



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DEL SUBPRODUCTO DE MANGO SOBRE LA
MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE DE NIÑOS
DURANTE EPISODIOS DE INFECCIONES RESPIRATORIAS
Y GASTROINTESTINALES”**

TESIS INDIVIDUAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

GABRIELA GARCÍA MARÍN

DIRIGIDA POR

DRA. IZA FERNANDA PÉREZ RAMÍREZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2018



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DEL SUBPRODUCTO DE MANGO SOBRE LA
MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE DE NIÑOS
DURANTE EPISODIOS DE INFECCIONES RESPIRATORIAS
Y GASTROINTESTINALES”**

TESIS INDIVIDUAL

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

GABRIELA GARCÍA MARÍN

DIRIGIDA POR

DRA. IZA FERNANDA PÉREZ RAMÍREZ

SINODALES

**Dra. IZA FERNANDA PÉREZ RAMÍREZ
DIRECTOR**

**Dra. MIRIAM ARACELY ANAYA LOYOLA
SINODAL**

**Dr. JOSÉ ANTONIO ENCISO MORENO
SINODAL**

**Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO
SINODAL**

**M. en C. DAVID G. GARCÍA GUTIERREZ
SINODAL**

INDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	ii
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES	1
1.1. Infecciones respiratorias	1
1.1.1. Epidemiología	2
1.1.2. Clasificación de las infecciones respiratorias	2
1.2. Infecciones gastrointestinales	6
1.2.1. Epidemiología	7
1.2.2. Clasificación de las infecciones gastrointestinales	8
1.3. Sistema inmune	11
1.3.1. Sistema innato	11
1.3.1.1. Inflamación	13
1.3.2. Sistema adaptativo	16
1.4. Tratamientos para las infecciones respiratorias agudas	22
1.4.1. Tratamientos farmacológicos	22
1.4.2. Tratamientos no farmacológicos	23
1.5. Tratamientos para las infecciones gastrointestinales	26
1.5.1. Tratamientos farmacológicos	26
1.5.2. Tratamientos no farmacológicos	27
1.6. Prebióticos	28
1.6.1. Subproducto de frutas	30
1.6.1.1. Mango	31

2. HIPÓTESIS	34
3. OBJETIVOS	35
3.1. General	35
3.2. Específicos	35
4. METODOLOGÍA	36
4.1. Material biológico (subproducto de mango)	36
4.2. Material químico	36
4.3. Caracterización de compuestos bioactivos del subproducto de mango	36
4.3.1. Cuantificación de polifenoles totales/extraíbles	36
4.3.2. Cuantificación de flavonoides extraíbles	37
4.3.3. Cuantificación de polifenoles hidrolizables	37
4.3.4. Cuantificación de taninos condensados	38
4.3.5. Determinación de carotenoides	38
4.3.6. Determinación de fitoesteroles	39
4.3.7. Determinación del perfil de polifenoles extraíbles e hidrolizables, carotenoides y fitoesteroles por UPLC-QTOF MS ^E	40
4.3.8. Determinación de fibra dietaria total, soluble e insoluble	41
4.4. Reclutamiento de voluntarios para el estudio de intervención	42
4.5. Aplicación de cuestionarios	43
4.6. Biometría hemática	44
4.7. Cuantificación de proteínas del sistema inmune	45
4.8. Análisis estadísticos	46
5. RESULTADOS	48
5.1. Caracterización de compuestos bioactivos del subproducto de mango	48
5.2. Estudio de intervención	53
5.2.1. Características antropométricas	53
5.2.2. Parámetros hematológicos	55
5.2.3. Síntomas de infecciones respiratorias agudas	56
5.2.4. Síntomas de infecciones gastrointestinales	62

5.2.5. Cuantificación de inmunoglobulinas	65
5.2.6. Cuantificación de proteínas del sistema inmune	65
6. DISCUSIÓN	73
6.1. Caracterización de compuestos bioactivos del subproducto de mango	73
6.1.1. Determinación de la fibra total, soluble e insoluble	73
6.1.2. Determinación de compuestos bioactivos.	75
6.2. Efecto del consumo de subproducto de mango en la modulación de la respuesta inmune de niños sanos	77
6.2.1. Síntomas de infecciones respiratorias agudas	77
6.2.2. Síntomas de infecciones gastrointestinales agudas	78
6.2.3. Análisis de biometría hemática	79
6.2.4. Análisis de proteínas relacionadas al sistema inmune.	79
7. CONCLUSIONES	86
8. BIBLIOGRAFÍA	87
ANEXOS	97

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Agentes etiológicos asociados a infecciones respiratorias altas.	5
2	Agentes etiológicos asociados a infecciones respiratorias bajas	6
3	Agentes etiológicos asociados con la gastroenteritis infecciosa	9
4	Propiedades de algunas quimiocinas relacionadas con el sistema inmune	14
5	Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble del subproducto de mango	48
6	Contenido de polifenoles extraíbles, flavonoides, polifenoles no extraíbles, taninos condensados, carotenoides y fitoesteroles	49
7	Identificación de polifenoles extraíbles de subproducto de mango por UPLC-QTOF MS ^E	50
8	Identificación de polifenoles no extraíbles de subproducto de mango por UPLC-QTOF MS ^E	52
9	Identificación de carotenoides y fitoesteroles de subproducto de mango por UPLC-QTOF MS ^E	53
10	Parámetros antropométricos al inicio (mes 0) y final (mes 2) del estudio de intervención	55
11	Parámetros hematológicos al inicio (mes 0) y final (mes 23) del estudio de intervención.	56
12	Número de participantes que presentaron alguno de los síntomas relacionados con IRA	57
13	Incidencia de síntomas de infecciones respiratorias agudas durante el estudio de intervención.	58

Cuadro		Página
14	Duración de los síntomas de infecciones respiratorias agudas durante el estudio de intervención	60
15	Severidad de los síntomas de infecciones respiratorias agudas durante el estudio de intervención	61
16	Incidencia de síntomas de infecciones gastrointestinales durante el estudio de intervención	62
17	Duración de síntomas de infecciones gastrointestinales en días durante el estudio de intervención	63
18	Número de evacuaciones al día durante el periodo de tratamiento. Número de participantes que presentó evacuaciones con características líquidas, pastosas o formadas.	64
19	Niveles de inmunoglobulinas en niños con tratamiento al inicio y término del estudio.	65
20	Cuantificación de 40 proteínas relacionadas con el sistema inmune para cada grupo de tratamiento y tiempo de análisis.	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Fases de respuesta a una infección	12
2	Estructura de un anticuerpo	18
3	Respuesta anamnésica	21
4	Mecanismos mediante los cuales los sustratos dietéticos se vuelven disponibles para las microbiotas asociadas a la mucosa en el intestino grueso	29
5	Diagrama del estudio de intervención	43
6	Distribución de participantes según género en cada grupo de estudio	54
7	Edad de los participantes en cada grupos de estudio	54
8	Gráficos de box-plots de CD40 (a), IL-18 (b), FASL (c) y MCP-1(d) de acuerdo al tratamiento, tiempo de experimentación y niveles séricos de IgG.	70
9	Análisis de PSL-DA de la respuesta del subproducto de mango y del placebo sobre las proteínas del sistema inmune antes y al final del estudio de intervención.	71
10	Análisis de oPLS-DA de la respuesta del subproducto de mango (a) y del placebo (b) sobre las proteínas del sistema inmune antes y al final del estudio de intervención	71
11	Heat map con perfil de proteínas global de cada uno de los participantes del estudio	72

RESUMEN

México es considerado el quinto productor de mango a nivel mundial con una producción de más de dos millones de ton/año. El 13.5% de la producción de mango es destinado a su procesamiento industrial, principalmente para la elaboración de jugos y néctares, produciendo una gran cantidad de residuos agroindustriales, aproximadamente el 32% del peso total de la fruta. Dicho residuo se encuentra conformado por cáscara, semilla y remanente de pulpa (bagazo). La cáscara y el remanente de pulpa son ricos en compuestos bioactivos, tales como fibra dietaria, polifenoles y carotenoides, siendo que la fibra dietaria y los polifenoles no extraíbles presentan actividades prebióticas, regulando la flora intestinal y por lo tanto, la respuesta inmune. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del subproducto de jugo de mango sobre la modulación de la respuesta inmune en niños en edad escolar (6 a 8 años) durante episodios de infecciones respiratorias y gastrointestinales por medio de un estudio de intervención paralelo en doble ciego. El tratamiento con subproducto de mango generó una disminución significativa ($p < 0.05$) en la incidencia de infecciones respiraciones agudas y gastrointestinales, disminuyendo los síntomas característicos de la enfermedad. Estos efectos benéficos fueron asociados a la activación del sistema inmune ya que el subproducto moduló los niveles séricos de CD40, IL-10, IL-18, CD163, FAS L, G-CSF, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1. Dicho efecto inmunomodulatorio podría estar asociado al alto contenido de fibra dietaria en el subproducto de mango y con altos niveles de compuestos bioactivos incluyendo polifenoles como ácido elágico y miricetina 3-O-ramnosido, carotenoides y fitoesteroles. Como conclusión, el subproducto de mango puede ser utilizado como un suplemento funcional por ser una fuente rica en compuestos bioactivos con efectos benéficos en la respuesta inmune.

1. ANTECEDENTES

1.1. Infecciones respiratorias

Las infecciones respiratorias son enfermedades que afectan las vías respiratorias, incluidas las vías nasales, los bronquios y los pulmones. Son afecciones muy frecuentes que constituyen una importante causa de morbilidad tanto en personas adultas como en niños y generalmente se presentan como infecciones respiratorias agudas (Llor y col., 2017).

Los síntomas relacionados a las infecciones respiratorias varían dependiendo del agente etiológico, si se ha tenido un contacto previo con el mismo o si hay agentes antigénicamente relacionados y el estado inmunológico del paciente. El espectro de signos y síntomas incluye el aumento de las secreciones mucosas con corrimiento nasal u obstrucción nasal, edema inflamatorio de la mucosa, estornudos, odinofagia y congestión conjuntival. Puede haber síntomas sistémicos como fiebre (siempre de bajo grado), mialgias, cefaleas, tos seca, afonía, entre otros (Macedo y Mateos, 2006). Las infecciones respiratorias virales generalmente son en vías respiratorias altas y autolimitadas (Abbas y col., 2017).

Esta clase de infecciones pertenece al grupo de enfermedades respiratorias al que también pertenecen las enfermedades respiratorias crónicas, las cuales pueden distinguirse unas de otras puesto que en las crónicas no se involucra un organismo patógeno. Las enfermedades crónicas respiratorias incluyen enfermedades como el asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, alergias respiratorias, enfermedades pulmonares de origen laboral y la hipertensión pulmonar (OMS, 2017).

1.1.1. Epidemiología

La morbilidad y la mortalidad relacionadas con las enfermedades pulmonares es elevada, ya que las enfermedades respiratorias (incluyendo la tuberculosis) representan un cuarto de las muertes en el mundo, siendo las infecciones respiratorias la principal causa de muerte de los países en desarrollo (Ferkol y Schraufnagel, 2014).

Las infecciones respiratorias agudas son las infecciones más comunes en niños, con una mortalidad de 4 millones de muertes anuales a nivel global, siendo la neumonía la causa principal de estas muertes. Las infecciones respiratorias agudas son causantes del 30 al 40% de las consultas, y del 20 al 30% de las hospitalizaciones en todos los países (González, 2013). De acuerdo con el Foro de Sociedades Respiratorias Internacionales, los factores de riesgo asociados a las infecciones respiratorias son las bajas tasas de inmunización y una nutrición deficiente, aunado a la sobrepoblación que permite la transmisión de las enfermedades con un potencial epidémico, haciendo que los brotes sean más frecuentes (Ferkol y Schraufnagel, 2014).

En México las infecciones respiratorias agudas constituyen un problema de salud prioritario por su continua presencia dentro de las diez principales causas de defunción en los distintos grupos de edad. En 2016 se registró un total de 23 445 722 casos de infecciones respiratorias agudas en México, encabezando las causas de morbilidad en el país, de las cuales 3 203 864 casos corresponden a niños de entre 5 y 9 años de edad, es decir, en edad escolar (Secretaría de salud, 2016).

1.1.2. Clasificación de las infecciones respiratorias

Las infecciones respiratorias agudas son afecciones del tracto respiratorio superior o inferior, generalmente de etiología infecciosa, que pueden producir un espectro de enfermedades que van desde infecciones asintomáticas o leves hasta

enfermedades graves y fatales, dependiendo del patógeno causante, de factores ambientales y del huésped (Secretaría de Salud, 2012).

Las infecciones respiratorias agudas pueden ser causadas por virus, bacterias, hongos o una combinación de ellos; sin embargo, en niños son generalmente ocasionadas por agentes virales, seguidos en frecuencia por los bacterianos, causando mayormente nasofaringitis, otitis, epiglotitis, laringitis, bronquitis y neumonía (López y col., 2016).

Las infecciones respiratorias agudas se clasifican según la localización en infecciones respiratorias altas, que son las que afectan al tracto respiratorio superior, y en infecciones respiratorias bajas, es decir, las que afectan al tracto respiratorio inferior. Las infecciones de las vías respiratorias superiores son infecciones de la boca, nariz, garganta, laringe (caja vocal) y tráquea. Las infecciones de las vías respiratorias superiores pueden ser una de las siguientes condiciones (Grief, 2013):

- Nasofaringitis (resfriado común). Es una de las causas más frecuentes de infecciones respiratorias agudas, normalmente se presenta con congestión nasal (80% de los casos) y rara vez con fiebre. La causa de este padecimiento es viral, y en la mayoría de los casos no se realiza la identificación del agente infeccioso. Normalmente los niños que cursan la escolaridad de primaria presentan de 7 a 12 episodios de resfriado común al año y el tratamiento que se les proporciona es simplemente para mitigar por separado cada uno los síntomas de la enfermedad como es la congestión nasal, dolores de cabeza o fiebre.
- Sinusitis. Se define como la inflamación de la mucosa nasal y los senos paranasales y es un diagnóstico común en atención primaria. La distinción de un resfriado común y sinusitis normalmente se determina por la duración

del padecimiento, puesto que la sinusitis dura hasta 4 semanas mientras que el resfriado común es de hasta 7 días. El diagnóstico y la diferenciación entre sinusitis viral y bacteriana se realizan clínicamente, basándose en la historia clínica y la exploración, lo cual es importante para la selección del tratamiento de la enfermedad.

- Faringitis. Es el tercer diagnóstico más frecuente en la práctica de clínica pediátrica, que además forma parte de la sintomatología del resfriado común. Se caracteriza por la inflamación de la faringe y es causada por diferentes virus o bacterias, siendo más común el agente etiológico *Streptococcus pyogenes*, responsable de al menos el 30% de todas las infecciones faringoamigdalares agudas. Es necesario la identificación del agente patógeno, especialmente al estreptococo beta hemolítico del grupo A para prevenir complicaciones potenciales tales como fiebre reumática, absceso periamigdalino, glomerulonefritis postestreptocócica.
- Epiglotitis. Es una infección grave de la laringe supraglótica que resulta en edema epiglótico con la consiguiente obstrucción laríngea. Suele presentarse en niños mayores de dos años, pero también puede ocurrir en adultos. Su etiología es bacteriana, principalmente causado por *Haemophilus influenzae* tipo b.
- Laringotraqueobronquitis. Es una infección viral alta y baja vinculada con la edad, que produce una inflamación en el área subglótica que conduce a un cuadro clínico caracterizado por disnea y estridor inspiratorio característico. Es una afección inflamatoria inducida por infección que afecta a la laringe, la tráquea y los bronquios. Esta enfermedad es común en niños de entre 6 meses y 6 años de edad.

Cuadro 1. Agentes etiológicos asociados a infecciones respiratorias altas (Grief, 2013).

Enfermedad respiratoria	Agente etiológico
Nasofaringitis (resfriado común)	Seis familias principales: rinovirus, influenza A/B/C, parainfluenza, virus respiratorio sincitial, coronavirus y adenovirus.
Sinusitis	Las agentes bacterianos más frecuentes: <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> .
Faringitis	Estreptococo del grupo A principalmente, puede ser causado por otras bacterias o por virus
Epiglotitis	Su principal causal es <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b.
Laringotraqueobronquitis	Causada principalmente por virus como parainfluenza I y II, influenza tipo A o B, virus sincitial respiratorio y adenovirus.

Por otro lado, las infecciones respiratorias bajas son enfermedades de mayor gravedad entre las que encontramos las siguientes (Simoes y col., 2006):

- Bronquiolitis. Es la enfermedad más común en vías respiratorias bajas. Se caracteriza por una inflamación extensa de las vías respiratorias acompañada de una mayor producción de moco y necrosis de las células epiteliales de las vías respiratorias. La bronquiolitis es causada principalmente por la infección de las células epiteliales respiratorias por virus. En pacientes pediátricos, la bronquiolitis es un diagnóstico clínico caracterizado por taquipnea, sibilancias o crepitaciones en lactantes después de una enfermedad respiratoria superior precedente.

- Neumonía. Es la principal causa de mortalidad infantil a nivel mundial y se caracteriza por fiebre de más de 38.5 °C (en axila), tos, dificultad respiratoria y taquipnea. Esta enfermedad se genera por el crecimiento bacteriano o viral en las vías respiratorias distales y la respuesta inflamatoria resultante conduce a lesión celular que perjudica el intercambio de gases, altera la presión pulmonar.
- Influenza. A pesar de causar infecciones en las vías respiratorias altas para pacientes adultos, se han incrementado los casos en infantes donde se genera una infección respiratoria baja, siendo la segunda causa más importante de hospitalizaciones infantiles con una infección respiratoria aguda.

Cuadro 2. Agentes etiológicos asociados a infecciones respiratorias bajas (Grief, 2013).

Enfermedad respiratoria	Agente etiológico
Bronquiolitis	El virus respiratorio sincitial (VSR) es el principal agente causal, pero también están implicados otros virus (por ejemplo, adenovirus, influenza, parainfluenza, metapneumovirus humano, rinovirus).
Neumonía	Es causada por diversos agentes entre los que destacan <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b y <i>Staphylococcus aureus</i> .
Influenza	Influenza tipo A (infecciones estacionales) y tipo B

1.2. Infecciones gastrointestinales

Las infecciones gastrointestinales pueden ser crónicas y debilitantes; esta clase de infecciones afecta directamente el consumo, digestión y absorción de nutrientes

colocando al paciente en un alto riesgo nutricional (Carey y col., 2012). El sistema gastrointestinal tiene como función nutrir al organismo así como excretar los desperdicios; una disfunción gastrointestinal puede afectar otros organismos y puede estar implicado en el desarrollo de una falla multiorgánica (Nesbitt, 2017). Entre las infecciones gastrointestinales, la diarrea de etiología infecciosa, tanto si es debida a una bacteria como a un virus, tiene una incidencia preponderante. El mecanismo infeccioso de la diarrea puede ser de tipo invasor, por colonización del tracto intestinal y toxigénico (Paredes y Roca, 2004).

El intestino humano es el hábitat natural de una población numerosa, diversa y dinámica de microorganismos, principalmente bacterias que se han adaptado para vivir en las superficies mucosas del lumen gastrointestinal. La microbiota intestinal incluye especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastrointestinal y una serie cambiante de microorganismos vivos que pasan a través del tracto digestivo de forma transitoria. Diversas enfermedades son el resultado de una microbiota alterada como es el caso de la diarrea infecciosa y la diarrea asociada a la administración de antibióticos, complicaciones por sepsis, desordenes de función gastrointestinal, obesidad, diabetes tipo 2, síndrome metabólico, enfermedades autoinmunes o cáncer de colon (Polanco, 2015).

1.2.1. Epidemiología

Las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes y solamente son superadas por las infecciones del tracto respiratorio. Las infecciones gastrointestinales, específicamente la diarrea infecciosa, se encuentran en el 8º lugar de las causas de mortalidad a nivel mundial, causando 1.4 millones de muertes en el 2015. En el caso de los países en desarrollo se encuentra en el 2º lugar de entre las causas principales de mortalidad, con 57.2 muertes por cada millón de habitantes (OMS, 2015).

En México, uno de los principales problemas de salud son las infecciones gastrointestinales; estas infecciones se presentan con mayor incidencia en la población infantil y está asociado con el nivel socioeconómico de los pacientes.

En México, las infecciones intestinales se encuentran en el 2º lugar de entre las veinte principales causas de enfermedad nacional, justo después de las infecciones respiratorias agudas. En el año 2016 se presentó un total de 4 476 041 casos de infecciones intestinales, de los cuales 451 211 corresponden a niños de edad escolar (5 a 9 años) (Secretaría de Salud, 2016). Además entre las diez primeras causas de muerte infantil se presentan las diarreas que, en el año 2015, representó el 2.7% de las defunciones en personas de entre 0 y 14 años de edad (Secretaría de salud, 2015). En el año 2010, las enfermedades gastrointestinales infecciosas (principal causa de diarrea) ocuparon el 23º lugar de las causas totales de muerte a nivel nacional (CEVECE, 2016).

1.2.2. Clasificación de las infecciones gastrointestinales

Las infecciones gastrointestinales son una de las primeras causas de consulta médica y también una de las primeras causas de muerte en México y en el mundo. Por ello, se les considera un problema de salud pública a nivel mundial que afecta a personas de cualquier edad y condición social, aunque los grupos más vulnerables son los niños y los ancianos (Hernández y col., 2011).

Las enfermedades gastrointestinales pueden tener una etiología infecciosa o no infecciosa. En el caso de las enfermedades gastrointestinales no infecciosas pueden provocarse por los cambios de osmolaridad o alteraciones en la microbiota intestinal del paciente ocasionados por la dieta o medicamentos, como es el caso de los antibióticos que irritan la mucosa intestinal y alteran la microbiota (Díaz y col., 2014). La gastroenteritis aguda infecciosa puede ser causada por una variedad de bacterias, virus y parásitos. Los agentes más frecuentemente involucrados varían de acuerdo a las condiciones socioeconómicas y sanitarias de la región, así como

con la edad del paciente (Yalda, 2014). En el cuadro 3 se encuentran los principales agentes patógenos en la gastroenteritis infecciosa.

Cuadro 3. Agentes etiológicos asociados con la gastroenteritis infecciosa (Díaz y col., 2014).

Tipo de agente	Agente etiológico	
Virus	<i>Rotavirus</i> <i>Adenovirus</i> (serotipos 40/41) <i>Astrovirus</i> <i>Norovirus</i> (<i>Calicivirus</i>)	<i>Parvovirus</i> <i>Cyomegalovirus</i> <i>Coronavirus</i>
Bacterias	<i>Campylobacter</i> sp <i>Salmonellas</i> <i>Shigella</i> sp <i>Escherichia coli</i> sp <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i>	<i>Vibrio cholerea</i> 01 <i>Vibrio cholera</i> 0139 <i>Vibrio parahemolitico</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Clostridium botulinum</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Aeromonas plesiomonas</i>
Protozoarios	<i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium</i> sp <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Crytosporidium</i> <i>Isospora belli</i>	<i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Dientamoeba fragilis</i> <i>Blastocystis</i> sp <i>Encephalitozoon bienewisi</i> <i>Enterocytozoon intestinales</i>
Helmintos	<i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Angyostrongylus costaricensis</i>	<i>Shistosoma japonicun</i> <i>Capillaria philippinensis</i> <i>Anisakis simple</i>

La gastroenteritis tiene manifestaciones clínicas destacadas como fiebre, vómito, dolor abdominal y diarrea moderada a intensa. Las características de la diarrea es un dato central, la naturaleza de ésta es la base para clasificar la etiología de

infección. Desde el punto de vista fisiopatológico, las diarreas se explican por alguno diferentes mecanismos que incluyen la presencia de sustancias osmóticamente activas en el lumen intestinal (diarrea osmótica), incremento exagerado de secreciones del tubo digestivo (diarrea secretora), anomalías en los mecanismos de transporte a través de las membranas de las células epiteliales, alteraciones morfológicas que afectan la superficie de absorción y la permeabilidad de la mucosa intestinal, así como trastornos en la motilidad (Hernández y col., 2011).

Las diarreas también pueden clasificarse en función de tiempo como diarrea aguda (de corta duración, menos de 14 días de duración) y diarrea crónica (de evolución prolongada, más de 30 días), en algunos casos se clasifica también la diarrea persistente (más de 14 días de duración). Según sus características, las diarreas se pueden clasificar en diarrea acuosa o secretora, que es la forma más común de gastroenteritis que se caracteriza por evacuaciones más o menos líquidas y frecuentes. Este tipo de diarrea es generalmente producida por infecciones que atacan el intestino delgado proximal, que es la porción intestinal que absorbe más del 90% de los fluidos (Guerrant y col., 2001).

Por otra parte, la diarrea invasiva o disentería comienza con evacuaciones intestinales frecuentes pero las heces son de menor volumen y puede contener sangre, moco o pus. La fiebre, el dolor abdominal y el tenesmo son síntomas habituales. Los microorganismos que causan diarrea invasiva pueden producir cambios inflamatorios y destructivos en la mucosa del colon por invasión directa o mediante la producción de citotoxinas como la toxina shiga generada por *S. dysenteriae* y *Escherichia coli*, la cual inhibe la absorción de agua en la mucosa colónica humana *in vitro* y produce acumulación de fluido en fragmentos de colon ligado de ratas (Vila y col., 2009).

Cuando hay sospecha de un cuadro de gastroenteritis se debe llevar a cabo una detallada historia clínica y un correcto análisis microbiológico. Los antecedentes

epidemiológicos, los factores predisponentes como la inmunosupresión, el cuadro clínico que presenta el paciente (fiebre, dolor abdominal, náuseas y vómitos), así como el tipo de diarrea pueden orientar a la identificación del microorganismo implicado. No obstante el diagnóstico definitivo solo puede obtenerse mediante una prueba de laboratorio (Vila y col., 2009).

1.3. Sistema inmune

El sistema inmune es el sistema de defensa del cuerpo humano cuyo propósito principal es el reconocimiento de una gran variedad de patógenos o de heridas y actuar en respuesta a ellos (Cota y Midwinter, 2015). El sistema inmune está dividido en dos componentes principales que son el sistema innato o inespecífico y el sistema adaptativo o específico. El sistema innato provee una respuesta general, mientras que la respuesta adaptativa, que posee especificidad y memoria, es una respuesta más apropiada cuando se expone nuevamente a un patógeno (Cota y Midwinter, 2015).

La respuesta a una infección inicial ocurre en tres diferentes pasos: la fase innata, la inducción temprana de la respuesta innata y la respuesta inmune adaptativa (Figura 1). Las primeras dos fases se basan en el reconocimiento de patógenos por receptores de líneas germinales del sistema inmune innato, mientras que la inmunidad innata utiliza receptores variables antígeno específicos que son producidos por reordenamientos de segmentos génicos (Murphy y Weaver, 2014).

1.3.1. Sistema innato

El sistema inmunitario innato obstaculiza la entrada de los microorganismos y elimina o limita el crecimiento de muchos de ellos capaces de colonizar los tejidos (Abbas y col., 2012). La inmunidad innata incluye las defensas contra la infección que aún antes del ataque de un patógeno ya están listas para activarse de inmediato (Kindt y col., 2007).

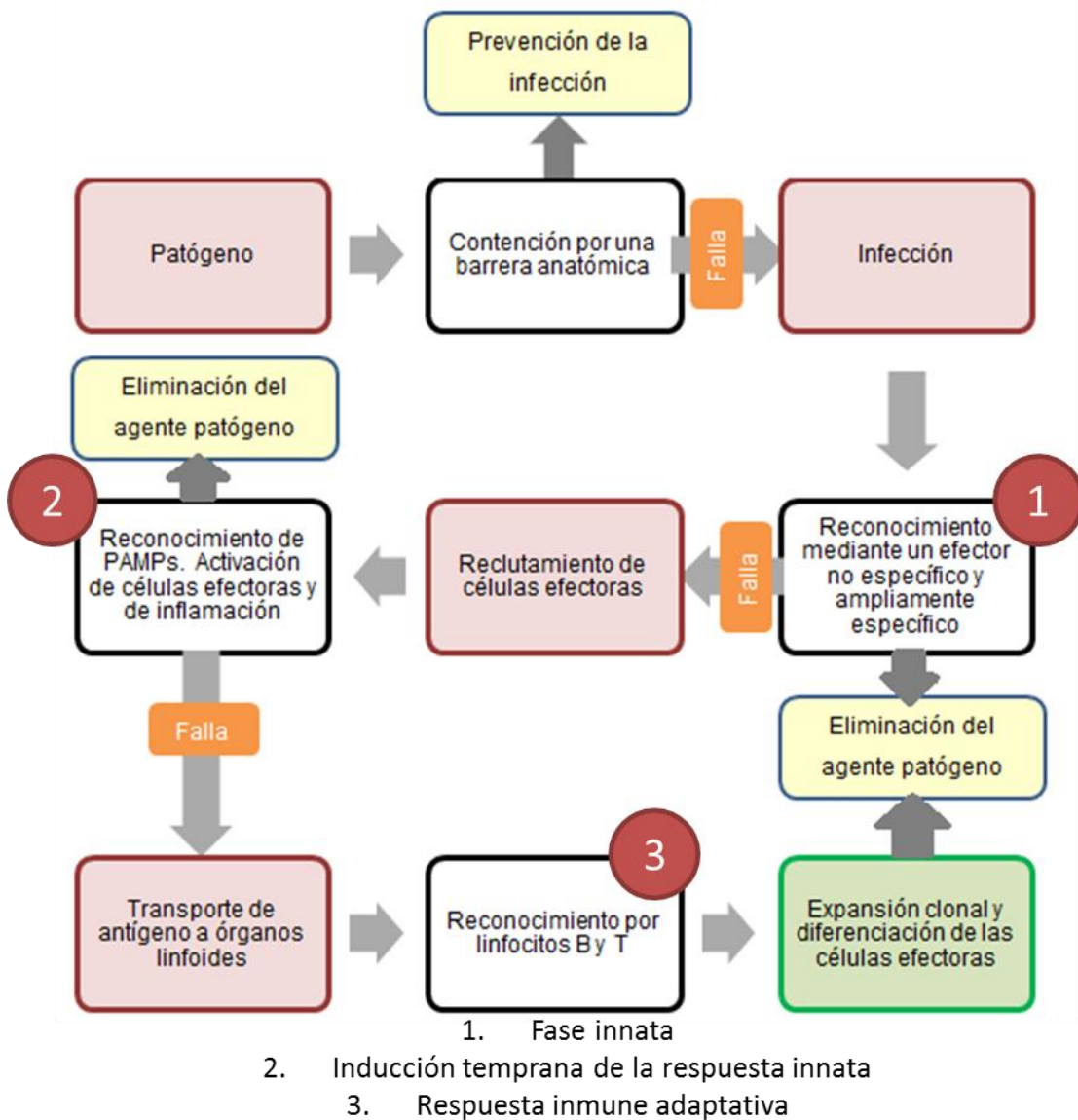


Figura 1. Fases de respuesta a una infección (Murphy y Weaver, 2014).

La segunda línea de defensas, que continúa siendo inespecífica, incluye la fagocitosis y la inflamación, las cuales son reguladas con células especializadas y proteínas solubles con el complemento como el principal mediador (Cota y Midwinter, 2015).

1.3.1.1. Inflamación

La principal vía por la que el sistema inmunitario innato se enfrenta a las infecciones y a la lesión tisular es estimulando la inflamación aguda, que es la acumulación de leucocitos, proteínas plasmáticas y líquido derivados de la sangre en un tejido extravascular infectado o dañado (Abbas y col., 2012). La reacción inflamatoria aguda combate las primeras fases de una infección y pone en marcha procesos que llevan a la reparación del tejido dañado (Kindt y col., 2007).

Entre los mediadores de la inflamación se encuentran las citocinas, las cuales son secretadas por los glóbulos blancos, macrófagos y otras células del cuerpo en respuesta a estímulos como tejido dañado, infección o inflamación, y tienen papeles importantes en la regulación del desarrollo y comportamiento de las células inmunitarias efectoras. E-selectina y P-selectina son un subgrupo importante que actúan como quimioatrayentes aunque no son los únicos, otras moléculas llamadas quimiocinas, liberadas principalmente por células endoteliales, provocan un gradiente de concentración para generar diapédesis, es decir, la migración de células inmunológicas hacia el tejido que está siendo dañado. Algunas quimiocinas se enlistan en el cuadro 4 (Kindt y col., 2007; Murphy y Weaver, 2014).

Tres de las citocinas proinflamatorias más importantes del sistema inmunitario innato son el factor de necrosis tumoral (TNF), la interleucina 1 (IL-1) y la interleucina 6 (IL-6). El TNF es un mediador de la respuesta inflamatoria aguda a las bacterias y otros microorganismos infecciosos, es llamado TNF- α para distinguirlo del TNF- β , estrechamente relacionado con él. TNF- α es una citosina proinflamatoria pleitrófica que es producida por macrófagos activados principalmente, aunque puede también ser inducida por otras células. En los macrófagos, se sintetiza en forma de la proteína membranaria del tipo II no glucosilada y se expresa como homotrímero, que es capaz de unirse a una forma de receptor para el TNF. La función principal del TNF- α es la sobre-regulación de múltiples proteínas pro-inflamatorias (quimiocinas, citocinas, moléculas de

adhesión, factores de crecimiento, entre otras) por medio de la activación de las vías del factor de transcripción factor nuclear κ B (NF- κ B) y de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) (Abbas y col., 2012; Striz y col., 2014).

Cuadro 4. Propiedades de algunas quimiocinas relacionadas con el sistema inmune (Murphy y Weaver, 2014).

Quimiocina	Producida por	Células atacadas	Efectos principales
IL-8	Monocitos, macrófagos, fibroblastos, células epiteliales y células endoteliales	Neutrófilos Células T nativas	Mobiliza, activa y degranula neutrófilos, angiogénesis
MIP-1 α	Monocitos, células T, fibroblastos, mastocitos	Monocitos, linfocitos NK y T, basófilos, células dendríticas	Compite con HIV-1, defensa antiviral, promueve la inmunidad T _H 1
MIP-1 β	Monocitos, macrófagos, neutrófilos, endotelio	Monocitos, linfocitos NK y T, células dendríticas	Compite con VIH-1
MCP-1	Monocitos, macrófagos, fibroblastos, keratinocitos	Monocitos, linfocitos NK y T, basófilos y células dendríticas	Activa los macrófagos, libera histamina basófila, promueve la inmunidad la inmunidad T _H 2

La familia de la IL-1 incluye las citocinas más potentes producidas por las células del sistema inmune innato. Hay dos formas de IL-1, llamadas IL-1 α e IL-1 β , que tienen una homología menor del 30% entre sí, pero se unen a los mismos receptores (CD121a y CD121b) de la superficie celular y exhiben las mismas actividades biológicas. La principal forma secretada con actividad biológica es la IL-1 β (Abbas y col., 2012; Striz y col., 2014).

La IL-1 α se detecta raramente en la sangre u otros fluidos corporales en seres humanos excepto durante las enfermedades graves, en cuyo caso puede ser liberada de las células moribundas. La pro-IL-1 α también ejerce actividades intracelulares independientes de la unión con los receptores de la superficie celular, mientras que la pro-IL-1 β es inactiva. Ambas IL-1 promueven el reclutamiento de células inflamatorias en el sitio de la inflamación induciendo la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales y mediante la liberación de quimioquinas por las células del estroma, mientras que la IL-1 α , liberada de las células que mueren, inicia la inflamación estéril al inducir el reclutamiento de neutrófilos, la IL-1 β promueve el reclutamiento y la retención de los macrófagos. (Gabay y col., 2010; Rider y col., 2011).

La IL-6 es una citocina pleiotrópica producida principalmente por monocitos, macrófagos y células epiteliales, pero también puede inducirse en células endoteliales y fibroblastos, células de médula ósea, neutrófilos, mastocitos o células T y B. La IL-6 regula las funciones fisiológicas de múltiples tipos de células inmunes y no inmunes y representa una interfase crítica entre los sistemas inmunológico, endocrino y neural. Además de la diferenciación de las células mieloides y la activación de las células NK, la IL-6 afecta a las respuestas inmunitarias adaptativas cuando estimula la diferenciación de las células T y las células B y promueve la producción de inmunoglobulinas. Los efectos sistémicos de la IL-6 implican la regulación de la temperatura corporal y la producción de proteínas de fase aguda en los hepatocitos (Striz y col., 2014).

La interleucina 2 (o factor de crecimiento de células T) es una proteína glucosilada sintetizada por células T activadas. La síntesis es transitoria, y la actividad máxima se produce 4 horas después de la activación de las células T. La estimulación con autocrina IL-2 de las células T activadas es necesaria para la activación y proliferación de las células CD8+ y CD4+. Al aumentar la síntesis de perforina y

granzimas, IL-2 transforma las células asesinas naturales (NK) en células asesinas activadas por linfocinas (LAK) (Flaherty, 2012).

La IL-10 es una citocina antiinflamatoria. Durante la infección, inhibe la actividad de las células Th1, las células NK y los macrófagos, todos los cuales son necesarios para la eliminación óptima del patógeno, pero también contribuyen al daño tisular. En consecuencia, IL-10 puede impedir el aclaramiento de patógenos y mejorar la inmunopatología. Muchos tipos diferentes de células pueden producir IL-10, variando la fuente principal de IL-10 en diferentes tejidos o durante etapas agudas o crónicas de la misma infección (Couper y col., 2008).

Las IL-4 e IL-13 son secretados por células T polarizadas con Th2, granulocitos y monocitos/macrófagos. Cada célula en el cuerpo tiene el potencial de responder a IL-4 o IL-13, o a ambas. En el contexto del sistema inmune, las IL-4 e IL-13 desencadenan la diferenciación de células T Th2, polarización de macrófagos M2, expresión de moléculas de histocompatibilidad de tipo II (MHCII), diferenciación de células B y células plasmáticas e isotipo de anticuerpo, entre otros (McCormick y Heller, 2016).

1.3.2. Sistema adaptativo

Se conoce como inmunidad adaptativa a la respuesta específica contra patógenos potenciales, así como la producción de anticuerpos contra un patógeno particular. Esta inmunidad se desarrolla durante la vida de un individuo como una forma de adaptación a una infección con patógeno, siendo los linfocitos los principales responsables de que esta respuesta inmune se lleve a cabo. Los linfocitos del sistema inmune adaptativo han evolucionado para el reconocimiento de una gran variedad de antígenos de bacterias, virus y otros organismos patógenos. Un antígeno es cualquier molécula o parte de molécula que puede ser reconocida específicamente por las proteínas producidas por los linfocitos B, estas proteínas son llamadas inmunoglobulinas (Murphy y Weaver, 2014).

Los anticuerpos pueden encontrarse en dos formas, como constituyentes unidos a membrana de las células B o como moléculas solubles secretadas por células plasmáticas. Los anticuerpos unidos a membrana confieren especificidad antigénica en las células B; la proliferación de clonas de células B específicas de antígeno es inducida por la interacción de anticuerpo de membrana con antígeno. Los anticuerpos secretados circulan en la sangre, donde actúan como efectores de la inmunidad humoral al buscar antígenos y marcarlos para su eliminación. Todos los anticuerpos comparten características estructurales, se unen a antígeno y participan en cantidad limitada de funciones efectoras (Kindt y col., 2007).

Todas las moléculas de anticuerpo comparten las mismas características estructurales básicas, pero muestran una variabilidad acentuada en las regiones que se unen a los antígenos. Esta variabilidad de las regiones que se unen al antígeno es responsable de la capacidad de diferentes anticuerpos de unirse a un número enorme de antígenos con una estructura diversa. Una molécula de anticuerpo tiene una estructura nuclear simétrica compuesta de dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas (Abbas y col., 2012).

Al comparar secuencias de aminoácidos de varias cadenas ligeras se encontró que la mitad amino terminal de la cadena variaba entre diferentes proteínas y a esta región se le denominó variable. Las regiones variables distinguen los anticuerpos producidos por un clon de linfocitos B de los anticuerpos producidos por otros clones. La región V de una cadena pesada (V_h) y la región V adyacente de una cadena ligera (V_L) forman una zona de unión al antígeno, como se muestra en la Figura 2 (Abbas y col., 2012).

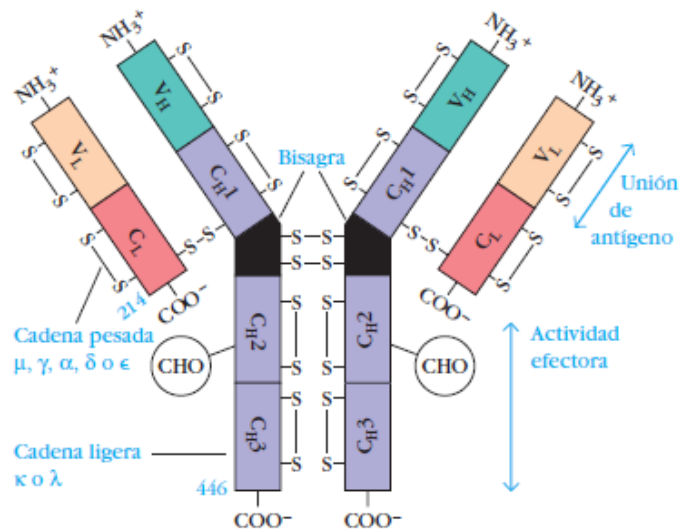


Figura 2. Estructura de un anticuerpo (Kindt y col., 2007).

La región constante (C) está separada de la zona de unión al antígeno y no participa en el reconocimiento del antígeno, es la mitad carboxilo terminal. Las regiones C de la cadena pesada interactúan con otras moléculas efectoras y células del sistema inmunitario y, por lo tanto, median la mayoría de las funciones biológicas de los anticuerpos. Además, las cadenas pesadas existen en dos formas que difieren en los extremos carboxilo terminales: una forma de cadena pesada ancla los anticuerpos membranaarios en las membranas plasmáticas de los linfocitos B, y la otra forma se secreta cuando se asocia a cadenas ligeras de Ig. Las regiones C de las cadenas ligeras no participan en las funciones efectoras ni se unen directamente a las membranas celulares (Abbas y col., 2012). Se han encontrado cinco diferentes regiones constantes (C) de cadena pesada: μ , δ , γ , ϵ y α . Cada una de estas cinco cadenas pesadas se denomina isotipo. Las cadenas pesadas de una molécula de anticuepo determinan la clase de ese anticuerpo: IgM (μ), IgG (γ), IgA (α), IgD (δ) o IgE (ϵ) (Kindt y col., 2007).

La IgG es la inmunoglobulina más abundante en el suero humano y de la mayoría de los mamíferos, siendo la inmunoglobulina mayoritaria en el fluido extracelular (Virella, 2001). La IgG puede ser dividida en cuatro subclases (IgG1, IgG2, IgG3 e

IgG4) siendo la IgG1 la más abundante (Murphy y Weaver C, 2017). Las subclases difieren en su capacidad para activar el complemento, que son un conjunto de proteínas solubles que se encargan de lisar patógenos que hayan atravesado las barreras epiteliales, o unirse y reaccionar a los receptores de Fc en las células fagocíticas. La activación del complemento por IgG1 e IgG3 es 40 veces mayor que la IgG2. La subclase IgG4 parece inhibir la activación del complemento (Flaherty, 2012).

La IgM es una inmunoglobulina polimérica constituida por cinco subunidades monoméricas. Posee una cadena J que tiene un rol en la polimerización del anticuerpo (Virella, 2001), además la presencia de la cadena J permite que la IgM se una a receptores en células secretorias, que la transportan a través de recubrimientos epiteliales para penetrar en las secreciones externas que bañan superficies mucosas. Cuando la IgM se encuentra en un estado monomérico se expresa como anticuerpo unido a membrana en linfocitos B (Kindt y col., 2007).

La IgM es la primera clase de inmunoglobulina que se produce en una respuesta primaria a antígeno y también es la primera inmunoglobulina que sintetiza el recién nacido. Por su estructura pentamérica tiene una valencia mayor al resto de las inmunoglobulinas, lo que le permite la unión más eficiente para unir antígenos con muchos epítomos repetidos, como partículas víricas y glóbulos rojos (Kindt y col., 2007).

Como la IgM, la IgA puede encontrarse en forma polimérica aunque puede considerarse molecularmente heterogénea puesto que comprende monómeros, dímeros y polímeros más grandes. En un individuo normal, entre el 70-90% de IgA sérica es monomérica. La IgA es la inmunoglobulina predominante en las secreciones, siendo la IgA dimérica la más común en las secreciones que también contiene su cadena J, como las moléculas de inmunoglobulinas poliméricas, además del componente secretor que permite transportar la IgA a través de membranas celulares. La IgA secretoria tiene una función efectora relevante en las

superficies mucosas, que son los principales sitios de entrada de la mayor parte de los microorganismos patógenos (Virella, 2001; Kindt y col., 2007).

La molécula transmembranal Fc α RI (CD89) se ha identificado como receptor para la porción Fc de IgA humana. Este receptor se expresa de forma constitutiva en leucocitos polimorfonucleares (PMN), monocitos, eosinófilos, células dendríticas y un subconjunto de macrófagos, así como en células de Kupffer en el hígado, donde se ha sugerido proporcionar una segunda línea de defensa, ya que induce la fagocitosis de antígenos identificados por IgA además de disminuir la cantidad de IgA en la circulación luego de una infección. Se ha demostrado que tanto la IgA monomérica como la polimérica tienen capacidad de interactuar con CD89 de forma similar pero es más estable la unión generada por la IgA polimérica, por lo tanto, se potencian los efectos de señalización (Oortwijn y col., 2007).

La IgG es la clase principal de anticuerpos en la sangre y el fluido extracelular, mientras que la IgA es la clase principal en las secreciones, siendo las más importantes las del epitelio que recubre el tracto intestinal y respiratorio. La IgG opsoniza eficazmente a los agentes patógenos para su absorción por los fagocitos y activa el sistema del complemento, pero la IgA es una opsonina menos potente y un activador débil del complemento. La IgG opera principalmente en los tejidos, donde se encuentran disponibles células y moléculas accesorias, mientras que la IgA dimérica opera principalmente en superficies epiteliales, donde el complemento y los fagocitos no están normalmente presentes; por lo tanto, la IgA funciona principalmente como un anticuerpo neutralizante. La IgA también es producida por células plasmáticas que se diferencian de las células B de clase modificada en los ganglios linfáticos y el bazo, y actúa como un anticuerpo neutralizante en los espacios extracelulares y en la sangre (Murphy y Weaver C, 2017).

La IgE es el principal mediador del asma, la urticaria y la rinitis, que se clasifican como reacciones alérgicas inmediatas. La reticulación inducida por antígeno de la IgE unida al receptor inicia un proceso que culmina en la liberación de histamina y

heparina, que aumentan la permeabilidad vascular y promueven la contracción del músculo liso. Además de un papel en las reacciones alérgicas, la IgE juega un papel crítico en la respuesta inmune a parásitos como *Schistosoma mansoni* y *Trichinella spirillum*. La histamina induce contracciones musculares en el intestino, que ayudan en la expulsión de parásitos (Flaherty, 2012).

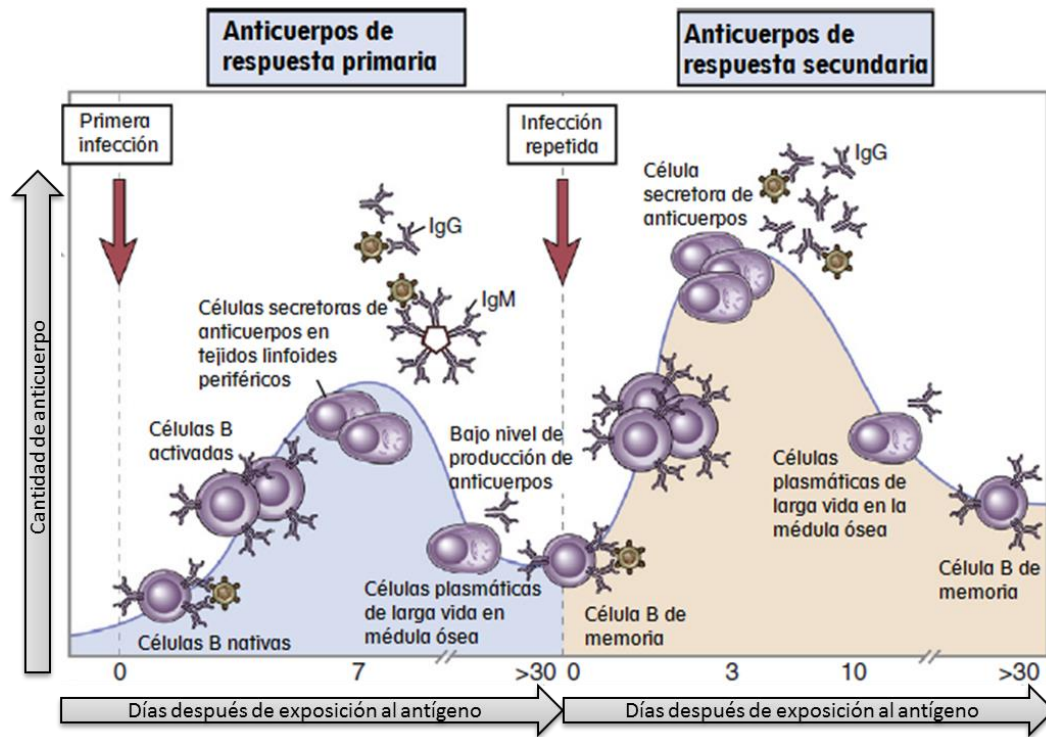


Figura 3. Respuesta amnésica (Flaherty, 2012).

Cuando ocurre una infección, el organismo debe estar preparado para dar una respuesta, por lo que en el ganglio linfático las células B productoras de IgG e IgM sirven como células de memoria. Después de un segundo desafío antigénico, las células B se diferencian rápidamente en células plasmáticas que producen anticuerpos IgG específicos de antígeno. La proliferación y diferenciación de células B de memoria en células plasmáticas productoras de IgG se denomina respuesta amnésica (Figura 3).

En la conmutación isotípica, las cadenas ligeras y los segmentos variables de la cadena pesada permanecen intactos, pero las regiones constantes de IgM son

reemplazadas por la estructura final del anticuerpo para crear IgG monomérica. En la respuesta anamnésica, aparecen grandes concentraciones de IgG de alta afinidad en el suero 1 a 3 días después de la exposición a los antígenos. Cuando ocurre una respuesta primaria usualmente se genera una mayor cantidad de IgM con una afinidad al patógeno baja mientras que, al haber una respuesta secundaria, se genera una mayor cantidad de IgG y en algunas circunstancias se incrementa además la IgA y la IgE, requiriéndose una menor cantidad de antígenos y el tiempo de respuesta es más corto (Flaherty, 2012). Generalmente cuando se ha tenido una reciente infección los niveles de estas inmunoglobulinas particularmente pueden estar aumentados lo que nos sirve para indicar si un paciente se ha encontrado infectado recientemente.

1.4. Tratamientos para las infecciones respiratorias agudas

1.4.1. Tratamientos farmacológicos

Para proceder con el tratamiento farmacológico de las infecciones respiratorias agudas se debe tener en cuenta la evolución clínica en cada paciente individualmente, la mayoría de las IRA se diagnostican al observar el historial médico de una persona y realizar un examen físico (Tdelair, 2002). Generalmente las infecciones respiratorias agudas deben ser tratadas de forma sintomática cuando estos inician, evitando medicamentos como antitusígenos, descongestionantes, antihistamínicos, bromuro de ipratropio, vitamina C o gluconato de zinc, ya que se ha demostrado que estos no tienen una diferencia significativa al ser comparados con placebos para el tratamiento de los resfriados comunes de origen vírico (CENETEC, 2016). En algunas ocasiones puede recomendarse el uso de dextrometorfano, el cual es un derivado de la morfina que suprime la respuesta del centro tusinógeno, no posee efecto analgésicos y tiene un escaso potencial adictivo (Harvey, 2012). Para el tratamiento sintomático de las infecciones respiratorias agudas es común el uso de paracetamol (acetaminofén)

pues genera efectos analgésicos y antipiréticos similares a los de la aspirina (Brunton y col., 2007).

Infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior pueden ser diferenciadas de las infecciones virales a través de los niveles en suero de procalcitonina, que se elevan en el caso de haber infecciones bacterianas pero no en infecciones virales siendo un buen indicador para evitar el uso indiscriminado de antibióticos (Al-Nakeeb y Clermont, 2005). En el caso de las infecciones respiratorias agudas de origen bacteriano, siendo el agente etiológico más común el *S. pyogenes*, se procede al uso de antibióticos como tratamiento, siendo de primera elección la penicilina G procaínica; el uso de macrólidos no es recomendable pues en México se ha encontrado que más del 16% de las cepas de *S. pyogenes* son resistentes (CENETEC, 2016).

Las posibles fallas al tratamiento antimicrobiano pueden ser por la falta de apego al tratamiento, exposición repetida a los agentes infecciosos, resistencia a antibióticos y la existencia de copatógenos. Si se llega a encontrar un paciente crónicamente colonizado por *S. pyogenes* es improbable que presente síntomas pero debe ser tratado de igual forma pues representa un foco de infección para el resto de la población. Cuando no se sabe con certeza el origen de la enfermedad no debe darse un tratamiento antimicrobiano, sino proceder a una reevaluación de la enfermedad.

1.4.2. Tratamientos no farmacológicos

Se pueden encontrar una gran variedad de tratamientos no farmacológicos que aseguran una mejora en la sintomatología de las infecciones respiratorias agudas. Generalmente se recomienda el reposo del paciente dependiendo de la sintomatología que presente (CENETEC, 2016).

La medicina tradicional mexicana recomienda distintos tratamientos para los síntomas de infecciones respiratorias, entre los que resaltan el uso de telas calientes sobre el pecho en los altos de Chiapas, las friegas de alcohol con Eucalipto (*Eucalyptus globulus*) en el estado de México o frotadas de las sienes, fosas nasales, papada, el pecho y detrás de las orejas con pomadas de alcanfor; o con otros ungüentos que generen vapor. Otras curaciones muy populares son las hechas con tequila o aguardiente con jugo de limón, la miel con jugo de limón o naranja y los tés de diversas plantas entre las que destacan ajo (*Allium sativum*), naranja, (*Citrus* sp.) gordolobo (*Gnaphalium* spp.), sauco (*Sambucus mexicana*), borraja (*Borago officinalis*) y eucalipto (*Eucalyptus globulus*) (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

Las infecciones respiratorias agudas generalmente están ligadas a mala nutrición y por lo tanto pueden ser tratadas con intervenciones nutricionales de diferentes formas. Se ha demostrado que la administración de suplementos de zinc, junto con alimentos ricos en vitaminas y antioxidantes, como las vitaminas A y D han demostrado tener un efecto positivo respecto a la morbilidad de infecciones respiratorias agudas (Roth y col., 2008). Otros antioxidantes como la vitamina C ha demostrado la disminución de los síntomas generados por un resfriado y disminuye la incidencia de estos (Gorton y Jarvis, 1999), y en general los antioxidantes contribuye a mantener la integridad redox de las células y por lo tanto las protege contra las especies reactivas de oxígeno generadas durante la explosión respiratoria y en la respuesta inflamatoria (Wintergerst y col., 2005).

Se ha demostrado que el β -caroteno en la dieta puede prevenir la infección de la vejiga, el riñón, el oído y el intestino en ratas con deficiencia de vitamina A y reducía la infección del oído en los niños pequeños. Debido a la actividad provitamina A del β -caroteno, estos estudios plantearon la posibilidad de que la acción del carotenoide se debe a su conversión previa a vitamina A. Además, se ha reportado una acción estimulante del β -caroteno sobre el crecimiento de la glándula del timo y un aumento en el número de linfocitos pequeños tímicos. La

actividad estimulante del β -caroteno en la blastogénesis de los linfocitos se ha demostrado de manera similar en ratas, cerdos y ganado. Se ha reportado un aumento en el número de linfocitos Th y T en adultos humanos que recibieron suplementos de β -caroteno por vía oral. Por lo tanto, el β -caroteno ha demostrado tener una fuerte actividad en el sistema inmune lo que permite una buena reacción efectora al presentarse una infección, una concentración elevada de carotenoides en plasma podría mejorar la respuesta inmune y disminuir el riesgo de enfermedades infecciosas (Chew y Park, 2004).

Se ha demostrado también una acción antimicrobiana por parte de algunos polifenoles como los taninos condensados, actuando como inhibidores de crecimiento bacteriano. Varios mecanismos podrían explicar el efecto de la proantocianidina de tipo A en la inhibición del crecimiento bacteriano, como la desestabilización de la membrana citoplasmática, la permeabilización de la membrana celular, la inhibición de enzimas microbianas extracelulares, acciones directas sobre el metabolismo microbiano o la privación de los sustratos necesarios para el crecimiento microbiano, especialmente los micronutrientes minerales esenciales como el hierro y el zinc (a través de la quelación de proantocianidina con los metales), cuyo agotamiento puede limitar gravemente el crecimiento bacteriano. Además de la actividad antibacteriana, las proantocianidinas mostraron efectos antivirales contra el virus de la influenza A y el virus del herpes simple tipo 1 (HSV) (Daglia, 2012).

Recientemente, al considerar que los antibióticos son compuestos biológicos producidos por bacterias u otros microorganismos y que son capaces de matar o suprimir el crecimiento y la reproducción de otras bacterias, varias investigaciones han propuesto que los polifenoles, metabolitos secundarios desarrollados por las plantas como una estrategia de defensa contra insectos fitófagos, hongos o bacterias, podrían usarse en combinación con antibióticos para potenciar su eficacia, disminuir la dosis de antibióticos y, por lo tanto, reducir las reacciones adversas a los antibióticos (Daglia, 2012).

1.5. Tratamientos para las infecciones gastrointestinales

1.5.1. Tratamientos farmacológicos

En general las infecciones gastrointestinales o gastroenteritis son procesos autolimitados que suele resolverse en un periodo de unos 3 a 5 días (no más de de 2 semanas), aunque a veces puede prolongarse en el tiempo como consecuencia del desarrollo de una intolerancia a la lactosa o una sensibilización a las proteínas de la leche de vaca y al ser la complicación más importante la deshidratación se procede a rehidratar a los pacientes según enl grado de deshidratación siguiendo la historia clínica y exploración física, evaluando sequedad de mucosas, lagrimeo, elasticidad de la piel, relleno capilar, pérdida de peso o sed, entre otras (Mosqueda-Peña y Rojo-Conejo, 2011).

Para esta clase de infecciones se debe recetar una solución de rehidratación oral (SRO) conteniendo 60 mmol/l de sodio, glucosa 90 mmol/l, potasio 20 mmol/l y citrato 10 mmol/l, con una baja osmolaridad de 240 mmol/l, la cual es segura y efectiva para la prevención y el tratamiento de la deshidratación en niños con diarrea aguda. Se reconoce que la SRO hipoosmolar es más rápida en la corrección de la deshidratación, la acidosis y más segura que el tratamiento intravenoso. Si el niño llegara a presentar una deshidratación severa se requiere de tratamiento intravenoso, y la decisión del uso del tratamiento intravenoso debe ser realizada valorando la condición del niño y con una consideración cuidadosa de si realmente falló la rehidratación oral.

Estudios realizados con *Salmonella* dan evidencia consistente de que el tratamiento antibiótico no acorta la duración de la diarrea ni deriva a una resolución temprana del cuadro clínico, presentando una mayor frecuencia de tasas de recaídas. Por lo tanto, el tratamiento antibiótico no debe darse rutinariamente en gastroenteritis por

salmonella. No debe de ser utilizado en niños sanos porque puede inducir el estado de portador sano, es decir, que padece la infección pero no muestra sintomatología pudiendo ser un potencial foco de infección (Albert y Roa, 2011).

Los fármacos antidiarreicos no son eficaces en general, y algunos están contraindicados. El papel de los fármacos antieméticos, en concreto el ondansetrón, está actualmente en estudio en cuanto a beneficio y eficacia. Los probióticos (especialmente *Lactobacillus* spp.y *Saccharomyces boulardii*) acortan la duración de la gastroenteritis aguda sobre todo las causadas por rotavirus y las asociadas a antibióticos orales. Los suplementos de zinc disminuyen la duración y gravedad de la diarrea y son eficaces en la prevención de la diarrea en los niños menores de 5 años en países en vías de desarrollo (Albert y Roa, 2011).

1.5.2. Tratamientos no farmacológicos

Cuando se presenta una infección gastrointestinal aguda no es necesaria la restricción alimentaria inicialmente; se recomienda una dieta astringente (plátano, arroz, manzana, etc.) si la infección se prolonga en el tiempo, aunque esta dieta aporta escasas calorías y no hay estudios acerca de su eficacia. Solo en casos de presentarse diarrea que pueda asociarse con intolerancia a la lactosa se indica la eliminación de lactosa de la dieta (Albert y Roa, 2011). Se recomienda que los niños con diarrea aguda sean suplementados con líquidos orales en casa, ofreciendo una cantidad adecuada (más de 250 ml) para reducir el riesgo de deshidratación (CENETEC, 2008).

Algunos probióticos (*Lactobacillus* spp. y *Saccharomyces boulardii*) han demostrado ser eficaces en el tratamiento de la diarrea aguda (acortan la duración de la misma), especialmente la causada por rotavirus (Albert y Roa, 2011). La eficacia de los probióticos en pediatría está asociada a la estimulación del sistema inmunitario, la competencia por los sitios de adherencia en las células intestinales y la elaboración de sustancias neutralizantes de microorganismos patógenos; los

probióticos producen un efecto beneficioso en la evolución de la diarrea aguda infecciosa concretamente se ha observado una disminución del riesgo de diarrea al tercer día y la duración media de la diarrea (Álvarez-Calatayud y col., 2013).

Los suplementos de zinc han demostrado ser beneficiosos en la prevención y tratamiento de la gastroenteritis aguda en países en vías de desarrollo en los que existe riesgo de malnutrición, y no así en los países desarrollados (Albert y Roa, 2011).

1.6. Prebióticos

Los trastornos respiratorios y gastrointestinales pueden también ser regulados por prebióticos que pueden ser definidos como sustancias alimenticias que fomentan cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal (que favorecen a las bacterias beneficiosas), confiriendo beneficio (s) a la salud del huésped, generalmente están compuestos por fibra dietética no digerible y carbohidratos (Ciorba, 2012; Hardy y col., 2013).

Para que un componente alimentario se considere prebiótico, debe cumplir los siguientes criterios: resistir la acidez gástrica, ser fermentado por la microbiota intestinal; estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de las bacterias intestinales asociadas con la salud y el bienestar. Los prebióticos actúan como factor de crecimiento ante determinadas bacterias comensales, que inhiben la adherencia e invasión de patógenos en el epitelio colónico compitiendo por los mismos glicoconjugados presentes en la superficie de las células epiteliales, alterando el pH colónico, favoreciendo la función de barrera, mejorando la producción de moco, produciendo ácidos grasos de cadena corta e induciendo la producción de citocinas (Choque-Delgado y col., 2011).

Los prebióticos más ampliamente estudiados son los fructanos (inulina, fructooligosacáridos (FOS) y galactooligosacáridos (GOS) que, debido a su

estructura química, son indigeribles en el intestino delgado y son fermentados anaerómicamente por bacterias en el colon. Esta fermentación de fibra dietética/carbohidrato no digerible da como resultado la producción de ácidos grasos de cadena corta, (AGCC: acetato, propionato, butirato), los cuales tienen un impacto positivo significativo en la función de las células epiteliales intestinales, incluido el mantenimiento del metabolismo, proliferación, diferenciación y promoción de un pH bajo (<5) en el medio intestinal, favoreciendo a los microbios beneficiosos con una reducción concomitante en el crecimiento bacteriano del patógeno y la viabilidad. En la Figura 3 se observa el mecanismo en que se vuelve disponible el sustrato para la microbiota bacteriana (Hardy y col., 2013).

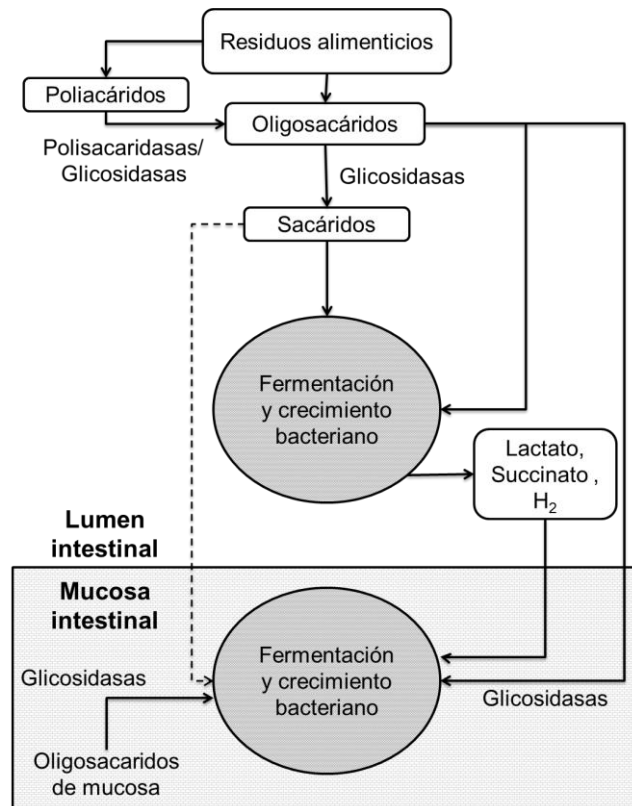


Figura 4. Mecanismos mediante los cuales los sustratos dietéticos se vuelven disponibles para las microbiotas asociadas a la mucosa en el intestino grueso (MacFarlane y col., 2006).

Hasta el momento no se ha reportado los mecanismos de acción asociados al efecto inmunomodulatorio de sustancias prebióticas, pero su función puede ser homologada al efecto de los probióticos, ya que ambos actúan regulando la microbiota intestinal. Los probióticos han demostrado tener un efecto inmunomodulatorio en las células epiteliales al nivel de señales de trasducción y producción de citocinas. Se ha demostrado que las bacterias comensales como los probióticos no inducen la secreción de IL-8 así como lo hacen bacterias enteropatógenas como *E. coli*, *Salmonella dublin*, *Shigella dysenteriae*, y *Listeria monocytogenes*, aunque esto puede depender de la cepa que se esté administrando en el probiótico.

Las especies bacterianas no patogénicas han demostrado disminuir el efecto proinflamatorio que atenúa la secreción del IL-8 además de activar la vía antiapoptótica Akt/protein cinasa B de las células del colon e inhibe la vía proapoptótica p38/mitogeno-activada con el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), IL-1 α o interferón γ (IFN- γ). Una inhibición de la apoptosis puede mejorar la supervivencia de las células intestinales y promover la proliferación durante la recuperación de la lesión epitelial (Hart y col., 2008)

Se ha demostrado que las bacterias probióticas inducen la expresión de las células epiteliales de TGF β e IL-10, así como de IL-6, que potencian la producción de IgA a través de la maduración de células B y el cambio de clase a favor de la IgA que se encarga de atrapar patógenos y material patogénico en la mucosa gracias a su habilidad de unir mucinas (Hardy y col., 2013).

1.6.1. Subproducto de frutas

Se puede definir los subproductos o residuos agroindustriales como materiales en estado sólido o líquido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, y que ya no son de utilidad para el proceso que los generó, pero que son susceptibles de aprovechamiento o transformación para

generar otro producto con valor económico, de interés comercial y/o social (Saval, 2012).

En México, los desechos o subproductos agrícolas (cáscaras, huesos, bagazo, frutas y vegetales dañados o con problemas de madurez y calidad) representan un problema ambiental ya que no se cuenta con políticas adecuadas para su manejo y la mayoría de las veces son arrojados a los basureros o mantos acuíferos. Dichos subproductos son generados en grandes volúmenes y sólo una mínima parte es reutilizada en la producción de alimento animal de bajo valor agregado (Sumaya-Martínez y col., 2012).

Diversos tipos de frutas son destinadas como insumos para la agroindustria, con la finalidad de la elaboración principalmente de jugos. Se estima que durante el proceso agroindustrial hay un 60-70% de rendimiento en el procesado de los productos de la empresa y el 30-40% restante se considera subproducto o desecho orgánico (Saval, 2012).

1.6.1.1. Mango

El 83% de la producción mundial de mango se concentró en 10 países, destacándose entre los primeros lugares India (16,337,400 t), China (4,351,593 t), Tailandia (2,550,600 t), Pakistán (1,784,300 t), México (1,632,650 t), Indonesia (1.313, 540 t), Brasil (1.188.910 t), Bangladesh (1.047.850 t) y Filipinas (823.576 t). En el año 2010, Asia representó aproximadamente el 76.5% de la producción mundial de mango, y las Américas y África representaron aproximadamente el 12.6 y el 10.8% respectivamente (Mittra, 2016).

En México se producen 1,954, 203 toneladas de mango en una superficie de 201 mil hectáreas distribuidas en 23 estados de la federación. El mango ataulfo (*Magnifera indica* L.) es una de las variedades más importantes en el mercado nacional sobretodo en el centro y sur del país; esta variedad representa el 25% del

mango producido en México siendo cosechada en épocas de verano principalmente (CONASPROMANGO, 2012). Las entidades con mayor producción, son Guerrero, Sinaloa, Nayarit, Chiapas, Oaxaca y Michoacán. La cosecha sigue aumentando y los estados que mayor crecimiento tienen son Colima, con 45.2%; Chiapas, 22.5%; Nayarit, 24.1%, y Sinaloa, 14.2% (Hidroponía, 2018)

En México, del total de la producción del mango, el 13.5% se destina a la industrialización. La industria de procesamiento mínimo ha reforzado a la agroindustria del mango mediante la transformación a pulpa de mango “listo para consumir”, teniendo un desecho de cáscara y semilla que representa el 32% del peso total de esta fruta (Wall-Medrano y col., 2015). Sin embargo, en otras industrias de producción de jugos como lo es la Sociedad Cooperativa de Trabajadores de Pascual Boing S.C.L, se generan también desechos de pulpa fibrosa (bagazo) elevando la cantidad de desecho hasta el 60% del peso total (Amaya y col., 2015).

Se ha señalado que las cáscaras de diferentes variedades de mango contienen pectina de alta calidad, por su importante concentración en ácido galacturónico y su grado de esterificación así como fibra dietaria con un excelente equilibrio entre fibra soluble e insoluble, por lo que puede ser un ingrediente en alimentos funcionales. Las cáscaras de mango criollo presentan en promedio 4.8% de proteína cruda, 29% de fibra dietética soluble y 27% de fibra dietética insoluble, dicho balance entre los dos tipos de fibra es similar al de la avena; por lo que con su ingesta se podría lograr una funcionalidad similar a la reportada para la avena, como la proliferación de la flora bacteriana (Sumaya-Martínez y col., 2012). La fibra dietaria es fermentada durante su paso por el colon por la microbiota asociada, produciendo ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como el ácido acético, el propiónico y el butírico, los cuales regulan el crecimiento bacteriano y por ende llevar a cabo una inmunorregulación (Pérez y col., 2013).

Los polifenoles, carotenoides y vitaminas confieren propiedades saludables al mango debido a sus actividades antioxidantes. Se ha demostrado que el mango posee una gran cantidad de compuestos fenólicos, flavonoles totales y taninos hidrolizables; el subproducto de mango posee 6.6 y 3.9 veces más de flavonoides totales que el subproducto de guayaba y durazno respectivamente (Amaya-Cruz y col, 2015). La gran cantidad de compuestos antioxidantes podrían ejercer un importante efecto beneficioso en el colon, promoviendo la salud intestinal a través del aumento de las capacidades antioxidantes y antiproliferativas (Pérez-Jiménez y col., 2013). El mango presenta una gran actividad antioxidante mediante el ensayo DPPH, presentando valores estadísticamente similares a los de la catequina estándar, lo que sugiere que este subproducto tiene una gran capacidad para neutralizar los radicales mediante transferencia de electrones (Amaya-Cruz y col, 2015).

El alto contenido de compuestos bioactivos con actividad prebiótica en el subproducto de mango sugiere que podría presentar un efecto inmunomodulador, disminuyendo la incidencia, duración o intensidad de las infecciones respiratorias o gastrointestinales agudas.

2. HIPÓTESIS

La suplementación con subproducto de jugo de mango disminuye la incidencia, duración y severidad de episodios de infecciones respiratorias y gastrointestinales en niños en edad escolar por medio de la modulación de proteínas relacionadas con el sistema inmune.

3. OBJETIVOS

3.1. General

Evaluar el efecto de la suplementación con subproducto de jugo de mango sobre la modulación de la respuesta inmune en niños en edad escolar durante episodios de infecciones respiratorias y gastrointestinales.

3.2. Específicos

- Determinar el perfil de compuestos bioactivos del subproducto de mango.
- Evaluar el efecto del consumo de subproducto de mango en niños en edad escolar sobre la incidencia, intensidad y duración de síntomas de infecciones respiratorias y gastrointestinales.
- Evaluar el efecto del consumo de subproducto de mango en niños en edad escolar sobre proteínas relacionadas con el sistema inmune.

4. METODOLOGÍA

4.1. Material biológico (subproducto de mango)

Se recolectó el subproducto directamente del canal de salida de desecho orgánico de la elaboración de jugo de mango de la Sociedad Corporativa de Trabajadores de Pascual, S.C.L. ubicada en San Juan del Río, Querétaro, México. El subproducto de mango (*Magnifera indica L.*) consistió de remanente de pulpa y cáscara.

Se transportará el subproducto en cubetas de plástico cerradas, las cuales fueron guardadas en refrigeración a 4°C hasta su secado, el cual se realizó por 24 horas a 60°C. Posteriormente, se realizó la molienda del subproducto en un molino pulverizador y se tamizó a través de una malla no. 100.

4.2. Material químico

Kits para la determinación en suero de albúmina, colesterol, HDL, LDL, creatinina, proteínas totales, triglicéridos, glucosa e inmunoglobulinas se utilizaron de la marca SpinReact. Para la cuantificación de proteínas del sistema inmune se utilizó el kit de Quantibody Human Immune response Array de la marca RayBiotech.

4.3. Caracterización de compuestos bioactivos del subproducto de mango

4.3.1. Cuantificación de polifenoles totales/extraíbles

Se pesaron 0.25 g de subproducto en tubos y se realizó una extracción con 10 mL de mezcla metanol/agua (50:50, pH: 2) acidificada con HCl concentrado agitando por una hora a temperatura ambiente para posteriormente centrifugar 10 minutos a 3000 rpm. Se recuperó el sobrenadante y al residuo orgánico se le realizó una segunda extracción con 10 mL acetona/agua (70:30) agitando por una hora a temperatura ambiente para posteriormente centrifugar 10 minutos a 3000 rpm y se

recuperó el sobrenadante. Se mezclaron ambos sobrenadantes para realizar la determinación de fenoles totales correspondientes a la fracción de los polifenoles extraíbles y se guardó el residuo a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para la determinación de polifenoles hidrolizables (Hassan y col., 2011).

Para la determinación de polifenoles totales se utilizó el método de Folin y Ciocalteu utilizando una curva estándar de ácido gálico (AG). Se usó una solución estándar de ácido gálico a 0.1 mg/mL , colocando en diez pozos una cantidad ascendente de la solución estándar entre 0 y $18\text{ }\mu\text{L}$. Posteriormente se agregaron $25\text{ }\mu\text{L}$ de reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N en cada pozo y se dejó reposar por 5 minutos, luego se agregó $125\text{ }\mu\text{L}$ de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20%. Se dejó reposar por 30 minutos para finalmente leer las absorbancias a 765 nm . Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca (mg EAG/g de muestra seca) (Singleton y col., 1999).

4.3.2. Cuantificación de flavonoides extraíbles

Se partió del extracto de polifenoles extraíbles utilizando un método colorimétrico basado en una curva estándar de catequina, y los datos fueron expresados como mg de (+)-catequina por gramo de muestra. Se colocaron $8\text{ }\mu\text{L}$ de muestra a la cual se le añadieron $125\text{ }\mu\text{L}$ de agua y $7.5\text{ }\mu\text{L}$ de NaNO_2 al 5% y se dejaron reposar por 6 minutos. Posteriormente se añadieron $15\text{ }\mu\text{L}$ de AlCl_3 al 10% y se dejó reposar otros 5 minutos. Se añadieron $50\text{ }\mu\text{L}$ de $\text{NaOH}\text{ }1\text{M}$ y luego de 30 minutos se leyeron las absorbancias a 510 nm y se expresaron los resultados como mg equivalentes de catequina por gramo (mg EC/g) (Heimler y col, 2006).

4.3.3. Cuantificación de polifenoles hidrolizables

Se partió del residuo de la obtención de polifenoles extraíbles. Se añadieron 20 mL de metanol y 2 mL de ácido sulfúrico gota a gota, se cerraron los tubos y se incubaron por 20 horas a 85°C con agitación. Una vez concluido el tiempo de

incubación se enfriaron los tubos y se centrifugaron por 10 minutos a 3000 rpm, se recuperó el sobrenadante y se colocó en un matraz aforado de 50 mL. Se lavó el residuo dos veces con 10 mL de agua destilada centrifugando y combinando el nuevo sobrenadante con los anteriores. Finalmente se enrasó a 50 mL con agua destilada (Zurita y col., 2012). La cuantificación se llevó a cabo utilizando el método Folin y Ciocalteu, el mismo método que en el caso de polifenoles totales.

4.3.4. Cuantificación de taninos condensados

Se partió del residuo de la obtención de polifenoles totales y la medición se realizó mediante la hidrólisis ácida utilizando n-butanol. Los residuos se trataron con 10 mL de mezcla n-butanol/HCl/FeCl₃ y se incubaron durante 60 min a 100°C con agitación. Se recogió el sobrenadante en un matraz aforado de 25 mL y el residuo se lavó con una mezcla de n-butanol/HCl/FeCl₃ (Arranz, 2010). Se enrasó a 25 mL con la misma mezcla y se leyeron las absorbancias a 555 nm y 450 nm sumando los valores de ambas respuestas. Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de proantocianidinas no extraíbles por 100 g de muestra (mg NEPA/100 g) usando una recta patrón previamente reportada (Hartzfel y col., 2002).

4.3.5. Determinación de carotenoides

Se pesaron 0.5 g de muestra y se adicionaron 20 mL de solución de extracción hexano-acetona-etanol (2:1:1 v/v). Se agitaron durante 30 minutos y se agregaron 3 mL de agua destilada, posteriormente se reposó la muestra para permitir la separación de las fases. La fase orgánica (superior) se guardó protegida de la luz. El procedimiento fue repetido nuevamente y se mezclaron ambas fases orgánicas. Se leyó la absorbancia a 446 nm y se expresaron los resultados como mg equivalentes de β -caroteno por g de muestra (mg EC/g) (Olives y col., 2006). La concentración de carotenoides se estimó empleando la ley de Lambert-Beer:

$$\text{Concentración de } \beta \text{ caroteno} = \frac{\text{Abs} * \text{PM} * \text{Factor de dilución}}{\epsilon * \text{distancia}}$$

donde:

Abs: Absorbancia a 446 nm

PM: Peso molecular (536.8726 g/mol)

E: Coeficiente de extinción molar para β ($24686 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

Distancia: 0.2702 cm.

4.3.6. Determinación de fitoesteroles

A 0.25 g de muestra se le agregaron 10 mL de hexano y se agitaron a temperatura ambiente por 60 min para luego centrifugar 10 minutos a 3000 rpm y el sobrenadante fue recogido. Se repitió el mismo procedimiento y se mezclaron ambos sobrenadantes, se evaporó a sequedad y se resuspendió la muestra en 2 mL de metanol. Se tomó una alícuota de 100 μL de muestra y se le adicionaron 5 mL de una solución de hidróxido de potasio 0.5 M en metanol. La muestra se incubó a 80 °C durante 60 min. Posteriormente se adicionó 1 mL de agua 2 mL de hexano, se agitó en vórtex por 1 minuto y se centrifugó a 14000 x g durante 5 minutos a 4°C. El sobrenadante fue recuperado y evaporado a sequedad y se resuspendió en 40 μL de isopropanol y 300 μL del reactivo enzimático para colesterol (SpinReact). Se agitó la mezcla en vórtex por un minuto y se incubó a 35°C durante 15 minutos. La medición de las absorbancias se realizó a 500 nm y se expresaron los resultados como mg equivalentes de sitoesterol por g de muestra (mg ES/g) (Moreau, y col., 2003). La concentración de fitoesteroles totales se estimó empleando la ley de Lambert-Beer en donde $\text{PM}=414.71 \text{ g/mol}$, $\epsilon=11000 \text{ 1/M cm}$, y $d=0.2702 \text{ cm}$.

4.3.7. Determinación del perfil de polifenoles extraíbles e hidrolizables, carotenoides y fitoesteroles por UPLC-QTOF MS^E

Se utilizaron los extractos de polifenoles extraíbles e hidrolizables, carotenoides y fitoesteroles para su identificación en un Cromatógrafo de Líquidos de Ultra Resolución (UPLC) acoplado al Espectrómetro de Masas de Cuadrupolo-Tiempo de Vuelo (qTOF MS^E) con una interfase de ionización por electrospray (ESI). Para el perfil de polifenoles, se inyectaron las muestras (2 µL) en una columna Acquity UPLC BEH C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) a 35 °C. La condición inicial del gradiente fue de 95% A (agua con 0,1% de ácido fórmico) / 5% B (acetonitrilo con 0.1% de ácido fórmico) y se mantuvo durante 2 min, luego se aumentó a 95% B de 2 a 22 min y se mantuvo durante 3 min. Finalmente se re-equilibró la columna a las condiciones iniciales por 5 min. El flujo de fase móvil utilizado fue de 0.4 mL/min. El tiempo total de análisis fue de 30 min (Rodríguez-González y col., 2017).

Para el perfil de carotenoides y de fitoesteroles, se inyectaron las muestras (2 µL) en una columna Acquity UPLC HSS T3 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) a 35 °C. La condición inicial del gradiente fue 75% A (acetonitrilo:diclorometano:metanol 75:10:15 v/v) / 25% B (agua con 0.05 M de acetato de amonio) y se mantuvo durante 20 min, luego se aumentó a 100% A por 1 min y luego se cambió a 98% A por 9 min y se mantuvo por 14 min. Finalmente se re-equilibró la columna a las condiciones iniciales por 5 min. El flujo de fase móvil utilizado fue de 0.4 mL/min. El tiempo total de análisis fue de 49 min (Chauveau-Duriot y col., 2010).

La adquisición de datos se realizó utilizando el modo de alta definición MS^E con un rango de masa de 50-1800 Da. Para el perfil de polifenoles se utilizó el modo de ionización negativa (ESI-), mientras que para el perfil de carotenoides y de fitoesteroles se utilizó el modo de ionización positiva (ESI+). Las condiciones de espectrometría de masas fueron las siguientes: temperatura de la fuente, 120 °C; gas de desolvatación (N₂), 800 L/h a 450 ° C; gas de cono (N₂), 50 L/h; voltaje de

cono, 40 V; capilar, 2.0kV (ESI-) y 3.5 kV (ESI+); baja energía de colisión, 5 eV; alta energía de colisión, 15-45 eV. Leucina-encefalina (50 pg ml⁻¹) se usa como masa de bloqueo a 10 ml min⁻¹. La identidad de los compuestos se estableció mediante el análisis de su masa exacta (confirmación de la composición elemental con <10 ppm de error de masa), patrón de fragmentos y distribución isotópica de los iones pseudomoleculares.

4.3.8. Determinación de fibra dietaria total, soluble e insoluble

Para la determinación de fibra dietaria se utilizó el kit: total dietary fiber assay. Se pesó por triplicado 1 g del subproducto y se añadieron 50 mL de buffer de fosfatos pH 6 a cada uno, se añadió posteriormente 0.1 mL de α -amilasa para gelatinizar las muestras. Las muestras fueron cubiertas con aluminio y colocadas en un termobañó durante 15 minutos a 95°C agitando los vasos gentilmente en intervalos de 3 minutos. Una vez que estuvieron los vasos a temperatura ambiente, se ajustó el pH de la solución a 7.5 ± 0.02 adicionando aproximadamente 15 mL de hidróxido de sodio 0.275 M a cada vaso. Posteriormente se pipetearon 100 μ L en cada vaso de una solución de 50 mg/mL de proteasa en un buffer de fosfatos pH 7.4 recién preparada. Cada vaso fue cubierto con aluminio y se incubó por 30 min a 60°C con agitación continua.

Cuando las soluciones se encontraron a temperatura ambiente se les ajustó el pH entre 4 y 4.6 se añadieron aproximadamente 10 mL de ácido clorhídrico 0.325 M para posteriormente añadir 0.1 mL de amiloglucosidasa y se incubó nuevamente a 60°C por 30 minutos con agitación continua. Se filtró con un papel libre de cenizas y a peso constante donde se quedó la fibra insoluble, a la solución remanente se le agregó 200 mL de etanol al 95% para precipitar la fibra dietaria insoluble que se filtró y lavó con 3 porciones de 20 mL de etanol al 78%, 2 porciones de 10 mL de etanol al 95% y 2 porciones de 10 mL de acetona. El residuo se secó el papel filtro a 100°C hasta peso constante y se pesó con exactitud, a los residuos se le realizó una determinación de cenizas colocando el papel filtro con el residuo en plancha de

calentamiento hasta que deje de salir humo y luego se calcinó en mufla por 5 horas a 550°C (AOAC 923.03, 2005).

4.4. Reclutamiento de voluntarios para el estudio de intervención

Se realizó un estudio de intervención de doble ciego, paralelo, aleatorio y controlado con placebo para evaluar el efecto del subproducto de mango sobre el sistema inmune de niños escolares aparentemente sanos durante episodios de infección gastrointestinal y respiratoria aguda. El diseño y la ejecución del estudio de intervención se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones de la Declaración de Helsinki. El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro (Anexo A).

Se reclutaron niños en edad escolar (entre 6 y 8 años) de una comunidad rural ubicada en Los Cerritos, Tequisquiapan, los cuáles fueron aleatorizados en dos grupos de 40 participantes cada uno: (i) grupo tratamiento con el subproducto de mango y (ii) grupo placebo. Se llevó a cabo una reunión en con los padres o tutores de los niños para invitarlos a participar en el proyecto de investigación, tras lo cual se realizó el proceso de consentimiento informado con los interesados. Los padres o tutores firmaron el formato de consentimiento informado (Anexo B), mientras que los niños escribieron su nombre en el formato de asentimiento informado (Anexo C) antes de comenzar el estudio, además se les realizó un cuestionario de antecedentes clínicos (Anexo D), un cuestionario socioeconómico (Anexo E), un cuestionario de seguridad alimentaria (Anexo F) y un registro de datos antropométricos (Anexo G).

El estudio tuvo una duración de 2 meses, durante el cual se realizó la administración diaria de forma oral los tratamientos correspondientes: (i) tratamiento con suproducto de mango y (ii) grupo placebo al que se le administró

maltodextrina disuelta en una bebida con saborizantes artificiales, con el fin de que no tuviera algún compuesto bioactivo con propiedades inmunomodulatorias.

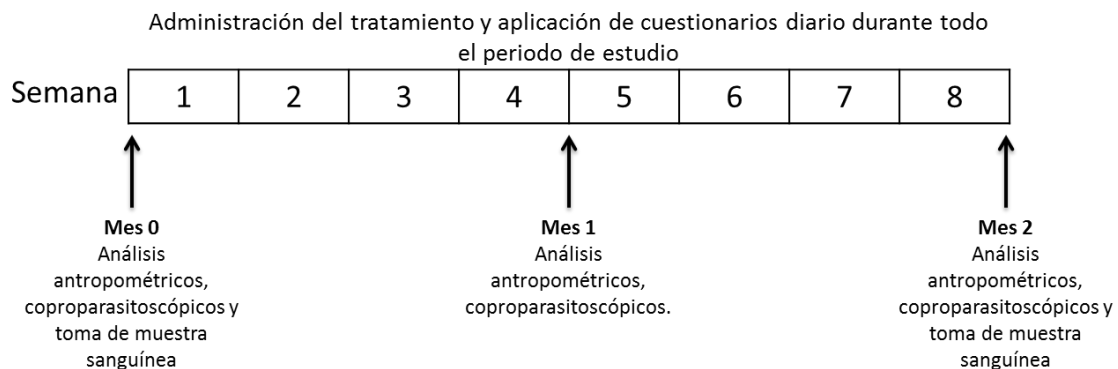


Figura 5. Diagrama del estudio de intervención.

Previo al inicio del estudio se realizó la recolección de muestras de heces para el análisis coproparasitoscópico (CPS), con el fin de identificar si algún voluntario presentaba parásitos. Veintidos niños presentaron parásitos antes de iniciar el estudio, por lo que se les administró una dosis de metronidazol por recomendación médica.

4.5. Aplicación de cuestionarios

Se llevó a cabo el monitoreo semanal de la alimentación de los pacientes por medio de la aplicación de tres recordatorios de 24 h a la semana, así como de sintomatología en caso de presentar alguna infección respiratoria o gastrointestinal (Anexo H. Registro alimentario y cuestionario de síntomas de infecciones gastrointestinales y Anexo I. Cuestionario de síntomas de resfriado común).

Los cuestionarios de síntomas de infecciones gastrointestinales y respiratorias incluyeron el registro de la incidencia, duración y severidad de síntomas específicos de infecciones agudas del tracto superior respiratorio (nariz congestionada, escurrimiento nasal, moco amarillo, moco con sangre, moco cristalino, picazón en

nariz, picazón en garganta, dolor de garganta, voz ronca, tos seca, tos con flemas, dolor de cabeza, dolor muscular, ojos rojos, estornudos, cansancio, pérdida de apetito y fiebre) y de síntomas de infecciones gastrointestinales (constipación, inflamación intestinal, flatulencias, diarrea y vómito). La severidad de cada síntoma fue registrada como sin síntomas, ligero, moderado o severo, las cuales fueron considerados con puntuación de 0, 1, 2 y 3, respectivamente, con excepción de estornudos, cansancio, pérdida de apetito y fiebre los cuales fueron considerados con puntuación de 0 (no) o 1 (sí).

Adicionalmente, se realizó el monitoreo mensual de los datos antropométricos (Anexo G. Registros antropométricos), el cual incluyó la medición de peso, talla, perímetro de cintura y perímetro de cadera.

4.6. Biometría hemática

Se realizó la toma de muestra sanguínea en condiciones de ayuno de 8 h al de manera mensual durante el estudio de intervención (mes 0 y mes 2). Se recolectaron las muestras de sangre en tubos Vacutainer con Na₂EDTA para el análisis de la biometría hemática, las cuales fueron trasladadas a 4 °C para su procesamiento en el mismo día. El análisis de biometría hemática fue realizado en un analizador automático marca Sysmex modelo KX-21n, utilizando los controles correspondientes para garantizar la calidad del análisis. Se realizó el análisis de conteo sanguíneo completo (CSC), el cual incluyó hemoglobina (HGB), hematocritos (HCT), conteo de células rojas y blancas (RBC y WBC, respectivamente), volumen medio corpuscular (MCV), concentración media de hemoglobina (MCH), concentración media de hemoglobina corpuscular (MCHC), y número y porcentaje de linfocitos (LYM), granulocitos (GRA), neutrófilos (NEU) y plaquetas (PLT).

4.7. Cuantificación de proteínas del sistema inmune

Adicionalmente a las muestras de sangre recolectadas para el análisis de biometría hemática, se recolectaron las muestra de sangre en tubos Vacutainer con activador de coagulación y gel separador para la obtención de suero para el análisis de las proteínas del sistema inmune. Se realizó la cuantificación de las inmunoglobulinas IgA, IgG e IgM por medio de kits de ELISA (Sigma-Aldrich) siguiendo las instrucciones de los kits. . Los resultados fueron expresados en UI/mL.

Adicionalmente se realizó la cuantificación de 40 proteínas relacionadas con el sistema inmune utilizando un arreglo de anticuerpos (QAH-IMR, RayBiotech), el cual contenía los anticuerpos para analizar las siguientes proteínas: CD14, CD163, CD40, CRP, E-SELECTIN, FAS, FASL, GCSF, ICAM-1, IL-1 alpha, IL-1 beta, IL-1-R4, IL-10, IL-12 p70, IL-13, IL-18, IL-2, IL-2 R alpha, IL-4, IL-6, IL-8, LIPOCALIN-2, MCP-1, MCP-2, MIF, MIP-1 alpha, MIP-1 beta, OSTEOPONTIN, PAI-1, PF4, PROCALCITONIN, RAGE, RESISTIN, THROMBOMODULIN, TNF alpha, TREM-1, TROPONIN I, uPAR, VCAM-1 y VEGF-A.

Cada anticuerpo y los controles positivos están impresos en cuadruplicado en cada laminilla. Cada laminilla incluye el arreglo de anticuerpos para 16 muestras. Antes de iniciar el análisis de los arreglos de anticuerpos, se realizó la aleatorización de las muestras con el fin de incluir en cada laminilla muestras de ambos tratamientos y de los dos tiempos de muestreo.

El arreglo utilizado consiste en un ensayo multiplex de ELISA tipo sandwich cuantitativo. Antes de iniciar el análisis, las laminillas fueron equilibradas a temperatura ambiente y posteriormente fueron secadas por 30 minutos en una campana de flujo laminar. Se añadieron 100 μ L de diluyente de muestra, el cual sirve como agente bloqueador, y se dejó incubar por 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se decantó el diluyente y se añadieron 100 μ L de suero

previamente diluido 1:1 con agua destilada o del coctel de estándares, y se dejó incubando por 12 h a 4°C. Las muestras de cada pozo fueron decantadas y los pozos fueron lavados 5 veces con el buffer de lavado I 1X y 2 veces con buffer de lavado II 1X, decantando el buffer después de cada lavado. Se añadieron 80 µL de anticuerpo de detección (conjugado con biotina) previamente reconstituido y se incubó por 2 h a temperatura ambiente, posteriormente se repitieron los lavados como se describieron anteriormente. Se añadieron 80 µL de estreptavidina conjugada con Cy3 por 60 min y se realizaron nuevamente los lavados. Se retiraron los clips de la laminillas y se cubrieron completamente con Buffer de lavado I 1X por 15 minutos, luego con Buffer de lavado II 1X por 5 minutos. Finalmente las laminillas fueron leídas en un escáner de microarreglos (Genepix 4100).

Posteriormente, se realizó la normalización intra- e inter-laminillas de todas las muestras, utilizando dos controles positivos para la normalización. Se realizó el análisis de estándares de las proteínas correspondientes para la generación de una curva estándar para cada proteína, las cuales fueron analizadas ya sea por regresión lineal o mediante algoritmos log-log. Los resultados fueron expresados en pg/mL.

4.8. Análisis estadísticos

Los resultados del perfil de compuestos bioactivos fueron expresados como media \pm desviación estándar, mientras que los resultados del estudio de intervención fueron expresados como media \pm error estándar. Los resultados del estudio de intervención fueron agrupados por tratamiento (subproducto de mango o placebo) y por tiempo de experimentación (inicial o final). Se identificaron los valores atípicos extremos por medio de la construcción de gráficos de boxplots (diagramas de Box & Whiskers), siendo que los valores atípicos leves corresponden a aquellos que presentan más de 1.5 veces el rango intercuartil (IQR), mientras que los valores atípicos extremos corresponden a aquellos que presentan más de 3 veces el IQR.

Para determinar si los datos deberían ser analizados con herramientas paramétricas o no paramétricas, se realizó el análisis de la distribución de datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de la homogeneidad de la varianza con la prueba de Levene. Los datos paramétricos fueron analizados con la prueba de t de Student, mientras que los datos no paramétricos fueron analizados con la prueba de Wilcoxon, considerando como significativo un valor $p < 0.05$. Dichos análisis fueron realizados con el programa estadístico JMP v14. Se realizó el análisis multivariado de los datos por medio del Análisis Discriminante de Cuadrados Mínimos Parciales (PLS-DA) en el software Metaboanalyst v4.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterización de compuestos bioactivos del subproducto de mango

En el cuadro 5 se presentan los resultados de fibra dietaria total (FDT), soluble (FDS), e insoluble (FDI). El contenido de fibra dietaria total para el subproducto de mango fue de 54.17% de la cual la fibra dietaria insoluble tiene la fracción más abundante en relación a la FDT.

Cuadro 5. Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble del subproducto de mango

Composición	Subproducto de mango
Fibra dietaria total, FDT	54.17 ± 0.01
Fibra dietaria soluble, FDS	14.26 ± 0.39 (26.32%)
Fibra dietaria insoluble, FDI	40.26 ± 0.59 (74.31%)
Proporción FDI/FDS	2.82

Los valores se expresan en gramos/100 gramos de materia seca y se representan con media ± desviación estándar.

En el cuadro 6 se presentan los resultados de polifenoles extraíbles, los cuales representan aquellos polifenoles que son extraídos en disolventes acuoso-orgánicos. Se observa una mayor concentración de polifenoles extraíbles con 139.31±10.2 mg EAG/g de muestra seca de los cuales 54.29±4.57 mg EC/g de muestra seca corresponden a flavonoides.

Cuadro 6. Contenido de polifenoles extraíbles, flavonoides, polifenoles no extraíbles, taninos condensados, carotenoides y fitoesteroles.

Componente	Subproducto de mango		
Polifenoles extraíbles	139.31	± 10.20	mg eq ác gálico/g de muestra seca
Flavonoides	54.29	± 4.57	mg eq catequina/g de muestra seca
Polifenoles no extraíbles	3.49	± 0.57	mg eq ác gálico/g de muestra seca
Taninos condensados	1.37	± 0.05	mg eq NEPA/g de muestra seca
Carotenoides	6.25	± 0.85	mg eq β-caroteno/g de muestra seca
Fitoesteroles	2.24	± 0.23	mg eq β-sitoesterol/g de muestra seca

Los resultados son expresados como media ± desviación estándar.

En el cuadro 7 se presenta el perfil de polifenoles extraíbles identificados por medio de UPLC-QTOF MS^E. Se identificaron 46 compuestos polifenólicos, de los cuales dos compuestos pertenecen a la familia de los dihidroflavonoles, cuatro a los flavanoles, hay tres flavanonas, diez flavonoles, ocho ácidos hidroxibenzóicos, dieciséis ácidos hidroxicinámicos y finalmente tres lignanos. Dentro de los cuales, destacan catequina 3-O-galato, miricetina 3-O-ramnósido, quercetina 3-O-xilósido, quercetina, ácido gálico 3-O-galato, ácido elágico 3-O-arabinósido, ácido p-cumárico 4-O-glucósido y secoisolaciresinol.

Mientras que en el cuadro 8 se observan los 25 compuestos polifenólicos no extraíbles identificados en el subproducto de mango seco extraídos por método de hidrólisis ácida, dichos compuestos corresponden a polifenoles ligados a fibra dietaria. En esta extracción se encuentra un predominio de ácidos hidroxibenzóicos (ocho compuestos) destacando la respuesta del ácido elágico, además de siete ácidos hidroxicinámicos, donde destaca el ácido isoferulico, así como un dihidroflavanol, un flavanol, una flavanona, cuatro flavonoles y tres lignanos.

Cuadro 7. Identificación de polifenoles extraíbles de subproducto de mango por UPLC-QTOF MS^E.

Familia	Nombre del componente	Tiempo de retención (min)	Fórmula molecular	Masa esperada (Da)	Masa observada (Da)	Erro de masa (ppm)	Aductos	Respuesta
Dihidroflavonoles	Dihidroquercetina 3-O-ramnósido	4.83	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	450.1162	450.1165	0.5346	[M-H] ⁻	3227.95
	Dihidroquercetina	6.55	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	304.0583	304.0586	1.1297	[M-H] ⁻	717.99
Flavanoles	Trimer de procianidina C1	3.58	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	578.1424	578.1424	0.0143	[M-H] ⁻	1192.23
	(-)-Epicatequina	3.84	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.0790	290.0788	-0.7936	[M-H] ⁻	3277.70
	(-)-Epicatequina 3-O-glucósido	5.20	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	452.1319	452.1326	1.5475	[M-H] ⁻	904.74
	(+)-Catequina 3-O-galato	5.86	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	442.0900	442.0905	1.1661	[M-H] ⁻	25724.04
Flavanonas	Eriocitrina	4.50	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	596.1741	596.1716	-4.2194	[M-H] ⁻	825.05
	Eriodictiol	7.72	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	288.0634	288.0641	2.3200	[M-H] ⁻	683.81
	Naringenina	8.68	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.0685	272.0686	0.3108	[M-H] ⁻	1714.95
Flavonoles	Miricetina 3-O-rutinósido	5.21	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	626.1483	626.1468	-2.4435	[M-H] ⁻	6239.94
	Kaempferol 3,7-O-diglucósido	5.22	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.1534	610.1521	-2.0528	[M-H] ⁻	828.40
	Miricetina 3-O-glucósido	5.27	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	480.0904	480.0897	-1.4430	[M-H] ⁻	1146.03
	Quercetina 3,4-O-diglucósido	5.30	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	478.0747	478.0739	-1.7905	[M-H] ⁻	3370.68
	Miricetina 3-O-ramnósido	5.84	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.0955	464.0956	0.3688	[M-H] ⁻	254842.83
	Quercetina 3-O-acetil-ramnósido	5.97	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₂	490.1111	490.1117	1.2250	[M-H] ⁻	1810.76
	Quercetina 3-O-xilósido	6.21	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	434.0849	434.0855	1.3325	[M-H] ⁻	42849.58
	Quercetina 3-O-ramnósido	6.22	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.1006	448.1013	1.6696	[M-H] ⁻	8566.81
	Kaempferol 3-O-glucósido	6.89	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.1006	448.1014	1.8442	[M-H] ⁻	657.99
	Quercetina	7.86	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.0427	302.0433	2.0114	[M-H] ⁻	13936.74
Ácidos hidroxibenzoicos	Ácido 2-hidroxibenzoico	1.22	C ₇ H ₆ O ₃	138.0317	138.0313	-2.6278	[M-H] ⁻	2298.35
	Ácido protocatecuico 4-O-glucósido	1.63	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	316.0794	316.0798	1.0119	[M-H] ⁻	1631.94
	Ácido vanílico	1.70	C ₈ H ₈ O ₄	168.0423	168.0419	-2.0352	[M-H] ⁻	1698.84
	Ácido 2,3-dihidroxibenzoico	1.94	C ₇ H ₆ O ₄	154.0266	154.0264	-1.6010	[M-H] ⁻	3453.27
	Ácido 3-hidroxybenzoico	3.13	C ₇ H ₆ O ₃	138.0317	138.0312	-3.8297	[M-H] ⁻	432.06
	Ácido 3,5-dihidroxybenzoico	4.26	C ₇ H ₆ O ₄	154.0266	154.0264	-1.4355	[M-H] ⁻	428.44

Familia	Nombre del componente	Tiempo de retención (min)	Fórmula molecular	Masa esperada (Da)	Masa observada (Da)	Erro de masa (ppm)	Aductos	Respuesta
Ácidos hidroxibenzoicos	Ácido benzoico	4.27	C7H6O2	122.0368	122.0366	-1.4679	[M-H] ⁻	2907.90
	Ácido gálico 3-O-galato	4.73	C20H16O13	464.0591	464.0591	0.0219	[M-H] ⁻	12150.29
Ácidos hidroxicinámicos	Ácido elágico 4-O-glucósido	5.32	C19H14O12	434.0485	434.0474	-2.5615	[M-H] ⁻	304.85
	Ácido elágico 4-O-arabinósido	5.63	C14H6O8	302.0063	302.0060	-0.7976	[M-H] ⁻	504959.53
	Ácido elágico	5.87	C21H16O13	476.0591	476.0590	-0.1582	[M-H] ⁻	2690.72
	Ácido elágico 4-O-acetil-xilósido	6.05	C14H10O9	322.0325	322.0326	0.3246	[M-H] ⁻	2035.36
	Ácido cafeoiltartárico	1.08	C13H12O9	312.0481	312.0476	-1.5683	[M-H] ⁻	532.81
	Ácido cinámico	1.46	C9H8O2	148.0524	148.0519	-3.5956	[M-H] ⁻	414.46
	Ácido 3-cafeoilquónico	2.57	C16H18O9	354.0951	354.0947	-1.0099	[M-H] ⁻	314.55
	Ácido p-cumaroilmálico	3.52	C13H12O7	280.0583	280.0586	1.0837	[M-H] ⁻	251.15
	Ácido ferúlico	3.68	C10H10O4	194.0579	194.0574	-2.6262	[M-H] ⁻	2770.33
	Ácido ferúlico 4-O-glucósido	3.69	C16H20O9	356.1107	356.1101	-1.8065	[M-H] ⁻	6756.11
	Ácido p-cumaroiltartárico	3.72	C13H12O8	296.0532	296.0527	-1.8434	[M-H] ⁻	345.12
	Ácido p-cumaroilglucósido	4.09	C15H18O8	326.1002	326.1000	-0.5698	[M-H] ⁻	13225.79
	Ácido 4-cafeoilquínico	4.17	C16H18O9	354.0951	354.0957	1.6637	[M-H] ⁻	559.91
	Ácido 3-p-cumaroilquínico	4.68	C16H18O8	338.1002	338.1001	-0.0654	[M-H] ⁻	1940.84
	Ácido 4-feruloilquínico	5.13	C17H20O9	368.1107	368.1106	-0.3767	[M-H] ⁻	627.65
	Ácido 4-p-cumaroilquínico	5.34	C16H18O8	338.1002	338.0995	-2.0432	[M-H] ⁻	436.06
Lignanós	Lariciresinol-sesquiignano	6.39	C30H36O10	556.2308	556.2355	8.3472	[M-H] ⁻	516.58
	Secoisolariciresinol	11.66	C20H26O6	362.1729	362.1708	-6.0083	[M-H] ⁻	7446.72
	Lariciresinol	20.46	C20H24O6	360.1573	360.1608	9.8643	[M-H] ⁻	296.61

Cuadro 8. Identificación de polifenoles no extraíbles de subproducto de mango por UPLC-QTOF MS^E.

Familia	Nombre del componente	Tiempo de retención (min)	Fórmula molecular	Masa esperada (Da)	Masa observada (Da)	Error de masa(ppm)	Aductos	Respuesta
Dihidroflavanoles	Dihidroquercetina	6.55	C15H12O7	304.0583	304.0568	-4.8491	[M-H] ⁻	357.30
Flavanoles	(+)-Catequina 3-O-galato	5.86	C22H18O10	442.0900	442.0903	0.5911	[M-H] ⁻	349.51
Flavanonas	Naringenina	8.68	C15H12O5	272.0685	272.0681	-1.3103	[M-H] ⁻	613.43
Flavonoles	3,7-Dimetilquercetina	6.83	330.2889	330.0740	330.0742	0.7471	[M-H] ⁻	9187.37
	Quercetina 3-O-(6-acetil-galactósido) 7-O-ramnósido	13.95	C29H32O17	652.1639	652.1662	3.4806	[M-H] ⁻	310.11
	Quercetina 3-O-galactósido 7-O-ramnósido	5.73	C27H30O16	610.1534	610.1538	0.6773	[M-H] ⁻	421.34
	Quercetina 3,4-O-diglucósido	5.30	C27H30O17	478.0747	478.0746	-0.3061	[M-H] ⁻	218.94
Ácidos hidroxibenzoicos	Ácido 2,3-dihidroibenzoico	1.94	C7H6O4	154.0266	154.0266	-0.0454	[M-H] ⁻	1459.78
	Ácido 3-hidroibenzoico	3.13	C7H6O3	138.0317	138.0314	-2.0067	[M-H] ⁻	1040.91
	Ácido 4-hidroibenzoico	6.67	C7H6O3	138.0317	138.0310	-4.8588	[M-H] ⁻	430.94
	Ácido benzoico	4.27	C7H6O2	122.0368	122.0368	0.0754	[M-H] ⁻	441.63
	Ácido elálgico	5.63	C14H6O8	302.0063	302.0065	0.8086	[M-H] ⁻	114789.28
	Ácido gálico	5.36	C7H6O5	170.0215	170.0221	3.4589	[M-H] ⁻	233.65
	Ácido protocatecuico 4-O-glucósido	1.63	C13H16O9	316.0794	316.0801	2.1356	[M-H] ⁻	1447.22
	Ácido siríngico	4.48	C9H10O5	198.0528	198.0529	0.5971	[M-H] ⁻	949.17
Ácidos hidroxicinámicos	Ácido 3-sinapoilquinico	16.36	C18H22O10	398.1213	398.1232	4.8284	[M-H] ⁻	1113.08
	Ácido 3,4-dicaffeoilquinico	6.73	C25H24O12	516.1268	516.1275	1.4131	[M-H] ⁻	554.98
	Ácido 4,5-dicaffeoilquinico	6.29	C25H24O12	516.1268	516.1289	4.0628	[M-H] ⁻	269.22
	Ácido cinámico	1.46	C9H8O2	148.0524	148.0525	0.5172	[M-H] ⁻	217.67
	Ácido Isoferúlico	5.73	C10H10O4	194.0579	194.0579	0.1526	[M-H] ⁻	10154.67
	Ácido p-cumárico	5.18	C9H8O3	164.0473	164.0470	-2.1680	[M-H] ⁻	285.17
	Ácido p-Cumaroiltartárico	3.72	C13H12O8	296.0532	296.0535	0.9905	[M-H] ⁻	795.02
Lignanós	Lariciresinol	20.46	C20H24O6	360.1573	360.1608	9.8643	[M-H] ⁻	296.61
	Lariciresinol-sesquiignano	6.39	C30H36O10	556.2308	556.2355	8.3472	[M-H] ⁻	516.58
	Secoisolariciresinol	11.66	C20H26O6	362.1729	362.1708	-6.0083	[M-H] ⁻	7446.72

Finalmente, en el Cuadro 9 se presentan los carotenoides y fitoesteroles identificados en el subproducto de mango. Se identificaron siete carotenoides, entre los que destacan β -caroteno y β -criptoxantina, así como cuatro fitoesteroles, entre los que destaca β -sitosterol glucósido.

Cuadro 9. Identificación de carotenoides y fitoesteroles de subproducto de mango por UPLC-QTOF MS^E.

Familia	Nombre del componente	Tiempo de retención (min)	Fórmula molecular	Masa esperada (Da)	Masa observada (Da)	Error (ppm)	Aductos	Respuesta
Carotenoides	α -Tocoferol	16.26	C29H50O2	430.3811	430.3776	-8.0886	[M+H] ⁺	26.83
Carotenoides	<i>cis</i> -Luteína	20.4	C40H56O2	568.428	568.4322	7.3666	[M+H] ⁺	173.01
Carotenoides	β -Criptoxantina	21.93	C40H56O	552.4331	552.4384	9.5288	[M+H] ⁺	429.77
Carotenoides	β -Caroteno	22.98	C40H56	536.4382	536.443	8.9349	[M+H] ⁺	580.22
Carotenoides	α -Criptoxantina	23.37	C40H56O	552.4331	552.4361	5.3414	[M+H] ⁺	284.21
Carotenoides	9- <i>cis</i> - β -Caroteno	23.59	C40H56	536.4382	536.4431	9.1282	[M+H] ⁺	191.38
Carotenoides	15- <i>cis</i> - β -Caroteno	23.91	C40H56	536.4382	536.4409	5.0474	[M+H] ⁺	189.28
Fitoesteroles	β -Campesterol	15.16	C28H48O	400.3705	400.3668	-9.2386	[M+H] ⁺	57.74
Fitoesteroles	β -Campesterol glucósido	22.24	C34H58O6	562.4233	562.4259	4.5151	[M+H] ⁺	144.58
Fitoesteroles	Brassicasterol glucósido	23.78	C34H56O6	560.4077	560.4034	-7.6462	[M+H] ⁺	71.14
Fitoesteroles	β -Sitosterol glucósido	24.41	C35H60O6	576.439	576.4404	2.5049	[M+H] ⁺	206.13

5.2. Estudio de intervención

5.2.1. Características antropométricas

En la Figura 6 se puede observar la distribución de los participantes basados en el género, siendo que no se mostró diferencia significativa entre los grupos de estudio.

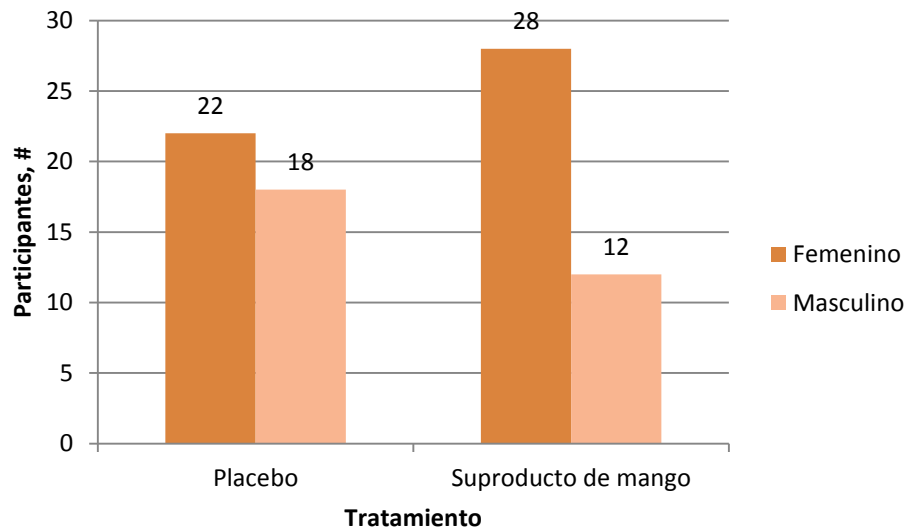


Figura 6. Distribución de participantes según el género en cada grupo de estudio.

En la Figura 7 se puede observar la edad media de los participantes en cada uno de los grupos de tratamiento, siendo que no se observó una diferencia significativa entre los grupos de estudio.

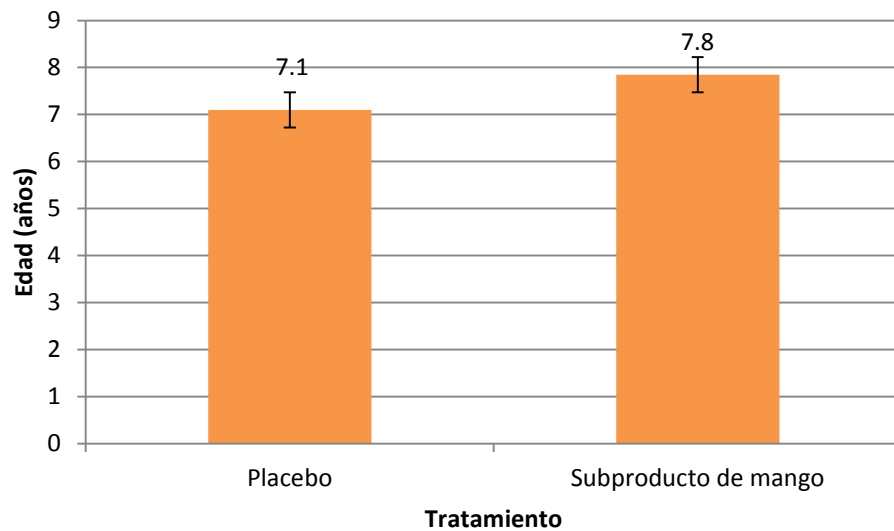


Figura 7. Edad de los participantes en cada grupo de estudio.

Las características antropométricas de los participantes se pueden observar en el Cuadro 10, en donde se muestran los datos correspondientes a ambos grupos de estudio (placebo y subproducto de mango) al inicio (mes 0) y al final (mes 2) del estudio de intervención. No se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros antropométricos en ambos grupos de estudio.

Cuadro 10. Parámetros antropométricos al inicio (mes 0) y final (mes 2) del estudio de intervención.

	Inicio	Final	Valor P
	Media \pm SE	Media \pm SE	
Placebo			
Peso, kg	27.83 \pm 0.87	26.41 \pm 1.30	0.8160
Talla, m	125.30 \pm 1.06	124.02 \pm 1.58	0.7490
Cintura, cm	60.67 \pm 0.98	58.75 \pm 1.46	0.8620
Cadera, cm	69.41 \pm 0.88	68.12 \pm 1.31	0.7922
ICC	0.48 \pm 0.01	0.47 \pm 0.01	0.7939
Puntaje-Z IMC	0.60 \pm 0.14	0.64 \pm 0.21	0.4322
Puntaje-Z P/E	0.49 \pm 0.14	0.54 \pm 0.20	0.4300
Puntaje-Z T/E	0.08 \pm 0.11	0.11 \pm 0.16	0.4319
Subproducto de mango			
Peso, kg	29.94 \pm 1.60	30.99 \pm 1.64	0.3249
Talla, m	127.46 \pm 1.71	128.24 \pm 1.75	0.3752
Cintura, cm	62.36 \pm 1.69	61.94 \pm 1.71	0.5695
Cadera, cm	71.47 \pm 1.61	72.43 \pm 1.62	0.3377
ICC	0.49 \pm 0.01	0.48 \pm 0.01	0.6789
Puntaje-Z IMC	0.68 \pm 0.21	0.82 \pm 0.22	0.3210
Puntaje-Z P/E	0.54 \pm 0.23	0.68 \pm 0.24	0.3332
Puntaje-Z T/E	0.04 \pm 0.17	0.08 \pm 0.17	0.4441

Los resultados se expresan como media \pm error estándar. Índice cintura-cadera (ICC), índice de masa corporal (IMC), peso/edad (P/E), .talla/edad (T/E).

5.2.2. Parámetros hematológicos

En el Cuadro 11 se muestran los resultados de la biometría hemática de ambos grupos de estudio (placebo y subproducto de mango) al inicio (mes 0) y al final (mes 2) del estudio de intervención. La administración del subproducto de mango disminuyó significativamente ($p < 0.05$) el porcentaje de células mixtas (MXD) al

finalizar el estudio de intervención (13.8%). En el resto de los parámetros hematológicos no se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) con la administración de los tratamientos durante el estudio de intervención.

Cuadro 11. Parámetros hematológicos al inicio (mes 0) y final (mes 23) del estudio de intervención.

	CONTROL			PREBIOTICO		
	Inicio	Final	Valor P	Inicio	Final	Valor P
WBC, x	5.59±0.23	5.82±0.27	0.7873	5.98±0.22	6.67±0.27	0.9549
RBC, x1012	4.62±0.04	4.70±0.05	0.9401	4.75±0.04	4.83±0.05	0.8409
HGB, g/dL	13.89±0.12	14.12±0.13	0.9068	14.03±0.12	14.72±0.13	0.9880
HCT, %	36.40±0.32	37.49±0.34	0.9925	37.75±0.31	38.22±0.33	0.8191
MCV, fL	78.89±12.20	79.74±0.47	0.948	95.64±11.65	79.34±0.46	0.1678
MCH, pg	30.09±0.18	29.99±0.18	0.3499	37.88±0.12	38.51±0.12	0.9996
PTL, x1012	270.44±10.44	274.33±9.51	0.6289	301.31±9.96	301.83±9.40	0.5231
LYM, %	42.71±1.40	45.61±1.58	0.9205	43.67±1.34	40.41±1.56	0.0625
MXD, %	8.80±0.41	9.31±0.40	0.7947	8.98±0.39	7.89±0.39	0.0165*
NEU, %	48.49±1.47	45.08±1.75	0.0622	47.34±1.40	51.70±1.73	0.9707
LYM, #	2.35±0.10	2.62±0.10	0.9701	2.53±0.09	2.55±0.10	0.5340
MXD, #	0.49±0.03	0.53±0.02	0.8898	0.53±0.03	0.51±0.02	0.2584
NEU, #	2.75±0.18	2.68±0.25	0.3649	2.91±0.17	3.62±0.24	0.9786
MVP, fL	10.34±0.16	10.70±0.17	0.9491	10.42±0.15	10.44±0.17	0.5031

*Indica diferencia significativa ($p < 0.05$). Los resultados se expresan como media \pm error estándar. Recuento de glóbulos blancos (WBC), recuento de glóbulos rojos (RBC), hemoglobina (HGB), hematocrito (HCT), volumen corpuscular medio (MCV), hemoglobina corpuscular media (MCH), conteo de células mixtas (MXD), neutrófilos (NEU), volumen medio plaquetario (MVP).

5.2.3. Síntomas de infecciones respiratorias agudas

Los episodios de infecciones respiratorias agudas fueron evaluados utilizando un cuestionario donde se registraba la sintomatología que presentaba el niño a lo largo del estudio, estos cuestionarios fueron contestados por los padres de los participantes de manera semanal (Anexo I).

En el Cuadro 12 se observa la incidencia (número de eventos) total de los síntomas de infecciones respiratorias agudas durante el estudio de intervención. La

administración diaria del subproducto de mango disminuyó de manera significativa ($p < 0.05$) la incidencia global de síntomas de infecciones respiratorias agudas en el segundo periodo del estudio de intervención en comparación con el grupo placebo; sin embargo no se observaron diferencias significativas en el primer periodo o en el periodo completo.

Cuadro 12. Número de participantes que presentaron alguno de los síntomas relacionados con IRA.

Periodo	Placebo	Subproducto de mango	Valor de P
	N (%)	N (%)	
Todo el periodo (1-8 semanas)	14 (34%)	15 (33%)	0.8793
Primer periodo (1-4 semanas)	14 (34%)	15 (33%)	0.8793
Segundo periodo (5-8 semanas)	19 (46%)	1 (2%)	0.0001 *

*Indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

En el Cuadro 13 se observa la incidencia o número de eventos de cada síntoma específico de infecciones respiratorias agudas presentados durante el estudio, el cual no considera la magnitud o severidad del mismo. Durante el primer periodo del estudio, los niños suplementados con el subproducto de mango mostraron una mayor ($p < 0.05$) incidencia de escurrimeinto nasal y moco cristalino en comparación con el grupo placebo; sin embargo, dichos síntomas fueron disminuidos significativamente ($p < 0.05$) en el segundo periodo del estudio. Asimismo, los niños suplementados con el subproducto de mango presentaron una menor incidencia de tos seca y cansancio en el segundo periodo del estudio de intervención en comparación con el grupo placebo.

Cuadro 13. Incidencia de síntomas de infecciones respiratorias agudas durante el estudio de intervención.

Síntomas	Periodo total (1-8 semanas)				Primer periodo (1-4 semanas)				Segundo periodo (5-8 semanas)						
	Placebo		Subproducto de mango		Valor P	Placebo		Subproducto de mango		Valor P	Placebo		Subproducto de mango		Valor P
	N	%	N	%		N	%	N	%		N	%	N	%	
Nariz congestionada	5	13.20%	6	22.20%	0.5227	5	13.90%	6	22.20%	0.5872	9	32.10%	0	0.00%	0.0865
Escurrecimiento nasal	3	8.10%	9	33.30%	0.0127 *	3	8.30%	9	33.30%	0.0147 *	8	25.00%	1	12.50%	0.5476
Moco amarillo	2	5.40%	2	7.40%	0.8811	2	5.60%	2	7.40%	0.9034	0	0.00%	0	0.00%	-
Moco con sangre	2	5.40%	3	11.10%	0.5260	2	5.60%	3	11.10%	0.5468	1	3.10%	1	12.50%	0.4849
Moco cristalino	2	5.40%	7	25.90%	0.0392 *	2	5.60%	7	25.90%	0.0433 *	5	15.60%	0	0.00%	0.0645
Picazón nariz	5	13.50%	6	22.20%	0.5540	5	13.90%	6	22.20%	0.5872	4	12.50%	0	0.00%	0.1007
Picazón garganta	3	8.10%	6	22.20%	0.1888	3	8.30%	6	22.20%	0.2036	3	9.40%	0	0.00%	0.1581
Dolor garganta	5	13.50%	5	18.50%	0.8040	5	13.90%	5	18.50%	0.8402	3	9.40%	0	0.00%	0.1581
Voz ronca	2	5.40%	3	11.10%	0.5260	2	5.60%	3	11.10%	0.5468	4	12.50%	0	0.00%	0.1007
Tos seca	2	5.40%	4	14.80%	0.2951	2	5.60%	4	14.80%	0.3112	7	21.90%	0	0.00%	0.0263 *
Tos con flemas	5	13.50%	5	18.50%	0.8451	5	13.90%	5	18.50%	0.8817	3	9.40%	0	0.00%	0.1581
Estornudos	11	29.70%	5	18.50%	0.4645	11	30.60%	5	18.50%	0.4345	4	12.50%	0	0.00%	0.1581
Dolor de cabeza	7	18.90%	4	14.80%	0.3101	7	19.40%	4	14.80%	0.2922	3	9.40%	0	0.00%	0.2525
Dolor muscular	5	13.50%	2	7.40%	0.1578	5	13.90%	2	7.40%	0.1435	2	6.30%	0	0.00%	0.1581
Ojos rojos	8	21.60%	3	11.10%	0.1613	8	22.20%	3	11.10%	0.1428	3	9.40%	0	0.00%	0.1007
Cansancio	8	21.60%	3	11.10%	0.3139	8	22.20%	3	11.10%	0.2891	6	18.80%	0	0.00%	0.0412 *
Pérdida de apetito	6	16.20%	3	11.10%	0.3950	6	16.70%	3	11.10%	0.3708	4	12.50%	0	0.00%	0.1007
Fiebre	4	10.80%	3	11.10%	0.8435	4	11.10%	3	11.10%	0.8137	1	3.10%	0	0.00%	0.4217

*Indica diferencia significativa ($p < 0.05$). Los datos se presentan como número y porcentaje de niños que presentaron cada síntoma.

En el Cuadro 14 se muestra la duración (en días) de los síntomas asociados a infecciones respiratorias agudas durante el estudio de intervención. La suplementación con el subproducto de mango disminuyó significativamente ($p < 0.05$) la duración de los síntomas de ojos rojos, estornudos y cansancio durante todo el periodo de intervención en comparación con el placebo. Asimismo, se observó que el subproducto de mango mostró un mayor efecto benéfico durante el segundo periodo (5-8 semanas) de estudio, disminuyendo de manera significativa ($p < 0.05$) la duración de nariz congestionada, escurrimiento nasal, moco cristalino, picazón de nariz y garganta, voz ronca, tos seca, tos con flemas, dolor de cabeza, estornudos y cansancio en comparación con el grupo placebo.

En el Cuadro 15 se presenta la severidad media de cada uno de los síntomas asociados a infecciones respiratorias agudas. No se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$) en la duración de los síntomas con la suplementación del subproducto de mango. Por lo tanto, el subproducto de mango únicamente mejoró la incidencia y la duración de los síntomas de infección respiratoria aguda, presentando un mayor efecto en el segundo mes de la suplementación.

Cuadro 14. Duración de los síntomas de infecciones respiratorias agudas durante el estudio de intervención.

Síntomas	Periodo total (1-8 semanas)			Primer periodo (1-4 semanas)			Segundo periodo (5-8 semanas)		
	Placebo	Subproducto de mango	Valor P	Placebo	Subproducto de mango	Valor P	Placebo	Subproducto de mango	Valor P
Nariz congestionada	1.54±0.52	0.89±0.49	0.1863	0.56±0.44	0.85±0.42	0.6808	0.98±0.30	0.04±0.29	0.0141 *
Escurrimiento nasal	1.39±0.58	1.22±0.55	0.4150	0.37±0.44	1.13±0.41	0.8957	1.02±0.33	0.09±0.31	0.0216 *
Moco amarillo	0.24±0.21	0.30±0.20	0.5838	0.24±0.21	0.30±0.20	0.5838	0.00±0.00	0.00±0.00	-
Moco con sangre	0.24±0.37	0.63±0.35	0.7735	0.07±0.35	0.61±0.33	0.8625	0.17±0.12	0.02±0.11	0.1812
Moco cristalino	1.12±0.46	0.54±0.44	0.1832	0.34±0.28	0.54±0.26	0.7016	0.78±0.31	0.00±0.29	0.0353 *
Picazón nariz	0.76±0.36	0.67±0.34	0.4334	0.49±0.34	0.67±0.32	0.6539	0.27±0.09	0.00±0.08	0.0162 *
Picazón garganta	0.49±0.20	0.39±0.18	0.3603	0.24±0.17	0.39±0.17	0.7293	0.24±0.10	0.00±0.09	0.0329 *
Dolor garganta	0.68±0.29	0.39±0.28	0.2351	0.44±0.22	0.39±0.21	0.4380	0.24±0.12	0.00±0.11	0.0743
Voz ronca	0.63±0.24	0.24±0.23	0.1203	0.24±0.17	0.24±0.16	0.4921	0.39±0.14	0.00±0.14	0.0256 *
Tos seca	0.78±0.26	0.24±0.25	0.0668	0.12±0.14	0.24±0.13	0.7271	0.66±0.18	0.00±0.17	0.0047 *
Tos con flemas	0.90±0.30	0.35±0.28	0.0914	0.59±0.23	0.35±0.22	0.2262	0.32±0.13	0.00±0.13	0.0449 *
Dolor de cabeza	1.56±0.18	0.33±0.17	0.1140	0.39±0.17	0.24±0.16	0.2572	0.37±0.14	0.00±0.13	0.0297 *
Dolor muscular	0.54±0.20	0.24±0.19	0.1437	0.22±0.14	0.17±0.13	0.4048	0.15±0.07	0.00±0.07	0.0663
Ojos rojos	0.46±0.38	0.17±0.36	0.0370 *	0.41±0.15	0.22±0.14	0.1759	0.24±0.14	0.00±0.13	0.0997
Estornudos	1.20±0.46	0.24±0.44	0.0278 *	1.20±0.34	0.33±0.32	0.0339 *	0.49±0.20	0.00±0.19	0.0414 *
Cansancio	0.78±0.22	0.22±0.21	0.0332 *	0.41±0.15	0.22±0.14	0.1759	0.37±0.11	0.00±0.10	0.0084 *
Pérdida de apetito	1.34±0.56	0.24±0.53	0.0792	0.85±0.35	0.24±0.33	0.1017	0.49±0.24	0.00±0.23	0.0713
Fiebre	0.27±0.15	0.24±0.14	0.4440	0.22±0.15	0.24±0.14	0.5385	0.05±0.03	0.00±0.03	0.1461

*Indica diferencia significativa (p<0.05). Los resultados se expresan como media ± error estándar. Los datos se presentan como duración en días de cada síntoma.

Cuadro 15. Severidad de los síntomas de infecciones respiratorias agudas durante el estudio de intervención.

Síntomas	Periodo total (1-8 semanas)			Primer periodo (1-4 semanas)			Segundo periodo (5-8 semanas)		
	Placebo	Subproducto de mango	Valor P	Placebo	Subproducto de mango	Valor P	Placebo	Subproducto de mango	Valor P
Nariz congestionada	0.08±0.06	0.14±0.06	0.7715	0.09±0.07	0.14±0.07	0.6957	0.09±0.03	0.01±0.04	0.0722
Escurrimiento nasal	0.05±0.06	0.16±0.06	0.9062	0.03±0.06	0.17±0.06	0.9390	0.07±0.03	0.03±0.04	0.2079
Moco amarillo	0.06±0.05	0.06±0.05	0.4963	0.06±0.05	0.06±0.05	0.4741	0.00±0.00	0.00±0.00	-
Moco con sangre	0.01±0.05	0.12±0.05	0.9249	0.01±0.05	0.12±0.06	0.9252	0.01±0.01	0.01±0.01	0.5107
Moco cristalino	0.05±0.02	0.03±0.02	0.7664	0.02±0.02	0.06±0.02	0.8573	0.05±0.02	0.00±0.03	0.1097
Picazón nariz	0.08±0.06	0.11±0.06	0.6482	0.08±0.06	0.11±0.06	0.6457	0.02±0.01	0.00±0.02	0.1362
Picazón garganta	0.05±0.04	0.07±0.04	0.6387	0.05±0.04	0.07±0.04	0.6616	0.01±0.01	0.00±0.01	0.1791
Dolor garganta	0.06±0.04	0.08±0.05	0.6756	0.06±0.04	0.09±0.05	0.6388	0.03±0.01	0.00±0.02	0.1500
Voz ronca	0.02±0.03	0.06±0.03	0.8122	0.01±0.03	0.06±0.03	0.8372	0.06±0.02	0.00±0.04	0.0911
Tos seca	0.03±0.03	0.05±0.03	0.7287	0.00±0.03	0.05±0.03	0.8771	0.06±0.02	0.00±0.04	0.0911
Tos con flemas	0.07±0.05	0.10±0.05	0.6523	0.08±0.05	0.10±0.06	0.6179	0.02±0.01	0.00±0.01	0.1578
Dolor de cabeza	0.06±0.03	0.06±0.03	0.4698	0.08±0.03	0.06±0.04	0.3321	0.03±0.02	0.00±0.03	0.1622
Dolor muscular	0.05±0.04	0.05±0.04	0.5186	0.05±0.04	0.05±0.04	0.4992	0.01±0.01	0.00±0.01	0.1721
Ojos rojos	0.02±0.03	0.04±0.03	0.7495	0.02±0.03	0.04±0.03	0.7232	0.02±0.01	0.00±0.02	0.2309
Estornudos	0.04±0.03	0.07±0.04	0.6946	0.04±0.03	0.07±0.04	0.6928	0.05±0.02	0.00±0.04	0.1621
Cansancio	0.03±0.03	0.05±0.03	0.6510	0.03±0.03	0.05±0.03	0.6801	0.04±0.02	0.00±0.03	0.1193
Pérdida de apetito	0.05±0.03	0.05±0.04	0.5054	0.05±0.03	0.05±0.03	0.5167	0.06±0.04	0.00±0.06	0.2214
Fiebre	0.02±0.03	0.05±0.03	0.7042	0.03±0.03	0.05±0.03	0.6743	0.00±0.00	0.00±0.00	-

*Indica diferencia significativa ($p < 0.05$). Los resultados se expresan como media \pm error estándar. Los datos se presentan como severidad media de acuerdo a la puntuación (score).

5.2.4. Síntomas de infecciones gastrointestinales

Los episodios de infecciones gastrointestinales fueron evaluados basados en la información proporcionada en el cuestionario de síntomas de infecciones gastrointestinales (Anexo H) donde se especificaba la sintomatología que consistía en estreñimiento, inflamación abdominal, flatulencias, diarrea y vómito, así como el número de evacuaciones al día de cada paciente y la consistencia de estas, si eran líquidas, pastosas o formadas.

Cuadro 16. Incidencia de síntomas de infecciones gastrointestinales durante el estudio de intervención.

Síntomas	Placebo		Subproducto de mango		VALOR DE P
PERIODO TOTAL (1-8 SEMANAS)					
	N	%	N	%	
Presencia de síntomas	23	63.90%	11	42.30%	0.0081 *
Estreñimiento	2	5.6%	1	3.8%	0.2180
Inflamacion abdominal	4	11.1%	5	19.2%	0.8839
Flatulencias	21	58.3%	11	42.3%	0.0001 *
Diarrea	1	2.80%	1	3.80%	0.218
Vomito	1	2.80%	0	0.00%	0.3517
PRIMER PERIODO (1-4 SEMANAS)					
	N	%	N	%	
Presencia de síntomas	20	58.80%	13	50.00%	0.0484 *
Estreñimiento	3	8.80%	3	11.50%	0.58
Inflamacion abdominal	3	8.80%	5	19.20%	0.2963
Flatulencias	18	52.90%	11	42.30%	0.0465 *
Diarrea	2	5.90%	0	0.00%	0.0801
Vomito	1	2.90%	3	11.50%	0.3517
SEGUNDO PERIODO (5-8 SEMANAS)					
	N	%	N	%	
Presencia de síntomas	16	50.00%	2	18.20%	0.0001 *
Estreñimiento	4	12.50%	1	9.10%	0.0569
Inflamacion abdominal	1	3.10%	0	0.00%	0.218
Flatulencias	15	46.90%	1	9.10%	0.0001 *
Diarrea	0	0.00%	1	9.10%	0.3517
Vomito	2	6.30%	0	0.00%	0.218

*Indica diferencia significativa ($p < 0.05$).

En el cuadro 16 se pueden observar la cantidad de individuos que presentaron síntomas de infecciones gastrointestinales durante el promedio del tratamiento, donde se observa una diferencia significativa ($p < 0.05$) en el grupo tratado con subproducto de mango donde estos síntomas disminuyen durante todo el periodo siendo las flatulencias el síntoma donde se observa la mayor disminución durante la administración del tratamiento.

Cuadro 17. Duración de síntomas de infecciones gastrointestinales en días durante el estudio de intervención.

Síntomas	Placebo		Subproducto de mango		Valor P
Periodo total (1-8 semanas)					
Estreñimiento	0.05	± 0.22	0.15	± 0.46	0.8924
Inflamación abdominal	2.44	± 3.94	0.27	± 0.67	0.0036*
Flatulencias	0.05	± 0.22	0.88	± 2.16	0.9919
Diarrea	0.02	± 0.16	0.00	± 0.00	0.2150
Vómito	0.00	± 0.00	0.04	± 0.20	0.8942
Primer periodo (1-4 semanas)					
Estreñimiento	0.07	± 0.26	0.12	± 0.33	0.7188
Inflamación abdominal	0.05	± 0.22	0.27	± 0.67	0.9731
Flatulencias	1.22	± 2.16	0.69	± 1.54	0.1421
Diarrea	0.05	± 0.22	0.00	± 0.00	0.1298
Vómito	0.02	± 0.16	0.04	± 0.20	0.6269
Segundo periodo (5-8 semanas)					
Estreñimiento	0.10	± 0.30	0.04	± 0.20	0.1887
Inflamación abdominal	0.00	± 0.00	0.00	± 0.00	-
Flatulencias	1.22	± 2.39	0.19	± 0.98	0.0209*
Diarrea	0.00	± 0.00	0.00	± 0.00	-
Vómito	0.00	± 0.00	0.00	± 0.00	-

*Indica diferencia significativa ($p < 0.05$). Los resultados se expresan como media \pm error estándar. Los datos se presentan como duración en días de cada síntoma.

En el Cuadro 17 se presenta la duración de los síntomas de infecciones respiratorias durante el estudio de intervención. Se puede observar que la suplementación con el subproducto de mango disminuyó de manera significativa ($p < 0.05$) la duración de la inflamación intestinal durante los episodios de

infecciones gastrointestinales en comparación con el grupo placebo. Así mismo, el subproducto de mango disminuyó la duración del síntoma de flatulencias en comparación con el placebo en el segundo periodo del estudio de intervención. En el resto de los datos sintomatológicos no se presentó una diferencia significativa entre ambos grupos de estudio.

El tratamiento con el prebiótico mostró una disminución significativa ($p < 0.05$) en el número de evacuaciones al día con respecto al grupo control como se presenta en el Cuadro 18. Los tratamientos no mostraron diferencias con respecto al número de participantes en relación con las características de sus evacuaciones.

Cuadro 18. Número de evacuaciones al día durante el periodo de tratamiento. Número de participantes que presentó evacuaciones con características líquidas, pastosas o formadas.

Evacuaciones	Placebo	Subproducto de mango	Valor P
Periodo total (1-8 semanas)			
Evacuaciones al día	1.67 ± 0.13	1.16 ± 0.16	0.0097*
Líquida	0.17 ± 0.38	0.62 ± 2.02	0.9015
Pastosa	5.58 ± 6.91	3.46 ± 5.22	0.0966
Formada	6.53 ± 6.76	4.04 ± 4.97	0.0585
Primer periodo (1-4 semanas)			
Evacuaciones al día	0.86 ± 0.07	0.69 ± 0.12	0.1101
Líquida	0.12 ± 0.33	0.38 ± 1.13	0.9017
Pastosa	2.91 ± 3.41	2.42 ± 3.37	0.2914
Formada	3.50 ± 3.40	2.96 ± 2.95	0.2614
Segundo periodo (5-8 semanas)			
Evacuaciones al día	2.38 ± 0.18	1.96 ± 0.22	0.0711
Líquida	0.06 ± 0.25	0.55 ± 1.51	0.9591
Pastosa	3.19 ± 4.00	2.45 ± 3.14	0.2923
Formada	3.63 ± 4.02	2.55 ± 3.45	0.2158

*Indica diferencia significativa ($p < 0.05$). Los resultados se expresan como media ± error estándar.

5.2.5. Cuantificación de inmunoglobulinas

El mayor efecto benéfico del subproducto de mango sobre la incidencia y duración de los síntomas de infecciones respiratorias agudas y gastrointestinales se presentó el segundo mes del estudio de intervención. Por lo tanto, se realizó la medición de proteínas séricas relacionadas con el sistema inmune en las muestras sanguíneas tomadas al inicio (mes 0) y al final (mes 2) del estudio de intervención (Cuadro 19).

Cuadro 19. Niveles de inmunoglobulinas en niños con tratamiento al inicio y término del estudio.

Ig	Placebo			Subproducto de mango		
	Inicio	Final	Valor de P	Inicio	Final	Valor de P
IgA, mg/dl	150.7 ± 11.44	169.7 ± 10.75	0.8576	148.64 ± 10.9	136.68 ± 10.68	0.1844
IgG, mg/dl	1191.58 ± 24.75	1150.9 ± 26.39	0.1846	1257.66 ± 23.6	1155.73 ± 25.74	0.0009*
IgM, mg/dl	144.03 ± 8.59	133 ± 8.00	0.1658	107.63 ± 8.71	109.4 ± 8.44	0.5557

*Indica diferencia significativa ($p < 0.05$). Los resultados se expresan como media \pm error estándar. Inmunoglobulina (Ig), Inmunoglobulina A (IgA), Inmunoglobulina G (IgG), Inmunoglobulina M (IgM).

5.2.6. Cuantificación de proteínas del sistema inmune

Se analizaron 40 proteínas relacionadas al sistema inmune con un microarreglo de anticuerpos, analizando las muestras séricas de los participantes al inicio (mes 0) y al final (mes 2) del estudio de intervención (Cuadro 20). De las 40 proteínas analizadas, 26 proteínas no mostraron cambios significativos con la administración del subproducto de mango ni del placebo.

La suplementación con el subproducto de mango moduló significativamente ($p < 0.05$) diez proteínas relacionadas con el sistema inmune. Resistina fue incrementada significativamente ($p < 0.05$) tanto con la suplementación del subproducto de mango al finalizar el estudio de intervención (1.64 veces); sin

embargo, dicha proteína también fue incrementada significativamente ($p < 0.05$) con la administración del placebo (3.10 veces). Asimismo, la administración del placebo disminuyó significativamente ($p < 0.05$) los niveles séricos de STD (1.3 veces), OPN (10.0 veces) y trombosmodulina (1.4 veces), e incrementó significativamente ($p < 0.05$) los niveles séricos de VEGF (1.4 veces), las cuales no fueron moduladas por el subproducto de mango.

Por otro lado, las otras nueve proteínas moduladas por la suplementación con el subproducto de mango no fueron alteradas con la administración del placebo. La suplementación diaria con el subproducto de mango durante 2 meses incrementó significativamente ($p < 0.05$) los niveles séricos de CD40 (1.32 veces), IL-10 (1.22 veces), IL-18 (1.56 veces), CD163 (1.64 veces), FAS L (3.24 veces), G-CSF (2.37 veces), MCP-1 (1.71 veces), MIP-1 α (1.37 veces), MIP-1 β (1.40 veces).

Cuadro 20. Cuantificación de 40 proteínas relacionadas con el sistema inmune para cada grupo de tratamiento y tiempo de análisis.

Proteína	PLACEBO			SUBPRODUCTO DE MANGO		
	Inicio	Final	Valor P	Inicio	Final	Valor P
CD40	412.04 ± 32.45	377.05 ± 25.61	0.7993	102.11 ± 26.37	135.08 ± 32.76	0.0246*
CRP	31550.16 ± 2362.40	31642.58 ± 2209.56	0.4886	27528.87 ± 2394.73	29937.87 ± 2575.76	0.2486
E-Selectina	1929.70 ± 81.56	2109.74 ± 125.14	0.1172	963.44 ± 227.08	755.98 ± 178.19	0.2407
IL-1a	37.99 ± 3.33	32.59 ± 2.48	0.9099	31.24 ± 3.07	35.40 ± 2.70	0.1577
IL-1b	46.14 ± 4.78	34.12 ± 2.86	0.9817	45.29 ± 9.67	35.15 ± 3.86	0.8239
IL-2 Ra	78.66 ± 8.41	64.50 ± 5.05	0.9221	70.14 ± 7.83	70.55 ± 5.24	0.4828
IL-10	6.64 ± 0.32	6.42 ± 0.25	0.7017	5.58 ± 0.43	6.81 ± 0.46	0.0283*
IL-13	3.27 ± 0.22	3.36 ± 0.23	0.3936	3.94 ± 0.33	3.31 ± 0.30	0.9155
IL-18	340.89 ± 21.59	286.75 ± 17.60	0.9716	208.71 ± 24.00	325.64 ± 38.33	0.0072*
ST2	35.10 ± 2.50	27.43 ± 2.40	0.0159*	29.46 ± 2.27	30.63 ± 3.55	0.3916
TNFa	601.99 ± 61.25	533.17 ± 66.25	0.7755	521.74 ± 84.86	617.44 ± 81.87	0.2120
CD14	19789.79 ± 1120.01	19019.56 ± 765.33	0.7138	17521.27 ± 1040.71	18996.86 ± 1167.43	0.1756
CD163	20677.41 ± 2448.34	18992.10 ± 1914.26	0.7053	11570.17 ± 1134.76	18939.52 ± 2957.85	0.0139*
FAS	36.76 ± 4.39	25.79 ± 2.30	0.9839	30.52 ± 5.78	35.89 ± 3.77	0.2212
FAS L	22.60 ± 3.21	13.88 ± 1.48	0.9906	7.18 ± 2.07	23.24 ± 3.65	0.0004*
G-CSF	8.45 ± 0.67	8.93 ± 1.00	0.3469	3.01 ± 1.01	7.16 ± 0.51	0.0006*
ICAM-1	15972.71 ± 883.37	15100.80 ± 633.50	0.6996	13092.45 ± 815.93	13468.72 ± 890.68	0.3786
IL-2	7.28 ± 0.31	7.42 ± 0.25	0.3615	7.76 ± 0.45	7.33 ± 0.37	0.7685
IL-4	8.30 ± 0.79	7.70 ± 0.78	0.7036	6.16 ± 1.45	9.01 ± 0.18	0.0685
IL-6	13.95 ± 0.65	13.69 ± 0.75	0.6034	14.50 ± 0.75	13.33 ± 1.00	0.8222

*Indica diferencia significativa (p<0.05). Los resultados son expresados como pg/mL. Los datos son presentados como media ± error estándar.

Proteína	PLACEBO			SUBPRODUCTO DE MANGO		
	Inicial	Final	Valor P	Inicial	Final	Valor P
IL-8	7.23 ± 0.56	8.39 ± 0.44	0.0549	8.03 ± 0.79	8.17 ± 0.84	0.4517
IL-12p70	3.34 ± 0.23	3.01 ± 0.17	0.8696	2.40 ± 0.35	2.54 ± 0.20	0.3639
Lipocalina-2	1143.08 ± 86.85	951.58 ± 49.59	0.9697	1064.93 ± 77.77	939.02 ± 63.35	0.8913
MCP-1	96.91 ± 7.49	105.78 ± 6.42	0.1859	92.73 ± 7.51	158.14 ± 14.37	0.0002*
MCP-2	25.69 ± 2.06	27.25 ± 2.41	0.3134	33.25 ± 6.58	25.70 ± 3.78	0.8329
MIF	120.31 ± 11.23	131.80 ± 17.45	0.2911	77.64 ± 9.33	27.44 ± 6.14	0.9981
MIP-1 α	29.98 ± 2.43	26.65 ± 1.90	0.8570	21.12 ± 1.42	28.85 ± 2.14	0.0026*
MIP-1 β	54.83 ± 3.45	59.18 ± 4.67	0.2283	55.69 ± 6.06	77.70 ± 6.93	0.0109*
OPN	140867.56 ± 33174.40	14149.48 ± 1729.89	0.0186*	132812.63 ± 31617.55	10768.49 ± 1262.69	0.9995
PAI-I	7097.42 ± 513.92	7833.05 ± 631.38	0.1847	8094.23 ± 931.74	9792.46 ± 1069.80	0.1191
PF4	1754.99 ± 122.94	1880.39 ± 107.34	0.2225	1643.67 ± 148.47	1342.01 ± 149.96	0.9198
Procalcitonina	3601.01 ± 316.34	2212.61 ± 213.26	0.9997	2619.78 ± 291.12	2681.12 ± 277.53	0.4398
RAGE	1947.70 ± 91.39	1764.82 ± 78.88	0.9328	1923.94 ± 112.59	1917.27 ± 86.55	0.5186
Resistina	6415.80 ± 1032.97	19901.86 ± 3888.26	0.0009*	7621.39 ± 1303.91	12505.278 ± 2329.62	0.0387*
Trombomodulina	473.84 ± 277.52	335.99 ± 30.42	0.0470*	451.49 ± 46.98	337.24 ± 36.59	0.9687
TREM-1	425.36 ± 60.31	415.00 ± 37.77	0.5574	496.83 ± 46.47	385.25 ± 67.88	0.9062
Troponina I	1043.33 ± 131.68	880.71 ± 90.97	0.8418	872.65 ± 137.69	567.36 ± 63.58	0.9671
uPAR	293.63 ± 41.11	284.49 ± 30.55	0.5704	260.06 ± 40.20	294.80 ± 62.64	0.3223
VCAM-1	205295.72 ± 11858.57	237212.70 ± 15436.31	0.0529	184566.47 ± 10984.73	203092.21 ± 21355.11	0.2231
VEGF	25.22 ± 2.66	36.41 ± 5.90	0.0459*	22.95 ± 3.10	42.98 ± 11.23	0.0511

*Indica diferencia significativa ($p < 0.05$). Los resultados son expresados como pg/mL. Los datos son presentados como media \pm error estándar.

Se realizó un análisis con gráficos de boxplots para estratificar los resultados de acuerdo a las concentraciones séricas de IgG, donde una concentración mayor a 1200 mg/dL es indicativa de infección aguda (Cottler-Fox y col., 1991). Por lo tanto, este análisis nos permite discernir si la suplementación con el subproducto de mango moduló las proteínas inmunes durante una infección aguda.

En la Figura 11a se observa que la suplementación con el subproducto de mango incrementó significativamente ($p < 0.05$) los niveles séricos de CD40 en niños con infección aguda ($IgG > 1200$ mg/dL), mientras que la administración del placebo disminuyó significativamente ($p < 0.05$) los niveles séricos de CD40. En la Figura 11b y 11c se observa que la suplementación con subproducto de mango incrementó significativamente ($p < 0.05$) los niveles séricos de IL-18 y FASL en niños aparentemente sanos, es decir, sin infección aguda ($IgG < 1200$ mg/dL). En la Figura 11d se observa que la suplementación con subproducto de mango incrementó significativamente ($p < 0.05$) los niveles séricos de MCP-1 en niños con y sin infección aguda, mientras que la administración del placebo no moduló significativamente los niveles séricos de esta proteína.

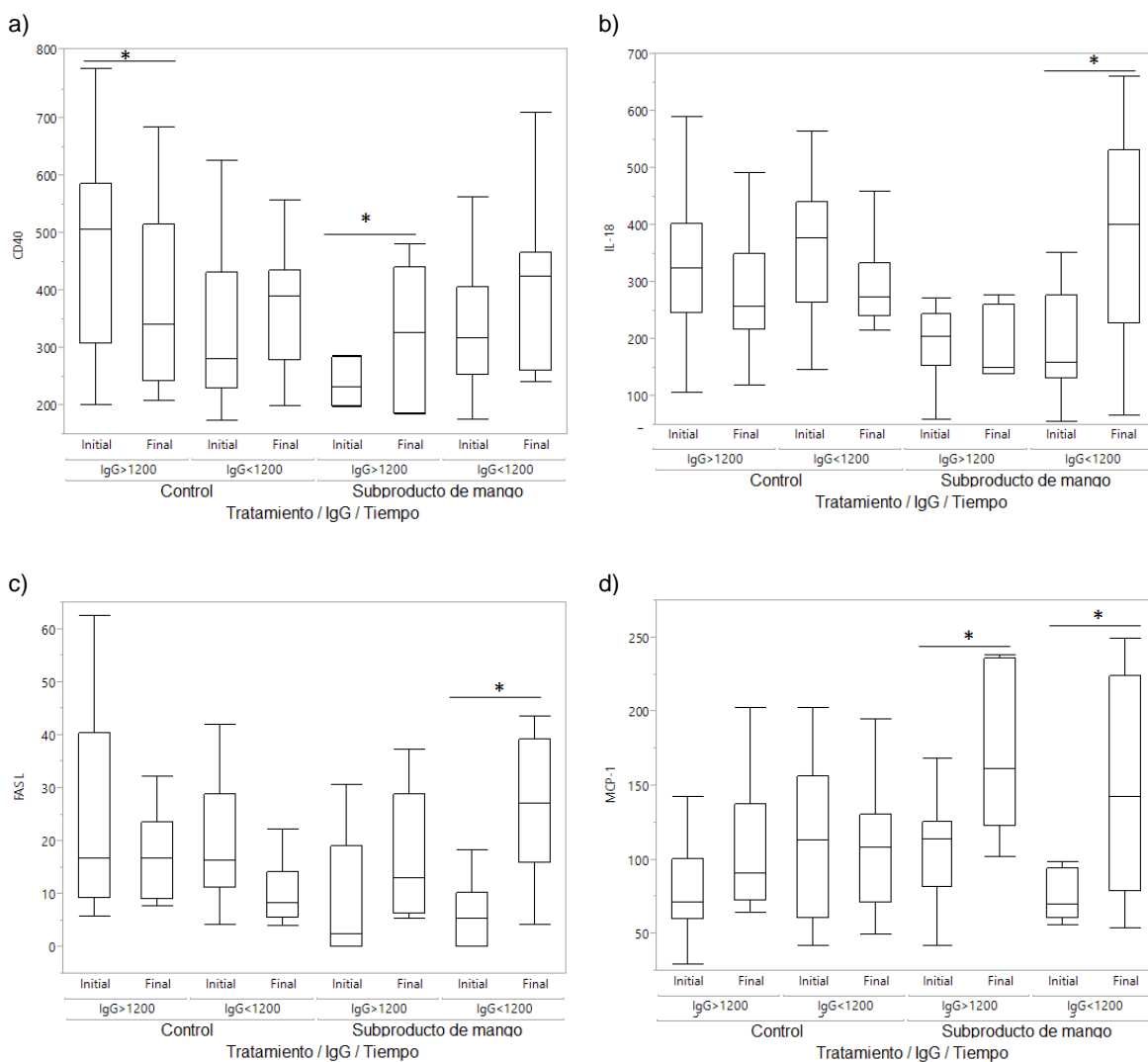


Figura 8. Gráficos de box-plots de CD40 (a), IL-18 (b), FASL (c) y MCP-1(d) de acuerdo al tratamiento, tiempo de experimentación y niveles séricos de IgG.

* Indica cambios significativos ($p < 0.05$).

Con el fin de observar el cambio global en el perfil de proteínas relacionadas con el sistema inmune, se realizó un análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA). En la Figura 8 se muestra el gráfico de PLS-DA de los dos grupos de experimentación (placebo y subproducto de mango) en los dos tiempos de experimentación (inicio y final). Sin embargo, no se observara una diferencia entre los grupos. Por lo tanto, se realizó un análisis de oPLS-DA independiente para cada tratamiento. En la Figura 9a se muestra el gráfico de oPLS-DA del grupo

placebo al inicio y al final del estudio de intervención y en la Figura 9b se muestra para el grupo del subproducto de mango. De igual manera, no se observan diferencias significativas entre ambos grupos; sin embargo, se observa que en el grupo del subproducto de mango se observa una mejor separación entre los dos tiempos de experimentación.

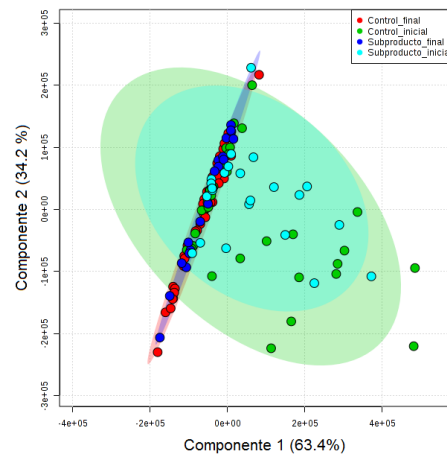


Figura 9. Análisis de PSL-DA de la respuesta del subproducto de mango y del placebo sobre las proteínas del sistema inmune antes y al final del estudio de intervención.

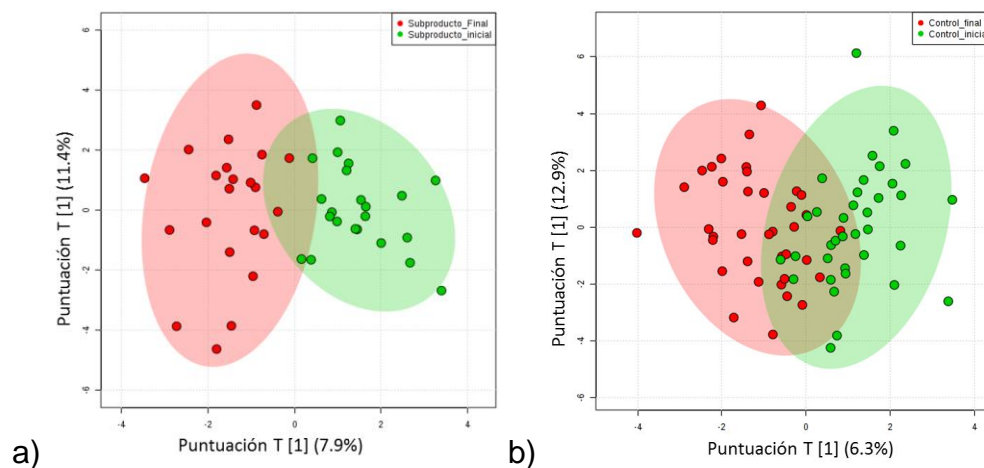


Figura 10. Análisis de oPLS-DA de la respuesta del subproducto de mango (a) y del placebo (b) sobre las proteínas del sistema inmune antes y al final del estudio de intervención.

Los resultados del análisis multivariado sugieren que no se observa un cambio global en el perfil de proteínas inmunes, lo que podría estar relacionado con la variabilidad interindividual. Lo anterior puede ser observado en el análisis jerárquico o heatmap mostrado en la Figura 10, donde se observa que todos los grupos presentaron una gran variabilidad individual en la mayoría de las proteínas inmunes analizadas.

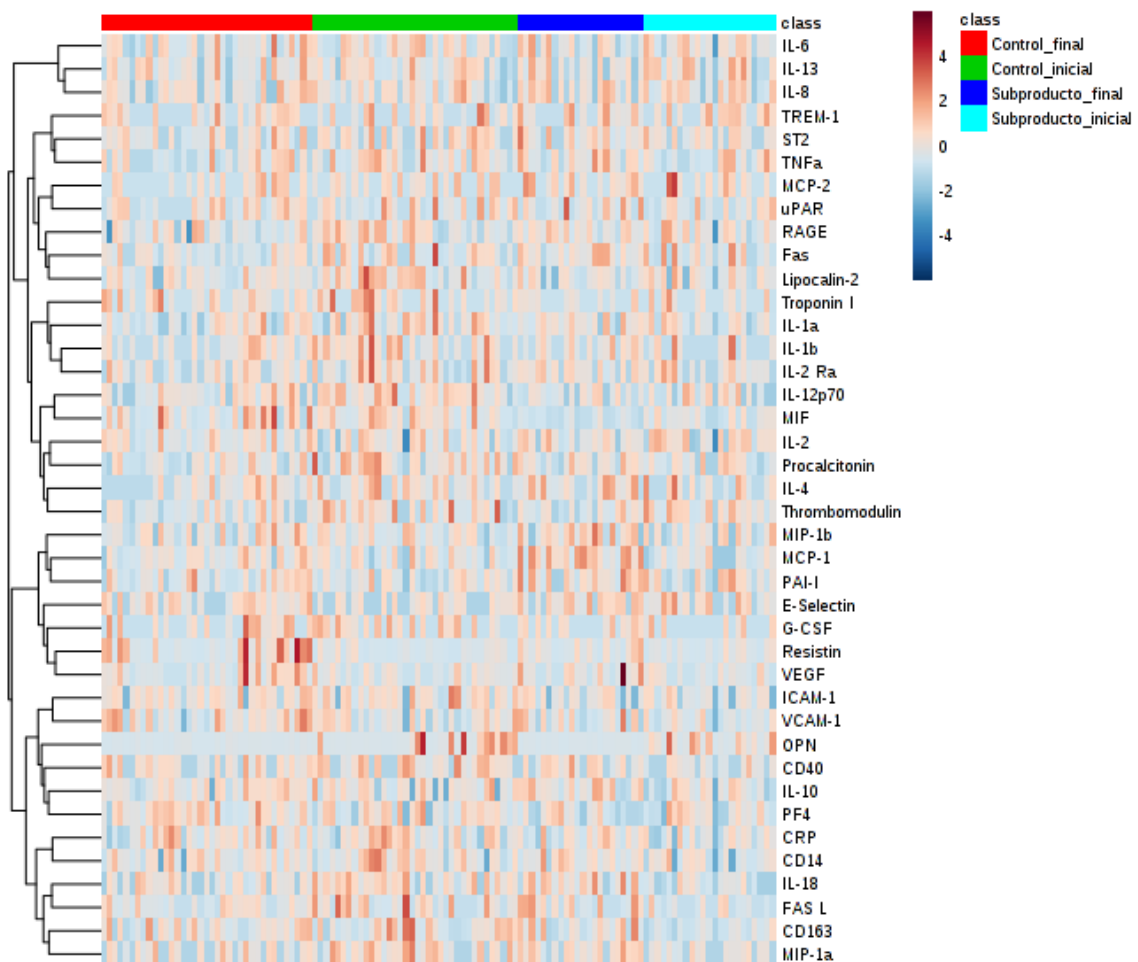


Figura 11. Heat map con perfil de proteínas global de cada uno de los participantes del estudio.

6. DISCUSIÓN

6.1. Caracterización de compuestos bioactivos del subproducto de mango

6.1.1. Determinación de la fibra total, soluble e insoluble

En este estudio se trabajó con el subproducto de mango de la variedad manila (*Magnifera indica* L.) constituido principalmente por cáscara y remanente de pulpa. El contenido de fibra dietaria total, FDT, fibra dietaria soluble, FDS, y fibra dietaria insoluble, FDI, se muestran en el Cuadro 5 donde se observa un contenido de FDT de 54.7 g/ 100 g m.s. Ajila y Prasada (2013) reportan un contenido de entre 40.6 y 72.5% de FDT en la cáscara de mango de variedades Raspuri y Badami, mientras que Martínez y col. (2012) reportan un contenido de FDT de 70 g /100g m.s. para subproducto de mango de la variedad manila, que incluía la pulpa y cáscara. Garcia Amezcua y col. (2018) reportan para el caso de mango variedad Ataulfo un contenido de FDT de la cáscara de la fruta de 39.25 g/100 g m.s. y 6.71 g/100 g m.s. El contenido depende tanto de la variedad de mango que se esté analizando como del estado de maduración del fruto, siendo mayor para el mango maduro.

El mango se ha caracterizado por contener en una alta cantidad la FDS. En este estudio el subproducto de mango presentó 14.26 g/100 g m.s. de FDS (26.32% de la fibra total) mientras que el reportado por Martínez y col. (2012) es de 28.2 g/100 g m.s. para un subproducto de mango variedad manila. Ajila y Prasada (2013) en las cáscaras de mango estudiadas obtienen un valor de entre 12.8 y 23% de FDS, una cantidad similar a la que se obtuvo en el presente estudio. La FDS puede ser disuelta en agua y atraviesa el proceso de digestión intacta siendo fermentada por la flora intestinal a lo largo del intestino aumentando metabolitos como ácidos grasos de cadena corta además de generar una barrera en el tracto intestinal que disminuye la absorción de nutrientes. La fibra dietética puede influir en las funciones inmunitarias a través de un cambio en la microflora intestinal, Lim y col. (1997) demostraron que la fibra dietaria soluble en la dieta aumentó el número de

células T en el sistema gastrointestinal de las ratas alimentadas con fibra pectina soluble en dos semanas, lo que sugiere un posible mecanismo para las influencias inmunitarias reguladoras de la fibra dietética; además se mostró una elevación de inmunoglobulina A (IgA) en linfocitos mononucleares y en suero; por otro lado Sandanamudi y colaboradores (2016) determinaron que las semillas de *Moringa oleífera*, que son una fuente potencial de fibra con un 6.5% de fibra dietaria soluble, incrementaron la ploriferación de esplenocitos y aumentó 6 veces la producción de monóxido de nitrógeno al compararlo con el control lo que indica la activación de macrófagos además de aumentar la actividad de fagocitos. Además, se ha demostrado que los suplementos dietéticos con oligofructosa e inulina aumentan significativamente las bifidobacterias, lo que altera el equilibrio de las bacterias del colon hacia una microflora potencialmente más saludable (Fuller y col., 2016).

Por otro lado la FDI tienen un efecto moldeador de heces, mientras atraviesan el intestino la digestión bacteriana es muy poca o nula. Se ha reportado por Martínez y col. (2012) 41.5 g/100 g m.s. en subproducto de mango, mientras que en este estudio se obtuvo una cantidad muy similar de 40.26 g/100 g m.s. (74.31 % de la fibra total) mientras que Ajila y Prasada (2013) reportan entre 12.8 y 23% de FDI en la cáscara de mango. Las fibras insolubles, como la celulosa, generalmente son mal fermentadas por la microbiota intestinales, pero su presencia en la dieta aumenta la tasa de tránsito intestinal y, por lo tanto, reduce la cantidad de tiempo disponible para la fermentación bacteriana del colon de productos alimenticios no digeridos (Holscher, 2017). Schedle y colaboradores (2008) utilizaron un modelo porcino con el fin de investigar la respuesta inmunológica de los tejidos gastrointestinales a las ingestas dietéticas de fibra insoluble, los resultados de la expresión de ARNm de marcadores inflamatorios como NFκB, TNFα, TGFβ, Caspasa3, CDK4 e IGF1 respaldan la hipótesis de un efecto estimulante de la fibra insoluble en el ciclo celular; además la fibra dietética insoluble redujo significativamente el NH₃, lo que sugiere un alivio de la exposición de los tejidos colónicos a los agentes estresantes. Mientras que Goodyear y colaboradores (2015) demostraron que el salvado de arroz, con un 23.66% en muestra seca de

fibra insoluble, es capaz de combatir una enfermedad entérica, específicamente colonizaciones de *Salmonella*.

La proporción de ambas fibras FDI/FDS se recomienda que se encuentre en un ratio de 1.0 – 2.3 para mejores efectos fisiológicos adecuados asociados a cada fracción como es la regulación intestinal de la fibra insoluble y la reducción de absorción de colesterol y glucosa además del efecto prebiótico de la fibra soluble (Yangilar,2013). El valor del subproducto de mango se encuentra ligeramente elevado con una relación de 2.8 debido a su alto contenido de FDS.

6.1.2. Determinación de compuestos bioactivos.

La fibra dietaria se encuentra también relacionada con compuestos polifenólicos aumentando las propiedades benéficas de la fibra; algunos polifenoles no son hidrolizados en el área superior del intestino por lo que quedan unidos a la fibra dietaria. Dichos polifenoles son llamados hidrolizables o ligados y pueden ser fermentados por la flora intestinal, creando un ambiente antioxidante en el intestino grueso. Por otro lado, los polifenoles extraíbles son solubilizados en disolventes acuoso-orgánicos y pueden ser absorbidos de forma parcial o total en el intestino delgado (Ajila y Prasada, 2012).

El subproducto de mango presentó 139.31 mg/g de polifenoles extraíbles, cabe mencionar que el subproducto utilizado en el presente estudio incluyó cáscara y remanente de pulpa. Amaya Cruz y col. (2015) reportó un contenido ligeramente menor (102.01 mg/g) en la cáscara de mango de la variedad manila, la cual es la misma variedad que la utilizada en este estudio. Los polifenoles extraíbles constituyen la principal fuente de antioxidantes de la dieta, destacando debido a que su consumo está asociado con la prevención o control del desarrollo de enfermedades agudas y crónicas (Martin y Appel, 2010).

Entre los compuestos mayoritarios identificados en el extracto de polifenoles extraíbles se encontraron el ácido elágico, miricetina 3-O-ramnósido, quercetina 3-O-xilósido, catequina 3-O-galato, quercetina, p-cumaril glucosa y ácido elágico glucósido que han demostrado la inhibición del factor- κ B nuclear (NF- κ B) que inhibe la producción de NO produciendo efectos antiinflamatorios, especialmente los compuestos flavonoides (Hämäläinen y col, 2007). Dora y col. (2014) evaluaron cáscaras de mango variedad Keitt, Sensation y Gomera 3, destacando la identificación de quercetina y derivados ácido elágico y derivados, y etil galato, siendo que este último no fue identificado en el presente estudio en subproducto de mango variedad Manila.

Con respecto a los polifenoles no extraíbles, los cuales están ligados a la matriz alimenticia por enlaces covalentes, enlaces de hidrógeno y/o interacciones hidrofóbicas, en el subproducto de mango se encontraron 3.49 mg/g, una concentración menor a la reportada por Ajila y Prasada (2012) de 8.12 mg/g. Dicha diferencia puede ser atribuible a la composición del subproducto utilizado, pues en este estudio se utilizó una mezcla de cáscara y remanente de pulpa, mientras que en el estudio de Ajila y Prasada (2012) utilizaron únicamente cáscara, la cual presenta un mayor contenido de compuestos antioxidantes en comparación de la pulpa.

Entre los compuestos polifenólicos no extraíbles, se encontró una alta abundancia de ácido elágico, ácido 2,3-dihidroxibenzoico, ácido protocatecuico 4-O-glucósido, ácido 3-sinapoilquinico, 3,7-dimetilquercetina y ácido isoferúlico. Es importante mencionar que no se ha caracterizado previamente la composición de la fracción de polifenoles no extraíbles de subproducto de mango. Dichos compuestos han demostrado tener actividad antimicrobiana, antimutagénica, antiestrogénica, hipoglucemiante, antiinflamatoria, nematocida, antiviral y antioxidante. Con respecto a la actividad antiinflamatoria, se ha reportado que el ácido parahidroxibenzoico tiene efecto similar al del diclofenaco sódico en relación a la formación de edemas y granulomas en un modelo de rata (Manuja y col., 2013).

6.2. Efecto del consumo de subproducto de mango en la modulación de la respuesta inmune de niños sanos

Se llevó a cabo la evaluación del efecto de subproducto de mango en niños sanos de entre 6 y 8 años durante dos meses, teniendo un grupo placebo como control. No se observó diferencia significativa en el género y edad de los participantes entre ambos grupos (Figura 6 y 7). Asimismo, no se observaron cambios significativos ($p < 0.05$) en las características antropométricas de ambos grupos al inicio y término del estudio (Cuadro 10).

6.2.1. Síntomas de infecciones respiratorias agudas

Se evaluó el efecto del consumo del subproducto de mango sobre síntomas de infecciones respiratorias agudas en niños escolares sanos. Se observó una disminución en la incidencia de dichos síntomas en el segundo mes del tratamiento (Cuadro 12). Específicamente, se observó una disminución significativa ($p < 0.05$) de la incidencia de escurrimiento nasal y moco cristalino (Cuadro 13), síntomas característicos de infecciones agudas en las vías respiratorias altas. Lo anterior sugiere que el subproducto de mango presenta un efecto benéfico crónico sobre síntomas de infecciones respiratorias agudas, ya que el efecto benéfico fue observado hasta el segundo mes de suplementación.

Asimismo, la suplementación con el subproducto de mango disminuyó significativamente ($p < 0.05$) la duración de los síntomas: ojos rojos, estornudos y cansancio. Sin embargo, es importante destacar que estos síntomas no exclusivos de las infecciones respiratorias agudas (Cuadro 14), pudiendo presentarse también al haber otra clase de infección o padecimiento en el paciente.

6.2.2. Síntomas de infecciones gastrointestinales agudas

Los síntomas de infecciones gastrointestinales fueron evaluados según el cuestionario semanal donde los padres especificaban los síntomas de los participantes indicando si presentaban estreñimiento, inflamación abdominal, flatulencias diarrea o vómito. Las características de las heces también es un buen indicador acerca de la presencia de infecciones gastrointestinales. Para obtener mayor certeza de alguna enfermedad intestinal es necesario conocer las características de las deposiciones (frecuencia y consistencia), presencia de síntomas asociados (dolor abdominal, dolor al defecar o sangre en las heces) (Rasquin y col, 2006).

A lo largo del estudio se observó una disminución significativa ($p < 0.05$) en la incidencia de los síntomas de infecciones gastrointestinales (Cuadro 16), habiendo un descenso de 48% de pacientes con incidencia de síntomas, sobresaliendo la disminución de inflamación abdominal de los niños al ingerir el subproducto de mango. La duración de la inflamación abdominal también se vio reducida al terminar el periodo de estudio, al igual que los días de incidencia en que se presentaron flatulencias en el segundo mes de estudio.

Es conocido que al presentarse una infección gastrointestinal la frecuencia de las deposiciones puede aumentar y va de la mano con la forma de las heces (Picnet, 2010) No se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos con relación a las características de las heces (pastosa, líquida o formada), mientras que la frecuencia de evacuaciones fue disminuida con la suplementación con el subproducto de mango.

6.2.3. Análisis de biometría hemática

La química sanguínea proporciona diversas herramientas que permiten la evaluación metabólica del cuerpo humano además del funcionamiento de ciertos órganos como hígado y riñones, pudiendo otorgar un diagnóstico incluso cuando no hay presencia de síntomas. El estándar de referencia es el mejor método disponible para establecer la presencia o ausencia de la afección objetivo (la afección o enfermedad sospechosa para la cual se aplicará la prueba) obtenido del estudio de una población sana en cierto periodo (Tietz, 2001).

La suplementación con el subproducto de mango disminuyó significativamente ($p < 0.05$) el porcentaje de la mezcla de células sanguínea (MXD) al final del estudio de intervención, mientras que el placebo no afectó dicho parámetro. Estas células están asociadas con enfermedades inflamatorias en respuesta a infecciones crónicas y trastornos sanguíneos (Hedge, 2017). Sin embargo, los resultados obtenidos de este parámetro y del resto de los indicadores de la biometría hemática están dentro de los parámetros de referencia, por lo que la alteración observada no puede considerarse como indicativa de una enfermedad hematológicas o crónicas.

6.2.4. Análisis de proteínas relacionadas al sistema inmune.

Con el fin de entender los mecanismos de acción relacionados con el efecto del subproducto de mango sobre los síntomas de infecciones respiratorias y gastrointestinales agudas, se realizó el análisis de proteínas relacionadas al sistema inmune, incluyendo las inmunoglobulinas. La IgG es la más abundante del suero humano siendo de gran importancia para la inmunidad sistémica, mientras que la IgM es una inmunoglobulina polimérica que se produce como primera respuesta a antígeno y finalmente la IgA es la clase principal en las secreciones siendo las más importantes las del epitelio que recubre el tracto intestinal y respiratorio (Regueiro, 2010).

La suplementación con el subproducto de mango disminuyó significativamente ($p < 0.05$) los niveles séricos de IgG al finalizar el estudio, efecto que no fue observado en el grupo control, mientras que no se observaron cambios significativos ($p < 0.05$) en los niveles séricos de IgM e IgA en ambos grupos de estudio (Cuadro 19). Es importante mencionar que la IgG representa una respuesta tardía a una infección, ya que los niveles de IgG se elevan en etapas tardías de la infección, disminuyendo ligeramente las concentraciones en suero a medida que pasa el tiempo. Si hubiera una segunda infección, se incrementan sus niveles en suero como respuesta secundaria (Gutiérrez y Maroto, 1996).

Por lo tanto, la disminución de los niveles séricos de IgG tras la administración del subproducto de mango indica una disminución en la presencia de infecciones al finalizar el estudio, lo que podría estar relacionado con la disminución en la duración e incidencia de síntomas de infecciones respiratorias y gastrointestinales agudas descritas anteriormente.

Adicional a las inmunoglobulinas, se analizaron 40 biomarcadores séricos relacionados con la respuesta inmune humana (Cuadro 20). De las 40 proteínas analizadas, 26 no fueron modificadas significativamente ($p < 0.05$) por ninguno de los tratamientos. El grupo placebo mostró una disminución significativa ($p < 0.05$) de ST2, OPN, trombomodulina, así como un incremento significativo ($p < 0.05$) de VEGF al final del estudio. Es importante mencionar que las alteraciones en dichas proteínas inmunes podría estar relacionado con la presencia de síntomas de infecciones respiratorias y gastrointestinales agudos como se describió anteriormente.

Por otro lado, la suplementación con el subproducto de mango durante dos meses aumentó de forma significativa ($p < 0.05$) la concentración sérica de 9 proteínas: CD40, IL-10, IL-18, CD163, FAS L, G-CSF, MCP-1, MIP-1a, MIP-1b.

El CD40 se expresa mediante una variedad de tipos celulares, que incluyen células B, células dendríticas, monocitos, macrófagos y células endoteliales. Desempeña un importante papel coestimulador en la diferenciación y recombinación de células B, el CD40 activa las células B en reposo por aumento en tamaño y expresión de nuevas moléculas de superficie implicadas en la agregación homotípica y heterotípica (CD23, VLA-4), coestimulación de células T (CD80/CD86) y muerte celular (FAS).

Durante el presente estudio se observó una disminución de la concentración sérica de CD40 en los niños pertenecientes al grupo placebo junto con un aumento de las inmunoglobulinas asociadas a la respuesta inmune adaptativa (IgG > 1200 mg/dL) que indican una infección reciente (Cottler-Fox y col., 1991). Por el contrario, los niños suplementados con el subproducto de mango presentaron un aumento en la concentración sérica de CD40 solo en aquellos niños que presentaron una infección reciente (Figura 8a), mientras que no se observó una diferencia significativa en niños sin infección (IgG < 1200 mg/dL). Lo anterior sugiere que el suplemento con subproducto de mango puede estimular la expresión de diversas células inmunológicas cuando se presenta una enfermedad infecciosa en el huésped promoviendo el proceso de inflamación necesario para eliminación del agente patógeno.

Se ha demostrado previamente que la activación de CD40 en hepatocitos puede amplificar la apoptosis mediada por FAS (Afford y col., 2001), mecanismo regulado también por el ligando de FAS (FAS L). FAS L se une a su receptor FAS en las células sensibles, regulando la apoptosis y otros procesos celulares en múltiples tipos de células, en particular en la muerte de células diana infectadas con patógenos y de linfocitos perjudiciales, potencialmente reactivos e innecesarios (Strasser y col., 2009). Por lo tanto, el efecto del subproducto de mango sobre el incremento de los niveles séricos de FAS L sugiere una asociación con la disminución de incidencias de enfermedades respiratorias agudas durante el

periodo de tratamiento, así como la duración de las enfermedades gastrointestinales, específicamente de la incidencia de inflamación abdominal.

Por otro lado, la interleucina IL-10 inhibe una gran cantidad de células efectoras, así como diversos procesos de enfermedades inflamatorias, y sus niveles se correlacionan inversamente con la incidencia y severidad de la enfermedad. IL-10 inhibe la producción de citoquinas proinflamatorias y la activación de las células Th1 y Th2, que es probablemente atribuible a los efectos de la IL-10 en las células presentadoras de antígeno y sus efectos directos sobre la función de las células (Kubo y col., 2017). Lo anterior sugiere que el subproducto de mango presenta actividad anti-inflamatoria en niños sanos, ya que se observó un incremento significativo ($p < 0.05$) en los niveles séricos de IL-10. Dicho efecto podría conllevar a un menor impacto negativo de la respuesta inflamatoria del sistema inmune durante los episodios de infección respiratoria y gastrointestinal aguda.

El G-CSF participa en mecanismos de defensa biológica al estimular la proliferación y la diferenciación de los progenitores de neutrófilos en la médula ósea, lo que permite mantener el número de neutrófilos maduros y funcionales (Kato, 2016). Estudios que usan ratones deficientes en G-CSF o receptor de G-CSF (G-CSFR) han demostrado que G-CSF juega un papel importante en el mantenimiento del número de neutrófilos circulantes en estado estacionario y en la movilización de neutrófilos durante la infección con *Listeria monocytogenes* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Asimismo, se ha demostrado que G-CSF tiene efectos inmunomoduladores en células del linaje de monocitos por la movilización de una gran variedad de células inmunes, como las células dendríticas, y la inducción de la producción de IL-10 localmente mediante la inhibición de la producción de citoquinas inflamatorias dentro de los monocitos, macrófagos y las células dendríticas (Martins y col., 2010). Lo anterior sugiere que el efecto del subproducto de mango sobre los niveles

séricos de IL-10 podría estar relacionado estrechamente con la modulación de G-CSF, disminuyendo la actividad inflamatoria y modulando el sistema inmune.

La interleucina IL-18 es un estimulador importante de células Th1 activadas por antígenos, la cual contribuye a la defensa del huésped contra la infección al aumentar las propiedades antimicrobianas de los fagocitos y al iniciar las respuestas inmunes adaptativas Th1 y Th17 (Van deVeerdonk y col., 2011). La suplementación con el subproducto de mango incrementó de manera significativa ($p < 0.05$) los niveles séricos de IL-18 en niños sin infección reciente ($IgG < 1200$, Figura 8b), lo que sugiere un efecto inmunomodulador asociado a una menor duración e incidencia de los episodios de infecciones respiratorias y gastrointestinales agudas.

Por otro lado, el CD163 es un miembro de la clase B de la superfamilia rica en cisteína del receptor scavenger (SRCR) exclusivo del linaje monocito/macrófago. Se ha demostrado que los glucocorticoides y algunos mediadores antiinflamatorios (IL-6 e IL-10) promueven la expresión y síntesis de CD163, mientras que los factores proinflamatorios (lipopolisacáridos, interferón- γ [IFN- γ] y factor de necrosis tumoral- α [TNF- α]) suprimen CD163 (Buechler y col., 2000). Asimismo, se ha demostrado que la expresión de CD163 fomenta la unión de bacterias, que incluyen especies tanto Gram-negativas como Gram-positivas, contribuyendo con la inflamación local que conlleva a la eliminación de la infección (Fabriek y col., 2009). La suplementación con el subproducto de mango durante dos meses incrementó de manera significativa los niveles séricos de CD163, lo que podría sugerir la promoción de un estado inflamatorio como respuesta del sistema inmune innato, disminuyendo la incidencia de los síntomas de infecciones respiratorias y gastrointestinales agudas.

La MCP 1 es una de las quimocinas clave que regulan la migración y la infiltración de monocitos/macrófagos. Se ha demostrado que MCP 1 y su receptor se inducen y modulan diversas enfermedades incluyendo infecciones virales y enfermedades

inlamatorias principalemtn. La migración de monocitos del torrente sanguíneo a través del endotelio vascular es necesaria para la vigilancia inmunológica de rutina de los tejidos, así como en respuesta a la inflamación. Asimismo, MCP 1 participa en la protección del huésped contra infecciones bacterianas por medio de la inducción de células T (Deshmane y col., 2009). Dicha proteína fue incrementada significativamente ($p < 0.05$) con la suplementación con subproducto de mango, lo que sugiere un incremento de la actividad inmunitaria, especialmente de la respuesta inmune innata al presentarse una infección.

La proteína inflamatoria de macrófagos 1α (MIP- 1α) así como la proteína inflamatoria de macrófagos 1β (MIP- 1β) fueron incrementadas de manera significativa ($p < 0.05$) tras dos meses de suplementación con subproducto de mango. Ambas proteínas producidas por los macrófagos después de que son estimulados con endotoxinas bacterianas, activando los granulocitos humanos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) que pueden conducir a una inflamación neutrofílica aguda. Asimismo, MIP- 1α y MIP- 1β inducen la síntesis y liberación de otras citoquinas proinflamatorias como la IL-1, IL-6 y TNF- α de fibroblastos y macrófagos (Lillard y col., 2003).

Estudios anteriores realizados en ratones muestran que la ausencia de MIP- 1α da como resultado una eliminación retardada de algunos patógenos, como la bacteria *Listeria monocytogenes* y el virus de la gripe (Jones y col., 2003). Asimismo, Jones y col. (2013) argumentan que es posible que MIP- 1α , que se une a los receptores de quimiocinas CCR1 y CCR5, incida en el desarrollo de memoria efectora frente a células de memoria centrales, siendo una molécula necesaria para que se lleve a cabo la acción de la respuesta inmune secundaria. Mientras que MIP- 1β ha demostrado ser muy eficaz para aumentar la adhesión de los linfocitos T a la molécula 1 de adhesión de células vasculares (VCAM-1).

Se ha reportado que MIP-1 α estimula fuertes respuestas de IgG e IgM en suero específicas del antígeno, mientras que MIP-1 β promueve una respuesta más baja de IgG e IgM pero también da una alta respuesta de anticuerpos IgA e IgE (Lillard y col., 2003). Por lo tanto, el incremento en los niveles séricos de IgA en los niños suplementados con el subproducto de mango podría estar relacionado con la inducción de MIP-1 β .

7. CONCLUSIONES

La suplementación con el subproducto de mango durante dos meses disminuyó la duración e incidencia de síntomas característicos de infecciones respiratorias y gastrointestinales agudas en niños sanos en edad escolar. Dichos efectos benéficos fueron relacionados con la modulación de proteínas relacionadas con la respuesta inmune innata y adaptativa, aumentando niveles de proteínas efectoras así como de reguladores de la respuesta inflamatoria. El efecto inmunomodulador del subproducto de mango podría estar relacionado con su alto contenido de fibra dietaria, así como de polifenoles extraíbles y no extraíbles. Por lo tanto, el subproducto de mango podría ser utilizado como ingrediente para el desarrollo de suplementos dietarios o alimentos funcionales con propiedades benéficas a la salud.

8. BIBLIOGRAFÍA

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología celular y molecular. 7ª edición. Barcelona: Elsevier, **2012**;55-109.

Abbas S, Raybould JE, Sastry S, De la Cruz O. Respiratory viruses in transplant recipients: more than just a cold. Clinical syndromes and infection prevention principles. International Journal of Infectious Diseases **2017**; 62:86-93.

Afford SC, Ahmed-Choudhury J, Randhawa S, Russel C, Youster J, Crosby HA, Eliopoulos A, Hubscher SG, Young LS, Adams DHH. CD40 activation-induced, Fas-dependent apoptosis and NF-kappaB/AP-1 signaling in human intrahepatic biliary epithelial cells. FASEB J **2001**;15:2345-2354.

Ajila CM, Prasada-Rao UJS. Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics. Journal of functional foods **2013**;5:4444-450.

Albert L, Roa M. Gastroenteritis aguda. Guía-ABE_GEA [Serie en internet] 2011 [Consultado 2018 febrero 1]; 4:[aprox. 3 pp] Disponible en: [http://www.guia-abe.es/files/pdf/Guia-ABE2_GEA_v.4_\[2011\].pdf](http://www.guia-abe.es/files/pdf/Guia-ABE2_GEA_v.4_[2011].pdf)

Al-Nakeeb S, Clermont G. Procalcitonin testing has the potential to reduce unnecessary antibiotic use in patients with suspected lower respiratory tract infections. Critical care **2005**;9:118-118.

Álvarez-Calatayud G, Pérez-Moreno J, Tolín M, Sánchez C. Aplicaciones clínicas del empleo de probióticos en pediatría. Nutr Hosp **2013**; 28(3):564-574

Amaya-Cruz DM, Rodríguez-González S, Pérez-Ramírez IF, Loarca-Piña G, Amaya-Llano S, Gallegos-Corona MA, Reynoso-Camacho R. Juice by-products as a source of dietary fibre and antioxidants and their effect on hepatic steatosis. Journal of functional foods **2015**;17:93-102.

Anudeep S, Prasanna VK, Adya SM, Radha C. Characterization of soluble dietary fiber from Moringa oleifera seeds and its immunomodulatory effects. International Journal of Biological Macromolecules **2016**: 91,656–662.

Arranz S. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta Española: metodología para su determinación e identificación. Tesis de doctorado, España, Universidad Complutense de Madrid **2010**

AOAC 1999. International. Official Methods of Analysis of AOAC International. Method AOAC 985.29. Association of Official Analyst Chemists.

Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. Gripe [monografía de internet] México: UNAM, 2009 [Consultado 2018 enero 26] Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/termino.php?l=1&t=gripe&id=1982>

Buechler C, Ritter M, Orsó E, Langmann T, Klucken J, Schmitz G. Regulation of scavenger receptor CD163 expression in human monocytes and macrophages by pro- and antiinflammatory stimuli. *Journal of Leukocyte Biology* **2000**;67:97-103.

Carey S, Ferrie S, Young J, Allman-Farinelli M. Long-term nutrition support in gastrointestinal disease: A systematic review of the evidence. *Nutrition* **2012**;28:4-8.

CENETEC. Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad Diarreica Aguda en niños de dos meses a cinco años en el primero y segundo nivel de atención [monografía de internet] México: Secretaría de Salud, 2008 [Consultado 2018 febrero 01] Disponible en: http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/156_GPC_ENFERMEDAD_DIARREICA_AGUDA_EN_NINOS/RER_Diarrea_Aguda.pdf

CENETEC. Diagnóstico y manejo de la infección aguda de vías aéreas superiores en pacientes mayores de 3 meses hasta 18 años de edad [monografía de internet] México: Secretaría de Salud, 2016 [Consultado en 2017 noviembre 14] Disponible en:

http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/062_GPC_InfAguda3mesesa18a/INFECCION_VIAS_AEREAS_EVR_CENETEC.pdf

CEVECE. Enfermedades gastrointestinales, semana 49 [monografía de internet]. Estado de México: Secretaría de salud, 2016 [Consultado 2017 julio 16]. Disponible en:

http://salud.edomex.gob.mx/cevece/documentos/difusion/tripticos/2016/Semana%2049_2016.pdf

Chang AB, Chang CC, O'Grady K, Torzillo PJ. Lower Respiratory Tract Infections. *Pediatr Clin N Am* **2009**;56:1303–1321

Chauveau-Duriot B, Doreau M, Nozière P, Graulet B. Simultaneous quantification of carotenoids, retinol, and tocopherols in forages, bovine plasma, and milk: validation of a novel UPLC method. *Anal Bioanal Chem* 2010;397:777-790.

Chew BP, Park JS. Carotenoid Action on the Immune Response. *The journal of nutrition* 2004;134:257S-261S

Choque-Delgado GT, Cunha-Tamashiro WMS, Maróstica-Junior MR, Moreno YM, Pastore GM. The putative effects of prebiotics as immunomodulatory agents. *Food Research International* 2011;4: 3167–3173.

Cota AM, Midwinter MJ. The immune system. *Physiology* 2015;16:353-355.

Couper KN, Blount DG, Riley EM. IL-10: The Master Regulator of Immunity to Infection. *The journal of immunology* 2008;180: 5771-5777.

Cottler-Fox M, Lynch M, Pickle LW, Cahill R, Spitzer TR, Deeg HJ. Some but not all benefits of intravenous immunoglobulin therapy after marrow transplantation appear to correlate with IgG trough levels. *Bone Marrow Transplantation* 1991;8:27-33.

Díaz-Mora JJ, Echezuria L, Petit N, Cardozo MA, Arias A, Rísquez A. Diarrea aguda: epidemiología, concepto, clasificación, clínica, diagnóstico, vacuna contrarotavirus. *Archivos venezolanos de puericultura y pediatría* 2014;77:29-40.

Dorta E, González M, Lobo MG, Sánchez-Moreno C, de Ancos B. Screening of phenolic compounds in by-product extracts from mangoes (*Mangifera indica* L.) by HPLC-ESI-QTOF-MS and multivariate analysis for use as a food ingredient. *Food Research International* 2014;57:51–60.

Fabriek BO, Van Bruggen R, Deng DM, Ligtenberg AJM, Nazmi K, Schornagel K, Vloet RPM, Dijkstra CD, Van Den Berg TK. The macrophage scavenger receptor CD163 functions as an innate immune sensor for bacteria. *Blood journal* 2009;113:887-892.

Ferkol T, Schraufnagel D. The Global Burden of Respiratory Disease. *Annals ATS* 2014;11:405-410.

Flaherty DK. *Immunology for pharmacy*. 1a edición. Missouri: Elsevier, 2012:74-76

Fuller S, Beck E, Salman H, Tapsell L. New Horizons for the Study of Dietary Fiber and Health: A Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2016:71(1),1-12.

Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nature* **2010**;6:232-241.

García-Amezquita LE, Tejada-Ortigoza V, Heredia-Olea E, Serna-Saldívar SO, Welti-Chanes J. Differences in the dietary fiber content of fruits and their by-products quantified by conventional and integrated AOAC official methodologies [serie en internet] *Food composition and analysis* **2018** [consultado 2018 julio 07]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157518300048> .

Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA. Vitamin D, respiratory infections, and asthma. *Current Allergy and Asthma Reports* **2009**;9:81–87.

Goodyear A, Kumar A, Ehrhart EJ, Swanson KS, Grusak MA, Leach JE, Dow SW, McClung A, Ryan EP. Dietary rice bran supplementation prevents *Salmonella* colonization differentially across varieties and by priming intestinal immunity. *Journal of functional foods* **2015**;18:653-664.

Gordon HC, Jarvis K. The effectiveness of vitamin C in preventing and relieving the symptoms of virus-induced respiratory infections. *Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics* **1999**;22:530-533.

Grief SM. Upper Respiratory Infections. *Primary Care: Clinics in Office Practice* **2013**;40:757-770.

Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV, Hennessy T, Griffin PM, DuPont H, Sack RB, Tarr P, Neill M, Nachamkin I, Reller LB, Osterholm MT, Bennish ML, Pickering. *IDSA Guidelines*. **2001**;32: 331-350

Gutierrez J, Maroto C. Are IgG antibody avidity assays useful in the diagnosis of infectious diseases? A review. *Microbios* **1996**;87:113-121

Hämäläinen M, Nieminen R, Vuorela P, Heinonen M, Moilanen E. Anti-Inflammatory Effects of Flavonoids: Genistein, Kaempferol, Quercetin, and Daidzein Inhibit STAT-1 and NF- κ B Activations, Whereas Flavone, Isorhamnetin, Naringenin, and Pelargonidin Inhibit only NF- κ B Activation along with Their Inhibitory Effect on iNOS Expression and NO Production in Activated Macrophages. *Mediators of Inflammation* **2007**;10:1-10.

Hardy H, Harris J, Lyon E, Beal J, Foey AD. Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology. *Nutrients* **2013**;5(6):1869-1912.

Hart AL, Kamm MA, Stagg AJ, Knight SC. Mechanisms of action of probiotics: Recent Advances. *Inflamm Bowel Dis* **2009**;15:300-310.

Hartzfeld PW, Forkner R, Hunter MD, Hagerman AE. Determination of hidrolizable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *J Agric Food Chem* **2002**;50:1785-1790.

Hassan F, Ismail A, Abdulhamid A, Azlan A. Identification and quantification of phenolic compounds in bambangan (*Magnifera pajang* Kort.) peels and their free radical scavenging activity. *J Agric Food Chem* **2011**;59:9102-9111.

Hedge S. MXD Blood Test : Normal Range, Low And High Levels. Health checkup [serie en internet] **2017** [consultado 2018 noviembre 11]. Disponible en: <https://www.healthcheckup.com/tests/mxd-blood-test/> .

Heimer D, Vignolini P, Dinia M, Vincierib F, Romanib A. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae adible varieties. *Food Chem* **2006**;99:464-469.

Hernández-Cortez C, Aguilera-Arreola M, Castro-Escarpuli G. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enf inf microbiol* **2011**;31(4):137-151

Jones E, Price DA, Dahm-Vicker M, Cerundolo V, Klenerman P, Gallimore A. The influence of macrophage inflammatory protein-1 α on protective immunity mediated by antiviral cytotoxic T cells. *Immunology* **2003**;109:68-75.

Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. *Inmunología de Kuby*. 6a edición. México: McGraw Hill Latinoamerica, **2007**;1-76.

Kubo T, Morita H, Sugita K, Cezmi KS. Introduction to Mechanisms of Allergic Diseases. *Middleton's Allergy Essentials* **2017**;8:1-27

Lillard JW, Singh UP, Boyaka PN, Singh S, Taub DD, McGee JR. MIP-1 α and MIP-1 β differentially mediate mucosal and systemic adaptive immunity. *Blood* **2003**;101:807-8014.

Lim B, Yamada K, Nonaka M, Kuramoto Y, Hung P, Sugano M. Dietary Fibers Modulate Indices of Intestinal Immune Function in Rats. *The Journal of nutrition* **1997**;127:663-667.

Llor C, Gurrutxaga MA, De la Flor J, Bernárdez S, Cañada JL, Bárcena M, Serrano C, Cots M. Recommendations for the use of rapid diagnosis techniques in respiratory infections in primary care. *Atención Primaria* **2017**;49:426-437.

Macedo M, Mateos S. *Temas de bacteriología y virología médica*. 2ª edición. Uruguay: Oficina del libro FEFMUR, **2006**: 137-161.

Macfarlane S, Macfarlane GT, Cummings JH. Review article: prebiotics in the gastrointestinal tract. *Aliment Pharmacol Ther* **2006**;24:701-714.

Manuja R, Sachdev S, Jain A, Chaudhary J. A Comprehensive Review on Biological Activities of P-Hydroxy Benzoic Acid and Its Derivatives. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **2013**;22:109-105.

Martínez R, Torres P, Meneses MA, Figueroa JG, Pérez-Álvarez JA, Viuda-Martos M. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food chemistry* **2012**;135:1520-1526.

Martin KR, Appel CL. Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword. *Nutrition and Dietary Supplements* **2010**;2:1-12.

Martins A, Han J, Kim SO. The Multifaceted Effects of Granulocyte Colony-Stimulating Factor in Immunomodulation and Potential Roles in Intestinal Immune Homeostasis. *PMC* **2010**;62:611-617.

McCormick SM, Heller NM. Commentary: il-4 and il-13 receptors and signaling. *HHS* **2015**;75:38-50.

Menten P, Wuyts A, Damme JV. Macrophage inflammatory protein-1. *Cytokine & Growth Factor Reviews* **2002**;13:455-481.

Mitra SK. Mango production in the world—present situation and future prospect. *Acta Horti* **2016**;1111:287-296.

Moreau RA, Powell MJ, Hicks KB. Evaluation of a Commercial Enzyme-Based Serum Cholesterol Test Kit for Analysis of Phytosterol and Phytostanol Products. *J. Agric. Food Chem* **2003**;51:6663-6667.

Mosqueda-Peña R, Rojo-Conejo, P. Gastroenteritis aguda. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Urgencias Pediátricas SEUP-AEP 2011:97-102.

Hidroponía. SITUACIÓN ACTUAL DE LA PRODUCCIÓN DE MANGO EN MÉXICO. Hydro environment [serie en internet] 2018 [consultado 2018 octubre 15]. Disponible en: <http://hidroponia.mx/situacion-actual-de-la-produccion-de-mango-en-mexico/>

Murphy K, Weaver C. Janeway's immunology. 9a edición. Nueva York: Garland Science, 2017;1-77.

Nataro J, Guerrant R. Chronic consequences on human health induced by microbial pathogens: Growth faltering among children in developing countries. Vaccine [serie en internet] 2017 [consultado 2017 julio 16]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X1730659X#f0005>

Nesbitt I. The patient with gastrointestinal disease. Surgery 2016;34:416-419.

Olives A, Cámara M, Sánchez M, Fernández V, López M. Application of a UV-vis detection-HPLC method for rapid determination of lycopene and b-caroten in vegetables. Food Chem 2006;95:328-336.

Oortwijn BD, Roos A, Van der Boog PJM, Klar-Mohamad N, Van Remoortere A, Deelder AD, Daha MR, Van Kooten C. Monomeric and polymeric IgA show a similar association with the myeloid FcαRI/CD8 2007;44:966-973.

Papadopoulos NG, Megremis S, Kitsioulis NA, Vangelatou O, West P, Xepapadaki P. Promising approaches for treatment and prevention of viral respiratory illnesses. Journal of Allergy and Clinical Immunology 2017;17: 1112-1113.

Paredes-Salido F, Roca-Fernández JJ. Infecciones gastrointestinales. Offarm 2004;23:100-106.

Pérez-Jiménez J, Díaz-Rubio ME, Saura-Calixto F. Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: occurrence, metabolic fate and health effects. Nutr Res Rev 2013;26:118-129.

Polanco-Allué I. Microbiota and gastrointestinal diseases. An pediatr 2015.

Programa sectorial de salud. Prevención y control de las enfermedades respiratorias e influenza 2013-2018 [monografía de internet]. Distrito Federal: Secretaría de salud, 2014 [Consultado 2017 julio 11]. Disponible en:

http://www.cenaprece.salud.gob.mx/descargas/pdf/PAE_PreencionControlEnfermedadesRespiratoriasInfluenza2013_2018.pdf

Rasquin-Weber A, Hyman PE, Cucchiara S, Fleisher DR, Hyams JS, Milla PJ, Staiano A. Childhood functional gastrointestinal disorders. *Gut* **1999**;45:1160-1168.

Regueiro JR, López C, González S, Martínez E. Inmunología Biología y patología del sistema inmunitario. 4ª edición. Madrid: Médica panamericana **2010**;39-49.

Rider P, Carmi Y, Guttman O, Braiman A, Cohen I, Voronov E, Blanco MR, Dinarello CA, Apte RN. IL-1 α and IL-1 β recruit different myeloid cells and promote different stages of sterile inflammation. *J Immunol* **2011**;187:4835-4843.

Rodríguez-González S, Pérez-Ramírez IF, Castaño-Tostado E, Amaya-Llano S, Rodríguez-García ME, Reynoso-Camacho R. Improvement of physico-chemical properties and phenolic compounds bioavailability by concentrating dietary fiber of peach (*Prunus persica*) juice by-product. *J Sci Food Agric* **2017**;10:1002-1012.

Rondon L, Añez-Zavala RM, Salvatierra-Hidalgo A, Meneses-Barrios RT, Heredia-Rodríguez MT. Probióticos: generalidades. *Archivos venezolanos de puericultura y pediatría* **2015**;78:123-128.

Roth DE, Caulfield LE, Ezzati M, Black RE. Acute lower respiratory infections in childhood: opportunities for reducing the global burden through nutritional interventions. *Bulletin of the World Health Organization* **2008**;5:356-364.

Schedle K, Pfaffl MW, Pletzner C, Meyer HHD, Windisch W. Effect of insoluble fibre on intestinal morphology and mRNA expression pattern of inflammatory, cell cycle and growth marker genes in a piglet model. *Archives of Animal Nutrition* **2008**:62(6), 427–438.

Secretaría de salud. Veinte principales causas de enfermedad Nacional, por grupos de edad [monografía de internet]. Distrito Federal: Secretaría de salud, 2016 [Consultado 2017 agosto 14]. Disponible en: http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/2016/principales/nacional/grupo_edad.pdf.

Secretaría de salud. Informe sobre la salud de los mexicanos. [monografía de internet]. Distrito Federal: Secretaría de salud, 2012 [Consultado 2018 marzo 23]. Disponible en:

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/64176/INFORME_LA_SALUD_DE_LOS_MEXICANOS_2015_S.pdf

Secretaría de salud. Manual de Enfermedades Respiratorias 2012 Prevención, diagnóstico y tratamiento [monografía de internet]. Distrito Federal: Secretaría de salud, 2012 [Consultado 2017 agosto 12]. Disponible en: http://salud.edomex.gob.mx/html/descarga.php?archivo=ADMINISTRATIVA/ENFERMEDADES%20%20RESPIRATORIAS%20%20AGUDAS%20MANUAL.PDF&area=ADMINISTRATIVA&id=73855&b_x_letra=E

Simoes AEF, Cherian T, Chow J, Shahid-Salles SA, Laxminarayan R, Jhon TJ. Chapter 25 Acute Respiratory Infections in Children [monografía de internet] Washington DC: The International Bank for Reconstruction and Development/The World Bank 2006 [Consultado 2017 agosto 14]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11786/>

Singleton V, Orthofer R, Lamuela R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* **1999**;299:152-178.

Sumaya-Martínez MT, Sánchez-Herrera LM, Torres-García G, García-paredes D. Red de valor del mango y sus desechos con base en las propiedades nutricionales y funcionales. *Rev Mex de AgroNeg* **2012**;30:826-833.

Strasser A, Jost PJ, Nagata S. The many roles of FAS receptor signaling in the immune system. *Immunity* **2009**;30:180-192.

Striz I, Brabcova E, Kolesar L, Sekerkova A. Cytokine networking of innate immunity cells: a potential target of therapy. *Clinical Science* **2014**;126:593-612.

Tdelair A. Manejo de las infecciones respiratorias agudas. *Rev Cubana Farm* **2002**;36(2):138-140.

Van deVeerdonk FL, Netea MG, Dinarello CA, Joosten LA. Inflammasome activation and IL-1 β and IL-18 processing during infection. *Cell Press* **2011**;32:110-116.

Vila J, Álvarez-Martínez MJ, Buesa J, Castillo J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* **2009**;27:406-411

Wall-Medrano A, Olivas-Aguirre FJ, Velderrain-Rodríguez GR, González-Aguilar A, De la Rosa LA, López-Díaz JA, Álvarez-Parrilla E. El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nutr Hosp* **2015**;31:67-75.

Webb NJA, Bottomley MJ, Watson CJ, Brenchley PEC. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is released from platelets during blood clotting: implications for measurement of circulating VEGF levels in clinical disease. *Clinical Science* **1997**;94:395-404.

Wintergerst ES, Maggini S, Hornig DV. Immune-enhancing role of vitamin C and zinc and effect on clinical conditions. *Ann Nutr Metab* **2006**;50:85–94.

Yalda-Lucero A. Etiología y manejo de la gastroenteritis aguda infecciosa en niños y adultos. *Rev Med Clín Condes* **2014**;25:463-472.

Yangilar F. The Application of Dietary Fibre in Food Industry: Structural Features, Effects on Health and Definition, Obtaining and Analysis of Dietary Fibre: A Review. *Journal of Food and Nutrition Research* **2013**;1;13-23.

Zurita J, SÍaz-Rubio M, Saura-Calixto F. Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. *Int J Food Sci Nutr* **2012**;63:936-939.

ANEXOS

Anexo A. Dictamen de aprobación del proyecto de investigación por parte del Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales



Comité de Bioética

Querétaro, Qro, 25 de Mayo de 2017.

DRA. IZA FERNANDA PÉREZ RAMÍREZ
PROFESOR INVESTIGADOR
FACULTAD DE QUÍMICA


Estimada: Iza Fernanda Pérez Ramírez

Nos permitimos hacer de su conocimiento que el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales dio la siguiente resolución del proyecto de Investigación del cual usted es responsable:

Título	Resolución
"Efecto del consumo de subproducto de jugo de fresa sobre la modulación de la respuesta inmune de niños sanos durante episodios de infecciones respiratorias y gastrointestinales". (31FCN2017)	Aprobado

Sin más por el momento, quedamos a sus órdenes para cualquier aclaración o duda.

Atentamente,


Dra. Andrea Margarita Olvera Ramírez
Comité de Bioética
Facultad de Ciencias Naturales

Anexo B. Consentimiento informado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
COMITÉ DE BIOÉTICA



□

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio:

“Evaluación de la respuesta inmune de niños suplementados con un probiótico comercial (*Bacillus coagulans*) durante episodios de resfriado común”

Participantes: Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola, Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez, Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito. Universidad Autónoma de Querétaro, Av. de las Ciencias S/N, Juriquilla, Querétaro CP76230 Tel. (442) 1921200 Ext. 5351. Correo electrónico: aracely3270@yahoo.com

INTRODUCCIÓN. Usted ha sido invitado para que su hijo(a) participe en este estudio, ya que queremos conocer si el consumo de un probiótico, que es una bacteria viva que aporta beneficios a la salud, mejora el sistema inmune en niños, es decir, si protege contra el resfriado común. Antes de aceptar es importante que entienda claramente de que se trata el estudio. Este documento puede contener palabras o términos que usted no comprenda; por favor pida a la persona que le está entrevistando le explique cualquier duda. No firme este documento hasta que todas sus dudas le sean aclaradas y además esté convencido de querer que su hijo(a) participe en este estudio.

PROPÓSITO. El propósito de este estudio es evaluar el efecto del consumo de un probiótico sobre el sistema inmunológico durante episodios de resfriado común. En el estudio participarán 80 niños de 6 a 7 años de edad sin diagnóstico previo de enfermedades como síndrome de Down, autismo, diabetes, colon irritable, entre otras. Además se realizará una entrevista individual a los padres de familia o tutores para conocer la historia clínica del niño(a). En la historia clínica se considerarán los criterios de inclusión y exclusión para seleccionar a los(a) niños(a). A los padres de los niños(a) que pasen a la siguiente etapa se les aplicarán varios cuestionarios en los que se evaluarán los hábitos alimentarios, así como los síntomas de resfriado común en dado caso que durante el estudio su hijo(a) los haya presentado. Por último se tomará una muestra de saliva y de sangre a cada niño(a) al inicio y final del estudio, así como durante el 2º día de haber presentado resfriado común, para evaluar algunas proteínas relacionadas con el sistema inmune. La duración del estudio será de 3 meses, aproximadamente, esto incluye proceso de selección, evaluación de los cuestionarios y determinación de los análisis bioquímicos, así como la entrega de sus resultados.

PROCEDIMIENTOS.

Cita 1: En esta cita no es necesario que el niño se presente. Esta primera cita es una sesión informativa en la que se le dará a conocer el propósito del estudio y se verificarán los criterios de inclusión y exclusión para poder seleccionar a los niños(as) que participarán en el estudio. Los padres

que deseen que su hijo participe en el estudio, firmarán el consentimiento informado y se les realizará una entrevista para recabar información sobre la historia clínica del niño, aspectos familiares y preguntas en relación al lugar donde viven.

Cita 2: Evaluación nutricional de niño (a). En esta cita, a su niño(a) se le tomarán medidas de peso y estatura, cintura y cadera, así como de peso corporal para hacer su valoración nutricia. Posteriormente, se le tomará una muestra de saliva, así como una muestra de sangre del brazo de 10 mL, (aproximadamente 1 cucharada sopera), siguiendo los procedimientos de cualquier laboratorio verificando que se utilice material esterilizado y nuevo para cada niño(a). Esta muestra de sangre servirá para determinar si su niño presenta anemia, y para el análisis de las proteínas relacionadas con el sistema. Se le entregarán para que conteste en su casa un diario de alimentación en el que deberá indicar los alimentos que su hijo consumió durante dos días laborables y un día de fin de semana, esto con el objetivo de conocer si su hijo(a) consumió algún alimento rico en probióticos, como el yogurt, lo que podría interferir con los resultados del estudio. Estos cuestionarios deberán ser entregados el día lunes a la promotora de salud de la escuela, quien estará en contacto con su hijo(a) para la administración de los tratamientos. Asimismo, se le entregará cuestionarios sobre episodios de resfriado común. En dado caso que su hijo(a) presente un resfriado común, deberá indicar en el cuestionario los síntomas que presentó, su duración y severidad. Estos cuestionarios deberán ser entregados a la promotora de salud de la escuela. Si su hijo(a) presenta un episodio de resfriado común durante el estudio nos deberá informar para poder realizar la toma de muestra de saliva y sangre correspondiente, la cual se llevará a cabo tras el 2º día de haber presentado los síntomas, esto con el objetivo de conocer si el probiótico presentó un efecto benéfico sobre el sistema de defensa de su hijo(a).

Cita 3: Entrega de resultados parciales. A las 2 semanas de segunda cita se le entregaran los resultados de la evaluación nutricia y de anemia.

Cita 4: Entrega de resultados finales. En un lapso de aproximadamente 2-3 meses se le entregarán los resultados faltantes, incluyendo la información de las proteínas relacionadas con el sistema inmune.

RIESGOS. Puede ser que la toma de muestra de sangre le cause un poco dolor a su hijo(a) o que se presente un pequeño moretón (esto depende de la sensibilidad de la piel). No a todos les pasa; estas molestias son normales. La toma de muestra de sangre se hará por personal calificado y utilizando

material estéril y desechable. En caso de presentar algún malestar como resultado directo de la toma de muestra de este estudio se le brindará a su hijo(a) atención médica gratuita.

BENEFICIOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO. Todos los procedimientos del estudio se proporcionarán sin ningún costo para usted. También recibirá los resultados de los análisis de anemia y proteínas relacionadas con el sistema inmune, así como la evaluación de peso, estatura, cintura y cadera. Además, con la participación de su hijo(a) en este estudio contribuirá a la generación de información científica con respecto al efecto del consumo de probióticos sobre la duración y severidad de síntomas de resfriado común.

CONFIDENCIALIDAD. Su participación en este estudio será confidencial, es decir, no se hará referencia de usted, de su hijo o de su familia por su nombre en ningún reporte del estudio. Se asigna un número de caso y las iniciales para cada participante. Sólo los investigadores y médicos del estudio contarán con sus datos completos. La Universidad Autónoma de Querétaro manejará los datos con números de identificación, códigos e iniciales y por ningún motivo será revelada la identidad de su hijo(a).

INFORMACIÓN DE CONTACTO. Si tiene alguna pregunta acerca de la participación de su hijo(a) en el estudio o desea la opinión de otra persona fuera del estudio, usted puede consultar a su médico de confianza. En caso de que usted quiera ampliar la información acerca del proyecto usted puede comunicarse con la investigadora responsable del proyecto, la Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola de la UAQ, al teléfono (442) 192-1200 extensión 5351, o a la extensión 5386 del mismo teléfono con la Dra. Andrea Margarita Olvera Ramírez quién es la representante del Comité de Bioética de la UAQ.

LA PARTICIPACION DE SU HIJO(A) ES VOLUNTARIA: La participación de su hijo(a) es voluntaria y es su decisión si desea que su hijo(a) participe. Si usted considera que su hijo(a) debe abandonar el estudio, puede hacerlo sin ninguna repercusión; solo se le pide que nos lo haga saber. Si usted acepta que su hijo(a) participe, se compromete a proporcionar información veraz y que su hijo(a) siga las instrucciones del estudio como le sean dadas, además de acudir a sus citas programadas.

EL CONSENTIMIENTO A PARTICIPAR: Yo entiendo que la participación de mi hijo(a) es voluntaria y que tengo el derecho de no aceptar que participe mi hijo(a) en el proyecto si esta es mi decisión. Entiendo que puede retirarse mi hijo(a) del estudio en cualquier momento. Yo he leído o me han leído esta información y se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas sobre el estudio. Las respuestas a mis preguntas fueron resueltas de manera satisfactoria y se me ha dado una copia de este consentimiento. He recibido la explicación del estudio y sus términos. Libremente y sin presión alguna doy mi consentimiento para que mi hijo(a) participe en este estudio.

PARTICIPANTE

Nombre del participante: _____

Nombre de la madre, padre o tutor: _____

Domicilio: _____

No. Telefónico: _____

Firma de la madre, padre o tutor: _____

Fecha:

Día	Mes	Año

TESTIGO 1:

Nombre del testigo: _____

Domicilio: _____

No. Telefónico: _____

Firma del testigo: _____

Fecha:

Día	Mes	Año

TESTIGO 2:

Nombre del testigo: _____

Domicilio: _____

No. Telefónico: _____

Firma del testigo: _____

Fecha:

Día	Mes	Año

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR

Yo o mi representante hemos discutido con el participante la naturaleza y propósito del estudio, así como los posibles riesgos y beneficios de su participación. Considero que el participante ha recibido la información completa con un lenguaje comprensible y apropiado, además de haberle contestado sus dudas.

Nombre del Investigador o representante: _____

Firma del Investigador: _____

Fecha de la Firma:

Día	Mes	Año

Anexo C. Asentimiento informado

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
COMITÉ DE BIOÉTICA

□

ASENTIMIENTO DEL MENOR

Existen pequeñas bacterias que cuando se comen a través de los alimentos nos ayudan a estar sanos y no enfermarnos de resfriados, se conocen como probióticos; por lo que te invitamos a participar en un proyecto en que todos los días, durante el recreo y en fines de semana comerás estos organismos pequeños en alimentos como yogurt, leche, gelatinas y otros y que no tienen un sabor feo, por lo que puedes disfrutar de estos alimentos.



Es importante que conozcas que te tomaremos muestras de saliva y sangre. Para la muestra de sangre deberás permanecer sentado y una persona te tomará del brazo o de la mano para tomar la muestra teniendo mucho cuidado de no lastimarte y que no duela. Estas muestras se harán al iniciar el proyecto y a las 4, 8 y 12 semanas de haber comenzado el consumo de los probióticos.



También te vamos a medir tu estatura, peso cintura y cadera, esto no duele y sólo es necesario que te quites los zapatos y prestes atención a las indicaciones de las personas que te medirán y pesarán.



¿Quieres participar en el proyecto? (Marca con una X tu respuesta)

SI _____ NO _____

Escribe tu nombre completo en la línea de abajo

Nombre: _____

12. ¿Edad gestacional? 1) Prematuro (meses) _____ 2) Término (9 meses) (tiempo de embarazo)

13. ¿Cuál fue el peso del niño al nacer?

14. ¿Cuál fue la talla del niño al nacer?

15. ¿El niño fue amamantado? 1) SI 2) NO

15 (a). ¿Cuánto tiempo? (meses)

IV. DESARROLLO GENERAL DEL NIÑO

16. ¿Qué enfermedades ha tenido el niño?

ENFERMEDAD	1) SI	2) NO	ENFERMEDAD	1) SI	2) NO	Cual
a) Sarampión			g) Problemas visuales			
b) Paperas			g) Problemas auditivos			
c) Hepatitis			h) Problemas digestivos			
d) Varicela			i) Problemas dentales			
e) Anemia			j) Problemas dermatológicos			
f) Asma			g) Problemas cognitivos			
g) Crisis convulsivas			m) Otros			
h) Alergias e intolerancias**			¿Cuáles?			

17. ¿El niño padece alguna discapacidad física? 1) SI 2) NO

17 (a) ¿Cuál?

18. ¿El niño avisa para ir al baño? 1) SI 2) NO

**19. ¿A que es alérgico y/o intolerante el niño?

	1) SI	2) NO	Especifique cuáles	Síntomas
a) Alimentos				
b) Medicamentos				
c) Otro				

20. ¿Considera que el niño come bien? 1) SI 2) NO conteste 19(a)

20 (a) ¿Especifique por qué no?

20 (b) ¿Cuántas comidas hace al día? _____

20 (c) ¿Qué comidas realiza? Desayuno Comida Cena

21. ¿Se ha enfermado en las dos últimas semanas? 1) SI 2) NO

21 (a). Especifique de qué

22. ¿Le ha dado a su hijo(a) algún antibiótico en las 2 últimas semanas? 1) SI
2) NO

22 (a). Especifique cuál

23. ¿El niño está tomando algún suplemento de vitaminas y/o minerales? 1) SI
2) NO

23 (a). Especifique cuál

23 (b). ¿Desde cuándo?

24. ¿El niño ha requerido hospitalizaciones? 1) SI 2) NO

24 (a). ¿Por cuánto tiempo estuvo hospitalizado?

24 (b). ¿Cuál fue la causa de la hospitalización?

V. ESQUEMA DE VACUNACIÓN

25. ¿El niño tiene todas las vacunas? 1) SI 2) NO
(Anexar copia de cartilla de vacunación)

25 (a). En caso de no tener el esquema de vacunación completo ¿cuál fue el motivo? _____

VI. PADECIMIENTO ACTUAL

34. ¿Actualmente su hijo presenta alguna enfermedad crónica (diabetes, hipo o hipertiroidismo, otras enfermedades relacionadas al metabolismo)? 1) SI 2) NO

34 (a). ¿Cual? -

35. ¿Su hijo(a) consume de forma habitual algún medicamento como tratamiento de los síntomas?

1) SI 2) NO

Medicamento	Dosis	Frecuencia	¿Desde hace cuánto tiempo lo consume?	¿Quién lo recetó?

Evaluador:

--	--	--	--

Iniciales

Anexo E. Cuestionario socioeconómico

ESTRUCTURA FAMILIAR

1. **¿Cuántas personas viven en la casa?** (incluya si es el caso, tíos, primos, abuelos etc.)
2. **¿Cuántas personas duermen en la casa?**
3. **¿Cuántas personas comen en la casa?**
4. **Número de familias que viven en el terreno y comparten algunas habitaciones** (cocina, baño, luz, agua)

CONDICIONES DE LA VIVIENDA

5. **Número total de habitaciones** (incluyendo cocina, baño, recamaras, sala, estudio...etc)
6. **¿Cuántos cuartos utilizan para dormir?**
7. **La cocina se encuentra**
 - 1 Dentro de la vivienda, sólo hay 1habitación para todo
 - 2 Fuera de las habitaciones hay un techo, no es un cuarto terminado es provisional
 - 3 Fuera de la vivienda, independiente de todas las habitaciones, es un cuarto terminado independiente de los dormitorios
 - 4 Dentro de la vivienda, independiente de los dormitorios, en un espacio individual y exclusivo para cocinar
8. **¿Cómo obtiene agua para la vivienda?**
 - 1 Obtiene el agua de una llave pública (en la comunidad, en la calle o en la colonia)
 - 2 Existe tubería fuera de la vivienda pero dentro del terreno (la llave está en el patio)
 - 3 Existe tubería dentro de la vivienda (lavabo, tarja, fregadero)
 - 4 Otras (se las regalan en otra casa, la lleva una pipa, de un pozo)
9. **¿Cómo está construido el baño?**
 - 1 Al aire libre (no tiene baño)
 - 2 Fosa (letrina)
 - 3 Drenaje
 - 4 Baños completos con regadera son: _____ Medio baño son: _____ (escriba número)
10. **¿El material de las paredes de la casa es de?**
 - 1 Adobe o piedra (bloques de lodo)
 - 2 Tabique o similares (bloc)
 - 3 Otros (Láminas, cartón, madera, palma)
11. **¿El material de los pisos es de?**
 - 1 Tierra
 - 2 Cemento firme
 - 3 Loseta, mármol, duela, granito
 - 4 Otros
12. **¿El material del techo es de?**
 - 1 Lámina de cartón
 - 2 Lamina de asbesto o Teja
 - 3 Madera
 - 4 Cemento o loza
 - 5 Tabique rojo (listoncillo)
 - 6 Otros

PROPIEDAD DE LA VIVIENDA

13. **¿A quién pertenece la vivienda?**
 - 1 Prestada
 - 2 Rentada
 - 3 Es casa propia

MEDIO DE TRANSPORTE

14. **¿Cuál es el medio de transporte que utiliza con mayor frecuencia?**

- 1 Bicicleta (solo si es para transportarse como los bici taxis, no la de los niños)
 2 Automóvil propio
 3 Transporte público (camión, taxi, colectivo, metro, tren ligero,)
 4. Otros

INFRAESTRUCTURA DE LA VIVIENDA

15. De la siguiente lista de aparatos eléctricos y objetos diga con cuales cuenta

a)	Estufa	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
b)	Luz eléctrica (El medidor lo comparte con otra familia o le pasan la luz _____ Número de focos _____)	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
c)	Licuadaora, procesador	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
d)	Refrigerador	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
e)	Horno de microondas	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
f)	Aparato de sonido (ipod, consola, gravadora, estéreo, radio...etc)	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
g)	Televisión. Plasma, LCD. Escriba el número de aparatos que funcionan en la casa _____	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
h)	Alquila algún servicio de TV (cablevisión, sky, más tv, etc)	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
i)	Videocasetera, DVD, consolas de video, blue ray...etc	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
j)	Línea Telefónica (si la respuesta es sí anotar el número)	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
k)	Celular cantidad de aparatos en la familia_____ Escriba un número de contacto:_____	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
l)	Bicicleta (s), ¿Cuántas? _____	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
m)	Motocicleta ¿Cuántas? _____	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
n)	Automóvil ¿Cuántos? _____	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰
ñ)	Computadora ¿Cuántos? _____	Si <input type="checkbox"/> ¹ No <input type="checkbox"/> ⁰

DATOS GENERALES DEL JEFE (A) DE FAMILIA

	Jefe de familia (padre)	Jefa de familia (madre)	Otra persona que aporte al gasto familiar
Edad (en años)			
Ocupación (jornalero, empleado, doméstico, albañil, profesionalista...etc)			
Escolaridad (escribir los años cursados ejemplo: secundaria completa/3 años)			
Discapacidad física y/o Enfermedad crónica (escriba cual)			

OBSERVACIONES

Anexo F. Cuestionario de seguridad alimentaria

Nombre: _____

CUESTIONARIO SOBRE SEGURIDAD ALIMENTARIA EN EL HOGAR

- | | | | | |
|---|---|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| 1 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez usted o algún adulto en su hogar tuvo una alimentación basada en muy poca variedad de alimentos? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| 2 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez usted o algún adulto en su hogar dejó de desayunar, comer o cenar? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| 3 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez usted o algún adulto en su hogar comió menos de lo que usted piensa debía comer? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| 4 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez se quedaron sin comida? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| 5 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez usted o algún adulto de este hogar sintió hambre pero no comió? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| 6 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez usted o algún adulto en su hogar sólo comió una vez al día o dejó de comer todo un día? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| Sólo para hogares en donde habitan personas menores de 18 años | | | | |
| 7 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez algún menor de 18 años en su hogar tuvo una alimentación basada en muy poca variedad de alimentos? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| 8 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez algún menor de 18 años en su hogar comió menos de lo que debía? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| 9 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez tuvieron que disminuir la cantidad servida en las comidas a algún menor de 18 años del hogar? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| 10 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez algún menor de 18 años sintió hambre pero no comió? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| 11 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez algún menor de 18 años se acostó con hambre? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |
| 12 | ¿En los últimos tres meses, por falta de dinero o recursos ¿alguna vez algún menor de 18 años comió una vez al día o dejó de comer todo un día? | Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | NS/NR <input type="checkbox"/> |

Evaluador: _____
Iniciales

--	--	--	--

Anexo G. Registros antropométricos

REGISTRO ANTROPOMÉTRICO

ID	NOMBRE	Fecha	Peso (kg)		Estatura (cm)		Cintura (cm)		Cadera (cm)	

Aplicador:

--	--	--	--

Iniciales

Anexo H. Registro alimentario y cuestionario de síntomas de infección gastrointestinal

Gracias por su apoyo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:
“Evaluación de la respuesta inmune de niños suplementados con un subproducto de mango”

DIARIO DE ALIMENTOS

A colorful illustration of two children sitting at a table, eating from blue bowls. The child on the left is a girl with pigtails, and the child on the right is a boy with a red headband. They are both smiling and holding spoons. There are glasses of water and a piece of fruit on the table.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

Responsable del estudio: Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez

Teléfono: (442) 192-1200 extensión 5351

Representante del Comité de Bioética: Dra. Andrea

NOMBRE DEL PARTICIPANTE:

Anexo I. Cuestionario de síntomas de resfriado común

Gracias por su apoyo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

Responsable del estudio: Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez

Teléfono: (442) 192-1200 extensión 5351

Representante del Comité de Bioética: Dra. Andrea

Margarita Olvera Ramírez

Teléfono: (442) 192-1200 extensión 5386.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:
“Evaluación de la respuesta inmune de niños suplementados con un subproducto de mango”

SÍNTOMAS DE RESFRIADO COMÚN



NOMBRE DEL PARTICIPANTE:

Nº SEMANA: _____

SÍNTOMAS	Fecha de inicio ___/___/___ al ___/___/___.																															
	Día 1 Viernes				Día 2 Sábado				Día 3 Domingo				Día 4 Lunes				Día 5 Martes				Día 6 Miércoles				Día 7 Jueves							
Intensidad del síntoma	Sin síntomas	Ligero	Moderado	Severo	Sin síntomas	Ligero	Moderado	Severo	Sin síntomas	Ligero	Moderado	Severo	Sin síntomas	Ligero	Moderado	Severo	Sin síntomas	Ligero	Moderado	Severo	Sin síntomas	Ligero	Moderado	Severo	Sin síntomas	Ligero	Moderado	Severo	Sin síntomas	Ligero	Moderado	Severo
Nariz congestionada																																
Escurreniento nasal																																
Moco amarillo																																
Moco con sangre																																
Moco cristalino																																
Picazón nariz																																
Picazón garganta																																
Dolor garganta																																
Voz ronca																																
Tos seca																																
Tos con flemas																																
Dolor de cabeza																																
Dolor muscular																																
Ojos rojos																																
Estornudos																																
Cansancio																																
Pérdida apetito																																
Fiebre																																

Otros síntomas: _____

Inició tratamiento médico: NO () SI () Cuáles: _____ Dosis diaria _____

Núm. De días a tomar medicamento: _____ Observaciones: _____