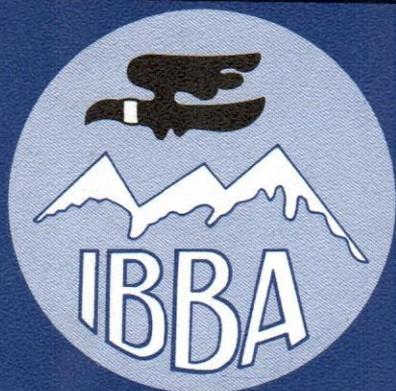


PopUesta MSA

Año 2

Nº 2



INSTITUTO BOLIVIANO DE
BIOLOGIA DE ALTURA

ANUARIO
1989-1990

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
MINISTERIO DE PREVISION SOCIAL Y
SALUD PUBLICA
COOPERACION TECNICA DE FRANCIA

Efectos "In Vitro" de la Timulina (Zn - FTS) en las subpoblaciones de linfocitos en niños desnutridos

*Jambon B., Chevalier P., Dhenin J. M., Parent G., **Zalles L., Cuellar E.,
Sevilla R., *Bustos M.

Abstract

Protein-energy malnutrition (PEM) involves a thymus atrophy and a cell-mediated immunity (CMI) defect characterized mainly by failure of the T lymphocyte maturation.

Recent studies show improvement of the thymus function when thymus hormones are given to children with PEM.

In order to evaluate the effect of PEM on the immune function, we studied the thymus size by means of echography, carried out hypersensitivity tuberculin tests, studied lymphocyte subpopulations with monoclonal antibodies and the in vitro effect of thymulin (FTS-Zn) incubation, in 43 severely malnourished and 15 healthy children.

Malnourished children with infections showed a thymus atrophy and 75 per cent of the ones vaccinated with BCG showed a total anergy to tuberculine. Their lymphocyte sub-populations were characterized by an important decrease of immature lymphocytes (CD1a), a lower proportion of mature T lymphocytes (CD3), a light increase of the percentage of T suppressor cells (CD8) and decrease of the ratio T helper / T suppressor cells (CD4/CD8). Within 2 hours of incubation, the thymuline halved the percentage of immature lymphocytes in the malnourished children which suggests that the deficiency of the lympho-differentiating thymus function could be cured using thymus hormone therapy.

Resumen

La Malnutrición Proteico-Energética (MPE) produce una atrofia del timo y un déficit de la Inmunidad a Mediación Celular (IMC) caracterizado por un déficit de maduración de los linfocitos T. Trabajos recientes sugieren la po-

-
- * ORSTOM Nutrición, Instituto Boliviano de Biología de la Altura IBBA, La Paz.
** Departamento de Biología, Universidad Mayor de San Simón UMSS, Cochabamba.
*** Hospital Viedma, Cochabamba.
**** Hospital Albina de Patiño, Cochabamba.

sibilidad de recuperar, en niños desnutridos, la función tímica con el uso de hormonas tímicas.

Con este objetivo se estudió en 43 niños gravemente desnutridos y 15 niños bien nutridos, el tamaño del timo mediante la ecografía, la hipersensibilidad retardada (HSR) con el test de la tuberculina y las subpoblaciones linfocitarias con anticuerpos monoclonales, usando incubación *in vitro* con presencia o no de Timulina.

Todos los niños desnutridos presentaron una severa atrofia tímica, 75% de los vacunados con BCG tenían una anergia a la tuberculina. El estudio de las subpoblaciones linfocitarias, mostró: un aumento importante de linfocitos inmaduros (OKT6), un leve incremento de linfocitos supresores (OKT8) y una disminución de los linfocitos T auxiliares (OKT4).

La incubación de estos linfocitos durante dos horas con Timulina ha reducido a la mitad el porcentaje de linfocitos inmaduros. Existe un aumento significativo de los linfocitos T maduros (OKT3) y de los T auxiliares (OKT4).

Estos resultados demuestran la posibilidad de recuperar en los niños desnutridos una función hormonal linfodiferenciativa del timo, lo que sugiere una posibilidad terapéutica para corregir este déficit.

Introducción

Está bien establecido que los problemas mayores de salud en los países en desarrollo son la malnutrición infantil y las enfermedades infecciosas.

Scrimshaw et al (1) demostraron la relación entre estas dos patologías; y varios autores (2-6) mostraron que existe una deficiencia de la inmunidad a mediación celular (CMI).

Desde 1845, Simón (7) expuso que el timo era el "barómetro del estado nutricional", y en 1969, Watts (8) publicó las primeras medidas del peso del timo en niños malnutridos. Pocos años después, Bach (9) demostró que "el timo es el órgano clave de la inmunidad".

Diversos equipos publicaron resultados sobre involución tímica en caso de malnutrición (8, 10-15).

La exploración anatómica del timo "in vivo" realizada por Golden mediante el uso de Rayos X (16), no permite cuantificar el nivel de involución tímica. Ricard en 1985 (17) realizó una medición del timo por ecografía; a

partir de esta técnica el equipo ORSTOM en Bolivia utilizó la misma para medir el timo (18). Otros grupos usaron esta técnica de evaluación del timo mediante la ecografía (19-20).

Trabajos realizados en Bolivia mostraron una correlación significativa entre las medidas antropométricas y la dimensión del timo al nivel del lóbulo izquierdo entre la segunda y cuarta costilla (18).

El mayor beneficio de este método es evaluar un parámetro funcional, como la función inmunitaria, con un técnica no invasiva; permite además evaluar el nivel de inmunodeficiencia que puede llevar a riesgo a un niño malnutrido.

Sujetos, Material y Métodos

Se estudiaron dos grupos de niños bolivianos (tabla I):

– Un grupo de 43 niños con un promedio de edad de 17 meses, los que fueron hospitalizados con malnutrición severa.

– Un grupo control de 15 niños con una edad promedio de 22 meses los cuales eran bien nutridos.

Ambos grupos de origen autóctono provenían de la misma región del valle cochabambino.

Como criterios de inclusión: se tomaron todos los niños menores de 5 años, hospitalizados por malnutrición severa en los hospitales cochabambinos.

Nivel nutricional:

- * Los pacientes malnutridos evaluados presentaban las características clínicas siguientes: 13 pacientes con marasmo, 17 kwashiorkor y 13 con forma mixta.
- * Los parámetros antropométricos utilizados fueron los siguientes:
 - Peso en función de la edad; expresado en porcentaje de la mediana de las tablas NCHS-SVEN.
 - Talla en función de la edad; expresada en porcentaje de la mediana de las tablas del NCHS-SVEN.
 - Peso en función de la talla; expresada en porcentaje de la mediana de las tablas del NCHS-SVEN.
 - Perímetro braquial en función de la edad; expresada en porcentaje de la mediana de la tabla OMS.

- Fue medido también el perímetro craneal y el pliegue cutáneo tricipital.

Todas las medidas antropométricas fueron tomadas según las técnicas estandarizadas por Jelliffe (21).

Tests inmunológicos:

- Test de hipersensibilidad retardada para la tuberculina, con Monotest (Instituto Merieux). La lectura se realizó entre las 48-72 horas.
- Evaluación ecográfica del timo con objeto de medir una de sus superficies de acuerdo a la figura N° 1.
- Determinación de las subpoblaciones linfocitarias por anticuerpos monoclonales OKT (ORTHO MUNE DIAGNOSTIC) e inmunofluorescencia indirecta.
- Los siguientes anticuerpos fueron utilizados:
 - OKT3: Identificación de linfocitos T circulantes.
 - OKT4: Identificación de linfocitos auxiliares.
 - OKT6: Identificación de timocitos o linfocitos T inmaduros..
 - OKT8: Identificación de linfocitos T citotóxicos-supresores.
 - OLB7: Identificación de linfocitos B circulantes.
- Test de maduración celular por timulina.

La determinación de las subpoblaciones linfocitarias previamente descritas fue llevada a cabo en paralelo después de agregar a la suspensión linfocitaria timulina (Zn - FTS - Choay - FR).

La incubación con timulina fue hecha durante dos horas con una concentración de 5 nanogramos/ml en una cantidad de células de 10^7 ml.

En la evaluación estadística se utilizó el test de Student para comparación de los promedios.

Resultados

Las características clínicas y antropométricas de estos dos grupos de niños se muestran en la tabla I.

Los niños desnutridos tienen parámetros antropométricos muy por debajo de los normales de acuerdo a los standar NCHS.

Todos los niños presentaban una patología frecuentemente asociada: diarrea combinada con deshidratación, fiebre e infección pulmonar.

– **Test de hipersensibilidad retardada.**

De los 43 niños malnutridos 28 fueron vacunados con BCG y sometidos al test cutáneo para la tuberculina. 21 de ellos (75%) no presentó respuesta y los 7 restantes presentaron una respuesta inferior a los 5mm, umbral de positividad.

– **Medidas ecográficas del timo.**

Todos los niños malnutridos presentaron una involución severa de la glándula tímica; con una superficie del lóbulo izquierdo 10 veces más pequeña que la de los niños del grupo control (tabla II) como muestran las figuras 2 y 3.

– **Determinación de las subpoblaciones linfocitarias (tabla III).**

Todos los niños malnutridos en todas sus formas clínicas presentaron la misma perturbación de la población linfocitaria:

- Un elevado porcentaje de timocitos (OKT6) o linfocitos T inmaduros.
- Un déficit de linfocitos T maduros (OKT3).
- Un leve aumento de los linfocitos "Supresores" (OKT8).
- Los linfocitos T auxiliares (OKT4) y linfocitos B (OKB7), no tuvieron modificaciones significativas.

– **Test de maduración celular por Timulina. (Tabla III).**

La acción de la Timulina in vitro permitió:

- Reducir muy significativamente los linfocitos T inmaduros (OKT6) a casi la mitad de su valor inicial: 27.7% vs 15.2%.
- Incrementar significativamente los linfocitos maduros, auxiliares y supresores (OKT3, OKT4, OKT8).
- No hay variación en los linfocitos B (OKB7).

Discusión

Al nivel antropométrico se nota, valores de peso para la talla muy bajas con relación al grupo control. Las reservas energéticas medidas por el pliegue

cutáneo tricípital son casi la mitad del grupo control. Es importante resaltar el valor bajo del perímetro braquial, criterio antropométrico bien correlacionado con la superficie del timo en un estudio anterior (18).

Se ha confirmado la desaparición de la respuesta cutánea a la tuberculina en niños malnutridos que habían sido vacunados con BCG, el hecho fue descrito por numerosos autores (22-26).

Es lógico establecer la relación entre la ausencia de la respuesta cutánea, la cual depende de la inmunidad a mediación celular y la atrofia del timo observada.

La observación in vivo de la atrofia severa del timo en niños malnutridos confirma los resultados post-mortem mencionados previamente (9-15).

En el niño desnutrido grave la superficie tímica observada es de una décima parte de la superficie tímica del grupo control, esto permite afirmar la existencia de una "timectomia nutricional".

Nuestros resultados confirman observaciones anteriores de otros autores (25-26-27).

El elevado número de linfocitos inmaduros confirman el alto porcentaje de linfocitos no-T no-B observados por Chandra (27). Este elevado número de linfocitos T inmaduros significa que el timo no es funcional en niños desnutridos para la linfodiferenciación celular. Hecho confirmado con la disminución a la mitad de los T inmaduros cuando se incubaba en presencia de Timulina.

Los resultados presentados permiten prever el uso de las hormonas tímicas en la terapéutica inmunorestauradora de la función inmunitaria de niños desnutridos.

Igualmente Olusi y Jackson (28-29), estudiaron el efecto positivo de la Timosina y de la Timopoyetina respectivamente en la maduración in vitro de los linfocitos T de niños malnutridos.

Sin embargo antes de llegar a una inmunodeficiencia tan grave, es posible actuar con medidas más simples como una dietoterapia inmunorestauradora. Golden ha demostrado el efecto del zinc en el desarrollo del timo (16). Fabris (30) ha observado el efecto positivo de los aminoácidos esenciales relacionados al yodo en la producción timulínica de los ancianos.

La exploración de la función inmunitaria mediante una técnica no invasiva

y sencilla como el examen ecográfico del timo, permitirían cuantificar el riesgo adicional de la malnutrición, y disminuir con un control regular antropométrico y ecográfico las altas tasas de mobi-mortalidad infantil.

Bibliografía

1. SCRIMSHAW NS, TAYLOR CE, GORDON JE. Interactions of nutrition and infection. Geneve: World Health Organization, 1968. (Monograph series Nr 7).
2. SUSKIND RM. Malnutrition and the immune response. New York: Raven Press, 1977.
3. CHANDRA RK, NEWBERNE PM. Nutrition, immunity and infection. New York: Plenum, 1977.
4. BELL RG. Undernutrition, infection and immunity: the role of parasites. Papua New Guinea Med J 1978; 21: 43-55
5. GROSS RL, NEWBORNE PM. Role of nutrition in immunologic functions. *Physiol Rev.* 1980; 60: 188-302.
6. Mc MURRAY DN. Cell-mediated immunity in nutritional deficiency. *Prog Food Nutr Sci* 1984; 8: 193-228.
7. SIMON J. A physiological essay on the thymus gland. Renshaw Ed. London 1945.
8. WATTS TH. Thymus weights in malnourished infants. *I Trop Pediatr* 1969; 15: 155-8.
9. BACH JF. Le thymus organe clef de l'immunité. *Press Med* 1974; 3, 10: 571-3.
10. SMYTHE P, SCHONLAND M, BRERETON-STILES GG, et al. Thymolymphatic deficiency and depression of cell-mediated immunity in protein-calorie malnutrition. *Lancet* 1971; 2: 939-43.
11. MUGERWA JW. The lympho-reticular system in kwashiorkor. *J Pathol* 1971; 105: 105-8.
12. PURTILLO DT, CONNOR DH. Fatal infections in protein-calorie mal-

- nourished children with thymo-lymphatic atrophy. Arch Dis Child 1975; 50: 149-52.
13. MAAMOURI MT, KHADRAOUI S, HAMZA B, et al. Les organes thymolymphatiques dans les états de malnutrition protéino-calorique. Etude anatomique de 15 observations. Arch Anat Cytol Pathol 1976; 24: 37-42.
 14. AREF GH, ABDEL-AZIZ A, ALARABY II, et al. A post-mortem study of the thymolymphatic system in protein-energy malnutrition. J Trop Med Hyg 1982; 85: 109-14.
 15. JAMBON B, ZIEGLER O, MAIRE B, et al. Thymulin (facteur thymique sérique) and zinc contents of the thymus glands of malnourished children. Am J Clin Nutr 1988; 48: 335-42.
 16. GOLDEN MH, JACKSON AA, GOLDEN BE. Effect of zinc on thymus of recently malnourished children. Lancet 1977; 2: 1057-59.
 17. RICARD D. Exploration échographique du Thymus et nutrition chez l'enfant en milieu tropical. These. Faculté de Médecine de Tours. Université François Rabelais. 1985.
 18. CHEVALIER P, CHOQUETICLLA F, ZAMBRANA M, y col. Relación entre el tamaño del Timo y los parámetros antropométricos en niños menores de 5 años. Rev Chilena de Nutr 1988; 16: 227.
 19. LE MAITRE L, MARCONI V, AVMI F, REMY J. The sonographic evaluation of normal thymus in infants and children. Eur J Radial 1987; 7: 130-136.
 20. KIM HAN B, BABCOCK DS, DESTREICH AE. Normal thymus in infancy: sonographic characteristics. Radiology 1989; 170: 471-74.
 21. JELLIFFE DB. Appreciation de l'état nutritionnel des populations. Genève: World Health Organization, 1969. Monographie N° 53).
 22. HARLAND, PSEG. Tuberculin reactions in malnourished children. Lancet 1965; 2: 719.
 23. LLOYD, AVC. Tuberculin test in children with malnutrition. Br Med J 1968; 3: 529.
 24. CHANDRA RK. Immunocompetence in under-nutrition. J Pediatr 1972; 81: 1194.

25. NEUMANN CG, LAWLOR GJ, STIEHM ER, et al. Immunology responses in malnourished children. *Am J Clin Nutr* 1975; 28: 89.
26. Mc MURRAY DN, Loomis SA, Cazassa LJ, REY H & MIRANDA R. Development of impaired cell-mediated immunity in mild and moderate malnutrition. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 68.
27. CHANDRA RK. Numerical and functional deficiency in T helper cells in protein energy malnutrition. *Clin Exp Immunol* 1983; 51: 126-32
28. OLUSI SO, THURMAN GB, GOLDSTEIN AL. Effect of thymosin on T-Lymphocyte rosette formation in children with kwashiorkor. *Clin Exp Immunopathol* 1980; 15: 687-91.
29. JACKSON TM, ZAMAN SN. The in vitro effect of the thymic factor thymopoietin on a subpopulation of lymphocytes from severely malnourished children. *Clin Exp Immunol* 1980; 39: 717-21.
30. FABRIS N, MOCCHEGIANI E, MUZZIOLI M, PROVINCIALI M. Neuroendocrine-thymus interactions: perspectives for intervention in aging. *Ann NY Acad Sci* 1988; 521: 72-87.