

INFLUENCIA DEL NIVEL PROTEINICO DIETARIO SOBRE EL PATRON ELECTROFORETICO Y LOS NIVELES DE Ig G e Ig M PLASMATICOS EN RATAS GESTANTES Y SUS NEONATOS

Pilar Varela,¹ Emilia Muñoz-Martínez,¹
Ascención Marcos¹ y Ma. Teresa Unzaga¹

Universidad Complutense
Madrid, España

RESUMEN

En vista de la influencia que los estados nutricional y fisiológico tienen sobre la capacidad inmunológica del individuo, se llevó a cabo un estudio de las modificaciones que inducen tres niveles de proteína en la dieta: 4^o/o, 10^o/o (control) y 20^o/o sobre la tasa de inmunoglobulinas G y M plasmáticas, así como los niveles de proteínas totales en plasma (PPT) y sus fracciones, en ratas no gestantes (NG) y gestantes (G) y sus neonatos.

Efecto de la dieta en ratas adultas — En ratas no gestantes aparece un incremento en la tasa de Ig G por acción de la dieta alta en proteína. Los niveles de PPT disminuyen con las dietas alta y baja en proteína. En animales G disminuyen ambas Ig con las dos dietas experimentales (4^o/o y 20^o/o), mientras la tasa de PPT se incrementa a medida que aumenta la cantidad de proteína ingerida.

Efecto de la gestación — Los niveles de Ig G e Ig M se elevan con las dietas del 4^o/o y 10^o/o. Sin embargo, estos niveles sufren un descenso cuando las ratas ingieren la dieta del 20^o/o de proteína. La tasa de PPT desciende con el déficit proteínico dietario y aumenta con la dieta más alta en proteína.

Efecto de la dieta en neonatos — Los niveles de Ig M sólo se detectaron en la progenie de ratas alimentadas con las dietas alta y baja en proteína. Por su parte, la tasa de PPT se incrementa en función directa de la ingesta proteínica dietaria.

INTRODUCCION

El estado nutricional del individuo afecta profundamente su capacidad inmunológica. Tanto la privación nutritiva como la sobrealimentación, parecen incidir desfavorablemente sobre los mecanismos de defensa.

Manuscrito Modificado recibido: 9-5-88.

¹ Miembros de la Sección Departamental de Fisiología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España.

Se han descrito diversas alteraciones del sistema inmune humoral producidas por malnutrición. Así, las subpoblaciones de linfocitos B (1), los niveles séricos de Ig G, Ig M e Ig A (2,3) y la síntesis de inmunoglobulinas y su metabolismo (4) en general, aumentan o no se modifican.

Ocasionalmente, las tasas de inmunoglobulinas G, M y A séricas pueden ser bajas, en especial cuando el inicio de la deficiencia nutricional se produce en la vida fetal o en los primeros días de la vida (5).

La respuesta inmune también se presenta disminuida en neonatos en segunda generación, procedentes de madres en ayuno (6,7) o con deficiencia proteínica dietaria. Ello se relaciona, ya sea con la existencia de un daño intenso en el aparato linfoide durante la etapa embrionaria del desarrollo o bien con una lactación pobre de los neonatos malnutridos.

No obstante, la variabilidad en las tasas de Ig G transferidas en la unidad materno-fetal, hace que no exista correlación entre los niveles de inmunoglobulinas y el grado de déficit nutricional prenatal.

La malnutrición no sólo parece alterar los mecanismos de defensa, sino que también la ingesta excesiva de varios nutrientes da lugar a una susceptibilidad incrementada a infecciones víricas y bacterianas (8) dependientes de una respuesta inmune deficiente.

Por otra parte, de acuerdo con datos en la literatura (9), la administración de dietas bajas (4^o/o) y altas (20^o/o) en proteína a ratas gestantes, da lugar a una redistribución de sustratos proteínicos. Esta afecta al reparto materno-fetal de los mismos, perjudicando así el desarrollo neonatal.

A nuestro juicio, esta anómala disponibilidad de sustratos podría también incidir sobre la formación de proteínas inmunocompetentes, en especial Ig G e Ig M, tanto en ratas gestantes como en sus neonatos, y en esta forma, modificar la capacidad inmune humoral de estos individuos.

En consideración a los conceptos precedentes, el presente trabajo constituye un estudio de los niveles plasmáticos de Ig G e Ig M en ratas no gestantes y gestantes, y sus neonatos. Para dicho propósito, los animales adultos se someten a tres niveles proteínicos en la dieta: 4^o/o, 10^o/o y 20^o/o, a fin de establecer la sensibilidad de la función de los linfocitos B a la interacción dieta-gestación. También se estudia el patrón electroforético de las proteínas plasmáticas.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 60 ratas Wistar con un peso inicial de 160 ± 10 g que se dividieron aleatoriamente en dos lotes: 1) 30 ratas no gestantes (NG) y 2) 30 ratas gestantes (G). Cada lote se dividió a su vez en tres grupos de 10 animales cada uno, los que se sometieron a tres niveles proteínicos dietarios: 4^o/o, 10^o/o y 20^o/o. También se utilizaron 40 neonatos de cada grupo de gestantes.

Se utilizó el plasma de los animales adultos, así como un pool de plasma de cuatro neonatos por camada, extraídos el día 21 del experimento, que correspondió al día del parto.

Los parámetros Ig G e Ig M se determinaron por el método de Neuman *et al.* (9). La tasa de proteínas plasmáticas se evaluó por la técnica de

Henry, Sobel y Berkman (10), y el patrón electroforético, de acuerdo con el procedimiento de Tiselius y Floidini (11).

La composición de las dietas se llevó a cabo según datos previos (12, 13), utilizando caseína láctea de 98^o/o de riqueza (E. Merck Darmstadt R.F. de Alemania).

Los animales se sometieron a un período de adaptación a cada dieta, que duró una semana. Después de la obtención del lote de gestantes, los animales fueron alojados en células individuales de metabolismo, ubicadas en una habitación termostregulada a 23^oC e iluminada de 8 a 20 horas. Durante el experimento se suministró agua y dieta *ad libitum*.

Los resultados siguientes se expresan como valores medios \pm EE. El tratamiento estadístico de los datos obtenidos se hizo aplicando el test "t" de Student (14). La probabilidad menor de 0.05 se considera significativa.

RESULTADOS Y DISCUSION

Efecto del Nivel Proteínico Dietario en Ratas No Gestantes. (Se comparan entre sí los grupos no gestantes) (Tabla 1).

El grado de disponibilidad de aminoácidos afecta profundamente la síntesis hepática de proteínas exportables, en especial con la dieta de 4^o/o de proteína, de acuerdo con los datos de Kirsch *et al.* (15), Waterlow, Garlick y Millward (16) y Schelp *et al.* (17).

Ello da lugar a que el patrón electroforético de los animales malnutridos no gestantes, acuse valores que no son proporcionales al porcentaje de proteína.

La causa de este resultado hay que buscarla en la pérdida de la capacidad de síntesis de proteínas exportables por el hígado, cuyo exponente más claro es la disminución de la albuminemia. De acuerdo con esto, Pain, Clemens y Garlick (18) señalan la pérdida selectiva de RNAm, necesario para la formación de albúmina, en casos de malnutrición proteínica.

Esta alteración funcional se acompaña de daño celular hepático según lo confirma el descenso en la razón albúmina/globulina.

Por otra parte, el descenso de las β -globulinas parece ser el factor condicionante del efecto hipoproteínico encontrado con las dietas del 20^o/o de proteínas, lo que podría estar relacionado con una menor necesidad de transporte de sustratos, especialmente lipídicos. En este sentido, Terpstra (19), indica que los niveles más bajos de colesterol se presentan en ratas sometidas a dietas que contienen del 12 al 18^o/o de caseína. En cambio, con dietas de 7.5^o/o, se produce una elevación moderada, siendo el incremento mayor con dietas del 40^o/o de proteína, lo que sugiere la existencia de un posible descenso en la tasa de β -lipoproteínas.

No obstante, para Chia-Po Lin (20), la proteinemia no se modifica en ratas sometidas a dietas con 25 y 40^o/o de proteína, comparada frente al día cero del experimento, al mantenerse constantes todas las fracciones proteínicas.

Por otra parte, de acuerdo con Cooper, Good y Mariani (21), el incremento en la tasa de β -globulinas registrado en los animales malnutridos,

TABLA 1

EFFECTO DEL NIVEL DE PROTEINA INGERIDA SOBRE LA INGESTA Y PROTEINAS PLASMATICAS
DE RATAS NO GESTANTES Y GESTANTES

	4 ^o /o		10 ^o /o		20 ^o /o	
	NG	G	NG	G	NG	G
Ingesta (g.s.s/rata/día)	14.24 ± 0.38 ^a	14.60 ± 0.24 ^a	13.89 ± 0.33 ^a	18.04 ± 0.65 ^b	12.53 ± 0.56 ^c	14.97 ± 0.45 ^d
Proteínas totales*	5.51 ± 0.12 ^b	4.76 ± 0.18 ^c	6.09 ± 0.19 ^a	6.01 ± 0.14 ^a	5.41 ± 0.13 ^b	6.41 ± 0.70 ^d
Albumina*	2.26 ± 0.50 ^b	2.11 ± 0.15 ^b	3.36 ± 0.06 ^a	2.72 ± 0.11 ^c	3.45 ± 0.23 ^a	3.48 ± 0.14 ^a
α-globulinas*	1.12 ± 0.09 ^a	1.07 ± 0.09 ^a	0.71 ± 0.18 ^a	1.71 ± 0.09 ^b	0.90 ± 0.08 ^a	1.18 ± 0.14 ^a
β-globulinas*	1.23 ± 0.08 ^a	0.78 ± 0.06 ^b	1.47 ± 0.12 ^a	1.00 ± 0.05 ^c	0.76 ± 0.05 ^b	1.07 ± 0.06 ^c
γ-globulinas*	0.90 ± 0.08 ^c	0.80 ± 0.09 ^c	0.43 ± 0.16 ^a	0.56 ± 0.06 ^c	0.30 ± 0.001 ^a	0.73 ± 0.07 ^c
Ig G**	138.48 ± 14.02 ^a	229.80 ± 10.14 ^c	151.32 ± 9.89 ^a	344.04 ± 30.57 ^b	209.24 ± 21.00 ^b	159.74 ± 16.47 ^d
Ig M**	38.93 ± 3.14 ^a	76.48 ± 7.03 ^c	40.93 ± 4.35 ^a	379.20 ± 32.78 ^b	50.94 ± 4.51 ^a	24.48 ± 1.89 ^d
Albumina/globulinas	0.67 ± 0.05 ^b	0.79 ± 0.07 ^b	1.28 ± 0.11 ^a	0.83 ± 0.08 ^b	1.76 ± 0.15 ^c	1.16 ± 0.02 ^d

* mg/dl.

** μg/dl.

Las letras distintas indican diferencias significativas entre columnas (P ≤ 0.05).

podría estar determinado por un proceso infeccioso concomitante, aun cuando los niveles de Ig G e Ig M no varían.

A pesar de ello, y puesto que los niveles altos de γ -globulina se acompañan de tasas bajas de albuminemia en los animales hiponutridos (4^o/o) mientras que estos valores se invierten en el caso de los animales sometidos al 20^o/o de proteína, se podría sugerir que la dieta es el único factor desencadenante de este efecto, a fin de mantener una presión coloidal adecuada (22).

El factor dieta parece también ser el responsable del incremento de las tasas plasmáticas de Ig G detectado en los animales sometidos a la dieta de alto nivel proteínico, a consecuencia de una mayor disponibilidad de aminoácidos por parte de los linfocitos B.

Efecto del Nivel Proteínico Dietario en Ratas Gestantes. (Se comparan entre sí los grupos gestantes). (Tabla 1).

En los animales gestantes, los niveles de proteínas plasmáticas varían en proporción directa a la tasa de proteína en la dieta.

Esta variación ocurre a expensas de la albuminemia, hecho que confirma la sensibilidad de la síntesis de proteína hepática al aporte de aminoácidos dietarios (23). Este efecto es visible en el aumento paulatino de la razón albúmina/globulina en los tres niveles de proteína sometidos a estudio.

Sólo los animales gestantes malnutridos acusan una relación recíproca entre la concentración de albúmina y de γ -globulinas, lo que podría compensar la presión osmótica coloidal. Por el contrario, el gran aumento de la albuminemia y el mantenimiento de las β y γ -globulinas producido por la dieta del 20^o/o de proteína, podría generar un aumento de la presión oncótica con el consiguiente incremento de la volemia.

Ello indicaría que los niveles altos de proteína dietarios determinan modificaciones en la hemodinámica de las ratas gestantes, los que se adicionan a los cambios fisiológicos normales ya conocidos (24).

En cuanto a la disminución de las α -globulinas con las dietas con 4^o/o y con 20^o/o de proteína, ésta podría relacionarse con una menor actividad de γ -antitripsina. Esta globulina —según Powanda (25)— es capaz de inhibir la acción lítica de varias proteinasas, por lo que su disminución contribuiría a incrementar los mecanismos de degradación de las proteínas periféricas, puestos en marcha en la fase catabólica de la gestación, a fin de facilitar un mejor aporte de aminoácidos al feto (26). Este mecanismo, sin embargo, no parece suficiente para alcanzar un nivel adecuado de transferencias materno-fetales, puesto que, de acuerdo con datos al respecto (12, 27), los neonatos sometidos a las dietas con 4^o/o y 20^o/o de proteína sufren efectos deletéreos, dada la competencia negativa con la madre por dichos sustratos.

La disminución en las tasas de Ig G e Ig M halladas en el plasma de los animales sometidos a estas dos dietas (4^o/o y 20^o/o de proteína) parece ser un efecto negativo más, que podría relacionarse con la existencia, en ambos casos, de una hipofunción de los linfocitos B.

La escasez de sustratos y la mala utilización de los mismos sería la causa de esta disminución en los animales malnutridos y en los animales sometidos al 20^o/o de proteína respectivamente. De acuerdo con esto,

Chandra y Newberne (28) y Waddel, Taunton y Twoney (29), señalan el efecto inmunosupresor de la malnutrición, así como de la sobrealimentación.

Efecto de la Gestación en cada Nivel Proteínico Dietario. (Se comparan entre sí los grupos no gestantes y gestantes de cada dieta). (Tabla 1).

Las modificaciones del patrón electroforético debidas al estado gestacional, varían en cada uno de los grupos estudiados sin que en caso alguno la distribución de las fracciones responda a las variaciones encontradas por diversos autores en la gestación humana (30, 31).

Así, los animales gestantes sometidos al 10⁰/o de proteína mantienen la tasa de proteínas plasmáticas totales al nivel del de las ratas no gestantes.

Por el contrario, en mujeres gestantes, Lind y Path (32), indican un descenso de este parámetro, debido a la pérdida de albúmina.

Asimismo se observa una caída de las tasas de albúmina y de β -globulinas y un gran incremento en α -globulinas. Es este aumento de α -globulinas el que parece contribuir a la inalterabilidad de la tasa total de proteínas plasmáticas, y favorecer un catabolismo proteínico materno menor, lo que explicaría el defectuoso paso de sustratos al feto (26).

La existencia de esta disminución de sustratos circulantes podría explicar también, la pérdida de la tasa de globulinas transportadoras tipo β -globulinas. Por el contrario, Mc Gillivray y Torey (33), informan que en mujeres gestantes, existe un 30⁰/o de aumento en la tasa de estas globulinas.

En los animales malnutridos, la gestación induce una disminución de proteínas totales, que podría depender de la fracción β -globulinas, condicionada por el descenso neto de sustratos circulantes en estos animales. Ajeno a ello, parece existir un mecanismo de protección de la síntesis hepática de albúmina, que permite su mantenimiento al mismo nivel que en los animales hiponutridos no gestantes (34), de acuerdo con la invariabilidad en la razón albúmina/globulina.

Por otra parte, los animales sometidos a la dieta con 20⁰/o de proteína demuestran un aumento en la tasa de β -globulinas, siendo esta fracción la única que responde al patrón electroforético normal de la mujer gestante (31). Al parecer, está relacionado con la necesidad de un mayor transporte de sustratos circulantes.

El alza de la tasa de proteínas totales y de las α -globulinas, así como el mantenimiento de la albúmina, también parece indicar que la interacción dieta hiperproteínica-gestación influye sobre estos parámetros. Se originan así los profundos cambios hemodinámicos de la rata en la gestación, que llevan a alteraciones en la volemia, y la consiguiente readaptación a esta sobrecarga.

Por otra parte, el incremento de Ig G e Ig M en los animales sometidos a las dietas con 4⁰/o y 10⁰/o de proteína, parecen señalar la presencia de un proceso infeccioso concomitante (21).

Por el contrario, en los animales sometidos al nivel más alto de proteína (20⁰/o), la gestación produce una disminución de ambas inmunoglobulinas, de acuerdo con las variaciones encontradas en clínica humana (38). Sin embargo, en nuestro criterio, este resultado parece estar

determinado por un efecto negativo adicional de dicha dieta, que determina una mayor depresión de los mecanismos de defensa en estos animales.

De todo ello se deduce, que algunos mecanismos fisiológicos —mediante los cuales se produce la adaptación a la gestación— como los hemodinámicos y los mecanismos de defensa, dependen del nivel de sustratos proteínicos disponibles en cada momento.

Efecto de la Ingesta Prenatal de Distintos Niveles Proteínicos Dietarios sobre los Neonatos (Tabla 2).

El nivel de proteína en la dieta materna marca la aparición de un incremento proporcional en la tasa de las proteínas plasmáticas totales de los neonatos, lo que parece indicar que la transferencia placentaria de aminoácidos y proteínas aumenta con la elevación de los sustratos disponibles (13).

Esto puede originar modificaciones en la capacidad de la síntesis proteínica hepática del neonato, la que sería mayor con los mayores porcentajes de proteína en la dieta, y viceversa.

En condiciones normales se ha comprobado una alta tasa de formación proteínica en el hígado de neonatos en el momento del nacimiento (35).

El aumento de la proteinemia en los neonatos sometidos a la dieta de 20% de proteína depende básicamente de la fracción β -globulina, para facilitar un mayor transporte de nutrientes, ya que tanto la albúmina como las α -globulinas permanecen estacionarias. Este resultado parece estar en consonancia con la observación previa de que los neonatos sometidos a esta dieta no parecen utilizar bien el exceso de sustratos proteínicos, lo que da lugar a una síntesis proteínica precaria a nivel tisular (27).

Ello se manifiesta por el mantenimiento de los niveles de albúmina y por un notable descenso de la proteína tisular del neonato (12).

Por el contrario, todas las fracciones proteínicas contribuyen a la disminución de la tasa total de proteínas plasmáticas de los neonatos malnutridos, lo que señala la escasez de sustratos disponibles.

Además, la diferente concentración de proteína dietaria no afecta la tasa de Ig G, la cual permanece inalterada en todos los grupos estudiados. Ello significa que la transferencia placentaria de Ig G es normal, a pesar del deterioro de los tejidos intrauterinos, provocado tanto por el déficit como por el exceso proteínico (12).

Por el contrario, Mata (36) encuentra tasas disminuidas de Ig G en recién nacidos con bajo peso al nacer.

No obstante, el incremento de los valores de Ig M en los neonatos sometidos a las dietas alta y baja en proteína, indica la puesta en marcha de una respuesta inmune frente a un estímulo antigénico de carácter infeccioso.

A este respecto, Stiehm (37), informa que la presencia de Ig M en el recién nacido, se puede utilizar en el diagnóstico de infección intrauterina.

Ajeno a los conceptos precedentes, ello sugiere, además, que tanto la dieta de 4% como la de 20% de proteína determinan un aumento en la susceptibilidad a la infección en estos animales.

TABLA 2

EFECTO DEL NIVEL PROTEINICO EN LA DIETA MATERNA
SOBRE PROTEINAS PLASMATICAS EN NEONATOS

	4 ^o /o	10 ^o /o	20 ^o /o
Número de neonatos/camada	7.62 ± 0.42 ^b	10.50 ± 0.84 ^a	9.55 ± 0.67 ^a
Proteínas totales*	0.94 ± 0.13 ^b	1.96 ± 0.26 ^a	2.45 ± 0.12 ^c
Albúmina*	0.42 ± 0.07 ^b	1.04 ± 0.17 ^a	1.02 ± 0.08 ^a
α-globulinas*	0.21 ± 0.02 ^b	0.40 ± 0.03 ^a	0.45 ± 0.05 ^a
β-globulinas*	0.16 ± 0.03 ^b	0.31 ± 0.06 ^a	0.57 ± 0.13 ^c
γ-globulinas*	0.11 ± 0.01 ^b	0.19 ± 0.02 ^a	0.24 ± 0.02 ^a
Ig G**	91.40 ± 0.28 ^a	81.70 ± 4.79 ^a	86.40 ± 0.20 ^a
Ig M**	16.02 ± 0.34 ^b	— — — ^a	18.79 ± 2.16 ^b
Albúmina/globulinas	0.87 ± 0.07 ^b	1.15 ± 0.01 ^a	0.80 ± 0.07 ^b

* mg/dl.

** μg/dl.

Las letras distintas indican diferencias significativas entre columnas ($P \leq 0.05$).

SUMMARY

INFLUENCE OF DIETARY PROTEIN LEVEL ON ELECTROPHORETIC PATTERN
AND Ig G AND Ig M LEVELS IN PLASMA OF PREGNANT RATS
AND THEIR OFFSPRING

In view of the influence that nutritional and physiological status exert on the immunological capacity of the subject, a study was carried out for the purpose of studying the changes induced by three protein levels in the diet: (4^o/o, 10^o/o (control), and 20^o/o) on total plasma proteins (TPP) and their fractions, as well as Ig G and Ig M levels in non-pregnant (NP) and pregnant (P) rats and their offspring.

Effect of the diet on adult rats — In non-pregnant rats submitted to the high protein diet, Ig G levels increased while TPP decreased in P rats fed on 4^o/o and 20^o/o protein diets. The higher the protein level in the diet, the higher were the TPP values.

Effect of pregnancy — Ig G and Ig M levels suffered an increase in rats fed the 4^o/o and 10^o/o protein diets, while a decrease was observed in rats submitted to the 20^o/o protein level diet. The TPP rate diminished in rats fed on the low protein diets, and increased when the highest protein diet was administered.

Effect of the diet on offspring — Ig M levels were only detected in neonates from rats fed with the low and high protein diets. Moreover, the TPP rate increased as a direct function of the dietary protein intake.

BIBLIOGRAFIA

1. Bang, B.G., D. Mahalanabis, K.L. Mukherjee & F.B. Bang. T and B lymphocyte rosetting in undernourished children. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, **149**: 199-202, 1975.
2. Chandra, R.K. Immunoglobulins and antibody response in protein-calorie malnutrition. A review. En: **The Immune Response**. R. M. Suskind (Ed.). New York, N. Y., Raven Press, 1977, p. 155-168.
3. Neumann, C. G., G. J. Lawlov Jr. & E. R. Stiehm. Immunologic responses in malnourished children. **Am. J. Clin. Nutr.**, **28**: 89-104, 1975.
4. Cohen, S. & J. D. L. Hansen. Metabolism of albumin and gamma-globulins in kwashiorkor. **Clin. Sci.**, **23**: 351-359, 1962.
5. Chandra, R. K., S. K. Ali, K. M. Kutty & S. Chandra. Thymus dependent lymphocytes and delayed hypersensitivity in low birth-weight infants. **Biol. Neonat.**, **31**: 15, 1977.
6. Gebhardt, B. M. & P. M. Newberne. Nutrition and immunological responsiveness. **Immunology**, **26**: 489-495, 1974.
7. Chandra, R. K. Antibody formation in first and second generation offspring of nutritionally deprived rats. **Science**, **190**: 289-290, 1975.
8. Chandra, R. K. Cell mediated immunity in nutritional imbalance. **Fed. Proc.**, **39**: 3088-3092, 1980.
9. Neuman, U., D. Kretzler, E. Munz, K. H. Schappe & J. Ziegenhorn. Bestimmung von immunoglobulinen mit analysen automaten. **Lab. Med.**, **2**: 62-65, 1978.
10. Henry, R. J., C. Sobel & S. Berkman. Determinación de las proteínas mediante la reacción del Biuret. En: **Química Clínica. Bases y Principios**. R. J. Henry & A. Zubizarreta (Eds.). Barcelona, Juns Ed., 1969, p. 213-216.
11. Tiselius, A. & P. Flodin. Zone electrophoresis. En: **Advances in Protein Chemistry**. Vol. 8. New York, N. Y., Academic Press, 1953, p. 461.
12. Varela, P., E. Muñoz-Martínez, A. Marcos M. T. Unzaga & G. Varela. Dieta hiperproteica en la gestación. Efectos sobre el metabolismo neonatal. **Rev. Esp. Fisiol.**, **42**: 111-116, 1986.
13. Muñoz-Martínez, E., A. Marcos, P. Varela, M. T. Unzaga & G. Varela. Efectos aditivos de la malnutrición proteínica y del cortisol en las proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas de ratas gestantes, y sus neonatos. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **36**: 714-724, 1986.
14. Sokal, R. R. & F. J. Rohlf. Estimación y test de hipótesis. En: **Biometría. Los Principios y la Práctica de la Estadística en la Investigación Biológica**, H. Blume (Ed.). Madrid, Héroes, 1979, p. 145-194.
15. Kirsch, R.E., L. Frith, E. Black & R. Hoffenberg. Regulation of albumin synthesis and catabolism by alteration of dietary protein. **Nature**, **217**: 578-579, 1968.
16. Watherlow, J. C., P. J. Garlick & D. J. Millward. En: **Protein Turnover in Mammalian Tissues and in the Whole Body**. Amsterdam, North Holland, N. Y. Elsevier, 1978.
17. Schelp, F. P., P. Migasette, S. Saovakotha, S. Pougpaewl & V. Supawan. Serum protein fractions from children of differing nutritional status analysed by polyacrylamide gel electrophoresis and electroimmunoassay. **Brit. J. Nutr.**, **35**: 221, 1976.
18. Pain, V. M., V. J. Clemens & P. J. Garlick. The effect of dietary deficiency on albumin synthesis and on the concentration of actine albumin messenger ribonucleic acid in rat liver. **Biochem. J.**, **172**: 129-137, 1978.

19. Terpstra, A. H. M. **The Effect of Semipurified Diets Containing either Casein on Soybean Protein on the Concentration of Serum Cholesterol and the Lipoprotein Composition in Rabbits.** Doctoral Thesis, Department of Human Nutrition, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, 1981.
20. Chia Po Lin & Po Chao Hnang. Actual nitrogen deposition in mature adult rats fed moderate to high protein diets. *J. Nutr.*, **112**: 1067-1074, 1982.
21. Cooper, W. C., R. A. Good & T. Mariani. Effects of protein insufficiency on immune responsiveness. *Am. J. Clin. Nutr.*, **27**: 647-664, 1974.
22. Coward, W. A., R. C. Whitehead & D. G. Coward. Quantitative changes in serum protein fractions during the development of kwashiorkor and in recovery. *Brit. J. Nutr.*, **28**: 433-441, 1972.
23. Golden, M. H. N. Transport protein as indexes of protein status. *Am. J. Clin. Nutr.*, **35**: 1159-1165, 1982.
24. Knopp, R. H., M. A. Boroush & J. B. O'Sullivan. Lipid metabolism in pregnancy. Postheparin lipolytic activity and hypertriglycerinemia. *Metabolism*, **24**: 481-488, 1975.
25. Powanda, M. C. Changes in body balances of nitrogen and other key nutrients. Description and underlying mechanism. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**: 1254-1257, 1977.
26. Naismith, D. J. The requirement for protein and the utilization of protein and calcium during pregnancy. *Metabolism*, **15**: 582, 1986.
27. Marcos, A., P. Varela, M. T. Unzaga, E. Muñoz-Martínez, B. Jiménez-Gancedo & G. Varela. Nivel proteínico dietario durante gestación. Su influencia sobre el reparto materno-fetal de sustratos. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **36**(3): 443-455, 1986.
28. Chandra, R. K. & P. H. Newberne. Mechanisms of host defense. En: **Nutrition, Immunity and Infection.** R. K. Chandra & P. H. Newberne (Eds.). New York, N. Y., Plenum Press, 1977, p. 11-29.
29. Waddel, C. C., O. D. Taunton & J. J. Twoney. Inhibition of lymphoproliferation by hyperlipoproteinemic plasma. *J. Clin. Invest.*, **58**: 950-957, 1976.
30. Reboud, P., P. Gros Lambert, C. Ollivier & J. Groulade. Proteines et lipides plasmatiques au course de la gestation normale et du post-partum; *Ann. Biol. Chem.*, **25**: 383-388, 1967.
31. De Alvarez, R. R., J. F. Alfonso & D. J. Sherrard. Serum protein fractionation in normal pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **82**: 109-115, 1961.
32. Lind, T. M. B. & M. R. C. Path. Nutrient requirements during pregnancy I. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**: 669-678, 1979.
33. Mc Gillivray, I. & J. E. Torey. A study of the serum protein changes in pregnancy and toxemia using paper electrophoresis. *J. Obstet. Gyneacol. Br. Emp.*, **64**: 361-368, 1957.
34. Rosso, P. & C. Cramoy. Nutrition and pregnancy. En: **Human Nutrition.** B. Roslyn & A. Slater (Eds.), New York, N. Y., Plenum Press, 1979, p. 228.
35. Miller, S. A. Protein metabolism during growth and development. En: **Mamalian Protein Metabolism.** H. N. Munro (Ed.), New York, N. Y., Academic Press Inc., 1969, p. 183-233.
36. Mata, L. J. Environmental determinants and origins of malnutrition. En: **Malnutrition and the Immune Response.** R. M. Suskind (Ed.), New York, N. Y., Raven Press, 1977, p. 9-19.
37. Stiehm, E. R. Humoral immunity in malnutrition. *Fed. Proc.*, **39**: 3093-3097, 1980.