

11237
24
12



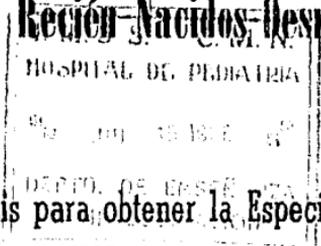
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
Facultad de Medicina

División de Estudios de Posgrado
Hospital de Pediatría C.M.N. I.M.S.S.

[Signature]
PROF. DEL CURSO

[Signature]
JEFE DE ENSEÑANZA

**Deficiencia de Factor Tímico Sérico en
Niños Recién Nacidos Desnutridos**



Tesis para obtener la Especialidad
en Pediatría Médica

SERGIO ASSIA ROBLES

[Handwritten signature]

México, D. F.

1987

**IMPRESO CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INTRODUCCION

Desde hace siglos se ha sospechado que la desnutrición, y la infección están ligadas por una relación causal, observaciones recientes, epidemiológicas, clínicas y de autopsia, sugieren que la deficiencia nutricional incrementa el riesgo de infección y de alguna manera está relacionada con deterioro del aparato inmunológico.

La mortalidad infantil se incrementa en relación directa con el grado de desnutrición (1,2) la morbilidad también se afecta en los estados de deficiencia nutricional; así pues el sarmpión se torna agresivo y algunas veces mortal en el niño desnutrido (3), otras enfermedades infecciosas en que la mal nutrición influye de manera adversa son la tuberculosis el cólera, la lepra, tosferina, herpes, parasitosis, aspergilosis y candidosis (2), así mismo la colonización por patógenos mayor en los niños desnutridos (4)

Las alteraciones en el sistema inmunológico son evidentes a varios niveles, las barreras mecánicas están deterioradas, la piel es más delgada con anexos de mala calidad y escasa secreción exócrina con incremento en la colonización bacteriana y micótica; la secreción ácida de mucosa gástrica, la motilidad ciliar en árbol bronquial, los niveles de lisozima, están así mismo disminuidas (5) los niños con desnutrición proteico energética muestran un retardo en la respuesta fagocitaria - en de sus células mononucleares y polimorfonucleares, con disminución de la velocidad de destrucción intracelular de bacterias y retraso en la capacidad de migración y en la respuesta a activadores, (6,7,8).

Los niveles de los componentes del sistema de complemento estan por lo general bajos en especial C3 y la capacidad hemolítica al 50%, situación inversa a lo que sucede en el paciente bien nutrido en que la infección aguda por lo general incrementa la actividad lítica del sistema (9,10).

La respuesta de anticuerpos en el niño desnutrido ha sido tema de controversia, dado que los niveles de gamaglobulina sérica se encuentran normales o altos, sin embargo se han demostrado alteraciones diversas en el sistema humoral, entre otras, la vida media de IgG está disminuida, pero la cantidad en suero está incrementada probablemente en forma secundaria a sobreestimulación antigénica, por respuestas poligénicas y por falta de un adecuado control por células T supresoras, la IgA sérica está incrementada, por la cantidad de IgA secretora así como su actividad están deprimidas en mucosas: (11,12,13). Lo que explica en parte el incremento en la frecuencia de infecciones respiratorias y gastrointestinales.

La capacidad de producción de anticuerpos ante un reto antigénico es muy variable, pero en general la respuesta es menor y se produce con un periodo de latencia más largo que en el niño bien nutrido, situación observada posterior a la vacunación contra poliomielitis, toxoide tetánico, diftérico, sarampión y polisacárido de neumococo, siendo ésta depresión de la respuesta más evidente a nivel de mucosas. Lo que facilita la absorción de macromoléculas y la potencial producción de reacciones de hipersensibilidad las cuales se encuentran normales en el paciente desnutrido con niveles elevados de IgE en forma consecutiva a deterioro de los sistemas de control.

El sistema inmune timo dependiente participa en las reacciones inmunológicas de hipersensibilidad, rechazo a injertos, y la resistencia a ciertos tipos de infecciones (15,19). Este sistema está constituido por el timo y linfocitos T; las células T, pueden ser identificadas por su capacidad para formar configuraciones de rosetas espontáneamente con eritrocitos de carnero, (20) hay numerosos reportes indicando la disminución de células T periféricas en pacientes con DPC, - por atrofia del timo y depleción de linfocitos de las áreas timo dependientes (21,,27).

Estudios postmortem en pacientes severamente desnutridos, -- muestran atrofia de órganos linfoides (amígdalas, apéndice y placas Peyer), timo pequeño con lóbulos atrofiados, con depleción de los linfocitos del área paracortical de los nódulos linfoides (28,29). La capacidad funcional de los linfocitos se ha encontrado deprimida en niños gravemente desnutridos.

En pacientes con DPC la reactividad cutánea a la tuberculina es menor que en los bien nutridos (30,31). Hay numerosos reportes que describen un defecto de la reactividad cutánea a diversos antígenos como PPD (26,32) Candida albicans (26,33, 34) Toxoide diftérico (35) Estreptocinasa-Estreptodornasa -- (SK,SD) (26) Tricofitina (36,38). Varias pruebas que evalúan la función inmune celular "in vivo" (34). La transformación linfoblástica está deteriorada en pacientes con DPC. (39) Esta depresión puede explicarse por involución del timo.

La demostración de la función endocrina del timo está basada en los efectos de la ablación de la glándula y su corrección por inyección de extractos del timo o el injerto de glándulas tímicas de ratones singénicos (40). Se ha demostrado recientemente la participación de hormonas tímicas en la maduración y regulación de la respuesta inmune (41,42) y su alteración en inmunodeficiencias (42). El efecto principal de deterioro del timo endocrino, es sobre la respuesta inmune celular. (43,44).

Es bien conocido que mientras más temprano se establezca la desnutrición los efectos sobre el estado nutricional serán - más profundos, de hecho si la desnutrición se instala en el periodo gestacional el deterioro inmunológico manifestado -- por involución del timo y disminución de la inmunidad celular es más aparente y duradero. (36,45,48).

Además existe una disminución de la IgG transferida por la - placenta, en especial IgG₁ e IgG₂, las concentraciones séricas de C3 están disminuidas y las cifras de fagocitosis están por abajo del normal para la edad (49). Se ha demostrado que la actividad inmunológica disminuida en recién nacidos, de peso bajo para la edad gestacional perdura por meses o años, por el contrario los niños con peso adecuado para la edad -- gestacional con desnutrición aguda, recuperan la inmunocompe - tencia en cuanto se restablece la alimentación adecuada.

El crecimiento fetal retardado tiene un efecto deletéreo más importante sobre la actividad hormonal tímica que secundaria - mente retarda la diferenciación de células T con el consecuen - te deterioro de la inmunidad celular (50).

Así pues el objetivo de éste trabajo es encontrar un cifra - basal de actividades de FTS en niños desnutridos "in útero" para utilizarla en un estudio posterior como índice pronósti - co de la recuperación inmunológica a largo plazo.

MATERIAL Y METODOS

Material humano: Se obtuvieron muestras de 10 ml de sangre de cordón de 10 niños de término con desarrollo adecuado para su edad gestacional y 10 pacientes a término pequeños para su -- edad gestacional de acuerdo a las tablas de colorado (51). Las madres de 10 niños desnutridos portaban patología gesta - cional como cardiopatía reumática (un caso), disfunción pla - centaria (un caso) toxemia gravídica (seis casos).

METODOS:

A las muestras de sangre de cordón se les midió la actividad del FTS siguiendo el método de Bach y Darnenne (52).

PREPARACION DEL SUERO:

Se separó el suero en tubos de plástico, se ultrafiltró con N₂ en un sistema Amicón, con membranas LM-2 (Millipore) y se almacenó a -40° C hasta su utilización.

TIEMPO DE RATONES CD-1 (53).

Se utilizaron 20 ratones CD-1, hembras de 6 semanas de edad. Los ratones se anestesiaron con 5mg/Kg de Tiopental sodico - por vía intraperitoneal. Se limpió la cara anterior de tórax con benzal al 20%, se abrió la cavidad a nivel del 3er. espa - cio intercostal, con cuidado se introdujo una cánula de plás - tico y se succionaron los lobulillos tímicos. Se cerró el torax y la piel con seda 0000, se vigilaron los ratones hasta su - recuperación.

OBTENCION DE LINFOCITOS DE BAZO DE RATONES (CD-1) TIMECTOMIZADOS:

Se utilizaron 20 ratones timectomizados 2 semanas antes. Se sacrificaron por descerebración, se limpió la piel del abdomen con benzal, se abrió el abdomen y tórax para examinar tejido tímico remanente. Se excluyeron a los ratones con tejido tímico remanente. Se extirpó el bazo, se hicieron pequeños cortes en la cápsula y el tejido se pasó por una malla de acero inoxidable, se lavaron las células con solución de Hank balanceada, se incubaron con solución de cloruro de amonio al 0.5 M, pH 7,1, 5 minutos se lavaron con solución de Hank dos veces, se ajustó el número de células a 5×10^6 /ml y se midió viabilidad celular con azul tripán. Se continuó el experimento cuando la viabilidad celular fué mayor de 90%.

MEDICION DE LA ACTIVIDAD DE FACTOR TIMICO SERICO (52)

Con el suero de los pacientes después de ultrafiltrado, se hicieron diluciones seriadas (relación 1:2) y se incubó con 5×10^6 células de bazo de ratones hembras CD-1 previamente timectomizados. La incubación se realizó a 37°C durante 90 minutos en presencia de azatioprina 50 $\mu\text{g/ml}$, se centrifugó por 5 minutos a 4°C y se resuspendió suavemente por rotación se contarón 200 células, las formadoras de rosetas (LFR-E) se expresaron en por ciento. Se consideró como significativa la inhibición de la azatioprina, cuando fue $> 50\%$ de ---- LFR-E respecto al control con suero sin azatioprina.

SEPARACION DE LEUCOCITOS DE SANGRE DE CORDON (54).

Se obtuvieron 5ml de sangre de cordón en jeringas con heparina (0.1ml) se colocó v/v sobre una mezcla de Ficoll-Hypaque, d-1.078 se centrifugó a 400xg, 40 minutos. Se separó el paquete de leucocitos, se lavaron 3 veces. Se midió viabilidad con azul tripán y se ajustó la concentración a 5×10^6 células/ml. El experimento se continuó si la viabilidad fue mayor del 90%.

CUANTIFICACION DE LINFOCITOS FORMADORES DE ROSETAS - E (LFR-E) (55).

De la suspensión de células obtenidas de sangre de cordón -- umbilical, se tomaron alícuotas 0.25 ml (5×10^6 células/ml) - se adicionaron v/v eritrocitos de carnero al 0.5% en solución Hank, se incubó durante 15 minutos a 37°C y durante 2 horas a 4°C. Se centrifugarón a 500mg, 5 minutos, se resuspendió por rotación y se contó el número de rosetas en microscopio - con objetivo 100x. se contarón 200 células y el número de linfocitos formadores de rosetas se expresó en por ciento de linfocitos T.

En el análisis estadístico de los resultados se utilizaron -- las pruebas no métricas de U de Mann-Whitney y H de Kruskal - Wallis y paramétricas de "t" de student para medias independientes (56).

RESULTADOS

ACTIVIDAD DE FTS.

Al incubar los linfocitos de bazo de ratones timentomizados con el suero de niños recién nacidos sanos y desnutridos, se observó un incremento en el por ciento de LFR - E con el suero de niños sanos, que al comparar el efecto del suero de niños desnutridos fue estadísticamente significativa la diferencia ($P < 0.000$) Gráfica No. 1. Esta observación fue congruente con el efecto inhibitorio de la azatiprina en presencia de -- suero de pacientes desnutridos, indicando menor actividad del FTS de los pacientes desnutridos a compararla con actividad del FTS del suero de niños sanos ($p < 0.005$) (TABLA 1 y 2)

CUANTIFICACION DE LINFOCITOS FORMADORES DE ROSETAS (LFR-E)

Se observó una disminución porcentual de LFR-E (linfocitos T) en la sangre de cordón de los niños recién nacidos desnutridos "In útero", que fue significativa al compararla con las cifras de LFR-E en niños sanos ($p < 0.001$) (TABLA No. 3)

DISCUSION

La actividad del FTS de niños desnutridos fue menor que la actividad del FTS en los niños sanos. Esto es congruente con la disminución de linfocitos T (LFR-E) observada en los recién nacidos desnutridos y sugiere un factor más que deteriora la inmunidad mediada por células timodependientes.

Los pacientes con deficiencia nutricional tienen reducida la regeneración celular, diferenciación y reparación tisular. Se observa involución de muchos órganos linfoides, particularmente del timo y las amígdalas. Hay depleción de linfocitos en nódulos linfoides en las áreas timodependientes y se reduce el número de linfocitos T circulantes (21,27). En algunos pacientes se ha reportado un incremento en el número de células "nulas" basado en las observaciones de incremento de la actividad de deoxinucleotidiltransferasa en los leucocitos y su correlación con subpoblaciones celulares de linfocitos de pacientes desnutridos, lo que ha sugerido que las células nulas pueden ser inmaduras con una incompleta diferenciación -- en linfocitos T (57). La disminución de la actividad del FTS observada en los niños recién nacidos, coincide con otras observaciones (58) y sugiere que la desnutrición proteico calórica afecta la función tímica en la capacidad para inducir -- maduración y diferenciación de linfocitos T, resultando en una depresión de la inmunidad celular con deficiencias cualitativas o cuantitativas en subpoblaciones de linfocitos T supresores o ayudadores, que requieren ser estudiados en el futuro.

TABLA NO. 1 ACTIVIDAD DEL FTS DEL SUERO DE NIÑOS SANOS POR INHIBICION (%) CON AZATIO-PRINA (500 ug/ml) DE LFR-E DE RATONES TIMECTOMIZADOS.

No. de Muestras	Suero LFR-E An.	LFR-E Suero de niños sanos An log ₂ del recíproco del título de inhibición.						LFR-E An de RTx	
		2	3	4	5	6	7		8
1	92.6	92.6	92.6	92.6	93.0	85.2	85.2	85.2	84.62
2	93.0	93.0	93.0	93.0	93.0	93.0	86.2	86.2	84.62
3	100	92.0	92.0	92.0	88.0	88.0	84.0	84.0	66.6
4	92.3	92.3	92.3	92.3	92.3	92.3	92.3	92.3	75.0
5	100	100	96.6	96.6	93.3	93.3	93.3	93.3	100
6	96.6	96.6	96.66	96.6	96.6	96.6	93.3	96.6	100
7	92.8	92.3	96.1	92.3	92.3	96.1	96.1	96.1	100
8	95.6	95.6	95.6	91.3	95.6	91.3	91.3	91.3	85.7
9	92.3	92.3	92.3	92.3	92.3	88.5	88.5	88.5	84.6
10	96.0	96.0	96.0	96.0	96.0	92.0	96.0	92.0	78.6

TABLA NO. 2 ACTIVIDAD DEL FTS DE SUERO DE NIÑOS DESNUTRIDOS POR INHIBICION (%) CON AZATIOPRINA (500 ug/ml) DE LFR-E DE RATONES TIMECTOMIZADOS.

Paciente Número	LFR-E * SUERO Az (%)	LFR-E Suero de Desnutridos Azatioprina log ₂ del recíproco del título de inhibición.								LFR-E de - RTx Az (%)
		2	3	4	5	6	7	8		
1	69.2	69.2	69.2	69.2	30.7	30.7	23.0	23.0	84.6	
2	50.0	50.0	50.0	37.5	50.0	0	0	0	84.6	
3	77.8	66.7	66.7	66.7	55.6	0	0	0	66.7	
4	80.0	80.0	70.0	80.0	50.0	20.0	20.0	20.0	75.0	
5	77.8	77.8	77.8	66.7	44.5	18.5	22.3	22.3	100	
6	88.9	88.9	88.9	88.9	88.9	83.3	88.9	83.3	100	
7	66.7	66.7	66.7	66.7	33.4	18.5	18.5	18.5	100	
8	88.9	88.9	77.8	55.6	66.7	18.5	22.3	22.3	100	
9	94.7	94.7	94.7	89.9	89.4	89.4	84.2	88.2	84.6	
10	72.7	81.8	72.7	18.1	9.1	9.1	9.1	9.1	78.6	

* LFR-E de RTx Suero de Desnutridos Az (500 ug/ml).

ACTIVIDAD 50% NEG.

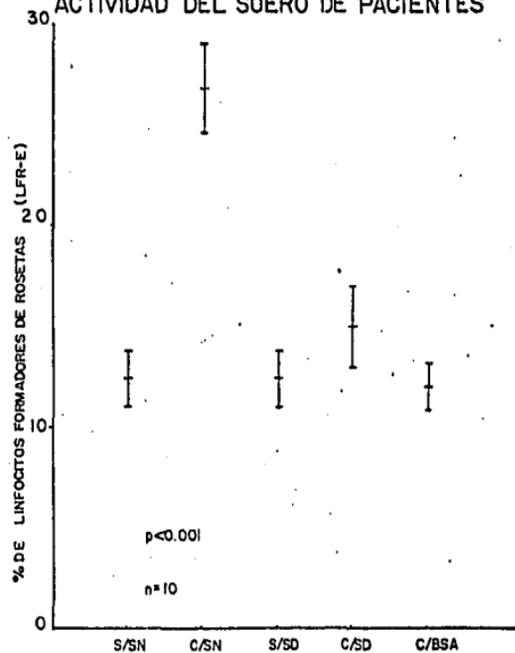
TABLA NO. 3 PORCIENTO DE LFR-E EN RECIEN NACIDOS
NORMALES Y DESNUTRIDOS.

Paciente Número	LFR-E de Recién Nacidos Sanos.		LFR-E de Recién Nacidos Desnutridos.	
	%		%	
1	23		10	
2	23		13	
3	28		12	
4	24		14	
5	26		16	
6	24		20	
7	29		14	
8	26		10	
9	28		19	
10	28		12	
X DE	25.9	2.2	14	3.4

TABLA No. 4
 CARACTERISTICAS CLINICAS DE LOS NIÑOS RECIENTE NACIDOS
 SANOS Y DESNUTRIDOS "IN UTERO"

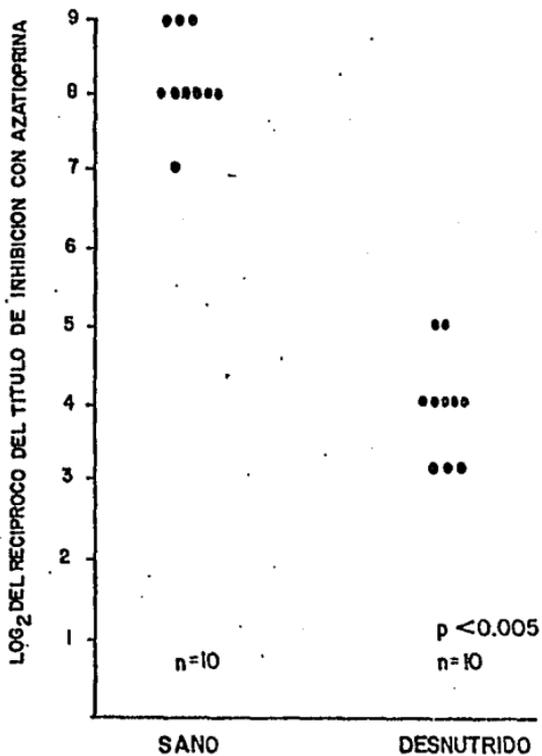
Paciente número	Sexo	Peso, gr.	Talla, cms.	Perímetro cefálico cms	Diagnóstico
1	M	3,200	50	35	sano
2	M	4,000	52	35	sano
3	M	4,000	52	35	sano
4	F	3,000	50	35	sano
5	M	3,200	51	35.5	sano
6	F	3,000	50	35	sano
7	M	3,600	52	36	sano
8	F	3,350	51	35	sano
9	M	3,400	51	35	sano
10	M	3,500	51.5	35.5	sano
11	F	2,500	49	34	desnutrido
12	M	1,600	44	33	desnutrido
13	M	2,100	45	30	desnutrido
14	F	2,500	46	33	desnutrido
15	M	2,400	44	32	desnutrido
16	M	1,700	42	29	desnutrido
17	M	2,280	46	30	desnutrido
18	M	2,500	48	34	desnutrido
19	F	2,260	45	32	desnutrido
20	M	2,600	51	34	desnutrido

GRAFICA No. 1
ACTIVIDAD DEL SUERO DE PACIENTES

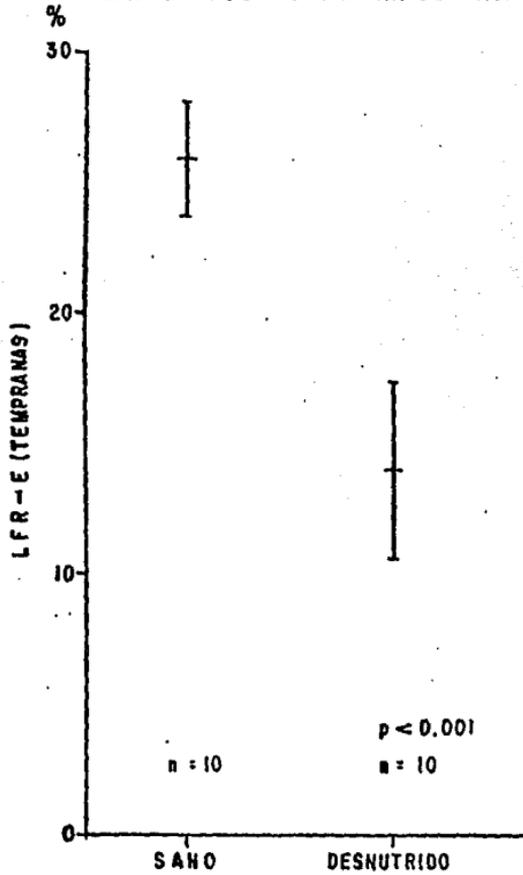


S/SN = sin suero normal, S/SD = sin suero desnutrido
C/SN = con suero normal, C/SD = con suero desnutrido
C/BSA = con albúmina bovina

GRFICA Nº 2
ACTIVIDAD DEL FTS



GRAFICA No. 3
LINFOCITOS - T DE NIÑOS RN.



DR. SERGIO I. ASSIA ROBLES
PEDIATRA

RESUMEN

SE ESTUDIÓ LA ACTIVIDAD DEL FACTOR TÍMICO SERICO (FTS) EN 20 RECIEN NACIDOS A TERMINO, 10 CON PESO ADECUADO Y 10 PEQUEÑOS PARA LA EDAD GESTACIONAL, POR MEDIO DE LA TÉCNICA DE FORMACIÓN DE ROSETAS-E CON LINFUCITOS (LFR-E) DE BAZO DE RATONES CD-1 TIMECTOMIZADOS EN PRESENCIA DE AZATHIOPRINA LOS RESULTADOS SUGIEREN QUE EL SUERO DE RECIEN NACIDOS A TERMINO CON PESO ADECUADO PARA LA EDAD GESTACIONAL POSEE UNA ACTIVIDAD BIOLÓGICA SIGNIFICATIVAMENTE MAYOR DE FTS QUE EL SUERO DE - DESNUTRIDOS " IN UTERO " ($P < 0,005$) Y ADEMÁS ES CONGRUENTE CON UNA MENOR POBLACION DE LINFOCITOS-T EN DESNUTRIDOS --- ($14 \pm 3\%$) RESPECTO A LOS SANOS ($26 \pm 2\%$). LA MENOR ACTIVIDAD DE FTS EN EL SUERO DE LOS RECIEN NACIDOS DESNUTRIDOS - SUGIERE QUE LA DESNUTRICIÓN PROTEICO CALÓRICA AFECTA LA FUNCIÓN ENDOCRINA DEL TIMO PARA INDUCIR MADURACIÓN Y DIFERENCIACIÓN CELULAR.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.-Scrimshaw NS Taylor CE, Gordon JE. Interactions of nutrition and infection. WHO Monogr ser 1968 57
- 2.-Chandra RK Nutrition immunity and infection: present knowledge and future directions. Lancet 1983 I; 688-91
- 3.-Dossator K. Whittle HC, Greenwood BM Persistent measles infection in malnourished children Br. Med J 1977; 11: 1633-5
- 4.-Mata NJ Children of Santa Maria Cauque, Cambridge MIT Press. 1978
- 5.-Chandra RK; Newberne PM Nutrition immunity and infection: mechanisms of interaction New York Plenum, 1977
- 6.-Schopfer K. Douglas SD Neutrophil function in children with kwashiorkor J. Lab Clin Med 1976; 88 : 450-6
- 7.-Beisel WR single nutrients and immunity Am H Clin Nutr 1982; 35:417-68
- 8.-Seth V. Chandra RK Opsonic activity, phagocytosis and intracellular bactericidal capacity of polymorphs in undernutrition Arch Dis Child 1972, 47: 282-4
- 9.-Sirisinha S. Edelman R. Suskind R et. al Complement and C3-activator levels in children with protein calorie malnutrition and effect of dietary treatment Lancet 1973 I; 1016-9
- 10.-Chandra RK Serum complement haemolytic activity in protein-energy malnutrition Clin. Exp Immuno 1978 : 34: 248-53
- 11.-Chandra RK Immunology of nutritional disorders London Arnold 1980
- 12.-Chandra RK Reduced secretory antibody response to live attenuated measles and poliovirus vaccines in malnourished children Br. Med J 1975 2-583-5

13. Carson R Reyes Ma Mc Murray DN Influence of malnutrition on the concentration of IgA lysozyme amylase and aminopeptidase in children's tears Proc. Soc Exp Biol Med 1978 157N 215-8
14. Puri V Misra PK Saxena KC et al Immune status in malnutrition Ind Pediatr 1980 17:127-32
15. Edelman R., Suskind R., Olson R. E., Sirisinha S.: Mechanisms of defective delayed cutaneous hypersensitivity in children with protein-calorie malnutrition Lancet (1976) 1: 506-508
16. Mata L. J., Faulk W.P. : The immune response of malnourished subjects with special reference to measles. Arch Lationam Nutr 1973 23:345
17. Schopfer K., Douglas S.D., Neutrophil function in children with kwashiorkor J. Lab Clin Med (1976) 88:450-416
18. Suskind R. M. Olson L. C., Olson R. E. Protein-Calorie malnutrition and infection with hepatitis-associated antigen Pediatrics (1973) 51: 525-530
19. Hughes W.Y. Price R.A., Sisko F., Havson W. S., Kafatos A.G., Schonland M., Smythe P.M.: Protein-calorie malnutrition: a host determinant for Pneumocystis carinii infection. Am H. Dis Child (1974) 128: 44-52
20. Bram P., Gordon J., Rosette formation by peripheral lymphocytes II Inhibition of the phenomenon Clin Exp Immunol (1971) 8:441
21. Martínez Cairo C.S., López R.M. Alanís GH.F., Cruz B.J. Muñoz H.O.: Linfocitos T y B en sangre perigérica del recién nacido desnutrido en útero Bol. Med. Hosp. Inf. (Méx) (1971) 34:393-397
22. Bang B.G. Mahalanabis D., Mukherjee K.L., Bang F.B.: T and B lymphocyte rosetting in undernourished children Proc. Soc. Exp Biol. Med. (1975) 149:199:202
23. Chandra R.K.: Rosette forming T Lymphocytes and Cell-mediated immunity in malnutrition Br. Med J (1974) 3:608-609
24. Chandra R.K. Lymphocyte subpopulations in human malnutrition; cytotoxic and suppressor cells Pediatrics(1977) 59:423-427
25. Das M., Stiehm E.R., Borut R., Feig S.A.: Metabolic correlates of immune dysfunction in malnourished children Am. J. Clin Nutr (1979) 30:1949-1952
26. Ferguson A.C. Lawlor G.J., Neuman C., Stiehm E.R., Transient Cellular immunodeficiencies in malnutrition Federation Proc. 91975) 34:227

27. Schepfer K., Doug & S.D.: "In vitro" studies of lymphocytes from children with Kwashiorkor Clin Immunol Immunopathol (1976) 5: 21-30
28. Wint F.W. : Postmortem findings in the natives of Kenya East Afr. Med H (1957) 13:332-340
29. Smythe P.M., Breton Steles G.G., Grace H.J., Mafoyane A., Schonland M., Coovadia H.M., Loening E.E.K., Parent M.A. and Vos G.J. Thymolyphatic deficiency and depression fo Cell mediated immunity in protein-calorie malnutrition Lancet (1971) 11:939 943
30. Harland P.S.E.G.: Tuberculin reactions in malnourished children Lancet (1965) 11:719-721
31. Lloyd A.V.C.: Tuberculin test in children with malnutrition Br Med J (1968) 3:529-531
32. Abbassy A.S., Badr El-Din M.K. Hassan A.I. Aref G.H. Hammand S.A. El Araby I., Badr El-Din A.A., Soliman M.H. Hussein M.: Studies of cell mediated immunity and allergy in protein energy mal nutrition I Cell mediated delayed hypersensitivity H. Trop Med Hyg- (1974) 77:13:17
33. Chandra R.K., Rosette forming T lymphocytes and cell-mediated immunity in malnutrition Br. Med J. (1974) 3:608-609
34. Harrison B.D.W., Tugwell P., Fawcett I.W.: Tuberculin reaction in adult Nigerians with sputum Positive pulmonary tuberculosis. Lancet (1975) 1:421-424
35. Geefhusen J., Rosen E.U. Katz J. Ipp T., Metz J.: Impaired cellular immunity in kwashiorkor with improvement after therapy Br. Med H 91971) 4:527-529
36. Chandra R.K. : Antibody formation in first and second generation offspring of nutritionally deprived rats Science (1975) 190:289-290
37. Neuman C.G. Lawlor G.J., Stiehm E.R., Swedseid M E., Newton C., Hervery J., Ammann J., Jacob M.: Immunologic responses in malnourished children Am. J. Clin Nutr (1975) 28:89-104
38. Neuman C.G. Stiehm E.R., Swedseid M., Ferguson A.C., Lailor G.J.: Cell mediated immune response in Ghanaian children with protein-calorie malnutrition . In malnutrition and the Immune Response, edited R.M. Suskind Raven New York 1977, pp 77-89
39. Shlesinger L., Chibaum A., Grez L., Stekel A.: Cell-mediated immune studies in marasmic children from Chile in malnutrition an immune response, edited By R.M. suskind Raven New York 1977 pp 91-98

40. Chulof R. S and Golstien A L; Thymosin and the endocrine thymus
Adv Med (1977) 22:121-43
41. Bach J. F., Bach M.A., Charrier J.: The mode of action of Thymic
hormones Ann N W acad Sci (1979) 332:23-32
42. Zaizov R., Vogel R., Cohen I: Thymic hormone therapy in immuno
suppresses children with lymphoproliferative neoplasia and generalized
varicella Biomedicine (express) (1977) 27: 105-8
43. Handzel Z. T., Dofin Z., Ierin S.: Effect of thymic humoral factor
on cellular immune factors in normal children and pediatric patients
with ataxia telegiactaxia and Down syndrome ped Res (1979) 13:803-6
44. Bodigani P., Faurie G., Bene M.C. Improvement of cellular immunity
in immuno deficient children after treatment with syntetic serum
thymic factor (FIS) Lancet 11(1978) 293-294
45. Chandra R.K. Fetal malnutrition and postnatal immunocompetence
Am J. Dis Childs 1975: 129 450-5
46. Manerikar SS malaviya AN Singh M et al Immune
status and BCG vaccination in newborns with intrauterine
growth retardation clin Exp Immunol (1976)
47. Moscatelli P. Bricarelli FD Piccinini A et al defective
Immuno competence in fetal undernutrition Hely
Pediatr Acta 1976 31: 241-8
48. Ferguson AC prolonged Impairment of cellular im-
munity in children with intrauterine growth retardation
J. Pediatr 1978 93:52-5
49. Chandra RK Matsumura T Ontogenetic develop-
ment of immune system and effects of fetal growth re-
tardation J. perinat Med 1979 7:272-90
50. Chandra RK serum thymic hormone activity and
cell-mediated immunity in healthy neonates preterm
infants and small for gestational age infants Pediatrics
1981 67:407-14
51. Jurbchenko L.D., Hansman C., Dressler M., Bayd E. Intrauterin
Growth as estimated from liver born birth weight data at 24 to 42
weeks of gestation pediatrics (1963) 32; 793-800
52. Bach J.F., and Darnenne M. Studies on thymus products II demon-
stration and characterization of a circulating thymic hormone Immuno-
logy (1973) 25: 353-366
53. Weir D.M.: laboratory animal techniques of immunology in Hand book
of experimental Blackwell Sci Pub 1973 Oxford pp 43:17-19

54. Boyum A: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood *Scan J Clin Lab Invest* (1968) 21 (suppl 97) 77
55. Jondal M., Holm G., Wigzell H.: surface Markers on human T and B Lymphocytes *J Exp Med* (1972) 136 207-215
56. Downie N.M., heath R. W.: Basic statistical methods 3a. ed Harper and Row Publ New York 1970 pp-284
57. Chandra R.K., T and B lymphocyte subpopulations and leukocyte terminal deoxynucleotidyl transferase in undernutrition *Acta Ped. Scand* (1979) 68: 841-845
58. Chandra R.K.: Serum thymic hormone activity in protein energy malnutrition *Clin Exp Immunol* (1979) 38:228-232