
Valores séricos de interleucina-10, interferon-gamma y vitamina A en adolescentes femeninas.

Jorymar Y. Leal¹, Tania Romero², Pablo Ortega¹ y Daisy Amaya¹.

¹Laboratorio de Investigación en Malnutrición Infantil y Retardo Mental, Instituto de Investigaciones Biológicas y ²Postgrado de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.
Correo electrónico: jyleal@hotmail.com

Palabras clave: Citocinas, vitamina A, adolescentes.

Resumen. Diversas investigaciones han demostrado que la deficiencia de vitamina A (DVA) afecta la respuesta inmunoreguladora mediada por las citocinas; sin embargo, estos estudios son controversiales. El objetivo de este estudio fue analizar las concentraciones séricas de Interleucina-10 (IL-10) e Interferón-gamma (IFN-gamma) y vitamina A en adolescentes femeninas. Se estudiaron 73 adolescentes femeninas (15,95 ± 1,10 años de edad), no gestantes según fecha de última regla, escolarizadas, de baja condición socioeconómica. Se determinó la concentración sérica de retinol por HPLC según el método de Bieri, utilizando los patrones de referencia internacional que definen DVA < 20µg/dL, riesgo de DVA 20-30µg/dL y suficiencia de vitamina A >30µg/dL. Las concentraciones séricas de las citocinas (IL-10 e IFN-gamma) fueron determinadas con el método de ELISA en pg/mL. Los datos fueron analizados con el programa estadístico SAS/STAT, expresados como promedio ± Desviación estándar y las diferencias entre los valores promedio de las variables fueron analizadas con ANOVA. Se encontró que la prevalencia de DVA en las adolescentes fue de 6,85% (Retinol sérico < 20µg/dL) y el 41,10% se encontraban en riesgo de DVA (20-30µg/dL). Las concentraciones séricas de IFN-gamma mostraron valores significativamente más altos en las adolescentes con retinol sérico < 20µg/dL (p = 0,01), observándose una correlación negativa significativa (r = -0,29; p = 0,01) entre ambas variables. La adolescencia representa un grupo de riesgo de DVA. En este trabajo encontramos que bajos niveles séricos de retinol se correlacionaron con un incremento en los niveles de IFN-gamma, citocina que se ha asociado con la presencia de procesos inflamatorios crónicos que pueden incrementar la morbilidad y mortalidad en esta población.

Serum values of interleukin-10, gamma-interferon and vitamin A in female adolescents.

Invest Clin 2007; 48(3): 317 - 326

Key words: Cytokines, vitamin A, adolescents.

Abstract. Many studies have demonstrated that vitamin A deficiency (VAD) affects the immunomodulated response mediated by cytokines. However, these studies are controversial. The purpose of the present study was to analyze Interleukin-10, gamma-Interferon and vitamin A serum concentrations in adolescents. Seventy three female, not pregnant adolescents (15.95 ± 1.10 years old), of a low socioeconomic condition were studied. Serum retinol was determined by HPLC using the Bieri method. International reference standards were considered to define VAD (serum retinol $< 20\mu\text{g}/\text{dL}$), risk of VAD ($20\text{-}30\mu\text{g}/\text{dL}$) and vitamin A sufficiency ($>30\mu\text{g}/\text{dL}$). Serum concentrations of Interleukine-10 (IL-10) and gamma-Interferon (gamma-IFN) were detected by an ELISA method (pg/mL). The data were analyzed using the SAS/STAT statistical program; the results were presented as mean \pm Standard deviation and the differences between mean values were analyzed by the ANOVA test. The prevalence of VAD in adolescents was 6.85% (serum retinol $<20\mu\text{g}/\text{dL}$) and 41.10% adolescents had VAD risk ($20\text{-}30\mu\text{g}/\text{dL}$). Adolescents with VAD showed a significant increase of gamma-IFN serum concentration ($p = 0.01$). Correlation between serum retinol and gamma-IFN was $r = -0.29$ ($p = 0.01$). Adolescents represent a VAD risk group. Low serum levels of retinol were correlated with high levels of gamma-IFN, this cytokine has been associated with chronic inflammatory processes and it can contribute to increase the morbidity and mortality in this population.

Recibido: 25-07-2006. Aceptado: 18-01-2007.

INTRODUCCIÓN

La deficiencia clínica de vitamina A no es considerada un problema de salud pública significativo en la mayoría de los países de Latinoamérica, debido a que las lesiones oculares que ocasionan ceguera irreversible no son frecuentemente observadas (1-4). Sin embargo, existen estudios que señalan que la deficiencia subclínica de vitamina A en la población infantil puede incrementar entre un 20 y 30% la morbilidad y mortalidad por diarrea, sarampión e infecciones respiratorias severas, patologías estas que puede causar entre 1 y 2,5 millones de

muerdes anuales en niños menores de 5 años. La suplementación con dosis adecuadas de esta vitamina puede reducir la mortalidad a consecuencia de estas infecciones (4-5).

La vitamina A es un micronutriente que además de participar en la visión, el crecimiento y la diferenciación celular, es necesaria para el óptimo funcionamiento del sistema inmune (6). La deficiencia de este micronutriente se ha asociado con alteración de los mecanismos de inmunidad innata, tales como alteración de la regeneración celular de las barreras epiteliales permitiendo la entrada de los agentes infec-

ciosos y la disminución de la función de los neutrófilos, macrófagos y células asesinas naturales. Asimismo, es capaz de alterar los mecanismos de inmunidad adaptativa mediados por los linfocitos T y B afectando el estado de inmunocompetencia del individuo (6). Esto último, debido a que la vitamina A actúa como cofactor de la actividad de enzimas y mediadores del sistema inmune (7). La mayoría de las funciones de la vitamina A son mediadas por su acción sobre receptores nucleares específicos que afectan la transcripción de los genes, entre los que se incluye los genes de las citocinas, proteínas reguladoras del sistema inmunitario (8).

Existen evidencias basadas en estudios realizados en humanos y muridos que indican que las células T colaboradoras (TH) pueden dividirse de acuerdo con el patrón de citocinas secretadas en dos subtipos funcionales: los linfocitos T colaboradores tipo 1 (TH1) que secretan principalmente Interleucina-2 (IL-2) e Interferón-gamma (IFN-gamma) responsables de la inmunidad celular y el subtipo de linfocitos colaboradores tipo 2 (TH2) secretores de Interleucina-4 (IL-4) e Interleucina-10 (IL-10) que influyen en la producción de anticuerpos (9). Los grupos de linfocitos TH1 y TH2 son recíprocamente regulados por acción de las citocinas secretadas, el IFN-gamma inhibe la proliferación de los linfocitos TH2 y la IL-10 inhibe los linfocitos TH1 (9).

Los estudios realizados en animales y humanos que relacionan los trastornos de la respuesta inmunoreguladora mediada por las citocinas y la Deficiencia de Vitamina A (DVA) son controversiales. Investigaciones realizadas en muridos señalan que la DVA disminuye la activación de las células T y la producción de IFN-gamma (10, 11). Sin embargo, otros autores reportan que la DVA se asocia con un predominio de las células TH1, sobreproducción de IFN-gamma y disminución de la inmunidad humoral

(12, 13). En humanos, son pocos los reportes acerca de los efectos de la DVA en la función inmune. Estudios recientes realizados en humanos con DVA señalan que en niños con esta condición no se altera la producción de IFN-gamma, mientras que se ha observado una disminución significativa de IL-10 sérica, tanto en niños como en adultos con DVA (14-16).

A pesar que las relaciones entre el sistema inmune y el estado nutricional de la vitamina A han sido analizadas, no existen investigaciones en adolescentes que señalen el comportamiento sérico de las citocinas en presencia de la deficiencia de este micronutriente. Por lo que, el objetivo del presente estudio fue analizar las concentraciones séricas de IL-10, IFN gamma y vitamina A en adolescentes femeninas.

SUJETOS Y MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal, descriptivo en una población de 97 adolescentes femeninas entre 13 y 19 años de edad, no gestantes según Fecha de Última Regla (FUR), quienes acudían a los diversos Institutos Educativos de los Municipios Maracaibo, Mara y Páez del estado Zulia en Venezuela. El estudio cumplió con lo dispuesto en las normas internacionales de ética para la investigación en humanos, por lo que fue aprobado por el Consejo Técnico del Instituto de Investigaciones Biológicas de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia. Los padres o representantes legales de las adolescentes, una vez informados del objeto, beneficio y riesgos de la investigación, dieron su consentimiento verbal y escrito para su inclusión en el proyecto de investigación.

La muestra fue seleccionada al azar. La evaluación incluyó: la determinación de la condición socio-económica según el Método de Graffar, adaptado para Venezuela por Méndez Castellano y Méndez (17), la va-

loración nutricional antropométrica, el interrogatorio y examen clínico.

La evaluación nutricional antropométrica fue realizada considerando las variables peso (P) en Kg. y talla (T) en metros, a partir de las cuales se calculó el Índice de Masa Corporal ($IMC = P/T^2$). Las adolescentes fueron clasificadas en cuatro grupos de acuerdo al IMC: normales ($IMC = 18,5-24,9 \text{ kg/m}^2$), desnutridas ($IMC < 18,5 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso ($IMC = 25 - 29,9 \text{ kg/m}^2$) y obesas ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) (18).

El interrogatorio y la evaluación clínica fueron realizados por el equipo médico de investigadores, con el objeto de detectar signos clínicos de DVA, así como la presencia de procesos infecciosos e inflamatorio agudos o crónicos.

Además, se les tomó una muestra de sangre (5 mL), por punción venosa antecubital, en ayunas, entre las 8:00-9:00 am, la cual fue dispuesta en un tubo sin anticoagulante y sometido a centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos, con el objeto de obtener el suero, el cual se repartió en alícuotas en tubos plásticos (Eppendorf). Estas alícuotas fueron almacenadas a -70°C para posteriormente determinar los valores séricos de retinol y citocinas (IL-10 e IFN-gamma). Las muestras hemolizadas fueron descartadas.

Para evaluar el estado de la vitamina A, fueron determinados los valores séricos de retinol por Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) según el método de Bieri y col. (19), estandarizado en el Laboratorio de Investigación en Malnutrición Infantil del Instituto de Investigaciones Biológicas de la Universidad del Zulia, utilizando un cromatógrafo líquido marca LKB modelo 2152, con columna de fase reversa (3,9 mm \times 150 mm), Nova-pak C18, 60Å y 4 μm y un detector de rango UV. Los resultados fueron expresados en $\mu\text{g/dL}$. Se utilizaron los patrones de referencia internacional para considerar deficiencia de vitamina A cuan-

do las concentraciones séricas de retinol son $<20 \mu\text{g/dL}$; valores entre 20-30 $\mu\text{g/dL}$ indican riesgo de deficiencia y $>30 \mu\text{g/dL}$ como indicativos de suficiencia de vitamina A (20, 21).

Para la determinación de citocinas, las alícuotas de suero conservadas a -70°C , fueron transportadas y analizadas en el Laboratorio Regional de Referencia Viroológica de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, donde se aplicó el método de Inmunoanálisis Enzimático (ELISA) de doble anticuerpo Modelo humano (*BioSource Europe SA*), basado en la detección de la citocina contenida en las muestras de suero con un anticuerpo monoclonal, previamente adherido a la superficie de los microporos de una placa de plástico (poliestireno), por medio de una reacción colorimétrica medida en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450nm.

Los valores obtenidos de retinol sérico ($\mu\text{g/dL}$), IL-10 e IFN-gamma (pg/mL), fueron expresados como Media \pm Desviación Estándar ($\bar{X} \pm DE$). El procesamiento de los datos se realizó con el programa de Sistema de Análisis Estadístico (SAS) (SAS Institute, Cary, NC). Para comparar las medias de los grupos de las adolescentes se utilizó el Análisis de la Varianza (ANOVA). En caso de significancia estadística, la prueba fue seguida del Test de Tukey, para determinar diferencia entre los grupos. Para establecer el grado de asociación entre las variables, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson. Se consideró el 95% de confiabilidad estadística con una $p < 0,05$.

RESULTADOS

Se evaluaron 73 adolescentes femeninas ($15,95 \pm 1,10$ años de edad), no gestantes según Fecha de Última Regla, sin síntomas ni signos clínicos aparentes de deficiencia de vitamina A y otros procesos infecciosos e inflamatorios agudos o crónicos.

No se observó correlación significativa entre los días transcurridos entre la fecha de última regla y el momento de la evaluación clínica con respecto a las concentraciones séricas del retinol y las citocinas analizadas. El 84,93% de las adolescentes procedían de los estratos socioeconómicos de pobreza crítica y extrema según el método Graffar modificado.

La Tabla I presenta las características generales de la muestra estudiada. El 83,56% de las adolescentes se encontraban eutróficas; 6,85% desnutridas; 6,85% con sobrepeso y solo 2,74% obesas. El 47,95%

de las adolescentes mostraron niveles séricos de retinol por debajo de aquellos considerados adecuados ($<30 \mu\text{g/dL}$), de las cuales el 41,10% mostraron riesgo de deficiencia de vitamina A y solo el 6,85% deficiencia de vitamina A subclínica. No se observaron diferencias estadísticamente significativas de los valores séricos de retinol y las citocinas en las adolescentes estudiadas según grupo étnico, estrato social e índice de masa corporal.

La Tabla II muestra las concentraciones séricas de las citocinas según los valores séricos de retinol de la muestra analiza-

TABLA I
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS ADOLESCENTES FEMENINAS ESTUDIADAS

Variables	Adolescentes femeninas (n = 73)		
	n	%	X ± DE
Edad (Años)			
<15	9	12,33	14,37 ± 0,42
15-<17	52	71,23	15,81 ± 0,56
17-<20	12	16,44	17,77 ± 0,77
IMC (kg/m ²)			
< 18,5	5	6,85	17,38 ± 0,66
18,5-24,9	61	83,56	21,28 ± 1,65
25-29,9	5	6,85	27,90 ± 0,76
> 30	2	2,74	31,60 ± 2,26
Retinol sérico ($\mu\text{g/dL}$)			
>30	38	52,05	39,85 ± 9,30
20-30	30	41,10	25,05 ± 2,87
<20	5	6,85	15,54 ± 2,92
Citocinas (pg/dL)			
IL-10			5,95 ± 1,51
IFN-gamma			0,37 ± 0,37

TABLA II
CONCENTRACIONES SÉRICAS DE IL-10 E IFN-GAMMA EN ADOLESCENTES FEMENINAS SEGÚN LOS VALORES DE RETINOL SÉRICO

Citocinas (pg/mL)	Retinol sérico (n = 73)		
	>30 $\mu\text{g/dL}$ (n = 38) X ± DE	20-30 $\mu\text{g/dL}$ (n = 30) X ± DE	<20 $\mu\text{g/dL}$ (n = 5) X ± DE
IL-10	6,19 ± 1,28	5,63 ± 1,65	6,10 ± 2,24
IFN-gamma	0,28 ± 0,27	0,44 ± 0,38	0,59 ± 0,72*

n = muestra. \bar{X} = Promedio. DE = Desviación estándar. * p = 0,01. r = -0,29. p = 0,01.

da. Se nota que las adolescentes con DVA mostraron un incremento significativo en las concentraciones séricas de IFN- γ al comparar con las adolescentes sin DVA. Con respecto a las concentraciones séricas de la IL-10, no se observaron variaciones entre los grupos. El análisis de la correlación de Pearson mostró una relación negativa significativa entre los valores séricos de retinol e IFN- γ ($r = -0,29$; $p = 0,01$).

La Fig. 1 muestra las concentraciones séricas de retinol *versus* IFN- γ en las adolescentes femeninas estudiadas. Nótese la presencia de una débil asociación lineal inversa entre los valores de retinol sérico y el IFN- γ .

DISCUSIÓN

En el presente estudio, observamos que el 6,85% de las adolescentes mostraron deficiencia subclínica de vitamina A (retinol sérico $< 20\mu\text{g/dL}$). Esta cifra fue mayor que la reportada en Venezuela por Páez y col. (22) quienes observaron en niños menores de 15 años de una comunidad marginal de Valencia un déficit de 0,7% y que la observada por Hevia (23) en una población de adolescentes entre 14 y 16 años en la ciudad de Caracas con un déficit del 5%; y superior a la señalada en una población similar de Colombia (3,6%) (24) y Argentina (3,5%) (25). Sin embargo, la prevalencia de DVA de nuestra muestra fue inferior a la citada recientemente por Monge-Rojas y col. (10%) (26) y por Woodruff y col. (15%) (27).

La prevalencia en adolescentes de valores de retinol sérico marginales, considerados como en riesgo de deficiencia de vitamina A ($20\text{-}30\mu\text{g/dL}$) fue de 41,10%; este resultado se encuentra por encima del reportado por Páez y col. (25,4%) (22) y por Bianculli y col. (37%) (25). La identificación de este grupo en riesgo de deficiencia, es de gran importancia ya que debido a las

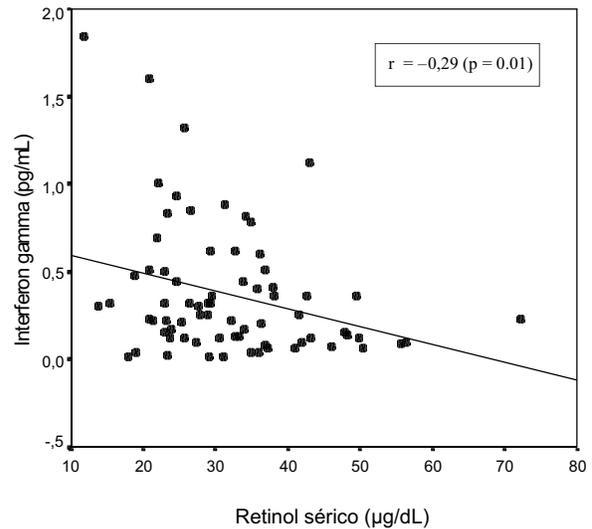


Fig. 1. Concentración sérica de retinol vs. interferón γ en adolescentes femeninas. Se utilizaron los patrones de referencia internacional para considerar deficiencia de vitamina A cuando las concentraciones séricas de retinol son $< 20\mu\text{g/dL}$; valores entre $20\text{-}30\mu\text{g/dL}$ indican riesgo de deficiencia y $> 30\mu\text{g/dL}$ como indicativos de suficiencia de vitamina A.

limitaciones de sus reservas, es un grupo que en caso de un aumento en la demanda de la vitamina A, o de una disminución del consumo, pueden presentar deficiencia de este micronutriente y las repercusiones sobre el óptimo funcionamiento del organismo.

Además, nuestros resultados revelan que el grupo de adolescentes femeninas con deficiencia subclínica de vitamina A mostraron un incremento significativo de los valores séricos de IFN- γ ($p = 0,01$). Asimismo, se observó una correlación negativa significativa entre los valores séricos de retinol e IFN- γ ($r = -0,29$; $p = 0,01$). Sin embargo, es importante señalar que existen otras condiciones clínicas como procesos infecciosos e inflamatorios que pueden estar presentes y afectar los niveles séricos del retinol y el IFN- γ , los cuales deben ser evaluados a través de la deter-

minación de reactantes de fase aguda como la Proteína C reactiva (28). De igual manera, las deficiencias de macronutrientes y otros micronutrientes, que no fueron evaluadas en las adolescentes estudiadas, pueden también afectar la respuesta del sistema inmune (29).

Los resultados observados en la presente investigación, coinciden con los estudios realizados en muridos con DVA, los cuales han demostrado que en ausencia de vitamina A, la transcripción de los genes del IFN-gamma no pueden ser inhibidos, lo que determina la expresión constitutiva de estos genes y una alta producción de esta citocina (13, 30-33). Pero difieren de los reportados por Filteau y col. (14) y de los señalados en un estudio previo realizado por nuestro grupo de investigación en niños con DVA (15), en los cuales no se observaron variaciones en las concentraciones séricas del IFN-gamma; así como, del estudio *in vitro* realizados por Wieringa y col. (34), en cultivo de linfocitos de niños con DVA estimulados con fitohemaglutinina (PHA), en el cual demostraron una reducida producción de IFN-gamma.

El IFN-gamma, una citocina pro-inflamatoria secretada por los linfocitos TCD4+ del fenotipo TH1 y las células asesinas naturales (NK), capaz de activar a los macrófagos, los cuales a su vez producen IL-12 e IL-18 que actúan sinérgicamente sobre las células TH1 y NK incrementando aún más la producción de IFN-gamma es responsable de la inmunidad mediada por células contra virus y bacterias intracelulares (9). Sin embargo, aunque aún no está claros los mecanismos etiopatogénicos, se conoce que la sobreactivación de las células TH1 y la sobreproducción de IFN-gamma se han asociado con el desarrollo de procesos inflamatorios crónicos y enfermedades autoinmunes tales como la artritis reumatoide, Diabetes Mellitus tipo 1 y esclerosis múltiple. Además, el IFN-gamma puede inhibir el de-

sarrollo de los linfocitos TH2 y la secreción de IL-4, IL-5 e IL-6 necesarias para la producción de anticuerpos responsable de los mecanismos de defensa contra microorganismos extracelulares y parásitos (35).

Con respecto a las concentraciones séricas de IL-10, en nuestro estudio no se observaron diferencias significativas entre las adolescentes analizadas. Este resultado es contrario al observado en un estudio previo realizado por nosotros en niños con DVA (15), y a los resultados presentados por Aukrust y col. (16) en adultos inmunosuprimidos con DVA, quienes mostraron una disminución significativa de los niveles séricos de IL-10. Probablemente, esto se deba a variaciones de las concentraciones séricas de las citocinas relacionadas con el sexo y la edad, las cuales aún no han sido completamente estudiadas.

En conclusión, en situaciones donde el adolescente se ubica en los estratos socioeconómicos menos privilegiados de la población (IV y V), donde existe una baja prioridad en la distribución de alimentos y una alta ocurrencia de embarazos a temprana edad, el crecimiento puede ocurrir pero a costo de la reducción de las reservas de ciertos micronutrientes, entre ellos la vitamina A. Una mayor demanda de este micronutriente en esta etapa del desarrollo y en este grupo de adolescentes vulnerables, con una alta prevalencia de valores en riesgo de DVA (41,10%), los cuales a pesar de no ser deficitarios tampoco son óptimos y podrían conducir a una deficiencia de vitamina A.

Asimismo, la deficiencia de este micronutriente puede afectar diversos componentes del sistema inmunitario, tal como observamos en la presente investigación, la DVA puede provocar un incremento en la producción de IFN-gamma, citocina relacionada con el desarrollo de procesos inflamatorios crónicos y enfermedades autoinmunes (36). Además, existen estudios *in vitro* que han demostrado que los retinoides son ca-

paces de inhibir la proliferación de los linfocitos TH1 y suprimir la producción de IFN-gamma por lo que tienen actividad anti-inflamatoria, pudiendo actuar limitando la inmunidad mediada por células, lo cual puede contribuir en la mejoría de las enfermedades asociadas con el predominio del fenotipo de citocinas secretado por los linfocitos TH1 y favorecer la respuesta inmunitaria mediada por anticuerpo (37). Sin embargo, debido a las limitaciones en el diseño de nuestro estudio, el tamaño de la muestra y la imposibilidad para evaluar en la presente investigación las proteínas de fase aguda y la deficiencia de otros micronutrientes intervinientes que pudiesen afectar la homeostasis del sistema inmune; es necesario en futuras investigaciones: 1) Realizar estudios de casos-control para demostrar la posibilidad de causa y efecto entre el retinol y el IFN gamma, puesto que en el presente estudio transversal solo se describe la presencia de una baja asociación entre estas variables; 2) Incrementar el tamaño de la muestra; 3) Evaluar las proteínas de fase aguda y 4) Detectar la deficiencia de otros micronutrientes como lo son el hierro y el zinc, los cuales pueden junto con la vitamina A tener importantes efectos en el sistema inmunitario y en el estado de inmunocompetencia del individuo. Asimismo, son necesarias otras investigaciones *in vivo* e *in vitro* que evalúen el comportamiento de estas citocinas no solo en los casos de DVA, sino en los casos de suplementación con dosis adecuada de este micronutriente, que permitan además comprobar la reversibilidad de los efectos perjudiciales ocasionados por la DVA sobre la respuesta inmune en grupos de alto riesgo.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia.

Nuestro especial reconocimiento al Dr. Jesús Estévez, al MgSc Ricardo Atencio miembros del Instituto de Investigaciones Clínicas y del Laboratorio Regional de Referencia Viroológica de la Facultad de Medicina de La Universidad del Zulia, por su valiosa colaboración y a la Lic. María I. Rodríguez, Coordinadora del Laboratorio Clínico del Hospital de Especialidades Pediátricas de Maracaibo por su contribución.

REFERENCIAS

1. **Underwood BA, Arthur P.** The contribution of vitamin A to public health. *FASEB J* 1996; 10: 1040-1048.
2. **Mora JO, Gueri M, Mora OL.** Vitamin A deficiency in Latin America and Caribbean: An overview. *Pan Am J Public Health* 1998; 4:178-185.
3. **Semba RD.** Vitamin A as "anti-infective" therapy, 1920-1940. *J Nutr* 1999; 129: 783-791.
4. **Sommer A, Davidson FR.** Assessment and control of vitamin A deficiency: The Anney Accords. *J Nutr* 2002; 132: 2845S-2851S.
5. **Sommer A, Katz J, Tarwotjo Y.** Increased risk of respiratory disease and diarrhea in children with preexisting mild vitamin A deficiency. *Am J Clin Nutr* 1989; 119:932-939.
6. **Stephensen CB.** Vitamin A, infection and immune function. *Annu Rev Nutr* 2001; 21: 167-192.
7. **Sánchez VM.** Vitamina A, Inmunocompetencia e Infección. *Rev Cubana Aliment Nutr* 2001; 15:121-129.
8. **Harada H, Miki R, Masushige, Kato S.** Gene expression of retinoic acid receptors, retinoid-X receptors, and cellular retinol-binding protein I in bone and its regulation by vitamin A. *Endocrinology* 1995; 136:5329-5335.
9. **Oppenheim JJ, Ruscetti FW.** Citocinas. En: Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. *Inmunología básica y clínica*. México. Ed. El Manual Moderno; 2002, p 167-187.

10. **Bowman TA, Goonewardene M, Pasatiempo AM, Ross AC, Taylor CE.** Vitamin A deficiency decreases natural killer cell activity and Interferon production in rats. *J. Nutr* 1990; 120:1264-1273.
11. **Ross AC, Stephensen CB.** Vitamin A and retinoids in antiviral responses. *FASEB J* 1996; 10: 979-985.
12. **Wiederman U, Hanson L, Kahu H, Dalgren UI.** Aberrant T-cell function *in vitro* and impaired T-cell dependent antibody response *in vivo* in vitamin A deficient rats. *Immunology* 1993; 80:581-586.
13. **Cantorna MT, Nashold FE, Hayes CE.** In vitamin A deficiency multiple mechanisms establish a regulatory T helper cell imbalance with excess Th1 and insufficient Th2 function. *J Immunol* 1994; 152:1515-1522.
14. **Filteau SM, Raynes JG, Simmank K, Wagstaff LA.** Vitamin A status does not influence neopterin production during illness or health in South African children. *Br J Nutr* 1998; 80:75-79.
15. **Leal JY, Castejón HV, Romero T, Ortega P, Gómez G, Amaya D, Estévez J.** Valores séricos de citocinas en niños con desórdenes por deficiencia de vitamina A. *Invest Clin* 2004; 45:243-256.
16. **Aukrust P, Müller F, Ueland T, Svardal AM, Berge RK, Frøland SS.** Decreased vitamin A levels in common variable immunodeficiency: vitamin A supplementation *in vivo* enhances immunoglobulin production and down regulates inflammatory response. *Eur J Clin Invest* 2000; 30:252-259.
17. **Méndez-Castellano H, de Méndez MC.** Estratificación social y biología humana. *Arch Venez Puericult y Ped* 1986; 49: 93-104.
18. **NIH/NHLBI (National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute).** Clinical Guidelines on the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1998.
19. **Bieri JG, Tolliver TJ, Catignani GL.** Simultaneous determination of α -tocopherol and retinol in plasma or red cells by high pressure liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* 1979; 32:2143-2149.
20. **Arroyave G, Baltazar J, Kusin J, Lepkowski J, Milton R, & Srikantia S.** Methodologies for monitoring and evaluating vitamin A deficiency intervention programs. IVACG, Washington, DC; 1989.
21. **WHO/United Nation Children's Fund.** Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmers. WHO, Geneva, Switzerland. 1994.
22. **Páez MC, Solano L, Del Real S.** Indicadores de riesgo para la deficiencia de vitamina A en menores de 15 años de una comunidad marginal de Valencia, Venezuela. *Arch Latinoam Nutr* 2002; 52:12-19.
23. **Hevia P.** Informe Vitamina A. Proyecto Harinas. Informe mimeografiado para UNICEF. Laboratorio de Nutrición Universidad Simón Bolívar 1998; 20 p.
24. **Alvarez M, Uzcátegui R, López C, Baracaldo C, Castro L, Ballesteros N.** Plasma retinol concentration according to pubertal maturation in school children and adolescents of Medellin, Colombia. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58:456-461.
25. **Bianculli C, Carmuega E, Armatta A, Machain C, Berner E, Castro J, Calvo E, Durán P, O'Donnell A, Medina V, Patto Poch C, Roviroso A, Piñero J, Uicich R.** Factores de riesgo para la salud y la situación nutricional de los adolescentes urbanos en Argentina. *Adolesc Latinoam* 1998; 1:92-104.
26. **Monge-Rojas R, Barrantes M, Holst I, Nuñez-Rivas H, Alfaro T, Rodríguez S, Cunningham L, Cambroner P, Salazar L, Herrmann F.** Biochemical indicators of nutritional status and dietary intake in Costa Rican Cabecar Indian adolescents. *Food Nutr Bull* 2005; 26:3-16.
27. **Woodruff B, Blanck H, Stutsker L, Cookson S, Larson M, Duffield A, Bhatia R.** Anaemia, iron status and vitamin A deficiency among adolescent refugees in Kenya and Nepal. *Public Health Nutr* 2006; 9: 26-34.
28. **Filteau SM.** Vitamin A and the acute-phase response. *Nutrition* 1999; 15: 326-328.

29. **Bhaskaram P.** Immunobiology of mild micronutrient deficiencies. *Brit J Nutr* 2001; 85: 75S-80S.
30. **Carman JA, Smith SM, Hayes CE.** Characterization of a helper T lymphocyte defect in vitamin A-deficient mice. *J Immunol* 1989; 142:388-393.
31. **Carman JA, Hayes CE.** Abnormal regulation of IFN- γ secretion in vitamin A deficiency. *J Immunol* 1991; 147:1247-1252.
32. **Carman JA, Pond L, Nashold F, Wassom DL, Hayes CE.** Immunity to *Trichinella spiralis* infection in vitamin A-deficient mice. *J Exp Med* 1992; 175:111-120.
33. **Cantorna MT, Nashold FE, Hayes CE.** Vitamin A deficiency results in priming environment conducive for Th1 cell development. *Eur J Immunol* 1995; 25:1673-1679.
34. **Wieringa FT, Dijkhuizen MA, West CE, van der Ven-Jongekrijg J, Muhilal, van der Meer JWM.** Reduced production of immunoregulatory cytokines in vitamin A-and zinc-deficient Indonesian infants. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58:1948-1504.
35. **Kidd P.** Th1/Th2 Balance: The hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Alternative Med Rev* 2003; 8:223-246
36. **Frankenburg S, Wang X, Milner Y.** Vitamin A inhibits cytokines produced by type 1 lymphocytes *in vitro*. *Cellular Immunol* 1998; 185:75-81.
37. **Cipitelli M, Ye J, Viggiano V, Sica A, Ghosh P, Gulino A, Santoni A, Young HA.** Retinoic acid-induced transcriptional modulation of the human Interferon- γ promoter. *J Biol Chem* 1996; 271:26783-26793.