RCAN

Rev Cubana Aliment Nutr 2011;21(1):4-13

Artículo original

Laboratorio de Fisiología del Sistema digestivo y la Nutrición. Escuela de Medicina. La Habana.

CAMBIOS CORPORALES ASOCIADOS AL ENVEJECIMIENTO EN RATAS SPRAGUE-DAWLEY

Ilia García Rodríguez[1], *Eduardo Rodríguez Izquierdo*[2], *Esmir Camps Calzadilla*[1], *Mercedes Gámez Fonseca*[1§¶].

RESUMEN

Este trabajo describe un modelo experimental desarrollado con ratas Wistar machos de 32 semanas de edad para evaluar la influencia del envejecimiento sobre indicadores selectos del estado nutricional y la composición corporal. Se determinaron el peso corporal, el contenido de proteínas del músculo esquelético, la excreción urinaria de creatinina, la albúmina sérica, el colesterol sérico y el conteo total de linfocitos. Se observó una reducción del contenido de proteínas del músculo esquelético, así como una disminución de la excreción urinaria de creatinina. Sin embargo, se observó un incremento del peso corporal, tal vez a expensas de la grasa corporal, como sugiere el incremento del colesterol sérico. La albúmina sérica y el conteo total de linfocitos se mantuvieron constantes, lo que pudiera implicar que el pool de proteínas plasmáticas y el sistema inmune no son afectados por el envejecimiento, al menos en una cuantía tal que produzca cambios en los indicadores que los describen. Los resultados obtenidos con el modelo experimental presentado en este artículo pudieran explicar los cambios observados en el estado nutricional y la composición corporal de ancianos, y de esta manera, auxiliar en el desarrollo de estrategias intervencionistas efectivas.

Descriptores DeCS: Envejecimiento / Ratas / Composición corporal / Grasa corporal / Músculo esquelético / Excreción urinaria de Creatinina.

[1] Médico, Especialista de Primer Grado en Fisiología Normal y Patológica. [2] Licenciado en Enfermería. Especialista de Primer Grado en Fisiología Normal y Patológica. [¥] Doctora en Ciencias Médicas. [¶] Profesor Titular.

Recibido: 3 de Marzo del 2010. Aceptado: 28 de Octubre del 2010.
Ilia Rodríguez García. Laboratorio de Fisiología del Sistema digestivo y la Nutrición. Escuela de Medicina de La Habana. Playa. La Habana.
Correo electrónico: esmir@infomed.sld.cu

INTRODUCCIÓN

El envejecimiento demográfico es quizás el reto más formidable que enfrenta actualmente la humanidad.[1] La disminución de la natalidad, unido a un declive en las tasas globales de mortalidad, ha resultado en un alargamiento de las expectativas de vida del ser humano. Estos fenómenos han hecho posible la aparición de un sector cada vez mayor en las poblaciones humanas: los "viejos-viejos", de los cuales los centenarios constituyen uno de los de más rápido crecimiento.[2]

El progresivo envejecimiento de las poblaciones ha obligado a los investigadores a desentrañar las claves fisiológicas de tan singular proceso. Las encuestas a los centenarios representan los métodos de elección, por la oportunidad singular que significa entrevistar al sujeto, y de esta manera recaudar datos sobre los hábitos de vida y alimentarios del mismo, conducir en él protocolos especificados de desempeño físico, y obtener muestras de sangre para el ensayo de indicadores hematológicos, bioquímicos e inmunológicos.[3] Sin embargo, existen métodos invasivos que estarían excluidos de ser usados en el ser humano, como sería la biopsia de músculo esquelético: necesaria en el estudio de la sarcopenia. Es por esta razón que se recurre a modelos experimentales en animales de laboratorio.[4] Si bien los resultados obtenidos en modelos animales no pueden ser extrapolados al ser humano, no obstante permiten hacer inferencias sobre los efectos que el envejecimiento ejerce sobre el estado de salud en general, y nutricional en particular, y los indicadores empleados en su descripción.

El estado nutricional, los valores de variables hematológicas y bioquímicas, y el desempeño físico de centenarios radicados en las provincias fueron expuestos previamente.[5] De manera concomitante, y como parte de las investigaciones acerca del proceso de envejecimiento que acompañan al Proyecto Centenario, el Laboratorio de Fisiología del Sistema digestivo y la Nutrición, adscrito a la Escuela de Medicina de La Habana, ha desarrollado modelos experimentales con ratas de laboratorio para la conducción de estudios experimentales sobre la función digestiva, la composición corporal, y el estado nutricional de ratas envejecidas. De esta manera, se podrán establecer paralelos entre los procesos de envejecimiento observados en ambas especies, y por consiguiente, comprender cómo transcurren los mismos íntimamente. En vista de todo lo anterior, se condujo este trabajo con un modelo experimental murino para evaluar los efectos del envejecimiento sobre el peso corporal, el contenido de proteínas del músculo esquelético, la excreción urinaria de creatinina, las proteínas secretoras hepáticas, los lípidos sanguíneos y la inmunocompetencia celular.

MATERIAL Y MÉTODO

Muestra de estudio: Se utilizaron 40 ratas albinas machos, de la variedad Wistar, suministradas por un proveedor reconocido (CENPALAB Centro de Producción de Animales de Laboratorio, Provincia Mayabeque, Cuba). Se escogieron ratas machos porque se consideró que eran más estables biológicamente, al no ocurrir en este sexo las variaciones cíclicas hormonales propias del ciclo reproductivo de las hembras, y que podrían repercutir sobre las variables de interés del estudio.

Los animales se manipularon según las recomendaciones orientadas al respecto. Brevemente, los animales se albergaron en cajas plásticas traslúcidas en número de cuatro, con lechos compuestos de bagazo esterilizado que se sustituyeron en días alternos. Las ratas dispusieron de agua fresca y alimentos *ad libitum*. La habitación

donde se albergaron los animales contó con temperatura e iluminación adecuadas, y fue atendida por un técnico especializado en el cuidado de animales de laboratorio. Los procedimientos contemplados en el diseño experimental se realizaron en los animales adecuadamente anestesiados.

Diseño experimental: Los animales se dividieron según la edad en dos grupos: *Grupo Control*: Ratas jóvenes: 20 ratas de 10 meses de edad, período vital análogo al de un adulto joven de 25 años; y *Grupo Experimental*: Ratas envejecidas: 20 ratas de 32 meses de edad, equiparables con un anciano de 80 años.

Procederes experimentales: Las ratas se mantuvieron en las condiciones prescritas previamente durante 7 días de cuarentena, antes del inicio de la actividad experimental, a fin de que se adaptaran a las nuevas condiciones. En el octavo día, los animales se colocaron en jaulas metabólicas durante las siguientes 24 horas, para la colección de la orina requerida para la determinación de la excreción urinaria de creatinina. En el noveno día se procedió a la recogida de muestras de fluidos y tejidos biológicos según las técnicas descritas para la determinación de las variables del ensayo.

Completados estos procederes, se realizó la eutanasia de los animales mediante punción cardíaca y extracción de sangre. Brevemente, se registró el peso del animal mediante una balanza de mesa de dos platos (Mettler H31AR, Alemania) previamente calibrada. Acto seguido, la rata fue anestesiada con Pentobarbital sódico a razón de 40 mg/Kg de peso administrado por vía intraperitoneal. Una vez anestesiado, el animal se inmovilizó en posición de decúbito supino, y la cavidad torácica se abrió para exponer el corazón. Mediante punción cardíaca se extrajo un volumen de sangre suficiente para la determinación de albúmina y colesterol, y la obtención del conteo total de linfocitos (CTL). También se obtuvo una muestra del músculo gastrocnemio del animal para la determinación del contenido de proteínas del mismo.

Determinación del contenido muscular de proteínas: La concentración de proteínas de un órgano refleja su estado morfofuncional, al considerarse un indicador de la masa celular funcional del mismo. Brevemente, 300 mg del músculo gastrocnemio obtenido del animal se homogenizaron en 2 mL de NaOH 0.1 N, y la mezcla resultante se centrifugó durante 10 minutos a 3000 rpm. El sobrenadante se decantó en tubos convenientemente rotulados para la determinación del contenido de proteínas según el método de Lowry.[6] El contenido final de proteínas en el sobrenadante se interpoló de una curva de calibración preparada con soluciones de albúmina bovina de concentraciones crecientes.

Determinación de la excreción urinaria de creatinina: La creatinina excretada por el animal en una muestra de orina colectada de la acumulada en la jaula metabólica se determinó mediante la reacción de Jaffé.[7]

Determinación de las variables séricas de interés nutricional: La albúmina, el colesterol, la creatinina y los conteos totales de linfocitos se determinaron en la sangre del animal obtenida por punción cardíaca. La albúmina sérica constituye la principal proteína plasmática, mientras que el colesterol sérico se tiene como un indicador del contenido de lípidos del organismo. El conteo total de linfocitos representa un indicador del estado de inmunocompetencia del animal, y se plantea que tanto la inmunidad específica como inespecífica guardan una estrecha relación con el estado nutricional del individuo. La creatinina presente en el suero del animal sirvió para establecer el estado de la funcionalidad renal, y así ajustar el valor de la creatinina

excretada la en orina de 24 horas. La albúmina sérica se determinó mediante la técnica del verde bromocresol.[8] El colesterol sérico se ensayó mediante el método de la colesterol-esterasa acoplada a la reacción de Trinder.[9] El conteo total de linfocitos se obtuvo después del registro del número de leucocitos por campo en una muestra de sangre del animal, y la participación de los linfocitos en el conteo global de leucocitos según la fórmula avanzada:[10]

$$\text{CTL, células mm}^{-3} = \text{Conteo global de Leucocitos} * \text{Linfocitos, \%} * 10 \quad (1)$$

La edad del animal, el peso, el contenido muscular de proteínas, la excreción urinaria de creatinina, el conteo total de linfocitos, y los valores séricos de albúmina, colesterol y creatinina se almacenaron en un contenedor digital creado con EXCEL©® versión 7.0 para OFFICE©® de WINDOWS©® (Microsoft, Redmond, Virginia).

Análisis estadístico-matemático de los datos: Las variables de interés se describieron mediante estadígrafos de locación (media aritmética) y dispersión (desviación estándar). La existencia de diferencias entre los grupos de estudio respecto de las diferentes variables se reveló mediante el test "t" de Student.[11] Se consideró que la diferencia observada fue significativa cuando el nivel de significación fuera menor del 5%.[11] El procesamiento estadístico-matemático de los resultados se hizo con el sistema SPSS©® versión 11.5 (SPSS, Inc., Philadelphia) para WINDOWS©® (Microsoft, Redmond, Virginia).

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra los valores de las variables de interés nutricional determinadas en este estudio, distribuidas según la edad del animal. Se comprobó un aumento de peso de la rata envejecida, asociada a una disminución del contenido de proteínas en el músculo gastrocnemio, y una reducción de la excreción urinaria de creatinina. La rata envejecida se distinguió, además, por mostrar valores superiores de colesterol sérico. Las diferencias observadas en los valores de albúmina sérica y los conteos totales de linfocitos no alcanzaron significación estadística.

DISCUSIÓN

Este trabajo estuvo orientado a conocer cómo se modifica el estado nutricional, y la composición corporal, de ratas de laboratorio, después de la obtención de variables antropométricas, hísticas y bioquímicas tales como el peso corporal, el contenido de proteínas del músculo esquelético, la excreción urinaria de creatinina, el colesterol sérico, la albúmina sérica, y el conteo total de linfocitos. Con el envejecimiento del animal se observó un aumento del peso corporal, asociado a reducción del contenido muscular de proteínas, y un aumento del colesterol sérico.

El peso corporal constituye un indicador primario del estado nutricional y la composición corporal del animal. Luego, los cambios observados en el peso corporal y los indicadores de la composición corporal pudieran interpretarse como el resultado de alteraciones del tamaño de los compartimentos magro y graso que constituyen el organismo del animal.

Los resultados observados eran de esperar, cuando se acepta que el envejecimiento produce cambios en la composición corporal del organismo. Con el envejecimiento disminuye la masa magra formada por los huesos, los músculos, y los

tejidos nobles de órganos, con la consiguiente reducción de la fuerza muscular, la capacidad para la realización de ejercicios físicos, y la actividad metabólica del organismo, al ser el compartimento magro (como es) el componente metabólicamente activo del organismo.[12-13]

nutrientes que no se consume en la producción de la energía metabólica se almacena en forma de grasa, y se deposita en diferentes sitios, tales como el panículo subcutáneo y el espesor de los órganos y tejidos de la economía.

Tabla 1. Datos biológicos, nutricionales y bioquímicos de las ratas Sprague-Dawley empleadas en el presente estudio. Se muestra la media ± desviación estándar de los indicadores utilizados para la descripción del hábito corporal y el estado nutricional del animal. La excreción urinaria de creatinina se refiere a unidades de concentración. Para más detalles: Consulte la sección "Material y Método" de este artículo.

Variable	Grupo Control	Grupo Experimental
	Ratas jóvenes	Ratas envejecidas
Edad	10 meses	32 meses
Tamaño	20	20
Peso corporal, Gramos	340.6 ± 14.2	482.5 ± 52.2 ¶
Contenido muscular de proteínas, mg/100 mg de tejido	5.6 ± 0.2	4.4 ± 0.2 ¶
Excreción urinaria de Creatinina, $mg.L^{-1}$	380.0 ± 17.4	312.0 ± 36.9 ¶
Albúmina sérica, $g.L^{-1}$	35.0 ± 1.7	32.6 ± 4.4
Colesterol sérico, $mmol.L^{-1}$	1.1 ± 0.1	3.1 ± 0.4 ¶
CTL, $células.mm^{-3}$	1942.0 ± 21.3	1763.0 ± 25.8

Los cambios en la actividad metabólica y la composición corporal del animal pudieran estar relacionados con la disminución de la actividad de la hormona del crecimiento (GH) que se produce durante el envejecimiento.[13-14] Lo anterior trae como resultado la disminución de la síntesis de proteínas, fundamentalmente a nivel muscular. La disminución de la masa magra, y con ella del tejido metabólicamente activo, hace que se reduzca considerablemente el consumo de energía metabólica.[14] Si a ello se le suma un aporte nutrimental invariante en la dieta regular, como sería la propia de un animal joven, entonces el exceso de

Se debe recordar también que, como parte del proceso del envejecimiento, se pierde el efecto lipolítico de la GH, con lo cual se desregula el tamaño del tejido adiposo, y se generan entonces señales moleculares que estimulan el aumento del mismo. La administración de GH a ratas viejas, de uno u otro sexo, provoca un aumento de la masa magra, con una reducción de la proporción de grasa corporal, al restaurarse la regulación neurohormonal de la constancia de ambos compartimientos,[14-18] lo que constituye una confirmación de los hallazgos anotados. Es por ello que se sugiere que el aumento del

peso corporal observado en los animales envejecidos se produce a expensas del componente graso, en detrimento del componente magro, que se encuentra disminuido, si se juzga del la disminución del contenido de proteínas del músculo esquelético.

Para corroborar que el aumento del peso corporal del animal se produce a expensas del compartimento graso, se procedió a la determinación del colesterol sérico, aún cuando se reconoce que éste no es un indicador fiel del estado nutricional, al ser sensibles a cambios que ocurran en el aporte exógeno: la disminución del contenido dietético del colesterol resulta en un incremento de la síntesis endógena por el hígado, y viceversa. No obstante, la constatación de valores superiores del colesterol sérico en los animales envejecidos es una confirmación (no importa que sea indirecta) de que el aumento del peso corporal de la rata se produce a expensas del compartimento graso.

La excreción urinaria de creatinina se ha aceptado como un indicador del estado nutricional del animal que permite hacer inferencias sobre el tamaño del compartimento muscular esquelético. La creatinina se origina por hidrólisis no enzimática de la fosfocreatina: forma de almacenamiento de la energía metabólica en el músculo esquelético, y se excreta libremente en la orina.[14] La observación de una menor excreción de creatinina en la orina de las ratas envejecidas complementa la disminución anotada del contenido muscular de proteínas, y puede constituir el reflejo del fenómeno de sarcopenia: la reducción del tamaño del compartimiento muscular esquelético causado por la desregulación hormonal que ocurre en el envejecimiento, con la disminución de la secreción y actividad de la GH que ocurre en la ancianidad como elemento dominante.[14-19]

Sin embargo, debe hacerse saber que los cambios observados en el compartimiento magro del animal no configuraron un cuadro de desnutrición. A modo de ejemplo, una reducción del 20% de la excreción urinaria de creatinina suele ser considerada como indicativa de desnutrición.[20] En los animales envejecidos la creatinina excretada representó el 84.7% de la observada en animales más jóvenes.

El estudio experimental se extendió a la determinación de indicadores bioquímicos del tamaño del compartimiento visceral, como la albúmina sérica y el conteo total de linfocitos. La albúmina constituye la principal proteína circulante en el plasma del organismo, y por ello, constituye un indicador de elección en la evaluación de la integridad y funcionalidad del compartimiento visceral.[21] La síntesis hepática de esta proteína demanda de un pool de aminoácidos íntegro que se renueve continuamente a partir de las proteínas ingeridas en la dieta. Por lo tanto, una reducción en la cantidad y/o calidad de las proteínas dietéticas se traduce forzosamente en una disminución de las concentraciones de la albúmina en sangre.[22] Por esta razón es que algunos autores consideran que una albúmina sérica disminuida, asociada a una historia de ingresos dietéticos subóptimos, es suficiente para establecer el diagnóstico de desnutrición.[22-23] Por su parte, la relación entre la respuesta inmune y el estado nutricional ha cobrado una importancia relevante en los últimos años, teniendo en cuenta que numerosos y disímiles nutrientes pueden influir sobre la inmunocompetencia del organismo. El conteo total de linfocitos, aunque es un indicador inespecífico de inmunocompetencia, puede informar la capacidad del sistema inmunológico para movilizar células inmunoactivas, y de esta manera, enfrentar la sepsis y la agresión.[24]

En el presente estudio no se pudo demostrar que el envejecimiento afectara los valores de la albúmina sérica y el conteo total de linfocitos. La reducción observada en los valores séricos de albúmina pudiera ser el resultado de la disminución de la tasa de síntesis hepática de proteínas, que también se afecta como resultado del envejecimiento.[25] El estado de la síntesis de proteínas como la albúmina pudiera ser dependiente también de la constancia de la estructura tisular del hígado: los valores inferiores de la albúmina sérica pudieran estar en relación con la reducción del contenido de proteínas del hígado (datos no mostrados). Por otro lado, estos 2 indicadores bioquímicos pudieran reflejar la constancia del pool de proteínas funcionales corporales y el sistema inmune, y solo se afectarían como respuesta a una agresión metabólica.[24,26-27]

Otros autores han reportado hallazgos similares a los expuestos en este trabajo. En un estudio orientado a evaluar la influencia de la edad en la recuperación nutricional después de desnutrición inducida, los animales envejecidos que sirvieron de controles difirieron de los jóvenes por un mayor peso corporal y una reducción del contenido de proteínas del músculo esquelético, mientras los valores de albúmina sérica y el conteo total de linfocitos se mantuvieron sin cambios.[28] Otros autores también han reportado que los animales envejecidos presentaban un estado nutricional preservado, manifestado por un peso corporal elevado, junto con cifras de albúmina sérica, contenido de proteínas de órganos, y balance nitrogenado similares de los observados en animales más jóvenes.[28-30]

Aunque los resultados obtenidos en este estudio experimental con animales de laboratorio no pueden ser extrapolados al ser humano, pueden servir para hacer inferencias acerca de los efectos que tiene el envejecimiento sobre el estado nutricional, la composición corporal y los indicadores utilizados la descripción de los mismos. En los animales envejecidos ocurre un incremento del peso corporal debido a un aumento del tamaño del compartimiento graso, como sugiere la elevación del colesterol sérico. Sin embargo, en el estudio de los centenarios cubanos, las variables antropométricas mostraron valores disminuidos respecto de los estándares avanzados para los adultos.[5] No existen motivos para suponer que en el proceso de envejecimiento del ser humano estén involucrados factores metabólicos y hormonales diferentes a los documentados para la rata, pero no se puede pasar por alto que en el anciano confluyen numerosos elementos que contribuyen, en menor o mayor medida, a incrementar el riesgo de desnutrición. Por solo mencionar algunos, se tienen los factores que atañen al deterioro del sistema digestivo, como la disminución de la salivación, el deterioro de la dentición, la reducción de la motilidad del tracto digestivo, y una discreta disminución de la secreción de las enzimas digestivas.[31-33] Otros eventos psicosociales como la depresión, la soledad, y la disminución de la capacidad cognitiva, pueden actuar también para limitar el acceso del anciano a alimentos nutricionalmente completos.[34] También se debe hacer notar que el peso corporal suele incrementarse en el ser humano entre las décadas sexta y séptima de vida, como resultado de cambios neurohormonales propios del climaterio, junto a una reducción notable de la actividad física.[13] Concluida la séptima década de vida del ser humano, suele ocurrir un declive significativo del peso corporal de la influencia simultánea de la sarcopenia y la emaciación, lo que explicaría el menor peso corporal observados en los sujetos que rebasan la octava década de existencia.[35]

A diferencia de lo expuesto anteriormente, los cambios en el

compartimiento magro corporal de la rata envejecida se pudieron trazar a variaciones similares en la masa muscular esquelética de los centenarios cubanos. Así, los valores reducidos de la circunferencia de segmentos corporales como el brazo y la pantorrilla pudieran explicarse por una disminución del contenido de proteínas del músculo esquelético, unido a una reducción del tamaño del mismo, como sugiere la menor excreción urinaria de creatinina observada en las ratas envejecidas. Estos cambios serían la base estructural de la disminución de la fuerza de contracción muscular, y el rendimiento físico inferior, que se observó en los centenarios cubanos.

CONCLUSIONES

El envejecimiento puede traer consigo cambios significativos en la composición corporal del animal, con distorsión de las relaciones anotadas en la madurez entre los compartimientos corporales magro y graso corporal, a expensas de una reducción de la masa muscular esquelética, y un aumento concomitante de la grasa corporal. Otros sistemas, como el pool de proteínas funcionales y el sistema inmune, permanecen constantes. Estos cambios pueden explicarse los trastornos de la actividad física que se observan en sujetos centenarios.

SUMMARY

This work describes an experimental model developed with 32 weeks old, male Wistar rats for assessing the influence of aging upon selected indicators of nutritional status and body composition. Body weight, protein content of skeletal muscle, creatinine urinary excretion, serum albumin, serum cholesterol, and total lymphocyte count were determined. A reduction of protein content of skeletal muscle was observed, along with a lowering of the creatinine urinary excretion. However, an increase in body weight was observed, perhaps at the expense of body fat, as suggested by the rise in serum cholesterol. Serum albumin and total lymphocyte count were constants, implying that plasma proteins pool and immune system are not affected by aging, at least to the extent that it causes changes in the indicators describing them. Results obtained with experimental model presented in this article might explain changes observed in nutritional status and body composition of elderlies, and thus, be of help in the development of effective intervention strategies.

Subject headings: Aging / Rats / Body composition / Skeletal muscle / Creatinine urinary excretion / Body fat.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. UN United Nations. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World population ageing 1950–2050. UN. New York: 2002.
2. Robine JM, Vaupel JW. Emergence of supercentenarians in low mortality countries. N Am Actuarial J 2002;6: 54-63.
3. Sikora E. Studies on successful aging and longevity: Polish Centenarian Program. Acta Biochimica Polonica 2000;47:487-9.
4. Martin GM, La Marco K, Strauss E, Kelner K. Research on Aging: The end of the beginning. Science 2003; 299:1399-41.
5. García Rodríguez I, Camps Calzadilla E, Gámez Fonseca M, Santana Porbén S; para el Grupo Cubano de Estudio de los Centenarios. Estado nutricional y desempeño físico de centenarios radicados en las provincias habaneras. RCAN Rev Cubana Aliment Nutr 2010; 20:287-303.
6. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randal RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 1951;193(265):67-73.

7. Hare RS. Endogenus creatinine in serum and urine. Proc Soc Exp Biol Med 1950;74(148):45-9.
8. Hernández A. Albúmina. En: La clínica y el laboratorio. Décimo octava Edición. Ediciones Médicas SA. Madrid: 1999. pp 34-36.
9. Siedel J, Hagele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. Clin Chem 1983;29:1075-80.
10. Rodríguez A. Leucograma. En: La clínica y el laboratorio. Décimo octava Edición. Ediciones Médicas SA. Madrid: 1999. pp 20-25.
11. Martínez Canalejo H, Santana Porbén S. Manual de Procedimientos Bioestadísticos. Editorial Ciencias Médicas. La Habana: 1990.
12. Vermeulen A. Aging and body composition. En: Textbook of Men's Health. The Parthenon Publishing Group. Boca Raton: 2002. pp 225-6.
13. Pietrobelli A, Heymsfield SB. Establishing body composition in the elderly. J Endocrinol Invest 2002;25: 884-892.
14. Lee RC, Wang ZM, Heymsfield SB. Skeletal muscle mass and aging: regional and whole-body measurement methods. Can J Appl Physiol 2001;26: 102-22.
15. Jorgensen JOL, Hansen TK, Conceicao FL. Somatopause and body composition. En: Textbook of Men's Health. The Parthenon Publishing Group. Boca Raton: 2002. pp 235-40.
16. Tatar M, Bartke A, Antebi A. The endocrine regulation of aging by insuline-like signals. Science 2003;299: 1346-51.
17. Pérez Romero A, Amores A, Salame F, Tresguerres JAF. Efectos de la administración de rhGH en ratas machos viejas. Endocrinología y Nutrición 1999; 46:31-9.
18. Ariznavarreta C, Cruzado M, Castellano V, Castillo C. Efecto de la GH en el envejecimiento de la rata hembra. Endocrinología y Nutrición 2001;48: 7-13.
19. Perdomo F, Cruz A, Navarro C. Body composition and GH administration in old rats. Experimental Gerontology 2003;38:971-9.
20. Santana S, Barreto J, Martinez C. Evaluación nutricional. Acta Médica del Hospital Clínico quirúrgico "Hermanos Ameijeiras" 2003;11:26-37.
21. Spiekerman AM. Proteins used in nutritional assessment. Clin Lab Med 1993;13:353-69.
22. Kudsk KA, Tolley EA, DeWitt RC, Janu PG, Blackwell AP, Yeary S, King BK. Preoperative albumin and surgical site identify surgical risk for major postoperative complications. JPEN J Parenter Enteral Nutr 2003;27:1-9.
23. Leite HP, Fisberg M, de Carvalho WB, de Camargo Carvalho AC. Serum albumin and clinical outcome in pediatric cardiac surgery. Nutrition 2005;21:553-8.
24. Grossbard LJ, Desai MH, Lemeshow S, Teres D. Lymphocytopenia in the surgical intensive care unit patient. Am Surg 1984;50:209-12.
25. Bixquert M, Gil Lita R. Cambios fisiológicos con la madurez. En: Gastroenterología Geriátrica. Segunda Edición. EdiDe. Barcelona: 2004. pp 15-47.
26. Adamski JK, Arkwright PD, Will AM, Patel L. Transient lymphopenia in acutely unwell young infants. Arch Dis Child 2002;86:200-1.
27. Berezné A, Bono W, Guillevin L, Mouthon L. Diagnosis of lymphocytopenia. Presse Med 2006; 35(5 Pt 2):895-902.

28. Walrand S, Chambon-Savanovitch C, Felgines C. Aging: a barrier to renutrition. A nutritional and inmunologic evidence in rats. Am J Clin Nutr 2000;72:816-24.
29. Heller TD, Holt PR, Richardson A. Food restriction retards age-related histological changes in rat small intestine. Gastroenterology 1990;98: 387-91.
30. Reville M, Gosse F, Doffoel M. Ileal compensation for age-dependent loss of jejunal function in rats. J Nutr 1991;121: 498-503.
31. Gilberto PA. Consideraciones generales sobre algunas de las teorías del envejecimiento. Rev Cubana Invest Biomed 2003;22:53-62.
32. Ritz P. Physiology of aging with respect to gastrointestinal, circulatory and immune system changes and their significance for energy and protein metabolism. Eur J Clin Nutr 2000;3: S21-S25.
33. Chumlea C, Baumgartner R. Status of anthropometry and body composition data in the elderly subjects. Am J Clin Nutr 1989;50:1158-66.
34. Thorslund S, Toss G, Nilsson I, von Schenck H, Symreng T, Zetterqvist H. Prevalence of protein-energy malnutrition in a large population of elderly people at home. Scand J Prim Health Care 1990;8:243-8.
35. Wallace JI, Schwartz RS, LaCroix AZ, Uhlmann R, Pearlman RA. Involuntary weight loss in older outpatients: incidence and clinical significance. J Am Geriatr Soc 1995;43:329-37.