

# Recuperación nutricional y timo: estudio en modelo experimental

Feliu, María Susana; Slobodianik, Nora H.

Laboratorio de Nutrición Experimental. Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

Dirección postal:

Prof.Dra. Nora H. Slobodianik

Lab. Nutrición Experimental. Cátedra de Nutrición.

Junín 956- Piso 2do. -(1113) - Buenos Aires -

Tel / FAX: 4 964-8243

**RESUMEN:** Se estudian los efectos provocados al administrar una dieta aportadora de proteína de alta calidad y en alta concentración sobre el timo de ratas que recibieron a partir del destete una dieta de baja calidad. Se determinó el contenido de DNA y la actividad de las enzimas ADA y PNP.

Ratas Wistar recibieron al destete dieta al 6.5% de proteína de harina de maíz; luego fueron alimentadas con dieta conteniendo caseína (20%) durante 20 días(R). Como grupo control se utilizó un lote de ratas de igual edad que recibió desde el destete dieta stock de vivero (C).

Los resultados sugieren que la realimentación con dieta aportadora de proteína de alta calidad y en alta concentración, revierte el efecto provocado por la administración de dieta conteniendo harina de maíz desde el destete, sobre el contenido de DNA y la actividad de las enzimas estudiadas en timo de rata.

**SUMMARY: NUTRITIONAL RECOVERY AND THYMUS: STUDY ON EXPERIMENTAL MODEL.** Feliu, María Susana; Slobodianik, Nora H. Nutritional deficiencies produce serious effects on thymus' rats. In this study we assess the effect of feeding a high quality dietary protein on thymus of well-nourished weanling rats that received a low quality dietary protein during 18 days.

Rats of Wistar strain were suckled in group of 6-8 per dam from birth to weaning (22 days). A weanling group was fed an experimental diet containing pre-cooked maize flour as the only source of protein (6.5%) for 18 days; then received casein diet(20%) for 20 days (R). A control group fed stock diet from weaning(C) was run simultaneously; changes in DNA content and activity of ADA and PNP were determined.

The results suggest that the administration of a high quality dietary protein was enough to reverse the effect produced by a low quality protein during a short period of time on cellular proliferation and the activity of ADA and PNP.

## Introducción

La nutrición puede ser un determinante crítico en el mantenimiento del estado de salud, ya que la distorsión en la relación entre nutrientes indispensables lleva a una capacidad funcional alterada, que conduce a la depresión de los mecanismos de defensa (1-3).

El tipo de respuesta y la vulnerabilidad de un tejido a los efectos del desequilibrio nutricional dependen de la velocidad fisiológica de recambio celular; la cinética de proliferación celular en los órganos linfoides y en particular en el timo, sugiere que esos tejidos son susceptibles a los efectos de la malnutrición, pudiendo el deterioro nutricional limitar muchas de las actividades bioquímicas, metabólicas y de síntesis de los linfocitos(4,5).

Algunos investigadores han reportado una íntima relación entre el desarrollo y funcionamiento de los linfocitos T con la actividad de enzimas involucradas en el metabolismo de las purinas como

son: Adenosina Deaminasa (ADA) y Purina Nucleósido Fosforilasa (PNP) (6,7).

Trabajos previos de nuestro grupo han demostrado que la administración de dietas aportadoras de proteínas de baja calidad y baja concentración al destete, provocan aumento en la actividad de ADA y PNP en timo de ratas en periodo de crecimiento activo (8,9).

El objetivo del trabajo es estudiar si la administración de una dieta de recuperación, al 20% de proteína de alta calidad, puede revertir el efecto provocado por una dieta con baja concentración proteica y que presenta distorsión en el cuadro de aminoácidos indispensables (aminoácido limitante: lisina); se estudiará el contenido de DNA y la actividad de ADA y PNP en timo.

## Materiales y Métodos

En todas las experiencias se utilizaron ratas de

la cepa Wistar (6-8 crías por madre), de colonia cerrada del vivero de la Cátedra de Bromatología y Nutrición Experimental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Las ratas en experiencia se alojaron en jaulas de piso de malla. El agua y las dietas se administraron "ad libitum". La temperatura del cuarto se mantuvo entre 18°C y 20°C, mediante equipos de aire acondicionado.

Las ratas (n=25) se destetaron al llegar a un peso entre 35-40 gramos (21-23 días de edad), momento a partir del cual fueron alimentadas con dieta conteniendo como única fuente proteica harina de maíz en baja concentración (6,5%) durante 18 días (n=16). Un grupo fue sacrificado (M) y otro recibió

durante 20 días dieta de caseína al 20% (R). Como control (n=9) se utilizaron ratas bien nutridas durante la lactancia, de igual edad, que desde el destete recibieron dieta stock de vivero [composición promedio (g%): maíz molido:27, harina de trigo blanca: 27, salvado de trigo: 5, harina de soja: 20, harina de pescado: 10, harina de carne vacuna: 5, vitaminas y minerales: 6; aporte proteico promedio (g/100) (determinado por método de Kjeldahl): 24.6% de proteína (C)].

Las dietas fueron isocalóricas y aportaron 4,05 Kcal/g siendo la única variable la fuente proteica, y completa en todos los otros nutrientes según recomendaciones del American Institute of Nutrition(10). La composición de las dietas experimentales (g/100g) se presenta en la tabla 1.

**Tabla 1.** Composición centesimal de las dietas experimentales

Componente g/100 g dieta	M	R
Harina de maíz ^	84.42	0
Caseinato de calcio ▽	0	23.84
Mezcla de sales*	5.00	5.00
Vitaminas Hidrosolubles	0.25	0.25
Colina ~	0.15	0.15
Aceite de Maíz #	5.00	5.00
Dextrina c.s.p.	100.00	100.00
% de proteína total	6.5	20.0

^ conteniendo 1, 26% de Nitrógeno (7.70% de proteína)

▽ conteniendo 13.42% de Nitrógeno 83.9% de proteína)

\* según AIN J. Nutr. 1977, 107:1340

~ como cloruro de colina

# conteniendo la mezcla de vitaminas liposolubles

Al final de cada período experimental los animales se mantuvieron 3-4 horas en ayuno, luego fueron pesados y sacrificados por punción venosa, previa anestesia con éter, extrayéndoseles el timo.

Se prepararon suspensiones celulares monodispersas del órgano, trabajándose siempre a 4°C y habiéndoselo pesado previamente. Las células de timo se extrajeron mediante el uso de pinzas especiales de cirugía desmenuzando con ellas en forma muy suave los tejidos(11). Se determinó el contenido de DNA por método de Burton (12) y la actividad de las enzimas ADA y PNP según técnica de Wu & Marliss modificada (13).

La actividad de ADA y PNP se expresó como  $\mu\text{mol}$  de ácido úrico  $\times 10^{-1}$ /Peso timo (mg)/ Peso corporal<sup>0.75</sup> (g), producidos en 5 minutos (13).

El estudio de la información obtenida se realizó utilizando el test de Student para comparar el grupo experimental con el lote M y su control de igual edad (14).

## Resultados y Discusión

En la tabla 2 se presentan los datos correspondientes al contenido de DNA(mg/órgano) y actividad

**Tabla 2.** Contenido de DNA y actividad de las enzimas ADA y PNP en los lotes M, R y C

Lote	DNA (mg/órgano)	ADA ( $\mu\text{mol ác. úrico} \times 10^{-1}/\text{P}$ )	PNP ( $\mu\text{mol ác. úrico} \times 10^{-1}/\text{P}$ )
R	10.6 $\pm$ 2.3*	13.4 $\pm$ 2.9*	3.5 $\pm$ 0.8*
M	2.6 $\pm$ 0.5	25.0 $\pm$ 6.4	7.2 $\pm$ 1.2
C	7.9 $\pm$ 0.5	14.5 $\pm$ 4.0	5.4 $\pm$ 1.7

\*  $p < 0.01$  con respecto a M.

R: ratas de 60 días de edad.

M: ratas entre 39 y 41 días de edad.

C: ratas de 60 días de edad.

de las enzimas ADA y PNP en el lote M, R y su control (C).

Al analizar los resultados se observa aumento en el contenido de DNA y disminución en la actividad de ADA y PNP en el lote que recibió la dieta de recuperación (R) con respecto al punto de partida (M); no existen diferencias significativas en los parámetros estudiados, al comparar el grupo experimental (R) y su control de igual edad (C) a nivel de  $p < 0.01$ .

Trabajos previos demuestran que el stress nutricional causado por el desequilibrio de nutrientes, induce el frenado en la proliferación e incremento en la actividad enzimática de ADA y PNP en el timo (8, 15, 16). El aumento en la actividad de las enzimas ADA y PNP de los lotes alimentados a partir del destete con harina de maíz como única fuente proteica (8), podría explicarse teniendo en cuenta el desequilibrio de aminoácidos indispensables de la proteína; este desequilibrio pondría en marcha un mecanismo alternativo que tendería a evitar la formación de deoxinucleótidos potencialmente tóxicos para los linfocitos T (6). Luego de la administración de la dieta de recuperación al 20% de proteína de alta calidad, el contenido de DNA y la actividad de las enzimas estudiadas no presentan diferencias significativas con su control de igual edad.

## Conclusiones

Nuestro trabajo desarrollado "in vivo" muestra la existencia de una interrelación entre la ingesta proteica y la actividad de las enzimas ADA y PNP, estrechamente relacionadas con los linfocitos provenientes del timo, así como sobre la proliferación celular evaluada a través del contenido de DNA.

Los resultados sugieren que la realimentación con dieta aportadora de proteína de alta calidad y en alta concentración, revierte el efecto provocado por la administración de harina de maíz, sobre el contenido de DNA y la actividad de las enzimas estudiadas en timo de rata.

Los hallazgos reafirman resultados previos que señalan a la proteína de la dieta como un agente capaz de modificar el camino del desarrollo celular tímico.

## Agradecimiento

Los autores agradecen a la Sra. Lía de Calafat la preparación de la dieta experimental. Este trabajo fue parcialmente financiado por la Universidad de Buenos Aires TB-077. Este trabajo fue presentado parcialmente en la XLIII reunión anual 1998 de la Sociedad Argentina de Investigaciones Clínicas (SAIC).

## Bibliografía

- Chandra R.K. 1992. Protein- energy malnutrition and immunological responses. *J. Nutr.* **122**:597-600.
- Chandra R.K. 1997. Nutrition and the immune system: an introduction. *Am J Clin Nutr.* **66**:460S-463S.
- Scrimshaw NS, SanGiovanni JP 1997. Synergism of nutrients, infection and immunity: an overview. *Am J Clin Nutr.* **66**:464S-477S.
- Lau H.C., Ritchey S.J. 1977 Effect of energy or protein deprivation and subsequent rehabilitation on protein and DNA content of several organs in rat pups. *J.Nutr.* **107**: 2091.
- Slobodianik N.H. Estudio de las interrelaciones entre nutri-

ción y respuesta inmune en modelo experimental, en ratas en crecimiento. (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. 1986.

6. Ma. D.D.F., Sylwestrowicz T., Janossy G. and Hoffbrand A.V. 1983. The role of purine metabolic enzymes and terminal deoxynucleotidyl transferase in intrathymic t-cell differentiation. *Immunol. Today.*; **4**,(3): 65-67.

7. Barton R. and Goldschneider Y. 1979. Nucleotide-metabolizing enzymes and lymphocyte differentiation. *Molecular & Cellular Biochem.*; **28**:135-147.

8. Feliu M.S., Slobodianik N.H. 1998. Calidad proteica y timo. Estudio en modelo experimental. *FABICIB (Revista de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral)* **2**:15-18.

9. Feliu M.S., Slobodianik N.H. 1997. Adenosine Deaminase (ADA) activity: effect of a low quality dietary protein. *The FASEB Journal*, Abst. 3517, A609.

10. Reeves PG, Nielsen FH and Fahey GC. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final Report of American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J.Nutr.* 1993;123:1939.

11. Slobodianik NH. Estudio de las interrelaciones entre nutrición y respuesta inmune en modelo experimental, en ratas en crecimiento. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, 1985.

12. Winick M., Noble A. 1965. Quantitative changes in dna, rna and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. *Develop.Biol.*; **12**, 451-466.

13. Feliu M.S., Slobodianik N.H. 1994. Activity of adenosine deaminase and purine nucleoside fosforilase in wistar rats' thymus. *Com.Biol.*; **12**(2):97-104.

14. Schwartz D. *Methods statistiques. a l' usage des medecins et des biologistes.* 1963 De. Medicales Flammarion, Paris.

15. Feliu M.S., Slobodianik N.H. 1998. Protein feeding and the activity of adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase in rat' thymus. *Nutrition Research*, **18**, 12:1973.

16. Feliu M.S., Slobodianik N.H. 1997. Malnutrition and its relationship with the recovery of enzymatic activity in rats' thymus. *J.Nutr. Immunol.* **5**(2):3.