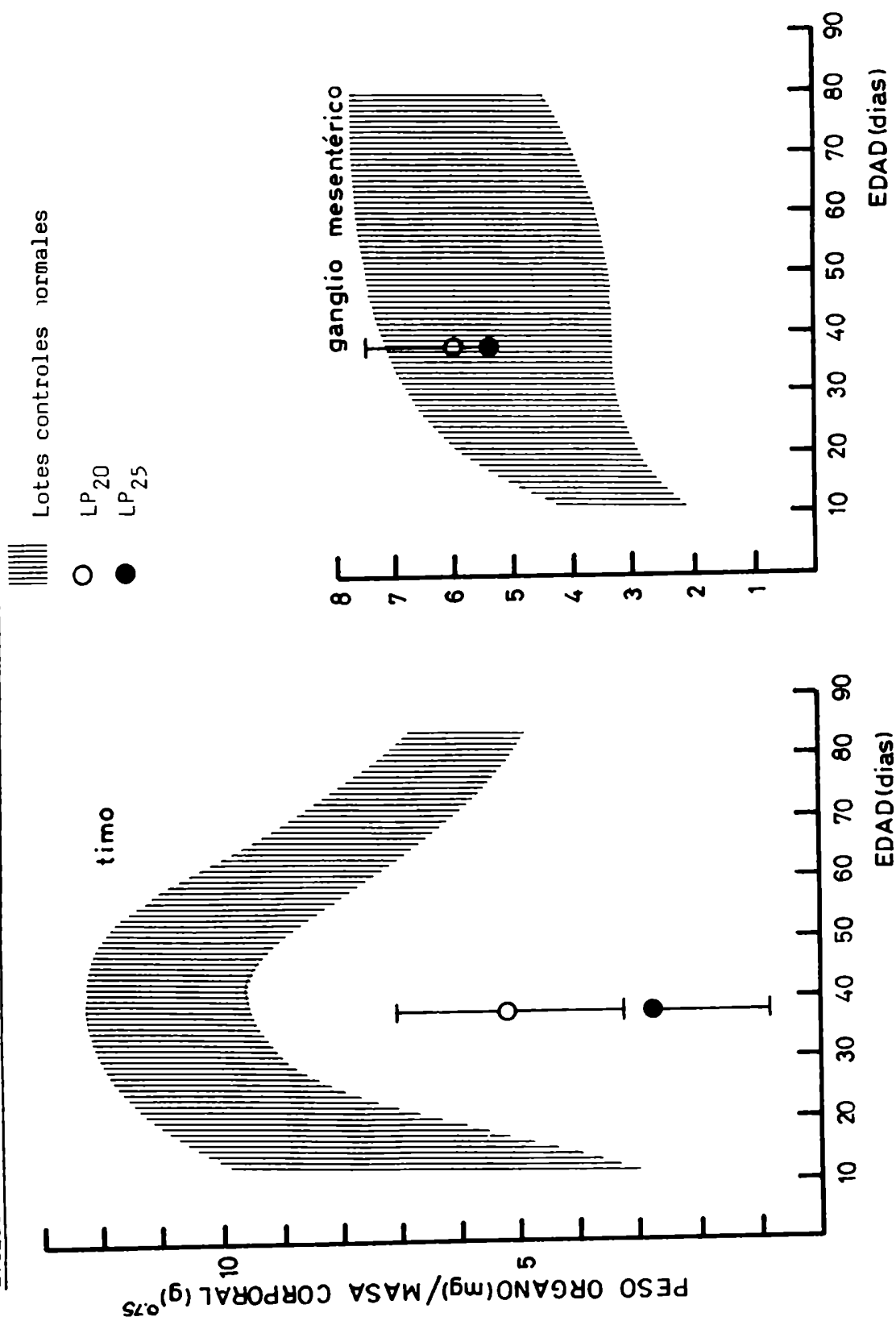
EFFECTO DE LA DEPLECION PROTEICA SOBRE EL PESO CORPORAL

FIGURA 7

EVOLUCION DEL TIMO Y GANGLIO MESENTERICO EN RELACION AL PESO CORPORAL EN LOTES EN DEPLECION PROTEICA



vs 8.0), siendo los valores similares al control normal de 12 días (25.8 y 28.9 vs 25.4 ; 5.1 y 2.8 vs 6.1) (Figura 7). El G.M. no presentó diferencias significativas, respecto de los controles bien nutridos de la misma edad, para ninguno de los niveles de depleción alcanzados; es importante señalar la tendencia de los valores medios obtenidos a encontrarse desplazados hacia los límites superiores del rango normal (Figura 7).

En las Figuras 6 y 7 el área sombreada corresponde a la banda de confiabilidad de los controles normales.

Resumen: El peso del timo -expresado en función de la masa metabólicamente activa- fue, en ambos grupos experimentales, estadísticamente diferente del correspondiente control normal de igual edad, siendo los valores similares al control normal de 12 días. El peso del G.M. no presentó diferencias significativas respecto de los controles de igual edad.

II) Recuento celular en timo y ganglio mesentérico

En la Tabla 7 se encuentran tabulados los resultados obtenidos del recuento celular en timo y G.M., para los lotes en depleción proteica (LP₂₀ y LP₂₅). No se observaron diferencias significativas en el número de células del timo entre los lotes con los dos niveles diferentes de depleción, siendo los valores obtenidos significativamente menores ($p < 0.0005$) que los hallados para los normales de la misma edad.

En ganglio mesentérico, el número de células del lote sometido a la menor depleción (LP₂₀) fue mayor que el encontrado para el grupo que alcanzó la depleción del 25% (LP₂₅), siendo esta diferencia significativa a nivel de $p < 0.05$. El número de células que mostró el grupo LP₂₅ fue significativamente menor que el control de igual edad ($p < 0.01$), no observándose esta diferencia en el grupo experimental LP₂₀.

Resumen: En timo, el número de células disminuyó significativamente respecto del control de igual edad, cualquiera fuese el grado de deple-

TABLA 7
EVOLUCION DEL TIMO Y GANGLIO MESENTERICO EN LOS LOTES
EN DEPLECION PROTEICA: RECUENTO CELULAR

LOTE*	% DE DEPLECION	EDAD (días)	TIMO		GANGLIO MESENTERICO	
			Cél. $\cdot 10^7$ /ml	Cél. $\cdot 10^7$ g tej.	Cél. $\cdot 10^7$ /ml	Cél. $\cdot 10^7$ /g tej.
LP ₂₀	18.5 \pm 1.5	36-38	\bar{X} 1.1	20.0	1.05	16.2
			DE \pm 0.2	\pm 4.4	\pm 0.4	\pm 8.0
			ESM \pm 0.1	\pm 2.2	\pm 0.2	\pm 4.0
LP ₂₅	25.0 \pm 2.5	36-38	(a) \bar{X} 1.8	125.7	0.6	10.8
			DE \pm 0.7	\pm 79.4	\pm 0.3	\pm 5.5
			ESM \pm 0.3	\pm 32.4	\pm 0.1	\pm 2.2
C	0	39	(a) \bar{X} 48.0	207.0	1.7	13.1
			DE \pm 20.9	\pm 90.0	\pm 1.1	\pm 8.1
			ESM \pm 9.4	\pm 40.0	\pm 0.5	\pm 3.6

* n = 6-8 animales por lote.

- a) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.00005$ con respecto a C.
 b) Diferencia significativa a nivel de $p < 0.05$ con respecto a LP₂₅.
 c) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.01$ con respecto a C.

ción proteica. En G.M. sólo el grupo con el mayor grado de depleción proteica presentó un número de células significativamente menor que el correspondiente control

III) Marcadores específicos de los órganos estudiados

TIMO

El porcentaje de células linfoides W3/13⁺ en timo de los grupos en depleción (LP₂₀ y LP₂₅) se muestra en la Tabla 8.

TABLA 8

EFFECTO DE LA DEPLECION PROTEICA SOBRE LA POBLACION CELULAR W3/13⁺ DE TIMO

LOTE	EDAD (días)	% CELULAS W3/13 ⁺ (*)		
LP ₂₀	36-38	\bar{X}		30.3 (a)(b)
		DE	+	6.9
		ESM	±	3.5
LP ₂₅	36-38	\bar{X}		6.0 (a)
		DE	+	4.8
		ESM	±	1.5
C	39	\bar{X}		92.0
		DE	+	1.4
		ESM	±	0.5
C	21-23(t ₀)	\bar{X}		8.2
		DE	+	3.5
		ESM	±	1.0

(*) n: 6-10. Fueron leídas 400-800 células.

a) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.00005$ con respecto a C39.

b) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.00005$ con respecto a LP₂₅.

La población celular W3/13⁺ de ambos grupos fue significativamente diferente al control de igual edad ($p < 0.00005$), siendo el número de células W3/13⁺ en LP₂₅ significativamente menor que en LP₂₀ ($p < 0.00005$). Se debe remarcar que en LP₂₅ los valores obtenidos para esta población celular fueron similares a los resultados hallados al destete (t_0) (6.0 vs 8.2).

Resumen: La depleción proteica al destete provocó la disminución de la población celular T W3/13⁺, siendo la magnitud de esta disminución dependiente del grado de depleción alcanzado (20% ó 25%).

GANGLIO MESENTERICO

En la Tabla 9 se presentan los resultados del porcentaje de células linfoides W3/13⁺ y el porcentaje de células B que expresan IgA (α_{sup}^+) y el porcentaje de células B que contienen IgA (α_{cit}^+) en el lote con mayor grado de depleción proteica (LP₂₅).

TABLA 9

EFFECTO DE LA DEPLECION PROTEICA SOBRE LAS POBLACIONES CELULARES

W3/13⁺, α_{cit}^+ y α_{sup}^+ DE GANGLIO MESENTERICO

LOTE	EDAD (días)		% cél. W3/13 ⁺ *	% cél. α_{cit}^+ *	% cél. α_{sup}^+ *
LP ₂₅	36-38	\bar{X}	15.4 ^(a)	4.5 ^(a)	6.1 ^(a)
		DE	\pm 3.8	\pm 1.9	\pm 3.5
		ESM	\pm 1.2	\pm 0.5	\pm 1.0
C	39	\bar{X}	33.3	13.7	37.0
		DE	\pm 11.5	\pm 4.4	\pm 12.5
		ESM	\pm 4.1	\pm 1.3	\pm 4.7
C	21-23 (t_0)	\bar{X}	13.5	1.5	2.2
		DE	\pm 3.1	\pm 0.4	\pm 0.7
		ESM	\pm 1.1	\pm 0.2	\pm 0.2

* n: 6-10. Fueron leídas 400-800 células. a) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.0001$ con respecto a C₃₉.

Resumen : del análisis de los valores obtenidos, surge que la depleción proteica provocó una disminución significativa tanto en el porcentaje de células T W3/13⁺ como en el porcentaje de células B que expresan IqA (α_{sup}^+) como en el porcentaje de células B que contienen IqA (α_{cit}^+), siendo los resultados no diferentes de los observados al destete (t_0).

3 C - EFFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL SOBRE DESNUTRICION DE TERCER GRADO (LP₂₅)

Para los estudios de recuperación se utilizaron aquellos animales que durante el período de depleción proteica hubieran perdido alrededor del 25% de su peso al destete, para asemejar un cuadro de desnutrición de tercer grado (67,68).

En los períodos cortos de realimentación (5 y 9 días) se estudió el efecto de caseína al 15% y 20%; durante los períodos largos (21 y 40 días) sólo se continuó con el estudio del efecto de la caseína al 20%.

I) Consumo de dieta, energía y proteína

En la Tabla 10 se presentan los resultados obtenidos para el consumo de las dietas experimentales, de energía y de proteína promedio, expresados en g/día, mg de proteína/ $\bar{P}^{0.75}$ /día y Kcal/ $\bar{P}^{0.75}$ /día, respectivamente, para los diferentes lotes experimentales.

De dicha tabla surge que el consumo total de dieta para $R_{15(5)}$ con respecto al $R_{20(5)}$ y de $R_{15(9)}$ con respecto al $R_{20(9)}$ fue significativamente diferente ($p < 0.01$), siendo mayor el consumo de ambos lotes que recibieron la dieta con caseína al 20%.

No se observaron diferencias significativas en la ingesta de die-

TABLA 10
EFFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL
CONSUMO DE DIETA, DE PROTEINA Y DE ENERGIA DE LOS LOTES EXPERIMENTALES

LOTE*	CONSUMO DE DIETA			CONSUMO DE PROTEINA			CONSUMO DE ENERGIA		
		g/día	(a)	mg/ $\bar{P}^{0.75}$ /día	(b)	Kcal/ $\bar{P}^{0.75}$ /día	(c)		
R ₁₅₍₅₎	\bar{X}	5.41		70.8		1.44			
	DL	\pm 0.52		\pm 16.5		\pm 0.14			
	ESM	\pm 0.15		\pm 4.6		\pm 0.04			
R ₁₅₍₉₎	\bar{X}	6.92	(c)	65.0	(d)	1.73			
	DE	\pm 0.91		\pm 5.3		\pm 0.14			
	ESM	\pm 0.25		\pm 1.5		\pm 0.04			
R ₂₀₍₅₎	\bar{X}	8.75		118.5		2.57			
	DE	\pm 1.92		\pm 27.4		\pm 0.55			
	ESM	\pm 0.86		\pm 12.2		\pm 0.25			
R ₂₀₍₉₎	\bar{X}	8.02		91.39		1.79			
	DE	\pm 1.15		\pm 4.54		\pm 0.10			
	ESM	\pm 0.38		\pm 1.51		\pm 0.03			
R ₂₀₍₂₁₎	\bar{X}	8.35		73.14		1.46			
	DE	\pm 1.58		\pm 9.59		\pm 0.20			
	ESM	\pm 0.44		\pm 2.66		\pm 0.05			
R ₂₀₍₄₀₎	\bar{X}	9.46		63.83		1.50			
	DE	\pm 1.52		\pm 8.18		\pm 0.18			
	ESM	\pm 0.35		\pm 2.90		\pm 0.07			

* n = 6-8 animales por lote.

- a) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.00005$ con respecto a R₂₀₍₅₎.
- b) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.0005$ con respecto a R₂₀₍₅₎.
- c) Diferencia significativa a nivel de $p < 0.05$ con respecto a R₂₀₍₉₎.
- d) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.00005$ con respecto a R₂₀₍₉₎.

ta/día entre los lotes realimentados durante 5,9,21 y 40 días con caseína al 20%; los consumos de proteína y energía expresados en función de la masa metabólicamente activa ($P^{0.75}$) disminuyeron a lo largo del período experimental reflejando la disminución de los requerimientos de nutrientes que se produce con el aumento del tamaño corporal.

Resumen : durante los períodos cortos de realimentación, los animales que recibieron la dieta con caseína al 20% mostraron mayor consumo diario, siendo mayor, por ende, la ingesta proteica. Los lotes realimentados con la dieta con caseína al 20% no mostraron diferencias significativas entre ellos, disminuyendo los consumos de energía y proteína en función de la masa metabólicamente activa, a lo largo del período experimental.

II) Peso corporal y velocidad de ganancia ponderal

En la Tabla 11 se presentan los resultados obtenidos para el peso corporal y la velocidad de ganancia ponderal de los diferentes lotes experimentales. En resumen, de esta tabla surge que el peso corporal de todos los grupos aumentó en forma altamente significativa ($p < 0.00005$) respecto del peso de partida, no alcanzándose, sin embargo, durante los períodos de realimentación estudiados -fuesen éstos cortos o largos- el peso corporal de los grupos controles de la misma edad (Figura 8).

Por otra parte, la mayor velocidad de ganancia ponderal se observó en los lotes que recibieron durante 5-9 días la dieta con caseína al 20% para decaer luego de la administración de la dieta por períodos largos.

III) Evolución del peso del timo y ganglio mesentérico

En la Tabla 12 se muestran los valores obtenidos para el peso del timo y ganglio mesentérico de los animales alimentados con las dietas experimentales. El peso del timo -expresado en mg ó $mg/P^{0.75}$ - aumentó en

TABLA 11
EFFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL
MODIFICACIONES EN EL PESO CORPORAL DE LOS LOTES EXPERIMENTALES

LOTE*	EDAD (días)		P ₀ (g)	P _f (g)	VELOCIDAD DE GANANCIA PONDERAL (VGP)
R ₁₅₍₅₎	41-43	\bar{X}	31.7	42.9 ^{(a)(b)}	7.52
		DE	\pm 1.5	\pm 1.9	\pm 1.54
		ESM	\pm 0.4	\pm 0.5	\pm 0.43
R ₁₅₍₉₎	45-47	\bar{X}	26.6	53.8 ^{(a)(b)}	7.45
		DE	\pm 2.6	\pm 7.2	\pm 1.15
		ESM	\pm 0.7	\pm 2.0	\pm 0.30
R ₂₀₍₅₎	41-43	\bar{X}	26.6	40.6 ^{(a)(b)}	8.28
		DE	\pm 2.4	\pm 5.4	\pm 1.23
		ESM	\pm 0.7	\pm 1.6	\pm 0.57
R ₂₀₍₉₎	45-47	\bar{X}	27.9	63.2 ^{(a)(b)}	8.60
		DE	\pm 4.2	\pm 9.8	\pm 0.50
		ESM	\pm 1.4	\pm 3.3	\pm 0.17
R ₂₀₍₂₁₎	57-59	\bar{X}	28.8	100.9 ^{(a)(b)}	5.21
		DE	\pm 3.4	\pm 22.7	\pm 0.74
		ESM	\pm 0.9	\pm 6.3	\pm 0.21
R ₂₀₍₄₀₎	76-78			(a)(c)	
		\bar{X}	30.0	154.8	3.40
		DE	\pm 4.1	\pm 20.0	\pm 0.25
		ESM	\pm 1.4	\pm 6.7	\pm 0.08

(continúa pág.44)

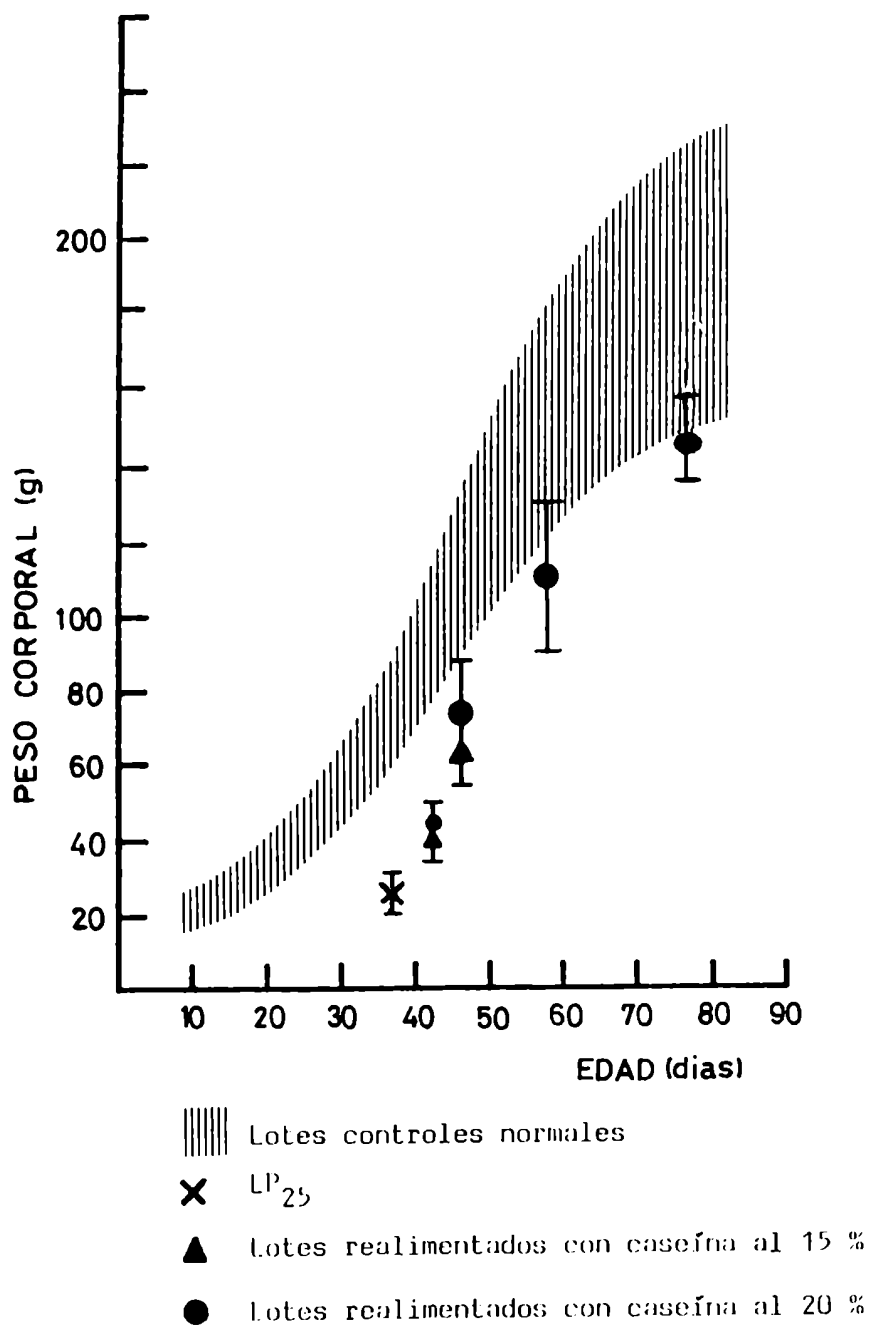
(continúa Tabla 11)

LOTE	EDAD (días)	P_0 (g)	P_f (g)	VELOCIDAD DE GANANCIA PONDERAL (VGP)
LP ₂₅	36-38	\bar{X}	28.9	—
		DE	+ 3.7	
		ESM	+ 1.1	
C	21-23 (t ₀)	\bar{X}	35.4	—
		DE	+ 2.7	
		ESM	+ 0.9	
O	39	\bar{X}	89.2	—
		DL	+ 16.8	
		ESM	+ 4.2	
R	45	\bar{X}	98.1	—
		DE	+ 11.4	
		ESM	+ 3.6	
E	60	\bar{X}	164.4	—
		DE	+ 20.6	
		ESM	+ 9.2	
S	80	\bar{X}	191.9	—
		DE	+ 41.7	
		ESM	+ 18.6	

* n = 6-8 animales por lote.

- Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.00005$ con respecto al lote LP₂₅.
- Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.0001$ con respecto al grupo correspondiente al mismo rango de edad.
- Diferencia significativa a nivel de $p < 0.05$ con respecto al grupo correspondiente al mismo rango de edad.

FIGURA 8

EFFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL SOBRE EL PESO CORPORAL

forma significativa respecto del control en depleción en todos los lotes experimentales. Ni durante la administración de las dietas al 15% ó 20 % de caseína durante los períodos cortos ni con la administración de la dieta al 20% por períodos largos se alcanzaron para tимо los valores correspondientes al control de la misma edad; los valores se encontraron desfasados en un intervalo de tiempo similar al período de depleción proteica previa (Figura 9).

En G.M. se observaron diferencias a nivel de $p < 0.05$ con respecto al control en depleción (LP_{25}) y respecto de los controles de la misma edad, debiéndose remarcar la tendencia de los valores medios obtenidos para todos los lotes experimentales a hallarse desplazados hacia los límites inferiores de la curva normal (Figura 9).

Resumen: La realimentación provocó un aumento en el tamaño del tимо; los valores alcanzados se encontraron desfasados con respecto a la evolución normal en un intervalo de tiempo similar al período de depleción proteica previa.

En G.M. no se observaron diferencias significativas, para ninguno de los lotes experimentales, con respecto a los controles de igual edad.

IV) Recuento celular en tимо y ganglio mesentérico

En la Tabla 13 se presentan los valores obtenidos para el recuento celular en tимо y ganglio mesentérico de los animales en depleción -hasta pérdida del 25% de su peso al destete- realimentados con las dietas experimentales.

Al administrarse la caseína al 15% y 20%, todos los grupos experimentales mostraron un número de células en tимо significativamente mayor que el control en depleción ($p < 0.01$) y alcanzaron, después de 9 días de administración de caseína al 20%, valores no significativamente diferente al control correspondiente a la misma edad.

Los lotes que recibieron la dieta con caseína al 20% durante 21 y

TABLA 12
EFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL
PESO DE ORGANOS

FUENTE*	EDAD (días)	TIMO			GANGLIO MESENTERICO		
		mg	mg/p0.75	mg	mg	mg/p0.75	
R ₁₅₍₅₎	41-43	\bar{X}	109.6 ^{(a)(b)}	6.55 ^{(a)(b)}	108.95 ^{(a)(c)}	6.50	
		DE	± 38.6	± 2.41	± 30.2	± 1.80	
		ESM	± 12.9	± 0.80	± 9.5	± 0.60	
R ₁₅₍₉₎	45-47	\bar{X}	171.7 ^{(a)(b)}	8.60 ^{(a)(d)}	84.9 ^(c)	4.29 ^{(c)(e)}	
		DE	± 47.2	± 1.94	± 17.0	± 0.85	
		ESM	± 15.1	± 0.54	± 4.7	± 0.24	
R ₂₀₍₅₎	41-43	\bar{X}	78.8 ^{(a)(b)}	4.77 ^{(e)(b)}	83.52 ^(d)	5.07	
		DE	± 28.5	± 1.54	± 24.25	± 1.31	
		ESM	± 9.1	± 0.49	± 7.67	± 0.42	
R ₂₀₍₉₎	45-47	\bar{X}	195.3 ^{(a)(b)}	8.61 ^{(a)(b)}	85.54 ^(c)	5.81 ^{(c)(e)}	
		DE	± 56.2	± 1.58	± 20.60	± 0.73	
		ESM	± 18.7	± 0.53	± 6.90	± 0.24	
R ₂₀₍₂₁₎	57-59	\bar{X}	351.7 ^(a)	10.50 ^{(a)(b)}	174.5 ^(b)	5.21	
		DE	± 124.6	± 2.69	± 69.3	± 1.40	
		ESM	± 39.4	± 0.85	± 21.9	± 0.44	
R ₂₀₍₄₀₎	76-78	\bar{X}	380.7 ^{(a)(c)}	8.71 ^{(a)(b)}	182.9 ^{(a)(b)}	4.20 ^{(c)(e)}	
		DE	± 77.5	± 1.16	± 45.4	± 0.95	
		ESM	± 20.0	± 0.30	± 11.7	± 0.25	

(continúa pág. 48)

(continúa Tabla 12)

LOTE*	EDAD (días)	mg		TIMO mg/p ^{0.75}		GANGLIO MESENTERICO mg		mg/p ^{0.75}	
		\bar{X}	DE	\bar{X}	DE	\bar{X}	DE	\bar{X}	DE
A	36-38	\bar{X}	34.5		2.80		68.1		5.40
		DE	+ 24.7		+ 2.10		+ 22.6		+ 2.00
		ESM	+ 7.1		+ 0.60		+ 6.8		+ 0.60
B	39	\bar{X}	233.4		7.98		135.6		4.73
		DE	+ 48.3		+ 1.27		+ 35.3		+ 1.24
		ESM	+ 12.1		+ 0.32		+ 8.8		+ 0.31
C	45	\bar{X}	346.0		10.98		170.0		5.37
		DE	+ 58.7		+ 1.16		+ 64.4		+ 1.89
		ESM	+ 19.6		+ 0.39		+ 21.5		+ 0.63
D	60	\bar{X}	370.5		8.09		251.0		5.48
		DE	+ 40.3		+ 0.58		+ 83.5		+ 1.85
		ESM	+ 18.0		+ 0.26		+ 37.3		+ 0.83
E	80	\bar{X}	287.9		5.69		306.6		6.12
		DE	+ 51.8		+ 1.11		+ 59.6		+ 1.67
		ESM	+ 23.2		+ 0.50		+ 26.7		+ 0.75

* n = 6-8 animales por lote.

a) Diferencia significativa a nivel de $p < 0.01$ con respecto a LP_{25} .b) Diferencia significativa a nivel de $p < 0.01$ con respecto al grupo control correspondiente al mismo rango de edad.c) Diferencia significativa a nivel de $p \leq 0.05$ con respecto al grupo control correspondiente al mismo rango de edad.d) Diferencia significativa a nivel de $p \leq 0.01$ con respecto al grupo control correspondiente al mismo rango de edad.e) Diferencia significativa a nivel de $p \leq 0.05$ con respecto a LP_{25} .

FIGURA 9
 EVOLUCION DEL PESO DEL TIMO Y GANGLIO MESENTERICO EN RELACION A PESO CORPORAL
 EN LOTES EN RECUPERACION NUTRICIONAL

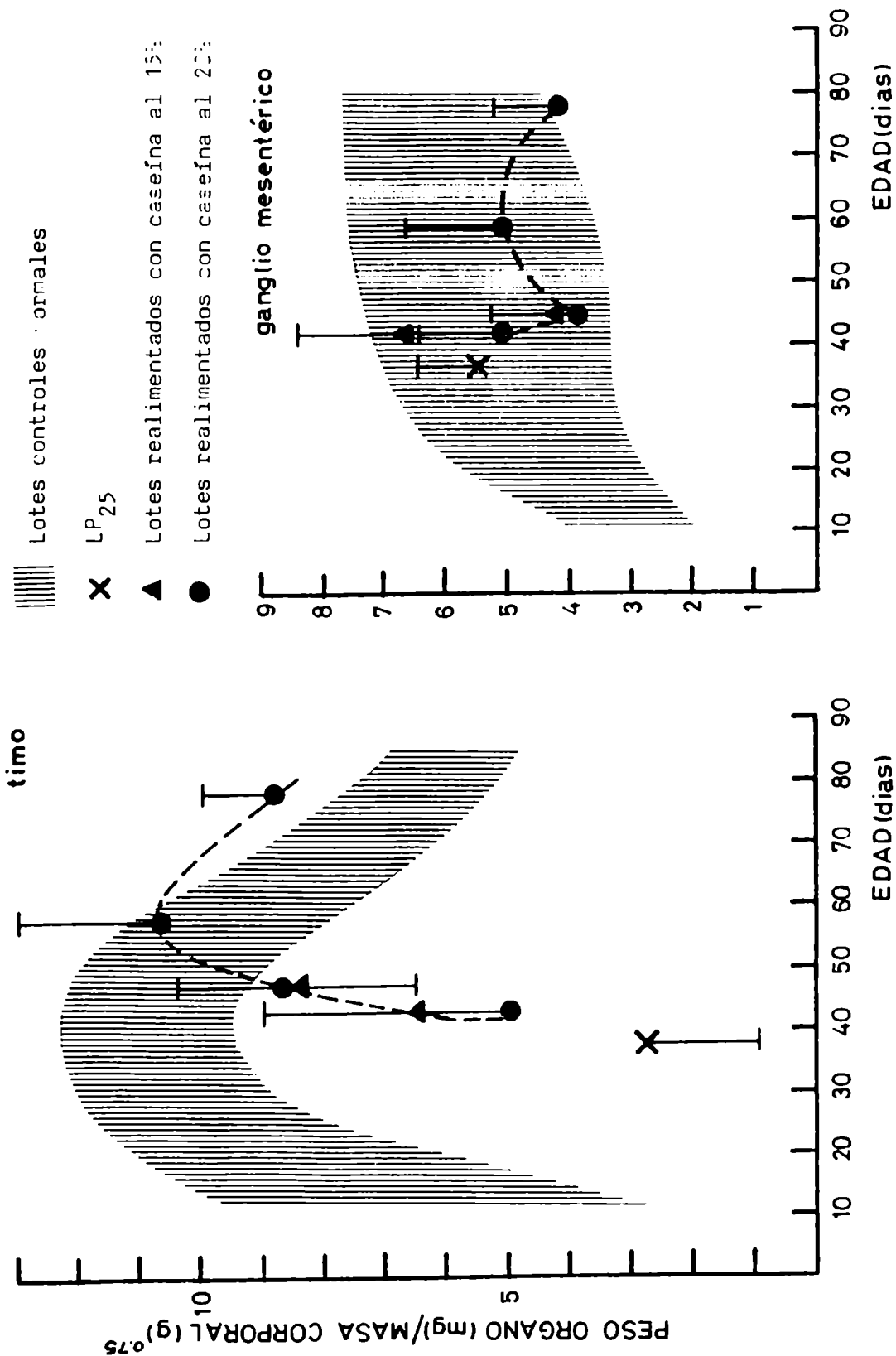


TABLA 13
EFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL.
RECUBIERTO CELULAR

INTE*	EDAD (Años)	TIMO		GANGLIO MESENERICO		
		Cél. 10^7 /ml	Cél. 10^7 /g tej.	Cél. 10^7 /ml	Cél. 10^7 /g tej.	
R ₁₅ (5)	41-43		(a)(b)	(a)(b)	(a)(c)	
		\bar{X}	3.2	22.2	0.9	8.2
		DI.	± 0.7	± 2.7	± 0.4	± 4.7
		ESM	± 0.3	± 1.4	± 0.1	± 2.1
R ₁₅ (9)	45-47		(d)(e)	(c)(d)	(d)	
		\bar{X}	23.2	145.6	1.3	16.7
		DE	± 7.4	± 56.9	± 0.2	± 2.3
		ESM	± 3.3	± 25.5	± 0.1	± 1.0
R ₂₀ (5)	41-43		(b)(d)	(b)	(a)(c)	
		\bar{X}	5.0	53.1	1.1	12.7
		DE	± 1.2	± 4.9	± 0.4	± 6.0
		ESM	± 0.6	± 2.2	± 0.2	± 2.7
R ₂₀ (9)	45-47		(d)	(a)	(d)	
		\bar{X}	40.8	167.3	1.6	16.6
		DE	± 12.0	± 33.6	± 0.6	± 6.9
		ESM	± 6.0	± 16.8	± 0.3	± 3.5
R ₂₀ (21)	57-59		(d)(e)	(b)	(d)	
		\bar{X}	57.1	160.4	2.9	19.5
		DE	± 24.4	± 36.1	± 1.1	± 7.8
		ESM	± 10.9	± 16.1	± 0.5	± 3.5
R ₂₀ (40)	76-78		(c)(d)	(d)	(b)(d)	
		\bar{X}	53.1	144.4	3.2	16.8
		DI	± 20.2	± 71.3	± 0.6	± 3.7
		LSM	± 7.3	± 25.2	± 0.2	± 1.2

(continúa pág. 51)

(continúa tabla 15)

LOTE*	EDAD (días)		TIMO		GANGLIO MENTERICO	
			Cél.10 ⁷ /ml	Cél.10 ⁷ /g tej.	Cél.10 ⁷ /ml	Cél.10 ⁷ /g tej.
LP ₂₅	36-38	\bar{X}	1.8	125.7	0.6	10.8
		DE	\pm 0.7	\pm 79.4	\pm 0.3	\pm 5.5
		FSM	\pm 0.3	\pm 32.4	\pm 0.1	\pm 2.2
C O	39	\bar{X}	48.0	207.0	1.7	13.1
		DE	\pm 20.9	\pm 90.0	\pm 1.1	\pm 8.1
		ESM	\pm 9.4	\pm 40.0	\pm 0.5	\pm 3.6
N T R	45	\bar{X}	66.2	180.0	2.9	18.4
		DE	\pm 24.0	\pm 48.0	\pm 1.5	\pm 12.1
		ESM	\pm 10.8	\pm 21.0	\pm 0.7	\pm 5.4
O L E	60	\bar{X}	17.9	46.2	4.3	16.4
		DE	\pm 1.5	\pm 2.4	\pm 0.9	\pm 3.8
		LSM	\pm 0.7	\pm 1.2	\pm 0.5	\pm 1.9
S	80	\bar{X}	35.8	120.6	2.5	8.4
		DE	\pm 17.7	\pm 47.8	\pm 0.8	\pm 3.5
		FSM	\pm 7.9	\pm 21.4	\pm 0.4	\pm 1.6

* n = 6-8 animales por lote.

- a) Diferencia significativa a nivel de $p \leq 0.05$ con respecto al grupo LP₂₅.
- b) Diferencia altamente significativa a nivel de $p \leq 0.01$ con respecto al control correspondiente al mismo rango de edad.
- c) Diferencia significativa a nivel de $p \leq 0.05$ con respecto al control correspondiente al mismo rango de edad.
- d) Diferencia altamente significativa a nivel de $p \leq 0.01$ con respecto a LP₂₅.
- e) Diferencia altamente significativa a nivel de $p \leq 0.01$ con respecto al control correspondiente al mismo rango de edad.

40 días presentaron valores significativamente mayores que los controles de la misma edad (57.1 vs 17.9 ; 53.1 vs 35.8, respectivamente), no siendo dichos resultados estadísticamente diferentes del control de 45 días (57.1 ; 53.1 vs 66.2).

Este hecho concuerda con el mayor tamaño del timo de estos grupos experimentales (Figura 9).

En ganglio mesentérico se observó un aumento significativo en el número de células con respecto al control en depleción (IP_{25}) después de la administración de las dietas experimentales ($p < 0.01$). A partir de los 9 días de realimentación con caseína al 20% no se observaron diferencias significativas entre los resultados obtenidos para los restantes lotes experimentales y los correspondientes controles normales.

Resumen: En timo, se alcanzaron los valores correspondientes al control de igual edad con 9 días de administración de la dieta con caseína al 20%; los grupos realimentados durante períodos largos mostraron un número de células significativamente mayor al esperado para la edad cronológica.

En G.M., a partir de los 9 días de realimentación con caseína al 20% no se observaron diferencias significativas entre los lotes experimentales y los correspondientes controles de igual edad.

V) Marcadores específicos de los órganos estudiados

TIMO

En la Tabla 14 se presentan los porcentajes de células linfocitos $W3/13^+$ en el timo de los lotes realimentados con las dietas experimentales.

TABLA 14
ELECCIÓN DE LA RECUPERACIÓN NUTRICIONAL SOBRE LA
POBLACION CELULAR W3/13⁺ DEL TIMO

LOTE	EDAD (días)	% Cél. W3/13 ⁺ (*)			p
			EXPERIMENTAL	CONTROL	
LP ₂₅	36-38	\bar{X}	6.0	92.0	< 0.00005
		DE	\pm 4.8	\pm 1.4	
		ESM	\pm 1.5	\pm 0.5	
R ₁₅₍₅₎	41-43	\bar{X}	4.1	87.6	< 0.00005
		DE	\pm 0.9	\pm 7.2	
		ESM	\pm 0.6	\pm 3.2	
R ₁₅₍₉₎	45-47	\bar{X}	55.9 ^(a)	87.6	< 0.00005
		DE	\pm 9.2	\pm 7.2	
		ESM	\pm 3.5	\pm 3.2	
R ₂₀₍₅₎	41-43	\bar{X}	37.9 ^(a)	87.6	< 0.00005
		DE	\pm 8.2	\pm 7.2	
		ESM	\pm 3.7	\pm 3.2	
R ₂₀₍₉₎	45-47	\bar{X}	96.9 ^{(a)(b)}	87.6	n.s.
		DE	\pm 1.3	\pm 7.2	
		ESM	\pm 0.5	\pm 3.2	
R ₂₀₍₂₁₎	57-59	\bar{X}	80.1 ^(a)	90.9	n.s.
		DE	\pm 10.3	\pm 1.5	
		ESM	\pm 3.4	\pm 0.6	
R ₂₀₍₄₀₎	76-78	\bar{X}	81.1 ^(a)	68.7	< 0.01
		DE	\pm 5.7	\pm 5.2	
		ESM	\pm 2.5	\pm 2.3	

(*) n: 6-10. Fueron leídas 400-800 células.

a) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.00005$ con respecto a LP₂₅. b) $\chi^2 = 836.1$; $p < 0.001$ con respecto a R₁₅₍₉₎.

La realimentación con la dieta de caseína al 15% durante períodos cortos indujo un aumento significativo en la población celular $W3/13^+$ con respecto al control en depleción sólo en el lote que recibió la dieta durante 9 días ($p < 0.00005$); sin embargo los valores no alcanzaron los resultados correspondientes al control normal.

La administración de la dieta al 20% de caseína provocó en todos los lotes realimentados un aumento significativo en el porcentaje de células $W3/13^+$ con respecto al LP_{25} , habiéndose alcanzado con 9 y 21 días de realimentación los valores correspondientes al control de igual edad; a partir de los 40 días de realimentación se observaron valores significativamente mayores del control correspondiente ($p < 0.01$), siendo dichos resultados no diferentes del control de 60 días.

Resumen: La administración de la dieta con caseína al 15% durante períodos cortos no permitió la recuperación de la población celular $W3/13^+$ en timo; con la dieta al 20% de caseína se alcanzaron los valores correspondientes al control de igual edad en 9 días de realimentación; los datos obtenidos para períodos largos confirman el desfase en la involución tímica al que se hizo referencia en tablas anteriores.

GANGLIO MESENTERICO

Los resultados para la población celular $W3/13^+$, α_{cit}^+ y α_{sup}^+ en ganglio mesentérico de los lotes realimentados con las dietas experimentales se muestran en la Tabla 15.

La administración de la caseína al 15% indujo un aumento significativo en el porcentaje de la población celular $W3/13^+$ con respecto al control de depleción en el lote realimentado durante 9 días ($p < 0.00005$), no alcanzándose los valores correspondientes a su control normal. Todos los lotes realimentados con caseína al 20% mostraron un aumento significativo en el porcentaje de células $W3/13^+$, habiéndose alcanzado los valores correspondientes al control en los períodos largos de recuperación, y a partir

TABLA 15

EFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL SOBRE LAS POBLACIONES CELULARES

W3/13⁺, α_{cit}^+ y α_{sup}^+ DE GANGLIO MESENTERICO

LOTE	EDAD (días)		% cél. T W3/13 ⁺ *	% cél. α_{cit}^+ *	% cél. α_{sup}^+ *
R ₁₅ (5)	41-43	\bar{X}	4.6 ^{(a)(b)}	4.3 ^(b)	18.3 ^{(a)(b)}
		DE	\pm 1.4	\pm 2.0	\pm 3.7
		LSM	\pm 0.5	\pm 0.9	\pm 1.0
R ₁₅ (9)	45-47	\bar{X}	32.1 ^{(a)(b)}	10.9 ^{(b)(c)}	25.4 ^{(a)(b)}
		DE	\pm 9.6	\pm 7.2	\pm 6.1
		ESM	\pm 2.4	\pm 1.7	\pm 1.3
R ₂₀ (5)	41-43	\bar{X}	19.8 ^{(b)(c)}	14.6 ^{(a)(b)}	17.4 ^{(a)(b)}
		DE	\pm 5.8	\pm 6.5	\pm 2.0
		ESM	\pm 2.9	\pm 3.3	\pm 0.8
R ₂₀ (9)	45-47	\bar{X}	36.6 ^{(a)(b)(e)}	21.7 ^{(a)(b)(f)}	29.7 ^{(a)(g)}
		DE	\pm 6.6	\pm 13.2	\pm 5.1
		ESM	\pm 2.0	\pm 3.8	\pm 1.8
R ₂₀ (21)	57-59	\bar{X}	51.6 ^(a)	26.2 ^{(a)(b)}	41.7 ^(a)
		DE	\pm 10.8	\pm 6.6	\pm 8.4
		ESM	\pm 3.6	\pm 2.2	\pm 4.2
R ₂₀ (40)	76-78	\bar{X}	60.0 ^(a)	46.3 ^{(a)(d)}	--
		DE	\pm 7.9	\pm 14.0	--
		ESM	\pm 4.6	\pm 7.0	--

(continúa pág. 56)

(continúa tabla 15)

LOTE	EDAD (días)		% cél. W3/13 ⁺ *	% cél. α_{cit}^+ *	% cél. α_{sup}^+ *
LP ₂₅	36-38	\bar{X}	15.4	4.5	6.1
		DE	\pm 3.8	\pm 1.9	\pm 3.5
		ESM	\pm 1.2	\pm 0.5	\pm 1.0
C	39	\bar{X}	33.3	13.7	37.0
		DE	\pm 11.5	\pm 4.4	\pm 12.5
		ESM	\pm 4.1	\pm 1.3	\pm 4.7
C	45-80	\bar{X}	62.0	59.8	56.5
		DE	\pm 9.8	\pm 10.5	\pm 8.6
		ESM	\pm 3.7	\pm 3.2	\pm 3.2

* n: 6-10. Fueron leídas 400-800 células.

- Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.00005$ con respecto a LP₂₅.
- Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.0005$ con respecto al grupo control correspondiente al mismo rango de edad.
- Diferencia significativa a nivel de $p < 0.05$ con respecto a LP₂₅.
- Diferencia significativa a nivel de $p < 0.05$ con respecto al grupo control correspondiente al mismo rango de edad.
- $\chi^2 = 16.68$ $p < 0.01$ con respecto a $R_{15}(9)$.
- $\chi^2 = 131.07$ $p < 0.01$ con respecto a $R_{15}(9)$.
- $\chi^2 = 25.38$, $p < 0.01$ con respecto a $R_{15}(9)$.

de los 21 días de realimentación.

Un aumento en el porcentaje de células B que contienen IgA (α_{cit}^+) fue observado en los lotes experimentales a partir de los 9 días de administración de una u otra dieta experimental, con respecto al LP₂₅ no alcanzándose los valores correspondientes al control aún después de 21 ó 40 días de realimentación con caseína al 20%. La administración de ambas dietas experimentales indujo un aumento significativo en el porcentaje de células B que expresan IgA (α_{sup}^+) en todos los lotes estudiados, con respecto a LP₂₅; sólo a partir de los 9 días de administración de caseína al 20% el porcentaje de α_{sup}^+ no fue significativamente diferente del control respectivo.

Resumen: En G.M. se recuperó la población celular T W3/13⁺ a partir de 21 días de administración de la dieta con caseína al 20%. Sólo 9 días de la misma dieta fueron necesarios para recuperar la población celular B que expresa IgA, mientras que la población celular B que contiene IgA no se recuperó en los períodos experimentales estudiados.

3 D - EFFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL SOBRE DESNUTRICION DE SEGUNDO GRADO (LP₂₀)

Sobre la base de los resultados obtenidos con la administración de las dietas experimentales durante períodos cortos -9 días- a animales con tercer grado de desnutrición (item 2 C), en esta parte del trabajo se analizó el efecto de la recuperación nutricional sobre el timo de los animales que durante el período de depleción proteica hubieran perdido alrededor del 20% de su peso al destete -modelo de desnutrición de segundo grado-, con las mismas dietas y durante el mismo período experimental (grupos R₁₅₍₉₎ y R₂₀₍₉₎). Sobre estos lotes se determinó el peso corporal, velocidad de ga

nancia ponderal y peso del fimo, recuento celular y población celular 10^3 , $W3/13^+$.

I) Consumo de dieta, energía y proteína

En la Tabla 16 se presentan los resultados obtenidos para el consumo de las dietas experimentales, de proteína y de energía promedio, expresados en g/día, mg de proteína/ $\bar{P}^{0.75}$ /día y Kcal/ $\bar{P}^{0.75}$ /día, respectivamente, para los lotes experimentales.

TABLA 16
EFFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL

CONSUMO DE DIETA, DE PROTEINA Y DE ENERGIA EN LOS LOTES EXPERIMENTALES

LOTE *		CONSUMO DE DIETA g/día	CONSUMO DE PROTEINA mg/ $\bar{P}^{0.75}$ /día	CONSUMO DE ENERGIA Kcal/ $\bar{P}^{0.75}$ /día
R' 15(9)	\bar{X}	7.16	59.4	1.58
	DE	\pm 0.63	\pm 4.6	\pm 0.12
	ESM	\pm 0.24	\pm 2.1	\pm 0.05
R' 20(9)	\bar{X}	8.15 ^(a)	76.9 ^(b)	1.54
	DE	\pm 0.16	\pm 1.4	\pm 0.03
	ESM	\pm 0.08	\pm 0.7	\pm 0.01

* 6-8 animales por lote.

a) Diferencia significativa a nivel de $p < 0.02$ con respecto a R' 15(9).

b) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.002$ con respecto a R' 15(9).

De dicha table surge que el consumo promedio de dieta fue significativamente mayor en el grupo que recibió la dieta con caseína al 20% durante los 9 días de experiencia. No obstante ello, no se observaron diferencias significativas en el consumo de energía cuando se lo expresó en función de la masa metabólicamente activa; por esta razón, el consumo de proteína, expresado en la misma forma fue significativamente mayor en el grupo R' 20(9), como consecuencia de la mayor concentración proteica de la dieta.

II) Peso corporal y velocidad de ganancia ponderal

En la Tabla 17 se presentan los resultados obtenidos para el peso corporal y velocidad de ganancia ponderal de los lotes experimentales.

TABLA 17
EFEECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL
MODIFICACIONES EN EL PESO CORPORAL DE LOS LOTES EXPERIMENTALES

LOTE *	EDAD (días)	P_i (g)	P_f (g)	VGP
R' 15(9)	45-47	\bar{X} 30.9 DE \pm 4.4 ESM \pm 1.7	64.1 ^{(a)(b)} \pm 3.7 \pm 1.4	7.55 \pm 0.88 \pm 0.53
R' 20(9)	45-47	\bar{X} 34.1 DE \pm 2.1 ESM \pm 1.0	83.4 ^{(a)(b)(c)} \pm 3.4 \pm 1.7	9.35 ^(c) \pm 0.26 \pm 0.13
C	45	\bar{X} -- DE -- ESM --	98.1 \pm 11.4 \pm 3.6	-- -- --

*6-8 animales por lote. a) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.0005$ con respecto a P₀. b) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.001$ con respecto a C. c) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.005$ con respecto a R' 15(9).

De esta tabla surge que el peso corporal de los dos grupos experimentales aumentó en forma altamente significativa respecto del peso de partida no alcanzándose sin embargo en ningún caso, el peso corporal del grupo control de igual edad. La mayor velocidad de ganancia ponderal se observó en el grupo que recibió la dieta con 20% de caseína.

III) Evolución del peso del timo

En la Tabla 18 se muestran los valores obtenidos para el peso del timo de los animales realimentados con las dietas experimentales.

TABLA 18
EFFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL
PESO DEL TIMO

LOTE*	EDAD (días)	T I M O		
			mg	mg/P ^{0.75}
R' 15(9)	45-47	\bar{X}	216.0 ^(a)	9.5 ^{(a)(b)}
		DE	\pm 11.0	\pm 0.6
		ESM	\pm 3.0	\pm 0.2
R' 20(9)	45-47	\bar{X}	269.0 ^(a)	11.8 ^(a)
		DE	\pm 53.0	\pm 2.2
		ESM	\pm 27.0	\pm 1.1
LP ₂₀	36-38	\bar{X}	58.9	5.1
		DE	\pm 21.1	\pm 1.7
		ESM	\pm 10.5	\pm 0.9
C	45	\bar{X}	346.0	10.9
		DE	\pm 58.7	\pm 1.1
		ESM	\pm 19.6	\pm 0.3

* 6-8 animales por lote.

a) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.005$ con respecto a LP₂₀. b) Diferencia significativa a nivel de $p < 0.02$ con respecto a C.

Resumen : de la tabla 18 surge que el peso del timo -expresado en mg ó en $\text{mg}/\text{P}^{0.75}$ - aumentó en forma significativa respecto del control en depleción en los dos grupos estudiados; sólo con la administración de la dieta con caseína al 20% el peso del timo alcanzó el valor correspondiente al control de la misma edad; esta diferencia de comportamiento entre los lotes desapareció al ser expresados los datos en función de la masa metabólicamente activa, hecho que indicaría que el tamaño alcanzado por el timo después de la realimentación fue el correspondiente al tamaño corporal al final de la experiencia.

IV) Recuento celular y población celular T, W3/13⁺ en timo

En la Tabla 19 se presentan los valores obtenidos para el recuento celular y población celular T, W3/13⁺ en timo de los animales realimentados.

TABLA 19
EFEECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL
RECUESTO CELULAR Y POBLACION CELULAR T, W3/13⁺

LOTE*	EDAD (días)		Cél. $10^7/\text{ml}$	Cél. $10^7/\text{q tej.}$	% Cél. W3/13 ⁺ (**)
R ¹ ₁₅₍₉₎	45-47	\bar{X}	54.9 ^(a)	252.5 ^(a)	96.5 ^(a)
		DE	+ 19.0	+ 83.2	+ 2.7
		FSH	+ 7.2	+ 31.5	+ 0.9
R ¹ ₂₀₍₉₎	45-47	\bar{X}	32.9 ^{(a)(b)}	225.6 ^{(a)(b)}	95.1 ^(a)
		DE	+ 18.5	+ 109.1	+ 7.7
		FSH	+ 8.3	+ 48.8	+ 2.4
LP ₂₀	36-38	\bar{X}	1.1	20.0	30.3
		DE	+ 0.2	+ 4.4	+ 6.9
		FSH	+ 0.1	+ 2.2	+ 5.5
C	45	\bar{X}	66.2	180.0	87.6
		DE	+ 24.0	+ 48.0	+ 7.2
		FSH	+ 10.8	+ 21.0	+ 3.2

* 6-8 animales por lote. (**) n: 6-10. fueron leídas 400-800 células.

a) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.005$ con respecto a LP₂₀.

b) Diferencia significativa a nivel de $p < 0.05$ con respecto a C.

De la Tabla 19 surge que al administrarse las dietas al 15% y 20% de caseína los dos grupos alcanzaron, luego del período experimental, valores en el número de células no significativamente diferentes al control de igual edad; ambos grupos realimentados alcanzaron los valores normales para la población celular I, W3/13⁺.

En la Tabla 20 se presentan los datos obtenidos para la población celular W3/13⁺ de timo de los lotes R'₁₅₍₉₎; R'₂₀₍₉₎; R₁₅₍₉₎ y R₂₀₍₉₎.

TABLA 20
EFECTO DE LA RECUPERACION NUTRICIONAL
SOBRE LA POBLACION CELULAR W3/13⁺ DE TIMO

LOTE	EDAD (días)	% Cél. W3/13 ⁺ (*)	
		\bar{X}	
R' ₁₅₍₉₎	45-47	\bar{X}	96.3
		DE	\pm 2.7
		ESM	\pm 0.9
R' ₂₀₍₉₎	45-47	\bar{X}	93.1
		DE	\pm 7.7
		ESM	\pm 2.4
R ₁₅₍₉₎	45-47	\bar{X}	55.9 (a)(b)(c)
		DE	\pm 9.2
		ESM	\pm 3.5
R ₂₀₍₉₎	45-47	\bar{X}	96.9
		DE	\pm 1.3
		ESM	\pm 0.5
C	45	\bar{X}	87.6
		DE	\pm 7.2
		ESM	\pm 3.2

(*) n: 6-10. Fueron leídas 400-800 células.

a) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.0005$ con respecto a C.

b) Diferencia altamente significativa a nivel de $p < 0.0005$ con respecto a R'₁₅₍₉₎.

c) $\chi^2 = 836.1$, $p < 0.0001$ con respecto a R₂₀₍₉₎.

De esta tabla surge que la administración de caseína al 20% durante 9 días fue suficiente para revertir el efecto de ambos niveles de depleción proteica sobre la población celular W3/15⁺ de timo, mientras que la administración de caseína al 15% durante el mismo período de realimentación sólo fue capaz de revertir el efecto de un cuadro de desnutrición de segundo grado (LP₂₀).

CAPITULO 4

DISCUSION

EFFECTO DE LA DEPLECION PROTEICA Y LA POSTERIOR RECUPERACION NUTRICIONAL

4A) Evolución del peso corporal

Se ha demostrado que la restricción proteica en animales durante el período de crecimiento activo es seguida por crecimiento compensatorio durante la realimentación posterior; la velocidad y la magnitud de dicho crecimiento compensatorio está relacionada inversamente con la longitud del período previo de depleción proteica (78-81). En nuestro trabajo hemos analizado los efectos de un tercer y segundo grado de desnutrición (67,68) por deficiencia de proteínas al destete.

La curva que relaciona peso corporal de los animales en depleción proteica hasta pérdida de no menos del 25% de su peso al destete, realimentados con la dieta experimental al 20% de caseína, es similar a la clásica función de evolución del tamaño corporal (Figura 8), pero se encuentra desplazada hacia valores inferiores a los del rango normal; lo mismo ocurre con la administración de caseína al 15% durante períodos

cortos. Por lo tanto, nuestros resultados, en animales sometidos a partir del destete a depleción proteica severa hasta asemejar un cuadro de desnutrición de tercer grado (67,68,82) que no llegan a recuperar su peso corporal aún después de largos períodos de realimentación con una dieta óptima, confirman resultados encontrados por otros autores en diferentes condiciones experimentales. A semejanza de lo observado por Edozien y col. (83) en ratas normales en crecimiento la máxima velocidad de ganancia ponderal (VGP) se presentó en los lotes realimentados con caseína al 20% durante 5-9 días, para luego disminuir (Tabla 11). Este hecho coincide con una mayor ingesta proteica (Tabla 10) que ayudaría a la recuperación del tamaño corporal en concordancia con lo observado por Lau y col. (84) quienes señalaron que durante el período de crecimiento activo la proteína es el factor limitante más importante.

Las ratas con un cuadro de segundo grado de desnutrición previo, presentaron altos valores de ganancia ponderal luego de la realimentación durante 9 días con una u otra dieta experimental (Tabla 17); a pesar de este hecho, el crecimiento compensatorio no fue suficiente como para alcanzar los valores de peso corporal de los controles correspondientes. Es importante remarcar que los animales desnutridos de tercer grado realimentados durante 9 días con caseína al 20% mostraron una mayor ingesta de proteína -expresada en función de la masa metabólica -mente activa- que el grupo desnutrido de segundo grado realimentado con la misma dieta e igual período experimental (91.4 vs 76.9, $p < 0.002$). Los pesos corporales alcanzados por las ratas con un segundo grado de desnutrición previo, fueron después de la realimentación, superiores a los que presentaron los animales con mayor grado de depleción, independientemente que el nivel de caseína fuera 15% ó 20% (64.1 vs 53.8, $p < 0.02$; 83.4 vs 63.2, $p < 0.005$, respectivamente).

Estos hallazgos confirman que el deterioro provocado por la deficiencia proteica al destete, condiciona el posterior efecto de la dieta de recuperación.

4B) Evolución del peso del timo y ganglio mesentérico

El cuadro de crecimiento y desarrollo normal de los diferentes órganos varía de uno a otro, señalándose para el timo una rápida fase de crecimiento seguida de una fase estacionaria y una fase gradual de regresión que continúa a través de la vida adulta, dependiendo esta última etapa de la especie o la cepa en estudio (85-87). En la mayoría de los mamíferos el timo se desarrolla antes del nacimiento y su desarrollo precede al de otros órganos linfoides tales como el bazo y los ganglios linfáticos (88). Los efectos de la depleción proteica no son uniformes siendo algunos órganos y tejidos más afectados que otros y también a nivel celular algunas proteínas son más deterioradas que otras (89).

Se ha demostrado en la rata que la malnutrición proteica durante los primeros días de vida ejerce mayor influencia sobre el crecimiento y el desarrollo celular que la malnutrición energética (84,90-93); en el timo, bajos niveles de proteína en la dieta producen una reducción en la actividad fisiológica, con disminución concomitante de su peso y contenido de DNA total (92,94). En forma similar diversos estudios clínicos, en niños malnutridos, han demostrado alteraciones no sólo en el tamaño y peso del timo, sino también modificaciones a nivel estructural y celular (95-99).

Nuestros resultados en timo de ratas sometidas a depleción proteica durante el período de su crecimiento activo, confirman esta información, demostrando que la depleción proteica afecta su peso, disminuyéndolo en relación a la masa metabólicamente activa, independientemente del grado de desnutrición alcanzado (Figura 7).

Por el contrario, no se observaron modificaciones en el peso del ganglio mesentérico, pese a la tendencia de los valores medios obtenidos a encontrarse desplazados hacia los límites superiores del rango normal (Figura 7). Este hecho podría deberse a que el ganglio mesentérico es afectado por la depleción proteica en menor proporción que la ma-

sa total del organismo y, por consiguiente, su tamaño aparecería parado
jicamente aumentado para ambos grados de desnutrición.

Estudios sobre ratones jóvenes malnutridos han demostrado que el timo atrofiado por efecto de la malnutrición proteica se regenera en peso y número de células simplemente por realimentación con una dieta stock rica en proteínas (100). Este hecho fue confirmado en nuestro modelo experimental de tercer grado de desnutrición ya que se observó en timo una rápida repleción coincidente con una rápida fase de crecimiento luego de 5-9 días de realimentación con caseína al 15% ó 20% (Figura 9). Al prolongarse el período de realimentación con caseína al 20% entre 21 y 40 días, los timos tendieron a ajustarse al comportamiento nor
mal aún cuando la involución apareció retardada en el tiempo. Este hecho señala que la desnutrición daña al timo pero no provoca su involu -
ción precoz sino que por el contrario la retarda, provocando el despla -
zamiento respecto de la edad cronológica del animal (Figura 9). Este ha
llazgo apoyaría la teoría en la que se señala la interrelación entre la restricción dietética y el retardo en la maduración del sistema inmune que traería aparejado un aumento en la longevidad (99,101).

Hasta la fecha no se han descrito estudios de nutrición rela
cionados con variaciones de peso del tejido linfoide asociado al tracto
gastrointestinal. En nuestro trabajo hemos observado que la realimenta
ción con las dietas experimentales no provocó cambios significativos en
el peso del ganglio mesentérico -expresado en función de la masa metabo
licamente activa- manteniéndose los valores dentro de los rangos corres
pondientes a los controles normales de igual edad (Figura 9).

4C) Proliferación celular en timo y ganglio mesentérico

Se ha demostrado que el crecimiento normal en la rata entera y en los órganos individuales es debido inicialmente a la etapa de hiperplasia, seguida de una etapa de hiperplasia e hipertrofia concomitantes y finalmente una etapa de hipertrofia. Estos estadios aparecen gradualmente en uno y otro órgano (78). En los tejidos linfoides incluidos en este estudio -timo y GM- cada una de estas etapas estaría acompañada a nivel celular por procesos de proliferación, diferenciación y maduración que conducirían a la producción de células efectoras terminales (20).

Los resultados de este trabajo en cuanto al recuento celular en timo y ganglio mesentérico en los lotes normales, alimentados desde el destete con dieta stock (Tabla 3) concuerdan con lo ya demostrado por otros investigadores acerca de la proliferación celular desde el nacimiento hasta la vida adulta (78,85-87), observándose para ambos órganos un aumento en el número de células con la edad hasta los 45-50 días de vida. A partir de esta edad, coincidiendo con la pubertad, el timo presentó la disminución del número de células que acompaña a su involución, mientras que ya no se produjeron cambios significativos en ganglio mesentérico (Tabla 3).

La velocidad de división celular y el número de células que compone un órgano particular son determinadas no sólo por factores intrínsecos de orden genético sino también por factores extrínsecos tales como el medio ambiente; se ha demostrado que el estado de nutrición, durante el período neonatal es un factor extrínseco de vital importancia (78,102).

Los efectos de la malnutrición proteica sobre los diferentes órganos y tejidos dependen de la edad del animal y de la duración de la restricción, siendo aquéllos de mayor velocidad de recambio los más rápidamente afectados (102,103). Diversas investigaciones han señalado

que la malnutrición temprana interfiere con la división celular y que el animal realimentado no se recupera; la malnutrición en un estadio más tardío de la etapa del crecimiento provoca una reducción del tamaño celular, del cual el animal podría recuperarse a través de una adecuada realimentación (103-107). Además, la malnutrición proteica severa en ratas durante la lactancia, produce la prolongación en el tiempo del ciclo de proliferación celular de algunos tejidos (106) mientras que, la baja ingesta proteica en ratas adultas afecta el tamaño y número de células de la glándula tímica y provoca también una disminución en la síntesis proteica en ésta y en médula ósea(92).

En nuestro modelo experimental la depleción proteica al destete provocó una disminución significativa en el número de células de timo y ganglio mesentérico (Tabla 7) siendo mayor el efecto sobre el timo; tanto el grupo de animales que perdió no menos del 25% de su peso (LP_{25}), como el grupo que perdió el 20% de dicho peso (LP_{20}) presentaron una disminución altamente significativa en el número de células con respecto al control de igual edad. Los resultados en timo de ratas deplecionadas al destete coinciden con los obtenidos por otros autores en modelos experimentales en ratas adultas (2), así como observaciones realizadas en estudios en humanos (108). Se debe señalar que estudios similares en ganglio mesentérico, no han sido descriptos hasta la fecha.

En los animales con tercer grado de desnutrición, la administración de la dieta al 15% y 20% de caseína (Tabla 13) hizo reanudar la etapa de proliferación celular y el número de células aumentó respecto del control de depleción (LP_{25}) en ambos órganos (timo y ganglio mesentérico). Sin embargo, los valores normales para la edad sólo se alcanzaron después de 9 días de realimentación con caseína al 20%, ya que la administración de caseína al 15% no fue suficiente como para revertir el efecto de la depleción proteica previa de tercer grado. A partir de ese momento se observó en timo, una prolongada fase de estado estacionario manteniendo los animales de aproximadamente 60 días valores corres-

pondientes a lotes normales de 45 días. En cambio, a animales con desnutrición previa de segundo grado (LP_{20}), tanto la administración de la dieta al 20% de caseína como al 15%, durante 9 días, fue suficiente como para revertir el efecto de esa depleción sobre el número de células del timo (Tabla 19).

Por consiguiente los órganos estudiados -timo y G.M.- responden en grado diferente tanto a la depleción proteica previa como a la posterior realimentación. Estas observaciones podrían interpretarse teniendo en cuenta que las diferentes etapas del desarrollo y crecimiento celular y la duración de las mismas varían de un órgano a otro (83,93, 103) pudiendo una adecuada realimentación normalizarlas o no, siendo dependiente de la exigencia de nutrientes específicos para cada órgano y para cada etapa del desarrollo en particular.

4D) Marcadores específicos en Timo y Ganglio Mesentérico

TIMO

Población celular T ($W3/13^+$)

Aunque las funciones del timo han sido objeto de estudio durante más de un siglo, su papel y significado como glándula endocrina que influye en la respuesta inmune recién se han perfilado en las dos últimas décadas (100,109).

Se ha demostrado que las células madre migran hacia el timo, desde la bolsa vitelina e hígado fetal en la vida embrionaria y desde la médula ósea en la vida adulta (110). Dentro del medio ambiente tímico estas células proliferan y se diferencian en timocitos. Al llegar a la madurez el timo contiene 99% de timocitos de los cuales 85-90% son

timocitos pequeños, corticales, que no se dividen y un 10-15% son timocitos medulares de tamaño grande y medio que se encuentran en división (111). A pesar de la reducción del tamaño que se produce en la pubertad, el timo continúa produciendo células T vírgenes a lo largo de la vida, pudiendo considerárselo como el sistema más eficiente para la expansión y selección de las células T funcionalmente maduras (19,20,112).

Experimentos con marcadores celulares han demostrado que algunos timocitos migran hacia tejidos linfoides periféricos donde son denominados linfocitos derivados del timo ó linfocitos T, mientras que un número desconocido puede morir in situ (113,114). Como en otros sistemas celulares la diferenciación y la proliferación son regulados por la combinación de micro medios ambientes y acciones hormonales (115). Muchos estudios han sugerido un papel preponderante de gran variedad de factores tímicos humorales u hormonas en la maduración de los timocitos; estos estudios han sugerido que las hormonas tímicas controlan la proliferación de los precursores de células T en médula ósea y la diferenciación y la maduración de las células T en timo y tejidos linfoides periféricos (116-120).

Los procesos de diferenciación y maduración intratímica corresponden a la aparición de células con distintos determinantes antigénicos específicos, que pueden ser reconocidos por anticuerpos monoclonales (112,119). Los timocitos maduros que migran hacia los tejidos linfoides periféricos presentan heterogeneidad en cuanto a su función (subpoblaciones T_H , T_S , T_C); estas células T maduras (tímicas y periféricas) pueden reconocerse con el antisuero monoclonal xenogéneo W3/13 (72,72).

En nuestro modelo experimental, en rata en crecimiento, la deficiencia proteica al destete, hasta pérdida del 25% ó 20% del peso inicial -cuadros de malnutrición de tercer y segundo grado, respectivamente (67,68)- produjo pérdida de la población celular T W3/13⁺, siendo la magnitud de esta pérdida dependiente del grado de desnutrición alcanzado (Tabla 8). Esta pérdida podría estar asociada con el aumento en los

niveles de glucocorticoides, ya que numerosos estudios han demostrado que el stress conduce a un aumento en la producción endógena de glucocorticoides por estímulo del sistema hipotálamo-pituitaria anterior-adrenales (121,122); un aumento en los niveles de glucocorticoides en depleción proteica moderada, fue confirmado por Varma y Mulay en un modelo experimental en rata (122).

Otro mecanismo por el cual podría explicarse la pérdida de la población celular $T W3/13^+$ sería la falta de aminoácidos esenciales que produciría una disminución en la síntesis de los factores tímicos que incluyen timopoyetina, timosina, factor tímico sérico, factor tímico humoral y otras sustancias, todas éstas con estructuras polipeptídicas (115,124,125); se sabe que estos factores son secretados por las células epiteliales del timo y que son esenciales para la proliferación y diferenciación de los timocitos siendo su acción mediada por los nucleótidos cíclicos (115,124-129). En apoyo a este mecanismo pueden mencionarse trabajos de Petro y Watson en ratones nutricionalmente inmunosuprimidos (130) y también de Iwata y col. en niños malnutridos (131), quienes observaron una disminución en la actividad de la hormona tímica circulante secretada por el timo atrófico.

Un hecho que no puede ni debe descartarse son los posibles cambios en la concentración de las enzimas involucradas en el metabolismo de las purinas así como de la deoxinucleotidil transferasa terminal (TdT), conocidas como de fundamental importancia para la diferenciación celular e intratímica (128); estas enzimas se encontrarían afectadas de una u otra forma por el desequilibrio nutricional. Estudios de Chandra en sangre periférica de niños con malnutrición calórico-proteica severa, han mostrado disminución de la población celular T-determinada por técnica de formación de rosetas con eritrocitos de carnero- con aumento en los niveles de la deoxinucleotidil transferasa terminal (44).

Sobre la base de lo expuesto podrían explicarse los efectos

de la posterior administración de las dietas conteniendo caseína (Tabla 14). Su ingestión disminuiría los niveles plasmáticos de glucocorticoides con un aumento concomitante de la actividad de los factores tímicos humorales. Las hormonas tímicas podrían, al igual que otras hormonas polipeptídicas, estimular las células por interacción con receptores hormonales en el exterior de la membrana plasmática; esta acción provocaría la activación de la adenilciclase de la membrana celular produciéndose cambios en los niveles de cAMP y cGMP necesarios para el desarrollo celular intratímico (120,127-129).

La ingesta proteica modificaría también la actividad de las enzimas involucradas en el metabolismo de las purinas importantes para la diferenciación celular intratímica (128).

De esta manera se revertiría el efecto inicial de la deficiencia proteica severa, dependiendo la reversión de la magnitud de la depleción previa, tal como lo demuestra el hecho de que los efectos de la desnutrición de segundo grado (LP₂₀) sobre la población celular T W3/13⁺ fueron revertidos por ambas dietas experimentales en un período corto (9 días) de realimentación.

La interacción entre la concentración proteica de la dieta de recuperación y el grado de desnutrición es de fundamental importancia, tal que la dieta con caseína al 15% no logró revertir los efectos de una desnutrición de tercer grado (LP₂₅) que requirió de una mayor concentración proteica.

GANGLIO MESENTERICO

Los tejidos linfoides asociados al tracto gastrointestinal -ganglio mesentérico y placas de Peyer- tienen una estructura diversa,

reflejo de sus funciones opuestas: por una parte absorción de nutrientes y por otra rechazo de toxinas, microorganismos y macromoléculas complejas. Unido a estos mecanismos de barrera que controlan el movimiento de moléculas y partículas desde el lumen, se desarrolla el sistema inmune (132-135); además, por estimulación antigénica de las células B en dichos tejidos linfoides se produce preferencialmente inmunoglobulina de clase A (IgA) (23,24,71). La IgA secretoria del tracto gastrointestinal actúa como barrera aislando el medio interno de los potenciales agentes patógenos del medio externo. Varios trabajos han demostrado que hay abundancia de células que expresan IgA en los ganglios mesentéricos, siendo dichas células importantes para el ciclo celular de la IgA (24, 25,29); cualquier defecto de la migración de estas células obviamente conduciría a una disminución en la secreción de IgA. Además, experiencias con marcadores celulares -entre ellos el W3/13- han demostrado que algunos timocitos migran hacia los tejidos linfoides asociados al tracto gastrointestinal donde se denominan linfocitos derivados del timo (linfocitos T) (72,73,113,114). En nuestro modelo experimental hemos estudiado en ganglio mesentérico la población celular T caracterizada por el porcentaje de células que expresan el determinante antigénico W3/13 y la población celular B -caracterizada por el porcentaje de células que expresan IgA (α_{sup}) y el porcentaje de células que contienen IgA (α_{cit}).

a) Población celular T, W3/13⁺

La deficiencia severa al destete, hasta asemejar un cuadro de malnutrición de tercer grado (LP₂₅), produjo sobre la población celular T W3/13⁺ de G.M. una disminución similar a la ya descrita para la población celular W3/13⁺ de timo (Tabla 15). Este hallazgo indicaría que la población celular T se encuentra destruída en el origen (timo) y por consiguiente el porcentaje de células T encontradas en G.M. podría de -

berse a células T recirculantes. Esta población celular en G.M. alcanzó los valores normales después de 21 días de la administración de la dieta de recuperación al 20% de caseína (Tabla 15). Es conocido que el desarrollo completo de un ganglio sometido a estimulación antigénica tarda entre 7 y 9 días (18, 20), por lo cual, nuestro resultado estaría indicando que recién luego de la repoblación lfmica podría iniciarse la del ganglio mesentérico.

b) Población celular B que expresan (α_{sup}) y/o contienen (α_{cit}) IgA

La administración de la dieta libre de proteínas, hasta tercer grado de desnutrición (IP_{25}), produjo en ganglio mesentérico una disminución altamente significativa en el porcentaje de células B que expresan y/o contienen IgA (Tabla 15). Este hecho podría ser explicado si se tiene en cuenta que las células plasmáticas que segregan IgA, localizadas en la lámina propia de las membranas de las mucosas y/o glándulas exocrinas, son las moléculas efectoras finales del ciclo celular de la IgA que se inicia en las placas de Peyer (24, 25, 29) y que por estimulación antigénica sobre la mucosa se desarrolla una respuesta en la que predominan los anticuerpos de clase IgA.

Varios investigadores han demostrado la existencia de tres factores interactuantes, que explicarían esta producción preferencial:

1) intenso estímulo antigénico en G.M. y placas de Peyer (25, 29); 2) deleciones sucesivas del gen C_H próximos al gen C, en clones individuales (136) y 3) ayuda preferencial de las células T a las células portadoras del isotipo IgA, como ha sido demostrado sólo en modelos "in vitro" (137-139).

Nuestro modelo experimental parece confirmar la existencia de los tres factores interactuantes y señala a la dieta como un cuarto factor capaz de modificar el camino del desarrollo celular. Los resultados

hallados serían consecuencia de un muy bajo nivel de estimulación antigénica, asociado a la baja ingesta bajo condiciones de alimentación ad libitum, y la deficiencia de aminoácidos necesarios para la síntesis proteica, que afecta preferentemente las fracciones de rápido recambio(140).

En vista de la necesidad de la colaboración de las células T para la producción de IgA (137-139), el bajo porcentaje de células B que expresan IgA se puede explicar en función de la disminución de la subpoblación celular T_H , hecho que ha sido demostrado que se produce en estas condiciones experimentales (141), y que también ha sido descrito por Chandra en sangre periférica de niños con malnutrición calórico-proteica (142). Se debe remarcar que en este trabajo hemos encontrado que existe correlación entre el grado de depleción proteica y el porcentaje de células que expresan IgA, habiendo sido mucho mayor el efecto de un tercer grado de desnutrición (LP_{25}) que el de segundo (LP_{20}) (6.1 vs 11.7).

Estos resultados podrían explicar los niveles disminuidos de IgA en secreciones -lágrimas, saliva, secreciones intestinales y respiratorias- observadas en niños desnutridos (53-56,143,144), reconocida como una de las causas que contribuye a aumentar la frecuencia y la severidad de las infecciones que acompañan a todo stress nutricional(54 , 98,99).

La administración de ambas dietas de recuperación al grupo con desnutrición de tercer grado (LP_{25}) produjo un aumento en la población celular B que expresa IgA; esto indicaría que las células que expresan la región constante de la cadena pesada μ , pasan a expresar la región constante de la cadena pesada α (17,136-138); sin embargo, este pasaje parecería ser dependiente de la concentración proteica, ya que el nivel de proteínas en la dieta de recuperación determinó que se alcanzara o no los valores normales correspondientes a los controles de igual edad, durante los períodos cortos de realimentación (Tabla 15). Este mo

delo experimental no permite establecer si la diferencia de respuesta a la concentración proteica de la dieta puede ser compensada con un mayor tiempo de realimentación o si por el contrario, la concentración proteica es la determinante para alcanzar la recuperación total.

Por el contrario, la realimentación con caseína al 20%, durante períodos cortos o largos, no fue capaz de recuperar la población celular B que contiene IgA (Tabla 15). Esto sugiere que no se completaron las etapas de maduración celular ni aún después de 40 días de realimentación. El hecho que la población celular B que contiene IgA (α cit) no recupere su valor normal después de 40 días de realimentación -momento en que los animales se están acercando a la edad adulta- nos está indicando que un tercer grado de desnutrición al destete provocaría deterioro irreversible en ciertas etapas de la maduración celular en ganglio mesentérico.

Un análisis en conjunto de la información obtenida en G.M., nos estaría indicando que la desnutrición de tercer grado al destete, trae aparejada la atrofia del tejido linfoide asociado al tracto gastrointestinal, una deprimida proliferación celular y un frenado completo de la diferenciación celular. Los estudios de realimentación señalan la importancia de los niveles de proteína en la dieta y el tiempo de recuperación en las diferentes etapas de diferenciación y maduración celular dada por la aparición de marcadores celulares específicos.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

El tipo de respuesta y la vulnerabilidad de un tejido a los efectos del desequilibrio nutricional dependen de la velocidad de recambio celular. La cinética de proliferación celular en los órganos linfoides sugiere que estos tejidos deben ser particularmente susceptibles a los efectos de la desnutrición proteica.

Teniendo en cuenta que la respuesta se inicia en dichos órganos, y debido a la multiplicidad de aspectos involucrados con el sistema inmune, en este trabajo se han estudiado los efectos de la deficiencia proteica severa y de la posterior realimentación sobre timo y ganglio mesentérico de ratas en crecimiento. Los resultados de este modelo experimental han permitido describir los efectos específicos de la malnutrición proteica severa al destete y analizar el impacto de la posterior recuperación con diferentes niveles de proteína sobre los órganos de importancia fundamental a nivel de inmunidad celular y secretoria.

Para este estudio se utilizaron ratas de la cepa Wistar (6-8 crías por madre) que se destetaron al llegar a un peso entre 35-40 grs., (21-23 días de vida); a partir de ese momento se mantuvieron con dieta

libre de proteínas hasta pérdida de 20% ó 25% del peso inicial. Sobre estos animales se estudió: a) el efecto de la depleción proteica y b) el efecto de la realimentación. Sobre aquellos animales que perdieron no menos del 25% del peso al destete -lográndose así un modelo experimental para malnutrición de tercer grado (LP₂₅) (67,68)- se estudió el efecto de la recuperación nutricional durante períodos cortos (5 y 9 días) y prolongados (21 y 40 días). Sobre aquellos animales que durante el período de depleción proteica perdieron alrededor del 20 % del peso inicial -modelo de desnutrición de segundo grado (LP₂₀) (67, 68)- se estudió el efecto de la recuperación nutricional sólo durante períodos cortos.

Como control de nutrición normal se utilizaron grupos de ratas que desde el destete recibieron dieta stock de vivero. Estos animales fueron sacrificados a los 12 días, al destete (21-23 días) y a los 39,45,60 y 80 días de vida.

Al final del período experimental, y luego de 4 horas de ayuno, los animales fueron pesados y sacrificados previa anestesia con éter extrayéndoseles timo y ganglio mesentérico, los cuales fueron pesados. Se prepararon suspensiones celulares sobre las cuales se determinó el recuento celular y se caracterizaron los determinantes antigénicos en la superficie de la membrana celular de timocito y de las células T de ganglio mesentérico; en este órgano linfoide también se estudiaron las células B que expresan y/o contienen IgA. Para la caracterización de la población celular T se utilizó el anticuerpo monoclonal xenogéneo W3/13⁺ y para la determinación de los marcadores de la población celular B se utilizó el antisuero anti IgA específico para cadena alfa; todas estas determinaciones se realizaron por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (25,74).

Los resultados obtenidos en este trabajo nos permiten arribar a las conclusiones que a continuación enunciamos.

CONCLUSIONES

I)

Como consecuencia de la deficiencia proteica, al destete, se produce un frenado completo en la diferenciación y maduración celular, que se manifiesta tanto en el timo como en ganglio mesentérico, y que origina:

A) En Timo

- a) Disminución altamente significativa en el peso, en forma tal que los valores expresados en función de la masa metabólicamente activa son similares en los grupos deplecionados (LP_{25} y LP_{20}) y en los controles normales de 12 días (Tabla 6, Figura 7).
- b) Disminución en el número total de células cualesquiera fuese el grado de depleción alcanzado (Tabla 7).
- c) Disminución en el porcentaje de células T W3/13⁺, siendo la magnitud de la disminución dependiente del grado de desnutrición alcanzado (Tabla 8).

B) En Ganglio Mesentérico

- a) Mantenimiento del peso, no observándose diferencias significativas en los grupos deplecionados (LP_{25} y LP_{20}) respecto a los controles de igual edad (Tabla 6, Figura 7).
- b) Disminución significativa en el número total de células en los grupos con máxima depleción (LP_{25}) respecto a los controles normales de igual edad (Tabla 7).
- c) Disminución altamente significativa tanto en el porcentaje de células T W3/13⁺ como en el porcentaje de células B que contienen IqA (α_{cit}) y que expresan IqA (α_{sup}), en los animales deplecionados respecto a los controles de igual edad (Tabla 9).

11)

La administración de las dietas de recuperación con caseína al 15% y 20% por períodos cortos o con caseína al 20% por períodos prolongados, demuestra que los animales sometidos a partir del destete a depleción proteica hasta asemejar un cuadro de tercer grado de desnutrición, no llegan a recuperar su peso corporal aún después de largos períodos de realimentación con la dieta equilibrada (Figura 8).

Por otra parte, la realimentación, en las condiciones señaladas, produce los siguientes cambios:

A) En Timo


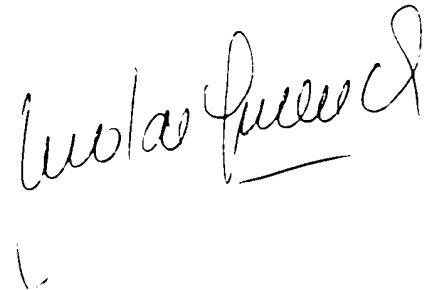
- a) Aumento del peso; los valores de peso en función de la masa metabólicamente activa alcanzan a los normales aunque se encuentran desplazados con respecto a la evolución normal en un intervalo de tiempo similar al período de depleción proteica previa (Figura 9).
- b) Reanudación de la proliferación celular, alcanzándose para el número total de células los valores correspondientes al control de igual edad con la administración de caseína al 20% y a partir de 9 días de ingesta, momento a partir del cual se observa una prolongada fase de estado estacionario (Tabla 13).
- c) Recuperación de la maduración celular, de acuerdo al porcentaje de células T W3/13⁺, con la administración de la dieta conteniendo caseína al 20% durante 9 días (Tabla 14). La administración de caseína al 15% durante 9 días no es capaz de revertir los efectos de un tercer grado de desnutrición, pero sí los efectos de un segundo grado (Tabla 19).

B) En Ganglio Mesentérico

- a) Mantenimiento del peso; no se observan diferencias significativas en los valores expresados en función de la masa metabólicamente activa para ninguno de los lotes realimentados con respecto a los controles de igual edad (Figura 9).
- b) Reanudación de la proliferación celular; no se observan diferencias significativas entre los valores del número total de células en los lotes experimentales y los correspondientes controles de igual edad a partir de 9 días de realimentación con caseína al 20% (Tabla 13).
- c) Recuperación de la población celular T W3/13⁺ a partir de 21 días de administración de la dieta conteniendo caseína al 20% (Tabla 15). Sólo 9 días con esa dieta fueron necesarios para recuperar la población celular B que expresa IgA, mientras que por el contrario la población celular B que contiene IgA no se recupera en los períodos experimentales estudiados (Tabla 15).

Estos resultados ponen en evidencia el daño tisular que provoca la malnutrición proteica al destete, que tiende a revertirse en forma dependiente del órgano, del grado de desnutrición alcanzado y de la interacción entre el grado de desnutrición, el nivel de proteína en la dieta de recuperación y el lapso durante el cual se administra la misma.

El análisis global de los efectos de la desnutrición proteica al destete y la posterior realimentación señalan a la dieta como un importante factor capaz de modificar las distintas etapas del desarrollo celular.

APENDICE1 - MEZCLA DE SALES

Según Harper A.E. Amino Acid Balance and imbalance. I. Dietary level of Protein and Amino Acid imbalance (69).

En colaboración con R.E. Boldt sobre bases de una revisión de los requerimientos de la rata por W.F.J. Cuthbertson (1957). Nutrient requirements of rat and mice. Proc.Nutrition Soc. 16;70.

CO_3Ca	29.29
$\text{PO}_4\text{HCa} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.43
$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	34.31
ClNa	25.06
$\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	9.98
$\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.623
$\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.156

$\text{SO}_4\text{Mn} \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.121
Cl_2Zn	0.02
IK	0.0005
$\text{Mo}_4\text{O}_{24}(\text{NH}_4)_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.0025

2 - MEZCLA DE VITAMINAS HIDROSOLUBLES

La mezcla de vitaminas hidrosolubles aporta por cien gramos de dieta:

Vit. B ₁	0.5 mg
Vit. B ₂	0.5 mg
Niacina	2.5 mg
Pantotenato de Calcio	2.0 mg
Vit. B ₆ HCl	0.25 mg
Acido Fólico	0.02 mg
Biotina	0.01 mg
Vit. B ₁₂	0.002 mg
Inositol	10 mg
Vit. C	5.0 mg

En la mezcla se incluyó Vitamina K sintética, hidrosoluble, en cantidad tal que aporta en la mezcla 0.05 mg por 100 gramos de dieta.

En la mezcla de Vitaminas hidrosolubles se incluye la Vit. C para proteger la Vit. B₁ de la destrucción (Kradutsch AA and CA Baumann (1953): Factors affecting the stability of Thiamine in a typical laboratory diet. J. Nutrition 49: 209.

3 - MEZCLA DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES

La mezcla de Vitaminas liposolubles aporta por cien gramos de dieta:

Vit A	400 U.I.
Vit D	40 U.I.
Vit E	10 U.I.

disueltas en 5 g de aceite de maíz.

BIBLIOGRAFIA

1. Gómez del Río M.E.R.de, Ciosa S.J., Portela M.L.P.M.de, Parada N.M. (1976). Evaluación Bioquímica del estado nutricional. Rev. A.B.A. 227: 239.
2. Sanahuja J.C. (1972). Malnutrición infantil. Proyecciones Sociales. Ciencia e Investigación: 28 (5): 159.
3. Sanahuja Juan C. (1976). Nutrición: Ciencia bioquímica y ciencia social. Interciencia. Vol. 1 (3): 170.
4. Solomons N.W., Allen L.H. (1983). The functional assessment of nutritional status: Principles, practice and potential. Nutrition Reviews 41 (2): 33.
5. Chandra R.K. (1981). Immunocompetence as a functional index of nutritional status. Br.Med. Bull. 37 (1): 89.
6. Scrimshaw N.S., Behar M. (1959). Worldwide occurrence of protein - calorie malnutrition. Fed. Proc. 18:82.
7. Scrimshaw N.S., Wilson D., Bressani R. (1960). Infection and kwashiorkor. J.Trop. Pediatr. 6: 37.
8. Scrimshaw N.S., Taylor C.E., Gordon J.E. (1968). Interactions of nutrition and infection. World Health Organization (WHO). Monogr. Ser. 57:3.
9. Scrimshaw N.S. (1973). The effect of infection on nutritional status. Bibl. Nutr.Diet. 18: 153.

10. Law D.K., Dudrik S.J., Abdou N.I. (1973). Immunocompetence of patients with protein-calorie malnutrition. The effects of nutritional repletion. *Annals of Internal Medicine* 79: 545.
11. Page Faulk W., Demaeyer E.M., Davies A.J.S. (1974). Some effects of malnutrition on the immune response in man. *Am.J.Clin.Nutr.*27: 638.
12. Pérez H., Malavé I. (1981). Protein malnutrition and the susceptibility to leishmaniasis and other protozoan diseases: Review article. *Afr. J.Clin. Exp. Immunol.* 2: 1.
13. Beisel W., Edelman R., Nauss K., Suskind R.(1981). Single-nutrient effects on immunologic functions. *JAMA* 245: 53.
14. Dowd P.S., Heatley R.V. (1984). The influence of undernutrition on immunity. (Ed. Review). *Clinical Science* 66: 241.
15. Cunningham-Rundles S. (1982). Effects of nutritional status on immunological function. *Am.J.Clin.Nutr.* 35: 1202.
16. Beisel W.R. (1984). Nutrition, infection, specific immune responses and nonspecific host defenses: a complex interaction. In "Nutrition Disease resistance and immune function". Watson R.R. Ed. Marcel Dekker Mc, New York chapter 1 p. 3.
17. Hood L.E., Weissman I.L., Wood W.B., Wilson J.H. (1984). The immune system. In "Immunology" The Benjamin Cummings Publishing Company Inc, USA, chapter 1 p.1.
18. Hood L.E., Weissman I.L., Wood W.B., Wilson J.H. (1984). Development of the immune system. In "Immunology" The Benjamin Cummings Publi-

shing Company Inc, USA, Chapter 7 p. 243.

19. Weissman F. (1967). Thymus cell migration. *J.Exp. Med.* 126: 291.
20. Hood L.E., Weissman I.L., Wood W.B., Wilson J.H. (1984). The immune response. In "Immunology" The Benjamin Cummings Publishing Company Inc, USA, chapter 8 p. 282.
21. Smith K. (1984) Inside the thymus. *Immunology Today* 5 (4): 83.
22. Parrott D.M.V. (1981). Lymphocyte circulation outside the lymphoid system. In "Lymphocyte circulation. Experimental and clinical aspects" M de Sousa, John Wiley and Sons Eds., New York, ch. 5 p.99.
23. Roux M.E., Mc Williams M., Phillips-Quagliatta J., Weisz Carrington P., Lamm M.E. (1977). Origin of IgA secretory plasma cells in the mammary gland. *J.Exp. Med.* 146: 1311.
24. Roux M.E. (1981). Importancia biológica del ciclo celular de la IgA en relación a las macromoléculas que penetran en el tracto intestinal. *Rev. A.B.A.* 45 (4): 243.
25. Roux M.E., Mc Williams M., Phillips-Quagliata J., Lamm M.E. (1981). Differentiation Pathway of Peyer's Patch Precursors of IgA plasma cells in the secretory immune system. *Cell.Immunol.* 61: 141.
26. Bockman D.E., Cooper M.D. (1973). Pynocytosis by epithelium associated with lymphoid follicles in the bursa of Fabricius, appendix and Peyer's patches. An electron microscopic study. *Am.J. Anat.* 136: 455.

27. Tomasi T.B., Bienenstock J. (1968). Secretory immunoglobulins. *Adv. Immunol.* 9:1.
28. Cebra J. (1982). Review and discussion of I-B cell interactions in mucosae: The operational definitions of such cells and their possible modes of action. In "Recent advances in Mucosal Immunity". Strober W, Hanson I, Sell K.W. Eds. Raven Press, New York p. 143.
29. Lamm M.E. (1976). Cellular aspects of immunoglobulin A. *Adv. Immunol.* 22: 223.
30. Ugra P.L., Bienenstock J. (1981). The mucosal immune system in health and disease. In "Report 81^o Conference on Pediatric Research Columbus, Ohio Ross Laboratories Ed., p.1.
31. Chandra R.K., Cooper M.D., Hitzig W.H., Rosen F.S., Seligman M., Soothill J.F., Terry R.J. (1978). Immunodeficiency. W.H.O. Technical Report Series. N^o 630, p.61, W.H.O., Geneva.
32. Watson R.R., Mc Murray D.N. (1979). The effects of malnutrition on secretory and cellular immune processes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 12(2): 113, CRC Press, Inc.
33. Hansen M.A., Fernández G., Good R.A. (1982). Nutrition and Immunity: The influence of diet on autoimmunity and the role of zinc in the immune response. *Ann.Rev.Nutr.* 2: 151.
34. Suskind R. (1984). The immune response in the malnourished child. In "Nutrition, disease resistance, and immune function" Watson R.R. Ed. Marcel Dekker Inc., New York, cap.7, p. 147.

35. Stiehm C.R. (1980). Humoral immunity in malnutrition. Fed.Proc. 39: 3093.
36. Cohen S., Hansen J.D.L.(1962). Metabolism of albumin and γ globulin in kwashiorkor. Cli.Sci. 23: 351.
37. Slobodianik N.H., Ciosa S.J., Rfo M.E. (1983). Interrelationships between Immunoglobulins and Urea Nitrogen/Creatinine index in children. Nutr.Rep.Int. 27 (2): 279.
38. Ruvinsky R.O., Garay G., Sánchez L., Sasiain M. del C., Soria H.R. (1980). Evaluación de algunos parámetros de la respuesta inmunitaria en niños desnutridos con infecciones severas. Revista del Hospital de Niños (Bs.As.) Vol. XXII (Nº 91) p. 207.
39. Smythe P.M., Schonland M., Brereton-Stiles G.G., Coovadia H.M., Grace H.J., Loening W.E.K., Mafoyané A., Parent M.A., Vos G.H. (1971). Thymolympathic deficiency and depression of cell-mediated immunity in protein-calorie malnutrition. Lancet II: 939.
40. Chandra R.K. (1972). Immunocompetence in undernutrition. J.Pediatric. 81: 1194.
41. Lechtig A., Arroyave G., Viteri F., Mata L.J. (1970). Inmunoglobulinas séricas en la desnutrición proteínico-calórico de niños preescolares. Arch.Latinoam.Nutr. XX. 321.
42. Mata L.J., W.Page Faulk (1973). The immune response of malnourished subjects with special reference to measles. Arch.Latinoam.Nutr. XXIII, 345.

43. Sanahuja J.C., Rfo M.E., Oriozabala M.A., Slobodianik N.H., Infante A. (1976). Effect of anabolic on aminoacid imbalance in the rat. V. Effect of Stanozolol on plasma proteins. *Nutr.Rep.Int.* 13 (1):53.
44. Chandra R.K. (1979). T and B lymphocyte subpopulations and leukocyte terminal deoxynucleotidyl transferase in energy-protein malnutrition. *Acta Pediat.Scand.* 68: 841.
45. Seshi B., Purtilo D. (1984). Humoral immune responses in parasitized, malnourished children. In "Nutrition, Disease Resistance and Immune function" R.R.Watson Ed. Marcel Dekker inc., New York. cap. 4,p.71.
46. José D.G., Welch J.S., Doherty R.L. (1970). Humoral and cellular immune responses to streptococcal, influenza and other antigens in australian aboriginal school children. *Aust.Paediatr, J.* 6: 192.
47. Mc Murray D.N., Loomis S.A., Casazza L.J., Rey H. (1979). Influence of moderate malnutrition on morbidity and antibody response following vaccination with live, attenuated measles virus vaccine. *Bull. Pan. Am. Health. Organ.* 13(1): 52.
48. Chandra R.K., Chandra S., Gupta S. (1984). Antibody affinity and immune complexes after immunization with tetanus toxoid in protein energy malnutrition. *Am.J.Clin.Nutr.* 40:131.
49. Chandra R.K. (1975). Serum complement and immunoconglutinin in malnutrition. *Arch.Dis. Child.* 50:225
50. Haller L., Zubler R.H., Lambert P.H. (1978). Plasma levels of complement components and complement haemolytic activity in protein-energy malnutrition. *Clinical and Experimental Immunology* 34: 248.

51. Sirisinha S., Suskind R.M., Ldelman R., Kutapongs D., Olson R.I. (1977). The complement system in protein-calorie malnutrition: a review. In "Malnutrition and the Immune Response" Suskind R.M., Raven Press, New York, p. 309.
52. Chandra R.K. (1980). Immunology of nutritional disorders. Edwards Arnold Ed., London.
53. Infections and undernutrition (1982). *Nutr.Rev.* 40 (4): 119.
54. Watson R.R. (1984). Nutritional stresses: alterations in mucosal immunity and secretory IgA. In "Nutrition, disease resistance and immune function. Watson R.R. Ed., Marcel Dekker Inc, New York, ch. 10, p. 189.
55. Watson R.R., Reyes M.A., Mc Murray D.N. (1978). Effect of moderate malnutrition on the concentration of IgA, lysozyme and aminopeptidase in children tears. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 157: 215.
56. Watson R.R., Mc Murray D.N., Martin P, Reyes M.A. (1985). Effect of age, malnutrition and renutrition on free secretory component and IgA in secretions. *Am.J.Clin.Nutr.*: 42 (2): 281.
57. Lymphocyte traffic in nutritional deficiency (1982). *Nutrition Reviews* 40 (11): 340.
58. Seth V., Chandra R.K. (1972). Opsonic activity, phagocytosis and intracellular bactericidal capacity of polymorphs in undernutrition. *Arch.Dis. Child.* 47: 282.
59. Selvaraj R.J., Bhat K.S. (1972). Metabolic and bactericidal

- activities of leukocytes in protein-calorie malnutrition. *Am.J.Clin. Nutr.* 25: 166.
60. Chandra R.K. (1974). Rosette-forming T lymphocytes and cell-mediated immunity in malnutrition. *Brit.Med.J.* 3: 608.
61. Harland P. (1975). Tuberculin reactions in malnourished children. *Lancet* 1: 719.
62. Ziegler H.D., Ziegler P.B. (1975). Depression of tuberculin reaction in mild and moderate protein-calorie malnourished children following BCG vaccination. *Johns Hopkins Med.* 137: 59.
63. Chandra R.K. (1979). Serum thymic hormone activity in protein-energy malnutrition. *Clin.Exp.Immunol.* 38: 228.
64. Chandra R.K., Newberne P.M. (1977). Nutrition, immunity and infection. Mechanisms of interactions. Plenum Press, New York p 45-151.
65. Chandra R.K. (1980). Cell-mediated immunity in nutritional imbalance. *Fed.Proc.* 39 (13): 3088.
66. Iwata T., Incefy G.S., Rundles S.C., Rundles C.C., Wmthwick E., Geller N., O'Reilly R., Good R.A. (1981). Circulating thymic hormone activity in patients with primary and secondary immunodeficiency diseases. *Am.J.Med.* 7: 385.
67. Gómez F. (1946). Desnutrición. *Bol.Med.Hosp.Infant.(México)*. 3: 543.
68. Gómez F., Ramos Galván R., Frenk S., Cravioto J., Chaves R. (1956). Mortality in second and third degree malnutrition. *J.Trop.Pediat.* 2:77.

69. Harper A.E. (1959). Aminoacid balance and imbalance. I. Dietary level of protein and aminoacid imbalance. *J.Nutr.* 68: 605.
70. Farina R., Río M.E., Sanahuja J.C. (1977). A rapid method for evaluation of protein quality. *Nutr.Rep.Int.* 16 (3): 293.
71. Mc Williams M., Lamm M.E., Phillips-Quagliatta J. (1974). Surface and intracellular markers of mouse mesenteric and peripheral lymph node and Peyer's patch cells. *J.Immunol.* 113: 1326.
72. Milstein C., Lennox E. (1980). The use of monoclonal antibody techniques in the study of developing cell surfaces. In "Current topics in developmental biology" Moscona A.A., Monroy E. Eds. Academic Press, New York. Vol. 14, ch. 1 p. 1-31.
73. Brideau R.Y., Carter P.B., Mc Master W.R., Mason D.W., Williams A.F. (1980). Two subsets of rat T lymphocytes defined with monoclonal antibodies, *Eur.J.Immunol.* 10: 609.
74. Roux María E., Río María E., Slobodianik Nora H., Cosarinsky Rosa, Langini Silvia, Sanahuja Juan C. (1983). Effect of severe protein deficiency on the expression of surface and intracellular markers of lymphoid organs in growing rats. *Comunicaciones Biológicas*. Vol. 2 (2): 175.
75. Schwartz D. (1963). *Methods statistiques. A l'usage des medecins et des biologistes.* Ed. Medicales Flammarion, Paris.
76. Lyscom N., Brueton M.J. (1982). Intraepithelial, lamina propia and Peyer's patch lymphocytes of the rat small intestine: isolation and characterization in terms of immunoglobulin markers and receptors

for monoclonal antibodies. *Immunology* 45: 775.

77. Parmely M., Manning L.S. (1983). Cellular determinants of mammary cell-mediated immunity in the rat: kinetics of lymphocytes subset accumulation in the rat mammary gland during pregnancy and lactation. In "The secretory system" *Annals of the New York Ac. of Sci.* Vol. 409 p. 517.
78. Mc Cance R.A., Widdowson E.M. (1962). Nutrition and growth. *Proc. Roy. Soc. Lond.* 156: 326.
79. Winick M., Noble A. (1966). Cellular responses in rats during malnutrition at various ages. *J.Nutr.* 89: 300.
80. Winick M., Fish I., Rosso P. (1968). Cellular recovery in rat tissues after a brief period of neonatal malnutrition. *J.Nutr.* 95: 623.
81. Okasaki S., Matsueda S., Oknaka M., Nuyama J. (1981). Effect of various periods of protein restriction immediately after weaning on subsequent catch-up growth in rats. *Nutr.Rep.Int.* 23 (3):471.
82. Dickerson J.W.T., Hyghes P.C.R., Mc Amilty P.A. (1972). The growth and development of rats given a low protein diet. *Br.J.Nutr.* 27:527.
83. Edozien J.C., Switzer B.R. (1978). Influence of diet on growth in the rat. *J.Nutr.* 108: 282.
84. Lau H.C., Ritchey S.J. (1977). Effects of energy or protein deprivation and subsequent rehabilitation on protein and DNA content of several organs in rat pups. *J.Nutr.* 107: 2091.

85. Boyed L. (1932). The weight of thymus gland in health and disease. *A.J. Dis. Child* 43: 1162.
86. Simpson L.O. (1974). Studies on the NZB mouse thymus. Thymus weight and relationships to age and body weight from birth to old age. *Am.J.Anat.* 141: 127.
87. Simpson J.C., Gray F.S., Beck J.S. (1975). Age involution in the normal human adult thymus. *Clin. Exp. Immunol.* 19: 261.
88. Good R.A., Garbielson A.E. (1964). The thymus in immunobiology. Structure Function and Role in disease, Hoeber- Harper, New York.
89. Waterlow J.C. (1969). The assessment of protein nutrition and metabolism in the whole animal, with special reference to man. In: "Mammalian Protein Metabolism" H.N.Munro Ed., Chapter 28. Academic Press, New York.
90. Lau H.C., Thye F.W., Ritchey S.J. (1974). Effects of protein and calorie restriction on growth, cell number and cell size in infant rats. *Nutr.Rep.Int.* 10: 249.
91. Mc Cance R.A., Widdowson E.M. (1966). Protein deficiencies and calorie deficiencies. *Lancet* 2: 158.
92. Widdowson E.M., Mc Cance R.A. (1963). The effect of finite periods of undernutrition at different ages on the composition and subsequent development of the rat. *Proc.Roy.Soc. (B)*: 158: 329.
93. Widdowson F.M., Mc Cance R.A. (1957). Effects of a low protein diet on the chemical composition of the bodies and tissues of young rats.

Br.J.Nutr. 11: 198.

94. Vonder Decken A., Lund B., O'Toole C. (1978). Effect of a low protein diet on in vitro protein synthesis in thymus, spleen and bone marrow in young adult rats. *J.Nutr.* 108: 1274.
95. Vint F.W. (1937). Post mortem findings in natives of Kenya. *East. Afr. Med. J.* 13: 332.
96. Watts T. (1969). Thymus weights in malnourished children. *J. Trop. Pediatr.* 15: 155.
97. Mugerwa J.W. (1971). The lymphoreticular system in kwashiorkor. *J. Pathol.* 105: 105.
98. Viteri F., Behar M., Arroyave G., Scrimshaw N. (1969). Clinical aspects of protein malnutrition. In "Mammalian Protein Metabolism". H.N.Munro Ed., chapter 22. Academic Press. New York.
99. Watson R.T. (1984). Nutritional stresses and altered development of immune responses: enhancement of longevity, disease resistance and tumor defenses. In "Clinical and Experimental Nutrition Vol. 1 Nutrition. Disease Resistance and immune function". R.R. Watson Ed. Marcel Deker Inc. New York, cap. 23 p. 373.
100. Manderino G., Watson R.R. (1984). Nutritional stresses and thymic hormone functions. In "Clinical and Experimental Nutrition Vol. 1. Nutrition, disease resistance and immune function" R.R. Watson Ed. Marcel Deker Inc. New York, cap. 17, p. 285.

101. Masoro E.J. (1985). Nutrition and Aging: A Current Assessment. J.Nutr. 115 (7): 842.
102. Zeman F.J. (1970). Effect of protein deficiency during gestation on post natal cellular development in the young rat. J.Nutr. 100: 530.
103. Winick M., Noble A. (1965). Quantitative changes in DNA, RNA and protein during prenatal and post natal growth in the rat. Develop. Biol. 12: 451.
104. Winick M., Noble A. (1967). Cellular response with increased feeding in neonatal rats. J.Nutr. 91: 179.
105. Chow B.F., Stephen J.K. (1971). Fetal undernourishment and growth potential. Nutr.Rep.Int. 4: 245.
106. Deo M.G., Mathur M. (1975). Cell proliferation, migration and differentiation in protein-calorie deficiency. In "Regulation of growth and differentiated function in eukaryote cells" Talwar G.P. Ed. p.97, Raven Press, New York.
107. Ortiz R., Betancourt M. (1984). Cell proliferation in bone marrow cells of severely malnourished animals. J.Nutr. 114: 472.
108. Infections and undernutrition (1982). Nutr.Rew. 40 (4): 119.
109. White A., Handler P., Smith E.J., Hill R.L., Lehman J.P. (1983). El timo. En "Principios de Bioquímica" Mc Graw Hill. México, cap. 47, p.1347.

110. Ford C.F. (1966). Traffic of lymphoid cells in the body. In "Thymus: Experimental and clinical studies". Ciba Found.Symp. 131.
111. Shortman K. (1977). The pathway of T cell development within the thymus. Progress in Immunology III. International Congress of Immunology. Ed. Canberra, Australia, p.197.
112. Smith K. (1984). Inside the thymus. Immunology Today 5 (4): 83.
113. Weissman F. (1967). Thymus cell migration. J.Exp.Med. 126:291.
114. Owen J.J.T., Raff M.C. (1970). Studies on the differentiation of thymus derived lymphocytes. J.Exp.Med. 132 (6): 1216.
115. Goldschneider I. (1980). Early stages of lymphocyte development. In "Current topics in developmental biology" Moscona A.A., Monroy A. Eds. vol. 14. Academic Press, New York, cap. 2, p.33.
116. Dougherty T.F. (1952). Effects of hormones on lymphatic tissue. Physio.Rev. 32: 339.
117. Miller J.E. (1975). T-cell regulation of immune responsiveness. Annal. N.Y. Acad.Sci. 249:9.
118. Low T.L.K., Thurman G.B., Chincarini C., Mc Clure J.E., Marshall G.D., Hu Shu-Kuang, Goldstein A. (1979). Current status of thymosyn research: Evidence for the existance of a family of thymic factors that control T-cell maturation. In "Subcellular factors in immunity" H. Friedman Ed., Annals of the New York Academy of Sciences 332:33.

119. Trainin N., Percht M., Handzel Z. (1983). Thymic hormones: inducers and regulators of the T-cell system. *Immunology Today* 4 (1): 16.
120. Scollay R. (1983). Intrathymic events in the differentiation of T lymphocytes: a continuing enigma. *Immunology Today* 4 (10): 282.
121. Douherty T., White A. (1945). Functional alteration in lymphoid tissues induced by adrenal cortical secretion. *Am.J.Anat.* 77:81.
122. Quarterman J. (1972). The effects of zinc deficiency or excess on the adrenals and thymus in the rat. In "Trace element metabolism in animals". Hoekstra W. Ed. University Park Press, Baltimore M.D. p. 742.
123. Varma D.R., Mulay S. (1980). Anti-inflammatory and ulcerogenic effects and pharmacokinetics of dexamethasone in protein deficient rats. *J.Pharmacol. Exp.Ther.* 214: 197.
124. Goldberg N.D., Haddox M.K., Dunham E., López C., Hadden J.W.(1974). The yin yang hypothesis of biological control:opposing influences of cyclic GMP and cyclic AMP in the regulation of cell proliferation and other biological processes. In "Control of proliferation in animal cells" p. 609. Cold Spring Harbor Laboratory.
125. Goldstein G. (1977). What is a thymic hormone?:Progress in Immunology III. International Congress of Immunology, Ed.Canberra, Australia, p.390.
126. Stutman P. (1979). Cellular and humoral requirements for T-cell development. In "Subcellular factors in immunity" *Annals of the*

N.Y. Ac. of Sci. vol. 332, p. 123. Friedman H. Ed.

127. Parker C.W. (1979). Role of cyclic nucleotides in regulating lymphocytes factors in immunity. *Annals of the N.Y.Ac. of Sci.* vol. 332 p.255. Friedman H. Ed.
128. Ma.D.D.F., Sylwestrowicz T., Janossy G., Hoffbrand A.V. (1983). The role of purine metabolism enzymes and terminal deoxynucleotidyl-transferase in intratymic T-cell differentiation. *Immunology Today* 4 (3): 65.
129. Boynton A.L., Whitfield J.F. (1983). The role of cyclic AMP in cell proliferation: A critical assessment of the evidence. In "Advances in cyclic nucleotide research" vol. 15 p.193. Greengard P., Robinson G.A. Eds., Raven Press, New York.
130. Petro T.M., Watson R.R. (1982). Resistance to L-1210 mouse leukemia cells in moderately protein-malnourished BALB/c mice treated in vivo with thymosin fraction V. *Cancer Res.* 42: 2139.
131. Iwata T., Incefy G.S., Rudles S.C., Rundles C.C., Wmthwick E., Geller N., O'Reilly R., Good R.A. (1981). Circulating thymic hormone activity in patients with primary and secondary immunodeficiency diseases. *Am.J.Med.* 71:385.
132. Waksman B.H., Ozer H. (1976). Specialized amplification elements in the immune system: The role of nodular lymphoid organs in the cucous membranes. *Prog. Allergy* 21:1.
133. Owen R.L. (1981). Histology and ultrastructure of the gastrointestinal immune system. In "The mucosal immune system in health

and disease". Report of the Eighty First Ross Conference on Pediatric Research. Ross Laboratories. USA, P.3.

134. Guy-Grand D., Griscelli C., Vassalli P. (1978). The mouse gut T lymphocyte: A novel type of T cell. *J.Exp.Med.* 148: 1661.
135. Owen R.L., Nemanic P. (1978). Antigen processing structures of the mammalian intestinal tract: An SEM study of lymphoepithelial Organs. In "Scanning electron Microscopy"vol.2 . Becker R.P., Johari O., O'Hare A.M.F. Eds., SEM Inc. p.367.
136. Honjo T., Kataoka T. (1978). Organization of immunoglobulin heavy chain genes and allelic deletion mode. *Proc.Natl.Acad. Sci. USA* 75: 2140.
137. Strober W., Elson C.O., Graeff A., Richman L.K. (1982). Class-specific T cell regulation of mucosal immune responses. In "Recent advances in mucosal immunity" Strober W., Hanson L., Sell K.W.Eds. Raven Press, New York p.121.
138. Cebra J.J., Cebra E.R., Clough E.R., Fuhrman J.A., Komisar J.L., Schweitzer, Shahin R.D. (1983). IgA Commitment: Models for B-cell differentiation and possible roles for T cells in regulating B-cell development. In "The secretory immune system" *Annals of the N.Y. Acad.Sci.* vol. 49 p. 25.
139. Elson C.O., Heck J.A., Strober W. (1979). T-cell regulation of murine IgA synthesis. *J.Exp.Med.* 149: 632.
140. Munro H.H. (1964). In "Mammalian protein metabolism". Munro H.N., Allison J.B. Eds, Academic Press, New York vol.2 p.3.

141. López María del Carmen, Slobodianik Noía H., Rfo María E., Roux María E. (1985). Changes in the T cell population (helper and supressor subsets) of growing rats mesenteric lymph nodes under protein deprivation and recovery. *Comunicaciones Biológicas* 3 (3): 305.
142. Chandra R.K. (1977). Lymphocyte subpopulations in human malnutrition: cytotoxic and supressor cells. *Pediatrics* 59 (3): 423.
143. Green F., Heyworth B. (1980). Immunoglobulin containing cells in jejunal mucosa of children with protein-energy malnutrition and gastroenteritis. *Arch.Dis.Child.* 55: 380.
144. Beisel W.R. (1982). Single nutrients and immunity. *Am.J.Clin. Nutr.* 35 (supplement): 417.