

# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

Expresión de ciclina D1 y de receptores tipo Toll 2 y 4 en células progenitoras hematopoyéticas según el estado nutricional de un grupo poblacional de niños de 6 a 12 años en condiciones de pobreza extrema

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias de la Salud

Presenta

**Astrid Nallely Ramírez Romero**

Hermosillo, Sonora

Agosto de 2019

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



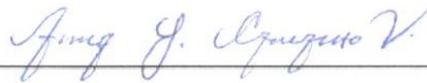
**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del Jurado designado para revisar la Tesis Profesional de **Astrid Nallely Ramírez Romero**, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de Maestro en Ciencias de la Salud.



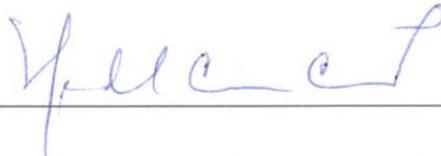
---

Dra. Alma Yolanda Camacho Villa  
Director de Tesis



---

Dr. José Manuel Galván Moroyoqui  
Co Director de Tesis



---

Dra. María del Carmen Candia Plata  
Vocal



---

Dra. Jesús Adriana Soto Guzmán  
Suplente

Agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la ayuda económica brindada para la realización de la maestría en Ciencias de la Salud (Registro cvu:748787).

Este trabajo se realizó en la Universidad de Sonora, en la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, en el programa de Químico Biólogo Clínico, bajo la tutoría de la Dra. Alma Yolanda Camacho Villa. Durante el desarrollo de esta investigación se contó con el apoyo económico de la Escuela de Medicina de la Universidad Durango Santander y del Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Sonora.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por las bendiciones recibidas.

A la Universidad de Sonora, por brindarme la oportunidad de adquirir mis conocimientos y realizarme como profesionista.

A la Universidad Durango Santander Campus Hermosillo, por todo el apoyo recibido durante este proyecto.

A mi directora de tesis, Dra. Alma Yolanda Camacho Villa por su guía, su tiempo, sus consejos, su dedicación y por compartirme su conocimiento en la realización de este trabajo.

A mi Co-director de tesis y sinodales, Dr. José Manuel Galván Moroyoqui, Dra. Adriana Soto Guzmán, Dra. Maria del Carmen Candia Plata y M. en E. Erika Hernández Espinoza, por su apoyo durante la realización de este proyecto.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., a la M. en C. María Isabel Grijalva Haro, a sus estudiantes de posgrado y al programa EnCausa.

Al Dr. Juan Manuel Martínez Soto por su apoyo y guía constante.

A mis padres Manuel Ramírez Celaya y Migdelina Romero Córdova; a mis hermanos Edgar Manuel Ramírez Romero y Jesús Hiram Ramírez Romero, a quienes les agradezco toda la dedicación, apoyo y cariño brindado a lo largo de mi vida; Les agradezco la fe incondicional en mí, este triunfo es de ustedes. Mis ideales y esfuerzos son inspirados en ustedes.

A mi familia, que siempre está presente en cada paso de mi vida, compartiendo dicha y éxito conmigo.

A mis amigos y novio, que siempre están ahí para impulsarme y motivarme en los momentos de debilidad, son la familia que escogí, un agradecimiento especial para ustedes.

## **DEDICATORIA**

Porque a través de los años he aprendido que el mejor conocimiento se adquiere de la experiencia, que el amor se encuentra en todas las personas y que la felicidad radica en uno mismo, quiero dedicar este trabajo a quienes con su ejemplo me enseñaron día con día, a ustedes, mis padres.

## CONTENIDO

	Página
LISTA DE TABLAS .....	xi
LISTA DE FIGURAS .....	xii
OBJETIVOS.....	xiv
Objetivo General.....	xiv
Objetivos Específicos .....	xiv
RESUMEN.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	3
Malnutrición .....	3
Clasificación de Malnutrición.....	4
Datos Epidemiológicos de Desnutrición .....	5
Factores de Riesgo Asociados a Malnutrición .....	6
Pobreza y Seguridad Alimentaria .....	7
Evaluación del Estado Nutricional .....	10
Análisis Antropométrico.....	10
Análisis Bioquímicos .....	11
Hematopoyesis .....	12
Microambiente Hematopoyético.....	14
Malnutrición en la Hematopoyesis .....	16
Efecto de la Malnutrición en el Ciclo Celular de las Células Progenitoras Hematopoyéticas .....	17
Señalización de los Receptores tipo Toll en la Homeostasis Hematopoyética .....	20
Características de los TLRs .....	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
Selección de Sujetos .....	28
Programa Encausa .....	28
Problemática que Atiende.....	29
Objetivo General del Programa.....	29

Objetivos Específicos.....	29
Etapas de Selección de las Familias en Extrema Pobreza por parte del Programa Encausa .....	30
1era. Etapa .....	30
2da. Etapa .....	30
3era. Etapa.....	32
Aspectos Éticos .....	32
Clasificación de los Sujetos por Estado Nutricional .....	34
Recolección de Muestras.....	34
Criterios Generales para la toma de Muestra .....	37
Preparación del área y Material para la toma de Muestras	
Clínicas .....	37
Instrucciones y Preparación del Paciente .....	37
Obtención de las Muestras .....	37
Manejo de la Muestra para la Determinación de la CPHs y Pruebas Bioquímicas .....	39
Aislamiento de Células Mononucleares de Sangre Periférica .....	39
Permeabilización Celular .....	40
Expresión de Ciclina D1, TLR2 y TLR4 en Células Progenitoras Hematopoyéticas de Sangre Periférica Humana CD133+, CD34+ Y CD38- por Citometría de Flujo .....	37
Análisis Estadísticos .....	43
Criterios de Inclusión .....	43
Criterios de Exclusión .....	43
RESULTADOS.....	45
Características Generales.....	45
Descripción Antropométrica .....	45
Descripción Bioquímica .....	48
Determinación y Comparación de Expresión de Ciclina D1 y Células Progenitoras Hematopoyéticas .....	48
Determinación y Comparación de la Expresión de TLRs 2 y 4 Entre Grupos de Estudio.....	51

DISCUSIÓN .....	57
CONCLUSIÓN .....	64
REFERENCIAS .....	65
ANEXOS .....	73
Anexo I. Consentimiento Informado para Padres e Hijos que Participen en un Estudio de Investigación en Salud .....	73
Anexo II. Patrones de Crecimiento Infantil de la OMS. Tablas de Patrones Internacionales de Crecimiento Infantil OMS .....	80
Anexo III. Indicaciones para la toma de Muestra de Orina .....	85

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
I. Descripción de los promedios de índice de masa corporal (IMC) y puntaje Z para los diferentes grupos según el estado nutricional. ....	35
II. Descripción de los promedios de IMC, peso y talla de los sujetos en estudio clasificados por género y grupo nutricional. ....	47
III. Descripción de los valores de media, desviación estándar y error estándar de las pruebas bioquímicas realizadas y su comparación entre grupos de estudio .....	50
IV. Descripción de los valores de media, desviación estándar (DS) y error estándar de la expresión de ciclina D1 en las poblaciones celulares seleccionadas y su comparación entre grupos de estudio.....	53
V. Descripción de los valores de media, desviación estándar y error estándar de la expresión de los TLRs 2 y 4 en las poblaciones celulares seleccionadas y su comparación entre grupos de estudio.....	56

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Principales componentes de un microambiente hematopoyético y los mecanismos de regulación de la hematopoyesis.....	18
2. Trastornos hematológicos asociados a la malnutrición proteica .....	17
3. Estructura general de los receptores tipo Toll.....	22
4. La estimulación de los TLRs modula la hematopoyesis humana.....	25
5. Hematopoyesis de Emergencia en respuesta a la activación por TLRs ...	27
6. Medición multidimensional para la identificación de familias en extrema pobreza.....	31
7. Imagen representativa de la selección de población celular por inmunofluorocitometría de CD133+CD38-, CD34+CD38-, CD133+CD1+ y CD34+CD1+ a partir de la región de población linfoide y de 100,000 eventos .....	41
8. Imagen representativa de la selección de población celular por inmunofluorocitometría CD133TLR2+, CD34+TLR2+, CD133+TLR4+ y CD34+TLR4+ a partir de la población linfoide y 100,000 eventos .....	42
9. Gráfico representativo, en el que se muestran los promedios de edad y su desviación estándar por género de los participantes. (n=18).....	46
10. Gráfico que muestra los promedios de edad que presentó la población de estudio según su clasificación nutricional. RDN (n=3), NL (n=9), SP (n=5)..	49
11. Gráfico representativo de la expresión de ciclina D1 en células progenitoras hematopoyéticas CD133+ y CD34+ según los grupos de estudio (riesgo de desnutrición, normal y sobrepeso). Método estadístico ANOVA para la comparación de medias y desviación estándar entre grupos .....	52
12. Gráfico representativo de la expresión de receptores tipo Toll 2 y 4 en células progenitoras hematopoyéticas CD133+CD38- y CD34+CD38- según los grupos de estudio (riesgo de desnutrición, normal y sobrepeso). Método	

estadístico ANOVA para la comparación de medias y desviación estándar entre grupos.....	55
---	----

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Determinar la asociación de la ciclina D1 y de los receptores tipo Toll 2 y 4 en células progenitoras hematopoyéticas en relación con el estado nutricional de un grupo poblacional de niños de 6 a 12 años de edad que viven en condiciones de pobreza extrema.

### **Objetivos Específicos**

Caracterizar a la población mediante historia clínica nutricional, estudio antropométrico básico y análisis bioquímicos generales, para estratificarla en grupos de acuerdo con el estado nutricional que presenten.

Determinar la expresión de los marcadores CD34+, CD133+ y CD38+ mediante citometría de flujo para identificar a las células progenitoras hematopoyéticas en muestras de sangre periférica pertenecientes a los niños en estudio.

Determinar la expresión de ciclina D1, y receptores tipo Toll 2 y 4 mediante citometría de flujo en células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica pertenecientes a los niños en estudio para posterior mente comparar de acuerdo a su estado nutricional.

## RESUMEN

Considerando que el microambiente en medula ósea puede verse comprometido por desnutrición, investigaciones en modelos *in vivo* han demostrado que la desnutrición afecta las interacciones celulares modificando la expresión de ciclina D1 causando una afectación en el proceso de iniciación del ciclo celular y alterando la funcionalidad del sistema inmune. Algunos reportes indican que la participación de los receptores tipo Toll en etapas muy tempranas de la hematopoyesis, están implicados en el proceso de diferenciación celular, respondiendo a estímulos como la hematopoyesis de emergencia. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la asociación de la ciclina D1 y de los receptores tipo Toll 2 y 4 en células progenitoras hematopoyéticas en relación con el estado nutricional de un grupo poblacional de niños de 6 a 12 años que viven en condiciones de pobreza extrema. Es un estudio de tipo transversal de cohorte, en el que se clasificaron los grupos de estudio según los Patrones Internacionales de Crecimiento Infantil de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2006, utilizando como herramienta el programa AnthroPlus versión 3.2.2. En el que se determinó que del total de los participantes (n=18), el 6% (n=1) se clasificó dentro del grupo de obesidad; el 17% (n=3) en riesgo de desnutrición; el 28% (n=5) en sobrepeso y el 50% (n=9) en normal o eutrófico. Los resultados obtenidos por citometría de flujo y analizados por ANOVA y regresión lineal indican que la media de expresión de ciclina D1 y TLRs 2 y 4 en las poblaciones celulares CD34+CD38- y CD133+CD38-, no presentan una diferencia estadísticamente significativa ( $p>0.05$ ) al compararlos entre grupos de estudio. Como conclusión se determinó que el estado nutricional que presentan los niños que viven en extrema pobreza, tal como riesgo de desnutrición, normal o eutrófico y sobrepeso no se observa un cambio significativo en la expresión de ciclina D1 y TLRs 2 y 4 en las células progenitoras hematopoyéticas que expresan el marcador CD133+, CD34+ y CD38+.

## INTRODUCCIÓN

La malnutrición es uno de los problemas nutricionales más graves a nivel mundial, la cual es una alteración nutricional tanto por defecto/déficit que conlleva a la desnutrición; como por exceso o hipernutrición que trae consigo la obesidad. Es el resultado de un desequilibrio entre las necesidades corporales y la ingesta de nutrientes que son esenciales para el crecimiento, desarrollo físico y cognitivo (Food and Agriculture Organization, 2015).

El resultado de la insuficiente disponibilidad de alimentos, de servicios de salud, de educación, así como de la infraestructura sanitaria deficiente (causas subyacentes) (Black y col., 2008), corrobora la importancia de los determinantes sociales y económicos, dentro de los cuales se considera que la pobreza extrema es una de las principales causas de malnutrición (Rivera y col., 2003). En el Poblado Miguel Alemán perteneciente al municipio de Hermosillo, capital de Sonora, se encuentra habitado en gran parte por migrantes rurales provenientes de diversas zonas de la geografía nacional y estatal. Según el informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social 2015 del CONEVAL (Consejo Nacional de la Evaluación de la Política de Desarrollo Social, 2015); dicha zona urbana es la que se encuentra dentro del municipio con mayor rezago social e índice de marginación, destacando la falta de servicios médicos, alimentación y desempleo.

En la actualidad, el mundo se enfrenta a una doble carga de malnutrición que incluye la desnutrición y la alimentación excesiva. Clínicamente, una mala nutrición puede reducir la respuesta inmune, incrementar la vulnerabilidad a las enfermedades, alterar el desarrollo físico y mental, cambios histológicos y funcionales en varios tejidos, incluida la médula ósea (MO) (Schaible y col., 2007; Norman y col., 2008; Xavier y col., 2007); lugar donde se lleva a cabo el proceso hematopoyético, en el que las células progenitoras hematopoyéticas (CPHs) son las responsables de mantener la auto-renovación y diferenciación multi-potentente hacia linajes celulares maduros, los cuales presentan una vida relativamente corta en

circulación. La producción de estas células depende de un microambiente hematopoyético (MH) altamente especializado en MO, que regula el estado quiescente, la diferenciación y autorrenovación de las CPHs (Asri y col., 2016).

Estudios en modelos de ratón, demostraron que la baja disponibilidad de nutrientes conlleva a una alteración en el microambiente hematopoyético afectando el proceso de proliferación y diferenciación de los linajes de mielopoyesis y linfopoyesis, seguidas por una pancitopenia periférica como consecuencia de una dieta hipocalórica e hipoprotéica (Borelli, y col., 2009). Esto desencadena la presencia de anemia y leucopenia, demostrando que el tejido hematopoyético se ve comprometido en respuesta a la desnutrición y alterando la funcionalidad del sistema inmune. Sin embargo, los mecanismos moleculares que participan en este proceso no se han dilucidado completamente (Nakajima y col., 2014). Por otro lado, se ha reportado que los receptores tipo TOLL (TLRs) participan en la regulación temprana de la hematopoyesis de los vertebrados. Nagai, y col., reportaron que TLRs 2 y 4 se expresan desde los estadios más primitivos de la diferenciación hematopoyética murina, los cuales, al ser estimulados con sus ligandos Pam3CSK4 y LPS, respectivamente, inducen a las células progenitoras mieloides a entrar a ciclo celular y promueven su diferenciación a granulocitos y macrófagos, obviando los requerimientos de factores de crecimiento y diferenciación.

Por lo anterior, resulta trascendente evaluar si la malnutrición modifica la expresión de ciclina D1 y los TLRs 2 y 4 en células progenitoras hematopoyéticas CD133+, CD34+ y CD38+ pertenecientes a un grupo de niños de 6 a 12 años que viven en condiciones de pobreza extrema.

## **ANTECEDENTES**

### **Malnutrición**

Una nutrición adecuada es de suma importancia en el desarrollo de los niños, principalmente en los primeros años de vida, ya que es durante esta etapa que el desarrollo vital acontece en todos los dominios. Durante la infancia ocurren cambios acelerados orgánicos y contextuales que llevarán al niño a tener mayor capacidad de adaptación y de responder de manera eficiente en sistemas cada vez más complejos, por lo que se debe prestar atención a los diversos factores que puedan vulnerar estas capacidades (Cortés y col., 2018). Algunos de los principales factores de riesgo que pueden afectar el desarrollo óptimo de los niños son la malnutrición, las enfermedades y los ambientes poco estimulantes (Grantham-McGregor y col., 2007; Moura y col., 2010).

El Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF por sus siglas en inglés) definió a la malnutrición como “el resultado del consumo inadecuado de nutrientes o por factores de enfermedad que afectan la digestión, absorción, transporte y utilización de nutrientes” (UNICEF, 1990); El término malnutrición abarca dos grupos amplios de afecciones. Uno es la desnutrición, que comprende el retraso del crecimiento (estatura inferior a la que corresponde a la edad), la emaciación (peso inferior al que corresponde a la estatura), la insuficiencia ponderal (peso inferior al que corresponde a la edad) y las carencias o insuficiencias de micronutrientes (falta de vitaminas y minerales importantes). El otro es el del sobrepeso, la obesidad y las enfermedades no transmisibles relacionadas con el régimen alimentario (cardiopatías, accidentes cerebrovasculares, diabetes y cánceres) (Organización Mundial de la Salud, 2016).

## **Clasificación de Malnutrición**

Una buena nutrición (una dieta suficiente y equilibrada combinada con el ejercicio físico regular) es un elemento fundamental de la buena salud. Una mala nutrición puede reducir la inmunidad, aumentar la vulnerabilidad a las enfermedades, alterar el desarrollo físico y mental, y reducir la productividad. En la actualidad, el mundo se enfrenta a una doble carga de malnutrición que incluye la desnutrición y la alimentación excesiva (Organización Mundial de la Salud, 2019).

La malnutrición por déficit puede constar de dos componentes, ya sea la desnutrición proteico-energética o las deficiencias de micronutrientes. La malnutrición proteica es uno de los problemas nutricionales más graves en todo el mundo, afecta a 794 millones de personas y tiene un costo anual de hasta 3.5 billones de dólares en la economía mundial (Santos y col., 2017).

La malnutrición proteico-energética se puede clasificar en marasmo y Kwashiorkor, las cuales, junto con las deficiencias de hierro, yodo, vitamina A y zinc son las principales manifestaciones de la desnutrición en los países en desarrollo (Müller y Krawinkel, 2005). En los niños, la malnutrición proteico-energética se define mediante medidas que caen por debajo de 2 desviaciones estándar por debajo del peso normal para la edad (bajo peso), la altura para la edad (retraso del crecimiento) y el peso para la altura (emaciación) (Chacón y col., 2015). Emaciación indica pérdida de peso reciente, mientras que el retraso en el crecimiento generalmente se debe a la pérdida crónica de peso. (Müller y Krawinkel, 2005).

Los diferentes grados de deficiencia de proteínas conducen a un amplio espectro de signos y síntomas de malnutrición proteica, especialmente en órganos en los que el sistema hematopoyético se caracteriza por una alta tasa de recambio de proteínas y, en consecuencia, una alta proliferación celular (Santos y col., 2017).

## **Datos Epidemiológicos de Desnutrición**

En México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) reportó en el 2012 que 178 millones de niños menores de cinco años en el mundo sufren de desnutrición crónica (baja talla para la edad). Además, estiman que 302,279 (2.8%) menores de cinco años de edad presentan bajo peso (BP) y 1,467,757 (13.6%) baja talla (BT), lo cual es responsable de 35% (3.5 millones) de muertes en este grupo de edad, por lo cual la malnutrición continúa siendo un problema sanitario importante a nivel mundial.

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que 2 millones de niños menores de 5 años presentan emaciación, 17 millones emaciación grave y 155 millones retraso del crecimiento, mientras que 41 millones presentan sobrepeso u obesidad (Organización Mundial de la Salud, 2017).

En México, a partir de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición Medio Camino 2016 se estimó que la prevalencia de sobrepeso fue de 17,9% y de obesidad de 15,3% en niños/as entre 5 a 11 años; para la población de 12 a 19 años se reporta un 35%. Sin embargo, la desnutrición tanto aguda como crónica sigue siendo un problema de salud pública en el país, donde se observó que durante el periodo de 1990 a 2009 han ocurrido cerca de 35 mil muertes de niños menores de cinco años a causa de la desnutrición (Rivera y col., 2013; Ayala y col., 2015; Perdomo y col., 2019); Además la OMS reportó en el 2017 que las tasas mundiales de obesidad de la población infantil y adolescente aumentaron desde menos de un 1% (correspondiente a 5 millones de niñas y 6 millones de niños) en 1975 hasta casi un 6% en las niñas (50 millones) y cerca de un 8% en los niños (74 millones) en 2016. Estas cifras muestran que, conjuntamente, el número de individuos obesos de cinco a 19 años de edad se multiplicó por 10 a nivel mundial, pasando de los 11 millones de 1975 a los 124 millones de 2016.

### **Factores de Riesgo Asociados a Malnutrición.**

La alta prevalencia de enfermedades bacterianas y parasitarias en los países en desarrollo contribuye en gran medida a la malnutrición. La cual aumenta la susceptibilidad y la gravedad de las infecciones y, por lo tanto, es un componente importante de la enfermedad y la muerte por enfermedad, ya que, si bien los protocolos de tratamiento para la desnutrición severa se han vuelto más eficientes en los últimos años, la mayoría de los pacientes (especialmente en las áreas rurales) tienen poco o ningún acceso a los servicios de salud formales, lo que potencia la vulnerabilidad de estas poblaciones a padecer padecimientos nutricionales severos. (Müller y Krawinkel, 2005).

Existen importantes brechas en el estado nutricional de los niños provenientes de zonas urbanas con respecto a los de zonas rurales. En México la prevalencia de malnutrición crónica en la población rural representa el doble que en la de zona urbana (Rivera y col., 2013; Perdomo y col., 2019).

Como ya se ha descrito, la malnutrición, las enfermedades y los ambientes poco estimulantes son algunos de los principales factores de riesgo que pueden afectar el desarrollo óptimo de los niños (Grantham-McGregor y col., 2007; Moura y col., 2010). Generalmente dichos factores no se encuentran aislados unos de otros, sino que su acción sinérgica fortalece los efectos adversos sobre las potencialidades físicas y psicológicas del niño.

Muchas de estas dificultades se presentan en contextos de pobreza, definida por algunos autores como un fenómeno complejo que supone la incapacidad para acceder o producir bienes y recursos materiales, comprometiendo el bienestar de las personas (Mazzoni y col., 2013).

Las carencias nutricionales son un problema ligado a la pobreza, aunque no en todas las familias pobres las padecen, ni todos los niños con problemas nutricionales provienen de hogares con escasez económica. Sin

embargo, cuando pobreza y malnutrición se presentan en conjunto, el desarrollo del niño y su calidad de vida pueden verse seriamente comprometidos. En circunstancias de pobreza y bajo las mismas condiciones de vida, un niño con problemas nutricionales se enfrenta a más riesgos para su desarrollo que un niño bien nutrido. De ahí la importancia de prevenir la desnutrición en edades tempranas, o remediarla cuando se hace patente. (Cortés y col., 2018).

En Latinoamérica, los problemas de desnutrición existentes vinculados al deterioro socioeconómico de la población son más relevantes que el sobrepeso y la obesidad. Sin embargo, estos problemas de malnutrición por exceso no solo se presentan en países desarrollados sino también en países que presentan altos índices de pobreza y déficit de crecimiento, donde la rápida urbanización generada por la continua migración de población rural influye en la problemática alimentaria dando origen al doble problema de desnutrición y obesidad en el mismo hogar, caracterizando el fenómeno denominado transición nutricional (Tazza y Bullón, 2006).

### **Pobreza y Seguridad Alimentaria**

México es un país en desarrollo, en el cuál la economía de los últimos años ha ocasionado altas y bajas en cuanto a factores importantes que afectan directamente las situaciones de pobreza y de seguridad alimentaria. En México existe una notable desigualdad en cuanto a la distribución del ingreso, lo que provoca que las personas que se encuentran en situación de menor poder adquisitivo sean las más vulnerables al deterioro en sus niveles de vida, lo que demuestra que el crecimiento de la pobreza alimentaria está relacionado inexorablemente con los bajos ingresos (López, 2015).

Alrededor de 22 millones de personas en México se encuentran en condiciones de pobreza alimentaria (CONEVAL, 2012). Para definir que es pobreza alimentaria, describiremos primeramente que es pobreza y cómo se

mide. Una persona, o una familia es pobre (pobreza absoluta) si su ingreso monetario no le permite satisfacer sus necesidades básicas alimenticias (medida por una cantidad mínima de calorías), vivienda, vestimenta y transporte. Además, si el ingreso monetario no le permite a esta persona o familia adquirir los bienes necesarios para su bienestar decimos que es indigente, o bien, que sufre de pobreza extrema (Salama, 2011).

Se trata de un problema esencialmente de carácter estructural, que supone la confluencia de factores económicos, demográficos, culturales, sociales y políticos, y que ha derivado en una situación compleja de indefensión, pobreza y creciente vulnerabilidad social. Si bien los pobres urbanos comparten carencias con los del medio rural, la ubicación geográfica es un componente clave para comprender la estructura, las causas y las tendencias de la pobreza en cada sector. (Castro y Cambreros, 2017).

Se ha documentado que la pobreza en el país rebasa el problema de la alimentación y la nutrición, y es asociado a factores económicos, demográficos, culturales, sociales y políticos, lo cual es prueba de que el modelo económico actual y sus políticas sociales han promovido una situación compleja de indefensión, precariedad y creciente vulnerabilidad social (Castillo y Arzate, 2013); Algunos estudios realizados en México con enfoques cuantitativos, identificaron que los niños de hogares mexicanos con inseguridad alimentaria severa, eran aquellos que se encontraban en condiciones de pobreza, con jefatura indígena, familias grandes, jefes de hogar con bajo nivel educativo; y que debido a la baja diversidad alimentaria (menor consumo de frutas, verduras, fibra y energía), presentaban desnutrición crónica y baja talla para la edad. (Pérez y col., 2019).

La situación de pobreza puede traer como consecuencia diversos factores, como lo son la inseguridad alimentaria, ya que, se dice que existe inseguridad alimentaria cuando aun habiendo oferta, los consumidores no tienen ingresos insuficientes para adquirir los alimentos y satisfacer sus necesidades básicas (Pérez y col., 2019). La inseguridad alimentaria se

refiere ya sea por la falta de calidad o por la cantidad de alimento a su alcance en alguna hora del día, e incluso por un nulo acceso a satisfactores de ese tipo, hasta llegar a padecer hambre. (Castro y Cambreros, 2017). La FAO ha señalado reiteradamente que la seguridad alimentaria es principalmente un problema de acceso, que afecta en mayor medida a las personas en condición de pobreza y, particularmente de extrema pobreza. El asunto tiene que ver básicamente con el hecho de que los ingresos de una parte de la población resultan insuficientes para adquirir alimentos y asegurar de este modo una dieta adecuada (Gómez, 2013).

Existe seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos, a fin de llevar una vida activa y sana. (FAO, 2006). En contraste, la inseguridad alimentaria se define como las variaciones ocasionales, recurrentes o permanentes en el volumen de la oferta o demanda de alimentos, siendo estos insuficientes para atender las necesidades de la población (déficit de la producción de alimentos o de la demanda debido a la carencia de recursos económicos) (FAO, 1999).

La pobreza representa un factor social y económico importante en el desarrollo de las familias, especialmente en el desarrollo de los niños, los cuáles son dependientes directos de los ingresos de los jefes de familia. Una adecuada alimentación es un derecho de bienestar básico, y la falta de ella puede ocasionar daños irreversibles en el desarrollo y adaptación de los menores, lo cual traerá como consecuencia problemas a lo largo de su vida que no le permitirá desarrollarse normalmente. Es de suma importancia dirigir nuestros estudios a identificar y analizar este tipo de problemas sociales, así como comprender las causas, consecuencias y factores relacionados con las mismas, así como todos los factores patogénicos que participan para poder intervenir de manera óptima y oportuna.

## **Evaluación del Estado Nutricional**

La identificación de una alteración nutricional exige un estudio exhaustivo del paciente, a través de historia clínica minuciosa, determinaciones bioquímicas, estudio de la ingesta de nutrientes y estudio de la composición corporal a través de técnicas antropométricas (Mehta y col., 2013).

### **Análisis Antropométricos**

Las mediciones antropométricas son el conjunto de mediciones de las dimensiones corporales en diferentes edades y de acuerdo con el sexo; este método es altamente utilizado en la valoración de alteraciones nutricionales por su simplicidad y comodidad. Entre las mediciones antropométricas se encuentran la medición de talla, que refleja el crecimiento esquelético, principalmente la malnutrición crónica ya que la velocidad de incremento de la talla se inhibe cuatro meses después de que lo haga la velocidad de incremento de peso, y el peso, el cuál es un indicador de masa y volumen corporal. Se incluyen además en esta categoría el estudio de los pliegues y diámetros/circunferencias (Chacón y col., 2015).

Además de las mediciones antropométricas se utilizan los índices nutricionales para una óptima evaluación nutricional. Estos incluyen a los relativos a la edad, los cuales permiten la comparación con los valores ideales para cada edad y sexo, su principal desventaja es que, debido a las variaciones genéticas y ambientales, se debe disponer de datos obtenidos de la propia población; y los relativos al peso y talla, de los cuales es bien conocido que talla para edad expresa malnutrición crónica, mientras que el déficit de peso refleja malnutrición reciente y actual, la literatura describe diversos índices de peso/talla entre los que se cita: índice de Waterlow, índice de Quetelet (índice de masa corporal), entre otros (Mehta y col., 2013).

Actualmente la valoración del estado nutricional se realiza con base a los puntos de corte por desvíos estándar propuestos por la OMS,

básicamente en tres tipos de curvas: Peso/Edad, Talla/Edad e IMC/Edad. Su aplicación ofrece dos ventajas: 1. Permite el diagnóstico de sobrepeso y obesidad con base a las tendencias actuales del uso de IMC. 2. Su aplicación ha sido estrictamente ensayada en múltiples poblaciones, por lo que su distribución es universal (Chacón y col., 2015).

### **Análisis Bioquímicos**

La utilización de parámetros bioquímicos en la exploración del estado nutricional aporta información complementaria a la obtenida por otros métodos de valoración. Su interpretación resulta útil en todas las etapas de la valoración nutricional, ya que ayuda a conocer el estado de algunos compartimentos corporales, orienta sobre el nivel de ingesta, absorción o pérdida de ciertos nutrientes y permite calcular el balance nitrogenado (Moráis y Lama, 2009).

Uno de los principales parámetros bioquímicos que nos ayudan como indicadores de padecimientos nutricionales son las proteínas, las cuáles si medimos su concentración plasmática nos puede orientar acerca del estado de la proteína visceral, células sanguíneas y plasma. Su utilidad se basa en que la producción de estas proteínas, por parte del hígado fundamentalmente, se verá disminuida si el aporte dietético de aminoácidos es insuficiente (Moráis y Lama, 2009). Otros parámetros bioquímicos importante a evaluar son los leucocitos y la proteína C reactiva, ya que la malnutrición favorece el estado de inflamación y el desarrollo de infecciones, y altera en general la función inmunológica (Sandstead y col., 2008).

Adicionalmente se puede realizar la medición de citometría hemática, donde el concentrado eritrocitario, hemoglobina y hematocrito refleja la ingestión dietética reciente y el contenido de un nutrimento refleja un estado crónico del mismo.

Se cree que un estado de malnutrición trae como consecuencia una disminución de los valores de los parámetros bioquímicos, principalmente en

parámetros hematológicos, lo cual sería consecuencia de afectaciones en el desarrollo, diferenciación y maduración de las células sanguíneas.

## **Hematopoyesis**

A lo largo de nuestra vida, todos los seres humanos requerimos una renovación constante de los tipos celulares que conforman al organismo, de tal forma, se compensa la pérdida diaria de dichas células manteniendo los niveles celulares en condiciones normales, regulando así la homeostasis del organismo (Bellantuono y col., 2004; Santos y col., 2017).

Las células sanguíneas no son la excepción, ya que se forman a partir de la continua producción de unas células específicas llamadas células progenitoras que, a su vez, da lugar a células maduras. La producción de células sanguíneas está determinada por la acción concertada de factores de transcripción, interacciones celulares, factores de crecimiento y citocinas, que regulan dinámicamente la expresión y/o el silenciamiento de genes de diferenciación y proliferación celular (Mayani, 2003).

Así, nuestro organismo produce  $1 \times 10^{10}$  eritrocitos y  $4 \times 10^8$  leucocitos cada hora durante la etapa adulta (Alvarado y Mayani, 2006). Las células encargadas de esta renovación son denominadas “Células madre” o “Células progenitoras” y son caracterizadas por su alta capacidad de auto renovación. Además, tienen la característica de responder a señales y/o estímulos generados en el ambiente donde se encuentren, de esta forma, dichas señales comprometen o guían a la célula a su diferenciación hacia diferentes tipos celulares con características y funciones especializadas de cada órgano (Horwitz y col., 2003; Santos y col., 2017).

Las CPHs son aquellas que se encargan de renovar a las células de diferentes regiones del organismo como son: la MO, la sangre y el sistema linfóide, de tal forma que a partir de una CPHs se pueden originar todos los linajes sanguíneos (Mayani y col., 2007; Salmen y col., 2013).

Las CPHs presentan funciones determinadas que las hacen diferentes a cualquier otra células como son: son multipotentes, es decir, poseen la capacidad de generar a los linajes sanguíneos divididos en tres grandes grupos: La línea blanca que produce células linfoides: linfocitos B y T, y células mieloides: basófilos, eosinófilos, neutrófilos, mastocitos, monocitos y macrófagos, la línea roja que produce a los eritrocitos y finalmente, la línea trombocítica que da origen a megacariocitos y plaquetas. Además, poseen un potencial proliferativo elevado, debido a que son capaces de dividirse y dar origen a un gran número de células maduras a lo largo de la vida. Por último, presentan la capacidad de generar células madre nuevas idénticas a sus predecesoras manteniendo el adecuado funcionamiento del sistema hematopoyético (Mayani y col., 2007; Montaña y Rojo, 2011; Salmen y col., 2013; Domínguez y col., 2015).

Las CPHs como se mencionó anteriormente se encuentran MO, aunque pequeñas cantidades de CPHs migrarán periódicamente desde la MO a la circulación y regresarán por cortos períodos de tiempo en condiciones homeostáticas, tal vez como una forma de inmunovigilancia (Pietras y col., 2011; Santos y col., 2017).

El estudio de las CPHs puede verse limitado ya que las mismas representan el 0.1-0.5% del total de las células nucleadas en médula ósea. Sin embargo, podemos identificar a estas células mediante la expresión de antígenos, ya que se ha demostrado que expresan antígenos como CD34, CD90, CD117 y CD133, y que carecen de la expresión de antígenos de linajes específicos como CD38. (Wognum y col., 2003; Alvarado y Mayani, 2007). El antígeno CD34 es una glucoproteína que se expresa normalmente en la membrana de 1% a 2% de las células mononucleares de la médula ósea, este antígeno es específico para reconocer a las CPHs y disminuye su expresión conforme la célula madura y va perdiendo su capacidad de auto renovación y proliferación (Montaña y Rojo, 2011).

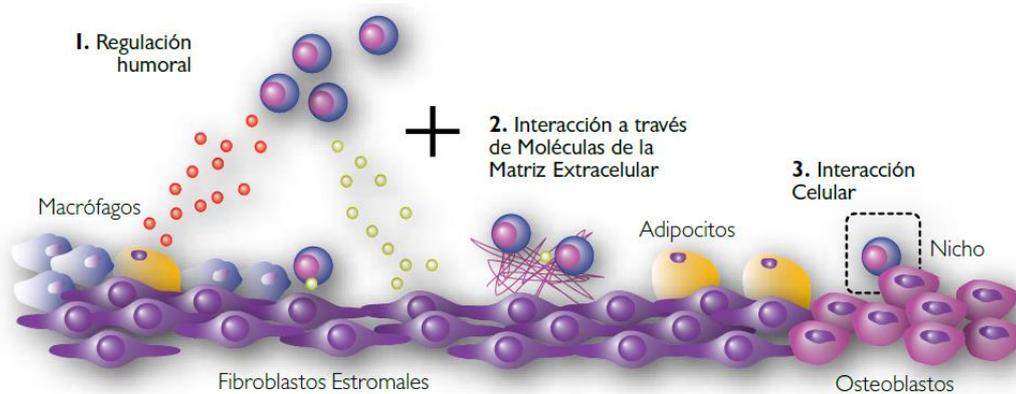
Alteraciones en la hematopoyesis pueden conducir a situaciones de sobreproducción de células hematopoyéticas (como las leucemias), o a una

producción deficiente de las mismas (como en la anemia aplásica) (Mayani y col., 2007). Como resultado de una acumulación de alteraciones en la hematopoyesis se provocará una capacidad de auto renovación insuficiente o disfuncional afectando el mantenimiento de por vida de estas células ocasionando en una hematopoyesis disfuncional (Lane y Gilliland, 2010).

### **Microambiente Hematopoyético**

La Hematopoyesis es un proceso que se lleva a cabo en órganos específicos, siendo estos cambiantes en las diferentes etapas de vida del individuo (saco vitelino, bazo, hígado, médula ósea) (Orkin y Zon, 2008). En ellos existen los llamados nichos hematopoyéticos, los cuáles consisten en una estructura tridimensional, altamente organizada, de células del estroma y sus productos (matriz extracelular, citocinas, quimiocinas, entre otras) que regula la localización y fisiología de las células hematopoyéticas (Mayani y col., 2007; Salmen y col., 2013).

Estos nichos hematopoyéticos regulan la proliferación y diferenciación de las CPHs, así como la liberación de células hematopoyéticas maduras en la sangre (Rehan y col., 2012). Además, se encargan de mantener a las CPHs en un estado inactivo o quiescente. Se cree que la quiescencia contribuye a la longevidad y función de las CPHs, quizás en parte al minimizar el estrés ocasionado por la respiración celular y la replicación del genoma (Eliasson y Jönsson, 2010). Las CPHs se encuentran inactivas dentro de los nichos hematopoyéticos, constituyendo un reservorio para abastecer el mantenimiento del homeostasis en la sangre, siendo activadas en situaciones de patologías o lesiones hematopoyéticas graves como la hematopoyesis de emergencia (Sarrazy y col., 2016).



**Figura 1.** Principales componentes de un microambiente hematopoyético y los mecanismos de regulación de la hematopoyesis. El microambiente se compone principalmente de cuatro tipos celulares: macrófagos, fibroblastos estromales, adipocitos y osteoblastos. El microambiente hematopoyético regula la proliferación, supervivencia, maduración, autorrenovación y migración de las células hematopoyéticas a través de tres mecanismos: (1) el humoral, a través de la secreción de citocinas y quimiocinas, (2) la interacción a través de matriz extracelular y (3) el contacto célula-célula a través de moléculas de adhesión y morfógenos. Dentro del microambiente hematopoyético, los osteoblastos forman el nicho hematopoyético, regulando a las células troncales hematopoyéticas. (Mayani y col., 2007).

## **Malnutrición en la Hematopoyesis**

Aunque existe bastante evidencia bibliográfica acerca de las consecuencias que la malnutrición puede provocar en la salud. Existe poca investigación que describa el cómo la malnutrición afecta la proliferación de las CPHs y su ciclo celular.

Un estudio con ratones suizos sometidos a una dieta con 4% de proteínas mostró el efecto de la malnutrición proteica en el ciclo celular de las células de la MO y de células progenitoras CD117+. Después de 10 días, los ratones desnutridos con proteínas tenían un mayor número de células en las fases G0 y G1 del ciclo celular en comparación con los ratones normales, indicando que la desnutrición proteica conduce a una reducción en las poblaciones de progenitores hematopoyéticos CD117+ y a la modulación del desarrollo celular (Borelli y col., 2009).

Otro estudio, donde también se utilizó la cepa de ratones suizos, los cuales fueron sometidos a una dieta baja en proteína, se demostró que la malnutrición proteica suprime la progresión del ciclo celular de células progenitoras hematopoyéticas. Los ratones malnutridos con baja concentración de proteínas mostraron una detención en la fase G0 / G1 del ciclo celular de las CPHs. Así mismo, mostraron una menor expresión de proteínas relevantes involucradas en la inducción del ciclo celular (ciclina E, ciclina D1, antígeno nuclear de células en crecimiento, pRb, Cdk2, Cdk4 y Cdc25a). Esto indica que la malnutrición proteica induce un mantenimiento quiescente de las CPHs, lo que puede ser de importancia crítica para prevenir el agotamiento de la reserva de células progenitoras bajo estrés hematopoyético (Nakajima y col., 2014).

La malnutrición provoca modificaciones en el tejido sanguíneo, dificultando el desarrollo y la maduración de las células hematopoyéticas. Estos cambios conducen a desarrollar anemia, leucopenia e hipoplasia de la MO. Los efectos nocivos de la malnutrición en la hematopoyesis pueden

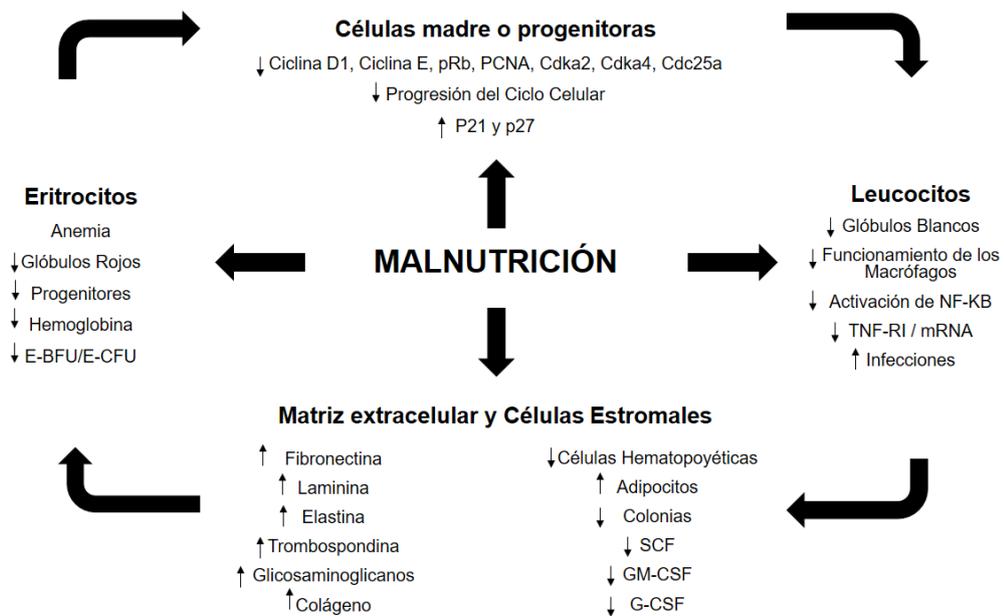
estar mediados directamente, al inhibir la proliferación de CPHs, o indirectamente, al alterar el nicho hematopoyético (Rehan y col., 2012).

De los diferentes tipos de malnutrición, la restricción de proteínas es la más notable, ya que puede modificar las respuestas fisiológicas e inducir alteraciones celulares, especialmente en tejidos con una alta tasa de recambio de proteínas y, en consecuencia, una alta tasa de renovación celular y proliferación, como el sistema hematopoyético (Santos y col., 2017).

Dado que la sangre tiene una alta tasa de renovación, el microambiente hematopoyético requiere de una gran cantidad de nutrientes, así como de una estructura altamente organizada para la proliferación y maduración de las células madre hematopoyéticas (Borelli y col., 2004). La desnutrición de proteínas puede interrumpir numerosos procesos en la hematopoyesis, causando daños al nicho hematopoyético, las células del estroma y la matriz extracelular que dan como resultado la muerte celular en la médula ósea. Tales alteraciones conducen a cambios en la producción de leucocitos y eritrocitos, reduciendo la protección inmune proporcionada por los leucocitos (Santos y col., 2017).

### **Efecto de la Malnutrición en el Ciclo Celular de las Células Progenitoras Hematopoyéticas**

La actividad del ciclo celular de las CPHs durante la vida de un organismo es dinámica, y refleja las necesidades del organismo en diferentes etapas de desarrollo (Pietras y col., 2011). El ciclo celular es un término usado para describir una serie ordenada de eventos responsables de coordinar la duplicación del material genético y citoplásmico de una generación celular a la siguiente, y de asegurar la segregación balanceada del material genético en las dos células hijas. En células eucarióticas el ciclo celular se divide en cuatro fases basados en eventos visibles o medibles, denominadas G1, S, G2 y M (Alvarado y Mayani, 2007).



**Figura 2.** Trastornos hematológicos asociados a la malnutrición proteica. El diagrama muestra la interrelación conceptual entre hematopoyesis y la malnutrición proteica, destacando las moléculas y los procesos afectados por la reducción o falta de proteínas. Abreviaturas: E-BFU, unidades formadoras de ráfagas eritroides; E-CFU, unidades formadoras de colonias eritroides; G-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos; GM-CSF, factor estimulante de colonias de macrófagos de granulocitos; ARNm, ARN mensajero; NF-KB, factor nuclear KB; PCNA, antígeno nuclear de células en proliferación; SCF, factor de células madre; TNF-RI, receptor del factor de necrosis tumoral I (Santos y col., 2017).

Trabajos recientes en células sanguíneas humanas indican que las CPHs humanas entran en el ciclo celular en promedio una vez cada 40 semanas (Catlin y col., 2011); Además, se ha postulado que el estímulo recibido en distintas fases del ciclo celular puede llegar a provocar proliferación y/o diferenciación en las CPHs (Alvarado y Mayani, 2007).

La regulación de la quiescencia de las CPHs implica fundamentalmente controlar si las CPHs entran en la fase G1 del ciclo celular o permanecen en la fase G0 (cuando las células permanecen en el estadio denominado G0 indica que han salido del ciclo celular y permanecen en un estado de quiescencia no proliferativo). El estado de quiescencia influye en la capacidad proliferativa y de expansión de las CPHs, ya que se ha demostrado que un alto porcentaje de ellas se encuentran en la fase G0/G1 del ciclo celular. Asimismo, se ha observado, que las CPHs, que se encuentran en la fase G0, tienen un mayor potencial de proliferación que aquellas que se encuentran en la fase G1. (Alvarado y Mayani, 2007).

La entrada al ciclo celular de una célula se regula por una compleja red de mecanismos reguladores para hacer cumplir el equilibrio entre la quiescencia y la proliferación de HSC y el mantenimiento adecuado del homeostasis sanguínea en el organismo adulto (Pietras y col., 2011).

Para que se puedan llevar a cabo los diferentes eventos de progresión del ciclo celular que alterna procesos de proliferación y procesos de diferenciación, es necesaria la participación de diversas moléculas que, junto con las condiciones del medio, controlan la duplicación celular, entre los cuales se encuentran las acciones de las ciclinas y las quinasas dependientes de ciclinas, que impulsan la progresión del ciclo celular para responder a la demanda hematopoyética (Alvarado y Mayani, 2007; Pietras y col., 2011). Este proceso es regulado por la actividad del complejo ciclina D-Cdk4 / 6, que controla la progresión a través de G1 en respuesta a señales mitogénicas. La familia D-ciclina incluye ciclina D1 (Ccnd1), ciclina D2 (Ccnd2) y ciclina D3 (Ccnd3), todas expresadas, aunque a diferentes niveles, en las CPHs (Passegué y col., 2005).

Las ciclinas del tipo D como se mencionó antes, son las primeras ciclinas que son inducidas, permitiendo que las células salgan de G0 y puedan incorporarse al ciclo celular, y son importantes integradores del señalamiento mitogénico. Asimismo, se ha observado que células en ausencia de la ciclina D1 pueden proliferar indicando que esta molécula no es estrictamente necesaria para G1, ya que como los tres tipos de ciclinas presentan una alta homología y son co-expresados en algunos tejidos, es posible que tengan funciones redundantes; sin embargo, la ciclina D1 facilita el paso a través de G1 y promueve la proliferación celular (Alvarado y Mayani, 2007).

Poco se sabe sobre los efectos de la malnutrición en los nichos de MO y en la producción de CPHs en los seres humanos. La influencia de la malnutrición en los cambios en la MO podría ser importante, especialmente en terapias de patologías como el trasplante de MO. Por ello, es importante evaluar las alteraciones hematológicas resultado de la desnutrición proteica en un modelo bien establecido para obtener una visión global y uniforme de las alteraciones encontradas.

### **Señalización de los Receptores tipo Toll en la Homeostasis Hematopoyética**

La malnutrición frecuentemente se asocia con una susceptibilidad mayor a infecciones y altos índices de mortalidad; provoca cambios atróficos graves en los órganos linfohematopoyéticos, que alteran profundamente la respuesta inmunitaria celular. Los datos sobre la compleja regulación de la producción de células hematopoyéticas y el microentorno hematopoyético son escasos, pero indican que la malnutrición está correlacionada con una respuesta inmune comprometida (Borelli y col., 2004).

La malnutrición a menudo se asocia con leucopenia, lo cual predispone a una persona a infecciones al establecer una relación de malnutrición-infección en la que el mal estado nutricional altera la leucopoyesis. La leucopoyesis disminuida resultante empeora el estado

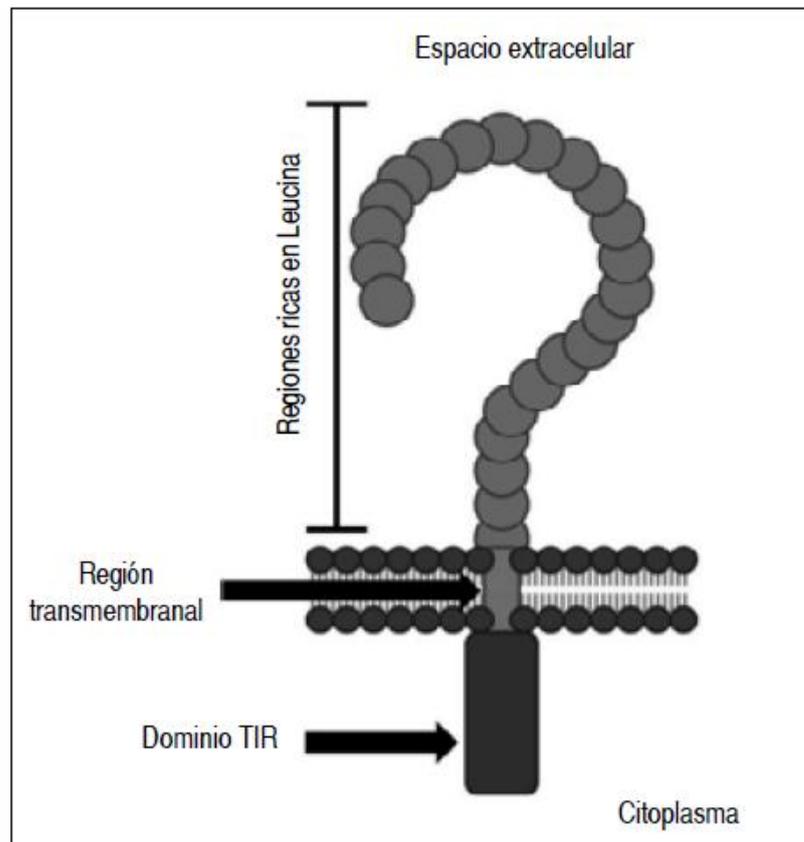
nutricional al crear un requerimiento de nutrientes más alto para apoyar la producción de células (Espinoza y col., 2016).

Constantemente los individuos nos encontramos expuestos a diferentes patógenos como virus, bacterias, hongos, entre otros, los cuales necesitan ser reconocidos por el organismo para activar una respuesta inmunitaria defensora. Este reconocimiento es llevado a cabo por receptores celulares que identifican patrones (PRRs), llamados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Los PRRs pueden encontrarse en la matriz extracelular, solubles en el citoplasma y/o en membranas celulares. Entre los membranales se incluyen los receptores tipo Toll (TLRs), los cuales inducen como resultado de su estimulación la producción de citocinas proinflamatorias y la expresión de moléculas coestimuladoras en células maduras (Vadillo, 2012).

### **Características de los TLRs**

Los TLRs son proteínas transmembranales tipo 1 que contienen entre 19 y 25 motivos ricos en repeticiones de leucinas (LRRs) en su ectodominio, una región transmembranal y una porción intra- citoplasmática con dominios TIR (Toll/receptor de IL1) que inician la señalización intracelular. Ya sea como monómeros o en forma de heterodímeros, cada TLR reconoce un patrón molecular distinto (Gilliet y col., 2008).

Uno de los receptores descritos con más frecuencia que participa en la respuesta inmune innata, es el receptor tipo Toll 4, el cual se activa en respuesta a infecciones reconociendo patrones de patógenos. El receptor tipo Toll 4 reconoce los lipopolisacáridos presentes en las bacterias Gram negativas, siendo un elemento crucial para crear una respuesta inmune efectiva.



**Figura 3.** Estructura general de los receptores tipo Toll (Vadillo y col., 2012).

Tras la estimulación, el receptor tipo Toll 4 activa una ruta de señalización dependiente de MyD88 (gen 88 de respuesta primaria mieloide), que conduce a la activación del NF- $\kappa$ B, que es seguida por la inducción de genes inflamatorios como el TNF- $\alpha$ , IL6, e IL1 $\beta$ . Las citocinas activadas por estos receptores son elementos cruciales necesarios para crear una respuesta inmune efectiva, las cuáles, según estudios son afectadas por la malnutrición (Fock y col., 2010; Fock y col., 2012). Cualquier defecto en su control puede llevar a un estado patológico.

Otro receptor tipo Toll importante es el TLR2, el cual tiene como función reconocer peptidoglicano y porinas en las bacterias Gram-negativas, lipoarabinomana en las Gram-positivas, fosfolipomana en hongos, glicosilfosfatidilinositol en parásitos y hemaglutininas virales. Estos receptores, así como los TLR4 se encuentran en las membranas celulares (Funderburg y col., 2007)

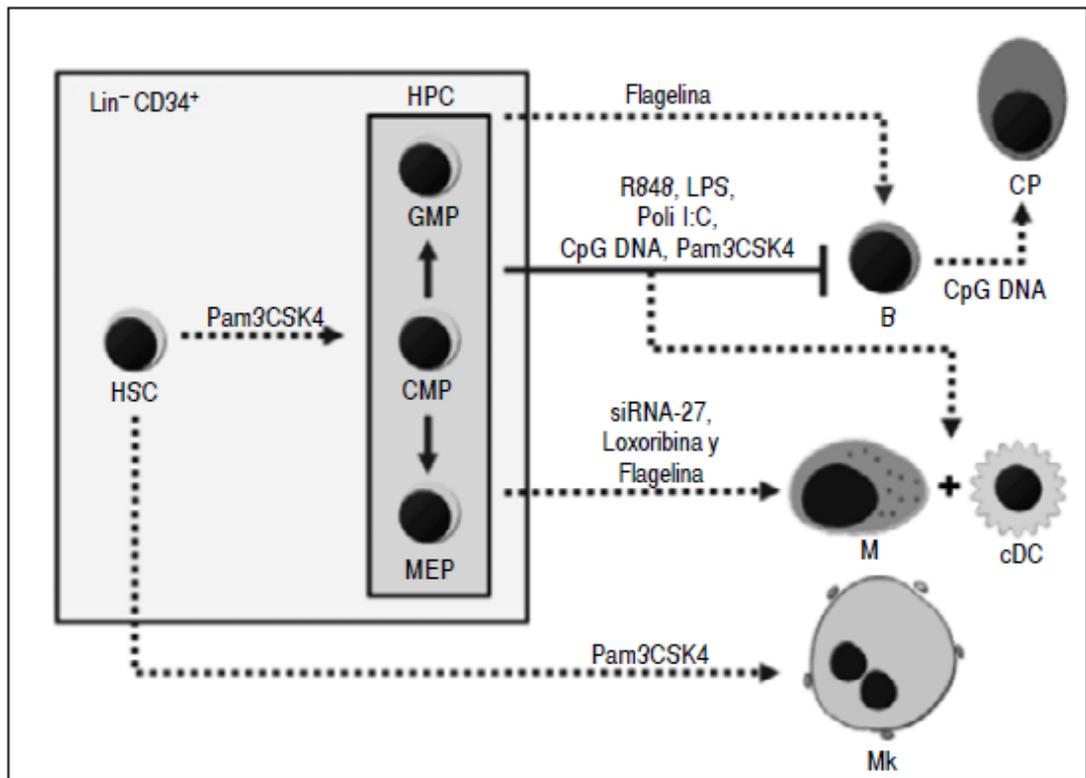
Las observaciones recientes de regulación de la hematopoyesis por TLRs sugieren su participación en las etapas más tempranas de diferenciación de las células sanguíneas y, particularmente, en la contribución al reabastecimiento inmediato del sistema inmune innato bajo condiciones emergentes, revolucionando el conocimiento sobre los mecanismos de respuesta a la infección (Vadillo y col., 2012).

Nagai y colaboradores reportaron que los TLRs 2 y 4 se expresan desde los estadios más primitivos de la diferenciación hematopoyética murina y que al ser estimulados con sus ligandos inducen a las células troncales y progenitores mieloides a entrar a ciclo celular y promueven su diferenciación a granulocitos y macrófagos. Semejante estimulación en progenitores linfoides comunes promueve la producción de células dendríticas, sugiriendo por primera vez que desde las etapas más primitivas de la hematopoyesis se pueden reconocer componentes microbianos y promover o modificar los patrones normales de diferenciación hacia el linaje celular necesario para el combate de patógenos.

Otro estudio reportó que un tratamiento crónico de ratones con lipopolisacárido (LPS) el cuál es agonista de TLR4, conduce a un ciclo de CPHs y a una promoción de la diferenciación mieloide. De manera similar, la exposición sistémica de ratones al agonista de TLR2 PAM3CSK4 conduce a una expansión de las CPHs fenotípicas de la MO y el bazo, pero a una pérdida de la auto-renovación de la HSC de la MO (Herman y col., 2016).

Recientemente, también se corroboró la relación de los TLRs 2, 4 y 9 con la diferenciación hematopoyética, ya que, en respuesta a inflamación, la liberación de citocinas pro-inflamatorias y supresoras provenientes de células del sistema inmune innato y componentes del microambiente de la MO puede alterar los patrones normales de producción celular, a menudo suprimiendo la linfopoyesis e incrementando la mielopoyesis, así como la exportación prematura de precursores linfoides y mieloides a la periferia (Baldrige y col., 2011; Esplin y col., 2011; Schmid y col., 2011). Las células B pueden ser inducidas a madurar a través de la estimulación vía TLR4 (Hayashi y col., 2005); así como también la estimulación de linfocitos B con ligandos de TLR2 puede promover la producción de factores de crecimiento mieloides (Agrawal y col., 2011). Además, varios trastornos hematopoyéticos, incluidos los trastornos linfoproliferativos y los síndromes mielodisplásicos, que presentan un alto riesgo de transformación a leucemia, se han relacionado con una señalización aberrante a través de los TLRs (Monlish y col., 2016).

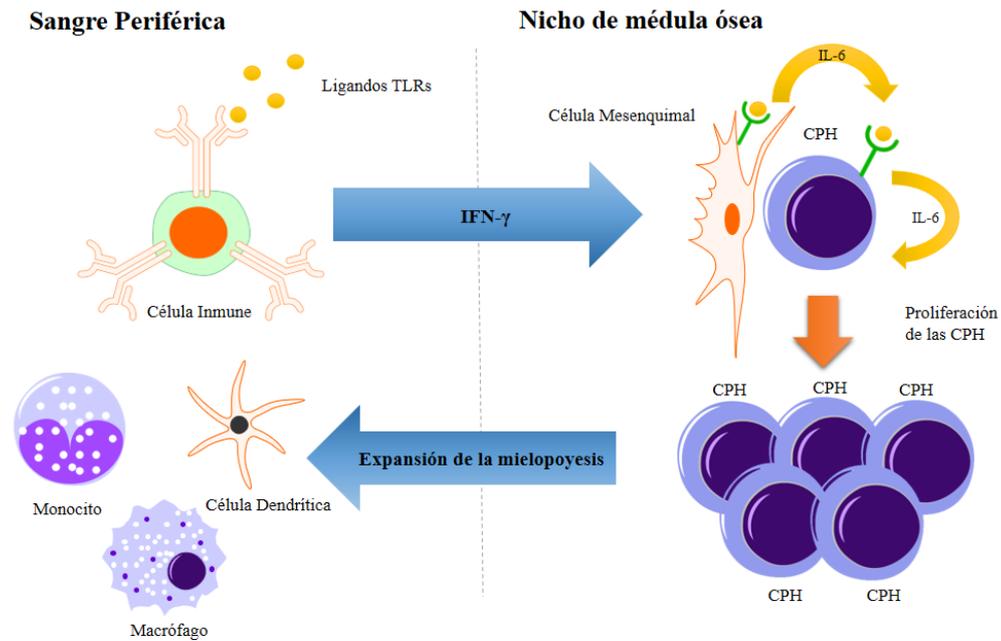
Diversos estudios han reportado la relación de algunas enfermedades hematopoyéticas con la expresión de TLRs. Monlish y colaboradores reportaron en el 2016 que la señalización de los TLR2 se asocia con padecimientos como el síndrome mielodisplásico, la leucemia linfoblástica aguda, la leucemia mieloblástica aguda, el mieloma múltiple y la leucemia linfocítica crónica. Así mismo, se reportó que la señalización a través de TLR4 se asoció con el síndrome mielodisplásico, la leucemia mieloide aguda, el mieloma múltiple, el linfoma de células del manto y el linfoma no Hodgkin folicular.



**Figura 4.** Imagen que ejemplifica como la estimulación de los TLRs modula la hematopoyesis humana. Las células progenitoras hematopoyéticas (CPHs) dan origen a progenitores mieloides comunes (CMP) y éstos producen progenitores de granulocitos y monocitos (GMP), y progenitores de megacariocitos y eritrocitos (MEP). Todas estas poblaciones celulares primitivas dentro del compartimiento Lin-CD34<sup>+</sup> son vulnerables a la señalización por TLRs y responden con cambios en las decisiones de linaje. La interacción con Pam3CSK4 bloquea la producción de células B y promueve la megacariocitopoyesis y la producción de progenitores mieloides. Por otro lado, la diferenciación hacia monocitos y células dendríticas es estimulada por R848, LPS, Poli I:C, CpG DNA, Pam3CSK4, siRNA-27, Loxoribina y flagelina. Las flechas continuas representan la vía normal de diferenciación hematopoyética, en tanto la línea truncada significa bloqueo de dicha diferenciación normal. Las flechas punteadas simbolizan la redirección de la diferenciación como resultado de la señalización de los TLRs (Vadillo y col., 2012).

Estudios recientes mostraron que la malnutrición se asocia con una disminución de la expresión del TLR 4 similar y del factor 6 asociado con el receptor de TNF (TRAF-6), así como con también con la fosforilación de NF- $\kappa$ B. La expresión reducida de los receptores celulares y la expresión reducida del NF- $\kappa$ B explicarían, en parte, la reducción en la producción de citocinas proinflamatorias que da lugar a la deficiencia inmunitaria observada en la malnutrición (Fock y col., 2007; Fock y col., 2010).

La definición de los mecanismos moleculares que utilizan estos receptores para ejercer sus funciones ha revolucionado el entendimiento de la regulación del sistema hematopoyético y reabastecimiento de células emergentes de la respuesta inmune innata, lo cual nos permite tener mayor conocimiento sobre los procesos bioquímicos que dan lugar a las alteraciones o neoplasias hematopoyéticas presentes en la malnutrición.



**Figura 5** Hematopoyesis de Emergencia en respuesta a la activación por TLRs. La producción de células mieloides se observa en respuesta a la estimulación por TLRs a nivel de células inmunes innatas periféricas, células madre mesenquimáticas (CMS) y células progenitoras hematopoyéticas (CPHs). Tras la estimulación por TLRs, el IFN- $\gamma$  producido por las células inmunitarias periféricas que migran al nicho de la médula ósea estimula la producción de IL-6 por parte de las CMS, lo que induce la proliferación de CPHs y la diferenciación sesgada mieloide (Cannova y col., 2015).

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Diseño del Estudio:** Transversal de cohorte

### Selección de Sujetos

Los sujetos que participaron en el presente estudio fueron niños en edad escolar de 6 a 12 años que viven dentro de un núcleo familiar en condiciones de pobreza extrema pertenecientes al programa EnCausa.

Con base a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, se señala a Sonora como la entidad con menos desnutrición infantil en México, con un 5.1 por ciento de prevalencia. Para calcular el tamaño muestral, nos basamos en la población total de niños de 0 a 14 años pertenecientes al municipio de Hermosillo (229910 niños), según los Indicadores Demográficos y Socioeconómicos 2015 del Consejo Estatal de Población, con un nivel de confianza del 95%, precisión de 5% y un 5% de no respuesta. Se tomó en cuenta el cálculo muestral para población finita con la fórmula:

$$n = \frac{z^2 * p * q * N}{e^2 (N-1) + z^2 * p * q}$$

donde:

N=población

n=muestra

p=probabilidad a favor

q=probabilidad en contra

z=nivel de confianza

e=error de muestra

Se calculó un tamaño muestral de 384 niños de entre 0 a 14 años.

### Programa EnCausa

Dicho programa es un modelo de trabajo para atender la pobreza extrema de Hermosillo. Consiste en la unión de esfuerzos de los hermosillenses,

focalizando las capacidades que se tienen en los diferentes programas del gobierno, en instituciones educativas, empresas, asociaciones y sociedad civil, cuyo fin es atacar la raíz de la pobreza extrema engrandeciendo las facultades humanas para permitir un desarrollo personal y familiar pleno. El cual inicio en el año 2015.

### **Problemática que Atiende**

En el municipio de Hermosillo, según datos del Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social (CONEVAL) 2015, hay 199 mil 222 personas en situación de pobreza y 23 mil 530 personas en situación de pobreza extrema, que representan el 25.4% y el 3% del total de la población del municipio que es de 784 mil 342 personas.

### **Objetivo General del Programa**

Generar oportunidades reales a familias que se encuentran en situación de pobreza extrema, a través de un modelo integral, que las lleve a transitar hacia un estado de bienestar y desarrollo humano.

### **Objetivos Específicos:**

1. Disminuir las carencias sociales de las familias que ingresan al programa, a través de la gestión de recursos y el desarrollo de capacidades y habilidades, estableciendo estrategias de promoción, prevención e intervención.
2. Potenciar las habilidades y fortalezas de la persona, capacitándolas en temas relacionados con el Desarrollo Humano y contribuyendo así a su desarrollo integral.
3. Fomentar la integración familiar a través de actividades culturales, deportivas y recreativas que contribuyan al desarrollo humano, con la plena participación de todos los integrantes de la familia.

4. Facilitar el acceso a la capacitación para el trabajo a los padres de familia del programa EnCausa, que les permita acceder a opciones de empleo y autoempleo para mejorar el ingreso familiar.

### **Etapas de Selección de las Familias en Extrema Pobreza por Parte del Programa EnCausa**

**1ra. Etapa.** Atención a la convocatoria: Las familias interesadas conocieron previamente las condiciones de ingreso al programa, contactándose con el personal de Trabajo social del Centro de Desarrollo Comunitario del Ayuntamiento de Hermosillo o en las sesiones informativas.

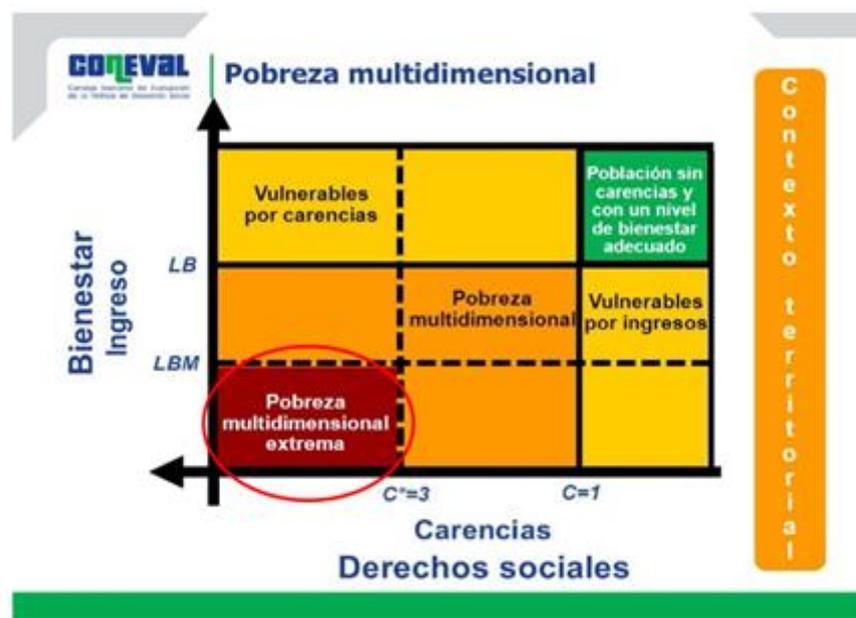
**2da. Etapa.** Identificación de la población (familias en pobreza extrema). La identificación fue el resultado del diagnóstico de su situación económica y de las carencias sociales que padecen, son con base a CONEVAL:

- Ingreso por debajo de la Línea de Bienestar Mínimo (LBM)

Más 3 carencias sociales, de los cuales pueden ser:

- Rezago educativo
- Acceso a salud
- Acceso a seguridad social
- Calidad y espacio de vivienda
- Servicios básicos de vivienda
- Acceso a alimentación

El programa Encausa consideró como población objetivo a las familias que se encontraron en regiones señaladas en el índice de marginación por localidad determinados por el Consejo Nacional de Población (CONAPO), la información estadística disponible a nivel localidades, colonias o manzanas generada por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), Secretaria de Desarrollo Social (SEDESOL) u otras instituciones.



**Figura 6.** Medición multidimensional para la identificación de familias en extrema pobreza (Coneval; 2014).

**3ra. Etapa.** Se recabó la información socioeconómica de las familias elegibles por parte de un grupo de trabajadoras sociales pertenecientes a la Dirección General de Desarrollo Social del Municipio de Hermosillo. La información socioeconómica se recabó a través de un instrumento para conocer el contexto actual de las familias, que tome en cuenta, los siguientes requisitos:

1. Tener al menos un hijo menor de edad, cursando educación básica.
2. Contar con un ingreso familiar igual o menor a 2 veces el salario mínimo.
3. Habitar en zona urbana del municipio de Hermosillo o en las localidades rurales cercanas al municipio (Poblado Miguel Alemán).
4. Comprobar que cuentan con carencia en vivienda.
5. Ser propietario de un asentamiento regularizado por el municipio.
6. Tener su vivienda construida con material reciclable (cartón, lámina, lona, madera u otro).
7. Comprobar mediante un estudio socioeconómico 3 o más carencias sociales.
8. Demostrar intención y voluntad para mejorar su situación de vida.
9. Firmar carta compromiso del programa para zonas de atención prioritarias Encausa.

### **Aspectos Éticos**

Fue obligatorio firmar el consentimiento informado (Anexo 1) por los padres o responsables legales del menor para que el sujeto fuera incluido en la investigación, el respeto a las decisiones que pueden tomar todos los niños fue rigurosamente observado, y todo menor incluido aceptó participar en el estudio. Ningún niño fue obligado a participar en contra de su voluntad.

No implicó ningún costo económico para los menores ni sus familiares, y se utilizaron las estrategias necesarias para garantizar un adecuado manejo de los datos. No hubo riesgos para la salud de los menores investigados debido a la toma de talla y peso, ni tampoco

complicaciones por la toma de muestra sanguínea, para lo cual previamente se tomaron las siguientes precauciones:

Este proyecto tuvo un beneficio identificado para ser utilizado para mejorar las condiciones de salud de esta población. No simplificó ni duplicó ninguna investigación previa realizada en la región. Tampoco se diseñó para obtener ventajas financieras ni profesionales para los investigadores participantes. Utilizó un tamaño de muestra estadísticamente apropiado y los resultados que se obtuvieron serán objeto de publicación y difusión mediante reportes técnicos, presentaciones y artículos de investigación.

Este proyecto se sometió y aprobó por el Comité de Bioética en Investigación del Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Sonora (Registrado en la Comisión Nacional de Bioética). Así como el Comité de Investigación de la Escuela de Medicina de la Universidad Durango Santander, campus Hermosillo.

La valoración y diagnóstico clínico y nutricional fueron realizados por médicos y nutriólogos pertenecientes al programa EnCausa, al cual pertenecen las familias en extrema pobreza. En los procedimientos médicos y de nutrición diagnósticos no intervendrán los investigadores que llevaron a cabo este estudio, pero sí participaron en la invitación de los pacientes, explicándoles el contenido de un formato de consentimiento voluntario, solicitando su autorización signada para tomarles una muestra sanguínea venosa y también colaboración en la donación de una muestra de orina y copro, para llevar a cabo las pruebas bioquímicas (glucosa, proteína c reactiva, albumina). Los resultados de estas pruebas fueron analizados por el grupo de investigación, con el fin de tener la evaluación clínica y nutricional integral de cada participante. Aquellos pacientes diagnosticados con parasitosis y/o infecciones de vías urinarias fueron referidos al centro de salud por parte del médico perteneciente al programa EnCausa para su atención clínica y nutricional. A su vez, el programa llevó a cabo estrategias de intervención educativa nutricional, así como actividades de desarrollo humano.

La información generada sólo es del conocimiento del grupo principal de investigadores y no se manejan datos personales, solamente los datos analíticos, para presentarse como datos grupales en congresos y en publicaciones científicas.

### **Clasificación de los Sujetos por Estado Nutricional**

Se crearon grupos de estudio conforme a las características de peso, talla, edad, pruebas bioquímicas (albumina sérica y proteína c reactiva) para clasificar a los niños según su estado nutricional con base a los criterios de los Patrones de Crecimiento Infantil de la OMS (2006) (Anexo 2).

Para ello, se realizó el cálculo del puntaje Z del índice de masa corporal (IMC), utilizando como herramienta el programa AnthroPlus versión 3.2.2. Posteriormente se utilizaron los patrones de clasificación nutricional de las curvas de crecimiento Infantil de la OMS (2006) para la conformación de los grupos. Se determinó que del total de los participantes (n=18), el 6% (n=1) se clasificó dentro del grupo de obesidad; el 17% (n=3) en riesgo de desnutrición; el 28% (n=5) en sobrepeso y por último el 50% (n=9) en normal o eutrófico.

### **Recolección de Muestras**

A cada padre de familia de niños entre 6 a 12 años de edad, que fueron captados en las primeras tres etapas del programa EnCausa, se les invitó a participar en este proyecto y se les proporcionó información por parte del responsable de la investigación, de una manera clara respondiendo todas las dudas en cuanto al objetivo del mismo, privacidad de sus datos, beneficios obtenidos y las posibles complicaciones que se puedan desencadenar por la toma de muestra sanguínea.

**Tabla I.** Descripción de los promedios de índice de masa corporal (IMC) y puntaje Z para los diferentes grupos según el estado nutricional. El puntaje Z se refiere a la distancia que hay entre una medición y la mediana (promedio) y se calcula dividiendo el valor observado menos la mediana, entre la desviación estándar (OMS, 2009).

	IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	Valor de Z
Riesgo de Desnutrición (IMC/E $\leq$ -1DE y $>$ -2DE)	14.38	-1.40
Normal o Eutrófico (IMC/E $>$ -1DE y $<$ +1DE)	16.32	-0.10
Sobrepeso (IMC/E $\geq$ +1DE y $<$ +2DE)	20.12	1.518
Obesidad (IMC/E $\geq$ +2DE y $<$ +3DE)	29.93	2.97

Se les comentó que los estudios de análisis clínicos no tendrían costo alguno para ellos y los resultados se les entregarían a los padres de familia en sobre cerrado en un periodo de 5 días hábiles, para que sean interpretados por el médico del centro de salud que les corresponde. Para ello, se le notificó a la dirección del Centro de Salud del Poblado Miguel Alemán, que los pacientes pertenecientes al programa EnCausa acudirían con los resultados de análisis clínicos para su atención médica, acción establecida dentro del programa EnCausa. Por último, una vez que fueron informados sobre el estudio se les solicitó la firma en el Consentimiento Informado si decidieron participar.

Posteriormente, el grupo de nutriólogos del programa EnCausa, estableció las fechas para las medidas antropométricas y fue este mismo el encargado de citar a los padres de familia con los niños, así como también de canalizar a los sujetos de estudio al responsable del proyecto, mismo quién se ajustó a las fechas establecidas por el grupo de nutriólogos para hacer entrega oportuna de indicaciones y recipientes estériles a los sujetos en estudio. La cita de las familias se llevó a cabo en el Centro Hábitat del Poblado Miguel Alemán, lugar en el que se llevan a cabo actividades de capacitación de diferentes oficios para el desarrollo social de las familias.

Para la toma de muestra, se estableció dentro del mismo lugar un espacio limpio y amplio para dar una atención de calidad a las familias. A todos los niños, se le solicitó muestras de orina y copro con previas indicaciones descritas en un tríptico (Anexo 3) y se les entregó recolectores estériles. La muestra sanguínea fue tomada por la Química responsable del proyecto, quién cuenta con experiencia en la toma de la misma. Una vez que se llevaron a cabo las mediciones por parte de los nutriólogos, fueron ellos quienes los canalizaron a la toma de muestra, la cual se tomó de la vena antecubital con aguja tipo mariposa, diseñadas para venoclisis infantil, en un tubo de 5 mL al vacío con EDTA, 5 mL Heparina y tubo de 5 mL sin anticoagulante, esto previa indicación de un ayuno máximo de 8 horas.

Posteriormente, se almacenó previamente rotulado con el nombre del paciente o código asignado y se guardó en una hielera con anticongelante para proteger la muestra del calor excesivo.

### **Criterios Generales para la Toma de Muestra**

#### **Preparación del Área y Material para Toma de Muestras Clínicas**

1. Se verificó que el área de toma de muestra estuviera limpia, ordenada y con buena iluminación.
2. Se dispuso de una silla con respaldo y mesa para colocar el brazo.
3. Se contó con materiales básicos como: torniquete, algodón y alcohol isopropílico 70%, soluciones desinfectantes de la piel, gasas, mariposa para venoclisis sistema vacutainer; así como, materiales para obtención de orina y copro.

#### **Instrucciones y Preparación del Paciente**

1. Se presentó ante el paciente o su acompañante de manera amable cordial y tranquila, procurando que se mantenga relajado.
2. Se indicó que en caso necesario se sienta en la silla de toma de muestra, para recibir instrucciones o bien para la obtención de muestras sanguíneas, procurando que este cómodo.
3. Se verificó la identidad del paciente. Se preguntó su nombre y se confirmó el número de identificación asignado.
4. Se verificó la condición del paciente.
5. Se ayunó cuando fue necesario, se realizaron restricciones alimenticias, de medicamentos, otros.

#### **Obtención de las Muestras**

1. Se revisó que se contara con todo el material necesario a su alcance, verificando las condiciones y la vigencia.
2. Se preparó adecuadamente, el material y equipo.

3. Se seleccionó y rotuló adecuadamente los tubos para muestra y contenedores.
4. Se seleccionó el sitio adecuado para la toma de la muestra de acuerdo con el procedimiento que realizó.
5. Se realizó el aseo de manos antes de tomar la muestra.
6. La toma de muestra se realizó siguiendo los procedimientos.
7. Se explicó al niño los pasos de la toma de la muestra (ejemplo; mantener el brazo recto, revisión de la vena, colocar el torniquete y se le explicó que sentirá ligera presión en el brazo, se limpiará la zona de la punción con alcohol y sentirá frío en esa zona y que la aguja que se utilizara es nueva-esteril y está diseñada para la toma de muestra de sangre para niños y se abrirá la aguja enfrente del padre de familia, para que no exista duda alguna sobre la calidad de la misma).
8. Se identificó previamente los riesgos de presentar complicaciones asociadas con la toma de la muestra.
9. Posterior a la toma de muestra, se explicó al padre y niño que mantenga su brazo doblado durante un periodo de 1 a 2 min, y que existe la posibilidad de que se le haga un moretón en el área donde se le tomó la muestra.
10. Se evaluó la muestra y se determinó si aplica un criterio de rechazo de esta (en caso de sucediera esto, no se le tomó nueva muestra).
11. Después de la obtención de la o las muestras se despidió cortésmente y se proporcionó la información pertinente, ejemplo: fecha de entrega de resultados.
12. Se acompañó al paciente hasta que el procedimiento fue satisfactoriamente completado y no existiera riesgo asociado al mismo, ejemplo: sangrado o desvanecimiento, para ello, se le colocó una venda con algodón en el lugar de la punción.

Las muestras se trasladaron al laboratorio de Bioquímica Clínica del Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Sonora, donde se realizaron las siguientes pruebas:

Citometría hemática  
Albúmina sérica  
Proteína C Reactiva  
Coproparasitoscópico  
Examen General de Orina  
Glucosa

### **Manejo de la Muestra para la Determinación de CPHs y Pruebas Bioquímicas**

Inmediatamente después de la recolección, las muestras con heparina como anticoagulante se procesaron, se analizaron para determinar la expresión de Ciclina D1 y de TLR2 y TLR4 en las células madre hematopoyéticas mediante citometría de flujo usando anticuerpos específicos para identificar las CPHs CD34+, CD133+ Y CD38+ en un equipo BD FACSVerser™ Becton Dickinson (BD), San José CA. El software para la adquisición de datos fue BD FACSuite™ (BD). La medición de los analizadores de química clínica se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Randox) utilizando un analizador clínico de muestras automático (RX Imola RANDOX). Los recuentos sanguíneos completos (CBC) para los glóbulos blancos se analizaron mediante el recuento automático de células (Coulter Immunotech, Marsella, Francia). Proteína C reactiva se realizó por nefelometría según inserto Minineph.

### **Aislamiento de Células Mononucleares de Sangre Periférica**

En un microtubo estéril, se agregaron 700 µL de muestra de sangre periférica previamente mezclada (por 10 minutos) a 700 µL de Histopaque®-1077 a temperatura ambiente. La muestra se centrifugó a 400 g durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se descartó el sobrenadante y se extrajo la porción rica en mononucleares. Posteriormente se agregó 1,5 mL de solución de tampón fosfato 20 mM (PBS), pH 7,4, que contiene EDTA 1 mM, cloranfenicol 0,1 mg / mL y NaN<sub>3</sub> 3 mM (Ravandi y col., 2000) y se centrifugó

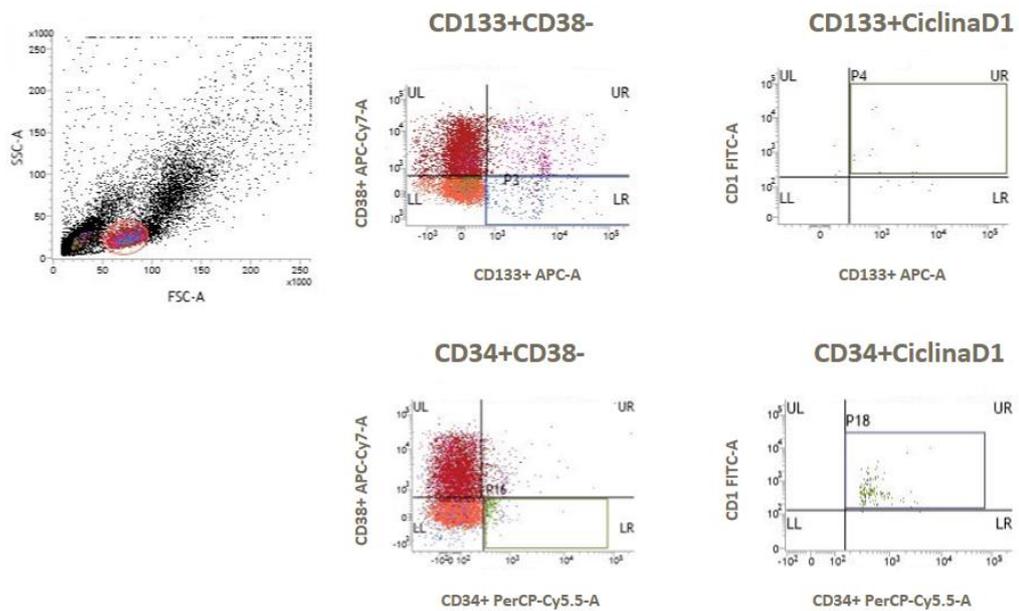
a 250 g durante 10 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante se descartó y se agregó 5 mL de medio de cultivo RPMI 1640 suplementado con un 10% de FBS.

### **Permeabilización Celular**

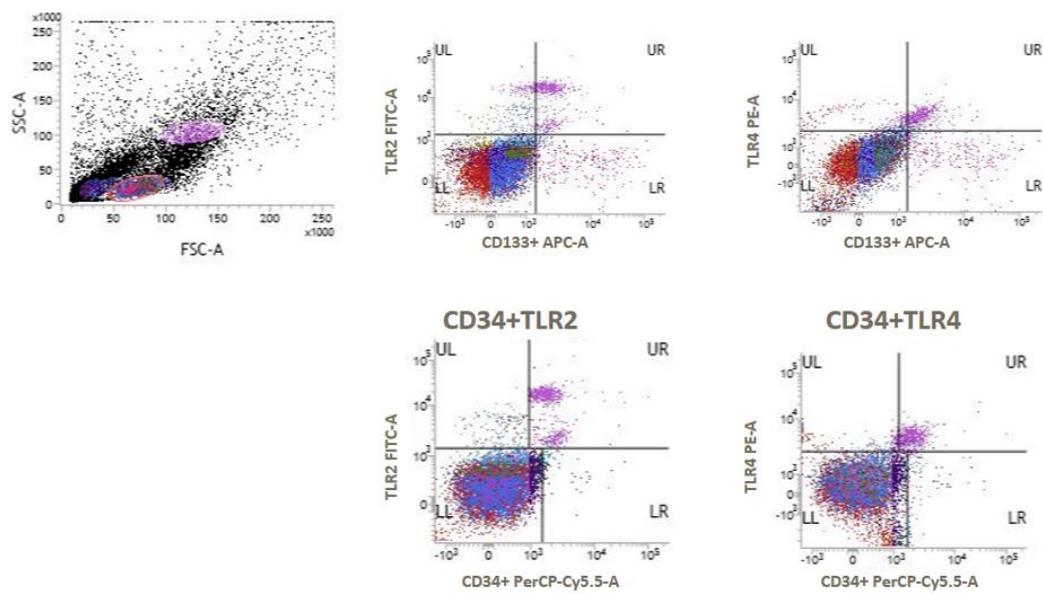
Se permeabilizó la muestra mezclado a mano lentamente durante 10 minutos, utilizando 200 µL de solución tampón de permeabilización 1X. Después, se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se agregó adicionalmente 200 µL de solución PBS. Se agregaron 5 µL de anticuerpos para ciclina D1 (FITC Mouse Anti-Human Cyclin D1, 5 µL; BD Biosciences, EE. UU.) a las muestras y se incubaron durante 40 minutos en oscuridad y bajo agitación constante a 37 °C. y 5% de CO<sub>2</sub>. Se procedió a lavar usando solución PBS y se centrifugó instantáneamente a 1300 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, se agregaron 200 µL de solución PBS y se pasó a analizar. Las mediciones de fluorescencia se realizaron por BD FACSuite, V.1.05.3841, 2013, Becton, Dickinson.

### **Expresión de Ciclina D1, TLR2 y TLR4 en Células Progenitoras Hematopoyéticas de Sangre Periférica Humana CD133 +, CD34 + y CD38- por Citometría de Flujo**

Las muestras se lavaron con 500 µL de solución PBS estéril y se centrifugaron a 1500 rpm durante 7 minutos a temperatura ambiente. Se agregaron 200 µL de solución PBS estéril. Se agregaron además 5 µL de anticuerpos para CD133 +, CD34 +, CD38 +, TLR2 y TLR4 (APC anti-humano CD133, PerCP / Cy5.5 anti-humano CD34, APC / Cy7 anti-humano CD38, anti TLR2-FITC, anti TLR4-PE, Biolegend, San Diego, CA, EE. UU.) a cada muestra respectivamente y se incubaron durante 40 minutos bajo agitación constante a 37 °C.



**Figura 7.** Imagen representativa de la selección de población celular por inmunofluorocitometría de CD133+CD38-, CD34+CD38-, CD133+CD1+ y CD34+CD1+ a partir de la región de población linfoide y de 100,000 eventos.



**Figura 8.** Imagen representativa de la selección de población celular por inmunofluorocitometría CD133TLR2+, CD34+TLR2+, CD133+TLR4+ y CD34+TLR4+ a partir de la población linfóide y 100,000 eventos.

Después, se lavaron con solución PBS y se agregó 1 mL de solución PBS estéril a cada tubo. Se centrifugó a 1500 rpm durante 7 minutos a temperatura ambiente. Finalmente se analizó la expresión mediante citometría de flujo.

### **Análisis Estadísticos**

Los datos se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar de la media de intensidad de fluorescencia en tres experimentos independientes. La comparación de los datos de expresión de las poblaciones celulares (CD34+CD38-, CD34+CD38+, CD34+CD1+, CD34+CD1-, CD133+CD38+, CD133+CD38-, CD133+CD1+, CD133+CD1-, CD133+TLR4+, CD133+TLR4-, CD133+TLR2+, CD133+TLR2-, CD34+TLR4+, CD34+TLR4-, CD34+TLR2+, CD34+TLR2-) entre grupos se realizó mediante la prueba Anova, empleando el paquete estadístico Sigma stat versión 3.0. Por otro lado, la asociación del estado nutricional con la expresión de Ciclina D1 y TLRs en las CPHs, fue mediante la prueba de regresión lineal.

### **Criterios de Inclusión**

Niños en edad escolar (de 6 a 12 años de edad) que se encuentren en condiciones de pobreza extrema.

### **Criterios de Exclusión**

1. Encontrarse en algún tratamiento contra desnutrición.
2. Presentan problemas de deshidratación.
3. Si se encuentran en algún tratamiento con esteroides o insulina.
4. Si presentan infección de algún tipo aguda.
5. Si se encuentran bajo algún suplemento alimenticio.
6. Si presentan alguno de estos padecimientos: Edema, Insuficiencia renal, Síndrome nefrótico, Fístulas, Falla cardiaca congestiva,

Cirrosis, Enteropatías o padecimientos hormonales tiroides-adrenal-pituitaria.

7. Si ha sido sometido a cirugía recientemente.
8. Si han presentado pérdida sanguínea crónica recientemente.
9. Si toman suplementos de Fe.

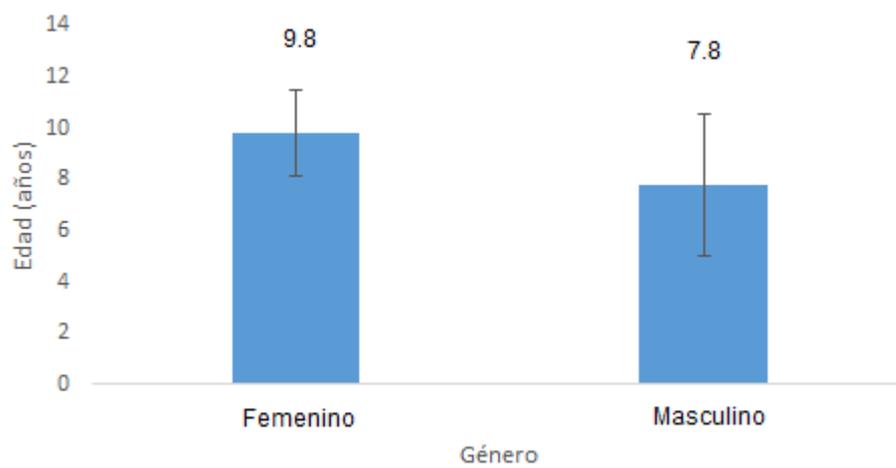
## **RESULTADOS**

### **Características Generales**

En el presente estudio participaron un total de 24 niños, de los cuales únicamente 18 cumplieron con los criterios de inclusión. El 72% (n=13) de la población participante fue de sexo femenino y el 28% (n=5) masculino. El promedio de edad de los participantes fue de 10 años para el sexo femenino con una desviación estándar (DS) de 1.7, y de 8 años para el sexo masculino con una DS de 2.8. Los datos mostrados por género se muestran en la figura 9.

### **Descripción Antropométrica**

Del total de los participantes, se determinó que el promedio de IMC en las niñas fue de 17.80 Kg/m<sup>2</sup> y 17.83 Kg/m<sup>2</sup> en niños. Para el cálculo de este, se utilizaron los valores de peso y talla, cuyos promedios en niñas fueron de 33.71 Kg. y 135.43 cm. respectivamente; en el caso de los niños fue de 30.62 Kg. y 126.38 cm, respectivamente. Posteriormente, dichos datos se tomaron de base para realizar la clasificación de los grupos de estudio según los Patrones Internacionales de Crecimiento Infantil de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2006, utilizando como herramienta el programa AnthroPlus versión 3.2.2. En el que se determinó que del total de los participantes (n=18), el 6% (n=1) se clasificó dentro del grupo de obesidad; el 17% (n=3) en riesgo de desnutrición; el 28% (n=5) en sobrepeso y por último el 50% (n=9) en normal o eutrófico. Cabe hacer mención que, al comparar el peso, talla e IMC entre los grupos de estudio mediante la prueba estadística de ANOVA, se observó una diferencia estadísticamente significativa únicamente en el IMC (p=0.007) (datos no mostrados). Por otro lado, los datos de peso, talla e IMC clasificados por género y estado nutricional se muestran en la Tabla II, no observando diferencias estadísticamente significativas.



**Figura 9.** Gráfico representativo, en el que se muestran los promedios de edad y su desviación estándar por género de los participantes. (n=18)

**Tabla II.** Descripción de los promedios de IMC, peso y talla de los sujetos en estudio clasificados por género y grupo nutricional.

Clasificación según estado nutricional	FEMENINO				MASCULINO			
	IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	Peso (Kg)	Talla (cm)	n	IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	Peso (Kg)	Talla (cm)	n
<b>Riesgo de Desnutrición</b>	14.38	25.54	132.17	3	--	--	--	--
<b>Normal o Eutrófico</b>	16.54	30.02	133.28	7	15.55	20.09	113.75	2
<b>Sobrepeso</b>	21.29	43.78	142.45	2	19.35	37.64	134.8	3

IMC: índice de masa corporal, n: tamaño muestral.

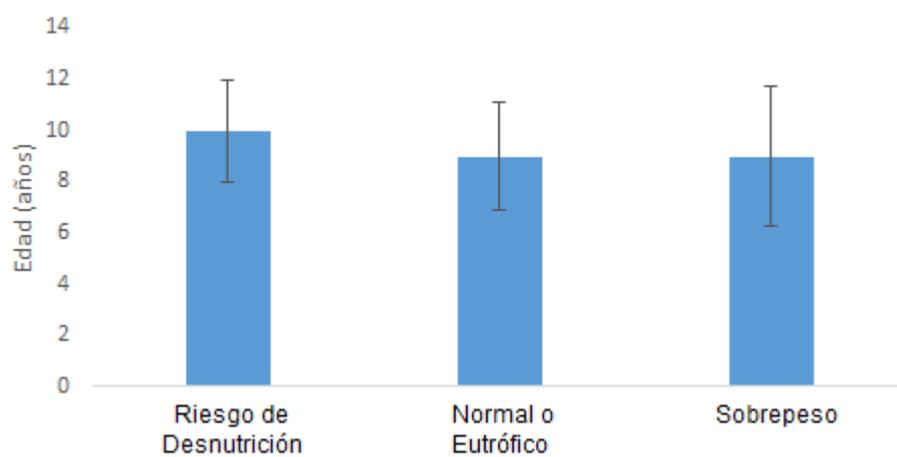
Posteriormente, se determinó el promedio de edad por grupo, el cual fue de 10 años para la población clasificada como riesgo de desnutrición (RDN), y de 9 años para la población normal (NL) y de sobrepeso (SP). Datos mostrados en la figura 10.

### **Descripción Bioquímica**

Adicionalmente, al total de los participantes se les realizó pruebas bioquímicas, donde se puede observar que los pacientes del grupo normal o eutrófico muestran una media de concentración de glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito disminuidos en comparación con los otros grupos de estudio (datos no significativos). En cuanto a la media de concentración sérica de leucocitos totales, proteína y albumina sérica, se encontraron dentro de rango normal en los grupos de estudio, de igual manera la glucosa en ayunas. La concentración sérica de proteína c reactiva, la media de expresión no fue significativa en el grupo de riesgo de desnutrición en comparación con los otros grupos de estudio, siendo mayor en el grupo de normal a eutrófico. Finalmente, la comparación estadística por ANOVA, no mostro diferencias estadísticamente significativas entre grupos de estudio de las variables antes mencionadas. Datos mostrados en la Tabla III.

### **Determinación y Comparación de Expresión de Ciclina D1 y Células Progenitoras Hematopoyéticas**

Al llevar a cabo la determinación de expresión de las poblaciones celulares de las células progenitoras hematopoyéticas (CPHs), se obtuvo que la media de células que expresan CD34+ fue mayor en el grupo de niños con sobrepeso, seguido del grupo normal o eutrófico y en menor concentración en el grupo de niños con riesgo de desnutrición. Misma tendencia a seguir en la población celular que expresan CD133+. Datos no significativos mostrados en la Figura 11).



**Figura 10.** Gráfico que muestra los promedios de edad que presentó la población de estudio según su clasificación nutricional. RDN (n=3), NL (n=9), SP (n=5).

**Tabla III.** Descripción de los valores de media, desviación estándar y error estándar de las pruebas bioquímicas realizadas y su comparación entre grupos de estudio. Método estadístico ANOVA para la comparación de medias y desviación estándar entre grupos. Unidades de las variables: glóbulos rojos (GR)  $10^6/\mu\text{L}$ , hemoglobina (HG) gr/dL, hematocrito (HTO) %, leucocitos totales  $\times 10^3/\mu\text{L}$ , proteína sérica gr/dL, albúmina sérica gr/dL, glucosa en ayunas mg/dL, proteína C reactiva mg/L).

Prueba Bioquímica	Riesgo de Desnutrición			Normal o Eutrófico			Sobrepeso			Valor de p
	Media	DS	Error Estándar	Media	DS	Error Estándar	Media	DS	Error Estándar	
Glóbulos Rojos*	4.24	0.02	0.01	4.22	0.33	0.11	4.36	0.47	0.21	0.77
Hemoglobina*	12.20	0.35	0.20	11.79	0.88	0.29	12.16	1.30	0.58	0.72
Hematocrito*	38.70	0.66	0.38	37.27	2.99	0.99	38.10	4.24	1.90	0.77
Leucocitos totales*	5.60	1.22	0.70	5.52	1.54	0.51	6.26	0.84	0.37	0.61
Proteína Sérica**	6.90	0.10	0.06	6.65	0.62	0.21	6.99	0.43	0.19	0.49
Albúmina Sérica	4.77	0.20	0.11	4.59	0.18	0.06	4.90	0.34	0.15	0.10
Glucosa en Ayunas	86.29	6.43	3.71	82.14	7.88	2.63	88.15	8.41	3.76	0.38
Proteína C Reactiva	0.52	0.15	0.09	3.28	3.46	1.22	1.31	1.25	0.56	0.24

**DS: Desviación estandar**

**Unidades del hemograma:** (GR val ref. 3.8-5.2  $10^6/\mu\text{L}$ ; HG 11.5-13.5 gr/dL; hto 38-42%, leucocitos 4.5-13.5  $\times 10^3/\mu\text{L}$ ; plaquetas 150-450  $\times 10^3/\mu\text{L}$ ).

**Valores de referencia hemograma:** (GR val ref. 3.8-5.2  $10^6/\mu\text{L}$ ; HG 11.5-13.5 gr/dL; hto 38-42%, leucocitos 4.5-13.5  $\times 10^3/\mu\text{L}$ ; plaquetas 150-450  $\times 10^3/\mu\text{L}$ ).

\*\* Recuento automático de células (Coulter Immunotech, Marsella, Francia).

\*\* Proteína C Reactiva. nefelometría (Minineph). (valor de referencia: 0.3 a 6.8 mg/L)

\*\*\* Analizador clínico de muestras automático (RX Imola RANDOX)

De igual manera, la media de expresión de la subpoblación celular CD34+CD38+ Y CD133+CD38+ fue mayor en el grupo SP y menor en el grupo RDN. En cuanto a la expresión de la subpoblación CD34+CD38- fue mayor la media de concentración en el grupo de SP, seguido del grupo RDN y finalmente en el grupo normal, datos que difieren en la subpoblación de CD133+38-, la cual fue mayor la media de concentración en el grupo normal, seguido del grupo RDN y menor en el grupo de SP. Datos estadísticamente no significativos, mostrados en la figura 11.

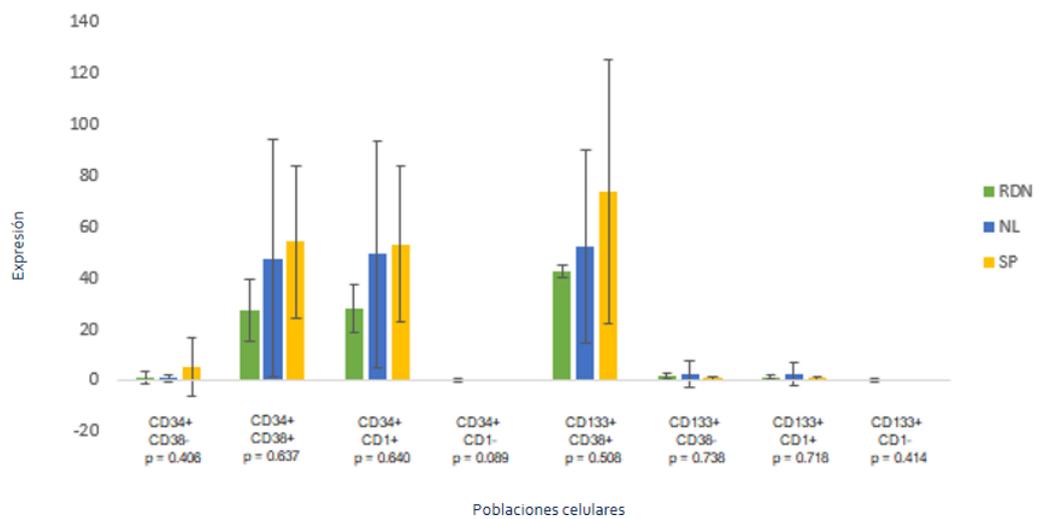
A partir de la subpoblación celular inmadura CD34+CD38- se obtuvo la expresión celular de la Ciclina D1, en la que se determina que la media de concentración fue mayor en el grupo de SP, seguido del Normal y en última expresión del grupo de RDN. Datos estadísticamente no significativos, mostrados en la figura 11.

Finalmente, a partir de la subpoblación celular inmadura CD133+CD38- se obtuvo la expresión celular de la Ciclina D1, siendo mayor en el grupo normal, seguida del grupo RDN y en menor concentración en el grupo de SP. Datos estadísticamente no significativos, mostrados en la figura 11.

### **Determinación y Comparación de la Expresión de Receptores tipo Toll 2 y 4 Entre Grupos de Estudio**

Adicionalmente se realizó la comparación de la expresión de TLR2 y TLR4 en las poblaciones de CPHs. La media de expresión de las poblaciones celulares CD133+TLR4+ y CD133+TLR2+ no fueron significativas en los tres grupos de estudio. Datos mostrados en la figura 12.

Por otro lado, la expresión de la media de concentración en la población celular CD34+TLR4+ y CD34+TLR2+, siguieron la misma tendencia que la antes mencionada. Datos no significativos mostrados en la figura 12.

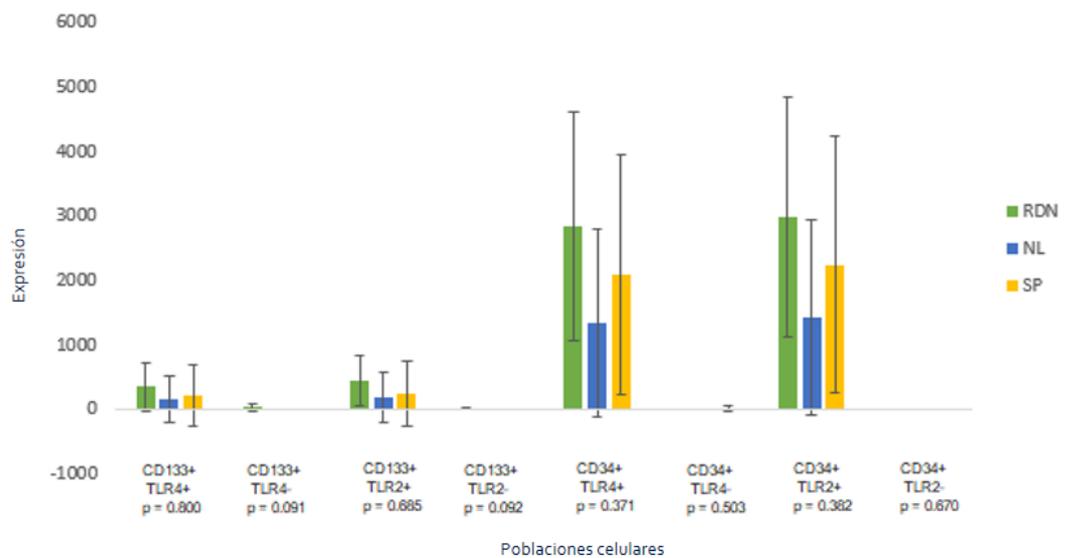


**Figura 11.** Gráfico representativo de la expresión de Ciclina D1 en células progenitoras hematopoyéticas CD133+ y CD34+ según los grupos de estudio (riesgo de desnutrición, normal y sobrepeso). Método estadístico ANOVA para la comparación de medias y desviación estándar entre grupos.

**Tabla IV.** Descripción de los valores de media, desviación estándar (DS) y error estándar de la expresión de Ciclina D1 en las poblaciones celulares seleccionadas y su comparación entre grupos de estudio. Método estadístico ANOVA para la comparación de medias y desviación estándar entre grupos.

Población Celular	Riesgo de Desnutrición			Normal o Eutrófico			Sobrepeso			Valor de p
	Media	DS	Error Estándar	Media	DS	Error Estándar	Media	DS	Error Estándar	
CD34+CD38-	1.33	2.31	1.33	0.89	1.36	0.45	5.60	11.42	5.11	0.41
CD34+CD38+	27.33	12.34	7.13	47.67	46.51	15.51	54.20	29.55	13.22	0.64
CD34+CD1+	28.33	9.30	5.36	49.33	44.28	14.80	53.20	30.29	13.55	0.64
CD34+CD1-	0.33	0.58	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09
CD133+CD38+	42.67	2.52	1.45	52.44	37.88	12.63	74.00	51.52	23.04	0.51
CD133+CD38-	1.67	1.15	0.67	2.67	5.07	1.69	1.00	0.71	0.32	0.74
CD133+CD1+	1.33	0.58	0.33	2.56	4.75	1.58	1.00	0.71	0.32	0.72
CD133+CD1-	0.33	0.58	0.33	0.11	0.33	0.11	0.00	0.00	0.00	0.41

Finalmente, el análisis de regresión lineal (OR) entre variable de estado nutricional y expresión de CPHs, CD34+, CD34+CD38+, CD133+, CD133+CD38+, CD34+CICLINAD1+ y CD133+CICLINAD1+, no mostro una asociación estadísticamente significativa (datos no mostrados). En cuanto a la expresión de CD34+TLR2+, CD34+TLR4+ y CD133+TLR2+, CD133+TRL4+, tampoco se observó una asociación estadísticamente significativa (datos no mostrados).



**Figura 12.** Gráfico representativo de la expresión de receptores tipo Toll 2 y 4 en células progenitoras hematopoyéticas CD133+CD38- y CD34+CD38- según los grupos de estudio (riesgo de desnutrición, normal y sobrepeso). Método estadístico ANOVA para la comparación de medias y desviación estándar entre grupos.

**Tabla V.** Descripción de los valores de media, desviación estándar y error estándar de la expresión de los TLRs 2 y 4 en las poblaciones celulares seleccionadas y su comparación entre grupos de estudio. Método estadístico ANOVA para la comparación de medias y desviación estándar entre grupos.

Población Celular	Riesgo de Desnutrición			Normal o Eutrófico			Sobrepeso			Valor de p
	Media	DS	Error Estándar	Media	DS	Error Estándar	Media	DS	Error Estándar	
CD133+TLR4+	349.7	362.4	209.2	170.8	362.9	120.9	218.7	477.7	213.7	0.80
CD133+TLR4-	37.40	64.79	37.40	0.20	0.60	0.20	0.00	0.00	0.00	0.09
CD133+TLR2+	437.37	389.10	225.17	185.54	396.64	132.21	234.28	503.65	225.24	0.69
CD133+TLR2-	8.10	13.09	7.56	0.52	1.08	0.36	0.36	0.81	0.36	0.09
CD34+TLR4+	2846.4	1774.6	1024.6	1333.4	1455.6	485.2	2083.2	1858.5	831.1	0.37
CD34+TLR4-	5.92	10.25	5.92	4.39	11.24	3.74	22.61	49.28	22.04	0.50
CD34+TLR2+	2986.3	1849.1	1067.5	1432.8	1517.1	505.1	2240.5	1989.4	889.7	0.38
CD34+TLR2-	0.00	0.00	0.00	0.56	1.70	0.57	0.00	0.00	0.00	0.67

## DISCUSIÓN

El panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en México se aborda a partir de las cuatro columnas que la componen: disponibilidad, acceso y uso de los alimentos, y estabilidad de la oferta, así como desde ambos lados de la malnutrición en México: obesidad y desnutrición. El deficiente acceso a los alimentos de grupos importantes, se suma la desnutrición crónica infantil aún por atender, al igual que la alta prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños, adolescentes y adultos (Salud Pública de México, 2014).

La malnutrición impide el adecuado desarrollo físico e intelectual del individuo al mismo tiempo que aumenta el riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles, con grandes costos directos e indirectos para las familias y la sociedad. Es uno de los factores que más contribuyen a la carga mundial de la morbilidad, pues más de una tercera parte de las enfermedades infantiles en todo el mundo se atribuye a la desnutrición, donde la pobreza representa una de sus causas principales (Organización Mundial de la Salud, 2015).

El acceso adecuado a nutrientes contribuye a mantener un ambiente celular interno estable y constante para la salud humana. Sin embargo, un sistema comprometido o atrofiado puede significar enfermedad en la mayoría de los casos, desde anemia y hemofilia; hasta inmunodeficiencia y alergia; o leucemia y linfoma (Wilkinson y Yamazaki, 2018). Investigaciones afirman que la regulación del homeostasis en el proceso hematopoyético es altamente regulada por los nutrientes disponibles presentes en el microentorno hematopoyético, indispensables para la progresión del ciclo celular (Nakajima y col., 2014; Borelli y col., 2009).

Por ello, en el presente estudio el objetivo principal fue el de determinar la expresión de la ciclina D1 y de los receptores tipo Toll 2 y 4 en células progenitoras hematopoyéticas en relación con el estado nutricional de un grupo poblacional de niños de 6 a 12 años de edad que viven en condiciones de pobreza extrema, provenientes de la comisaria Miguel Alemán cuyas características sociodemográficas nos permitieron delimitar a

nuestra población de estudio. Para ello, participaron 24 niños en condiciones de pobreza extrema según los criterios de Coneval; de los cuales 18 niños cumplieron con los criterios de inclusión de nuestro estudio, donde el 72% (n=13) fueron del sexo femenino y el 28% (n=5) masculino.

Los últimos datos publicados por el Instituto Nacional de Salud Pública (Gutierrez y col., 2012) indican que más de la cuarta parte de los mexicanos tiene acceso deficiente a la alimentación. Se han producido avances significativos en la eliminación de la desnutrición infantil entre 1988 y 2012. Por otro lado, los datos publicados por Unicef-México obtenidos a partir de la Encuesta de niños, niñas y mujeres 2015, para evaluar el estado de la desnutrición, obesidad y sobrepeso en México. Señalan que 1 de cada 8 niñas y niños menores de 5 años padece desnutrición crónica. La desnutrición se presenta principalmente en los estados del sur de México y en las comunidades rurales más que en las urbanas; los más afectados son los hogares indígenas. Por otro lado, 1 de cada 20 niñas y niños menores de 5 años y 1 de cada 3 entre los 6 y 19 años padece sobrepeso u obesidad. Esto coloca a México entre los primeros lugares en obesidad infantil a nivel mundial, problema que se presenta más a menudo en los estados del norte y en comunidades urbanas.

En nuestro estudio, el rango de edad de los participantes fue entre 6 y 12 años con un promedio de edad de 10 años para las niñas y 8 años para niños, donde la evaluación del estado nutricional con base a los Patrones Internacionales de Crecimiento Infantil de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2006, nos arrojó que del total de los participantes (n=18), el 6% (n=1) se clasificó dentro del grupo de obesidad; el 28% (n=5) en sobrepeso, el 50% (n=9) en normal o eutrófico y por último el 17% (n=3) en riesgo de desnutrición. Datos que destacan, que, en un grupo de niños de edad mayor a 5 años, existe un bajo índice de riesgo en desnutrición; sin embargo, existe la presencia de sobrepeso y obesidad, datos que concuerdan con las estadísticas previamente mencionadas.

Las deficiencias de proteínas y micronutrientes afectan los órganos hematopoyéticos y linfoides y comprometen las funciones inmunes innatas y

adaptativas (Cunha y col., 2013). La sinergia entre la desnutrición y la infección contribuye sustancialmente a la morbilidad y mortalidad infantil. Los indicadores antropométricos de la desnutrición están asociados con el aumento del riesgo y la gravedad de las infecciones causadas por muchos patógenos, incluidos virus, bacterias, protozoos y helmintos. Dado que la desnutrición infantil comúnmente implica la ingesta inadecuada de proteínas y calorías, con deficiencias de micronutrientes superpuestas, los factores causales involucrados en la defensa del huésped deteriorada generalmente no están definidos.

A nivel nacional la descripción y comparación de tres encuestas nacionales sobre la magnitud de la prevalencia de anemia en niños preescolares, escolares y adolescentes mexicanos que participaron en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 (ENSANUT 2012). Se encontró que los niños de 5 a 11 años, su prevalencia nacional de anemia fue de 10.1% (IC95% 9.3-10.9) y la mayor prevalencia de anemia ocurrió en los de 5 años (18.3%), en comparación con las otras edades, además de no existir diferencias entre los urbanos/rurales, por región geográfica e indigenismo (Salud Pública de México. 2013). Por otro lado, el estudio realizado por Hoang NTD y cols. 2019; cuyo objetivo fue determinar la prevalencia de anemia y sus subtipos, así como las asociaciones de los tipos de anemia con factores demográficos, socioeconómicos y antropométricos entre niños de primaria de 6 a 9 años en áreas rurales. Se observó que los niños con bajo peso, emaciación o insuficiencia antropométrica (bajo peso, retraso en el crecimiento o emaciación) tenían más probabilidades de tener anemia (todos  $p \leq 0.004$ ) y, específicamente, de tener anemia normocítica (todos  $p \leq 0.006$ ), que aquellos que estaban no bajo peso, o en falla antropométrica. Los niños con retraso en el crecimiento tenían más probabilidades de tener anemia ( $p = 0.018$ ) comparado con los que no tenían retraso en el crecimiento. Los niños con sobrepeso / obesidad tenían menos probabilidades de tener anemia ( $p = 0.026$ ) o tener anemia normocítica ( $p = 0.038$ ) en comparación con los niños que no tenían sobrepeso / obesidad.

Si bien, nuestro tamaño muestral fue menor comparada con el estudio previo, cabe mencionar que los pacientes del grupo normal o eutrófico muestran una media de concentración de glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito en comparación con los otros grupos de estudio no fueron significativos.

Por otro lado, los datos sobre la compleja regulación de la producción de células y el microentorno hematopoyético son escasos; pero indican que la desnutrición proteica está correlacionada con una respuesta inmune comprometida (Veldhoen y col., 2015). Un déficit nutricional ocasiona leucopenia, lo cual consecuentemente ocasiona la predisposición del individuo a adquirir infecciones debido a la inmunodepresión causada por el mal estado nutricional que altera la leucopoyesis. La disminución de la leucopoyesis resultante empeora el estado nutricional al crear un requerimiento de nutrientes más alto para apoyar la producción de células (Espinoza y col., 2016; Fock y col., 2010; Oliveira y col., 2014), tales observaciones no son acordes a lo encontrado en el presente estudio, donde la media de concentración sérica de leucocitos totales, proteína y albumina sérica, no fueron indicativos de algún proceso de inflamación e infección, esto al encontrarse dentro de rango normal en los grupos de estudio.

Adicionalmente, estudios afirman que los efectos nocivos de la desnutrición proteica en la hematopoyesis pueden estar mediados directamente al inhibir la proliferación de CPHs, o indirectamente, al alterar el nicho hematopoyético. Se sabe, que el nicho hematopoyético regula la proliferación y diferenciación de las células madre hematopoyéticas, así como la liberación de células hematopoyéticas maduras en la sangre (Santos y col., 2017). La desnutrición proteica altera la diferenciación de las células madre mesenquimales, lo que provoca un aumento de los adipocitos y una menor producción de citoquinas, contribuyendo a un microentorno hematopoyético deteriorado ocasionando la insuficiencia de la MO que se observa comúnmente en la desnutrición proteica (Cunha y col., 2013). Por otro lado, la inflamación crónica inducida por la obesidad está asociada con la enfermedad metabólica. Los resultados de modelos de ratones que

utilizan una dieta alta en grasas han indicado que un aumento en los macrófagos activados, incluidos los macrófagos de tejido adiposo CD11c +, contribuyen a la resistencia a la insulina (Griffin y col. 2018). La obesidad estimula la producción de células mieloides a partir de células madre hematopoyéticas (HSC) y el receptor 4 tipo Toll (TLR4), y las vías mediadas por MyD88 inductor de proteína adaptadora que contiene el dominio TIR para regular la producción de linaje mieloides similar a la estimulación con lipopolisacáridos.

Aunque se han realizado estudios sobre como la malnutrición proteica afecta a nivel de nicho hematopoyético poco se sabe sobre el efecto de la deficiencia nutricional en los nichos de MO en los humanos. Un estudio en ratones suizos evaluó el efecto de la desnutrición proteica en el ciclo celular de las CPHs de MO. Ratones suizos machos se sometieron a una dieta baja en proteínas, los cuáles presentaron anemia, reticulocitopenia y leucopenia. Su MO era hipocelular y ausencia de células progenitoras. Aquellos ratones malnutridos proteicamente presentaron mayor número celular en fases G0 y G1 del ciclo celular, indicando que la desnutrición proteica conduce al agotamiento de las poblaciones progenitoras hemopoyéticas y a los cambios en el desarrollo celular (Borelli y col., 2009).

Nakajima y col., reportaron en el 2014 que la malnutrición proteica en ratones C57Bl / 6J suprimió la progresión del ciclo celular, principalmente de CPHs a través de la regulación negativa de ciclina D1 y la sobreexpresión de p21 / p27, lo que sugiere que el microambiente comprometido de MO observado en la malnutrición proteica está afectando las interacciones celulares que comprometen la proliferación celular. En nuestro estudio, se determinó que la media de expresión celular de ciclina D1 en las subpoblaciones de CPHs CD34+CD38- y CD133+CD38-, en los cuales se observó que no existe diferencias significativas en su expresión entre los grupos de estudio, sobrepeso, normal o eutrófico y en riesgo de desnutrición.

En otros estudios se ha observado que células en ausencia de ciclina D1 pueden proliferar, indicando que esta molécula no es estrictamente necesaria para G1, ya que como los tres tipos de ciclinas presentan una alta

homología y son coexpresados en algunos tejidos, es posible que tengan funciones redundantes, lo cual pudiera estar relacionado con nuestros resultados; sin embargo, se sabe que la ciclina D1 facilita el paso a través de G1 y promueve la proliferación celular (Alvarado y Mayani, 2006).

Otros estudios han revelado que la desnutrición proteica afecta la producción de citoquinas proinflamatorias como la IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-12 y TNF-a, las cuáles presentan como función principal crear una respuesta inmunitaria efectiva tras la activación por factores de transcripción como el factor nuclear kB (NF-kB). Éste a su vez se activa por señales extracelulares a través de receptores celulares como es el receptor tipo Toll 4, que reconoce los lipopolisacáridos presentes en las bacterias gramnegativas y activa una ruta de señalización dependiente de MyD88 (gen 88 de respuesta primaria de mielóide), que conduce a la activación de NF-kB, que es seguida por la inducción de genes inflamatorios como el TNF-a, IL6. e IL1b. (Fock y col., 2010; Fock y col., 2012).

Diversos estudios muestran que la regulación de la hematopoyesis por TLR sugieren que están involucrados en las etapas más primitivas del desarrollo hematopoyético y contribuyen a la reposición emergente de células inmunes innatas (Vadillo, 2012). Durante estas tensiones, el mantenimiento de los números de células inmunes innatas a través de la hematopoyesis inducida por estrés o de emergencia es clave para nuestra supervivencia. Un mecanismo importante para reconocer las señales de peligro es a través de la activación de los receptores Toll-like (TLR) en la superficie de las células hematopoyéticas y las células no hematopoyéticas, que reconocen derivados de patógenos o compuestos inducidos por daños y pueden influir en la respuesta hematopoyética de emergencia (Capitano, M.L., 2019).

Además, estudios afirman que la desnutrición proteica está asociada con una disminución en la expresión del receptor tipo Toll 4, así como con la fosforilación de NF-kB. Esto podría ser una explicación para la reducción en la producción de citocinas proinflamatorias que conduce a la deficiencia inmune observada en personas con déficits nutricionales (Fock y col., 2010).

En nuestro estudio, la media de expresión de la concentración de receptores tipo Toll 2 y 4 en las subpoblaciones de CPHs CD34+CD38- y CD133+CD38-, se observó que no existe diferencias significativas en su expresión entre los grupos de estudio, sobrepeso, normal o eutrófico y en riesgo de desnutrición.

## **CONCLUSIÓN**

El estado nutricional que presentan los niños que viven en extrema pobreza tal como riesgo de desnutrición, normal o eutrófico y sobrepeso, analizados en este estudio, no impacta significativamente en la expresión de Ciclina D1 y TLRs 2 y 4 en las células progenitoras hematopoyéticas que expresan el marcador CD133+, CD34+ y CD38-.

## REFERENCIAS

- Agrawal, S., Gupta, S. 2011. TLR1/2, TLR7, and TLR9 signals directly activate human peripheral blood naive and memory B cell subsets to produce cytokines, chemokines, and hematopoietic growth factors. *J Clin Immunol.* 31: 89-98.
- Alvarado-Moreno, J.A., Mayani, H. 2007. El ciclo celular y su papel en la biología de las células progenitoras hematopoyéticas. *Gac Méd Méx* Vol. 143 No. 2, 149-161.
- Asri, A., Sabour, J., Atashi, A. 2016. Homing in hemopoietic stem cells: focus on regulatory role of CXCR7 on SDF1a/CXCR4 axis. *EXCLI J.*15:134-143.
- Ayala-Gaytán, E.A., Díaz Durán-Hernández, A. 2015. Infraestructura, ingreso y desnutrición infantil en México. *Salud Pública Méx.* 57:22-28.
- Baldrige, M.T., King, K.Y., Goodell, M.A. 2011. Inflammatory signals regulate hematopoietic stem cells. *Trends Immunol.* 32:57-65.
- Bellantuono, I. Haemopoietic stem cells. 2004. *The international journal of biochemistry & cell biology.* 36(4):607-620.
- Black, R.E., Allen, L.H., BhuttaZq, A., Caulfield, L.E., de Onis, M., Ezzati, M. 2008. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet.* 371:243-260.
- Bohnsack, B.L., Hirschi, K.K. 2004. Nutrient regulation of cell cycle progression. *Annu Rev Nutr.* 24:433-53.
- Borelli, P., Barros, F.E.V., Nakajima, K. 2009. Protein-energy malnutrition halts hemopoietic progenitor cells in the G0/G1 cell cycle stage, thereby altering cell production rates. *Braz J Med Biol Res.* 42:523-530.
- Borelli, P., Blatt, S.L., Pereira, J. 2007. Reduction of erythroid progenitors in protein energy malnutrition. *Br J Nutr.* 97:307-314.
- Borelli, P., Blatt, S.L., Rogero, M.M. 2004. Haematological alterations in protein malnutrition. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 26:49-56.
- Boulais, P.E., Frenette, P.S. 2015. Making sense of hematopoietic stem cell niches. *Blood.*125(17):2621-2629.

- Cannova, J., Breslin, S.J.P., Zhang, J. 2015. Toll-like receptor signaling in hematopoietic homeostasis and the pathogenesis of hematologic diseases. *Front Med.* 9(3):288-303.
- Capitano, M.L. 2019. Toll-like receptor signaling in hematopoietic stem and progenitor cells. *Curr Opin Hematol.* 2019 Jul;26(4):207-213. doi: 10.1097/MOH.0000000000000511.
- Castillo-Fernández, D., Arzate-Salgado, J. 2013. Crisis económica, pobreza y política social en México. *Aportes, Revista de la Facultad de Economía.* XVIII(47).
- Castillo-Hernández, J.L. y Zenteno-Cuevas, R. 2004. Facultad de Nutrición Universidad Veracruzana. Instituto de Salud Pública Universidad Veracruzana. Valoración del Estado Nutricional. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana.* 4(2).
- Castro-Robles, A.E., Camberos-Castro, M. 2017. Pobreza alimentaria: inseguridad y vulnerabilidad en las regiones de Sonora en 2015. *Revista de Ciencias Sociales y Humanidades.* Num. 83, año 38: 43-73.
- Catlin, S.N., Busque, L., Gale, R.E., Guttorp, P., Abkowitz, J.L. 2011. The replication rate of human hematopoietic stem cells in vivo. *Blood.* 117:4460-4466.
- Chacón-Abril, K. L., Segarra-Ortega, J. X., Lasso-Lazo, R. S., Huiracocha-Tutivén, M. L. 2015. Valoración nutricional mediante curvas de crecimiento de la OMS y las clasificaciones de Gómez/ Waterlow. Estudio de prevalencia. *Rev. Fac. Cienc. Méd. Univ. Cuenca.* 33 (3): 65-74.
- Consejo Nacional de la Evaluación de la Política de Desarrollo Social 2015. Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/46482/Sonora\\_030.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/46482/Sonora_030.pdf)
- Cortés-Moreno, A., Montiel-Carbajal M.M., Grijalva-Larios, N., Villarreal, L.I., Sánchez-Hernández, A. 2018. Rearing, nutrition and child development in children from Sonora and State of Mexico. *Revista Mexicana de Trastornos Alimentarios.* 9(2):170-182.

- Cunha, M.C.R., Lima, F.S., Vinolo, M.A.R. 2013. Protein malnutrition induces bone marrow mesenchymal stem cells commitment to adipogenic differentiation leading to hemopoietic failure. *PLoS One*.
- Domínguez-Pantoja, M., Romero-Ramirez, H., Rodríguez-Alba, J.C. *Células Madre Hematopoyéticas: origen, diferenciación y función*.
- El Nawawy, A., Barakat, S., El Walily, T. 2002. Evaluation of erythropoiesis in protein energy malnutrition. *East Mediterr Health J*. 8:281-289.
- Eliasson, P., Jönsson, J.I. 2010. The hematopoietic stem cell niche: low in oxygen but a nice place to be. *J. Cell. Physiol*. 222:17-22.
- Espinoza, M., Perelli, J., Olmos, R. 2016. Nutritional assessment as predictor of complications after hemopoietic stem cell transplantation. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 38:7-14.
- Esplin, B.L., Shimazu, T., Welner, R.S. 2011. Chronic exposure to a TLR ligand injures hematopoietic stem cells. *J Immunol*.186: 5367-75.
- Fock, R.A., Blatt, S.L., Beutler, B., Pereira, J., Tsujita, M., de Barros, F.E. 2010. Study of lymphocyte subpopulations in bone marrow in a model of protein-energy malnutrition. *Nutrition*. 26:1021-1028.
- Fock, R.A., Vinolo, M.A.R., Blatt, S.L. 2012. Impairment of the hematological response and interleukin-1b production in protein-energy malnourished mice after endotoxemia with lipopolysaccharide. *Braz J Med Biol Res*. 45:1163-1171.
- Food and Agriculture Organization, International Fund for Agricultural Development, and World Food Programme. *The State of Food Insecurity in the World 2015: Meeting the 2015 International Hunger Targets: Taking Stock of Uneven Progress*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization; 2015.
- Funderburg, N., Lederman, M.M., Feng, Z. 2007. Human-defensin-3 activates professional antigen-presenting cells via Toll like receptors 1 and 2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 104:18631-51863.
- Gilliet, M., Cao, W., Liu, Y.J. 2008. Plasmacytoid dendritic cells: sensing nucleic acids in viral infection and autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol*. 8: 594-606.

- Gómez-Bruera, H.F. 2013. Desafíos para garantizar el derecho a la alimentación: las experiencias contrastantes de México y Brasil. México: CEPAL. 55-68.
- Grantham-McGregor, S., Cheung, Y., Cueto, S., Glewwe, P., Richter, L., Strupp, B. 2007. Developmental potential in the first 5 years for children in developing countries. *Lancet*. 369(9555), 60-70.
- Griffin, C., Eter, L., Lanzetta, N., Abrishami, S., Varghese, M., McKernan, K., Muir, L., Lane, J., Lumeng, C.N., Singer, K. 2018. TLR4, TRIF, and MyD88 are essential for myelopoiesis and CD11c+ adipose tissue macrophage production in obese mice. *J Biol Chem*. Jun 8;293(23):8775-8786. doi: 10.1074/jbc.RA117.001526. Epub 2018 Apr 10.
- Gutiérrez, J.P., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Villalpando-Hernández, S., Franco, A., Cuevas-Nasu, L. 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Resultados nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2012.
- Hayashi, E.A., Akira, S., Nobrega, A. 2005. Role of TLR in B cell development: signaling through TLR4 promotes B cell maturation and is inhibited by TLR2. *J Immunol*. 174: 6639-6647.
- Herman, A.C., Monlish, D.A., Romine, M.P., Bhatt, S.T., Zippel, S., Schuettepelz, L.G. 2016. Systemic TLR2 agonist exposure regulates hematopoietic stem cells via cell-autonomous and cell-non-autonomous mechanisms. *Blood Cancer J*. 6:437.
- Hoang, N.T.D., Orellana, L., Le T.D., Gibson R.S., Worsley, A., Sinclair, A.J., Hoang, N.T.T., Szymlek-Gay, E.A. 2019. Anaemia and Its Relation to Demographic, Socio-economic and Anthropometric Factors in Rural Primary School Children in Hai Phong City, Vietnam. *Nutrients*. 2019 Jun 28;11(7). pii: E1478. doi: 10.3390/nu11071478.
- Horwitz, E.M. 2003. Stem cell plasticity: the growing potential of cellular therapy. *Archives of medical research*. 34(6):600-6.
- Lane, S.W., Gilliland, D.G. 2010. Leukemia stem cells. *Semin. Cancer Biol*. 20:71-76.

- López-Salazar, R. 2015. Pobreza y seguridad alimentaria: el caso de México. *Revista CIS* N°18.
- Mayani, H. 2003. A glance into somatic stem cell biology: basic principles, new concepts, and clinical relevance. *Arch Med Res.* 34: 3-15.
- Mayani, H., Flores-Figueroa, E., Pelayo, R., Montesinos, J.J, Flores-Guzmán, P., Chávez-González, A. 2007. Hematopoyesis. *Cancerología* 2: 95-107.
- Mehta, N., Corkins, M., Lyman, B., Malone, A., Goday, P. 2013. Defining Pediatric Malnutrition: A Paradigm Shift Toward Etiology-Related Definitions. *American Society for Parental and Enteral Nutrition.* (10).
- Monlish, D.A., Bhatt, S.T., Schuettpelz, L.G. 2016. The Role of Toll-Like Receptors in Hematopoietic Malignancies. *Front. Immunol.* 7:390.
- Montaño-Figueroa, E.H., Rojo-Medina, J. 2011. Células progenitoras hematopoyéticas de sangre de cordón umbilical. *Rev Med Hosp Gen Méx.* 74(2):101-107.
- Moráis, A., Lama, R.A. 2009. Utilidad de los exámenes bioquímicos en la valoración del estado nutricional. *An Pediatr Contin.* 7(6):348-7.
- Morrison, S.J., Scadden, D.T. 2014. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature.* 505(7483):327-34.
- Moura, D., Jaderson, C., Santos, I., Barros, A., Matijasevich, A., Halperne. 2010. Risk factors for suspected developmental delay at age 2 years in a Brazilian birth cohort. *Paediatric and Perinatal Epidemiology.* 24(3):211-221.
- Müller, O., Krawinkel, M. 2005. Malnutrition and health in developing countries. *CMAJ.* 173:(3).
- Nagai, Y., Garrett, K., Ohta, S., Bahrn, U., Kouro, T., Akira, S., Takatsu, K., Kincade, P. 2006. Toll-Like Receptors on Hematopoietic Progenitor Cells Stimulate Innate Immune System Replenishment. *Immunity.* 24(6): 801-812.
- Nakajima, K., Crisma, A., Silva, G., Rogero, M., Fock, R., Borelli. 2014. Malnutrition suppresses cell cycle progression of hematopoietic

- progenitor cells in mice via cyclin D1 down-regulation. *Nutrition*. 30:82-89.
- Norman, K., Pichard, C., Lochs, H., Pirlich, M. 2008. Prognostic impact of disease-related malnutrition. *Clin Nutr*. 27:5-15.
- Oliveira, D.C., Hastreiter, A.A., Mello, A.S. 2014. The effects of protein malnutrition on the TNF-RI and NF- $\kappa$ B expression via the TNF- $\alpha$  signaling pathway. *Cytokine*. 69:218-225.
- Organización Mundial de la Salud. 2009. Interpretando los indicadores de crecimiento.  
[https://www.who.int/childgrowth/training/c\\_interpretando.pdf](https://www.who.int/childgrowth/training/c_interpretando.pdf)
- Organización Mundial de la Salud. 2017. Malnutrición: OMS.  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/malnutrition/es/>.
- Orkin, S.H., Zon, L.I. 2008. Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell*. 132:631-644.
- Passegué, E., Wagers, A.J., Giuriato, S., Anderson, W.C., Weissman, I.L. 2005. Global analysis of proliferation and cell cycle gene expression in the regulation of hematopoietic stem and progenitor cell fates. *J. Exp. Med*. 202:1599-1611.
- Pérez-Garcés R., Silva-Quiroz Y. 2019. Enfoques y factores asociados a la inseguridad alimentaria. *Revista de Salud Pública y Nutrición*. 18 (1): 15-24.
- Pietras, E.M., Warr, M.R., Passegué, E. 2011. Cell cycle regulation in hematopoietic stem cells. *J. Cell Biol*. Vol. 195 No. 5 709-720.
- Rehan, V.K., Sakurai, R., Li, Y. 2012. Effects of maternal food restriction on offspring lung extracellular matrix deposition and long term pulmonary function in an experimental rat model. *Pediatr Pulmonol*. 47:162-171.
- Rivera-Dommarco, J.A., Cuevas-Nasu, L., González de Cosío, T., Shamah-Levy, T., García-Feregrino, R. 2013. Desnutrición crónica en México en el último cuarto de siglo: análisis de cuatro encuestas nacionales. *Salud pública*. vol.55.
- Salama, P. 2011. Luchas contra la pobreza en América Latina, el caso de la pobreza rural en Brasil. *Revista Problemas del Desarrollo*. 165 (42).

- Salmen, S., Silva-Gutierrez, N., Bahsas-Zaky, R., Terán-Angel, G., Barboza, L., Padrón, K., Berrueta, L., Olávez, D., Solórzano, E., Calderón, A., Valencia-Molina, J.C., Soto-Parra, M., Volcanes, I., Paredes, E.A., Rondon, M. 2013. Pluripotent stem cells: Characteristics and specialized compartments of residence. *Avan Biomed. Supl 1*: 26-38.
- Salud Pública de México. 2013. Prevalencia de anemia en niños y adolescentes mexicanos: comparativo de tres encuestas nacionales. *Salud pública Méx vol.55 supl.2 Cuernavaca 2013*.
- Salud Pública de México. 2014. versión impresa ISSN 0036-3634. vol.56.
- Sandstead, H.H., Prasad, A.S., Penland, J.G., Beck, F.W.J., Kaplan, J., Egger, N.G. 2008. Zinc deficiency in Mexican American children: influence of zinc and other micronutrients on T cells, cytokines, and antiinflammatory plasma proteins. *Am J Clin Nutr. 88*:1067-73.
- Santos, E.W., Oliveira, D.C., Silva, G.B., Tsujita, M., Beltran, J.O., Hastreiter, A., Fock, R.A., Borelli, P. 2017. Hematological alterations in protein malnutrition. *0(0)*:1-11.
- Sarrazy, V., Viaud, M., Westerterp, M, Ivanov, S., Giorgetti-Peraldi, S., Guinamard, R., Gautier, E.L., Thorp, E.B., De Vivo, D.C., Yvan-Charvet, L. 2016. Disruption of Glut1 in Hematopoietic Stem Cells Prevents Myelopoiesis and Enhanced Glucose Flux in Atheromatous Plaques of ApoE<sup>-/-</sup> Mice. *Circ Res. 118(7)*: 1062-1077.
- Schaible, U.E., Kaufmann, S.H. 2007. Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *PLoS Med. 4*:e115.
- Schmid, M.A., Takizawa, H., Baumjohann. D.R. 2011. Bone marrow dendritic cell progenitors sense pathogens via Toll-like receptors and subsequently migrate to inflamed lymph nodes. *Blood. 118*: 4829-40.
- Secretaría de Salud de México. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino. 2016. Disponible en [http://transparencia.insp.mx/2017/auditoriasinsp/12701\\_Resultados\\_Encuesta\\_ENSANUT\\_MC2016.pdf](http://transparencia.insp.mx/2017/auditoriasinsp/12701_Resultados_Encuesta_ENSANUT_MC2016.pdf).

- Soeters, P.B., Reijven, P.L., van Bokhorst-de van der Schueren, M.A., Schols, J.M., Halfens, R.J., Meijers, J.M. 2008. A rational approach to nutritional assessment. *Clin Nutr.* 27:706-16.
- Tazza R. y Bullón L. 2006. ¿Obesidad o Desnutrición? Problema actual de los niños peruanos menores de 5 años. *AN FAC MED.* 67 (3): 214-223.
- Vadillo, E., Pelayo, R. 2012. Los receptores tipo Toll en el desarrollo y función del sistema hematopoyético. *Revista de Investigación Clínica.* 64 (5): 461-476.
- Veldhoen, M., Ferreira, C. 2015. Influence of nutrient-derived metabolites on lymphocyte immunity. *Nat Med.* 21:709-718.
- Wilkinson, A.C., Gottgens, B. 2013. Transcriptional regulation of haematopoietic stem cells. *Adv Exp Med Biol.* 786:187-212.
- Wilkinson, A.C., Nakauchi, H., Göttgens, B. 2017. Mammalian transcription factor networks: recent advances in interrogating biological complexity. *Cell Syst.* 5(4):319-31.
- Wilkinson, A.C., Yamazaki, S. 2018. The hematopoietic stem cell diet. *International Journal of Hematology.* 107:634-641.
- Wisbaum, W. 2016. La desnutrición infantil, causas, consecuencias y estrategias para su prevención y tratamiento. *UNICEF.* 1-32.
- Wognum, A., Eaves, A.C., Thomas, T.E. 2003. Identification and isolation of hematopoietic stem cells. *Arch Med. Res.* 34: 461-475.
- Xavier, J.G., Favero, M.E., Vinolo, M.A., Rogero, M.M., Dagli, M.L., Arana-Chavez, V.E. 2007. Protein-energy malnutrition alters histological and ultrastructural characteristics of the bone marrow and decreases haematopoiesis in adult mice. *Histol Histopathol.* 22:651-660.

## ANEXOS

### Anexo I

#### **Consentimiento Informado Para Padres e Hijos que Participen en un Estudio de Investigación en Salud**

##### **Título del protocolo:**

Expresión de Ciclina D1, TLR2 y TLR4 en células progenitoras hematopoyéticas de un grupo de infantes de 6 a 12 años con desnutrición y en condiciones de pobreza extrema.

##### **Investigador principal:**

Astrid Nallely Ramírez Romero

Teléfono: 66 22 05 83 68.

El estudio se llevará a cabo en el laboratorio de Bioquímica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Sonora y el área de investigación de la Escuela de Medicina de la Universidad Durango Santander, campus Hermosillo.

Dirección: Universidad de Sonora, Av Luis Donaldo Colosio, Centro, 83000 Hermosillo, Son; Internacional A Nogales KM 9.8, Cafe Combate, 83165 Hermosillo, Son.

Nombre del padre o tutor:

---

Nombre del niño:

---

Le solicitamos su autorización para que su hijo/a participe en un estudio de investigación en salud. Este tipo de estudios se realizan para poder encontrar mejores tratamientos o pruebas que nos ayuden al diagnóstico de enfermedades. La participación de su hijo/a es completamente voluntaria; si no desea que lo haga, su negativa no le traerá ningún inconveniente. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados que comprende el Consentimiento Informado. Siéntase en absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya aclarado sus dudas sobre el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta

hoja de consentimiento, de la cual se le entregara una copia firmada y fechada.

La Q.B.C. Astrid Nallely Ramírez Romero será quien dirija el estudio y el costo del proyecto será financiado por los autores. Ni los padres de familia y ni los niños del programa EnCausa deberán de pagar costo alguno.

### **Justificación del estudio**

La nutrición se refiere a los nutrientes (sustancias) que componen los alimentos (ejemplo vitaminas, minerales, grasas, etc) y está compuesta por los procesos que suceden en tu cuerpo después de comer, es decir la obtención, asimilación y digestión de los nutrientes por el organismo. Una buena nutrición es ejemplo de la buena salud y el desarrollo infantil. Los niños bien alimentados están mejor preparados para crecer, aprender y soportar posibles enfermedades. Se sabe que si el niño no está alimentado de manera correcta puede presentar problemas de salud como anemia (baja cantidad de células de la sangre). Para que se produzcan y funcionen las células de la sangre, es necesario consumir los nutrientes necesarios (sustancias), para que las células funcionen correctamente. Para esta investigación, se medirán y pesaran a los niños para saber si están nutridos, y para saber si sus células están funcionando correctamente se les tomara una muestra de sangre, y para saber si tienen alguna infección en la orina ó parásitos (animales) en las heces, se les pedirá una muestra de orina (pipí) y heces (popó). Por último, después de analizar todas sus muestras se les dará la atención médica y nutricional adecuada.

### **¿Por qué se realiza este estudio?**

Este estudio se realizará para entender el cómo una mala alimentación en los niños afecta la producción de las células de la sangre por la falta de nutrientes. Además, con ayuda de pruebas de laboratorio para analizar la sangre de los niños se conocerá su estado de salud. Los resultados de los análisis de sangre serán revisados por médicos que les darán consulta y seguimiento de su salud para ayudar a los niños a mejorar su calidad de vida.

### **¿Cuántas personas participarán y de dónde se les seleccionará?**

Todos los niños de entre 6 y 12 años que pertenezcan a las familias de la primera generación del programa EnCausa del centro hábitat del poblado Miguel Alemán. Siempre y cuando los padres de familia deseen que participen sus hijos y/o los niños mismos.

### **¿Qué se sabe de este estudio?**

Otros estudios han visto que los niños que no están bien alimentados y están bajos de peso (desnutridos), hace que las células de la sangre no funcionen bien y que eso ocasione que los niños se enfermen de manera seguida.

### **¿Qué debe hacer nuestro/a hijo/a si aceptamos que participe?**

Si su hijo/a reúne los requisitos para participar en este estudio, y tanto usted como el niño/a deciden que puede participar, se le realizarán las siguientes pruebas:

1. Primero, serán revisados por los nutriólogos quienes van a tomarles el peso, talla y les harán preguntas a los padres sobre la alimentación de sus hijos.
2. Se le solicitara al padre del niño que lo apoye en tomar una muestra de orina (pipí) que sea la primera de la mañana en cuanto se levante de la cama el niño, y otra muestra de heces (popó) que puede ser de cualquier hora del día.
4. Luego de que el nutriólogo lo midió y peso, lo pasara con el químico quién le tomará una muestra de sangre al niño. Para ello, es necesario que no coma ningún alimento ni bebida dulce durante 4 a 6 horas.

### **¿Cuánto tiempo deberá permanecer en el estudio?**

Más o menos 30 a 60 min. Entre la consulta con el nutriólogo y el químico.

### **¿Qué harán con sus muestras?**

Con la muestra de sangre, se revisará la cantidad de células para saber si tiene alguna enfermedad, por ejemplo (anemia, infección o azúcar en sangre); con la muestra de pipí saber si tiene infección por bacterias y por último, con la muestra de popó buscar parásitos (animalitos).

### **¿Qué riesgos tendrá nuestro hijo/a si participa del estudio?**

Ninguno, solamente los que pueda presentar al momento de la toma de muestra de sangre, como un dolor mínimo o un moretón que desaparecerá en pocos días.

### **¿Tendrá beneficios por participar?**

Si, se le darán los resultados de las pruebas de laboratorio, para que vaya con el médico del centro de salud del poblado y con el nutriólogo del programa EnCausa, y recibir medicina si es que el niño lo necesita. También el nutriólogo le dará a la familia clases del buen comer.

**¿Qué gastos tendremos si nuestro/a hijo/participa en el estudio?**

Ninguno, todos los gastos serán cubiertos por los autores de la investigación.

**¿Podemos retirar nuestra autorización para la participación de nuestro/a hijo/a en cualquier momento, aún luego de haber aceptado?**

Si, en cualquier momento que usted lo decida puede abandonar el estudio sin ninguna consecuencia para usted o su hijo. También, si su hijo no desea que se le tome muestra de sangre, no se le obligará y podrá abandonar el estudio en ese momento.

**¿Quiénes tendrán acceso a los datos personales de nuestro/a hijo/a?**

Solamente los investigadores que participan en el estudio. La información que se tenga de este estudio será confidencial.

**¿A quiénes podemos contactar si tenemos dudas sobre el estudio y los derechos de nuestro/a hijo/a como participante de un estudio de investigación?**

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable. QBC. Astrid Nallely Ramirez Romero, celular: 6622058368 o localizarla en las instalaciones del Laboratorio de Bioquímica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Sonora, ubicado en Av. Luis Donald Colosio no. 260, Hermosillo, Sonora. Cp 83000. Correo electrónico [astrid\\_nallely4e@hotmail.com](mailto:astrid_nallely4e@hotmail.com) o con la Dra. Alma Camacho Villa, celular: 6623174247 quien se localiza en la escuela de Medicina de la Universidad Durango Santander, ubicada en Internacional A Nogales KM 9.8, Cafe Combate, 83165 Hermosillo, Son.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, \_\_\_\_\_ padre, madre o tutor  
\_\_\_\_\_ del niño (a)  
\_\_\_\_\_ he leído

y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado, y entiendo que los datos que se tengan a partir de este estudio pueden ser publicados solo con fines científicos. Deseo que mi hijo participe en este proyecto de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de este documento.

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Firma del padre, madre o tutor

Fecha

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Testigo 1

Fecha

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Testigo 2

Fecha

### **Esta parte debe ser llenada por el investigador:**

He explicado al Sr. \_\_\_\_\_ (a).  
\_\_\_\_\_, el origen y propósito de la investigación, le he explicado los beneficios y riesgos que implica el participar en este estudio. He contestado las preguntas acerca de sus dudas y he confirmado si no cuenta con alguna duda más. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella de forma ética.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedio a firmar el presente documento.

Firma                    y                    fecha                    del                    investigador:

---

## CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo, \_\_\_\_\_ padre, \_\_\_\_\_ madre o \_\_\_\_\_ tutor  
\_\_\_\_\_ del niño (a)  
\_\_\_\_\_ por este

conducto, deseo informar mi decisión de retirarme del estudio de investigación titulado: Expresión de Ciclina D1, TLR2 y TLR4 en células progenitoras hematopoyéticas de un grupo de infantes de 6 a 12 años con desnutrición y en condiciones de pobreza extrema. Por las siguientes razones (opcional):

Si el padre o tutor así lo desea, podrá solicitar que le sea entregada toda la información que se haya recolectado sobre su hijo(a), con motivo de la participación en el presente estudio.

\_\_\_\_\_  
Firma del padre, madre o tutor

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo 1

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Fecha

c.c.p. participante  
c.c.p. archivo

## Anexo II

### **Patrones de crecimiento infantil de la OMS. Tablas de patrones internacionales de crecimiento infantil OMS.**

Los patrones de crecimiento infantil de la OMS son un instrumento que se utilizará extensamente en salud pública y medicina, así como por organizaciones gubernamentales y sanitarias para la vigilancia del bienestar de los niños y para detectar a niños o poblaciones que no crecen adecuadamente —con insuficiencia ponderal o sobrepeso— y a los que puede ser preciso aplicar medidas específicas de atención médica o de salud pública. El crecimiento normal es una expresión fundamental de la buena salud y una medida de los esfuerzos realizados para reducir la mortalidad y morbilidad en la niñez. Los nuevos gráficos constituyen, por consiguiente, un instrumento sencillo para evaluar la eficacia de estos esfuerzos.

Característica de los patrones.

1. Son una serie de valores de peso y altura correspondientes a cada edad que utilizan como referencia para determinar la evolución del crecimiento del niño a su cuidado. Los patrones de referencia actuales no indican cuál es la pauta de crecimiento idónea para la salud del niño, sino que se limitan a describir el crecimiento promedio de los niños.
2. Permiten comparar parámetros del crecimiento importantes, como el peso y la talla/estatura de los lactantes y niños, con un valor de referencia óptimo. Hay gráficos para varones y para hembras y también gráficos para lactantes (hasta un año de edad) y para niños de hasta cinco años y de 6 a 19 años.
3. Por ejemplo, los niños con estatura para la edad son baja (situados por debajo de la línea roja en el gráfico de talla/estatura) o cuyo peso para la estatura es demasiado bajo (por debajo de la línea roja) pueden tener problemas de salud; cuanto más alejados de las líneas

rojas se encuentren, mayores serán las posibilidades de que tengan problemas de salud. En la práctica clínica, estos parámetros ayudan a diagnosticar enfermedades tempranamente y a vigilar la evolución durante el tratamiento.

4. ¿En qué se diferencian los nuevos patrones de crecimiento infantil de la OMS de los gráficos de crecimiento existentes? Por vez primera describen “el crecimiento infantil idóneo”, un enfoque preceptivo, no sólo descriptivo. Estos gráficos demuestran que todos los niños de las principales regiones del mundo pueden alcanzar estatura, peso y grado de desarrollos similares si se les proporciona una alimentación adecuada, una buena atención de salud y un entorno saludable. Se trata, por consiguiente, de un método más proactivo de medir y evaluar el crecimiento de los niños, fijando unos parámetros normativos y evaluando a los niños y a las poblaciones con arreglo a dicho patrón.

#### 5. Clasificación de la desnutrición

<b>Índices antropométricos</b>	
<b>Indicadores</b>	<b>Índices</b>
Emaciación (desnutrición aguda) + Proteína C Reactiva	Peso/talla
Retraso en el crecimiento (desnutrición crónica) + Baja concentración de Albumina sérica	Talla/edad
Peso bajo (desnutrición aguda y/o crónica)	Peso/edad

#### 6. Interpretación de los índices:

Porcentaje de la mediana, Z score, Percentil

Mediana: La mediana se usa en lugar de la media porque la distribución de la población encuestada no sigue una distribución normal.

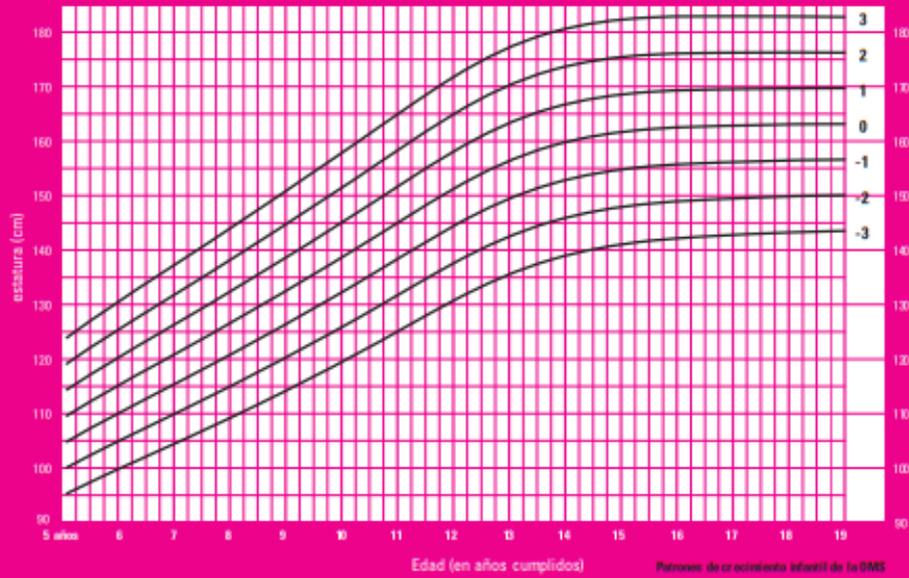
Z score: El Z score es la desviación del valor de la media en términos de unidades de desviación estándar. El término se emplea para analizar variables como la talla o peso de una muestra.

7. En el caso de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2012), se selecciona la sección “antropometría y presión arterial”, y se obtiene la desnutrición crónica de la siguiente manera:

- Para la toma del peso, longitud y talla se usan dos mediciones y en el caso de haber una diferencia de  $\pm 0.5$  kg para peso y  $\pm 0.5$  cm para talla, se toma una tercera medición. El valor final es la media entre las dos mediciones. En caso de haber una tercera medición, esta representa la media de las dos mediciones más cercanas.
- Una vez que se tienen calculadas las variables edad en días, peso, longitud y talla se procede a estandarizar los valores longitud o talla para la edad, peso para la longitud o talla y peso para la edad en base al Manual Anthro (OMS-2007; pág. 20-24) y a las tablas de patrones de crecimiento de la OMS. (OMS-2006; Child Growth Standards).

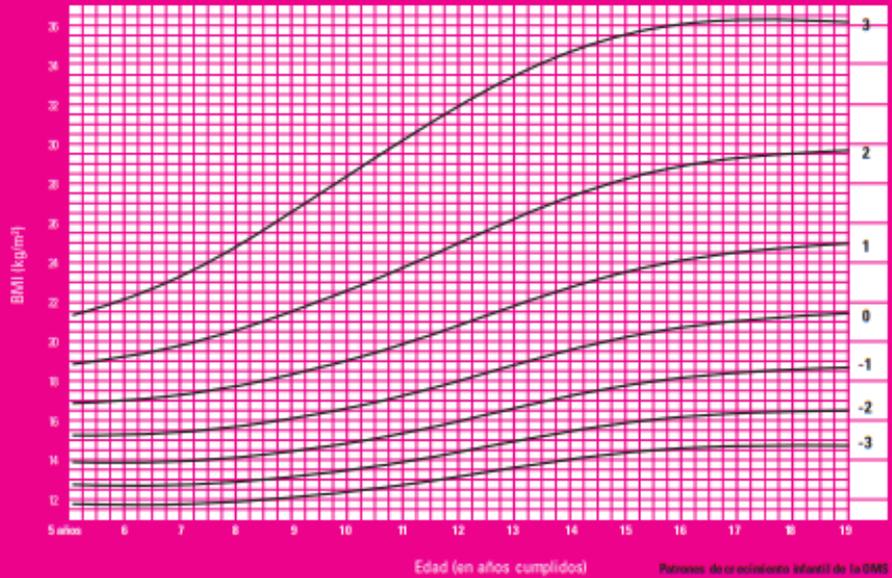
## ESTATURA PARA LA EDAD. NIÑAS

Puntuación Z (5 a 19 años)



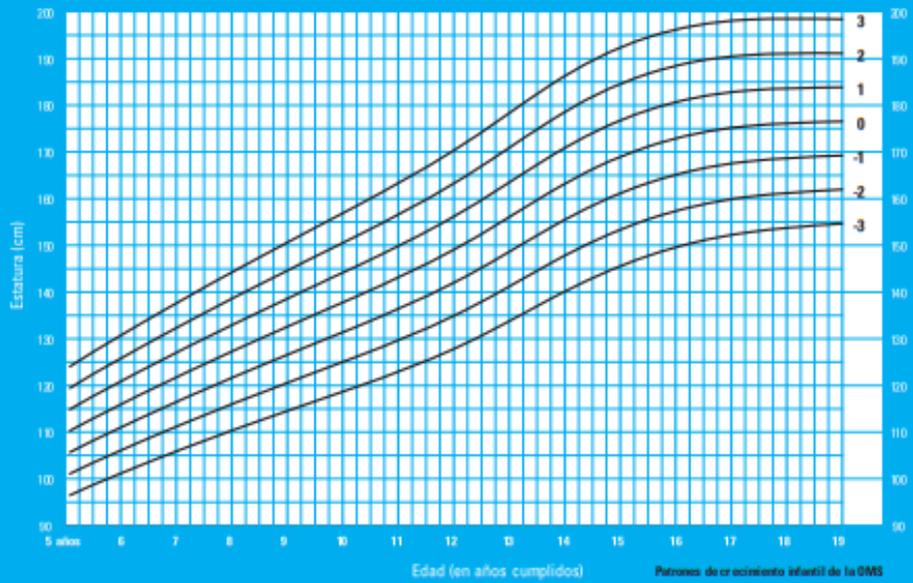
## IMC PARA LA EDAD. NIÑAS

Puntuación Z (5 a 19 años)



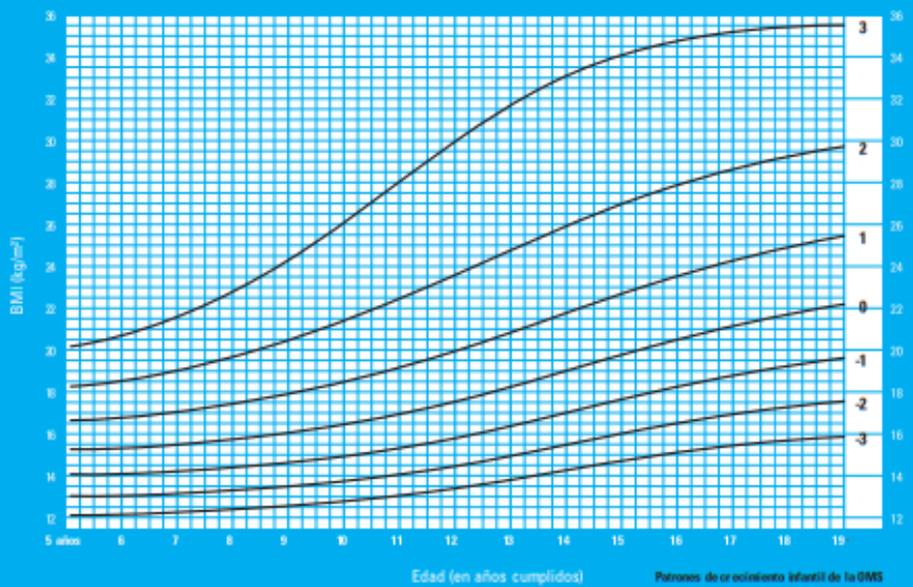
## ESTATURA PARA LA EDAD. NIÑOS

Puntuación Z (5 a 19 años)



## IMC PARA LA EDAD. NIÑOS

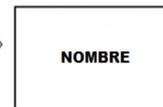
Puntuación Z (5 a 19 años)



## Anexo III

### Indicaciones Para la Toma de Muestra de Orina

#### MUESTRA ORINA:



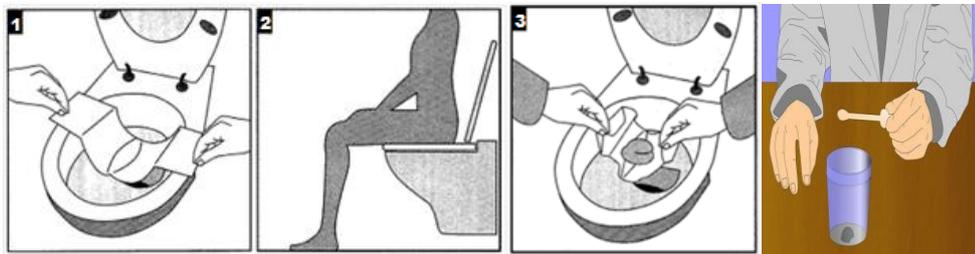
El día de la recolección de la orina (pipí), debe ser el día en que acudirá al centro para la toma de muestra de sangre.

El día de la recolección de la orina, asea (limpia) muy bien tus genitales (partes íntimas), para evitar que la muestra de pipí se contamine.

Después de asear, se debe orinar un poquito dentro del frasquito que se le dio y solo llenar hasta la mitad.

En la etiqueta que trae el frasco, coloque el nombre del niño/a, peguelo en el frasco y llévelo a su centro hábitat.

#### MUESTRA DE COPRO:

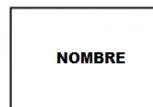


Colocar una bolsa o un recipiente de plástico dentro de la tasa del baño

Recolectar una porción de popó dentro del recipiente, a cualquier hora del día.

Después, tomar con la cucharita que trae el frasco, una pequeña cantidad de popó y colocarla dentro del frasco.

5



En la etiqueta que trae el frasco, coloque el nombre del niño/a, peguelo en el frasco y llévelo a su centro hábitat.

Si la muestra la tomo un día antes de ir a su cita, debe guardar el frasco en un lugar fresco.

## Toma de Muestra de Sangre



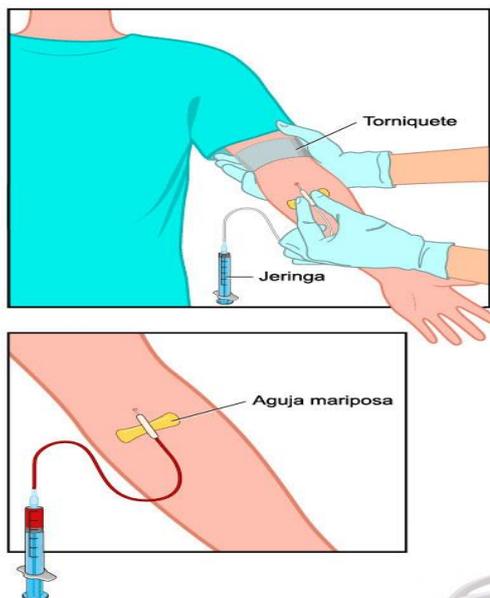
1

El día que vayan a ir a la toma de muestra de sangre, el niño/a no debe de desayunar durante unas 4 a 6 horas. Tampoco debe tomar bebidas dulces (jugos, sodas, etc) únicamente agua.



2

Se coloca una liga (torniquete) en el brazo del niño, se revisa la vena de donde se tomará la muestra de sangre. Se limpia con un algodón con alcohol (desinfecta).



2

Con una aguja especial para niños, que es nueva (estéril) y pequeña llamada "mariposa", se le dará un (piquete) al niño/a para tomar la muestra de sangre. La toma dura aproximadamente menos de un minuto.





3

Por último, se le pondrá una “curita” al niño/a y debe de doblar el brazo para que no le siga saliendo sangre. Posiblemente, puede quedarle un pequeño moretón en el lugar de donde se le tomo la muestra, el cual se le quitara durante el paso de los días.