

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

Comparación de dos métodos para estimar la reserva de vitamina A
en preescolares y la influencia de la grasa corporal en el cálculo



TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias de la Salud

Presenta

"El saber de mis hijos"

Lilian Paloma García Miranda

Hermosillo, Sonora

Septiembre 2018

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



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



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

APROBACIÓN

Los miembros del Jurado Calificador designado para revisar el trabajo de Tesis de Lilian Paloma García Miranda, lo han encontrado satisfactorio y recomiendan que sea aceptado como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias de la Salud.



Dra. Verónica López Teros
Director Académico



Dr. Humberto Francisco Astiazarán García
Secretario



Dr. Mauro Eduardo Fernando Valencia Juillerat
Sinodal



Dra. Michelle Maree Haby de Sosa
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada, impulsando así mi desarrollo profesional.

A la Universidad de Sonora (UNISON) por abrirme las puertas para seguir con mis estudios y brindarme las herramientas profesionales para conseguirlo.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) por abrirme las puertas de su institución y por el apoyo otorgado.

A la Dirección General de Educación Elemental de la Secretaría de Educación y Cultura del Estado de Sonora, por otorgar el permiso para llevar a cabo el estudio.

A la directora Ana María García Romero y a todo el personal del preescolar por abrirnos las puertas y por todo el apoyo brindado para la realización de este proyecto.

A los padres de familia de los niños participantes por la confianza y apoyo proporcionado.

A mi asesora, Dra. Verónica López Teros, gracias por la confianza y por permitirme participar en este proyecto. Por todo lo que me enseñó en estos dos años, le agradezco por todo el tiempo dedicado y por siempre tener una excelente disposición.

Al Dr. Mauro Valencia Juillerat por las asesorías brindadas, por las enseñanzas tanto profesionales como personales, le estaré siempre agradecida.

Al Dr. Humberto Astiazarán García y la Dra. Michelle Haby por su tiempo y disposición a la hora de realizar sugerencias y correcciones al proyecto.

Al Dr. Michael Green y a la cDra. Jennifer Lyn Ford por su apoyo en el análisis de datos y el desarrollo del modelo de análisis compartamental.

Al M. en C. Orlando Tortoledo, por su apoyo en la realización del análisis por HPLC.

A la M. en C. Brianda Monreal por toda la ayuda otorgada durante el estudio.

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y permitirme disfrutar cada nuevo día, por ser la guía que dirige mis pasos y permitirme culminar esta meta.

A mis papás por su apoyo y amor incondicional, gracias por siempre impulsarme a desarrollarme tanto en el ámbito profesional como personal, los amo.

A mis hermanos Fernanda y Michel, a mis queridas amigas Alba, Alexandra y Marcela. Los quiero mucho.

A mi próximo compañero de vida, Martin Margaillan, gracias por todo tu apoyo durante este proceso, te amo.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABLAS	ix
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	3
Vitamina A	3
Metabolismo	4
Deficiencia de Vitamina A	5
Prevalencia	5
Signos Clínicos	6
Evaluación del Estado de Vitamina A	8
Métodos para Estimar la Reserva Corporal de Vitamina A con RID	10
Ecuación de Olson	11
Ecuación de Green	15
Estado Nutricional y Composición Corporal	20
OBJETIVOS	24
Objetivo General	24
Objetivos Específicos	24
METODOLOGÍA	25
Diseño de estudio	25
Sujetos	25
Evaluación Antropométrica	26
Composición Corporal	26
Evaluación Dietaria	27
Detección de Inflamación Subclínica y Anemia	27
Dosificación de Vitamina A marcada con $^{13}\text{C}_{10}$	28
Análisis de Retinol y Enriquecimiento Isotópico	31
Modelo del “Súper-niño”	31
Estimación de la Reserva Corporal de Vitamina A	33
Análisis Estadístico	35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
Características de los Sujetos	36
Evaluación Dietaria	36
Cinética de Vitamina A con el modelo del “Súper-niño”	44
Comparación del Método de Olson y de Green	51
Contribución de la Grasa en la Estimación de la Reserva Corporal de VA	56
CONCLUSIÓN	59
BIBLIOGRAFÍA	60

APÉNDICE I
APÉNDICE II

¡Error! Marcador no definido.

72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Prevalencia de DVA mundial	7
Figura 2. Modelo de 6 compartimentos para la cinética de retinol en humanos.	18
Figura 3. Técnica de proteína C reactiva semicuantitativa.	29
Figura 4. Dosificación oral con [13C10]acetato de retinilo.	30
Figura 5. Distribución del consumo energético por aportadores.....	38
Figura 6. Estado de VA en hígado de los preescolares.....	45
Figura 7. Fracción de la dosis vs tiempo.....	47
Figura 8. Modelo compartamental “súper-niño” de la cinética de retinol en niños	49
Figura 9. Análisis de Bland & Altman para el método de Olson y Green.....	52
Figura 10. Coeficiente de correlación y concordancia de Lin.....	54
Figura 11. IMG vs RCT de VA calculada por el método de Green y Olson al día 4.....	57

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Características físicas y antropométricas de los preescolares	37
Tabla II. Consumo de energía y nutrientes de los preescolares.	40
Tabla III. Menú típico de los preescolares participantes	42
Tabla IV. Reserva Hepática vs Retinol Sérico	46
Tabla V. Parámetros cinéticos del modelo del “súper-niño” en preescolares	50
Tabla VI. Comparación entre el método de Olson al día 14 y Green día 4 post dosis... ..	55

RESUMEN

La deficiencia de vitamina A es un problema de salud pública ya que afecta a >250 millones de preescolares a nivel mundial. Los métodos disponibles para la cuantificación de la reserva de vitamina A (VA) presentan limitaciones como tiempo de equilibrio, infecciones, deficiencias de otros micronutrientes, etc., por lo que es necesario evaluar si adicional a lo anterior, la grasa corporal tiene alguna influencia sobre los cálculos de la reserva corporal total (RCT) de VA, ya que alrededor del mundo el exceso de masa grasa (sobrepeso u obesidad) son un problema de salud pública. El objetivo del presente estudio fue comparar la cuantificación de la RCT de VA en menores de edad preescolar estimada por los métodos de Olson y Green, ajustando por los kilogramos de grasa. Se realizó una evaluación antropométrica, bioquímica y dietaria del estado de nutrición a 24 niños en edad preescolar. La estimación de la RCT de VA se realizó empleando la técnica de dilución de retinol con isótopos estables, la cual consiste en administrar una dosis oral (1mg) de [$^{13}\text{C}_{10}$]acetato de retinilo y posteriormente colectar una muestra de sangre venosa, donde se evaluó el enriquecimiento isotópico sérico de [$^{13}\text{C}_{10}$]retinol por cromatografía de gases-masas. Se construyó una curva cinética empleando el modelo del súper-niño (8h – 21 d post-dosis; 2 muestras/sujeto) y ésta se analizó mediante análisis compartamental. Con los valores obtenidos se calculó la RCT de VA empleando dos ecuaciones disponibles: Olson (protocolo parcial 4d post-dosis) y Green (protocolo completo 4d post-dosis). La evaluación dietaria mostró que en este grupo la ingesta media de vitamina A fue de 516 ± 209 RAE y los principales aportadores de VA fueron zanahorias, leche, huevo y cereales fortificados. Al evaluar la RCT de VA individualizada por el modelo de Green, el promedio fue de $853 \mu\text{mol}$ y 4 menores presentaron déficit de VA ($< 0.1 \mu\text{mol}$ retinol/g hígado). Al comparar los resultados obtenidos al emplear las ecuaciones de Olson y Green para el día 4, ambos métodos resultaron diferentes (coeficiente de correlación de concordancia de Lin fue de 0.11; muy pobre), ya que al emplear la ecuación de Olson en un protocolo parcial, ésta tendió a subestimar considerablemente la RCT de VA. Para evaluar el efecto de la grasa corporal en los

calculos se considero al índice de masa grasa (IMG; grasa (kg)/talla(m)²), que es un mejor indicador de adiposidad, mostró una asociación positiva con la RCT de VA calculada por Green y Olson al día 4 post dosis($r=0.47$; $p<0.05$). El porcentaje de grasa o la masa grasa encierran informacion acerca de los dos compartimentos y no puede diferenciar entre ellos, por lo que la separacion de esos componentes en los indices de masa grasa e indice de masa libre de grasa, al corregir por la diferencia en talla son mejores indicadores de adiposidad y magridad. Adicionalmente, es posible concluir que la dieta de los preescolares participantes fue deficiente en el aporte de VA, y esto podría tener implicaciones negativas a largo plazo en el estado de salud de los menores.

Palabras clave: Vitamina A, análisis compartamental, preescolares, modelo del súper niño, método de Olson, método de Green.

INTRODUCCIÓN

La deficiencia de vitamina A (DVA) es de importancia para la salud pública ya que afecta alrededor de 250 millones de niños de <5 años, especialmente en países en desarrollo, lo cual corresponde al 33.3% de la población preescolar (OMS, 2017). La DVA se presenta cuando la concentración sérica de retinol es <0.7 $\mu\text{mol/L}$ o 20 $\mu\text{g/dL}$ (Lietz G y col., 2016). En México, según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de 2012 (Villalpando y col., 2015), 15.7% de los niños en edad preescolar presentaron niveles de retinol sérico <20 $\mu\text{g/dL}$ (<0.7 $\mu\text{mol/L}$). La prevalencia más alta de deficiencia de vitamina A fue observada en los preescolares de la región sur del país con una prevalencia de 20.3% y de acuerdo con evaluaciones realizadas en Sonora, la prevalencia de DVA puede estimarse cercana al 50 % en población infantil (López-Teros y col., 2012a, Astiazarán y col., 2010, Quihui y col., 2008).

La DVA se produce cuando las reservas corporales de vitamina A se agotan, al mismo tiempo las funciones fisiológicas donde participa este nutriente se ve perjudicadas, incluso cuando los signos clínicos no son evidentes (DVA subclínica). Para mejorar esta situación, es necesario emplear técnicas simples y precisas para evaluar y cuantificar la reserva corporal total de vitamina A en las poblaciones de riesgo, ya sea para identificar la prevalencia de la DVA o para evaluar la respuesta frente a una intervención nutricional (IAEA, 2008).

Cuando existe DVA subclínica, se puede evaluar la reserva utilizando técnicas bioquímicas. La concentración sérica de vitamina A (retinol) es la técnica bioquímica más utilizada, pero debido a que ésta se controla homeostáticamente y se afecta negativamente por la presencia de procesos inflamatorios, no es un indicador óptimo para evaluar el cambio en el estado de vitamina A en respuesta a una intervención (Lietz G y col., 2016). La reserva hepática se define como el estándar de oro para la evaluación del estado de vitamina A, ya que el hígado almacena aproximadamente el 90% de esta vitamina en los seres humanos con estado nutricional adecuado (Tanumihardjo y col., 2016). Sin embargo, debido a la invasividad que implica la evaluación de la reserva hepática (biopsia,

procedimientos quirúrgicos), este no es un método viable para evaluar el estado de esta vitamina a nivel poblacional.

Más recientemente ha cobrado relevancia la técnica de dilución de retinol marcado con isótopos estables (RID por sus siglas en inglés), la cual implica la administración de una dosis oral de vitamina A marcada (^2H o ^{13}C) para determinar el enriquecimiento isotópico en plasma posterior al tiempo de equilibrio y así medir la reserva corporal total de vitamina A. La técnica RID tiene la ventaja de ser la más sensible para medir el estado de vitamina A y los efectos de una intervención nutricional sobre las reservas corporales. Además es mínimamente invasiva, posee gran sensibilidad y baja variabilidad, siendo la técnica ideal para evaluar la respuesta a una intervención, empleando un menor número de sujetos en la muestra (Tanumihardjo y col., 2016, Green y col., 2016a, Haskell y col., 2005). La RCT de VA puede ser calculada a partir de tres métodos utilizando la técnica RID, estos son la ecuación de Olson, ecuación de Green y análisis compartamental.

México es un país de dualidades, donde la deficiencia subclínica de vitamina A coexiste con un exceso en la ingesta energética, asociado con el desarrollo de sobrepeso y obesidad (Gutiérrez y col., 2012; Villalpando y col., 2015). Nuestro país ocupa el primer lugar a nivel mundial en obesidad infantil con una prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad de 33.6% en niños <5 años (Gutiérrez y col., 2012)

Considerando que la literatura sugiere que el tejido adiposo puede representar un almacén de reserva corporal de vitamina A. Además de que en individuos obesos, las concentraciones séricas de proteína de unión a retinol (RBP) pueden afectarse por el tejido adiposo (Tanumihardjo y col., 2016). Aunado a un estudio en adolescentes, donde la RBP correlacionó positivamente con el índice de masa corporal, tejido visceral y la resistencia a la insulina, componentes presentes en el síndrome metabólico (Kotnik y col., 2011; Mills y col., 2008). Se considera necesario comparar dos de las ecuaciones disponibles (Olson y Green) para el cálculo de la reserva corporal total de vitamina A empleando la técnica RID y evaluar si el compartimento de grasa corporal tiene influencia en la estimación de la reserva de vitamina A corporal en niños en edad preescolar.

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Vitamina A

Vitamina A (VA) es un término que abarca un grupo de compuestos orgánicos insaturados, que incluyen al retinol en su forma de alcohol, retinal en forma de aldehído y ácido retinoico en su forma ácida. Se define como un nutriente indispensable ya que no puede ser producido por los seres humanos y debe proporcionarse como parte de la dieta (Tanumihardjo y col., 2016).

La VA en la dieta se obtiene a partir de fuentes preformadas o retinoides, provenientes de alimentos de origen animal; estos se pueden encontrar en hígado, huevo, mantequilla, leche, entre otros, en forma de ésteres de retinilo. Existen además de los retinoides otros compuestos biológicos que son precursores de la vitamina A conocidos como carotenoides o provitamina A, siendo el β caroteno la forma más común y activa. La cantidad de VA disponible a partir de los carotenoides de la dieta depende del grado de absorción (5-50%) y la eficiencia de estos para convertirse en retinol. Además, la absorción depende de otros factores de la dieta, como la digestibilidad de las proteínas que forman complejos con los carotenoides, la cantidad y tipo de grasa en el alimento, etcétera (Mahan y col., 2013). Los carotenoides provienen de alimentos de origen vegetal como vegetales de hojas verdes, mango, zanahorias, entre otros. (Penniston y Tanumihardjo, 2006).

La vitamina A es necesaria para la regulación de numerosos procesos biológicos, incluidos el crecimiento, diferenciación celular, reconocimiento celular, la reproducción, el buen funcionamiento del sistema inmunológico y la visión (Valentine y col., 2013).

Metabolismo

La vitamina A y los carotenoides con función de provitamina A son liposolubles, por lo que el consumo de grasa en la dieta es necesario para que exista una mejor absorción (Tanumihardjo y col., 2016; D'Ambrosio y col., 2011). Antes de que ocurra la absorción de vitamina A o carotenoides, las proteínas que forman complejos con los ésteres de retinilo tienen que ser hidrolizadas por las proteasas en el estómago y principalmente en el intestino delgado (Mahan y col., 2013).

El proceso digestivo que ocurre dentro del lumen intestinal incluye la liberación de retinoides de la dieta y carotenoides de la matriz alimenticia, además los ésteres de retinilo son hidrolizados por las lipasas en el intestino delgado y se mezclan con lípidos y sales biliares para formar micelas en conjunto con los carotenoides con función de provitamina A (D'Ambrosio y col., 2011). Después de que las micelas son absorbidas en el enterocito, los carotenoides pueden dividirse en retinol mediante la enzima β -caroteno-15,15'-dioxigenasa (Tanumihardjo y col., 2016).

Posteriormente, el retinol se une a la proteína celular de unión a retinol (CRBP) y esta se reesterifica por la lecitina retinol aciltransferasa para liberar ésteres de retinol. Estos se incorporan a los quilomicrones junto con los carotenoides que no se escindieron. Los quilomicrones se transportan por la linfa hacia el torrente sanguíneo donde son convertidos en remanentes de quilomicron (Mahan y col., 2013).

Los remanentes de quilomicron transportan ésteres de retinilo hasta el hígado y estos son rápidamente hidrolizados a retinol y ácidos grasos libres. En el hígado, el retinol sigue tres rutas metabólicas: a) Se une a la CRBP, con el fin de evitar toxicidad en la célula causado por concentraciones elevadas de retinol libre; b) Se reesterifica para formar ésteres de retinilo para su almacenamiento (> 95 % de esta vitamina se almacena en el hígado principalmente como palmitato de retinilo) (Tanumihardjo y col., 2016); c) Puede unirse a la proteína de unión a retinol (RBP) para salir del hígado y formar complejos con la proteína transtiretina y transportar al retinol por vía sanguínea hasta los tejidos blanco (Mahan y col., 2013; Stephensen, 2001).

Deficiencia de Vitamina A

La deficiencia de vitamina A es uno de los principales problemas de salud pública que afecta a los países en desarrollo, principalmente a niños en edad preescolar y a mujeres embarazadas o en período de lactancia. Se produce cuando las reservas corporales se agotan hasta el punto en que la función fisiológica se ve afectada, incluso cuando los signos clínicos no son evidentes (OMS, 2009a), esto debido principalmente a un consumo deficiente de alimentos ricos en vitamina A preformada o carotenoides con función de provitamina A.

Sin embargo, otras condiciones como absorción limitada asociada a la ingesta insuficiente de grasa en la dieta, hepatopatías, deficiencia de zinc, insuficiencia biliar o pancreática, desnutrición proteico-energética, también pueden llevar al desarrollo de la deficiencia de vitamina A, independientemente de si la ingesta de este nutriente es adecuada (Mahan y col., 2013; Gibney y col., 2009).

Los países con altas prevalencias de DVA reúnen ciertas características. Estas incluyen la pobreza, niveles bajos de alfabetización, desigualdades sociales, una alta incidencia de enfermedades infecciosas y parasitarias, así como la inseguridad alimentaria que trae como consecuencia una escasa disponibilidad y accesibilidad a los alimentos con aporte elevado de vitamina A (Stephensen, 2001).

Asimismo, en países en vías de desarrollo es común que exista un “círculo vicioso” de deficiencia de vitamina A, que acarrea una mayor incidencia y severidad en períodos de infección, que provoca una reducción en la ingesta de alimentos, incluyendo los ricos en VA, provocando una pérdida acelerada de las reservas corporales de este nutriente (Tanumihardjo y col., 2016; Stephensen, 2001).

Prevalencia

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó en el período de 1995 a 2005 que la deficiencia de vitamina A en preescolares afectaba a 45 países, basándose en la prevalencia de ceguera nocturna, y este aumentaba a 122 países si la deficiencia de esta

vitamina se estimaba por pruebas bioquímicas (retinol sérico $<0.70 \mu\text{mol/L}$). Por otra parte, se calculó que entre 250 y 500 mil niños con deficiencia de vitamina A pierden la vista cada año y la mitad de éstos mueren 12 meses posteriores de perder la vista (OMS, 2009a).

En la Figura 1 se observa la distribución mundial de la deficiencia subclínica de vitamina A (retinol sérico $<0.7 \mu\text{mol/L}$), catalogado por severidad en el período de 1995-2005. México se clasificó como un país con deficiencia subclínica severa (OMS, 2009a). Datos más recientes para nuestro país se encuentran en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de 2012 (Villalpando y col., 2015), donde se observó que 15.7% de los niños en edad preescolar presentaron niveles de retinol sérico $<0.70 \mu\text{mol/L}$ y la prevalencia más alta de DVA se observó en los preescolares de la región sur del país (20.3%). En el estado de Sonora existen algunos estudios que si bien no son representativos de la población general, muestran que la DVA es un potencial problema de salud pública en niños en edad preescolar (López-Teros *et al.*, 2012a) y escolares (Astiazarán-García *et al.*, 2010).

Signos Clínicos

Las primeras manifestaciones clínicas de la DVA se asocian con la visión. Primeramente, hay un deterioro de adaptación a la luz tenue, y después la incapacidad absoluta de ver con poca luz, conocida como ceguera nocturna la cual se asocia a la inviabilidad de la retina de regenerar la rodopsina (Mahan y col., 2013). Cuando la DVA es más grave o existe por un tiempo más prolongado, puede llegar a presentarse xeroftalmia, condición que lleva a la queratinización de la córnea y que puede causar ceguera total en los individuos (Gibney y col., 2009).

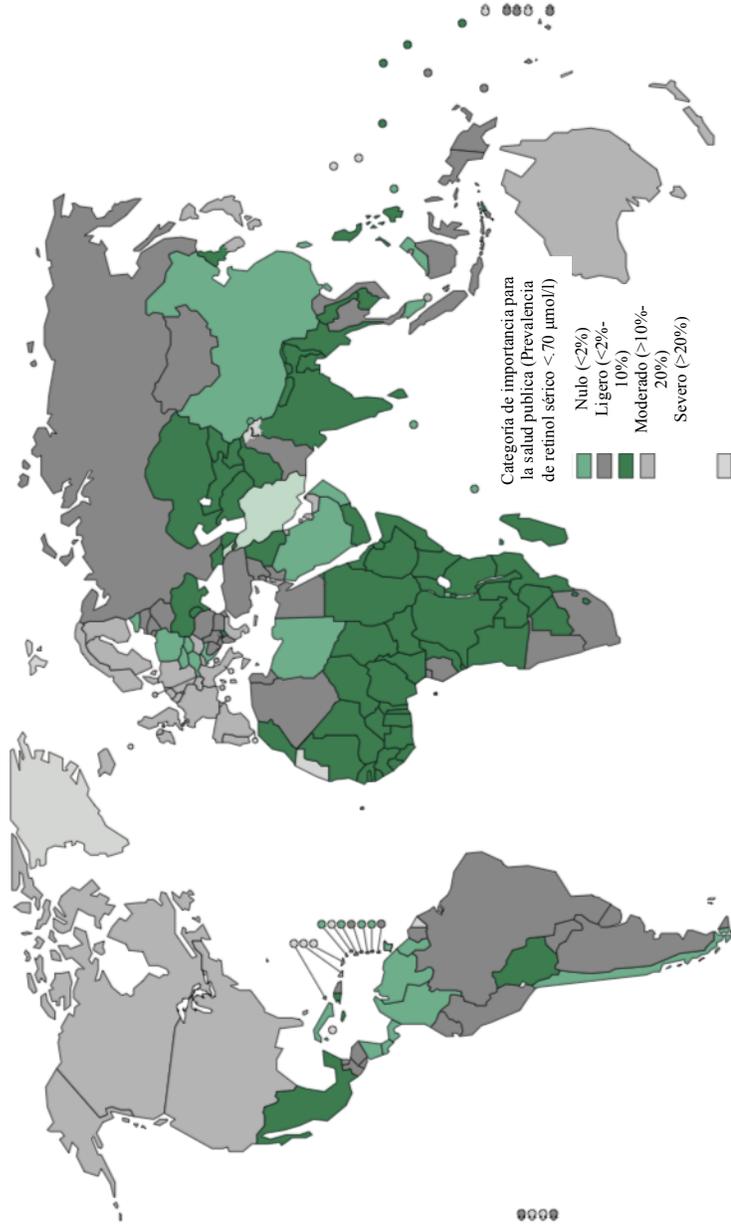


Figura 1. Prevalencia de DVA mundial (OMS, 2009)

Algunas otras manifestaciones de la DVA incluyen anemia, deterioro de la inmunocompetencia, reducción de osteoclastos en el hueso, mal funcionamiento del sistema inmunológico y en última instancia la muerte, estos dos últimos debido a que la integridad de las barreras epiteliales y el sistema inmune se ven comprometidos durante la deficiencia de esta vitamina, aumentando el riesgo de infección, especialmente en infecciones respiratorias (Gropper y Smith, 2012).

La deficiencia de vitamina A también da a lugar a cambios característicos en la textura de la piel, produciendo un aspecto áspero, abultado, descamado o seco, conocido como “piel de gallina” debido a la hiperqueratosis folicular (Mahan y col., 2013).

Evaluación del Estado de Vitamina A

Dada la importancia biológica de la VA, es necesario emplear técnicas simples y precisas que permitan evaluar el estado de esta vitamina en poblaciones de interés. Existen diversos indicadores que reflejan el estado de VA, los cuales se pueden clasificar en indicadores biológicos o en indicadores bioquímicos (Tanumihardjo, 2004).

Los signos biológicos o clínicos de xeroftalmía son utilizados para determinar si un grupo de población presenta deficiencia de vitamina A. Sin embargo, estos indicadores no se utilizan tanto actualmente, debido a que la evidencia clínica de la DVA ya no se ve con tanta frecuencia gracias al desarrollo de políticas públicas, programas de intervención y al desarrollo económico (Furr y col., 2004).

Existen otros indicadores clínicos para evaluar la DVA y la adaptación a la oscuridad es una de ellas. Aquí se evalúa la capacidad de ver en condiciones de poca luz en un tiempo determinado, fue estandarizado por primera vez a principios del siglo XX. En las personas que presentan niveles inadecuados de vitamina A, las células del bastón pierden la capacidad de adaptarse a la oscuridad y las pupilas dejan de medir correctamente la luz dentro y fuera del ojo, lo cual puede llegar a provocar la ceguera nocturna (Tanumihardjo y col., 2016). La ceguera nocturna es otro signo clínico de DVA y puede ser una herramienta útil para evaluar la deficiencia en poblaciones donde la ceguera nocturna es un problema reconocido. Por otra parte, existe la deficiencia

bioquímica, en donde los signos clínicos de deficiencia se encuentran ausentes, este tipo de deficiencia tiene una mayor prevalencia y de igual manera acarrea consecuencias graves para la salud humana (Furr y col., 2004).

Los principales indicadores bioquímicos son concentración de retinol sérico, concentración de retinol en leche materna y reserva hepática de VA. La concentración sérica de retinol es el método más comúnmente utilizado para evaluar el estado de vitamina A en la población. Con base en el mismo, la OMS estimó que la DVA es un problema grave de salud pública cuando el 20% de los niños de 6 a 71 meses presentan una concentración sérica de retinol $<0.70 \mu\text{mol/L}$ (OMS, 2011a). Sin embargo, el uso del retinol sérico como indicador presenta limitaciones debido al control homeostático del metabolito el cual sólo muestra cambios como reducción en la concentración sólo cuando la reserva hepática es tan baja que ya no se pueda compensar la concentración circulante. También se pueden observar cambios cuando la reserva hepática está tan saturada que se observa un incremento por encima de los valores normales ($\geq 1.05 \mu\text{mol/g}$ de hígado) (Gibson, 2005; Haskell y col., 2005). Aunado a lo anterior, la RBP al ser una proteína de fase aguda negativa su concentración se afecta por cuadros infecciosos, reduciendo a la par la concentración de retinol en sangre (Tanumihardjo, 2011). Además, la deficiencia de otros micronutrientes como hierro y zinc, también puede afectar la concentración circulante de retinol; en particular, la síntesis hepática de RBP disminuye durante la deficiencia de zinc, resultando en concentraciones de retinol en plasma mas bajas (Tanumihardjo y col., 2016).

Medir la reserva hepática de vitamina A (el estándar de oro para evaluar este nutriente), es una tarea difícil debido a que ésta solo se puede medir a través de biopsias o procedimientos quirúrgicos y rara vez se justifica para su uso en estudios de investigación. La técnica de dilución isotópica es una alternativa menos invasiva, que permite de una forma indirecta evaluar la reserva corporal total de VA, detectar cambios cuantitativos en respuesta a las intervenciones, estimar los requerimientos individuales de esta vitamina y examinar la bioconversión de carotenoides con función de provitamina A hacia retinol (Furr y col., 2005). Además, la técnica RID se ha empleado en poblaciones

que van desde adultos aparentemente sanos hasta infantes de países desarrollados y en desarrollo, con el fin de evaluar la eficacia de los programas de suplementación de VA (Lietz y col.,2016).

La técnica RID implica la administración oral de una dosis de acetato de retinilo marcada con ^2H o ^{13}C , y posterior a un tiempo de equilibrio de la dosis en el cual se mezcla con los almacenes de vitamina A del cuerpo, se toma una muestra de sangre entre los 11 y 26 días post dosis (dependiendo del grupo poblacional). El suero (o plasma) se analiza para determinar la relación entre el retinol marcado y el retinol endógeno (relación trazador-VA sin marcar). Cuanto más altos sean los almacenes totales del cuerpo, más se diluye el isótopo, lo que resulta en una menor relación de trazador-VA sin marcar. Las reservas totales de vitamina A del cuerpo se pueden calcular a partir de estos datos (Tanumihardjo y col., 2016). Sin embargo, durante este prolongado período de equilibrio, pueden existir factores que modifiquen la dinámica del retinol en la población estudiada, como: infecciones, fiebre o enfermedad aguda que pueden afectar el grado de enriquecimiento isotópico en suero y por lo tanto, interferir con la determinación de la cantidad de vitamina A (Tang y col.,2002). No obstante, al analizar estudios anteriores y recientes (Green y col.,2014, Green y col.,2016a), se sugiere que las reservas corporales totales de VA pueden ser evaluadas a los 4 días después de la administración de una dosis de VA marcada con isótopo estable (Lietz y col.,2016; Lopez-Teros y col., 2017).

Métodos para Estimar la Reserva Corporal de Vitamina A con RID

La reserva corporal total de vitamina A puede ser calculada a partir de tres métodos utilizando la técnica de RID. La técnica de RID fue primeramente utilizada para estimar la reserva de vitamina A utilizando ratas como modelo animal, de acuerdo a los resultados presentados por Bausch y Rietz (1977). Cuando la ecuación predictora desarrollada por estos autores se utilizó en humanos, no se encontró correlación entre los almacenes de VA calculados y hepáticos (determinados a partir de biopsia hepática) por lo que se propuso una ecuación alternativa denominada "Ecuación de Olson", la cual marcó la pauta para el uso de la técnica RID en humanos (Furr y col., 1989). Adicionalmente, el uso del análisis

compartamental que se describirá más adelante en este texto, permitió recientemente el desarrollo de una nueva ecuación por Green, la cual simplifica el uso de supuestos en la estimación de la reserva de VA (Green, 2014).

Ecuación de Olson

La ecuación de Olson es la forma más comúnmente utilizada para la predicción de la reserva de vitamina A con la técnica RID. Ésta se desarrolló a finales de la década de los ochentas bajo la dirección del Dr. James A. Olson, empleando la información disponible por trabajos anteriores en modelos animales que utilizaron isótopos estables para estimar la reserva hepática de vitamina A (Furr y col., 1989; Green y col., 2016a). El trabajo consistió en evaluar directamente la reserva de VA en una biopsia hepática de 11 voluntarios adultos con adecuado estado nutricional, y posteriormente comparar los resultados contra la reservas hepáticas calculada empleando RID y la ecuación modificada de Baush y Rietz, para lo cual los autores asumieron que ~90% del total de la reserva corporal de VA se almacena en el hígado como ésteres de retinilo en individuos bien nutridos. A los participantes se les midió la relación de retinol [$^2\text{H}_4$]:retinol [^1H] en un período de 19 a 47 días, para estimar la reserva corporal total y hepática. El resultado permitió validar el método al comparar las concentraciones de VA determinadas por biopsia hepática en los pacientes quirúrgicos adultos y las concentraciones de VA calculadas por la ecuación ($r=0.95$; $p < 0.002$) (Furr y col., 1989). El resultado fue la siguiente ecuación:

$$\text{TLR} = F \text{ dosis } [S a \{(1/D:H)-1\}] \quad (1)$$

donde **TLR** representa la reserva total de vitamina A en hígado; **F** es la fracción de la dosis isotópica administrada oralmente, que es absorbida y retenida; **dosis** es el conjunto de vitamina A marcada isotópicamente que es administrada oralmente (μmol); **S** es la relación de la actividad específica de retinol en plasma e hígado después del equilibrio de la dosis con los almacenes del cuerpo; **a** es un factor que corrige la pérdida irreversible de la vitamina A marcada durante el período de mezclado (pérdida de dosis por

catabolismo); **D:H** corresponde a la relación de deuterio e hidrogeno en retinol sérico después del equilibrio (proporción del plasma isotópico de retinol marcado a no marcado), y el factor **-1** es la corrección de la contribución de dosis de vitamina A marcada al total de la reserva de vitamina A corporal (IAEA, 2008).

El factor *F* lo introdujeron Furr y col. (1989) y se le asignó el valor de 0.50 basado en el trabajo previo de Rietz y col. (1973). El factor *S* se estimó en 0.65 basado en estudios anteriores del metabolismo de la vitamina A en modelos animales en el laboratorio del Dr. Olson. El factor *a* corrige la pérdida irreversible de la vitamina A marcada durante el período de equilibrio; específicamente, $a = e^{-kt}$, donde *k* es el sistema estimado de la tasa catabólica fraccional y *t* es el tiempo, expresado en días desde la dosis; donde $k=0.005$ y $t=$ días desde la dosis (Sauberlich y col. 1974). El factor *D:H* es la proporción del plasma isotópico de retinol marcado (D) a no marcado (H) y el factor **-1** es la corrección de la contribución de dosis de vitamina A marcada al total de la reserva de vitamina A corporal (Green y col., 2016a).

En un estudio desarrollado por Haskell y col. (1997), se demostró que en comparación con las evaluaciones basadas en biopsias hepáticas, la ecuación de Olson tenía una alta relación en la predicción de la concentración de reserva corporal total de VA en un grupo de 31 pacientes quirúrgicos de Bangladesh con reservas corporales bajas a adecuadas de vitamina A respectivamente y se demostró que la relación entre ambos métodos fue buena ($r=0.75$; $p<0.000$, $n=30$). Sin embargo, la predicción no proporciona una estimación cuantitativa precisa de las reservas hepáticas de VA en sujetos individuales, sólo en el promedio poblacional.

Más tarde Haskell y col., (1998) evaluaron adultos de Bangladesh de 24 a 36 años y adultos estadounidenses de 31 a 44 años para examinar si el tamaño de los almacenes corporales de VA tenía un efecto sobre “el tiempo de equilibrio”. Para esto se administró una dosis oral de $[^2\text{H}_4]$ acetato de retinilo y se graficó la cinética de $[^2\text{H}_4]$ retinol en función del tiempo después de la dosificación. Los “tiempos de equilibrio” fueron similares para ambos grupos: 17.5 ± 4.4 y 16.3 ± 3.9 días para los adultos estadounidenses y bangladesíes

respectivamente ($p=0.69$). En ambos grupos, la dosis de isótopos se mezcló con la VA endógena dentro de los 20 días post-dosis. Utilizando la ecuación de Olson se estimó el tamaño medio de los almacenes corporales de VA para los adultos estadounidenses y bangladesíes como 1.03 ± 0.45 y 0.10 ± 0.11 μmol , respectivamente ($p=0.01$). Haskell y col., concluyeron que una dosis oral de isótopos se mezcla totalmente con la VA endógena a 20 días post-dosis en adultos y que el “tiempo de equilibrio” no se ve afectado por el tamaño de los almacenes corporales de VA.

Haskell y col. (2003) buscaron determinar si la ecuación de dilución isotópica era válida para el uso en población infantil, para ello se examinó la cinética plasmática de retinol de una dosis oral de [$^2\text{H}_4$]acetato de retinilo en niños peruanos de 12 a 24 meses de edad mediante la construcción de una curva cinética de retinol plasmática basada en la población para estimar el "tiempo de equilibrio" y la tasa catabólica fraccional. La dosis de isótopos se equilibró con la vitamina A endógena 8 días post-dosis y la tasa catabólica fraccional se estimó en 0.022 por día (IC 95%: 0.014, 0.030 / d). Se utilizó la ecuación de dilución isotópica de Olson, con una tasa catabólica fraccional observada de 2.2% /d en lugar del valor de 0.5% /d que se utiliza para adultos. Con el uso de una estimación del peso del hígado para estos niños ($0.03 \times$ peso corporal (kg)) y una suposición de que el 90% de la vitamina A total del cuerpo se almacena en el hígado, se puede estimar la concentración media de vitamina A del hígado como 0.310 ± 0.259 $\mu\text{mol/g}$ (mediana: 0.224 $\mu\text{mol/g}$). Esta estimación es similar a la concentración media de vitamina A hepática notificada de 0.273 ± 0.150 $\mu\text{mol/g}$ [media \pm desviación estándar (DE)] (mediana: 0.227 $\mu\text{mol/g}$ rango: 0.056 - 0.504 $\mu\text{mol/g}$), en niños estadounidenses de 1 a 2 años determinada por autopsia.

Como se menciona anteriormente la técnica RID ha sido validada en adultos en base a concentraciones hepáticas de VA y modificada para el uso en niños preescolares y escolares (Lietz y col., 2016). Sin embargo, existen algunas limitaciones en la técnica RID. La técnica proporciona una buena estimación de las reservas hepáticas de VA para grupos, sin embargo, no proporciona una estimación precisa de las reservas de VA hepáticas para sujetos individuales. También, existe información limitada sobre la eficiencia de la técnica

para proporcionar una buena estimación de la reserva corporal total de VA en poblaciones con altas tasas de infección y deficiencias de micronutrientes que pueden comprometer el metabolismo de la VA (Lietz y col., 2016). Se sabe que la diarrea, infecciones parasitarias (*Giardia lamblia* o *Ascaris lumbricoides*) y fiebre reducen la absorción de VA (Nalin y col., 1980; Molla y col., 1983, Reddy V y col., 1986; Brasitus, 1983; Sivakumar y Reddy, 1972). La asociación entre la hiporetinolemia (concentración de retinol $<0.70\mu\text{mol/l}$) e inflamación podría explicarse por la disminución de la síntesis de la proteína de unión al retinol (RBP) en el hígado, dando como consecuencia la reducción de la movilización hepática del retinol (Gieng y col., 2007; Gieng y col., 2005). Este cambio inducido por la inflamación en la actividad específica podría conducir a la sobreestimación del tamaño de la poza de VA por la técnica RID (IAEA, 2008).

Por otro lado, Lietz y col. (2016) mencionan que el metabolismo de la VA también puede verse afectado por la deficiencia de hierro. En un estudio de Tanumihardjo y Penniston (2002) con mujeres embarazadas se mostró una mejora en el estado de vitamina A y hierro al suplementarse estos dos micronutrientes juntos. Por otra parte, Graham y Kahn, (2007) mostraron que la prueba relativa de respuesta a la dosis y la adaptación a la oscuridad mejoró en mujeres embarazadas al administrar hierro, en comparación con la suplementación de VA sola. La relación de estos 2 micronutrientes también se ha investigado en modelos animales. El análisis cinético muestra que la deficiencia de hierro inducida por la dieta disminuye la movilización de almacenes de VA en ratas (Jang y col., 2000). Estos resultados remarcan la importancia de considerar al hierro al momento de utilizar la técnica de RID para los cálculos de almacenes de VA, ya que la deficiencia de este micronutriente puede influir en la cantidad de trazador en plasma, llevando a una estimación incorrecta de los almacenes corporales de VA (Lietz y col.,2016).

Otra de las limitaciones que se han encontrado para el uso de la técnica RID es la interacción entre zinc y VA. La investigación en modelos animales sugiere un papel para el zinc en la absorción intestinal de VA, la movilización del hígado y la captación celular, los cuales pueden estar comprometidos durante la deficiencia de zinc. Sin embargo, la

investigación sobre el impacto de la deficiencia de zinc y el metabolismo de VA es inconclusa (Ahn J y Koo, 1995; Mobarhan y col.,1992).

Ecuación de Green

Al conocer las limitaciones que alberga el utilizar la técnica de RID, se ha buscado simplificar la ecuación de Olson y reducir el tiempo de equilibrio entre la administración de la dosis marcada de VA y el muestreo de sangre (4 días post-dosis), para los diferentes grupos poblacionales, en lugar de los tiempos recomendados actualmente de 7-28 días. Lo anterior, en función de que, al acortar el tiempo de estudio es más probable tener acceso a los sujetos en campo, aumentando la disponibilidad y cumplimiento del sujeto, al igual con un período de equilibrio más corto se garantiza una menor probabilidad de cambios en el estado de salud durante la prueba (ej. desarrollo de infecciones) (Green y col., 2016a; Green y col.,2014). Adicionalmente, realizar la toma de muestra en tiempos más cortos permite coleccionar menores volúmenes de sangre ya que el enriquecimiento del isótopo estable en plasma es mayor, así menores tiempos de estudio reducen también la carga en los voluntarios.

En el estudio por Adams y Green (1994) en ratas, indicaron que es posible desarrollar ecuaciones predictivas para estimar la reserva corporal de vitamina A usando la técnica de RID sin la necesidad de un período de mezcla tan largo. Los autores desarrollaron una ecuación para la estimación a partir de los datos obtenidos 3 días post-dosis, esta ecuación mostró una buena capacidad de predicción con un coeficiente de correlación de Spearman de 0.982, concluyendo que la nueva ecuación podía ser utilizada para predecir la VA del hígado en ratas.

Green en 2014 propuso modificar la ecuación de RID para eliminar algunos de los supuestos y para utilizar los datos recolectados 3 días post-dosis. Para explorar los factores que influyen los valores de F , S , a y $D:H$ en la ecuación de Olson y evaluar su potencial modificación, se utilizaron datos obtenidos a partir de 33 adultos sanos, en quienes se supuso tenían niveles hepáticos moderados de VA, con base en la información de su

ingesta dietaria (Lietz y col., 2016). Se evaluó la cinética de los datos durante 14 días posteriores a la administración oral de una dosis de [$^{13}\text{C}_{10}$]acetato de retinilo (3 μmol), se buscaba obtener parámetros cinéticos que describieran el metabolismo de la vitamina A de los sujetos estudiados (Green, 2014). Los resultados mostraron que fue posible ajustar los datos cinéticos al modelo compartamental desarrollado por Cifelli y col., 2008, el cual incluye compartimentos relacionados con la absorción y digestión de la VA, la producción y el metabolismo de quilomicrones, la absorción hepática de remanentes de quilomicrones y el proceso hepático del retinol recién absorbido. Finalmente, se observó una buena relación entre la técnica de RID al representar la fracción de la dosis en plasma a los 3 días post-dosis (equivalente al factor D:H en la ecuación de Olson). Frente a lo predicho por el modelo compartamental y en apego a lo descrito por la teoría de dilución isotópica, entre mayor sea la reserva de VA, menor fue la fracción de la dosis (Green, 2014).

Dando como resultado la siguiente ecuación simplificada:

$$\text{TBS} = F * (1/\text{SA}) \quad (2)$$

donde TBS representa la reserva corporal total de VA, $F=0.61$, SA es la fracción de la dosis en retinol en plasma / masa de retinol en plasma y la muestra de sangre para medir este factor es recolectado 3 días después de la administración de la dosis.

En conclusión, los autores pudieron eliminar el factor S de la ecuación, debido a que la proporción de actividades específicas de plasma/hígado es igual a 1. De igual manera se eliminó el factor a después de una cautelosa revisión al trabajo de Bausch y Rietz (1977) donde se muestra que el factor a está incorporado en el factor F . Además, el factor -1 puede ser eliminado ya que la dosis al ser un trazador indica que la masa es mucho menor que las reservas corporales (Green, 2014).

Más adelante, Green y col., (2016a) presentaron una nueva versión de la ecuación modificada de Olson (Green, 2014). Emplearon datos de análisis compartamental de la cinética de VA en un grupo de 32 jóvenes sanos de 24 ± 4 años de ascendencia europea, con lo cual determinaron los valores *individuales* para los coeficientes en la ecuación de Olson, de forma que pudieron validar la nueva ecuación por comparación entre la

predicción de la RCT de VA a partir del modelo de análisis compartamental (Green y col., 2016, Oxley y col., 2014). Para lograr lo anterior, se tomaron 11 muestras de sangre de cada sujeto desde el inicio hasta 14 días después de la administración de una dosis oral de [$^{13}\text{C}_{10}$]acetato de retinilo (2.95 μmol). Al obtener los datos sobre la fracción de la dosis marcada en plasma en comparación con el tiempo post dosis, se aplicó un análisis compartamental empleando un modelo de 6 compartimentos desarrollado por Cifelli y col., (2008) (Figura 2). Se ajustaron los datos para cada sujeto según el modelo, y los valores para los coeficientes de transferencia fraccional [L (I, J) s; o la fracción de retinol en el compartimento J que se transfiere al compartimento I diariamente] se determinaron mediante un análisis de regresión no lineal ponderado. El tamaño del conjunto de retinol en plasma [M (5); o la concentración media por el volumen de plasma estimado] y la reserva corporal de VA (RCT) [M (6); o la masa de VA en el compartimento 6] (Green y col., 2016a).

A fin de desarrollar una nueva ecuación que proporcione no sólo una predicción poblacional, sino además precisa de las reservas corporales de vitamina A a nivel individual, analizaron algunas de las suposiciones de la ecuación original de RID. Green y col., (2016a) concluyeron lo siguiente: 1) la ecuación deberá estimar con precisión la RCT de VA sobre la base de datos recopilados en la primer semana post dosis; 2) el factor -1 debe eliminarse ya que la dosis al ser un trazador indica que la masa es mucho menor que las reservas corporales; 3) el factor *dosis x D:H* requiere expresarse en conjunto ya que en algunas investigaciones se utiliza el [$^{13}\text{C}_{10}$] para estudios de RID; 4) el factor *a* se debe eliminar ya que esta incorporado en el factor *F*. Adicionalmente, se trabajó con el factor *Fa*, que es la fracción de la dosis administrada que fue absorbida y retenida; este factor es equivalente a la fracción de la dosis en el compartimento 6 (ver en figura 2). Para calcular la magnitud del factor *Fa* es necesario conocer la pérdida irreversible de vitamina A, esta se ve reflejada como L (10, 6) en el modelo (Green y col., 2016a).

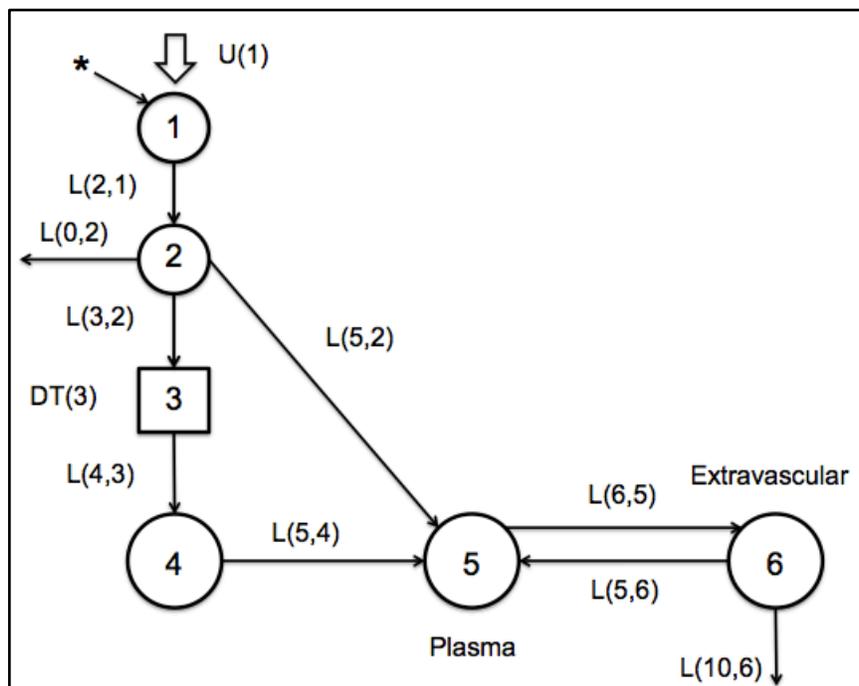


Figura 2. Modelo de 6 compartimentos para la cinética de retinol en humanos.

Los círculos representan compartimentos; el componente 3, representado en forma de rectángulo, es un elemento de retardo en el avance del trazador el sistema. Los compartimentos del 1 al 4, incluido el elemento de retardo, corresponden a la digestión y absorción de la vitamina A, producción y metabolismo de quilomicrones, captación hepática de los remanentes de quilomicrosón y procesamiento hepático de retinol. El compartimento 5 representa el retinol en plasma unido a la RBP y transtiretina; este se intercambia con VA en una reserva extravascular que es el compartimento 6, que incluye los almacenes de VA en hígado. El asterisco (*) representa el sitio de entrada de la dosis administrada de [$^{13}\text{C}_{10}$]acetato de retinilo y $U(1)$ representa la entrada de la VA por medio de la dieta. $L(I, J)$ son los coeficientes de transferencia fraccional (Cifelli y col., 2008).

Así, se propuso la siguiente ecuación modificada:

$$TBS = Fa \times S \times (1/SA_p) \quad (3)$$

Donde Fa y S son valores que pueden ser asignados según las aplicaciones pasadas de la ecuación original de Olson. SA_p (fracción de la dosis/ μ mol) indica la actividad específica de retinol en plasma y es determinado analíticamente de manera individual para cada sujeto según los datos observados en cada tiempo de muestreo.

Como el estudio de Green y col., (2016a) fue corto en cuanto al tiempo de seguimiento de la cinética en comparación con otros estudios, se realizó una simulación con el modelo predictivo hasta el día 28 y se calcularon nuevamente los factores *Fa*, *S* y *1/SA_p* en ese tiempo. Los coeficientes de variación (CV) para *Fa* x *S* disminuyeron de 42% del día 1 a 21% en el día 3 y a 15% en los días 4-5 y para el día 28 el CV aumento hasta 53%, concluyendo que 4 ó 5 días post dosis es el momento ideal para precedir con una mayor precisión la reserva corporal de VA ya sea a nivel grupal o individual.

Por otra parte, Lopez-Teros y col., (2017) estudiaron a 15 niños (17-35 meses de edad), a los cuales se les administró una dosis de [¹³C₁₀]acetato de retinilo (1 mg) y se construyó una curva cinética de enriquecimiento plásmatico. Se trabajó con el modelo del “súper-niño”, donde para construir la curva cinética se colectaron 2 muestras de sangre venosa por niño en 10 tiempos de muestreo en un período de 35 días. Se desarrolló un modelo de análisis compartamental para estimar la RCT de VA, calculando la reserva por medio de la ecuación isotópica de Green y col., 2016a. Los resultados pronosticados por el modelo fueron similares a los obtenidos por la ecuación de Green a 3-5 días post-dosis [media \pm DE] (823 μ mol y 832 \pm 176 μ mol respectivamente), concluyendo que a partir del modelo del “súper-niño” se pueden obtener estimaciones de la reserva corporal de VA.

Estado Nutricional y Composición Corporal

La prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños en edad preescolar ha aumentado mundialmente a través de los años (Swinburn y col., 2011). México es un país de dualidades donde la deficiencia subclínica de vitamina A coexiste con un exceso en la ingesta calórica asociado con el desarrollo de sobrepeso y obesidad. Mundialmente el número de preescolares que padecen sobrepeso u obesidad ha aumentado de 32 millones en 1990 a 41 millones en 2016 (OMS, 2016). En éste contexto, México ocupa el primer lugar a nivel mundial en obesidad infantil con una prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad de 9.7% en niños < 5 años (ENSANUT 2012) y a nivel estatal de acuerdo a ENSANUT 2012, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en menores de 5 años fue de 14.1%, con una distribución para las localidades urbanas de 14.7% y para las rurales de 8.7%.

Además, la literatura sugiere que el tejido adiposo puede ser un sitio de almacenamiento de vitamina A, especialmente en sujetos con un estado adecuado de VA (Tanumihardjo y col., 2016). Adicionalmente, en personas con sobrepeso y obesidad, Gannon y col., (2015) y Ford y col., (2017) postulan que el tejido adiposo puede ser un sitio extra hepáticos de almacenamiento de vitamina A. En sujetos con obesidad, las concentraciones de RBP podrían ser afectadas por el tejido adiposo. En un estudio de Mills y col., (2008), evaluaron las concentraciones séricas de RBP en adultos y encontraron una correlación positiva con el índice de masa corporal (IMC), grasa visceral y resistencia a la insulina, siendo estos componentes del síndrome metabólico.

La mayoría de los estudios relacionados con la obesidad se realizaron en países desarrollados, donde el riesgo de deficiencia de vitamina A es muy bajo. Sin embargo, en los países en vías de desarrollo y emergentes, como México, la obesidad puede coexistir con la deficiencia de vitamina A, y aun no está claro cómo evaluar las concentraciones de RBP o retinol sérico en estos sujetos. Por ejemplo, si la RBP derivada de adipocitos (apo-RBP) se secreta como apo-RBP no unido a retinol, podría llegar a producir resultados falsos negativos, indicando que las concentraciones de retinol sérico son adecuadas en

sujetos obesos, cuando en realidad existen concentraciones deficientes de vitamina A (Tanumihardjo y col., 2016).

Como se menciono anteriormente, las infecciones agudas deprimen las concentraciones de retinol sérico, por lo que las poblaciones en riesgo de obesidad pueden presentar inflamación crónica asociada a este padecimiento, resultando en concentraciones séricas de retinol bajas (Tanumihardjo y col., 2016).

Para evaluar la composición corporal existen distintos métodos, uno de ellos es a bioimpedancia eléctrica, método electro-físico por medio del cual se puede estimar el agua corporal total (ACT), la masa libre de grasa (MLG) y la masa grasa (MG) de los sujetos. Este equipo nos brinda dos medidas: reactancia y resistencia, con las que se puede calcular la composición corporal mediante ecuaciones previamente validadas. Su estimación se basa en la aplicación de una corriente eléctrica de una intensidad de 50 kHz, por debajo de los umbrales de percepción en el tejido a medir. Esta corriente produce una tensión eléctrica que es tan alta como mayor sea la impedancia que muestra el tejido evaluado al paso de esta (Lukasky y col., 1985).

En la edad preescolar y escolar se han evaluado concordancias entre la masa grasa y masa libre de grasa evaluadas con diferentes métodos (bioimpedancia eléctrica, antropometría y densitometría ósea (DXA)). En este estudio evaluaron la composición corporal en niños de 4 a 6 años a través de antropometría y bioimpedancia eléctrica, utilizando DXA como el método de referencia, encontrándose moderados grados de concordancia ($r=0.43-0.53$) ($p < 0.0001$) (Rodríguez y col., 2008).

En un estudio por Kushner y col. (1992) se investigó la utilidad general de la bioimpedancia eléctrica (BIS) en varios grupos de edad, desde la infancia hasta la adultez, desarrollando un solo algoritmo para el cálculo de agua corporal total y masa libre de grasa usando como predictor principal la altura²/resistencia. La ecuación resultante fue la siguiente:

$$TBW = .059ht^2/R + 0.065 wt + 0.04 \quad (4)$$

donde *TBW* es agua corporal total expresada en kilogramos, *ht* es altura en cm, *R* es resistencia y *wt* es peso en kilogramos; sin embargo, se sugirió hacer mas estudios para lograr validar la ecuación en menores de edad preescolar.

Goran y col., (1993) buscaron validar la ecuación de Kushner en menores de 4-6 años. Se estudiaron dos grupos: 31 niños caucásicos de entre 4-6 años fueron estudiados en la Universidad de Vermont y 30 menores con las características anteriormente mencionadas en el Instituto de Diabetes y enfermedades del riñón en Phoenix, Arizona. La relación entre el agua corporal total calculada por el método de dilución $H_2^{18}O$ y la ecuación predicha por Kushner no demostró diferencia significativa en ninguno de los dos grupos ($r^2=0.88$), concluyendo que la ecuación predice con exactitud el agua corporal total en los niños en edad preescolar, logrando estimar la masa libre de grasa utilizando las constantes de edad y sexo previamente publicadas.

Por otra parte, en un estudio de Gridneva y col., (2017) se discutió que la revisión de las ecuaciones BIS mostró que los cálculos de Kushner tienen el mayor número de coincidencias con los valores de referencia que es similar al de los pliegues cutáneos estadounidenses con Durnin y Rahaman (1967) / Siri (Brozek y Henschel, 1961) / Lohman (1984).

Por lo tanto, para el cálculo de la composición corporal a través de bioimpedancia eléctrica es seguro utilizar el algoritmo desarrollado por Kushner y col., previamente validado en menores preescolares:

$$MLG = \frac{(talla^2/R) 0.59 + (peso \times 0.065) + 0.04}{0.769 - (0.0025 \times edad) - (0.019 \times sexo)} \quad (5)$$

donde: *MLG* es masa libre de grasa, *altura* es expresada en centímetros, *R* es resistencia, *peso* es en kilogramos, *edad* en años y *sexo* es 0 para el sexo femenino y 1 para el sexo masculino (Goran y col., 1993). El denominador de la formula es el factor de hidratación ajustado por la edad y el sexo del sujeto a quien se le aplica la ecuación. Esto es una simplificación de los valores de hidratación de la *MLG* de Fomon y col., (1982)

En razón de la hipótesis que el tejido adiposo supone un almacén extra de vitamina A, consideramos necesario evaluar si la grasa corporal es un factor que influye en los cálculos de la reserva corporal de vitamina A al aplicar la técnica RID en niños en edad preescolar de Hermosillo, Sonora.

OBJETIVOS

Objetivo General

Comparar la cuantificación de la reserva corporal total de vitamina A en menores preescolares estimada por el método de Olson y de Green y evaluar la influencia de la grasa corporal en el cálculo.

Objetivos Específicos

1. Determinar el estado nutricional de los menores participantes con base en parámetros antropométricos, bioquímicos y dietarios.
2. Estimar la reserva corporal total de vitamina A empleando la técnica de RID.
3. Comparar la cuantificación de la reserva corporal de vitamina A por el método de Olson y de Green.
4. Evaluar la influencia de la grasa corporal en la cuantificación de la reserva corporal total de vitamina A en preescolares residentes en Hermosillo, Sonora.

METODOLOGÍA

Diseño de estudio

El diseño del presente trabajo es un estudio transversal analítico y la muestra fue intencional, no probabilística.

Sujetos

El protocolo cuenta con la aprobación por el comité de ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Posteriormente, se obtuvo el consentimiento de la Secretaría de Educación y Cultura, quien en razón a sus atribuciones asignó la escuela de nivel socioeconómico medio de donde se seleccionaron los participantes preescolares y cuya matrícula oficial era de 105 alumnos. Una vez que la directiva y la sociedad de padres de familia aceptaron, se sostuvo una reunión informativa con ellos, donde se les explicó el objetivo del proyecto. Los interesados en que sus hijos participaran firmaron una carta de consentimiento informado, donde se explicó ampliamente el procedimiento a realizar en sus hijos, beneficios y posibles complicaciones (Apéndice I). Se sostuvo una reunión informativa con los padres de familia del preescolar cuyos hijos se encontraban en el intervalo de edad de 3 a 6 años. La matrícula del plantel era de 105 niños, de éstos a la reunión asistieron los padres o tutores de 35 menores (33%) y respondieron favorablemente 24 (23 % de la matrícula), quienes cumplieron con los criterios de participación. Dentro los criterios de exclusión se considero: presencia de inflamación subclínica (proteína C reactiva en suero $>6\text{mg/L}$), anemia (hemoglobina $<110\text{/gL}$) (OMS, 2011b), sujetos con parasitosis intestinal por *Giardia lamblia* o *Ascaris lumbricoides*, diarrea o fiebre durante la semana previa al muestreo, y desnutrición según los indicadores de la OMS, peso/talla, talla/edad e IMC/edad (puntajes $z < -2$ DE).

Evaluación Antropométrica

Las mediciones antropométricas se efectuaron por personal estandarizado. El peso se midió con una balanza digital AND modelo FG-150 KMB (150 lb/60 kg \pm 0.01 kg capacidad de carga), los niños se colocaron sobre la balanza, sin zapatos, con ropa ligera cuidando que todo el cuerpo se encontrara dentro de la balanza y posteriormente se registró el peso. La talla se midió con un estadímetro portátil Holtain (amplitud de 840 mm - 2060 mm) se verificó la posición del niño o la niña cuidando el plano de Frankfurt (Cameron, 1978). Posteriormente, con el peso, la talla y la edad de los participantes, se calcularon los puntajes Z de los indicadores peso para la talla (P/T), peso para la edad (P/E), talla para la edad (T/E) y el índice de masa corporal para la edad (IMC/E) utilizando el software OMS Anthro (versión 3.2.2) (OMS, 2006) para menores de 5 años y Anthro Plus versión 1.0.4 (OMS, 2009b) para mayores de 5 años y se compararon contra las tablas de referencia de la OMS (OMS, 2006).

Composición Corporal

La evaluación de la composición corporal se realizó por medio de bioimpedancia eléctrica utilizando el equipo RJL Quantum II. Para la medición, se colocó al sujeto sobre una cama de material no conductor para evitar que los marcos metálicos distorsionen las medidas de impedancia. Las mediciones se hicieron colocando cuatro electrodos, que se adhieren a la superficie dorsal de la mano y a la superficie anterior del pie. Y para el cálculo de la composición corporal por dos compartimentos se utilizó el algoritmo desarrollado por Kushner y col., 1992 previamente validado en menores preescolares:

$$MLG = \frac{(talla^2/R) 0.59 + (peso \times 0.065) + 0.04}{0.769 - (0.0025 \times edad) - (0.019 \times sexo)} \quad (5)$$

donde: MLG es masa libre de grasa, altura es expresada en centímetros, R es resistencia, peso es en kilogramos, edad en años y sexo es 0 para el sexo femenino y 1 para el sexo masculino (Goran y col., 1993). El denominador de la fórmula es el factor de hidratación

ajustado por la edad y el sexo del sujeto a quien se le aplica la ecuación. Esto es una simplificación de los valores de hidratación de la MLG de Fomon y col., (1982).

Evaluación Dietaria

Para evaluar el consumo dietario de los preescolares, se analizó la información del consumo habitual de alimentos a partir de 3 Recordatorios de 24 horas no consecutivos, dos entre semana y uno en fin de semana, con el propósito de tener un mejor reflejo de la dieta habitual de los participantes y minimizar la variación de consumo intra e inter-individuo (Tompson y Subar, 1994).

Para estimar el consumo de energía y nutrimentos, así como los porcentajes de adecuación, se emplearon: el Requerimiento Estimado de Energía (IOM, 2005) y las Referencias de Ingestión Diarias (RDI), respectivamente (Trumbo y col., 2001). Adicionalmente se utilizaron las tablas de composición nutrimental de la USDA y el Diccionario de alimentos elaborado por CIAD, A.C (Ortega y col., 1999). Los totales que se presentan sobre la estimación dietaria, son los valores ajustados de acuerdo a las recomendaciones del National Research Council (1986), las cuales consideran la variación intra e interindividuo. En el Apéndice II se presenta la información detallada del análisis dietario el artículo: “Diversidad dietaria y estado nutricio en menores de 3 a 6 años”.

Detección de Inflamación Subclínica y Anemia

Se evaluó la concentración de hemoglobina en sangre total utilizando el fotómetro portátil Hemocue® (Neufeld y col., 2002). La presencia de anemia se definió de acuerdo con los puntos de corte establecidos por la organización mundial de la salud, es decir <110 g/L para menores entre 0.5–4.99 años y <115 g/L para aquellos entre 5–11.99 años (OMS, 2011a).

Debido a que la presencia de inflamación subclínica puede ser un factor que afecte los resultados de la reserva corporal de vitamina A, se empleó la técnica de proteína C reactiva (PCR) semicuantitativa (REF CP2714; Randox Laboratories) para detectar la

presencia de inflamación asociada a infecciones o algún otro proceso en los niños. El biomarcador (PCR) se detecta en suero por reacción con un anticuerpo específico adsorbido sobre un soporte inerte de látex. La PCR se une a los anticuerpos adsorbidos produciendo la aglutinación de las partículas de látex (Figura 3). Cuando el nivel de PCR es >6 mg/L se interpreta como un resultado positivo, indicando la presencia de inflamación subclínica.

Dosificación de Vitamina A marcada con $^{13}\text{C}_{10}$

El isótopo estable que se administró fue [$^{13}\text{C}_{10}$]acetato de retinilo (8-,9-,10-,11-,12-,13-,14-,15-,19-,20- [$^{13}\text{C}_{10}$] acetato de retinilo), éste fue sintetizado a $\geq 98\%$ de pureza química por el Cambridge Isotopes Laboratory (Massachusetts, USA). Para preparar las dosis, se colocó 1 mg (2.96 μmol) [$^{13}\text{C}_{10}$]acetato de retinilo en cápsulas de gelatina y posteriormente se añadieron 200 μL de aceite de maíz como vehículo. Las cápsulas se prepararon en el laboratorio de Carotenoides y Salud del USDA Human Nutrition Research Center on Aging, en Boston, Massachusetts y posteriormente se enviaron en hielo seco al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. en Hermosillo, Sonora, México, donde se almacenaron a -70°C hasta que se administraron a los niños participantes.

En aquellos sujetos que cumplieron con los criterios de participación, se administró en ayuno una dosis de 1 mg de [$^{13}\text{C}_{10}$]acetato de retinilo (Cambridge Isotopes Laboratory; MA, USA) disuelto en 200 μL de aceite de maíz como vehículo. Ya que la población pertenecía a menores en edad preescolar, al momento de la dosificación la cápsula se abrió cuidadosamente sin ninguna pérdida y se administró directamente en la boca con ayuda de una pipeta de desplazamiento positivo especial para fluidos viscosos (Figura 4). Posteriormente y para promover la absorción adecuada de la dosis marcada, se proporcionó un desayuno alto en grasa y bajo en vitamina A (papas a la francesa).

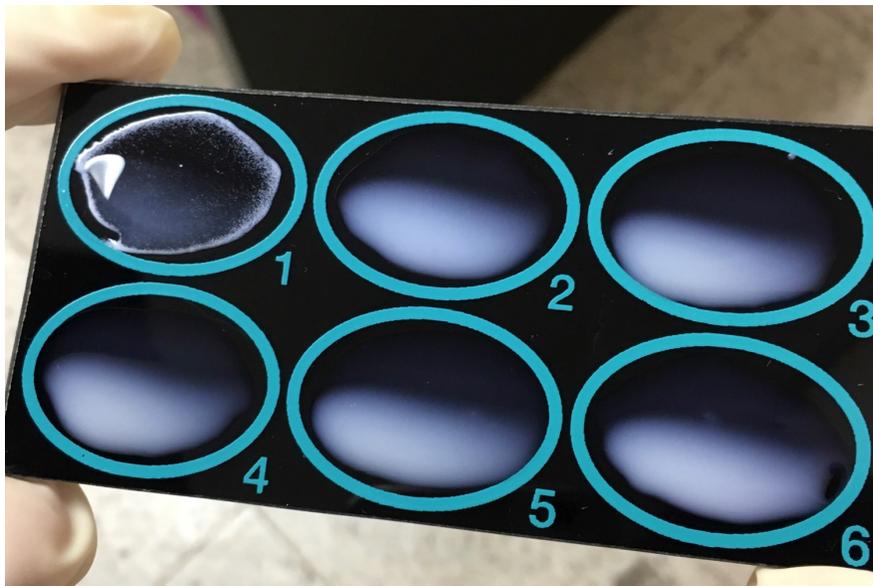


Figura 3. Técnica de proteína C reactiva semicuantitativa. Dónde: 1 es el control positivo, 2 es el control negativo y el resto son muestras negativas.



Figura 4. Dosificación oral con $[^{13}\text{C}10]$ acetato de retinilo.

Análisis de Retinol y Enriquecimiento Isotópico

Después de que se consumieron las dosis marcadas, se extrajeron 3-5 ml de sangre de la vena antecubital del antebrazo de los participantes, utilizando el sistema Vacutainer®. Las muestras se cubrieron con papel de aluminio para evitar la fotodegradación de VA y posteriormente se obtuvo el suero por centrifugación, el cual se congeló a -70°C hasta su evaluación.

El análisis de retinol sérico se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Yeum y col. (1996), utilizando un sistema HPLC (Agilent Technologies, bomba modelo 1220 con detector de arreglo de diodos modelo 1260) y empleando acetato de retinilo (Sigma-Aldrich) como estándar interno. La concentración de retinol se calculó utilizando una curva de calibración a partir de un estándar externo de retinol (Sigma-Aldrich). Diariamente se empleó un pool de suero como control de calidad para evaluar la variabilidad intra e inter-análisis, la cual fue de 1% para el retinol. La concentración de retinol sérico se considera normal cuando es $\geq 1.05 \mu\text{mol/L}$ ($30 \mu\text{g/dL}$), y se clasifica como deficiencia: leve ($\geq 0.7 - < 1.05 \mu\text{mol/L}$; $20-30 \mu\text{g/dL}$), moderada ($\geq 0.35 - < 0.7 \mu\text{mol/L}$; $10-20 \mu\text{g/dL}$) o severa ($< 0.35 \mu\text{mol/L}$; $< 10 \mu\text{g/dL}$) (West 2002).

El enriquecimiento isotópico de [$^{13}\text{C}_{10}$]retinol se determinó por cromatografía de gases por combustión y relación isotópica acoplada a espectrómetro de masas (GC-C-IRMS), según la metodología descrita por Tanumihardjo, (2000) en colaboración con la Universidad de Wisconsin-Madison. Debido a que existe una abundancia natural de ^{13}C y a fin de corregir por la concentración basal, se evaluó la concentración de este isótopo en el suero de 4 niños en edad preescolar, quienes no participaron en el estudio ni fueron dosificados con vitamina A marcada, pero compartían el mismo ambiente y características socioeconómicas de los sujetos de estudio.

Modelo del “Súper-niño”

Debido a que nuestros sujetos de estudio eran menores en edad preescolar, es imposible realizar un estudio cinético con múltiples tomas de muestra consecutivas. Por lo anterior,

se construyó una curva cinética de enriquecimiento isotópico plasmático (por cálculos adicionales para estimar el volumen plasmático en la población, descripción abajo). Se recolectaron muestras de sangre en 9 tiempos de muestreo (8 y 12 h, y 1, 2, 4, 7, 11, 14 y 21 días) a fin de trabajar con el modelo del “súper-niño” propuesto por Lopez-Teros y col., 2017, donde se tomaron dos muestras de sangre a cada menor y todos los participantes coincidieron en la toma de muestra del día 4, de forma que al final, por cada tiempo de muestreo existieron 3 niños.

Los datos de enriquecimiento en suero para [¹³C]retinol, se convirtieron en fracción de plasma de la dosis utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Plasma FD} = \frac{\left[\text{Enriquecimiento} \times \text{CR} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{L}} \right) \times \text{VOL (L)} \right]}{\text{dosis } (\mu\text{mol RAE})} \quad (6)$$

donde: FD es fracción de plasma de la dosis, CR es la concentración de retinol y VOL es el volumen del plasma estimado, RAE es equivalentes activos de retinol (Linderkamp y col., 1997; Lopez-Teros y col., 2017)

Para la construcción de la curva cinética de enriquecimiento plasmático, es necesario conocer el volumen del plasma para analizar la bioeficacia y la cinética; para esto se calculó el volumen de plasma para cada niño, utilizando el volumen sanguíneo estimado en litros y un valor promedio de hematocrito para niños de este grupo de edad, donde se estimó el volumen sanguíneo por edad (años), altura (cm) y peso corporal (kg) (Linderkamp y col., 1997).

Las medias geométricas de los valores de plasma FD se representaron gráficamente en función del tiempo (8h a 21 d), para proporcionar una curva de respuesta isotópica compuesta (“súper-niño”), durante los 21 días del estudio. Después se aplicó el análisis compartamental por modelado matemático (Ciffeli y col., 2007) utilizando el software WinSAAM versión 3.3.0, para desarrollar un modelo multicompartamental que describe la cinética de VA de todo el cuerpo. Una vez que se obtuvo un ajuste satisfactorio entre los datos observados y las predicciones del modelo, se usó un análisis de regresión

no lineal ponderada (con una DE fraccional de 0.05 como factor de ponderación) para estimar los valores finales de los parámetros del modelo [coeficientes de transferencia fraccional; $L(I, J)_s$, o la fracción de retinol transferida al compartimento I del compartimento J cada día] y su incertidumbre estadística.

Además, para derivar otros parámetros cinéticos, se estimó el tamaño del conjunto de retinol en plasma para cada niño utilizando el siguiente algoritmo:

$$\text{Pool de retinol en plasma} = CR (\mu\text{mol/L}) \times \text{volumen de plasma estimado (L)} \quad (7)$$

Después, se utilizó la media geométrica del pool de retinol en plasma (μmol) en una solución de estado estacionario en WinSAAM para predecir el tamaño (masa) de los demás compartimentos [$M(I)$; micromoles], incluyendo la RCT de VA y la tasa de eliminación ($\mu\text{mol/día}$), definido como la tasa de pérdida de VA del compartimento 5 (Lopez-Teros y col., 2017).

Estimación de la Reserva Corporal de Vitamina A

Para la comparación de la estimación de las reservas de VA con la predicción del modelo del “súper-niño”, se calculó la RCT de VA utilizando la ecuación propuesta por Green y col., 2016a:

$$\text{TBS} = Fa \times S \times (1/SA_p) \quad (3)$$

A partir del modelo fue posible obtener los valores para los coeficientes Fa y S para el día 4, el valor $1/SA_p$ fue calculado individualmente para cada niño con los datos observados en ese tiempo. Posteriormente, los valores poblacionales calculados para Fa y S junto con los valores calculados de $1/SA_p$ para cada niño fueron sustituidos en la ecuación para predecir la RCT de VA a nivel individual.

De igual manera, se estimó la RCT para VA utilizando la ecuación original de Olson propuesta por Furr y col., 1989:

$$\text{TLR} = F \text{ dosis} [S a \{(1/D:H)-1\}] \quad (1)$$

Donde los factores F y S son constantes, la dosis fue de 2.96 μmol para todos los niños, para el factor a se calculo el logaritmo natural de de $2/32$, el resultado se multiplicó por el día de muestreo post-dosis (para este caso 4 y 14) y por último los resultados se elevaron a la potencia del argumento número, utilizando la función exponencial. El factor $D:H$ se obtuvo al dividir las concentraciones de ^{12}C y ^{13}C para el día 4 y 14.

Los datos individuales para cada niño se representan en μmol totales para la RCT de VA, por lo que para poder evaluar si la reserva es deficiente, adecuada o tóxica, según los puntos de corte propuestos por Tanumihardjo y col., (2016), se debe calcular la VA en $\mu\text{mol/g}$ de hígado (peso del hígado= 3% de peso corporal) (Haskell y col., 2005). Además, como los niños del estudio son aparentemente sanos, se asumió que el 90% de la VA se encontraba en hígado.

Análisis Estadístico

Se utilizó estadística descriptiva, para el análisis de los datos se empleó el paquete estadístico NCSS v.10. Los valores presentados para las características de los sujetos y la evaluación dietaria se presentan en medias \pm desviación estándar. Las predicciones de RCT de VA por dilución isotópica se presentan en medias geométricas \pm desviación estándar.

Asimismo, se evaluó la correlación de los dos métodos (Olson y Green) empleando una prueba t pareada. Para evaluar el posible sesgo, exactitud y precisión, se utilizó el análisis Bland y Altman (1986), el cual fue completado con los análisis de concordancia de Lin (1989), haciendo uso del programa estadístico MedCalc, versión 15.0. Para evaluar la influencia de la grasa en los cálculos se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) considerando el método de Green y de Olson al día 4 post dosis, utilizando los kilogramos de grasa ó el índice de masa grasa como covariable.

Se evaluó la correlación del índice de masa grasa con los dos modelos utilizados (Olson y Green al día 4 post dosis), utilizando una regresión lineal simple con el paquete estadístico NCSS v.10.

El análisis compartamental basado en modelos, se realizó con la versión de Windows 7 del Software de simulación, análisis y modelado (WinSAAM versión 3.3.0), con el fin de desarrollar un modelo multicompartamental que describiera la cinética VA de todo el cuerpo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de los Sujetos

El estudio contó con la participación de 24 niños (23% de la matrícula escolar) aparentemente sanos en un rango de edad de 3 a 6 años. Por interrogatorio directo se corroboró que los participantes no presentaron diarrea ni fiebre una semana previa al estudio, además quince días antes de la dosificación se administró un antiparasitario a los niños y se solicitó anular el uso de suplementos vitamínicos. Adicionalmente y de acuerdo con los criterios de participación, los menores no presentaron inflamación subclínica (PCR > 6 mg/L) ni anemia de acuerdo a los puntos de corte establecidos por la OMS, 2011b (<110 g/L para niños de 6 a 59 meses y <115 g/L para niños de 5 a 11 años).

La Tabla I muestra las características físicas y antropométricas de los menores participantes, donde la mitad de los preescolares (n=12) perteneció al sexo masculino. El intervalo de edad fue de 3 años 8 meses hasta 5 años 8 meses. Al clasificar los datos antropométricos según los parámetros de la OMS (2009b), se observó que de acuerdo la media de los puntajes Z de los indicadores antropométricos, los menores se encontraron dentro de los parámetros nutricionales adecuados; a excepción de 2 niños que presentaron obesidad, con un IMC/edad >5 DE.

Evaluación Dietaria

La distribución del consumo energético a partir de los precursores, proteína, carbohidratos y grasa fue de 17, 51, y 32 %, respectivamente (Figura 5), lo cual se encuentra dentro del intervalo adecuado y saludable de distribución de macronutrientes para este grupo etario (IOM, 2005). Adicionalmente, los límites inferiores y superiores del IC 95% quedaron englobados dentro de los límites de las recomendaciones de IOM, 2005 (Figura 5). Asimismo, a pesar de que el consumo promedio de energía de los preescolares fue superior a la recomendación, sólo 12/22 de los menores la cubrieron adecuadamente, 3/22 tuvieron

Tabla I. Características físicas, antropométricas y retinol de los preescolares*

	Total (n=24)
Edad (años)	4.81 ± 0.67
Peso (kg)	19.8 ± 5.92
Talla (cm)	109 ± 6.10
Z Peso/edad	0.55 ± 1.49
Z Peso/talla	0.89 ± 1.60
Z Talla/edad	0.89 ± 1.60
Z IMC/edad	0.76 ± 1.70
% Grasa	30.4 ± 8.65
Retinol sérico (µmol/L)	1.34 ± 0.35

*Medias ± desviación estándar

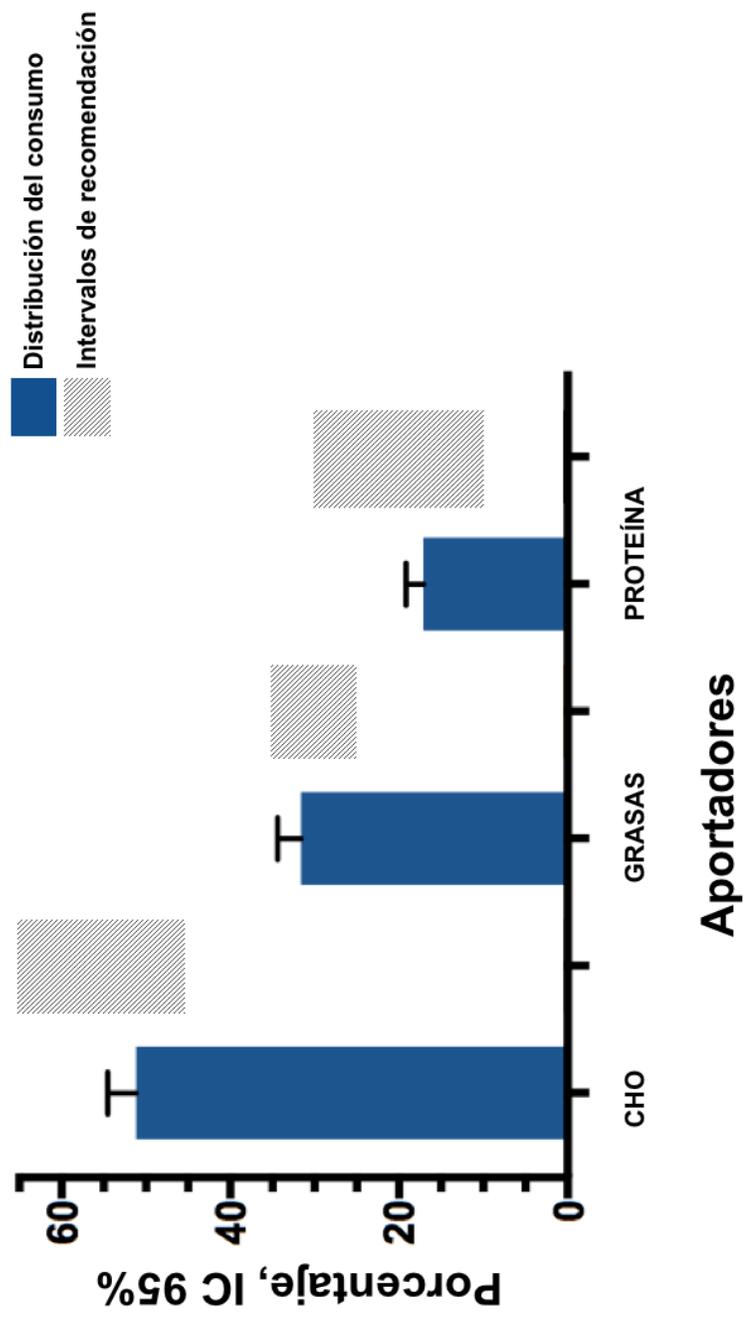


Figura 5. Distribución del consumo energético por aportadores

consumos bajos y 7/22 mostraron consumos superiores a la recomendación (Tabla II). En cuanto al consumo de fibra ninguno de los participantes cubrió su ingesta diaria recomendada. El consumo de micronutrientes como vitamina A fue deficiente para 10/22 de los preescolares. En el caso del hierro 11/22 de los niños no lograron cubrir su recomendación diaria. Para zinc la media de consumo estuvo por encima del valor de referencia sin exceder la recomendación de ingesta máxima (12 mg/d) (IOM 2005), no obstante, 8/22 preescolares no logró cubrir la recomendación.

Los menores en edad preescolar del estudio presentaron un consumo elevado de proteína, ya que la media del consumo fue tres veces mayor a la de la ingesta recomendada para este grupo. Esto coincide con la Encuesta Nacional de Nutrición, en la que el porcentaje de adecuación para proteína fue de 300 % (Mundo y col., 2009). Lo anterior concuerda además con lo publicado por López-Teros y col., en 2012b, donde se siguió un ensayo clínico aleatorizado, en el que participaron menores de 3 a 6 años de nivel socioeconómico bajo del noroeste de México. El alto consumo de proteína se debe principalmente al alto consumo de leguminosas y cereales combinados, además del consumo de alimentos de origen animal como huevo, pollo y en menor medida carne de res.

La media del consumo de energía y la distribución de macronutrientes coinciden con los reportados por Capdevila y col., 2011, en un estudio transversal en el que participaron 147 niños aparentemente sanos de 1 a 4.5 años, residentes del occidente de México, en donde compararon los componentes de energía ingeridos en preescolares mexicanos y españoles. El consumo de grasa en este grupo de menores mexicanos fue muy parecido al de nuestro estudio, con un consumo promedio de 34.9 %, situándose en el límite superior de los intervalos de macronutrientes aceptables para preescolares. Los preescolares tuvieron un consumo medio de vitamina A de 448 ER (Equivalentes de retinol). Este valor coincide con los resultados publicados para menores en edad preescolar (530 ER) (López-Teros y col., 2012b) y en escolares (López-Teros 2005) de la misma región (661 ER). Esta vitamina se encuentra en alimentos de origen animal como el huevo, hígado, vísceras y en forma de provitamina A en los vegetales de hoja verde

Tabla II. Consumo de energía y nutrientes de los preescolares.

	Consumo	RDI	Adecuación (%)
Energía (kcal)	1417 ± 416	1410	100
Proteína (g)	59.6 ± 20.1	19	>100
Carbohidratos (g)	184 ± 66.4	100	>100
Lípidos (g)	49.9 ± 31.5	-	-
Fibra (g)	13.2 ± 6.90	25	52
Vitamina A (µg/d)	448 ± 26	400	>100
Hierro (mg/d)	10.7 ± 6.08	10	>100
Zinc (mg/d)	7.65 ± 3.65	6	>100
Calcio (mg/d)	805 ± 32	1000	80

Institute of Medicine, National Academies Press, IOM (2005)

oscuro o de color naranja, entre otros (Mahan y col., 2013). Un apropiado consumo es indispensable para el buen funcionamiento del sistema inmunológico, un adecuado crecimiento y la visión de los preescolares (Ribaya-Mercado y col., 2004)

En la tabla III se puede observar el menú típico de los participantes, calculado con base en las frecuencias de consumo y cantidad promedio consumida de cada uno de los alimentos. Las porciones se calcularon con base en el Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes (Pérez y col., 2008). El alimento de mayor consumo entre los niños fue la leche entera de vaca, seguido de las tortillas de maíz o harina, huevo frito, frijoles, pechuga de pollo y limonada en polvo (zuko®). El consumo de vegetales fue bajo comparado con la recomendación, predominando el uso de zanahoria, tomate y lechuga a la hora de la comida y pepino en menor medida como colación de media tarde. Lo mismo ocurrió para las frutas, donde el consumo diario de este grupo de alimentos fue deficiente y los principales alimentos en el grupo fueron el plátano y la manzana durante la colación matutina o vespertina.

Como se menciona anteriormente, México presenta desafíos en el ámbito nutricional, este hecho se puede deber al incremento en el consumo de dietas de alta densidad energética, particularmente altas en carbohidratos refinados y grasas y a un bajo consumo de frutas y verduras, este estudio fue un claro ejemplo de esto. Se observó que los alimentos que obtuvieron mayor frecuencia de consumo entre los participantes fueron de este tipo (papas fritas, barritas, bebidas azucaradas, etc.) y que el consumo de vegetales y frutas fue muy por debajo de la recomendación, según informes de la OMS y FAO se recomienda un consumo mínimo de 400 g diarios de frutas y verduras (OMS, 2004), lo que se ha traducido a “5 al día”, estrategia que han albergado distintos países con el objetivo de comunicar a la población la recomendación de consumir al menos 5 raciones de frutas y vegetales al día (CDC, 2002). A pesar de lo anterior, el limitado número de muestra del presente estudio descriptivo permitió identificar sólo a dos menores con sobrepeso y obesidad.

Tabla III. Menú típico de los preescolares participantes

Alimentos	Gramos, mL*	Porciones
Desayuno		
Leche entera con chocolate en polvo	203*	0.8
Huevo revuelto	58	1.2
Tortilla harina /maíz	51.4	1.7
Comida		
Pechuga de pollo	70.4	2.8
Frijoles guisados	55	0.6
Zanahoria	26	0.5
Tomate	54	0.7
Limonada Zuko®	221*	1
Cena		
Papas doradas	27.4	1.5
Queso chihuahua	29.8	1.2
Tortilla harina/maíz	57	1.4
Leche entera	204*	0.8
Colación Matutina		
Néctar de manzana	200*	2.5
Plátano	106	1.3
Galletas barrita Marinela	72.7	3.5
Colación Vespertina		
Manzana	87.4	0.6
Pepino con limón	60.6	0.5
Sabritas	65	3.2

*Porciones calculadas a partir del Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes 4ª. Edición

El consumo deficiente de micronutrientes en las primeras etapas de vida puede tener consecuencias negativas en el crecimiento, desarrollo y la función cognitiva de los preescolares (Feinstein L y col., 2008; Sampedro, 2016). A pesar de los esfuerzos dirigidos hacia la promoción de hábitos alimentarios saludables, tales como el programa “5 frutas y verduras x día”, así como las políticas públicas en México para controlar la venta de alimentos de bajo valor nutritivo y alta densidad energética en escuelas, ningún niño alcanzó a cubrir el consumo de 5 frutas o verduras al día. Este hallazgo coincide con lo reportado por Valencia y col., 1998, donde el consumo de frutas y verduras se caracteriza por ser bajo en la región norte del país. Por lo anterior, se considera necesario reforzar nuevas estrategias dirigidas hacia este grupo particular de participantes, teniendo en cuenta la disponibilidad y acceso a los alimentos, ya que los hábitos que los menores adquieran a esta edad podrían ser los que los acompañen en las etapas posteriores de su vida (Denney y col., 2017; Togo-Luna y col., 2016).

Estado de Vitamina A

La concentración sérica de retinol tuvo un promedio de 1.34 ± 0.34 $\mu\text{mol/L}$. En nuestro estudio sólo se encontraron 2/22 casos de deficiencia leve de vitamina A, esto contrasta con los resultados reportados por ENSANUT 2012 (sólo como referencia general y cuidando la proporción guardada), en donde la prevalencia de DVA fue de 15.7 % en menores de 5 años (Gutiérrez y col., 2012). Para nuestro caso, es posible que el bajo número de deficiencia observada se asocie con las campañas nacionales de salud, donde los menores reciben 200,000 UI de palmitato de retinilo cada 6 meses y al elevado consumo de alimentos fortificados en la población infantil donde cerca del 50% de la VA dietaria proviene de estas fuentes (Lopez-Teros y col., 2012b). Asimismo, el nivel socioeconómico de nuestros participantes correspondía a clase media, permitiendo así el acceso a diversos alimentos. Además nuestro tamaño de muestra no representa a toda la población preescolar de Hermosillo, Sonora, abriendo la posibilidad a sesgos de selección.

Se clasificó el estado de VA en hígado de los participantes. Para esto se calculó el peso del hígado de cada uno de los sujetos, estimando el 3% de su peso corporal, y al ser

sujetos aparentemente sanos, se supuso que el 90% de la VA se encontraba en hígado. La media de la reserva hepática de retinol fue 0.13 $\mu\text{mol/g}$, indicando una reserva de VA adecuada (0.1 – 0.7 $\mu\text{mol/g}$) (Tanumihardjo y col., 2016). Sin embargo, al evaluar individualmente los resultados, encontramos que 4/22 menores presentaron reserva hepática deficientes (<0.1 $\mu\text{mol/g}$) (ver figura 6), pudiendo implicar consecuencias negativas en el crecimiento y desarrollo de los preescolares.

Al encontrar sujetos con reservas hepáticas de VA deficientes, se hizo la comparación de estos contra el indicador bioquímico más comúnmente utilizado, el retinol sérico. En la tabla IV, se muestra la reserva hepática vs las concentraciones séricas de retinol de los mismos sujetos y se observó que sólo 1 de ellos presentaba deficiencia en ambos biomarcadores (sujeto 3). Lo anterior concuerda con lo observado por varios autores, donde se menciona que el retinol sérico no es un biomarcador confiable para evaluar el estado de vitamina A (Tanumihardjo, 2011; Gibson, 2005; Haskell y col., 2005).

Cinética de Vitamina A con el modelo del “Súper-niño”

Para la construcción de la curva cinética de enriquecimiento plasmático se calculó el volumen (L) del plasma de todos los participantes y la media geométrica fue de 0.88 L. Utilizando la información anterior en conjunto con los datos de enriquecimiento sérico de [$^{13}\text{C}_{10}$]retinol, los datos se transformaron a fracción plasmática de la dosis utilizando la ecuación 6. Se obtuvo la fracción de la dosis de [$^{13}\text{C}_{10}$]retinol y el conjunto de medias geométricas (3 datos por tiempo de muestreo) se representaron en un gráfico vs el tiempo post-dosis (Figura 7). Los datos de respuesta plasmática indicaron una aparición temprana y rápida de retinol en plasma, alcanzando su pico máximo 12 horas después de la dosificación, seguido de una rápida disminución inicial posterior a las 12 horas y luego una disminución más lenta a partir del día 4.

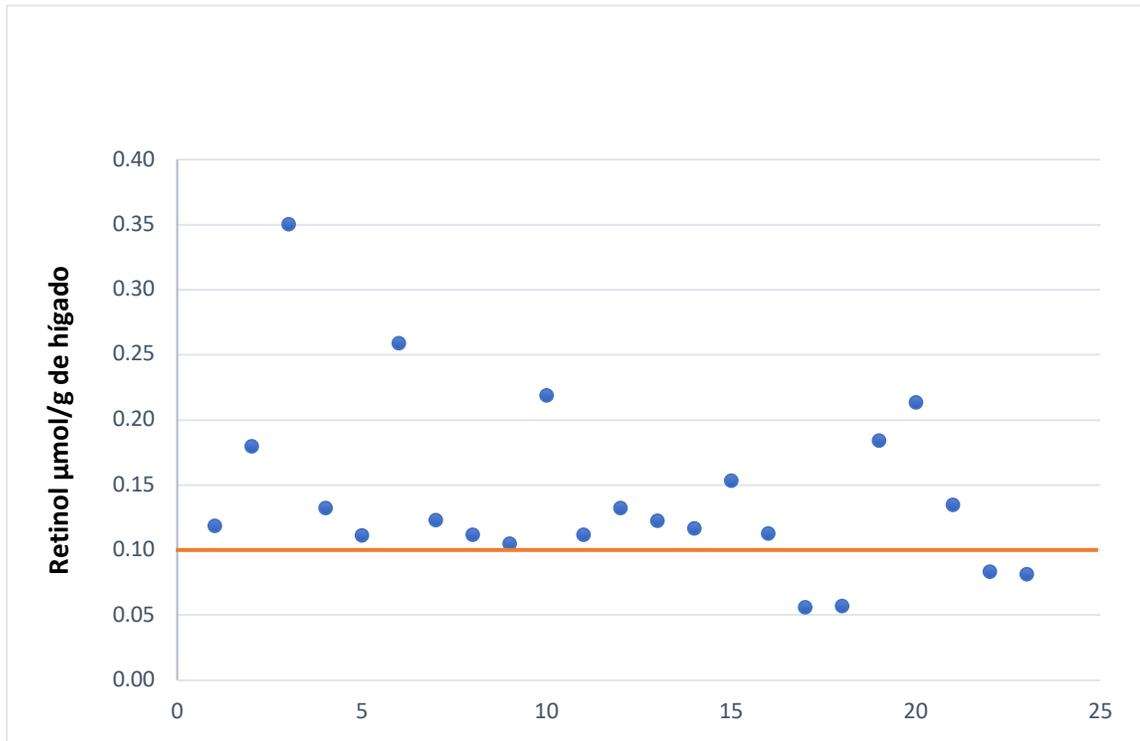


Figura 6. Estado de VA en hígado de los preescolares (La línea naranja representa el punto de corte de DVA).

Tabla IV.Reserva Hepática vs Retinol Sérico

Sujeto	Reserva Hepática ($\mu\text{mol VA/g hígado}$)	Retinol Sérico ($\mu\text{mol/L}$)
1	0.06	1.41
2	0.06	2.18
3	0.08	0.95
4	0.08	1.22

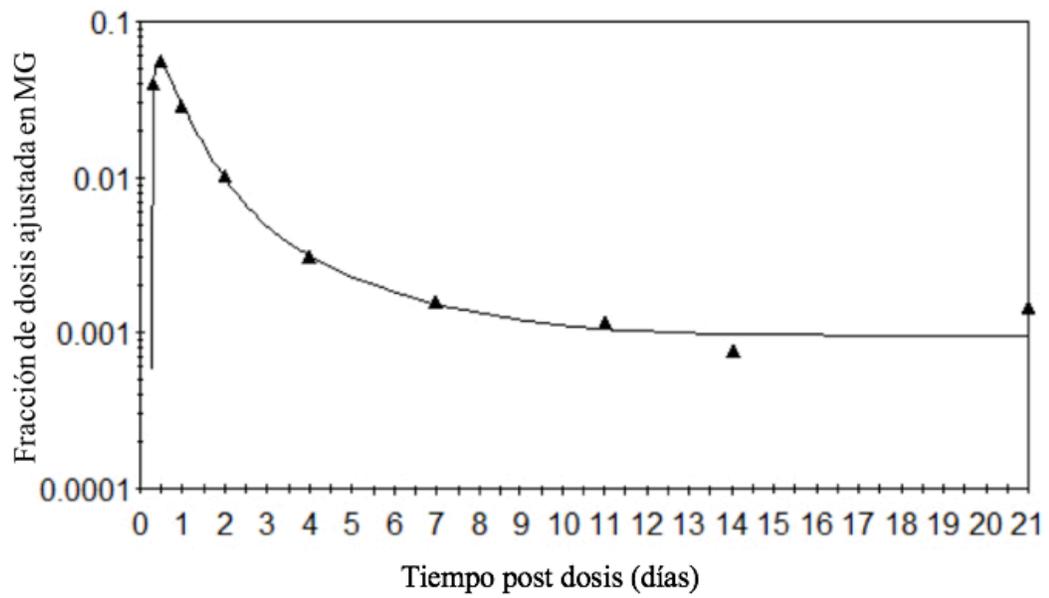


Figura 7. Fracción de la dosis vs tiempo. Los datos se muestran en medias geométricas (3 sujetos por punto).

Lo anterior representa el intercambio de retinol desde los tejidos hacia el plasma y después del día 7, los datos parecen alcanzar una pendiente terminal, representando así la tasa catabólica fraccional (ver figura 7).

Esto concuerda con lo observado por Green y col., (2016b) al trabajar con grupo de 32 adultos, de quienes se colectaron 11 muestras de sangre por sujeto (día 0 – 14). Con base en los resultados obtenidos crearon una curva de enriquecimiento plasmático y se observó que en día 7 post-dosis el trazador alcanzó la pendiente terminal.

Adicional a lo anterior, se desarrolló un modelo de 5 compartimentos para describir la cinética de la VA en niños, para lo cual se asumió un 80 % de la absorción de la dosis oral de vitamina A marcada que se administró. El modelo incluye un elemento de retardo (compartimento 1), el cual describe la digestión del retinol, absorción y metabolismo del quilomicrón. El compartimento 2 representa el metabolismo inicial de los remanentes de quilomicrones en los hepatocitos y el conjunto de retinol plasmático se encuentra en el compartimento 3. Además, se presentan 2 compartimentos de reservas extravasculares (compartimento 4 y 5), donde el compartimento 4 representa una reserva extravascular de intercambio rápido y el compartimento 5 tiene un recambio lento y representa la RCT de VA (figura 8).

La RCT de VA calculada por el modelo del “súper-niño” fue de 853 μmol . Este valor es similar al observado por Lopez-Teros y col., (2017), quienes desarrollaron un modelo de análisis multicompartamental con los datos de 15 niños de 17 a 35 meses de la misma región del presente estudio y en quienes la RCT de VA promedio fue de 823 μmol .

En la tabla V se muestran los parámetros cinéticos del modelo del “súper-niño”. Estos indican la masa contenida en el plasma (M3), en el compartimento de recambio rápido (M4) que representa tejidos como tejido grasa, riñones, células alrededor del cuerpo, así como en el compartimento lento (M5) que representa principalmente al hígado. La tasa de eliminación diaria fue de 1.35 $\mu\text{mol/d}$.

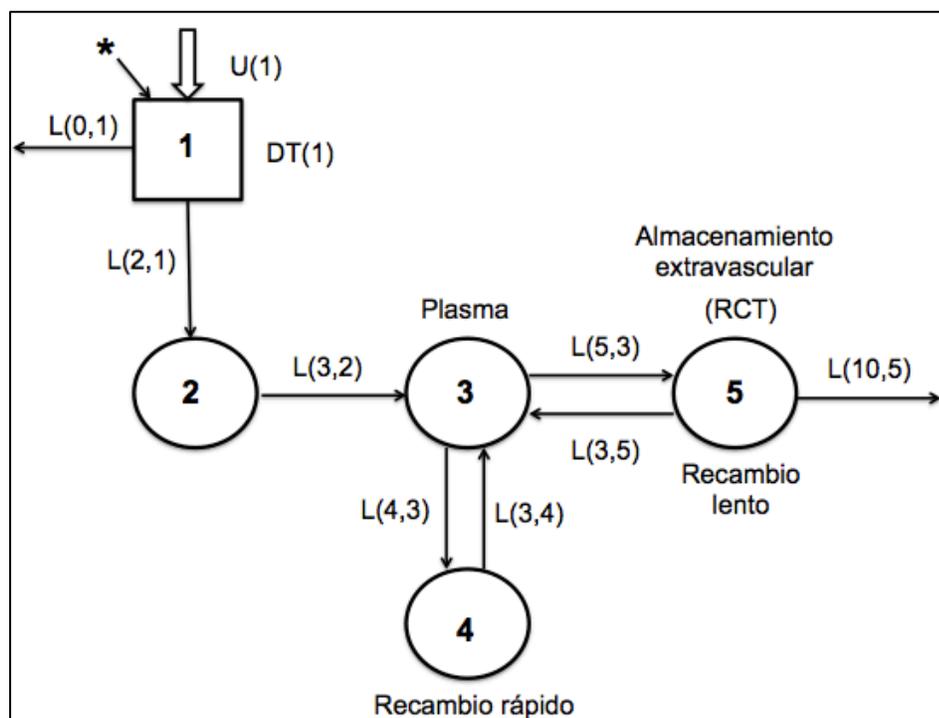


Figura 8. Modelo compartamental “súper-niño” de la cinética de retinol en niños

Los círculos representan compartimentos; el componente 1, representado en forma de rectángulo, es un elemento de retardo, corresponde a la digestión y absorción de la vitamina A, producción y metabolismo de quilomicrones. Las interconexiones entre los compartimentos $[L(I, J) s]$ son los coeficientes de transferencia fraccional o la fracción de retinol transferida al compartimento I del compartimento J cada día. El asterisco (*) representa el sitio de entrada de la dosis administrada de acetato de retinilo [$^{13}C_{10}$] y $U(1)$ representa la entrada de la VA por medio de la dieta. RCT, reserva corporal total (Lopez-Teros y col., 2017)

Tabla V. Parámetros cinéticos del modelo del “súper-niño” en preescolares

Parámetro	Valor
Masa Compartamental, μmol	
Plasma (M3)	1.15
Almacén extravascular rápido (M4)	9.58
Almacén extravascular lento (M5)	853
Tasa de eliminación, $\mu\text{mol/d}$	1.35

Para su cálculo fue necesario suponer que la entrada de VA en el sistema era igual a la ingesta dietaria (1.69 $\mu\text{mol/d}$) x la eficiencia fraccional de absorción de retinol (0.8), resultando así en la tasa de eliminación de VA.

Comparación del Método de Olson y de Green

Se calcularon las reservas corporales individuales de VA para cada sujeto utilizando el método de Green y de Olson, según la metodología descrita anteriormente. Antes de calcular la RCT de VA con la ecuación de Olson, se hicieron algunos ajustes según literatura más reciente (Gannon y col., 2015). Se corrigió el valor de un 90% para calcular las reservas de hígado, utilizando el 3% de peso corporal para el cálculo del peso de este órgano. Se utilizó un valor de 0.8 en lugar del 0.65 ya establecido para el factor S (es la relación de la actividad específica de retinol en plasma e hígado después del equilibrio de la dosis con los almacenes del cuerpo). Lo anterior debido a que durante el estudio se incluyó una dieta con bajo contenido de VA durante el período de mezcla.

La media geométrica de la RCT de VA calculada por Olson al día 4 fue de 203 μmol vs los 837 μmol calculados por la ecuación de Green (media geométrica del cálculo individualizado, no por el análisis compartamental). Se realizó una prueba t-pareada entre los resultados de los cálculos del método de Olson y de Green al día 4 post-dosis eliminando datos atípicos, y como era evidente por el promedio de los datos, ambos métodos resultaron estadísticamente diferentes para la estimación de la RCT de VA ($p < 0.0001$). Sin embargo, es necesario recordar que el uso de la ecuación de Olson en el día 3 o 4 post-dosis se sugiere solamente como protocolo parcial para la evaluación de una intervención y no para la estimación poblacional de las reservas (Haskell y col., 2005)

El análisis de Bland-Altman (figura 9) se utilizó para analizar la concordancia entre los resultados de la RCT de VA calculados por el método de Olson y Green (Bland y Altman, 1986). La pendiente dada por la relación de la media de ambos métodos con respecto a la diferencia entre ellas, mostró un sesgo. El sesgo en este caso es la intersección en la ordenada, este es el eje donde se ubican los valores de la diferencia entre los métodos, y fue de 668.7 (IC 95% ; 557, 779), lo que indica un sesgo significativo.

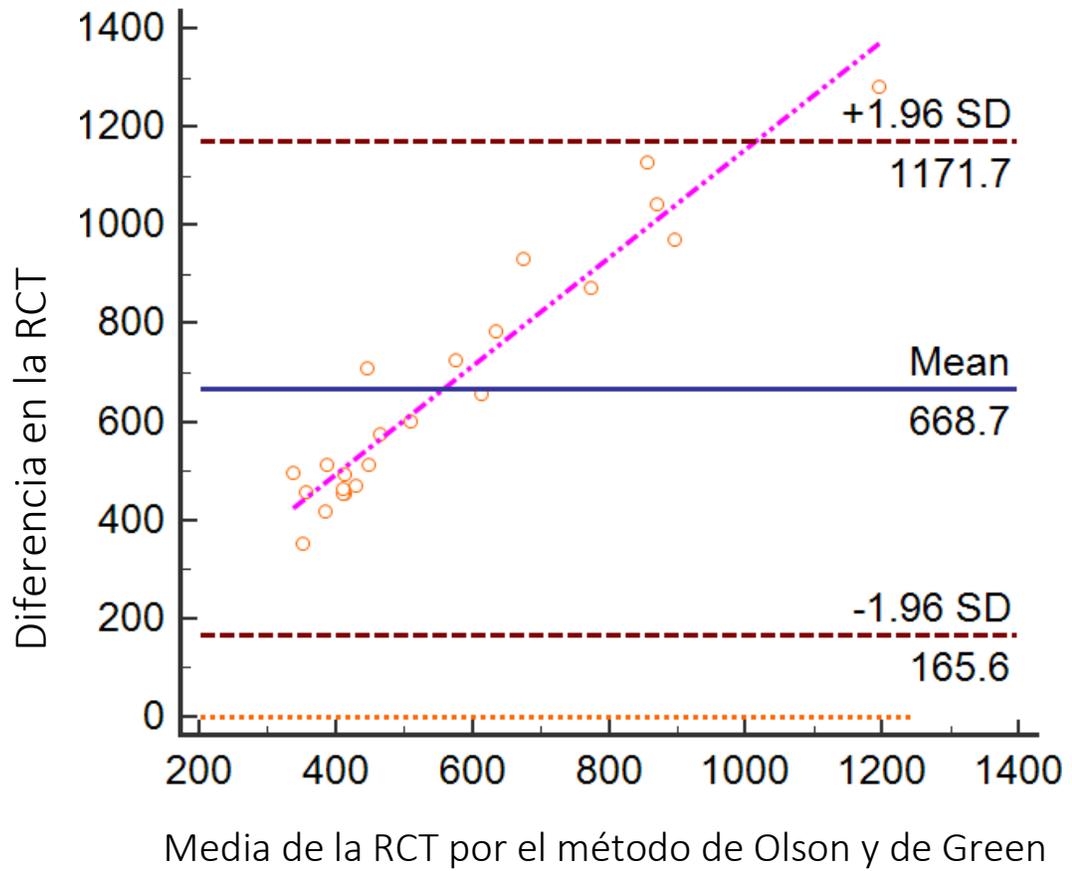


Figura 9. Análisis de Bland & Altman para el método de Olson y Green

Es posible interpretar los datos anteriores al indicar que el método de Olson tiende a subestimar considerablemente los valores de la RCT de VA de acuerdo a lo evaluado por Green, ya que solo refleja el 24% de las reservas corporales totales de VA. Esto concuerda con lo reportado en la literatura (Gannon y col., 2018), donde se menciona que la comparación de la masa total calculada por los modelos compartimentales con las ecuaciones, contra la ecuación de Olson, ésta última presenta estimaciones más bajas. Adicional a la evaluación del sesgo, se analizó el coeficiente de correlación y concordancia de Lin, el cual fue de 0.11 (figura 10) para las reservas calculadas por ambos métodos y de acuerdo con su clasificación, este valor representa un grado de concordancia muy pobre (<0.90) (Lin, 1989).

Dado que la indicación para el cálculo de la RCT de VA utilizando la ecuación de Olson es al día 14 post-dosis, y ya que en ese punto de muestreo sólo teníamos 3 niños a partir del modelo, se hizo la comparación de estos 3 niños entre el día 14 con Olson y 4 con Green (tabla VI).

Las RCT de VA muestran mayor similitud entre el día 14 con Olson y 4 con Green, con una media geométrica de 618 μmol y 681 μmol respectivamente. Olson sigue subestimando la RCT de VA y sólo representa el 87% de las reservas, de acuerdo a lo evaluado por el análisis compartimental de Green. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Green y col., 2016a, donde se discute que la ecuación de Olson es buena predictora de la RCT de VA a nivel grupal, pero carece de precisión al realizar el cálculo de forma individual, ya que no considera la variación individual de los factores F_a y S , y ésta variación disminuye con la colección de muestras en un tiempo más corto post-dosis (ej. 4 días post-dosis). Por otro lado, Ford y col., 2017 también observaron que el error en la estimación de la RCT de VA de un individuo siempre es menor si la muestra se obtiene al día 4 (en comparación al los 14-21 días post-dosis tradicionales).

Sin embargo, al evaluar la media geométrica del estado de VA en hígado (día 4 y 14 días, la reserva hepática de retinol se clasificó dentro del intervalo adecuado (0.18 y 0.11 $\mu\text{mol VA/g}$ de hígado por el método de Green y Olson, respectivamente).

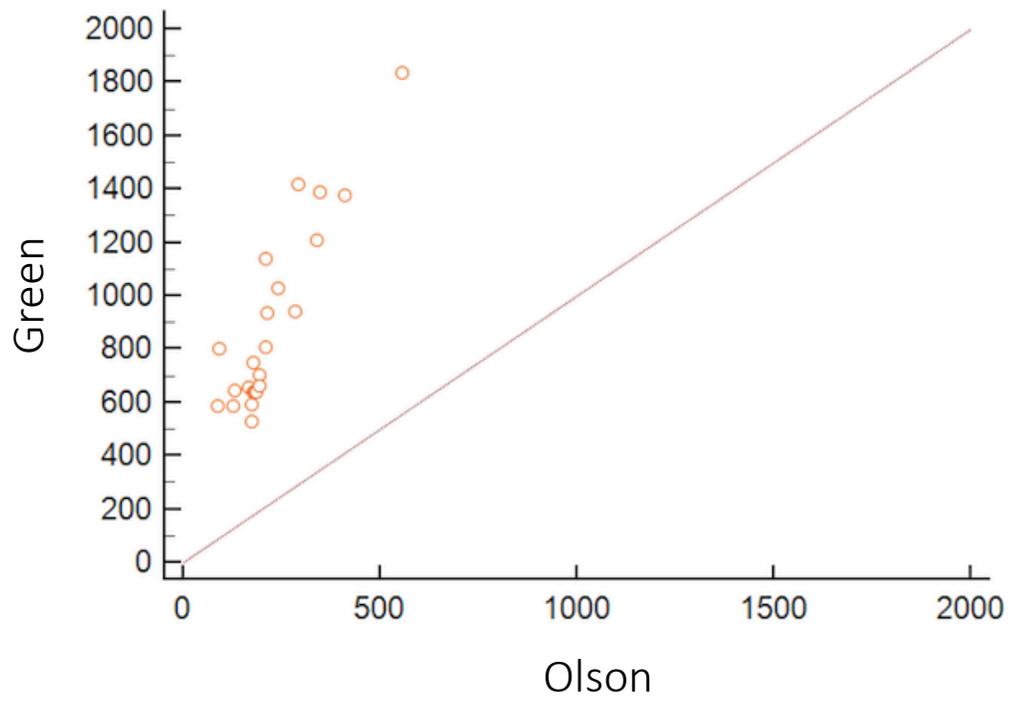


Figura 10. Coeficiente de correlación y concordancia de Lin del método Olson vs Green

Tabla VI. Comparación entre el método de Olson al día 14 y Green día 4 post-dosis

Método	RCT (μmol)	Media Geométrica (μmol)	Media Geométrica ($\mu\text{mol VA/g hígado}$)
Green día 4	638	681	0.18
	940		
	527		
Olson día 14	527	618	0.11
	775		
	578		

Contribución de la Grasa en la Estimación de la Reserva Corporal de VA

Para evaluar si los kilogramos de grasa corporal tenían alguna contribución en las estimaciones de la RCT de VA se pretendía realizar un análisis de covarianza, utilizando los kilogramos de grasa como covariable considerando las RCT de VA calculadas por el método de Olson y de Green. Sin embargo, dada la gran variabilidad de los resultados de la RCT de VA calculada por ambos métodos, este análisis fue inválido.

La dificultad para normalizar el peso corporal y la grasa con respecto al tamaño corporal y el sexo, es un problema frecuente en la investigación nutricional (Wells, 2000). Lo anterior, ya que el porcentaje de grasa es dependiente de la masa libre de grasa, por lo que al normalizar la masa grasa ajustando por la talla, se refleja una mejor proporción de adiposidad en los sujetos (Wells, 2000; Hattori y col., 1997).

Por lo anterior, en nuestros participantes se realizó un análisis de regresión lineal entre el IMG y la RCT, eliminando datos atípicos (Grubb para valores extremos), para determinar si el IMG puede ser un mejor indicador de adiposidad y las RCT de VA. El IMG se definió como la variable independiente y la RCT de VA calculadas por los dos modelos (Olson y Green al día 4 post dosis) como variables dependientes. En este se ve una tendencia positiva ($r=0.47$ $p=0.029$) en ambos métodos, sugiriendo que al evaluarse la grasa en relación al tamaño, ésta pudiese tener algún impacto en la RCT de VA (ver figura 11). Sin embargo, la tendencia es más fuerte entre el IMG y la RCT de VA calculadas por Green, con un coeficiente de regresión de 178 y de sólo 23 para Olson. Esta diferencia puede explicarse por la variabilidad existente entre la RCT de VA calculada por los diferentes métodos, ya que Olson al ser un protocolo parcial en el día 4 solo refleja el 24% de las reservas.

Lo descrito anteriormente concuerda con lo reportado por Gannon y col., (2015), donde menciona que el tejido adiposo puede ser un gran sitio de almacenamiento de VA; y de igual manera con lo mencionado en un estudio de Tanumihardjo y col., (2016), donde la autora menciona que el tejido adiposo representa un gran sitio de almacenamiento no apreciado, especialmente en individuos con niveles adecuados de VA.

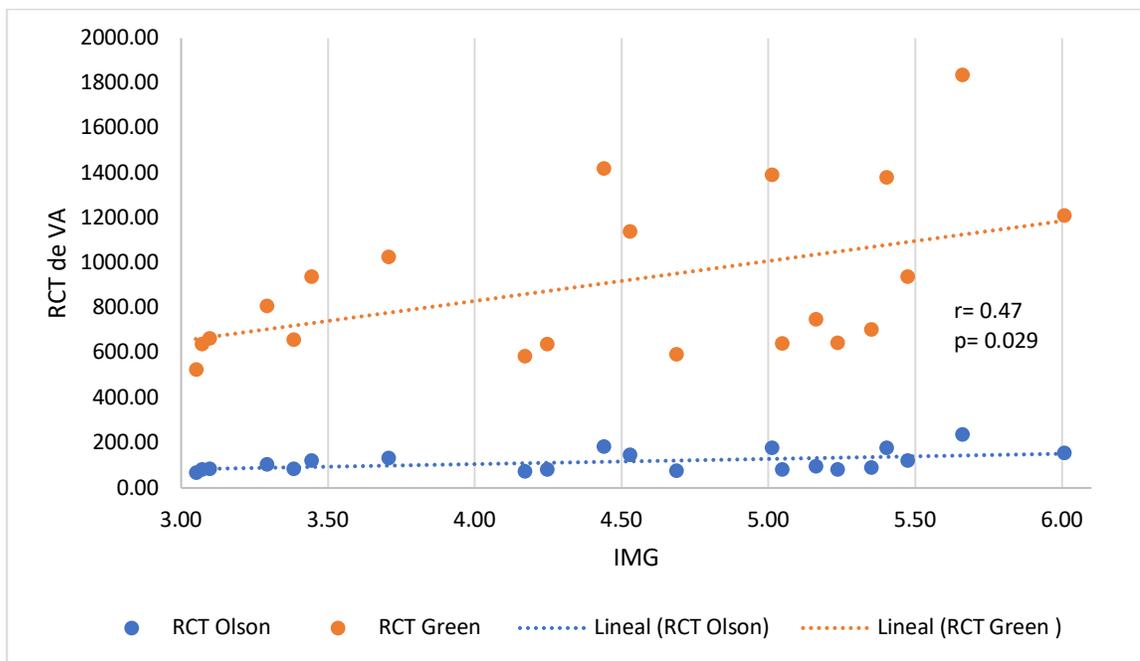


Figura 11. IMG vs RCT de VA calculada por el método de Green y Olson al día 4

En estudios de Kotnik y col., (2011) y Mills y col., (2008), evaluaron adultos y adolescentes, y el RBP sérico se correlacionó positivamente con el IMC, adiposidad visceral y resistencia a la insulina. Sugiriendo que los procesos inflamatorios de obesidad pudieran afectar las concentraciones séricas de retinol.

Por otro lado, en un estudio de casos y controles realizado en Tailandia por Viroonudomphol y col., 2003 se busco la asociación entre las medidas antropométricas, las concentraciones séricas de vitamina A y E en sujetos que presentaban sobrepeso u obesidad. Se estudiaron a un total de 72 sujetos (14 hombres y 58 mujeres) que asistían regularmente a sesiones psicológicas en el hospital Rajvithi en Bangkok. En los resultados la media de concentración de retinol sérico en pacientes obesos fue de 2.80 $\mu\text{mol/L}$ comparado con un 2.97 $\mu\text{mol/L}$ del grupo control ($p > 0.05$). Estos resultados a pesar de no ser significativo proporcionan un mayor apoyo a la noción de que las bajas concentraciones de vitaminas y antioxidantes pueden ser un factor de riesgo importante para la obesidad, sin embargo, mas estudios deben ser realizados.

Además, en un estudio de Ford y col., (2017) donde se evaluó si era necesario restringir la ingesta de VA al usar ecuaciones de dilución isotópica marcada con retinol para estimar el estado de VA de manera individual, se sugirió que existe algo de VA en tejidos extra hepáticos como el tejido adiposo. Adicionalmente, se sugiere que el intercambio de la VA a partir del tejido adiposo es limitado en comparación con la vitamina A hepática (es decir, su movilización es mas lenta) actuando como un sitio de almacén y probablemente sin contribución al mantenimiento de la homeostasis del retinol circulante. Sin embargo, se necesitan más estudios para abordar estos problemas.

CONCLUSIÓN

La dieta de los preescolares sigue siendo deficiente en el aporte de VA. Los hábitos alimentarios con altos consumos de energía, pero baja calidad en nutrimentos persisten en este grupo de edad a través de los años. Las deficiencias de micronutrientes abarcan a más de la mitad de la población, pudiendo acarrear consecuencias negativas en los niños y de persistir hasta la edad adulta se incrementa la probabilidad de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles.

Al comparar ambos métodos, la ecuación de Olson tiende a subestimar considerablemente las reservas cuando se aplica en día 4, como protocolo parcial para evaluar la RCT de VA. Además, el uso de la técnica de dilución isotópica con retinol permitió identificar individuos con deficiencia en la reserva de retinol (hambre oculta), aún cuando el estado nutricional de los participantes con base en indicadores antropométricos o bioquímicos menos específicos (retinol sérico) los clasifique con un estado de vitamina A adecuado.

La grasa como tal, en kilos no tuvo influencia sobre los resultados, sin embargo, al utilizar un mejor indicador como el IMG para evaluar la adiposidad de los menores, considerando la proporción de su tamaño, tuvo una asociación positiva y significativa en ambos métodos. Se necesitan más estudios para comprobar si esto es un factor a considerar en estudios posteriores.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, W. R., & Green, M. H. (1994). Prediction of liver vitamin A in rats by an oral isotope dilution technique. *The Journal of nutrition*, 124(8), 1265-1270.
- Ahn, J., & Koo, S. I. (1995). Intraduodenal phosphatidylcholine infusion restores the lymphatic absorption of vitamin A and oleic acid in zinc-deficient rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 6(11), 604-612.
- Astiazaran-Garcia, H., Lopez-Teros, V., Valencia, M. E., Vazquez-Ortiz, F., Sotelo-Cruz, N., & Quihui-Cota, L. (2010). Giardia lamblia infection and its implications for vitamin A liver stores in school children. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 57(3-4), 228-233.
- Bausch, J., & Rietz, P. (1977). Method for the assessment of vitamin A liver stores. *Acta vitaminologica et enzymologica*, 31(1-5), 99-112.
- Bland, J. M., & Altman, D. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The lancet*, 327(8476), 307-310.
- Brasitus TA (1983). Parasites and malabsorption. *Clin Gastroenterol* 12(2):495-510.
- Brozek, J., & Henschel, A. (1961). Techniques for measuring body composition. In *Conference on Techniques for Measuring Body Composition (1959: Natick, Mass.)*. National Academy of Sciences-National Research Council.
- Centre for Disease Control (CDC). (2002). National 5 A Day Partnership Plan 2001–2004. Atlanta (GA), USA: National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. Disponible en: <http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/5aday/>
- Cameron, N. (1978). The methods of auxological anthropometry. In *Human growth* (pp. 35-90). Springer, Boston, MA.
- Capdevila, F., Vizmanos, B., Escribano, J., Closa, R., Martínez-Lomeli, L., & Márquez-Sandoval, F. (2011). Dynamics of the components of energy intake between Spanish and Mexican preschool children: energy density and food volume in two contexts. *Nutricion hospitalaria*, 26(3).
- Cifelli, C. J., Green, J. B., & Green, M. H. (2007). Use of Model-Based Compartmental Analysis to Study Vitamin A Kinetics and Metabolism. *Vitamins & Hormones*, 75, 161-195.

- Cifelli, C. J., Green, J. B., Wang, Z., Yin, S., Russell, R. M., Tang, G., & Green, M. H. (2008). Kinetic analysis shows that vitamin A disposal rate in humans is positively correlated with vitamin A stores. *The Journal of nutrition*, *138*(5), 971-977.
- D'Ambrosio, D. N., Clugston, R. D., & Blaner, W. S. (2011). Vitamin A metabolism: an update. *Nutrients*, *3*(1), 63-103.
- Denney, L., Afeiche, M. C., Eldridge, A. L., & Villalpando-Carrión, S. (2017). Food sources of energy and nutrients in infants, toddlers, and young children from the Mexican National Health and Nutrition Survey 2012. *Nutrients*, *9*(5), 494.
- Durnin, J. V. G. A., & Rahaman, M. M. (1967). The assessment of the amount of fat in the human body from measurements of skinfold thickness. *British journal of Nutrition*, *21*(3), 681-689.
- Feinstein, L., Sabates, R., Sorhaindo, A., Rogers, I., Herrick, D., Northstone, K., & Emmett, P. (2008). Dietary patterns related to attainment in school: the importance of early eating patterns. *Journal of Epidemiology & Community Health*, *62*(8), 734-739.
- Fomon, S. J., Haschke, F., Ziegler, E. E., & Nelson, S. E. (1982). Body composition of reference children from birth to age 10 years. *The American journal of clinical nutrition*, *35*(5), 1169-1175.
- Ford, J. L., Green, J. B., & Green, M. H. (2017). Should We Restrict Vitamin A Intake, a Minor Contributor to Plasma Retinol Turnover, When Using Retinol Isotope Dilution Equations to Estimate an Individual's Vitamin A Status, or Should Vitamin A Balance Be Maintained?. *The Journal of nutrition*, *147*(8), 1483-1486.
- Furr, H. C., Amedee-Manesme, O., Clifford, A. J., Bergen 3rd, H. R., Jones, A. D., Anderson, D. P., & Olson, J. A. (1989). Vitamin A concentrations in liver determined by isotope dilution assay with tetradeuterated vitamin A and by biopsy in generally healthy adult humans. *The American journal of clinical nutrition*, *49*(4), 713-716.
- Furr, H. C., Green M. H., Haskell, M., Mokhtar, N., Nestel, P., Ribaya-Mercado, J., Tanumihardjo, S., & Wasantwisut, E. (2004). Appropriate uses of vitamin A tracer (stable isotope) methodology. Washington (DC): *ILSI Human Nutrition Institute*.
- Furr, H. C., Green, M. H., Haskell, M., Mokhtar, N., Nestel, P., Newton, S., ... & Wasantwisut, E. (2005). Stable isotope dilution techniques for assessing vitamin A status and bioefficacy of provitamin A carotenoids in humans. *Public health nutrition*, *8*(6), 596-607.

- Gannon, B. M., & Tanumihardjo, S. A. (2015). Comparisons among Equations Used for Retinol Isotope Dilution in the Assessment of Total Body Stores and Total Liver Reserves, 2. *The Journal of nutrition*, 145(5), 847-854.
- Gannon, B. M., Valentine, A. R., Davis, C. R., Howe, J. A., & Tanumihardjo, S. A. (2018). Duration of Retinol Isotope Dilution Studies with Compartmental Modeling Affects Model Complexity, Kinetic Parameters, and Calculated Vitamin A Stores in US Women. *The Journal of nutrition*, 148(8), 1387-1396.
- Gibney, M. J., Vorster, H. H., & Kok, F. J. (Eds.). (2009). *Introduction to human nutrition* (pp. 100-113). Oxford: Blackwell Science.
- Gibson, R. S. (2005). *Principles of nutritional assessment*. Oxford university press, USA.
- Gieng, S. H., Raila, J., & Rosales, F. J. (2005). Accumulation of retinol in the liver after prolonged hyporetinolemia in the vitamin A-sufficient rat. *Journal of lipid research*, 46(4), 641-649.
- Gieng, S. H., Green, M. H., Green, J. B., & Rosales, F. J. (2007). Model-based compartmental analysis indicates a reduced mobilization of hepatic vitamin A during inflammation in rats. *Journal of lipid research*, 48(4), 904-913.
- Goran, M. I., Kaskoun, M. C., Carpenter, W. H., Poehlman, E. T., Ravussin, E. R. I. C., & Fontvieille, A. M. (1993). Estimating 3 composition of young children by using bioelectrical resistance. *Journal of Applied Physiology*, 75(4), 1776-1780.
- Graham, T. E., & Kahn, B. B. (2007). Tissue-specific alterations of glucose transport and molecular mechanisms of intertissue communication in obesity and type 2 diabetes. *Hormone and metabolic research*, 39(10), 717-721.
- Green, M. H. (2014). Evaluation of the “Olson equation,” an isotope dilution method for estimating vitamin A stores. *Int J Vitam Nutr Res*, 84(Suppl 1), 9-15.
- Green, M. H., Ford, J. L., Green, J. B., Berry, P., Boddy, A. V., Oxley, A., & Lietz, G. (2016a). A Retinol Isotope Dilution Equation Predicts Both Group and Individual Total Body Vitamin A Stores in Adults Based on Data from an Early Postdosing Blood Sample–3. *The Journal of nutrition*, 146(10), 2137-2142.
- Green, M. H., Ford, J. L., Oxley, A., Green, J. B., Park, H., Berry, P., ... & Lietz, G. (2016b). Plasma Retinol Kinetics and β -Carotene Bioefficacy Are Quantified by Model-Based Compartmental Analysis in Healthy Young Adults with Low Vitamin A Stores, 2. *The Journal of nutrition*, 146(10), 2129-2136.

- Gridneva, Z., Hepworth, A. R., Ward, L. C., Lai, C. T., Hartmann, P. E., & Geddes, D. T. (2017). Determinants of body composition in breastfed infants using bioimpedance spectroscopy and ultrasound skinfolds—Methods comparison. *Pediatric research*, *81*(3), 423.
- Gropper, S. S., & Smith, J. L. (2012). *Advanced nutrition and human metabolism*. Cengage Learning.
- Gutiérrez J. P, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M, Hernández-Ávila M. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: *Instituto Nacional de Salud Pública (MX)*.
- Haskell, M. J., Handelman, G. J., Peerson, J. M., Jones, A. D., Rabbi, M. A., Awal, M. A., ... & Brown, K. H. (1997). Assessment of vitamin A status by the deuterated-retinol-dilution technique and comparison with hepatic vitamin A concentration in Bangladeshi surgical patients. *The American journal of clinical nutrition*, *66*(1), 67-74.
- Haskell, M. J., Islam, M. A., Handelman, G. J., Peerson, J. M., Jones, A. D., Wahed, M. A., ... & Brown, K. H. (1998). Plasma kinetics of an oral dose of [2H4] retinyl acetate in human subjects with estimated low or high total body stores of vitamin A. *The American journal of clinical nutrition*, *68*(1), 90-95.
- Haskell, M. J., Lembcke, J. L., Salazar, M., Green, M. H., Peerson, J. M., & Brown, K. H. (2003). Population-based plasma kinetics of an oral dose of [2H4] retinyl acetate among preschool-aged, Peruvian children. *The American journal of clinical nutrition*, *77*(3), 681-686.
- Haskell, M. J., Ribaya-Mercado, J. D., Furr, H. C., & Green, M. H. (2005). Handbook on vitamin A tracer dilution methods to assess status and evaluate intervention programs. *Washington, DC: Harvest Plus Technical Monograph*, 5.
- Hattori, K., Tatsumi, N., & Tanaka, S. (1997). Assessment of body composition by using a new chart method. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Association*, *9*(5), 573-578.
- Institute of Medicine (IOM). (2005). Dietary Reference Intakes for: Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Protein and Amino Acids (Macronutrients). *National Academy Press, Washington, DC*.
- Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2012). Resultados por entidad federativa, Sonora. Cuernavaca, México: *Instituto Nacional de Salud Pública*, 2013. Disponible en: encuestas.insp.mx

- International Atomic Energy Agency (IAEA). (2008) *Analysis of Stable Isotope Data to Estimate Vitamin A Body Stores*. Harvest Plus.
- Jang, J. T., Green, J. B., Beard, J. L., & Green, M. H. (2000). Kinetic analysis shows that iron deficiency decreases liver vitamin A mobilization in rats. *The Journal of nutrition*, 130(5), 1291-1296.
- Kotnik, P., Fischer-Posovszky, P., & Wabitsch, M. (2011). RBP4-a controversial adipokine. *European journal of endocrinology*, EJE-11.
- Kushner, R. F. D. A., Schoeller, D. A., Fjeld, C. R., & Danford, L. (1992). Is the impedance index (ht²/R) significant in predicting total body water?. *The American journal of clinical nutrition*, 56(5), 835-839.
- Lietz, G., Furr, H. C., Gannon, B. M., Green, M. H., Haskell, M., Lopez-Teros, V., ... & Van Loo-Bouwman, C. A. (2016). Current capabilities and limitations of stable isotope techniques and applied mathematical equations in determining whole-body vitamin A status. *Food and nutrition bulletin*, 37(2_suppl), S87-S103.
- Lin, K. (1989). A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics*, 255-268.
- Linderkamp O., Versmold H.T., Riegel K.P. and Betke K. (1977). Estimation and prediction of blood volum in infants and children. *European Journal of pediatrics*. 125:227-234.
- Lohman, T. G. (1984). Body composition in children and youth. *Advances in pediatric sport sciences*, 1, 29-57.
- Lopez-Teros V. Vitamin A liver stores evaluation in school age children infected with Giardia lamblia. (2005). Text in Spanish (Evaluación de la reserva hepática de vitamina A en niños de edad escolar infectados con Giardia lamblia). Hermosillo (Mexico): *Centro de Investigación en alimentación y Desarrollo, A. C.*
- Lopez-Teros, V., Quihui-Cota, L., Méndez-Estrada, R. O., Grijalva-Haro, M. I., Esparza-Romero, J., Valencia, M. E., ... & Astiazaran-Garcia, H. (2012a). Vitamin A-Fortified Milk Increases Total Body Vitamin A Stores in Mexican Preschoolers—3. *The Journal of nutrition*, 143(2), 221-226.
- López-Teros, V., Quihui-Cota, L., de los Ángeles Gutiérrez-Rivera, M., Figueroa, M. E. D., Esparza-Romero, J., Pacheco-Moreno, B. I., ... & Astiazaran-García, H. (2012b). Patrones y Componentes Alimentarios y su Asociación con Indicadores Antropométricos en Preescolares de Hermosillo, Sonora. *Biotecnia*, 14(1), 44-53.

- Lopez-Teros, V., Ford, J. L., Green, M. H., Tang, G., Grusak, M. A., Quihui-Cota, L., Astiazaran-Garcia, H. (2017). Use of a “super-child” approach to assess the vitamin A equivalence of *Moringa oleifera* leaves, develop a compartmental model for vitamin A kinetics, and estimate vitamin A total body stores in young Mexican children. *The Journal of nutrition*, 147(12), 2356-2363.
- Lukaski, H. C., Johnson, P. E., Bolonchuk, W. W., & Lykken, G. I. (1985). Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *The American journal of clinical nutrition*, 41(4), 810-817.
- Mahan, L. K., Escott-Stump, S., & Raymond, J. L. (2013). *Krause dietoterapia* (Vol. 2). Madrid: Elsevier. Terceava edición. 1351 pp.
- Mills, J. P., Furr, H. C., & Tanumihardjo, S. A. (2008). Retinol to retinol-binding protein (RBP) is low in obese adults due to elevated apo-RBP. *Experimental Biology and Medicine*, 233(10), 1255-1261.
- Mobarhan, S., Greenberg, B., Mehta, R., Friedman, H., & Barch, D. (1992). Zinc deficiency reduces hepatic cellular retinol-binding protein in rats. *International journal for vitamin and nutrition research.*, 62(2), 148-154.
- Molla, A., Islam, A., Molla, A. M., & Jahan, F. (1983). Change in serum vitamin A concentration after an oral dose in children with acute diarrhea. *The Journal of pediatrics*, 103(6), 1000-1002.
- Mundo-Rosas, V., Rodríguez-Ramírez, S., & Shamah-Levy, T. (2009). Energy and nutrient intake in Mexican children 1 to 4 years old: results from the Mexican National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Pública de México*, 51, S530-S539.
- Nalin, D., Russell, R., & Sommer, A. (1980). Vitamin A, xerophthalmia, and diarrhoea. *The Lancet*, 315(8183), 1411-1412.
- National Research Council. (1986). *Nutrient Adequacy:: Assessment Using Food Consumption Surveys*. National Academies Press.
- Neufeld, L., García-Guerra, A., Sánchez-Francia, D., Newton-Sánchez, O., Ramírez-Villalobos, M. D., & Rivera-Dommarco, J. (2002). Hemoglobin measured by Hemocue and a reference method in venous and capillary blood: a validation study. *Salud pública de México*, 44, 219-227.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2004). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. World Health Organization.

- Organization Mundial de la Salud (OMS). (2006). Multicentre Growth Reference Study Group: WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. Geneva, World Health Organization.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2009a). Prevalence of Vitamin A Deficiency in Populations at Risk 1995-2005. Geneva.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2009b) WHO child growth standards and the identification of severe acute malnutrition in infants and children. World Health Organization and Unicef.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2011a). Concentraciones en suero de retinol para establecer la prevalencia de la carencia de vitamina A a escala poblacional. Sistema de información nutricional sobre vitaminas y minerales. Ginebra, Suiza.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2011b). Concentraciones de hemoglobina para diagnosticar la anemia y evaluar su gravedad. Ginebra, Organización Mundial de la Salud. World Health Organization.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2016). Datos y cifras sobre obesidad y sobrepeso. World Health Organization
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017). Deficiencia de micronutrientes. World Health Organization.
- Ortega, M. I., Quizán, P. T., Morales, F. G. G., & Preciado, M. (1999). Cálculo de ingestión dietaria y coeficientes de adecuación a partir de: registro de 24 horas y frecuencia de consumo de alimentos. *Cuadernos de trabajo*, 1, 49.
- Oxley, A., Berry, P., Taylor, G. A., Cowell, J., Hall, M. J., Hesketh, J., ... & Boddy, A. V. (2014). An LC/MS/MS method for stable isotope dilution studies of β -carotene bioavailability, bioconversion, and vitamin A status in humans. *Journal of lipid research*, 55(2), 319-328.
- Penniston, K. L. & Tanumihardjo, S. A. (2006). The Acute and Chronic Toxic Effects of Vitamin A. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 191-201.
- Pérez-Lizaur, A. B., Palacios González, B., Castro Becerra, A. L., & Flores-Galicia, I. (2008). *Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes*. México.

- Quihui-Cota, Astiazarán-García, Valencia, Morales-Figueroa, Lopez-Mata, & Ortiz, V. (2008). Impact of *Giardia intestinalis* on vitamin A status in schoolchildren from northwest Mexico. *International journal for vitamin and nutrition research*, 78(2), 51-56.
- Reddy, V., Raghuramulu, N., Arunjyoti, M. S., & Underwood, B. (1986). Absorption of vitamin A by children with diarrhoea during treatment with oral rehydration salt solution. *Bulletin of the World Health Organization*, 64(5), 721.
- Ribaya-Mercado, J. D., Solomons, N. W., Medrano, Y., Bulux, J., Dolnikowski, G. G., Russell, R. M., & Wallace, C. B. (2004). Use of the deuterated-retinol-dilution technique to monitor the vitamin A status of Nicaraguan schoolchildren 1 y after initiation of the Nicaraguan national program of sugar fortification with vitamin A. *The American journal of clinical nutrition*, 80(5), 1291-1298.
- Rietz, P., Vuilleumier, J. P., Weber, F., & Wiss, O. (1973). Determination of the vitamin A bodypool of rats by an isotopic dilution method. *Experientia*, 29(2), 168-170.
- Rodríguez, P. N., Bermúdez, E. F., Rodríguez, G. S., Spina, M. A., Zeni, S. N., Friedman, S. M., & Exeni, R. A. (2008). Composición corporal en niños preescolares: comparación entre métodos antropométricos simples, bioimpedancia y absorciometría de doble haz de rayos X. *Archivos argentinos de pediatría*, 106(2), 102-109.
- Sampedro C. (2016). La importancia de la alimentación en el desarrollo de las funciones cognitivas del niño. Tesis de Licenciatura, *Universidad de La Roja*
- Sauberlich, H. E., Hodges, R. E., Wallace, D. L., Kolder, H., Canham, J. E., Hood, J., ... & Lowry, L. K. (1975). Vitamin A metabolism and requirements in the human studied with the use of labeled retinol. In *Vitamins & Hormones*. Vol. 32, pp. 251-275.
- Sivakumar, B., & Reddy, V. (1972). Absorption of labelled vitamin A in children during infection. *British Journal of Nutrition*, 27(2), 299-304.
- Stephensen, C. B. (2001). Vitamin A, infection, and immune function. *Annual review of nutrition*, 21(1), 167-192.
- Swinburn, B. A., Sacks, G., Hall, K. D., McPherson, K., Finegood, D. T., Moodie, M. L., & Gortmaker, S. L. (2011). The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *The Lancet*, 378(9793), 804-814.
- Tang, G., Qin, J., Hao, L. Y., Yin, S. A., & Russell, R. M. (2002). Use of a short-term isotope-dilution method for determining the vitamin A status of children. *The American journal of clinical nutrition*, 76(2), 413-418.

- Tanumihardjo, S. A. (2000). Vitamin A status assessment in rats with $^{13}\text{C}_4$ -retinyl acetate and gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry. *The Journal of nutrition*, 130(11), 2844-2849.
- Tanumihardjo, S. A., & Penniston, K. L. (2002). Simplified methodology to determine breast milk retinol concentrations. *Journal of lipid research*, 43(2), 350-355.
- Tanumihardjo, S. A. (2004). Assessing vitamin A status: past, present and future. *The Journal of nutrition*, 134(1), 290S-293S.
- Tanumihardjo, S. A. (2011). Vitamin A: biomarkers of nutrition for development-. *The American journal of clinical nutrition*, 94(2), 658S-665S.
- Tanumihardjo, S. A., Russell, R. M., Stephensen, C. B., Gannon, B. M., Craft, N. E., Haskell, M. J., ... & Raiten, D. J. (2016). Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)—Vitamin A Review-. *The Journal of nutrition*, 146(9), 1816S-1848S.
- Togo Luna, Y. D., Romero Velarde, E., Vásquez Garibay, E. M., Chávez Palencia, C., & Caro Sabido, E. (2016). Comparación del consumo de alimentos de niños que habitan una zona urbana y una rural en la población de Arandas, México. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(4), 287-293.
- Tompson F., & Subar A. (1994) Dietary Assessment Resource Manual. *J Nutr* 124(11S):2245S-2317S.
- Trumbo, P., Yates, A. A., Schlicker, S., & Poos, M. (2001). Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 101(3), 294.
- Valencia, M. E. (1998). La dieta en Sonora: canasta de consumo de alimentos. *Estudios Sociales. Revista de Investigacion del Noroeste*, 15-41.
- Valentine, A. R., Davis, C. R., & Tanumihardjo, S. A. (2013). Vitamin A isotope dilution predicts liver stores in line with long-term vitamin A intake above the current Recommended Dietary Allowance for young adult women-. *The American journal of clinical nutrition*, 98(5), 1192-1199.
- Villalpando, S., Cruz, V. D. L., Shamah-Levy, T., Rebollar, R., & Contreras-Manzano, A. (2015). Nutritional status of iron, vitamin B12, folate, retinol and anemia in children 1 to 11 years old: Results of the Ensanut 2012. *salud pública de méxico*, 57, 372-384.

- Viroonudomphol, D., Changbumrung, S., Tungtrongchitr, A., & Schelp, F. P. (2003). The relationships between anthropometric measurements, serum vitamin A and E concentrations and lipid profiles in overweight and obese subjects. *Asia Pacific J Clin Nutr*, 12(1), 73-79.
- Wells, J. C. K. (2000). A Hattori chart analysis of body mass index in infants and children. *International journal of obesity*, 24(3), 325.
- West K.P. (2002). Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *The Journal of Nutrition*, 132(9), 2857S-2866S.
- Yeum, K. J., Booth, S. L., Sadowski, J. A., Liu, C., Tang, G., Krinsky, N. I., & Russell, R. M. (1996). Human plasma carotenoid response to the ingestion of controlled diets high in fruits and vegetables. *The American journal of clinical nutrition*, 64(4), 594-602.

APÉNDICE I



CENTRO DE
INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y
DESARROLLO A.C.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he sido informado(a) del proyecto **“Comparación del enriquecimiento sanguíneo de un a dosis de vitamina A marcada con ^{13}C el día 4 y 21 post-dosis en niños de 3 a 5 años”**. Este estudio tiene como objetivo “Desarrollar una ecuación de dilución isotópica empleando ^{13}C -retinol para predecir la reserva corporal total de vitamina A grupal e individual, en niños de 3 a 5 años, a los 4 días en comparación a los 14 días post-dosis”. Dicho estudio esta aprobado por el comité de ética del Centro de investigación en alimentación y desarrollo.

También se me ha solicitado la participación de mi hijo(a) en dicho estudio, la cual consistirá en recibir por única vez una dosis de vitamina A marcada con ^{13}C . Esto con el fin de realizar un estudio sobre evaluación del enriquecimiento de ^{13}C en suero sanguíneo, proveniente de una dosis oral de vitamina A en niños de 3 a 5 años, a los 4 días en comparación a los 14 días post-dosis y estimar la reserva corporal total de dicho nutriente. A su vez, se brindará 1 g de Secnidazol en forma de tabletas, entre 7 a 10 días previos al estudio para prevenir la presencia de parásitos intestinales. También se medirá su estatura y peso, así como una serie de tres entrevistas con la finalidad de conocer su alimentación.

Con la firma de la presente carta autorizo la participación de mi hijo(a) _____ en dicho estudio en el entendido de que únicamente se realizarán las pruebas aquí descritas. También se me ha informado que los datos proporcionados por mi

hijo(a), así como sus resultados serán guardados en la mas **estricta y absoluta confidencialidad**, en ningún momento, se utilizarán ni serán proporcionados a terceras personas con fines diferentes a los especificados.

Beneficios que obtendrá mi hijo(a) al participar en el estudio:

Conocer su estado de nutrición, haciendo énfasis en sus niveles de vitamina A.

Los estudios que se realizarán serán totalmente gratuitos

Por ultimo, se me ha explicado que **la participación de mi hijo(a) en este estudio no conlleva ningún riesgo a la salud y es totalmente voluntaria pudiéndose retirar cuando desee**. A su vez, tengo derecho a recibir todas las explicaciones necesarias para comprender los procedimientos a los que será sometido(a) por parte del investigador responsable.

Firma del Padre o Tutor

Testigo 1

Testigo 2

Domicilio: _____

Teléfono: _____

APÉNDICE II

Artículo enviado a la revista Biotecnia

Diversidad dietaria y estado nutricio en menores de 3 a 6 años

Dietary diversity and nutritional status of 3 to 6 years old children

Lilian Paloma Garcia Miranda¹, Humberto Astiazaran-Garcia², Mauro E. Valencia¹, Michelle M. Haby¹, Orlando Tortoledo-Ortiz², Trinidad Quizan-Plata¹, Veronica Lopez-Teros^{1*}

¹Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Posgrado en Ciencias de la Salud (PMCS), Universidad de Sonora. Rosales y Luis Encinas s/n. C.P. 83000. Hermosillo, Sonora, México

²Departamento de Nutrición, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Hermosillo, Sonora, México

RESUMEN

México tiene un doble reto, ya que el retraso en el crecimiento y la deficiencia de micronutrientes coexisten con sobrepeso y obesidad en la misma población. Los dos son condiciones donde la dieta es un factor determinante. El objetivo de este estudio fue evaluar la diversidad dietaria y el estado nutricio en menores de 6 años, con base en indicadores dietarios, antropométricos y bioquímicos. Participaron 22 menores (3 a 6 años). Se aplicaron tres recordatorios de 24 horas seriados no consecutivos, se realizaron medidas antropométricas y se evaluó la concentración de hemoglobina y retinol sérico. Se identificaron dos menores con obesidad. Diariamente, la mayoría de los preescolares (90%) consume botanas, dulces y postres, mientras que sólo 1/3 consume frutas y verduras. El consumo promedio de energía (1417 kcal/día) fue menor a la ingesta diaria recomendada, además todos los menores presentaron una ingesta inadecuada de fibra, reflejo de un bajo consumo de frutas, verduras y leguminosas. La concentración promedio de retinol sérico fue $1.34 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ y solamente dos menores presentaron deficiencia

leve. No se observó anemia. El estado nutricional fue adecuado según indicadores antropométricos (20/22). Sin embargo, la diversidad dietaria fue limitada para frutas y verduras, fuentes de micronutrientes.

Palabras clave: *patrones dietarios, retinol sérico, hemoglobina, nutrición infantil*

ABSTRACT

Mexico faces a double burden of malnutrition, where undernutrition and micronutrient deficiencies coexist with high rates of overweight and obesity. For both of these conditions, diet is a crucial factor. The aim of this study was to evaluate dietary diversity and nutritional status of preschool-age children based on dietary, anthropometric and biochemical indicators. Twenty-two male and female children, 3 to 6 years of age participated in the study. Diet was evaluated using three non-consecutive 24h recalls. We also measured weight and height as well as hemoglobin and serum retinol levels. Obesity was identified in two subjects. Ninety percent of preschoolers consumed snacks, sweets and desserts, while only 33% consumed fruits and vegetables on a daily basis. The average energy consumption was 1417 kcal, which is less than the estimated energy requirement for this group. All children had an inadequate intake of fiber, reflecting a low consumption of fruits, vegetables and legumes. The average concentration of retinol was 1.34 ± 0.3 $\mu\text{mol/L}$ and only two children had mild deficiency, and no anemia was observed. From the perspective of growth, anthropometric indicators showed adequate nutritional status (20/22). Nevertheless, food diversity was limited especially for fruits and vegetables, sources of micronutrients.

Keywords: *dietary patterns, serum retinol, hemoglobin, nutrition in preschoolers*

INTRODUCCIÓN

Una dieta adecuada durante la infancia es un factor indispensable para un óptimo crecimiento y desarrollo. Además, en esta etapa la correcta nutrición sienta las bases para la salud futura y el desarrollo de hábitos alimentarios que los acompañarán a lo largo de su vida (Liya Denney y col., 2017; Togo-Luna y col., 2016). Los hábitos y la calidad de la alimentación de los preescolares se determinan principalmente por las opciones que brindan los padres o tutores, así como la disponibilidad de los alimentos, el ambiente económico y social. Cuando los hábitos alimentarios son inadecuados (ej. bajo consumo de frutas y verduras y alto en grasas y azúcares) (Quizán-Plata y col., 2017), se puede presentar un mayor riesgo de padecer deficiencias nutricionales o enfermedades crónicas (Togo-Luna y col., 2016). Lo anterior, podría limitar el crecimiento de los menores e incrementar el riesgo de morbilidad y mortalidad infantil (López-Teros y col., 2012; Grantham y Ani, 2001; Rivera y Sepúlveda, 2003; Pollit y col., 2000; James y col., 1997).

México enfrenta la doble carga de la malnutrición, caracterizada por la presencia de problemas asociados con la carencia de nutrientes (ej. retraso en el crecimiento y la deficiencia de micronutrientes en niños pequeños), los cuales coexisten con problemas asociados al exceso (ej. sobrepeso y obesidad), generalizados en todos los grupos de edad (Rivera y col., 2016). Según la Encuesta Nacional de Nutrición (ENSANUT, 2012), la prevalencia nacional de baja talla para la edad se redujo en la población preescolar al pasar de 26.9 % en 2006 a 13.6 % en 2012 (Gutiérrez y col., 2012). Sin embargo, en la región norte del país se observó un incremento de 1.5 puntos porcentuales (pp) en el mismo período y fue la única región donde la prevalencia de baja talla aumentó (Gutiérrez y col., 2012). Por otra parte, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en menores de cinco años ha registrado un aumento a lo largo del tiempo (de 7.8 % en 1998 a 9.7 % en 2012 (Gutiérrez y col., 2012). Además, es la región norte del país la que registró el mayor incremento, alcanzando una prevalencia de 12 % en 2012, es decir 2.3 puntos porcentuales por arriba de la media nacional (Gutiérrez y col., 2012). Adicionalmente, la deficiencia de micronutrientes en menores de 5 años, como la vitamina A (15.7 %) y el hierro (20-40 %), son dos de los principales problemas a nivel nacional, especialmente en este grupo de

edad (Villalpando y col., 2015).

Así, con base en los resultados observados en la última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de 2012, es importante evaluar las características de la dieta en la región norte del país, para conocer la ingesta de energía y nutrientes que los niños consumen y los patrones de alimentación, los cuales pueden ser un factor determinante en el desarrollo de los problemas de salud pública descritos anteriormente. El identificar las determinantes dietarias e indicadores bioquímicos como retinol y hemoglobina, puede permitir evaluar si los preescolares incluidos en este estudio presentan alguna deficiencia nutricional, así como establecer si las conductas alimentarias de los menores son saludables con el fin de hacer las recomendaciones necesarias.

La evaluación cuantitativa de las fuentes de alimentación y de indicadores bioquímicos de ingesta, puede mostrar los alimentos que contribuyen mayormente al aporte de nutrientes en la dieta y cuales son los grupos de alimentos que hace falta incluir para un adecuado aporte nutricional. Por tanto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la diversidad dietaria y el estado nutricional de menores de 3 a 6 años, de un plantel educativo de nivel socioeconómico medio en Hermosillo, Sonora, con base en indicadores dietarios, antropométricos y bioquímicos.

SUJETOS Y MÉTODOS

Sujetos de estudio

El presente proyecto se encuentra inserto en un proyecto mayor, el cual busca validar el uso de la técnica de dilución isotópica con retinol (marcado con ^{13}C , isótopo estable) para la cuantificación de la reserva corporal de vitamina A de forma grupal e individual en preescolares residentes de Hermosillo, Sonora. El protocolo cuenta con la aprobación por el comité de ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Posteriormente, se obtuvo el consentimiento de la Secretaría de Educación y Cultura, quien asignó la escuela de nivel socioeconómico medio de donde se seleccionaron los

participantes preescolares y cuya matrícula oficial era de 105 alumnos. Una vez que la directiva y la sociedad de padres de familia aceptaron, se sostuvo una reunión informativa con ellos, donde se les explicó el objetivo del proyecto. Los interesados en que sus hijos participaran firmaron una carta de consentimiento informado. El estudio contó con la participación de 24 niños (23% de la matrícula escolar) aparentemente sanos en un rango de edad de 3 a 6 años, quienes cumplieron con los criterios de participación. Sin embargo, al momento de realizar las encuestas dietarias, dos sujetos cambiaron de residencia y no pudieron ser localizados.

Diversidad dietaria

Para evaluar el consumo dietario de los preescolares, se analizó la información del consumo habitual de alimentos a partir de 3 Recordatorios de 24 horas no consecutivos, dos entre semana y uno en fin de semana, con el propósito de tener un mejor reflejo de la dieta habitual de los participantes y minimizar la variación de consumo intra e inter-individuo (Tompson y Subar, 1994).

La diversidad dietaria se analizó de acuerdo con la metodología descrita por la ENSANUT de medio camino (ENSANUT MC, 2016); para ello, se clasificaron 15 grupos de alimentos de acuerdo a sus características nutricionales: 8 se categorizaron como grupos recomendables (aceites y grasas, frutas, verduras, leguminosas, cereales, lácteos, carnes no procesadas, huevo y 7 como no-recomendables para su consumo cotidiano (alimentos procesados, carnes procesadas, azúcares, bebidas lácteas endulzadas, bebidas no-lácteas endulzadas, cereales dulces, botanas-dulces y postres). Así, fue posible evaluar el porcentaje de la dieta que correspondía a cada grupo de alimento, así como la distribución de los grupos recomendables y no-recomendables para su consumo habitual (ENSANUT MC, 2016). Se consideraron alimentos consumidos aquellos cuya ingesta fue ≥ 10 gramos. Posteriormente, se consideró como grupo de alimento de “consumo semanal recomendado”, cuando su consumo fue de al menos dos veces en la semana. Para los grupos: frutas, verduras y agua, el criterio para definir “consumo diario recomendado” fue que el grupo estuviese presente en los 3 recordatorios de de 24 horas (IOM, 2005).

Adicionalmente, se analizaron los menús típicos consumidos por los preescolares. Estos se construyeron con base en los principales aportadores de energía, empleando una combinación entre frecuencia de consumo y cantidad promedio consumida de cada uno de los alimentos presentes en los recordatorios. Con lo anterior, se obtuvo el aporte nutrimental por tiempo de comida: desayuno, comida, cena y colaciones (Sanjur y col., 1990).

Para estimar el consumo de energía y nutrimentos, así como los porcentajes de adecuación, se emplearon: el Requerimiento Estimado de Energía (IOM, 2005) y las Referencias de Ingestión Diarias (RDI), respectivamente (Trumbo y col., 2001), adicionalmente se utilizaron las tablas de composición nutrimental de la USDA y el Diccionario de alimentos elaborado por CIAD, A.C (Ortega y col., 1999). Los totales que se presentan sobre la estimación dietaria, son los valores ajustados de acuerdo a las recomendaciones del National Research Council (1986), las cuales consideran la variación intra e interindividuo.

Antropometría

Las mediciones antropométricas se realizaron por personal estandarizado, de acuerdo a las recomendaciones de Cameron (2004) para las evaluaciones en niños de edad preescolar. Posteriormente, empleando el peso, la talla y la edad de los participantes, se calcularon los puntajes *Z* de los indicadores peso para la talla (P/T), peso para la edad (P/E), talla para la edad (T/E) y el índice de masa corporal para la edad (IMC/E) utilizando el software OMS Anthro (versión 3.2.2) (OMS, 2006) para menores de 5 años y Anthro plus versión 1.0.4 (OMS, 2009) para mayores de 5 años. Los resultados se compararon contra las tablas de referencia de la OMS (OMS, 2006).

Muestra de sangre

Para evaluar la concentración de retinol y hemoglobina, se realizó una punción de la vena antecubital del antebrazo empleando el sistema Vacutainer®. A partir de la sangre total se realizó la evaluación de hemoglobina y posteriormente por centrifugación se obtuvo el

suero, el cual se congeló a -70°C hasta su evaluación por Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés).

Retinol

El análisis de retinol sérico se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Yeum y col. (1996), utilizando un sistema HPLC (Agilent Technologies, bomba modelo 1220 con detector de arreglo de diodos modelo 1260) y empleando acetato de retinilo (Sigma-Aldrich) como estándar interno. La concentración de retinol se calculó utilizando una curva de calibración a partir de un estándar externo de retinol (Sigma-Aldrich). Diariamente se empleó un pool de suero como control de calidad para evaluar la variabilidad intra e inter-análisis, la cual fue de 1% para el retinol. La concentración de retinol sérico se considera normal cuando es $\geq 1.05 \mu\text{mol/L}$, y se clasifica como deficiencia: leve ($\geq 0.7 - < 1.05 \mu\text{mol/L}$), moderada ($\geq 0.35 - < 0.7 \mu\text{mol/L}$) o severa ($< 0.35 \mu\text{mol/L}$) (West 2002).

Hemoglobina

Se evaluó la concentración de hemoglobina en sangre total utilizando el fotómetro portátil Hemocue® (Neufeld y col., 2012). La presencia de anemia se definió de acuerdo con los puntos de corte establecidos por la organización mundial de la salud, es decir $< 110 \text{ g/L}$ para menores entre 0.5–4.99 años y $< 115 \text{ g/L}$ para aquellos entre 5–11.99 años (WHO, 2008).

Análisis de datos

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo en el programa NCSS (versión 11.0.6). Para evaluar la normalidad en la distribución de los datos se utilizó la prueba Shapiro-Wilk W. La estadística descriptiva de los resultados se presenta en las tablas como medianas e intervalos de confianza del 95%. Adicionalmente, se evaluó la asociación entre la dieta y los indicadores bioquímicos (vitamina A y hemoglobina) empleando regresión lineal. Se consideró significancia estadística cuando $P < 0.05$.

RESULTADOS

Se sostuvo una reunión informativa con todos los padres de familia cuyos hijos se encontraban en el rango de edad de 3 a 5 años. La matrícula del plantel era de 105 niños, de éstos a la reunión asistieron los padres o tutores de 35 menores (33%) y respondieron favorablemente 24 (23 % de la matrícula).

La Tabla 1 muestra las características físicas y antropométricas de los menores participantes, donde la mitad de los preescolares (n=12) perteneció al sexo masculino. De acuerdo a la media de los puntajes Z de los indicadores antropométricos, los menores se encontraban dentro de los parámetros nutricionales adecuados; a excepción de 2 que presentaron obesidad.

Tabla 1. Características antropométricas de los preescolares (n=24)
Table 1. Anthropometric characteristics of the preschoolers (n=24)

	Niños (n=12)	Niñas (n=12)	<i>P</i>
Edad (años)	4.95 (4.2, 5.1)	4.99 (4.1, 5.5)	0.82
Peso (kg)	18.9 (17.2, 23)	16.23 (15.7, 20)	0.06
Talla (cm)	108 (106, 115)	106 (101, 111)	0.27
Z (P/T)	0.79 (-1.56, 1.2)	0.48 (-1.6, 1.9)	0.44
Z(P/E)	0.65 (-0.01, 1.2)	-0.11 (-1.03, 1.4)	0.21
Z(T/E)	0.12 ± 0.77	-0.03 ± 1.15	0.7
Z(IMC/E)	0.79 (0.5, 1.16)	0.46 (-1.4, 1.6)	0.31

Abreviaturas: P/E, peso para la edad; P/T, peso para la talla; T/E, talla para la edad; IMC/E, índice de masa corporal para la edad.

Medianas e IC 95%, (Prueba U Mann-Whitney)

La distribución del consumo energético a partir de los precursores, proteína, carbohidratos y grasa fue de 17, 51, y 32 %, respectivamente (Figura 1

), lo cual se encuentra dentro del intervalo adecuado y saludable de distribución de macronutrientes para este grupo etario (IOM, 2005). Adicionalmente, los límites inferiores y superiores del IC 95% quedaron englobados dentro de los límites de las recomendaciones de la RDI, 2005 (Figura 1). Asimismo, a pesar de que el consumo promedio de energía de los preescolares fue superior a la recomendación, sólo 12/22 de los menores cubrieron adecuadamente, 3/22 tuvieron consumos bajos y 7/22 mostraron consumos superiores a la recomendación (Tabla 2). En cuanto al consumo de fibra ninguno de los participantes cubrió su ingesta diaria recomendada. El consumo de micronutrientes como vitamina A fue deficiente para 10/22 de los preescolares. En el caso del hierro 11/22 de los niños no lograron cubrir su recomendación diaria. Para zinc la media de consumo estuvo por encima del valor de referencia sin exceder la recomendación de ingesta máxima (12 mg/d) (IOM 2005), no obstante, 8/22 preescolares no logró cubrir la recomendación.

Figura 1. Distribución del consumo energético por aportadores

Figure 1. Distribution of energy consumption by macronutrients

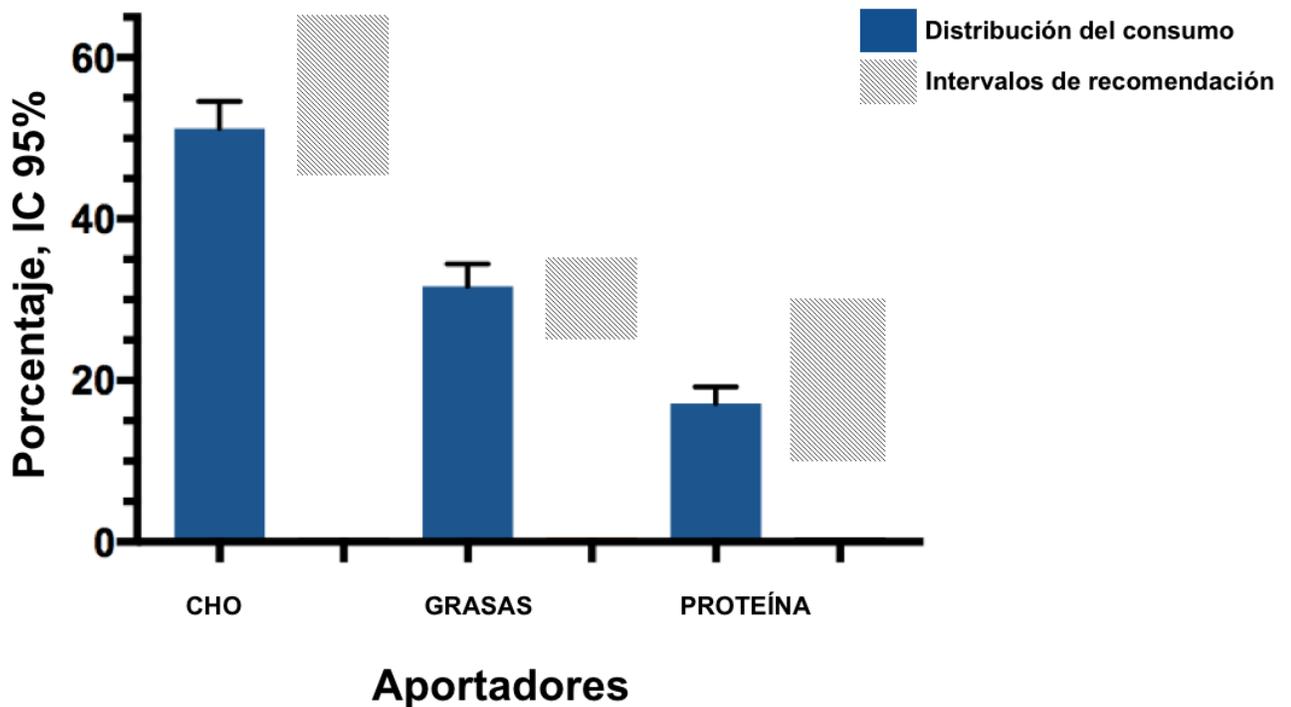


Tabla 2. Consumo de energía y nutrientes en los preescolares
 Table 2. Energy and nutrients intake in the preschoolers (n=22)

	Consumo	RDI	Adecuación (%)
Energía (kcal)	1417 ± 416	1410	100
Proteína (g)	59.6 ± 20.1	19	313
Carbohidratos (g)	184 ± 66.4	100	184
Lípidos (g)	49.9 ± 31.5	-	-
Fibra (g)	13.2 ± 6.90	25	52
Vitamina A (µg/d)	448 ± 26	400	112
Hierro (mg/d)	10.7 ± 6.08	10	107

Zinc (mg/d)	7.65 ± 3.65	6	127
Calcio (mg/d)	805 ± 32	1000	80

Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies Press, FNB-IOM (2005)

En la tabla 3 se puede observar el menú típico de los participantes, calculado con base en las frecuencias de consumo y cantidad promedio consumida de cada uno de los alimentos. Las porciones se calcularon con base en el Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes (Pérez y col., 2008). El alimento de mayor consumo entre los niños fue la leche entera de vaca, seguido de las tortillas de maíz o harina, huevo frito, frijoles, pechuga de pollo y limonada en polvo (zuko®). El consumo de vegetales fue bajo comparado con la recomendación, predominando el uso de zanahoria, tomate y lechuga a la hora de la comida y pepino en menor medida como colación de media tarde. Lo mismo ocurrió para las frutas, donde el consumo diario de este grupo de alimentos fue deficiente y los principales alimentos en el grupo fueron el plátano y la manzana durante la colación matutina o vespertina.

Tabla 3. Menú típico de los preescolares participantes
Table 3. Typical menus observed among the participant preschoolers

Alimentos	Gramos, mL*	Porciones
Desayuno		
Leche entera con chocolate en polvo	203*	0.8
Huevo revuelto	58	1.2
Tortilla harina /maíz	51.4	1.7

Comida

Pechuga de pollo	70.4	2.8
Frijoles guisados	55	0.6
Zanahoria	26	0.5
Tomate	54	0.7
Limonada Zuko®	221*	1

Cena

Papas doradas	27.4	1.5
Queso chihuahua	29.8	1.2
Tortilla harina/maíz	57	1.4
Leche entera	204*	0.8

Colación Matutina

Néctar de manzana	200*	2.5
Plátano	106	1.3
Galletas barra Marinela	72.7	3.5

Colación Vespertina

Manzana	87.4	0.6
Pepino con limón	60.6	0.5
Sabritas	65	3.2

*Porciones calculadas a partir del Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes 4ª. Edición

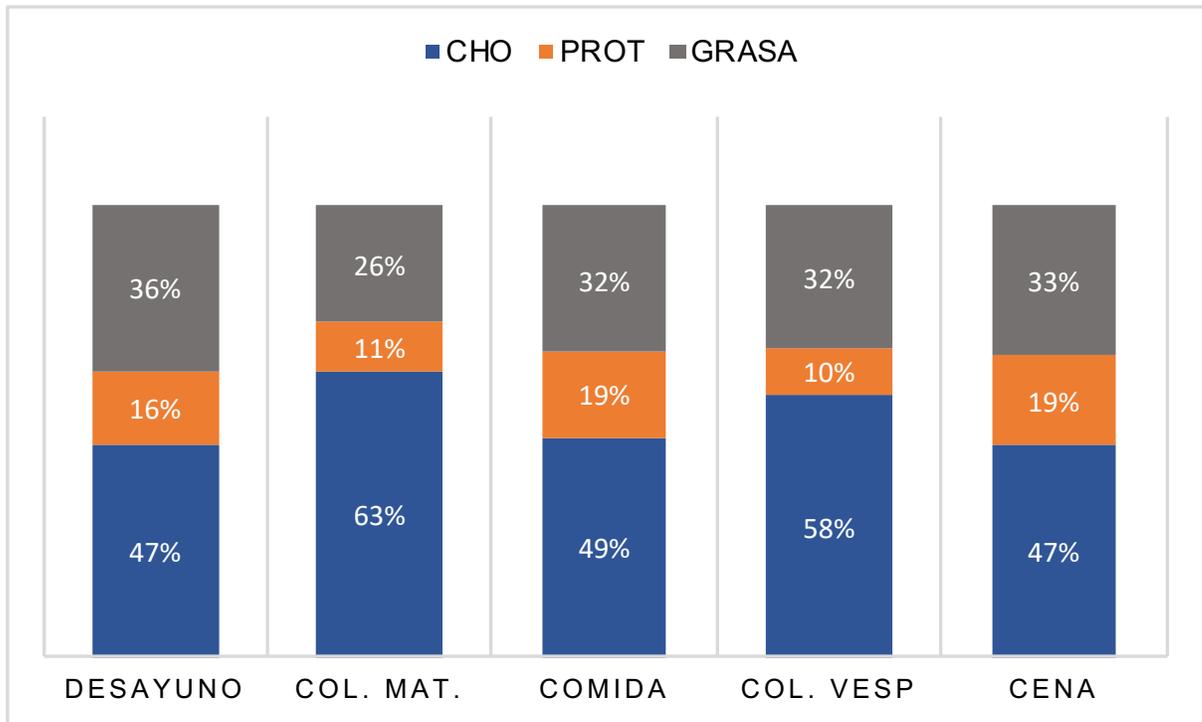
Al evaluar la diversidad dietaria según los grupos de alimentos recomendables y no-recomendables de consumo cotidiano, se encontró una media de consumo de 5.5 grupos (I.C.95%: 5.4-5.6) de alimentos recomendables y de 4.3 de grupos (I.C.95%: 4.2-4.4) no-recomendables en los participantes. El porcentaje de consumidores más elevado para alimentos no-recomendables lo obtuvieron el grupo de botanas (alimentos de bajo valor nutritivo y alta densidad energética) y dulces y postres, con el 90 % de los menores participantes consumiéndolos diariamente), bebidas no lácteas endulzadas (81 %) y en

tercer lugar el grupo de cereales endulzados (77 %). En cuanto al grupo de alimentos recomendables, todos los participantes consumieron diariamente el grupo de lácteos, principalmente leche entera. Cerca del 50% de los preescolares consumieron cereales y frutas, mientras que sólo el 36 % de los preescolares consumieron verduras. Considerando el consumo diario recomendable, solamente 11/22 preescolares incluyeron frutas diariamente en su dieta y para el caso de las verduras, solamente 8/22 de los menores consumieron este grupo de alimento diariamente.

La distribución del consumo de energía por tiempos de comida se muestra en la figura 2, donde los carbohidratos fueron el principal macronutriente aportador de energía en los distintos tiempos de comida. El siguiente macronutriente fue la grasa con un consumo superior al 25 % en los 5 tiempos de comida y finalmente, el consumo de proteína fue mayor en el tiempo comida y cena, con una distribución del 19 % para ambas.

Figura 2. Distribución de consumo de energía por tiempos de comida.

Figure 2. Distribution of energy consumption by meal times.



Abreviaturas: CHO, carbohidratos; PROT, proteína; Col. MAT, colación matutina; COL.VESP, colación vespertina.

Con respecto a la evaluación bioquímica del estado de nutrición, la concentración sérica de retinol presentó un promedio de $1.34 \pm 0.34 \mu\text{mol/L}$, solo se encontraron dos casos de deficiencia de vitamina A leve según los criterios sugeridos por West (2002), con una concentración de $0.89 \mu\text{mol/L}$ y $1.03 \mu\text{mol/L}$, respectivamente.

Por otro lado, no se encontró ningún caso de anemia en los preescolares de acuerdo a los puntos de corte establecidos por la OMS (2011). Al evaluar la asociación entre la ingesta dietaria de vitamina A y hierro con la concentración de retinol sérico o de hemoglobina, respectivamente, no se observó asociación ($P > 0.05$).

DISCUSIÓN

El estudio describe en un grupo de menores de 3 a 6 años ($n=22$) la diversidad dietaria, agrupa la ingesta dietaria en alimentos recomendables y no-recomendables de acuerdo a

la ENSANUT MC (2016), presenta los principales alimentos que componen un menú típico entre los participantes y evalúa la asociación de la ingesta dietaria con indicadores bioquímicos (retinol y hemoglobina).

Los menores en edad preescolar del estudio presentaron un consumo elevado de proteína, ya que la media del consumo fue tres veces mayor a la de la ingesta recomendada para este grupo. Esto coincide con la Encuesta Nacional de Nutrición, en la que el porcentaje de adecuación para proteína fue de 300 % (Mundo y col., 2006). Lo anterior concuerda además con lo publicado por López-Teros y col., en 2012, donde se siguió un ensayo clínico aleatorizado, en el que participaron menores de 3 a 6 años de nivel socioeconómico bajo del noroeste de México. El alto consumo de proteína se debe principalmente al alto consumo de leguminosas y cereales combinados, además del consumo de alimentos de origen animal como huevo, pollo y en menor medida carne de res.

La media del consumo de energía y la distribución de macronutrientes coinciden con los reportados por Capdevila y col., 2011, en un estudio transversal en el que participaron 147 niños aparentemente sanos de 1 a 4.5 años, residentes del occidente de México, en donde compararon los componentes de energía ingeridos en preescolares mexicanos y españoles. El consumo de grasa en este grupo de menores mexicanos fue muy parecido al de nuestro estudio, con un consumo promedio de 34.9 %, situándose en el límite superior de los intervalos de macronutrientes aceptables para preescolares.

Como se menciona anteriormente, México presenta desafíos en el ámbito nutricional, este hecho se puede deber al incremento en el consumo de dietas de alta densidad energética, particularmente altas en carbohidratos refinados y grasas y a un bajo consumo de frutas y verduras, este estudio fue un claro ejemplo de esto. Se observó que los alimentos que obtuvieron mayor frecuencia de consumo entre los participantes fueron de este tipo (papas fritas, barritas, bebidas azucaradas, etc.) y que el consumo de vegetales y frutas fue muy por debajo de la recomendación, según informes de la OMS y FAO se recomienda un consumo mínimo de 400 g diarios de frutas y verduras (OMS, 2004), lo que se ha

traducido a “5 al día”, estrategia que han albergado distintos países con el objetivo de comunicar a la población la recomendación de consumir al menos 5 raciones de frutas y vegetales al día (CDC, 2002). A pesar de lo anterior, el limitado número de muestra del presente estudio descriptivo permitió identificar sólo a dos menores con sobrepeso y obesidad.

Al estratificar la información dietaria por grupos de alimentos recomendables y grupos de alimentos no-recomendables de consumo cotidiano, se observó que más del 90 % de los preescolares consumían diariamente botanas, dulces y postres (no-recomendables). Lo anterior se refleja en el porcentaje de adecuación en el consumo de carbohidratos cercano al 200 % situación similar a lo reportado por ENSANUT Medio Camino 2016, donde el porcentaje de consumidores más elevado en el grupo de alimentos no-recomendables para su consumo cotidiano fue el de botanas, dulces y postres con un 60.1 % (ENSANUT MC, 2016).

Asimismo, el bajo consumo de frutas y verduras concuerda también con la ENSANUT Medio Camino 2016, con un porcentaje de consumidores del 40.2 % y 12.2 % para frutas y verduras respectivamente (vs 50 % para frutas y 30 % verduras de nuestro estudio), en dónde la región con menor consumo de estos grupos de alimentos fue para el norte, comparado con la región centro y Ciudad de México. Si bien nuestro estudio no realizó un muestreo representativo de la ciudad, es posible inferir que el nivel socioeconómico de los participantes les permitió un mejor acceso y disponibilidad a este grupo de alimentos, comparado con lo publicado por ENSANUT para la misma área.

Los preescolares tuvieron un consumo medio de vitamina A de 448 ER (Equivalentes de retinol). Este valor coincide con los resultados publicados para menores en edad preescolar (530 ER) (López-Teros y col., 2012) y en escolares (López-Teros y col., 2005) de la misma región (661 ER). Esta vitamina se encuentra en alimentos de origen animal como el huevo, hígado, vísceras y en forma de provitamina A en los vegetales de hoja verde oscuro o de color naranja, entre otros (Mahan y col., 2013). Un apropiado consumo es indispensable para el buen funcionamiento del sistema inmunológico, un adecuado

crecimiento y la visión de los preescolares (Ribaya-Mercado y col., 2004).

El consumo deficiente de micronutrientes en las primeras etapas de vida puede tener consecuencias negativas en el crecimiento, desarrollo y la función cognitiva de los preescolares (Feinstein L y col., 2008; Sampedro, 2016). A pesar de los esfuerzos dirigidos hacia la promoción de hábitos alimentarios saludables, tales como el programa “5 frutas y verduras x día”, así como las políticas públicas en México para controlar la venta de alimentos de bajo valor nutritivo y alta densidad energética en escuelas, ningún niño alcanzó a cubrir el consumo de 5 frutas o verduras al día. Este hallazgo coincide con lo reportado por Valencia y col., 1998, donde el consumo de frutas y verduras se caracteriza por ser bajo en la región norte del país. Por lo anterior, se considera necesario reforzar nuevas estrategias dirigidas hacia este grupo particular de participantes, teniendo en cuenta la disponibilidad y acceso a los alimentos, ya que los hábitos que los menores adquieran a esta edad podrían ser los que los acompañen en las etapas posteriores de su vida (Liya Denney y col., 2017; Togo-Luna y col., 2016).

En nuestro estudio sólo se encontraron 2/22 casos de deficiencia leve de vitamina A, esto contrasta con los resultados reportados por ENSANUT 2012 (proporción guardada), en donde la prevalencia de DVA fue de 15.7 % en menores de 5 años. Para nuestro caso, es posible que el bajo número de deficiencia observada se asocie con las campañas nacionales de salud, donde los menores reciben 200,000 UI de palmitato de retinilo. Asimismo, el nivel socioeconómico de nuestros participantes correspondía a clase media, permitiendo así el acceso a diversos alimentos.

La falta de asociación entre las concentraciones de retinol sérico, hemoglobina e ingesta dietaria puede deberse a que ambos biomarcadores reflejan cambios únicamente cuando las reservas se disminuyen de manera importante; es decir, la concentración circulante de retinol sérico se controla homeostáticamente (Tanumihardjo y col., 2016), a su vez la concentración de hemoglobina se disminuye cuando los depósitos de hierro se agotan o cuando el transporte de hierro se ve reducido (Mahan y col., 2013).

Una de las limitaciones del presente estudio fue el tamaño de muestra (asociado al estudio con isótopos estables), y que ésta no representa a toda la población preescolar de Hermosillo, Sonora, abriendo la posibilidad a sesgos de selección. Adicionalmente, a pesar de contar con múltiples encuestas dietarias (3 recordatorios de 24 horas), la variabilidad en el consumo de los nutrimentos de interés como grasa (63 %), fibra (52 %), vitamina A (59 %), hierro (57 %) y zinc (48 %) fue elevada, es decir la variabilidad intrínseca de la dieta al incluir diversos platillos muestra que no se incluye un aporte constante de los mismos.

CONCLUSIONES

Se sabe que una alimentación equilibrada es necesaria en todas las etapas de la vida, pero durante el período de crecimiento y desarrollo infantil se debe tener un mayor énfasis. Como se ha observado en distintos estudios en preescolares de la misma región, los hábitos alimentarios con altos consumos de energía, pero baja calidad en nutrimentos persisten en este grupo de edad a través de los años, en donde las deficiencias de micronutrientes abarcan a más de la mitad de la población, pudiendo acarrear consecuencias negativas en los niños y de persistir hasta la edad adulta se incrementa la probabilidad de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles. En este sentido, es imprescindible crear y vigilar estrategias de alimentación en este grupo de preescolares en particular, con el fin de crear hábitos de alimentación más saludables y corregir ingestas inadecuadas o excesivas, ya que a pesar de que en este grupo de menores solo hubo 2 casos de deficiencia de vitamina A leve y dos de obesidad, mas adelante la pubertad impone otros retos a la fisiología propia de este periodo de cambios hormonales y crecimiento acelerado.

REFERENCIAS

5 x día frutas y verduras México. (2006). *Revista chilena de nutrición*, 316-317. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182006000300016>

Cameron. (1978). The methods of auxological anthropometry. In: Falkner, F. and Tanner, J. Human Growth. Post natal growth. Plenum Press, London.

Capdevila, F., Vizmanos, B., Escribano, J., Closa, R., Martínez-Lomeli, L., & Márquez-Sandoval, F. (2011). Dynamics of the components of energy intake between Spanish and Mexican preschool children: energy density and food volume in two contexts. *Nutricion Hospitalaria*.

Centre for Disease Control (CDC). (2002). National 5 A Day Partnership Plan 2001–2004. Atlanta (GA), USA: National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. Disponible en: <http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/5aday/>

Denney, L., Afeiche, M. C., Eldridge, A. L., & Villalpando-Carrión, S. (2017). Food Sources of Energy and Nutrients in Infants, Toddlers, and Young Children from the Mexican National Health and Nutrition Survey 2012. *Nutrients*, 9(5), 494.

Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). Disponible en: <http://www.nap.edu/catalog/10490.html>

Encuesta Nacional de Salud y Nutricion de Medio Camino 2016, Informe Final de Resultados. Instituto Nacional de Salud Pública (MX). (2016). Disponible en: http://promocion.salud.gob.mx/dgps/descargas1/doctos_2016/ensanut_mc_2016-310oct.pdf

Feinstein L., Sabates R., Sorhaindo A., Rogers I., Herrick D., & Northstone K. (2008). Dietary patterns related to attainment in school: the importance of early eating patterns. *Journal of Epidemiology & Community Health*.62(8):734-739.

Grantham S y Ani C. (2001). A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. *Journal of Nutrition* 131:649S-668S.

Gutiérrez JP., Rivera-Dommarco J., Shamah-Levy T., Villalpando-Hernández S., Franco A, Cuevas-Nasu L., Romero-Martínez M., Hernández-Ávila M. (2012) Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Publica (MX).

Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados por entidad federativa, Sonora. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2013. Disponible en: encuestas.insp.mx

Institute of Medicine (IOM). (2005). Dietary Reference Intakes for: Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Protein and Amino Acids (Macronutrients). National Academy Press, Washington, DC.

Institute of Medicine (U.S.). (2005) Panel on Macronutrients. II. Institute of Medicine (U.S.). Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. QP141.D529.

James WP, Nelson M y Ralph A. (1997). Socioeconomic determinants of health. The contribution of nutrition to inequalities in health. *British Medical Journal* 314(7093):1545-1549.

Lopez-Teros V. Vitamin A liver stores evaluation in school age children infected with *Giardia lamblia*. (2005). Text in Spanish (Evaluación de la reserva hepática de vitamina A en niños de edad escolar infectados con *Giardia lamblia*). Hermosillo (Mexico): Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

López-Teros, V., Quihui-Cota, L., de los Ángeles Gutiérrez-Rivera, M., Figueroa, M. E. D., Esparza-Romero, J., Pacheco-Moreno, B. I & Astiazaran-García, H. (2012). Patrones y componentes alimentarios y su asociación con indicadores antropométricos en preescolares de Hermosillo, Sonora. *Biotecnia*, 14(1), 44-53.

López-Teros, V., Quihui-Cota, L., Méndez-Estrada, R. O., Grijalva-Haro, M. I., Esparza-Romero, J., Valencia, M. E., & Astiazaran-García, H. (2013). Vitamin A-fortified milk increases total body vitamin A stores in Mexican preschoolers. *The Journal of nutrition*, 143(2), 221-226.

Mahan, L. K., Escott-Stump, S., & Raymond, J. L. (2013). *Krause dietoterapia* (Vol. 2). Madrid: Elsevier.

Mundo-Rosas, V., Rodríguez-Ramírez, S., & Shamah-Levy, T. (2009). Energy and nutrient intake in Mexican children 1 to 4 years old: results from the Mexican National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud pública de México*, 51, S530-S539.

National Research Council (NRC). (1986). *Nutrient adequacy: Assessment using food consumption surveys*. National Academy Press, Washington, DC.

Neufeld L., García A., Sánchez D., Newton O., Ramírez MD., Rivera J. (2002). Hemoglobin measured by Hemocue and a reference method in venous and capillary blood: a validation study. *Salud Publica Mex.* 44: 219–27.

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2004). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. World Health Organization. Disponible en: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/index1.html>

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2006). Multicenter Growth Reference Study Group: WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. Geneva, World Health Organization. Disponible en: http://www.who.int/childgrowth/standards/technical_report/en/index.html

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2009). Prevalence of Vitamin A Deficiency in Populations at Risk 1995-2005. Geneva.

Organización Mundial de la Salud (OMS) (2009). WHO child growth standards and the identification of severe acute malnutrition in infants and children. World Health Organization and Unicef. Disponible en: http://www.who.int/nutrition/publications/severemalnutrition/9789241598163_eng.pdf

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2011) Concentraciones de hemoglobina para diagnosticar la anemia y evaluar su gravedad. (WHO/NMH/NHD/MNM/11.1) Disponible en: <http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglob in es.pdf>

Ortega M., Quizán P Morales G., Preciado M. (1999). Cálculo de ingestión dietaria y coeficientes de adecuación a partir de registro de 24 horas y frecuencia de consumo de alimentos. Estimación del consumo de alimentos. Hermosillo, Sonora. Cuaderno de trabajo No. 1. Serie Evaluación del Consumo de Alimentos. Centro de investigación en alimentación y desarrollo, A.C.

Peña, Y. B., Papale, J. F., Mendoza, N., Torres, M., & Castro, M. (2014). Consumo y adecuación de energía y nutrientes en preescolares de una zona rural del Estado Lara. Venezuela. In Anales Venezolanos de Nutrición (Vol. 27, No. 2).

Pérez, L.A., Palacios, G.B., Castro, B.A. (2008). Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes, 3rd ed.; Fomento de Nutrición y Salud A.C.: Ciudad de México, México.

Piernas, C., Miles, D. R., Deming, D. M., Reidy, K. C., & Popkin, B. M. (2016). Estimating usual intakes mainly affects the micronutrient distribution among infants, toddlers and pre-schoolers from the 2012 Mexican National Health and Nutrition Survey. Public health nutrition, 19(6), 1017-1026.

Pollit E., Saco C., Jahari A., Husaini M., & Huang J. (2000). Effects of an energy and micronutrient supplement on mental development and behavior under natural conditions in undernourished children in Indonesia. *European Journal of Clinical Nutrition* 54:80-90.

Quihui-Cota L., Astiazaran-García H., Valencia M., Morales-Figueroa G., López-Mata M., & Vázquez-Ortiz F. (2008). Impact of *Giardia intestinalis* on vitamin A status in schoolchildren from northwest Mexico. *Int J Vitam Nutr Res.*78:51–6.

Quizán-Plata, T., Villarreal Meneses, L., Esparza Romero, J., Bolaños Villar, A. V., & Giovanni Diaz Zavala, R. (2014). Programa educativo afecta positivamente el consumo de grasa, frutas, verduras y actividad física en escolares Mexicanos. *Nutrición Hospitalaria*, 30(3), 552-561.

Ribaya-Mercado J.D., Solomons N.W., Medrano Y., Bulux J., Dolnikowski G.G., Rusell R.M. & Wallas C.B. (2004). Use of the deuterated-retinol-dilution technique to monitor the vitamin A status of Nicaraguan schoolchildren 1 y after initiation of the Nicaraguan national program of sugar fortification with vitamin A. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 80(5):1291–1298

Rivera J., & Sepúlveda J. (2003). Conclusiones de la Encuesta Nacional de Nutrición 1999: traduciendo resultados en políticas públicas sobre nutrición. *Salud Pública de México* 45 suppl 4:1-12.

Rivera, J. A., Pedraza, L. S., Aburto, T. C., Batis, C., Sánchez-Pimienta, T. G., de Cosío, T. G., & Pedroza-Tobías, A. (2016). Overview of the dietary intakes of the Mexican population: Results from the National Health and Nutrition Survey 2012. *The Journal of nutrition*, 146(9), 1851S-1855S.

Rojas, C., Domínguez, C., Ortiz, D., & Chávez, H. (2004). Características del consumo y aporte de energía y nutrientes de una papilla a la dieta de niños de 6 a 36 meses de edad beneficiarios de un programa de complementación alimentaria. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 21(3), 118-125.

Salazar, G., Vásquez, F., Rodríguez, M. P., Andrade, A. M., Anziani, M. A., Vio, F., & Coward, W. (2015). Energy expenditure and intake comparisons in Chilean children 4-5 years attending day-care centres. *Nutrición Hospitalaria*, 32(3), 1067-1074.

Sampedro C. (2016). La importancia de la alimentación en el desarrollo de las funciones cognitivas del niño. Tesis de Licenciatura, Universidad de La Roja

Sanjur D., & Rodríguez M. (1997). Evaluación de la ingesta dietaria: Aspectos selectos en la colección y el análisis de datos. División de ciencias nutricionales. Programa de Nutrición Comunitaria. Colegio de Ecología Humana. Universidad de Cornell, New

Schwartz, C., Scholtens, P. A., Lalanne, A., Weenen, H., & Nicklaus, S. (2011). Development of healthy eating habits early in life. Review of recent evidence and selected guidelines. *Appetite*, 57(3), 796-807.

Tanumihardjo, SA., Rusell, RM., Stephensen, CB., Gannon, BM., Craft, NE., Haskell, MJ., Lietz, G., Schulze, K., & Raiten, DJ. (2016). Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)-Vitamin A Review. *The Journal of Nutrition*. 146(9):1816-48

Togo-Luna Y., Romero-Velarde E., Vásquez-Garibay EM., Palencia C., & Sabido EC (2016). Comparación del consumo de alimentos de niños que habitan una zona urbana y una rural en la población de Arandas, México. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(4).

Tompson F., & Subar A. (1994) *Dietary Assessment Resource Manual*. *J Nutr*124(11S):2245S-2317S.

Trumbo, P., Yates, A. A., Schlicker, S., & Poos, M. (2001). Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. *Journal of the American Dietetic Association*, 101(3), 294-301.

Valencia ME., Hoyos LC., Ballesteros MN., Ortega MI., Palacios MR., & Atondo JL. (1998). La dieta en Sonora: canasta de consumo de alimentos. *Estudios Sociales VIII* (15):11-39.

Villalpando S., de la Cruz V., Shamah T., Rebollar R., & Contreras-Manzano. (2015) A. Nutritional status of iron, vitamin B12, folate, retinol and anemia in children 1 to 11 years old. Results of the ENSANUT 2012. *Salud. Publ. Mex.* 57, 372-384

Villaseñor E., Vásquez-Garibay E., Romero-Velarde E., Kumazawa M., Villalpando S., & Vélez-Gómez E. (2009). Estado nutricional de vitamina A en preescolares con padecimientos oculares. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59(3), 266.

West K.P. (2002). Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *The Journal of Nutrition*, 132(9), 2857S-2866S.

Yeum, K.J., Booth, S., Sadowski, J., Liu, C., Tang, G., Krinski, N., Russell, R. (1996). Human plasma carotenoid response to the ingestion of controlled diets high in fruits and vegetables. *Am. J. Clin. Nutr.* 64, 594-602