



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN DIFERENCIACIÓN
CELULAR Y CÁNCER

LABORATORIO DE HEMATOPOYESIS Y LEUCEMIA

Movilización de células progenitoras
hematopoyéticas por extractos de
Sechium P. Browne.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA

DELGADO BORDONAVE ANGEL DE JESUS

DIRECTOR DE TESIS: DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO

Ciudad de México, Diciembre 2016.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
PRESENTE.**

Comunico a usted que el alumno **DELGADO BORDONAVE ANGEL DE JESUS**, con número de cuenta **307179702**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **07 de diciembre de 2016** a las **17:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

- PRESIDENTE** Dra. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN
- VOCAL** Dr. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO
- SECRETARIO** M. en C. LUIS SÁNCHEZ SÁNCHEZ
- SUPLENTE** M. en C. ITZEN AGUIÑIGA SÁNCHEZ
- SUPLENTE** M. en C. ANA ROCÍO RIVERA MARTÍNEZ

El título de la tesis que presenta es: **Movilización de células progenitoras hematopoyéticas por extractos de *Sechium P. Browne.***

Opción de titulación: Tesis.

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
 Ciudad de México, a 22 de noviembre de 2016

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
DIRECTOR

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
 ZARAGOZA
 DIRECCIÓN
 VO. BO.
 M. en C. ARMANDO CERVANTES SANDOVAL
 JEFE DE CARRERA

RECIBÍ
 OFICINA DE EXÁMENES
 PROFESIONALES Y DE GRADO

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Hematopoyesis y Leucemia (LHyL), de la Unidad de Investigación en Diferenciación Celular y Cáncer (UIDCC), en la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ), de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. Con el apoyo financiero del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) con clave: IN220814, el Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México A.C. (GISEM) y el Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos y la Secretaría de Agricultura y Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA-SINAREFI) y beca de estudiante del proyecto PAPIIT IN220814.

La presente investigación se realizó bajo la dirección del Dr. Edelmiro Santiago Osorio y la M. en C. Itzen Aguiñiga Sánchez, con la colaboración del grupo GISEM, y especial agradecimiento al Dr. Jorge Cadena Iñiguez.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Edelmiro Santiago Osorio por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo, brindarme su apoyo, paciencia, confianza y guiar este trabajo de tesis.

A la M. en C. Itzen Aguiñiga Sánchez por brindarme su amistad, confianza, paciencia y sobre todo el apoyo brindado en la parte experimental.

A la M. en C. Rocío Rivera Martínez por su amistad, confianza y paciencia durante mis primeros pasos en el laboratorio.

Al Dr. Edgar Ledesma Martínez por sus sabios consejos, valioso conocimiento.

A todos los miembros del Laboratorio de Hematopoyesis y Leucemia, el M. en C. Luis Antonio Martínez Jiménez, a la Bióloga Guadalupe Gómez García y a la P. en B. Marbelly Campos Avilés, gracias por el valioso apoyo brindado, paciencia y amistad.

A los miembros del jurado

Dra. María Esther Cruz Beltrán

Dr. Edelmiro Santiago Osorio

M. en C. Luis Sánchez Sánchez

M. en C. Itzen Aguiñiga Sánchez

M. en C. Rocío Rivera Martínez

Por su tiempo, paciencia y valiosas aportaciones que enriquecieron este trabajo.

Al bioterio de la FES Zaragoza UNAM, por el apoyo brindado, con el suministro de animales para la realización de este trabajo, en especial a la M.V.Z. Adriana Altamirano Bautista y al M.V.Z Román...

DEDICATORIAS

A mi mamá Aracely, por todo lo que representa la mujer más importante en mi vida, la agradezco todo el tiempo que ha dedicado hasta el día de hoy en mi formación como persona, gracias a ti he conseguido este y muchos otros logros, siempre me enseñaste a no conformarme y a soñar con ser el mejor, no tengo palabras para explicarte lo mucho que te quiero, este gran paso en la vida es más tuyo que mío, gracias por todo lo que me has enseñado.

A mi papá Francisco, un gran hombre de quien me siento orgulloso, que siempre me ha apoyado en los momentos más complicados, que me ha inculcado el respeto por otras personas, pero sobre todo la unión de nuestra familia, me ha apoyado para conquistar este logro, gracias.

A mi hermano Francisco, mi cuñada Selene y mis dos pequeños angelitos Paquito y Xime, confidentes desde hace mucho tiempo, hemos pasado un sinfín de momentos juntos, les agradezco su comprensión y apoyo, gracias por escucharme, comprenderme y sobre todo por ser un motor de superación en la vida, este logro también es suyo, gracias por su cariño.

A mis hermanos de la prepa, que me han apoyado incondicionalmente desde hace ya más de 10 años, gracias por todo lo que para mí representan, más que un equipo PSV son mi segunda familia (coco, champi, gonzo, kali, aldor, chiki, mike, casaos, gut, bimbo, moto, bubu, kike, wero, pollo, papa) ustedes siempre han estado en los malos pero sobre todo en los buenos momentos de mi vida y esta no es la excepción, porque amigos como ustedes pocos, gracias por estar a mi lado.

A mis hermanos de lucha, no menos importantes y claro también incondicionales, con los que he compartido viajes, competencias, entrenamientos, quienes me han hecho crecer como deportista y como persona desde hace más de 6 años en la facultad, les agradezco infinitamente todo su apoyo y confianza, juntos hemos portado con orgullo y gran responsabilidad el nombre de la nuestra Facultad y de la Universidad dentro y fuera del país.

A mi entrenador Fausto García, muchas gracias por estos 6 años de aprendizajes, vivencias, confianza, pero sobre todo amistad, he crecido como deportista y persona a su lado, no tengo como agradecerle, gracias a usted y al Maestro Cosme, hemos dado grandes pasos para poner en lo más alto a nuestra facultad.

A Elizabeth muchas gracias por tu apoyo y confianza en estos últimos meses, eres una persona muy importante y has sido partícipe de mis logros más recientes, gracias por todo.

A mis pequeños punitas, que me han enseñado el arte de la paciencia y dedicación.

En general a toda mi FAMILIA, a quienes jamás encontraré la forma de agradecer el cariño, comprensión y apoyo brindados en las derrotas y logros obtenidos, haciendo de este un triunfo más suyo que mío, por la forma en que lo hemos compartido y solo espero comprendan que mis ideales, esfuerzos y logros han sido también suyos e inspirados en ustedes, con agradecimiento y respeto, Angel.

Me enorgullezco de mi deporte, y me enorgullezco de mis logros académicos. Es un estilo de vida que elegí, y es lo que trato de aplicar en todos los aspectos de mi vida. David Taylor

Una vez que haz luchado todo en la vida es fácil. Dan Gable

¿Si no vas por todo a que vas?

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
	Hematopoyesis	1
1.1	Células hematopoyéticas.....	1
1.2	Microambiente hematopoyético	5
1.3	Citocinas	6
1.4	Nicho hematopoyético	8
1.5	Movilización de células progenitoras hematopoyéticas.....	10
1.6	Movilización inducida	11
1.7	Las plantas como fuentes de principio activos.....	12
1.8	Género <i>Sechium</i>	13
1.9	Extractos vegetales e inducción a la diferenciación de células progenitoras hematopoyéticas.....	15
2	PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA	18
3	JUSTIFICACIÓN	19
4	HIPÓTESIS	20
5	OBJETIVOS	21
6	MÉTODO	22
6.1	Preparación del extracto.....	22
6.2	Manejo de animales	22
6.3	Tratamiento	22
6.4	Obtención de células monucleadas de sangre periférica y médula ósea.....	23
6.5	Evaluación del número celular.....	23
6.6	Ensayo de unidades formadoras de colonias.....	24
6.7	Determinación del índice esplénico y tímico	24
6.8	Hemograma.....	24
6.9	Manejo de datos	25
7	RESULTADOS	26
7.1	La inoculación de los extractos de <i>Sechium</i> aumenta el número de células mononucleadas en sangre periférica de ratones sanos	26
7.2	La inoculación de los extractos de <i>Sechium</i> aumenta el número de células progenitoras en sangre periférica	28
7.3	La inoculación de los extractos de <i>Sechium</i> no alteran el número de células mononucleadas en la médula ósea de ratones sanos	37
7.4	Los extractos de <i>Sechium</i> no afectan los valores hematológicos en sangre periférica.....	43
7.5	Los extractos de <i>Sechium</i> no causan alteraciones morfométricas en órganos como bazo y timo.....	53
8	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	55
9	CONCLUSIONES	60
10	PERSPECTIVAS	61
11	BIBLIOGRAFÍA	62
12	ANEXOS	78

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figuras

- Figura 1. Jerarquía de las células hematopoyéticas.
- Figura 2. Efecto del extracto de H387 07[®] aumenta el número de CMN en SP.
- Figura 3. Efecto del extracto de vicis[®] aumenta el número de CMN en SP.
- Figura 4a. H387 07[®] tiene el potencial de formar colonias.
- Figura 4b. H387 07[®] tiene el potencial de formar colonias.
- Figura 5a. vicis[®] tiene el potencial de formar colonias.
- Figura 5b. vicis[®] tiene el potencial de formar colonias.
- Figura 6. H387 07[®] aumenta el número de progenitores en sangre periférica.
- Figura 7. vicis[®] aumenta el número de progenitores en sangre periférica.
- Figura 8. H387 07[®] aumenta el número de progenitores de diferentes linajes hematopoyéticos en sangre periférica.
- Figura 9. vicis[®] aumenta el número de progenitores de diferentes linajes hematopoyéticos en sangre periférica.
- Figura 10. H387 07[®] no altera el número de CMN en MO.
- Figura 11. vicis[®] no altera el número de CMN en MO.
- Figura 12. H387 07[®] aumenta el número de progenitores en MO.
- Figura 13. vicis[®] aumenta el número de progenitores en MO.
- Figura 14. H387 07[®] promueve el aumento de distintos linajes hematopoyéticos.
- Figura 15. vicis[®] promueve el aumento de distintos linajes hematopoyéticos.
- Figura 16. H387 07[®] no altera el conteo de glóbulos blancos.
- Figura 17. vicis[®] no altera el conteo de glóbulos blancos.
- Figura 18. H387 07[®] no altera el conteo diferencial de leucocitos.
- Figura 19. vicis[®] no altera el conteo diferencial de leucocitos.
- Figura 20. H387 07[®] no altera el conteo de glóbulos rojos.
- Figura 21. vicis[®] no altera el conteo de glóbulos rojos.

Tablas

- Tabla 1. Parámetros hematológicos de sangre periférica de ratones tratados con el extracto H387 07[®].
- Tabla 2. Parámetros hematológicos de sangre periférica de ratones tratados con el extracto H387 07[®].
- Tabla 3. Parámetros hematológicos de sangre periférica de ratones tratados con el extracto vicis[®].
- Tabla 4. Parámetros hematológicos de sangre periférica de ratones tratados con el extracto vicis[®].
- Tabla 5. Índice esplénico y tímico de ratones tratados con H387 07[®].
- Tabla 6. Índice esplénico y tímico de ratones tratados con vicis[®].

ABREVIATURAS

Ang-1 Angiopoyetina 1

Ara-c Citarabina

ATRA Ácido todo transretinoico*

BFU-E Unidad Formadora de brotes de eritrocitos*

BFU-Mk Unidad formadora de brotes de megacariocitos*

CasNa Caseinato de sodio

CFU unidades formadoras de colonias*

CFU-E Unidad formadora de colonias eritroides*

CFU-G Unidad formadora de colonias de granulocitos*

CFU-GM Unidad formadora de colonias de granulocito-macrófago*

CFU-GEMM Unidad formadora de colonias de granulocito-eritroide-monocitos-megacariocitos*

CFU-Meg Unidad formadora de megacariocitos*

CLP Progenitores linfoides comunes*

CMN Células mononucleadas

CMP Progenitores mieloides comunes*

CSF Factores estimuladores de colonias*

CXCR4 Receptor CXC-4*

Epo Eritropoyetina

FDA Agencia de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos*

FLT3 Ligando de tirosina quinasa*

G-CSF Factor estimulador de colonias de granulocitos*

GM-CSF Factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos*

HPC Células progenitoras hematopoyéticas*

HSC Células troncales hematopoyéticas*

ABREVIATURAS

IMDM Medio de Dulbecco modificado de Iscove*

IL Interleucina

LSK Inmunofenotipo Lin⁻, Sca-1⁺ y c-Kit⁺ *

LT-HSC Células troncales hematopoyéticas de largo plazo*

M-CSF Factor estimulador de macrófagos*

MEC Matriz extracelular

MO Médula ósea

MPP Progenitores multipotentes*

NK Células asesinas naturales*

PBS Solución amortiguadora de fosfatos*

Pro-B Progenitores de linfocitos B*

Pro-DC Progenitores de células dendríticas*

Pro-NK Progenitores de células asesinas naturales*

Pro-T Progenitores de linfocitos T*

SCF Factor estimulador de células troncales*

rmSCF Factor de células troncales recombinante de ratón*

SDF-1 Factor derivado del estroma*

SFB Suero fetal Bovino

SP Sangre periférica

ST-HSC Células troncales hematopoyéticas de corto plazo*

TGF-β Factor de crecimiento transformante beta*

TNF-α Factor de necrosis tumoral alfa*

Tpo trombopoyetina

*por sus siglas en ingles

RESUMEN

En años recientes se ha mostrado que la hematopoyesis puede ser regulada por biomoléculas de origen natural diferentes a las citocinas. En la medicina tradicional *Sechium* P. Browne, particularmente *Sechium edule* es considerada una especie utilizada como alimento y con múltiples beneficios para curar diversas enfermedades, a partir de esta especie se ha generado un híbrido H387 07[®] proveniente de la cruce entre grupos varietales. En el presente trabajo se muestra que la inoculación los extractos crudos de *Sechium edule* grupo varietal *nigrum spinosum* (vici[®]) o el híbrido H387 07[®], aumentan el número de células hematopoyéticas progenitoras proliferantes en sangre periférica. Los datos indican que el extracto de vici[®] incrementa los progenitores del linaje de macrófagos y granulocitos-macrófagos, por otra parte, el extracto del híbrido H387 07[®] lo hace hacia el linaje de granulocitos, macrófagos y granulocitos-macrófagos. Por lo anterior en un futuro cabe la posibilidad de emplear estas alternativas naturales como reguladores y posibles movilizadores hematopoyéticos en terapias de pacientes mielosuprimidos.

1. INTRODUCCIÓN

Hematopoyesis

1.1 Células hematopoyéticas

A diario se producen células sanguíneas maduras a un ritmo de más de 1 millón por segundo en el ser humano adulto, esenciales para llevar a cabo cientos de funciones relacionadas con mantener la homeostasis dentro del organismo, presentes en el torrente sanguíneo, como los eritrocitos que transportan oxígeno, las plaquetas intervienen en el proceso de coagulación sanguínea, mientras que los granulocitos, monocitos y linfocitos participan en la defensa inmune contra agentes patógenos (Bellantuono, 2004). A pesar de que existen diferencias funcionales entre las células de la sangre, las evidencias sugieren que todas las células sanguíneas provienen de un único tipo de células, las células troncales/progenitoras hematopoyéticas (HSC/HPC, por sus siglas en inglés *Hematopoietic Stem/Progenitor Cells*), lo que implica la producción y diferenciación de células sanguíneas provenientes de las HSC/HPC, un proceso biológico denominado colectivamente como hematopoyesis (Orkin & Zon, 2008; Mikkola & Orkin, 2006). Este proceso se lleva a cabo únicamente en órganos hematopoyéticos (Yin & Li, 2006), se inicia desde la embriogénesis en el saco vitelino, hígado, bazo y continúa en la vida adulta en la médula ósea (Zambrano *et al.*, 1999). Durante la etapa adulta del individuo y por consecuencia del incremento en el número de células adiposas en ciertas regiones de la médula, este fenómeno se limita solo a la epífisis de los huesos largos (fémur y húmero), así como en los huesos pélvicos, columna vertebral, cráneo y esternón (Hughes *et al.*, 1991; Bellantuono, 2004).

Cascada hematopoyética

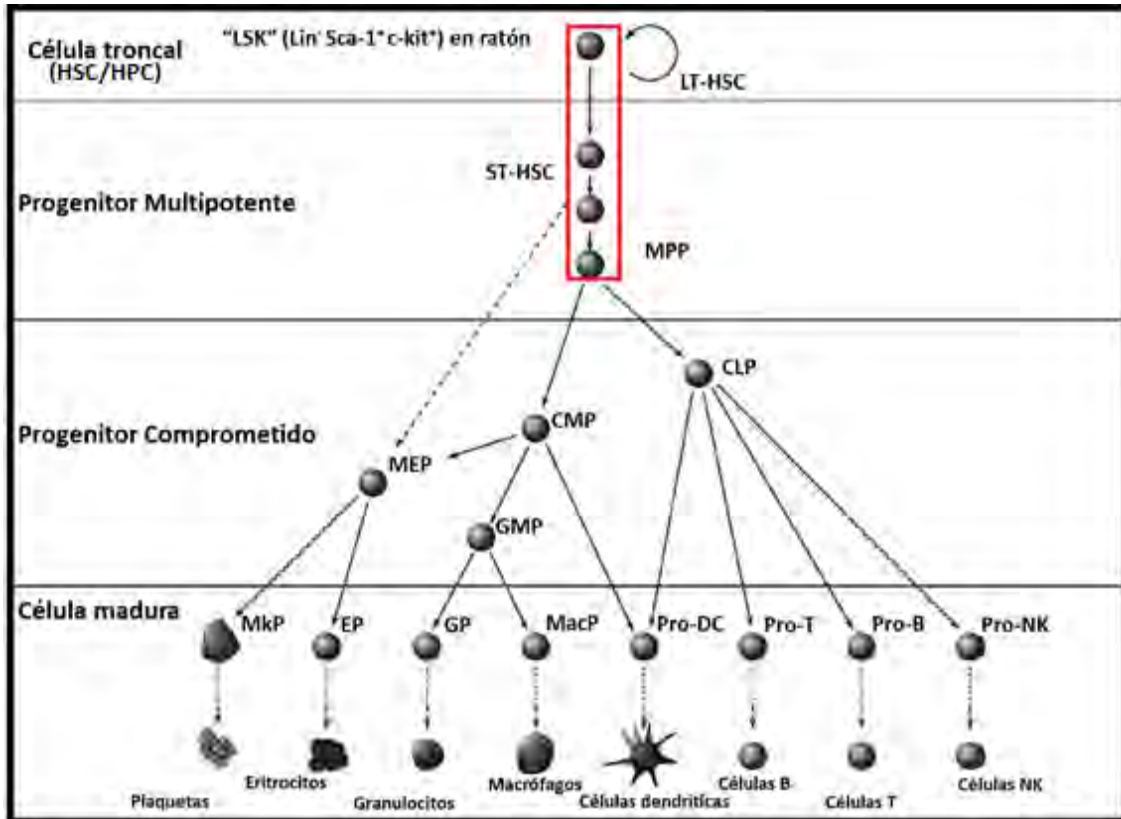


Figura 1. Jerarquía de las células hematopoyéticas. LT-HSC's, células troncales reconstituyentes a largo plazo, ST-HSC's, células troncales reconstituyentes a corto plazo; MPP, progenitores multipotentes; CMP, progenitores mieloides comunes; CLP progenitores linfoides comunes; MEP, progenitores megacariocitos-eritrocitos; GMP progenitores granulocitos-macrófagos; Mkp, progenitor de megacariocitos; EP, progenitor de eritrocitos; GP, progenitor de granulocitos, MacP, progenitor de macrófagos; Pro-B, progenitor de células B; Pro-T, progenitor de células T; Pro-NK, progenitor de células asesinas naturales. Las poblaciones pluripotentes encerradas en un recuadro expresan marcadores Lin⁻, Sca⁺ y c-kit⁺. Tomado y modificado de Seita & Weissman, 2010.

Las HSC/HPC son células inmaduras, no diferenciadas, con capacidad de auto-renovación y comprometimiento hacia la diferenciación celular acoplado a gran capacidad de proliferación. Las HSC/HPC constituyen el 0.005-0.01% y se localizan principalmente en la médula ósea (MO) (Thomas *et al.*, 1999; Orkin & Zon, 2008; Wintrobe, 2009; Chotinantakul & Leeanansaksiri, 2012). En su mayoría se encuentran en la fase G0 del ciclo celular y se dividen solo para mantener la homeostasis de la hematopoyesis, ciclan alrededor de cada 30 días en condiciones normales en la médula ósea de ratón (Cheshier *et al.*, 1999).

Las HSC/HPC pueden ser identificadas mediante marcadores específicos para cada población, lo cual es conocido como inmunofenotipo, y puede ser evaluado mediante microscopía de epifluorescencia o citometría de flujo, debido a que existen inmunofenotipos específicos para cada tipo y linaje celular, tanto para ratón como para humano (Spangrude *et al.*, 1988; Bellantuono *et al.*, 2004). Una característica que define a los progenitores inmaduros es que no expresan ninguno de los marcadores específicos de los distintos linajes maduros, por lo cual se consideran linaje negativo (Lin^-), los marcadores $c\text{-Kit}^+$ y $Sca\text{-}1^+$ suponen un paso más allá en la purificación de las HSC/HPC de ratón, por mucho la especie en que los distintos progenitores hematopoyéticos están mejor caracterizados. Las células Lin^- , $Sca\text{-}1^+$ y $c\text{-Kit}^+$ (LSK) indican una mayor troncalidad en las células de ratón. Aun así, sólo una de cada 10 células LSK es una HSC/HPC, por lo que este inmunofenotipo (LSK) es conocido para células troncales/progenitoras hematopoyéticas (Barquinero Máñez, 2009).

Teniendo en cuenta lo anterior la hematopoyesis puede ser esquematizada de forma que podamos observar 4 compartimientos principales (Figura 1), el primer compartimiento pertenece al de las HSC/HPC, las cuales se definen como células inmaduras, no diferenciadas, que contienen la capacidad de auto-renovación, gran potencial de proliferación, la capacidad de diferenciación en células sanguíneas especializadas, son capaces de reconstituir el sistema hematopoyético de un individuo mielosuprimido y corresponden a menos del 0.01% del total de las células nucleadas de la MO (Orkin & Zon, 2008; Wintrobe, 2009; Chotinantakul & Leeanansaksiri, 2012).

Debido a su potencial de reconstitución las HSC/HPC se clasifican en 2 tipos, en primer lugar están las células troncales hematopoyéticas de largo plazo (LT-HSC por sus siglas en inglés, *Long-Term Hematopoietic Stem Cells*), capaces de auto-renovarse indefinidamente durante toda la vida; y en segundo lugar están las células troncales hematopoyéticas de corto plazo (ST-HSC *Short-Term Hematopoietic Stem Cells*), que sólo pueden auto-renovarse durante un intervalo definido de tiempo, por alrededor de 8-16 semanas (Weisman, 2000; Orkin & Zon, 2008; Benveniste *et al.*, 2010; Challen *et al.*, 2010; Montrone *et al.*, 2013), éstas son las que se comprometen para dar origen a los progenitores multipotentes (MPP, del inglés *Multi-potent Progenitor*), de los cuales su característica es perder la auto-renovación, pero ganan un alto grado de proliferación y diferenciación (Metcalf, 2008). A partir de estos progenitores multipotentes, encontramos más abajo (en la cascada hematopoyética), a los progenitores que se comprometen ya sea hacia el linaje linfóide (CLP, del inglés *Commun Lymphoid Progenitor*) que darán origen a los linfocitos B, T y NK (NK, del inglés *Natural Killer*) (Kondo *et al.*, 2001; Baba *et al.*, 2004) y los que por otro lado están los progenitores mieloides comunes (CMP, del inglés *Commun Myeloid Progenitor*), de los que se derivan los granulocitos, los monocitos, megacariocitos y los eritrocitos (Metcalf, 2008). De los CLP y los CMP se originan los precursores y las células hematopoyéticas maduras del torrente sanguíneo. Por ejemplo los CMP pueden dar origen a las unidades formadoras de colonias (CFU, del inglés *Colony Forming Unit*) que pueden ser multipotentes como la CFU de colonias mixtas (CFU-GEMM, del inglés *Colony Forming Unit Granulocyte, Erythroid, Monocyte and Megakaryocyte cells*), la cual da origen a granulocitos, eritrocitos, monocitos y macrófagos; también las CFU's de colonias bi-potenciales como la unidad formadora de colonias de eritrocitos y megacariocitos y las CFU de granulocitos y macrófagos (CFU-eMK, del inglés *Colony Forming Unit Erythroid and Megakaryocyte cells*, CFU-GM, del inglés *Colony Forming Unit Granulocyte and Macrophage cells*) y finalmente están las CFU uni-potentes las cuales están comprometidas a un solo linaje como lo es la BFU de colonias eritroide (BFU-e, del inglés *Burst Forming Unit erythroid*) así como las CFU-G (CFU-G, del inglés *Colony Forming Unit Granulocyte*) y CFU-M (CFU-M, del inglés *Colony Forming Unit Macrophage cells*), de las cuales se derivan tanto granulocitos como macrófagos respectivamente (Yoder, 2004; Seita & Weissman, 2010). En cuanto al origen de las células dendríticas se

ha observado que éstas pueden ser derivadas tanto de los progenitores linfoides comunes como de los progenitores mieloides (Ardavín *et al.*, 2001; Cella *et al.*, 1997; Seita & Weissman, 2010) (Figura 1).

1.2 Microambiente hematopoyético

Las HSC/HPC residen en la MO en un ambiente tridimensional altamente organizado compuesto de una población diversa de células del estroma y una matriz extracelular rica en fibronectina, colágenos, y diversos proteoglicanos (Kondo *et al.*, 2003; Nervi *et al.*, 2006; Pusic & DiPersio, 2008). Sin embargo, además de las dimensiones microanatómicas y funcionales del nicho, las funciones fisiológicas de las HSC/HPC son controladas por una combinación de mecanismos de regulación tanto intrínsecas como extrínsecas, mediante moléculas que les permita su completa y constante regulación, la combinación de todos estos factores le proveen al nicho hematopoyético su característica principal, la cual es mantener un compartimiento de HSC/HPC en su estado indiferenciado. Sin embargo, la permanencia de las HSC/HPC en su nicho en la médula ósea, puede ser modificada por citocinas y otros compuestos para favorecer el desprendimiento del nicho y entra a circulación sanguínea, evento conocido como movilización de células troncales/progenitoras (Can, 2008).

La regulación de las HSC/HPC es gobernada por dos factores interrelacionados. Los factores de transcripción que regulan la expresión de genes, y las señales externas provenientes del microambiente de la MO, que pueden ser mediadas, por interacciones célula-célula, matriz extracelular-célula y por factores solubles llamados factores de crecimiento o citocinas. (Arai *et al.*, 2009). Estos elementos en conjunto proveen un sistema de soporte estructural y funcional denominado microambiente hematopoyético.

Por su parte las células que constituyen el microambiente hematopoyético son células estromales como fibroblastos, precursores osteogénicos, adipocitos, macrófagos y células endoteliales, que en conjunto producen una compleja trama de moléculas de matriz extracelular, constituidas de: proteoglicanos, heparán, condroitina, dermatán, colágeno,

fibronectina, hemonectina, laminina y ácido hialurónico (Verfaillie *et al.*, 1994; Klein, 1995) y citocinas que su parte, regulan la fisiología de las células hematopoyéticas y sus precursores (Giles *et al.*, 2002; Munker *et al.*, 2007).

1.3 Citocinas

Las decisiones hematopoyéticas y el destino de las HSC/HPC están reguladas por citocinas, que son moléculas de naturaleza proteica que actúan a través de la unión de receptores específicos de membrana activando una gran variedad de rutas de señalización implicadas en la proliferación, maduración, auto-renovación, muerte celular y movilización. Muchos factores intrínsecos, deciden el destino de las HSC/HPC, sin embargo, existen otras evidencias que indican el papel de las señales extracelulares de las citocinas y sus receptores. Aunque el papel de las citocinas en la determinación del destino de las HSC/HPC aún es controversial, su importancia en la regulación de la maduración de los progenitores hacia un linaje restringido se establece de manera inequívoca (Buza, 2007).

Por su efecto biológico y características moleculares de las citocinas se les ha dividido en: factores de crecimiento, factores estimuladores de colonias (CSF), interferones, interleucinas (IL) y quimiocinas (Zhang & Lodish, 2008; Sarrazin & Sieweke, 2011). Estas moléculas presentan retro-regulaciones entre sí y por lo general actúan en conjunto con otras citocinas, las cuales pueden ser producidas por la misma célula o células vecinas (Sachs, 1996). Las citocinas pueden ser expresadas en la membrana de las células o encontrarse solubles en el medio extracelular, pueden ser producidas por una gran variedad de células en diversos lugares del organismo, ya sea de forma constitutiva o después de la estimulación celular, son muy específicas y actúan a baja concentración, estos moduladores ejercen su actividad de manera parácrina, endócrina o autócrina. Además de estar implicadas en la hematopoyesis, son las responsables de procesos que incluyen el reclutamiento y activación celular, modulación de la respuesta inmune, la inflamación, regulación tisular, angiogénesis y la expresión de moléculas de adhesión entre otros, actúan sobre la célula diana gracias a su afinidad por los receptores de membrana ejerciendo acción local, sin embargo las de mayor importancia actúan a nivel sistémico con efectos

pleiotrópicos (Hao *et al.*, 1996; Carson & Vignali, 1999; Martins *et al.*, 2002; Borish & Steinke, 2003).

Para que las citocinas puedan ejercer sus efectos deben unirse a receptores específicos - sobre células blanco, la formación del complejo receptor-ligando trae como consecuencia el desencadenamiento de señales intracelulares a través de la activación de tirosinas cinasas, dando como resultado final la activación celular y una determinada respuesta biológica (Ihle & Kerr, 1995).

El establecimiento de cultivos *in vitro* de tejido hematopoyético, de células a largo plazo han permitido demostrar, que la hematopoyesis se sostiene debido a que las células del estroma secretan diversas citocinas tal es el caso de las interleucinas: $IL-1\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-2$, $IL-7$, $IL-10$, $IL-13$, entre otras; así mismo secretan diferentes factores estimuladores de colonias, los cuales han sido estudiados durante los últimos 30 años y contribuyen esencialmente al desarrollo de los 8 linajes celulares hematopoyéticos (Laiosa *et al.*, 2006; Metcalf, 2008). Para la mayoría de los linajes hematopoyéticos, se han identificado una gran cantidad de citocinas que ayudan a su regulación , tal es el caso de la trombopoyetina (Tpo) para las plaquetas, eritropoyetinas (Epo) para las células eritroides, $IL-15$ para las células asesinas naturales (Nk), $IL-7$ para células B y T, y el CSF de granulocitos (G-CSF) para los granulocitos, estas citocinas juegan un papel importante en las células progenitoras de linaje comprometido, mientras que para las HSC/HPC las citocinas relacionadas incluyen a la $IL-6$, $IL-3$, $IL-11$, el ligando tirosina cinasa 3 (FLT3), el factor de células troncales (SCF) y la Tpo, las cuales promueven la proliferación y la auto-renovación (Buza, 2007; Zhang & Lodish, 2008). Estos factores tienen un amplio efecto en la función biológica de varios tejidos y células, entre los efectos más importantes de estos estimuladores celulares se relacionan interviniendo en la supervivencia, proliferación, diferenciación de las células así mismo modulan también funciones celulares como la quimiotaxis, degranulación, activación, adhesión, citotoxicidad, cambios fenotípicos y la expresión de mRNA de estas poblaciones celulares (Metcalf, 2008).

1.4 Nicho hematopoyético

El concepto de nicho surge en el campo de la ecología, acuñado por Joseph Grinnell, un naturalista que en 1917 utilizó el término para describir la suma de los requerimientos del hábitat o ambiente que le permite a una especie persistir y reproducirse (Flores, 2011). Años después, fue adaptado al campo de las células troncales (Schofiel, 1977). Se piensa que las HSC/HPC se establecen dentro de nichos, sitios específicos dentro de la médula ósea con microambientes especializados, creado por células estromales, adipocitos y osteoblastos principalmente, que producen citocinas y que además proveen señales para su sobrevivencia, auto-renovación, migración, quiescencia y diferenciación (Yin & Li, 2006; Ugarte & Forsberg, 2013). Un modelo sugiere la existencia de tres nichos. Estructuralmente este ambiente tridimensional se puede dividir en el componente de las células hematopoyéticas y el componente mesenquimal también denominado nicho osteoblástico (Forgacova & Necas, 2013).

- Componente hematopoyético, compuesto por HSC, HPC de linaje linfoide, mieloide y sus derivados (Can, 2008), a su vez se compone de macrófagos estromales, estas células llevan a cabo diferentes e importantes funciones, regulando la hematopoyesis mediante interacciones célula-célula, y por medio de la secreción de citocinas estimuladoras de la hematopoyesis tal como el CSF de macrófagos (M-CSF), de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y diversas IL, regulan funciones de los osteoblastos y las células troncales mesenquimales (Ugarte & Forsberg, 2013).
- Componente mesenquimal: compuesto de tres diversos tipos de células, los cuales tendrán un papel fundamental en la regulación de la hematopoyesis:
 - Fibroblastos estromales: son células que expresan una gran variedad de moléculas de la MEC como vimentina, fibronectina, colágeno tipo I, III y IV, que a su vez secretan citocinas como la IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, M-CSF, G-CSF, GM-CSF, SCF y el interferón-beta. Estas moléculas actúan sobre receptores específicos en las células hematopoyéticas, iniciando

cascadas de señalización que modulan la expresión de genes reguladores de proliferación, supervivencia, diferenciación, adhesión y secreción de citocinas (Nervi *et al.*, 2006).

- Osteoblastos: Son células capaces de regular la hematopoyesis de manera positiva o negativa, así como la producción de citocinas como la angiopoyetina (Ang-1), la Tpo y el factor derivado del estroma (SDF-1) que le permiten hacer homing a las células hematopoyéticas,. Estudios funcionales indican que la presencia de la Ang-1 y la Tpo mantienen la quiescencia de las HSC/HPC, mientras que el SDF-1 regula la migración y la localización de las HSC/HPC en la MO (Kiel & Morrison, 2008; Iwasaki & Suda, 2010; Matsumo *et al.*, 2011).
- Adipocitos: son una población celular enriquecida en la MO, aún no se entiende el papel fundamental en la hematopoyesis, pero se piensa que pueden desempeñar un papel inhibitorio, sin embargo, la secreción de adiponectina funciona como un regulador positivo de las HSC (Naveiras *et al.*, 2009 Matsumo *et al.*, 2011; Ugarte & Forsberg, 2013).

La estructura vascular de la médula ósea provee una barrera entre el compartimiento hematopoyético y la circulación periférica, además que cuenta con una gran cantidad de oxígeno en comparación al nicho osteoblástico, siendo así, se sugiere que en el nicho vascular reanudan el ciclo celular saliendo de G0 para poder proliferar, diferenciarse, y restaurar las células hematopoyéticas del organismo, una vez cumplida esta función regresan al nicho osteoblástico, siendo así, la clave para la homeostasis de la hematopoyesis (Kopp *et al.*, 2005; Iwasaki & Suda, 2010; Johns & Christopher, 2012).

1.5 Movilización de células troncales y progenitoras hematopoyéticas

Bajo el estado de equilibrio, las HSC/HPC se encuentran en la médula ósea y circulan en la sangre periférica en cantidades mínimas (0.01-0.05%), aunque su número en circulación puede ser significativamente incrementado en respuesta a diferentes señales especializadas, incluyendo citocinas, hormonas, factores de crecimiento y señales de estrés (Pusic & DiPersio, 2008; Greenbaum & Link, 2011; Suárez *et al.*, 2012), el reclutamiento desde la médula ósea a sangre periférica (SP) después de un tratamiento con citocinas se le conoce como movilización (Lemoli & D Addio, 2008; Lapidot & Kollet, 2005).

De manera importante la interrupción de las interacciones entre moléculas de adhesión y sus ligandos de citocinas es la base para la movilización de HSC/HPC, por esta razón el conocimiento de las HSC/HPC en interacción con su microambiente y las moléculas de adhesión con las que interactúa para poder mantenerse ancladas a él, ha sido clave para las estrategias de movilización, por lo cual es importante mencionar que la interacción entre el CXCR4 y el ligando SDF-1 es el más estudiado, varios reportes han mostrado que la degradación y la inactivación dentro de la MO de esta interacción por enzimas proteolíticas tales como la elastasa, catepsina G, y diversas metaloproteasas son esenciales para la movilización (Petit *et al.*, 2002; Nerví *et al.*, 2006; Cashen *et al.*, 2007; Motabi & Dipersio, 2012; Boing & Papayannopoulou, 2013).

Por otro lado, un requisito previo para la función adecuada de las HSC/HPC es la capacidad de viajar a través del torrente sanguíneo y encontrar los nichos especializados en la médula ósea u otros órganos hematopoyéticos como el bazo, en un proceso denominado homing.

El homing constituye una serie de etapas múltiples que comprenden: reconocimiento e interacción con el endotelio microvascular, transmigración a través del endotelio vascular, y finalmente, la migración y la invasión del tejido blanco, proceso similar al de la movilización, que involucra una interacción compleja entre citocinas, quimiocinas, moléculas de adhesión, y proteasas que degradan la matriz extracelular (Shirvaikar *et al.*, 2012; Suárez *et al.*, 2012).

1.6 Movilización inducida

Se reconoce ampliamente la importancia clínica que representa dentro del contexto biomédico la movilización de las HSC/HPC, pero la relevancia está inmersa a partir de las pistas que puede proporcionar sobre como las HSC conservan su estado natural dentro del nicho hematopoyético (Boing & Papayannopoulou, 2013). La movilización de las HSC/HPC ha sido inducida clínicamente en humanos o experimentalmente en ratones para trasplantes clínicos (Nervi *et al.*, 2006). Un gran número de factores de crecimiento hematopoyéticos y ciertas quimiocinas pueden inducir movilización de HSC, sin embargo, las únicas citocinas aprobadas por la FDA (Food and drug administration) son el: G-CSF (Filgrastim[®]) y el GM-CSF (Sargamostim[®]) (Pusic & Dipersio, 2008) y recientemente la molécula AMD3100 en 2009 (Pusic & Dipersio, 2010).

El G-CSF moviliza más HSC/HPC que el GM-CSF, y su combinación con otros agentes no aumenta significativamente la movilización de células progenitoras hematopoyéticas, además de los efectos secundarios son generados en menor grado. A pesar de existir otros agentes movilizadores, el G-CSF es el agente predominante utilizado en clínica (Awan *et al.*, 2012), pues el objetivo de la movilización es obtener al menos 2×10^6 células CD34⁺/kg. Sin embargo, existen factores que reducen la movilización. No obstante se ha observado una pobre movilización de HSC/HPC en el 25% de los pacientes, particularmente en aquellos con linfomas, mieloma múltiple y leucemia aguda, y en el 10-20% de individuos sanos (Pelus, 2008; Mohty & Ho, 2011; Shirvaikar *et al.*, 2012), es necesario considerar que cada paciente es único y diferente, existen determinados factores que pueden reducir las posibilidades de obtener una cantidad suficiente de células, factores como una edad avanzada, haber sido tratado previamente con radio o quimioterapia podrían tener un impacto importante en la movilización, a este evento se le conoce como movilización escasa y a los movilizadores se les considera como movilizadores poco favorables (Mohty & Ho, 2011; Lemoli, 2012). Por lo anterior, aún continua la búsqueda de nuevos agentes movilizadores que puedan funcionar en aquellos individuos donde el G-CSF inicialmente falla. Desde 1990 el protocolo comúnmente usado para inducir la movilización era el G-CSF solo o en compañía de agentes quimioterapéuticos tales como la

ciclofosfamida o la doxorrubicina, entre otras varias, y mostraba grandes resultados (To *et al.*, 2011), al igual que el G-CSF muchas otras citocinas tales como el GM-CSF, IL-3, IL-7, IL-12, SCF, el ligando Flt-3 y quimiocinas como la IL-8 son capaces de inducir la movilización de HSC/HPC a SP de forma experimental o en clínica (Greinix & Worel, 2009), sin embargo con la finalidad de alcanzar un 100% en los caso de movilización, hoy en día se investigan una gran gama de agentes movilizadores evaluando su cinética y efectividad de movilización.

Las HSC/HPC movilizadas tienen como finalidad ser utilizadas para el trasplante autólogo o alogénico en pacientes que han sufrido un régimen mieloablatoivo, por lo cual, la investigación de muchos agentes solo o en combinación con el G-CSF se han utilizado para tratar de mejorar la movilización, no sólo para aumentar el rendimiento de las HSC/HPC, sino también con el objetivo de mejorar la calidad del injerto y los resultados del trasplante. (Pelus, 2008; Bakanay & Demirer, 2012).

1.7 Las plantas como fuentes de principios activos

La Organización Mundial de Salud (OMS) define de la siguiente manera a la medicina tradicional: es la suma total del conocimiento, habilidades, y prácticas basadas en la teorías, la creencia, y las experiencias indígenas en diversas culturas, sean susceptibles de explicación o no, utilizándolos en el mantenimiento de la salud así como la prevención, la diagnosis, la mejora o el tratamiento de la enfermedad física y mental, prácticas transmitidas de generación en generación, sea oral o por escrito (Beltrán, 1994). Más del 80% de la población mundial recurre a los tratamientos que ofrece la naturaleza por medio de los componente activos presentes en la plantas para prevenir o curar un gran número de enfermedades (Sumner, 2000).

Cerca del 60% de los medicamentos que se utilizan para el tratamiento del cáncer se han aislado a partir de productos naturales (Gordaliza, 2007) siendo el reino de las plantas la fuente más significativa. En México cerca del 90% de la población practica el uso de plantas como tratamiento empírico para varias enfermedades. Este conocimiento popular se basa en la eficacia, es decir, tomando lo que sirve, sin embargo, el problema radica en el

control de la administración de las dosis y la calidad del producto, ya que pueden propiciarse daños a la salud (Loraine *et al.*, 2010).

En México el uso de las plantas medicinales se remontan a la época prehispánica en la mayoría de las culturas y constituyen uno de los principales recursos terapéuticos tanto en el medio rural como suburbano donde los servicios de atención médica son escasos, acentuándose en las poblaciones más alejadas de las cabeceras municipales y de los centros urbanos. En el país la medicina tradicional representa la única alternativa médica para más de 40 millones de mexicanos que no tienen acceso a los diferentes centros de salud (Lozoya & Pérez-Duarte, 1990).

Así, en años recientes se ha mostrado que el extracto, jugo, infusiones, entre otros derivados de plantas, modulan los niveles de citocinas en sobrenadantes de cultivos de diferentes tipos de células, entre ellas podemos incluir a la *Echinacea purpurea* (Burguer *et al.*, 1997), *Coriolus versicolor* (Ho *et al.*, 2004), *Illicium verum* (Sung *et al.*, 2012) y diversas especies de género *Sechium* (González, 2014).

1.8 Género *Sechium*

México está ubicado dentro de los 10 países megadiversos y ocupa el cuarto lugar en cuanto a diversidad de plantas (Zamorano de Haro, 2009). Una de las familias botánicas más importantes en las culturas mesoamericanas por la diversidad de especies incluidas en la dieta y la medicina (por presentar numerosos metabolitos secundarios con potencial farmacológico) son las cucurbitáceas, esta presenta cerca de 90 géneros y más de 700 especies distribuidas en regiones cálidas, contienen metabolitos secundarios característicos de la Familia como las cucurbitacinas (Miro, 1995), que son triterpenos oxigenados, que se pueden encontrar libres o glicosilados, y son reconocidas como principios tóxicos de amplio espectro (Jayaprakasam *et al.*, 2003). Dentro de esta familia, se encuentra al género *Sechium* P. Browne (Ortega *et al.*, 1998), con especies poco estudiadas.

Sechium P. Browne, comúnmente conocido como “chayote”, está constituido por ocho especies silvestres (*S. compositum*, *S. chinantlense*, *S. hintonii*, *S. talamancense*, *S. panamense*, *S. pittieri*, *S. venosum* y *S. vilosum*), y dos domesticadas (*S. edule* y *S. tacaco*) con distribución desde México hasta Panamá (Cadena *et al.*, 2007; Lira-Saade, 1996).

Particularmente *Sechium edule* es una especie endémica de México, donde se encuentra la mayor variación morfológica, que se distingue principalmente en sus frutos con diferentes dimensiones, colores, formas, sabores, ausencia, presencia y densidad de espinas. Su principal uso es como alimento, sin embargo hay reportes que indican que en la medicina tradicional se emplea en la cauterización de úlceras y eliminación de cálculos renales (Abdelnour *et al.*, 2002). En estudios fitoquímicos han identificado alcaloides no fenólicos, saponinas, esteroides, triterpenos y ocho flavonoides glicosilados (Salama *et al.*, 1986, Cadena-Iñiguez, 2005; Monroy-Vázquez *et al.*, 2009; ; Siciliano *et al.*, 2004) y en estudios farmacológicos se reporta un efecto antiproliferativo, cauterización de úlceras, antioxidante, antibacterial y hepatoprotector (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2013; *et al.*, Diré *et al.*, 2003; Ordoñez *et al.*, 2003; Ordoñez *et al.*, 2006; Firdous *et al.*, 2012).

El Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* (GISeM) ha caracterizado, doce grupos varietales para la especie de *Sechium edule* (Cadena *et al.*, 2007), ocho de los cuales han demostrado tener actividad antiproliferativa en líneas de células tumorales, esos grupos varietales son: *nigrum xalapensis* (nejalpa[®]), *albus levis* (maluca[®]), *albus dulcis* (cambray[®]), *albus minor* (lucpo[®]), *nigrum levis* (bhezco[®]), *virens levis* (bernyano[®]), *nigrum spinosum* (vici[®]) y *Sechium edule* grupo varietal *amarus silvestris* (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2013).

Recientemente GISeM también ha desarrollado hibridación infraespecífica controlada, y dentro de los resultados, se ha desarrollado un genotipo híbrido denominado H387 07[®] proveniente del cruzamiento de grupos varietales de *Sechium edule* (bernyano[®], *Sechium edule* grupo varietal *amarus silvestris* y vici[®]) (Cadena-Iñiguez & Arévalo-Galarza, 2011).

1.9 Extractos vegetales e inducción a la diferenciación de HPC

La necesidad de promover la búsqueda de nuevos medicamentos de origen vegetal, surge por el incremento en la frecuencia de padecimientos mortales como el cáncer, por ello, los compuestos fitoquímicos han sido investigados, proporcionando nuevos recursos para la industria quimioterapéutica (Cordell *et al.*, 1993). En este contexto surge la necesidad de obtener nuevos principios activos de origen natural que amplíen las opciones farmacológicas y que puedan formar parte de medicamentos alternativos, a partir de la diversidad local (Cadena *et al.*, 2005).

El cáncer es la principal causa de muerte a nivel mundial (Brawley, 2016; Siegel *et al.*, 2016). En el presente, la radioterapia y la quimioterapia son los tratamientos más ampliamente utilizados para tratar los diversos tipos de cáncer (Barton *et al.*, 2014; Morton *et al.*, 2013), sin embargo, estas terapias causan un grave desorden llamado mielosupresión, es decir, lesión hematopoyética, resultando en una disminución en células de médula ósea y células de sangre periférica, que pueden causar varios tipos de alteraciones hematológicas como anemia, hemorragia, etc., y afectar severamente la acción terapéutica. La mielosupresión es un factor limitante en el resultado y la recuperación de los pacientes que recibieron radioterapia y quimioterapia, por lo tanto, este tratamiento es crucial para pacientes con cáncer (Sermeus *et al.*, 2014; Ding *et al.*, 2014). Hoy en día, se utilizan en clínica factores de crecimiento hematopoyéticos, tales como el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), la eritropoyetina (Epo) y la trombopoyetina (Tpo), que puede ser utilizado para acelerar la recuperación hematopoyética durante la terapia contra cáncer. Sin embargo, las aplicaciones de estas alternativas terapéuticas son limitadas por sus altos costos y los efectos adversos indeseables que provocan, tales como dolor osteomuscular, artralgia y reacciones alérgicas (Gilmore *et al.*, 1999; Dygai *et al.*, 2012)

El valor medicinal de las plantas está dado por sus constituyentes químicos, generalmente metabolitos secundarios, que producen efectos fisiológicos y que en la naturaleza tienen la función de defensa química contra la herbivoría entre otros, los cuales a menudo muestran una gran complejidad estructural que puede determinar su actividad biológica, dichos compuestos son obtenidos de las plantas por destilación o extracción con disolventes

orgánicos; representando un enorme recurso científico y clínico para el desarrollo de nuevos fármacos (Rivera, 2011).

Recientemente, la medicina tradicional o etnomedicina ha tenido prometedores resultados en modelos experimentales en contra de la mielosupresión inducida por la radioterapia y la quimioterapia debido a su efecto curativo, teniendo pocos efectos secundarios y un precio accesible (Hsu *et al.*, 1996; Chen *et al.*, 2009; Hou & Zhou, 2009; Qi *et al.*, 2010; Chan *et al.*, 2011). La aplicación de la medicina tradicional sobre las alteraciones en la hematopoyésis tiene el objetivo de contrarrestar los efectos generados por la radioterapia y la quimioterapia reflejado en la disminución en células de la médula ósea y de sangre periférica debido al deterioro de todas las células del organismo, pero en particular a los linajes de la sangre. Por lo tanto, el principio para el tratamiento de la mielosupresión es restaurar esta condición por medio de la generación de nuevas células en la sangre (Cao *et al.*, 2000; Lv *et al.*, 2005).

Estudios *in vitro* sugieren que a partir de estimular HPC con extractos de origen vegetal, promueven su diferenciación a hacia diferentes linajes hematopoyéticos (Hisha *et al.*, 1997), incluso se han utilizados extractos vegetales en modelos de radio protección, donde se ha logrado ver antes y después de la irradiación letal sobre ratones, una recuperación de los distintos linajes hematopoyéticos, pues estos extractos promueven incluso la restauración de la hematopoyesis (Liu *et al.*, 2014).

Con base en la medicina tradicional, se han llevado a cabo estudios experimentales en modelos de ratón, donde se ven potenciales efectos en la recuperación de ratones a los que se les ha inducido cáncer, y que posteriormente han sido mielosuprimidos como parte de las estrategias que se le darían a un paciente con esta enfermedad, donde estos extractos vegetales potencian el ciclo celular en células de la médula ósea, e inhibiendo el ciclo celular de las células cancerosas (Gu *et al.*, 2013), atribuyendo estos efectos a algunos metabolitos secundarios presentes en las plantas, tales como triterpenos y saponinas entre otros más (Matsuda *et al.*, 1999; Berdin *et al.*, 2000; Verotta *et al.*, 2001.)

La medicina tradicional china no sólo aumenta el recuento de leucocitos, sino que también ayuda a los pacientes a mejorar su calidad de vida después de la quimioterapia. Esto apoya

la capacidad de la medicina tradicional para la mejora de la calidad de vida al estimular la médula ósea e inducir hematopoyesis, la mejora de la calidad de vida, en particular a las células troncales/progenitoras para crecer e iniciar la génesis de la sangre (Tao *et al.*, 2004; Wang & Wang, 2004; Cheng *et al.*, 2004; Lu *et al.*, 2004).

Los estudios que se han generado a partir de probar estos efectos biológicos positivos de alternativas de origen vegetal para revertir algunos trastornos hematológicos que potencialmente podría administrarse a pacientes con cáncer cuyo recuento de leucocitos se ha reducido debido a la quimioterapia; estos efectos biológicos positivos aceleran la producción de leucocitos y mejora la función de la hematopoyesis medular (Tian *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2007), sin embargo aún no existen estudios concretos que evidencien el potencial efecto movilizador de algunas especies de origen vegetal, así tendrían en un futuro no muy lejano la posibilidad de abrir la puerta a otras alternativas a nivel mundial dentro de la etnomedicina, particularmente en México.

Interesantemente se sabe que el efecto biológico que tienen los extractos de viciis[®] como del híbrido H387 07[®] sobre las CMN de MO de ratón es selectivo, es decir, en relación a células leucémicas de ratón reducen la viabilidad, inhibe su proliferación e induce su muerte por apoptosis, no así sobre las CMN de MO de ratones sanos, (González, 2014; Aguiñiga *et al.*, 2015), además de manera interesante, se ha demostrado que la inoculación del extracto de viciis[®] sobre ratones sanos, incrementa de manera significativa, el número de glóbulos blancos en sangre y el número de células en división (índice mitótico) en la médula ósea de ratones normales y aumenta el nivel de la concentración de GM-CSF en médula ósea, G-CSF y M-CSF en el suero de ratones, citocinas involucradas en la estimulación de la hematopoyesis, lo que sugiere, estimula la génesis de los distintos linajes de la sangre, (Gómez, 2013; González, 2014), citocinas reportadas como agentes movilizadores de células progenitoras hematopoyéticas (Pusic & DiPersio, 2008).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha demostrado que la inoculación de diferentes extractos crudos de *Sechium P. Browne* inducen un incremento de G-CSF y M-CSF en el suero de ratones tratados, ambos reportados como promotores de movilización de células progenitoras hematopoyéticas a sangre periférica, sin embargo, se desconoce si los extractos efectivamente inducen movilización de células troncales/progenitoras hematopoyéticas.

3. JUSTIFICACIÓN

La movilización de células troncales hematopoyéticas a sangre periférica es inducida por un gran número de citocinas, quimiocinas y algunos quimioterapéuticos, sin embargo, los agentes movilizadores poseen ventajas y desventajas. El objetivo de la movilización es obtener al menos 2×10^6 células $CD34^+$ /kg de peso del receptor, pero existen factores que reducen la movilización, como la edad, la radioterapia, ciertas enfermedades entre otros (Pelus, 2008), por la misma razón se necesitan estrategias novedosas para aumentar el rendimiento de células troncales (Bakanay & Demirer, 2012). En este contexto surge la necesidad de obtener nuevas opciones farmacológicas de origen natural (Cadena *et al.*, 2005), que puedan generar estrategias alternativas terapéuticas para la movilización de células progenitoras hematopoyéticas. Si se logra demostrar que los extractos de *Sechium P. Browne* tienen efecto movilizador de células progenitoras hematopoyéticas, estos podrían ser utilizados como una alternativa terapéutica ampliando las posibilidades para nuevos agentes movilizadores.

4. HIPÓTESIS

Si la inoculación de extractos crudos de especies del género *Sechium* P. Browne en ratones aumenta las concentraciones en suero de G-CSF y M-CSF, reconocidos agentes movilizadores, entonces se espera que induzca la movilización de células progenitoras hematopoyéticas a sangre periférica.

5. OBJETIVOS

General:

- Evaluar los efectos de los extractos de *Sechium P. Browne* en la movilización de células progenitoras hematopoyéticas.

Particulares:

- Evaluar el efecto de los extractos de *Sechium: vicis*[®] y H387 07[®] sobre el incremento de células mononucleadas a sangre periférica.
- Comparar y evaluar el efecto movilizador de células progenitoras hematopoyéticas a sangre periférica de los extractos de *Sechium: vicis*[®] y H387 07[®] mediante el ensayo de unidades formadoras de colonias (CFU).

6. MÉTODO

6.1 Preparación del extracto

Se colectaron frutos de *Sechium edule* grupo varietal *nigrum spinosum* (vicis[®]) y H387 07[®] en madurez hortícola (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2013;*et al.*, Diré *et al.*, 2003; Ordoñez *et al.*, 2003; Ordoñez *et al.*, 2006; Firdous *et al.*, 2012), en el Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGESe), Centro Regional Universitario Oriente de la Universidad Autónoma Chapingo (GiSeM-CRUO-UACH) y Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México. Los frutos se cortaron en trozos pequeños, se secaron a 40 °C con circulación de aire y se maceraron para estandarizar el tamaño de la partícula. La muestra incluyó epidermis, espinas y semillas. Se empleó 1 kg de estos frutos procesados realizando una extracción sólido-líquido con metanol hasta agotar la muestra, colectando el extracto arrastrado por el disolvente en un matraz seguido de una evaporización a presión reducida hasta concentrar el extracto (Cadena-Iñiguez, 2005). Los extractos fueron pesados y disueltos en solución amortiguadora de fosfatos (PBS), para finalmente ser esterilizados por luz UV.

6.2 Manejo de animales

Los procedimientos que involucraron animales se llevaron a cabo bajo la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 de especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Ratones machos de la cepa CD-1 de 2 a 3 meses de edad, fueron separados en grupos una semana antes del ensayo, obtenidos en el bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, se mantuvieron con un ciclo de luz y oscuridad de 12 horas, temperatura promedio 22°C, alimento y agua en condiciones *ad libitum*.

6.3 Tratamiento

Los ratones utilizados en este trabajo fueron divididos en 7 grupos y fueron inoculados vía intraperitoneal (IP) cada 48 horas por 6 días; 1) ratones sanos sin tratamiento, 2) ratones recibieron 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (PBS como vehículo), 3) ratones recibieron 1 mL de Caseinato de sodio (CasNa) (Spectrum, New Brunswick, NJ) (0.1 g/mL en PBS) como movilizador de HPC (Santiago *et al.*, 2015), 4) ratones recibieron 1 mL de

PBS con una dosis de Ara-c (citarabina) para inducir citotoxicidad (Drenberg *et al.*, 2016) sobre las CMN de MO y SP, a una concentración de 3 mg/kg de peso de ratón, 5) los siguientes grupos recibieron las siguientes dosis de los extractos por separado:

H387 07[®]:

- 8 mg/kg
- 125 mg/kg
- 250 mg/kg

vicis[®]:

- 400 mg/kg
- 800 mg/kg
- 1600 mg/kg

6.4 Obtención de CMN de SP y MO

De forma breve, 24 horas después de la última inyección de todos los tratamientos, los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (PiSA Agropecuaria, Tula, Hgo), se obtuvo la sangre del plexo axilar, posteriormente se aislaron las células de sangre periférica mediante un método de gradiente de densidad empleando ficoll ($\delta= 1.077$ g/ml) (Sigma-Aldrich, St Louis, Mo), una vez obtenidas estas células mononucleadas, inmediatamente fueron sacrificados por dislocación cervical y se obtuvieron fémures, bazos y timos.

Los fémures fueron perforados en ambas epífisis, con una jeringa de 10 mL, se hizo fluir medio IMDM suplementado con SFB al 3% para extraer las células totales de la médula ósea, la suspensión celular fue centrifugada para obtener el botón celular. Este fue resuspendido en 2 mL de medio IMDM con SFB al 3%. Enseguida se pasaron mediante un método de gradiente de densidad empleando Ficoll ($\delta= 1.077$ g/ml) (Sigma-Aldrich, St Louis, Mo) centrifugando por 20 minutos a 2000 revoluciones por minuto. Al finalizar se obtuvo un anillo celular que contendrá las células mononucleadas, se extrajeron y se lavaron dos veces con medio IMDM suplementado con SFB al 3%.

6.5 Evaluación del número celular

Después de obtener las células mononucleadas de sangre periférica y médula ósea, se evaluó el número celular realizando un conteo en el hemocitómetro bajo el microscopio a 10X. Se utilizó una prueba de exclusión por azul tripano (Sigma-Aldrich, St Louis, Mo), la cual consistió en tomar una muestra de células adicionándole colorante en una proporción 1:1, enseguida se contabilizaron las células vivas y muertas.

6.6 Ensayo de unidades formadoras de colonias

Para verificar el contenido de células progenitoras hematopoyéticas contenidas en las células mononucleadas, se realizó un ensayo de unidades formadoras de colonias (CFU). Brevemente, las células mononucleadas de sangre periférica (1.2×10^5 células) y médula ósea (8×10^4 células) de los ratones inoculados como se describió anteriormente, fueron cultivadas en placas de 24 pozos (Corning, NY, USA) en un medio semisólido (Methocult; Stem Cell Technologies, Vancouver, BC, Canadá) el cual contiene un cóctel de factores de crecimiento, tales como: el factor de células troncales recombinante de ratón (rmSCF), IL-3 recombinante de ratón (rmIL-3), IL-6 recombinante humana (rhIL-6) y eritropoyetina recombinante humana (rhEpo). Los cultivos se mantuvieron a una temperatura de 37°C, 5% de CO₂ y humedad a punto de rocío durante 12 días para médula ósea y 14 días para sangre periférica, posteriormente se contaron el número de colonias y se observó la morfología de las colonias en un microscopio invertido a 10X. El criterio considerado para determinar el linaje de cada una de las colonias será de acuerdo a lo descrito en el manual “Ensayos para células formadoras de colonias de ratón usando Methocult (Methocult; Stem Cell Technologies, Vancouver, BC, Canadá).

6.7 Determinación del índice esplénico y tímico

Antes del sacrificio, los ratones fueron pesados y el valor fue registrado. Después de extraer el bazo y el timo fueron pesados y se calculó el índice esplénico y tímico, como el cociente del peso del bazo entre el peso del ratón y el peso del timo entre el ratón respectivamente (Nilsson *et al.*, 1994).

6.8 Hemograma

Se evaluó en sangre periférica, el conteo de glóbulos blancos (leucocitos), la cuenta diferencial de estos glóbulos blancos, eritrocitos totales (glóbulos rojos), concentración de Hemoglobina (Hb), Hematocrito (Htc), Volumen corpuscular medio (VCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) en un equipo automatizado Micros ABX60[®], siguiendo las especificaciones del fabricante ABX.

6.9 Manejo de datos

En el presente estudio se realizaron al menos tres experimentos por separado. Los datos se presentaron como la media \pm la desviación estándar. Para observar diferencias significativas entre los promedios obtenidos se empleó una prueba Tukey ($p < 0.05$) mediante el paquete estadístico SPSS 20.

7. RESULTADOS

7.1 La inoculación de los extractos de *Sechium* aumenta el número de células mononucleadas en sangre periférica de ratones sanos.

Los resultados muestran que el extracto de H387 07[®], administrado por vía intraperitoneal, en la concentración de 125 y 250 mg/kg, muestran un incremento en el número de células mononucleadas en sangre periférica (figura 2), mientras que viciis[®], lo hace en las concentraciones de 400, 800 y 1600 mg/kg (figura 3), ambos en relación al vehículo. H387 07[®] aumentó en forma significativa el número de células mononucleadas provenientes de sangre periférica, en forma similar al CasNa, un reconocido promotor del incremento de células mononucleadas en sangre periférica, en cambio viciis[®] fue menos potente. Además, Ara-c, un agente anti leucémico, no promueve el aumento de células mononucleadas a sangre periférica, ya que permanece similar al vehículo (figuras 2 y 3).

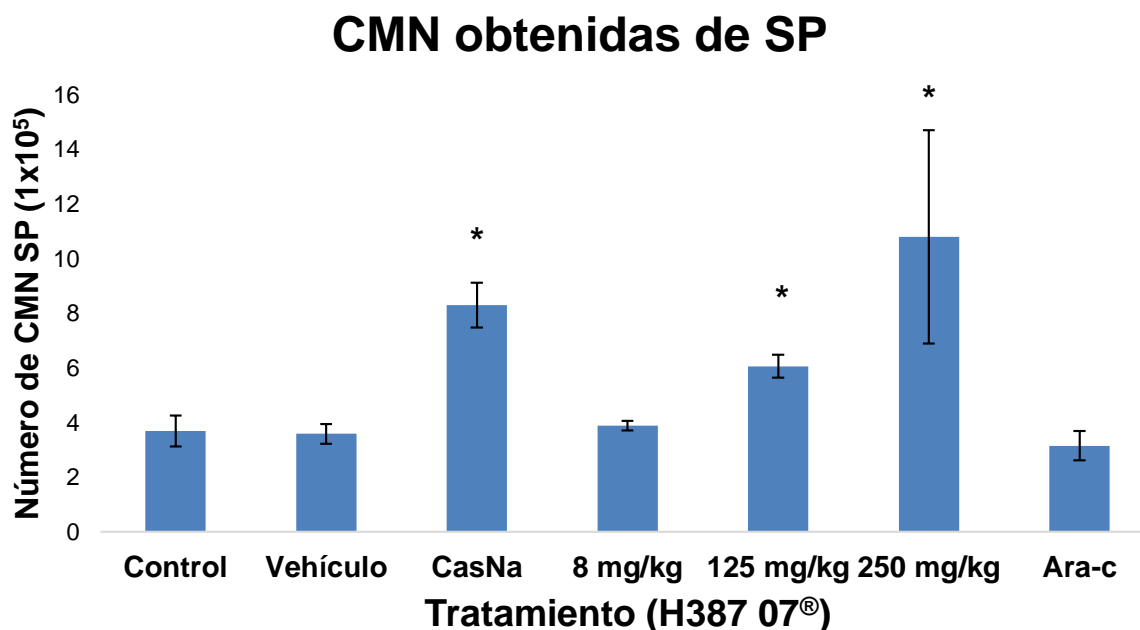


Figura 2. Efecto del extracto de H387 07[®] aumenta el número de CMN en SP. Número de CMN obtenidas de SP de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey $p < 0.05$.

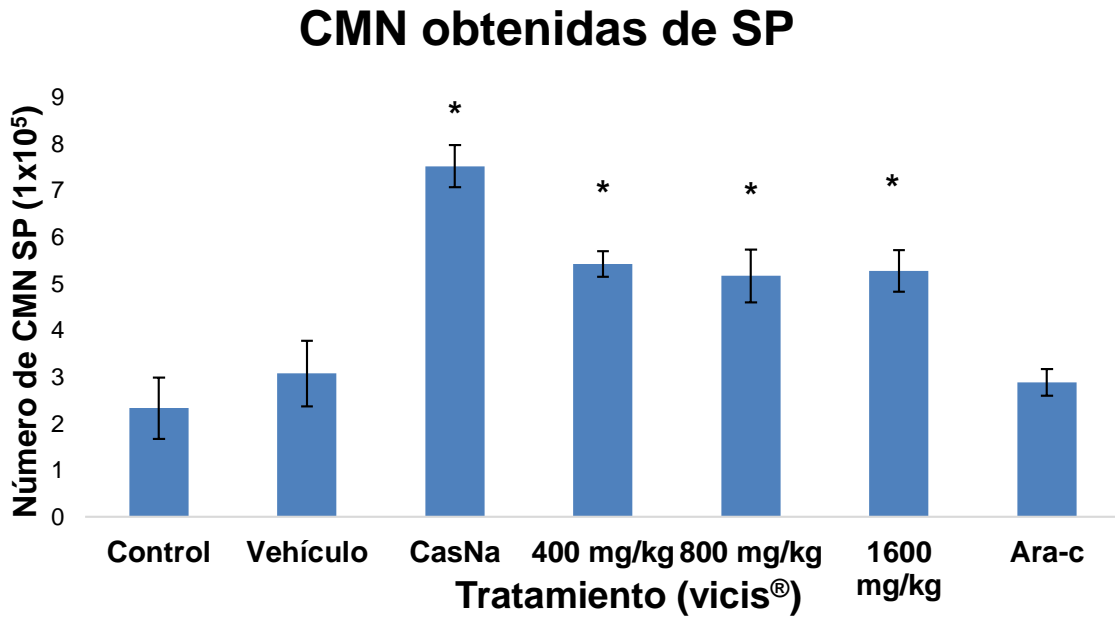
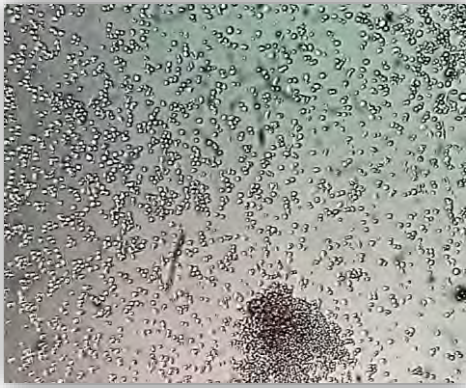


Figura 3. Efecto del extracto de viciis® aumenta el número de CMN en SP. Número de CMN obtenidas de SP de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto viciis® en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes.*Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

7.2 La inoculación de los extractos de *Sechium* aumenta el número de células progenitoras en sangre periférica.

Debido a que el tratamiento con los extractos de H387 07[®] y vicis[®] incrementa el número de células mononucleadas en sangre periférica de los ratones tratados, se evaluó su potencial para formar colonias de estas células mononucleadas. Las fotografías de los pozos de cultivo revelan un cúmulo de células (colonias), las cuales se generan por división celular de una sola célula progenitora hematopoyética (figura 4a, 4b, 5a y 5b), mismas que aumentan en número después del tratamiento con H387 07[®] o vicis[®], tal como la hace CasNa. La evaluación de las colonias revela un aumento significativo en el número de colonias totales formadas provenientes de células mononucleadas de sangre periférica movilizadas en relación al vehículo. Para el extracto de H387 07[®] la concentración que generó un mayor número de células fue 250 mg/kg (figura 6), mientras que el extracto de vicis[®] lo hace en todas sus concentraciones (400, 800 y 1600 mg/kg) (figura 7), comparado con el CasNa (figuras 6 y 7), agente que se sabe promueve el aumento de progenitoras formadoras de colonias en sangre periférica. Ara-c no promueve un aumento en la formación de colonias ya que tiene el mismo número que el vehículo y el control (figuras 6 y 7).

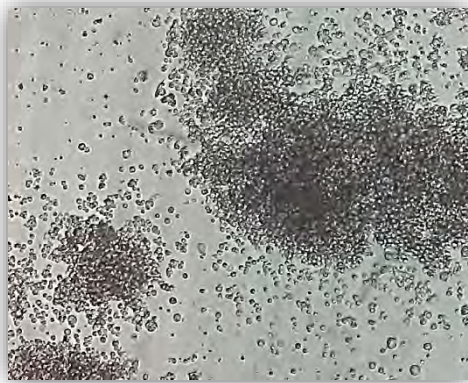
Colonia SP Control



Colonia SP Vehículo



Colonia SP CasNa



Colonia SP 8 mg/kg



Figura 4a. H387 07[®] tiene el potencial de formar colonias. Imagen representativa a 10x. Colonias formadas a partir de CMN de SP de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg).

Colonia SP 125 mg/kg



Colonia SP 250 mg/kg



Colonia SP Ara-c

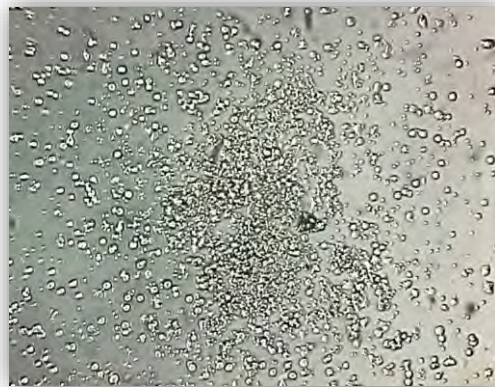
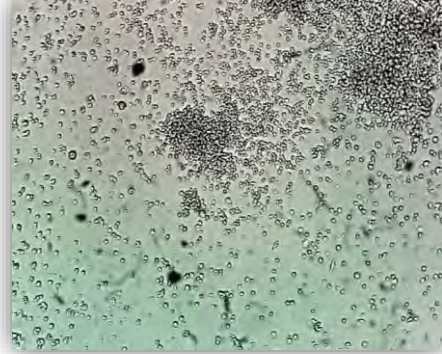


Figura 4b. H387 07[®] tiene el potencial de formar colonias. Imagen representativa a 10x. Colonias formadas a partir de CMN de SP de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg).

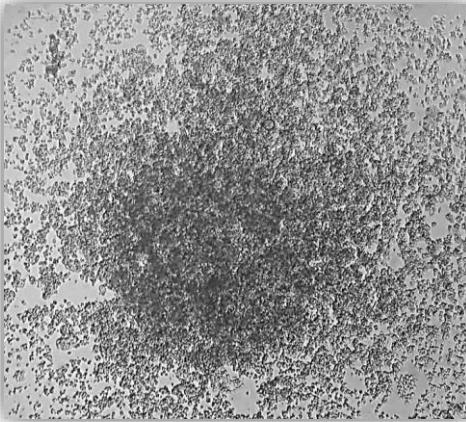
Colonia SP Control



Colonia SP Vehículo



Colonia SP CasNa



Colonia SP 400 mg/kg

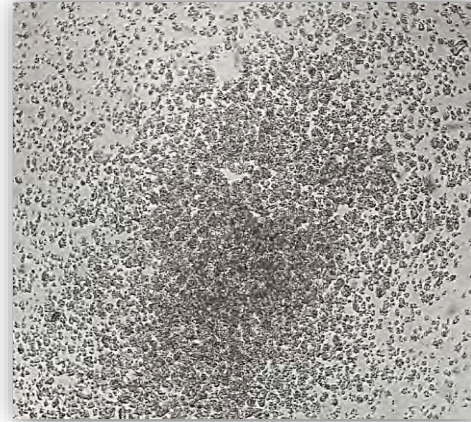
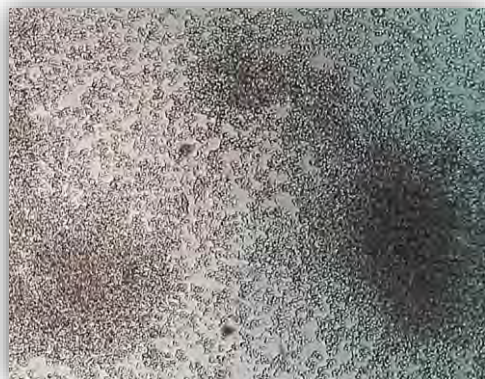


Figura 5a. viciis[®] tiene el potencial de formar colonias. Imagen representativa a 10x. Colonias formadas a partir de CMN de SP de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto viciis[®] en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg).

Colonia SP 800 mg/kg



Colonia SP 1600 mg/kg



Colonia SP Ara-c

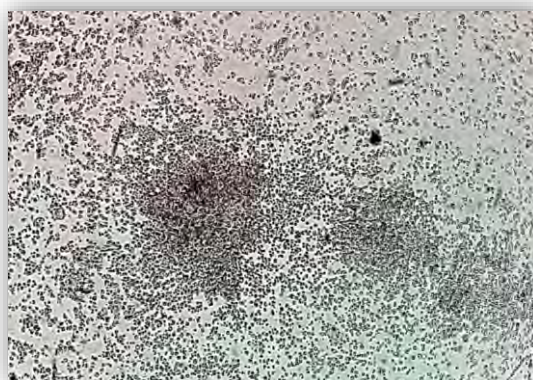


Figura 5b. vicis® tiene el potencial de formar colonias. Imagen representativa a 10x. Colonias formadas a partir de CMN de SP de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto vicis® en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg).

Colonias totales formadas provenientes de CMN de SP

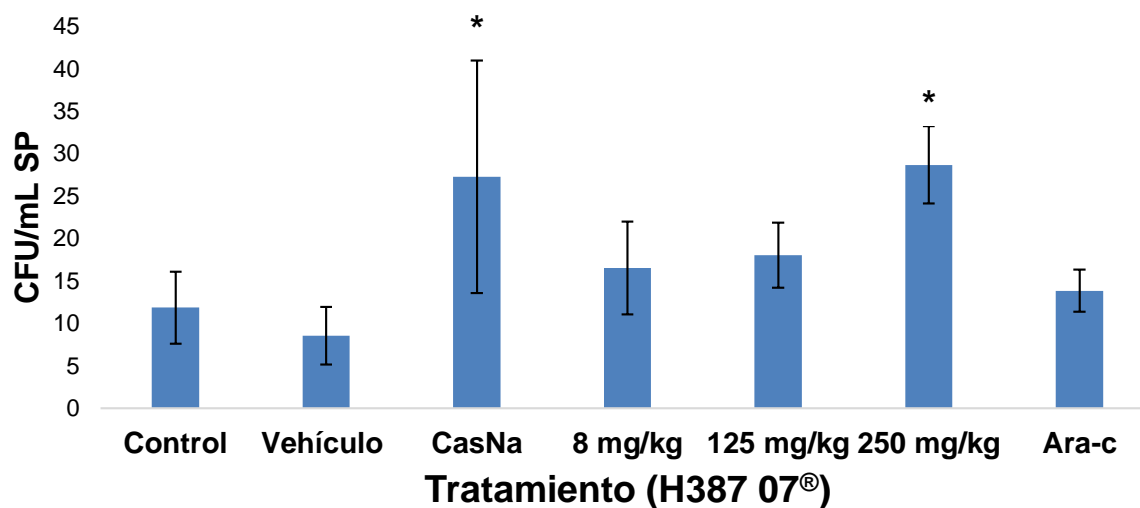


Figura 6. H387 07® aumenta el número de progenitores en sangre periférica. Número de unidades formadoras de colonias (CFU) totales por mL obtenidas de CMN de SP ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07® en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey $p < 0.05$.

Colonias totales formadas provenientes de CMN de SP

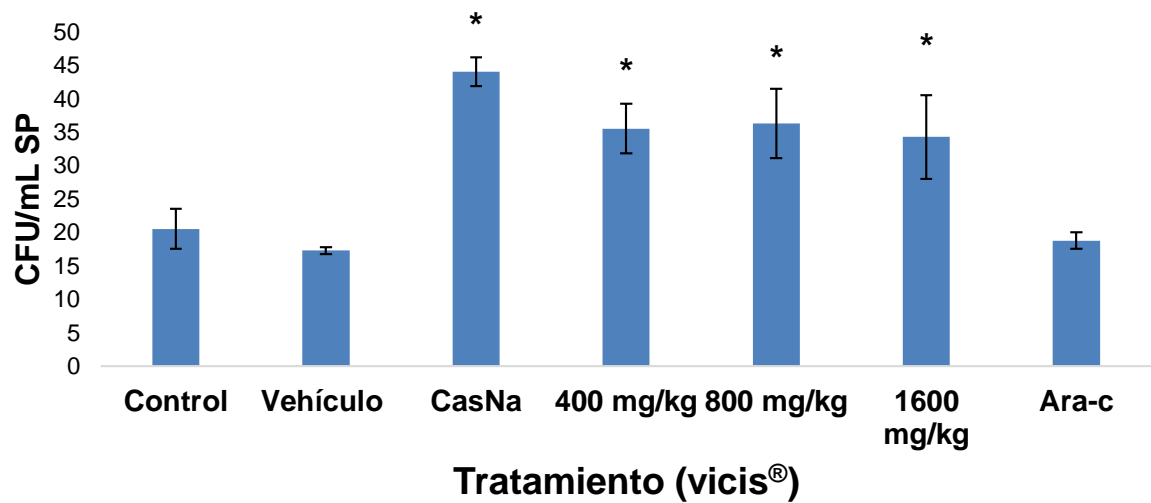


Figura 7. viciis® aumenta el número de progenitores en sangre periférica. Número de unidades formadoras de colonias (CFU) totales por mL obtenidas de CMN de SP de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto viciis® en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey $p < 0.05$.

Al analizar el linaje celular de las colonias formadas a partir de células mononucleadas provenientes de sangre periférica de ratones tratados H387 07[®], éstas presentaron un mayor número de colonias del linaje de macrófagos en la concentración de 250 mg/kg, del linaje granulocito-macrófono (GM) en las concentraciones de 8, 125 y 250 mg/kg, teniendo diferencias significativas con respecto al vehículo. Como se tenía reportado el CasNa tuvo un incremento hacia el linaje de granulocitos, en ningún tratamiento se encontraron colonias de linaje eritroide. Ara-c no tuvo incremento en ningún linaje, incluso se mantuvieron por debajo de los niveles del vehículo (figura 8).

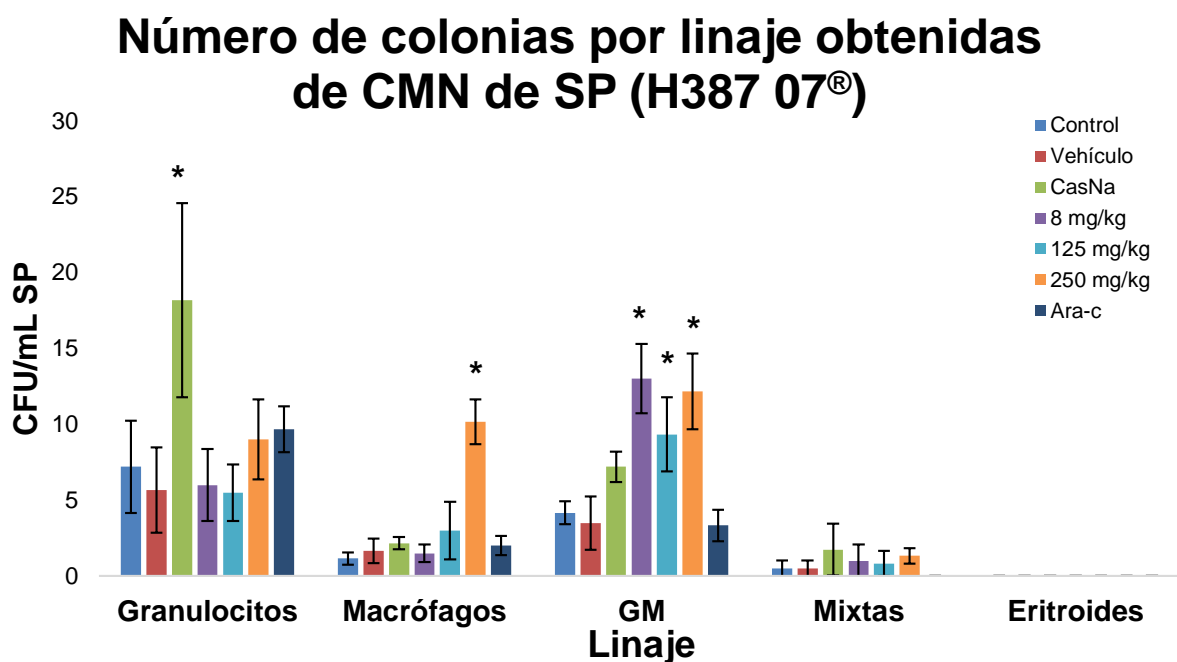


Figura 8. H387 07[®] aumenta el número de progenitores de diferentes linajes hematopoyéticos en sangre periférica. Linaje y número de unidades formadoras de colonias (CFU) obtenidas de CMN de SP por mL ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Al analizar el linaje celular de las colonias formadas de las células mononucleadas provenientes de sangre periférica de ratones tratados con el extracto de vicis[®], éstas presentaron un mayor número de colonias de granulocitos, macrófagos, granulocitos-macrófagos (GM) y colonias mixtas, destacando una diferencia significativa en todas las concentraciones (400, 800 y 1600 mg/kg) con respecto al vehículo, de la misma forma CasNa tuvo un incremento hacia el linaje de granulocitos, macrófagos y granulocitos-macrófagos. Ara-c no tuvo incremento en ningún linaje, incluso se mantuvieron por debajo del vehículo (figura 9).

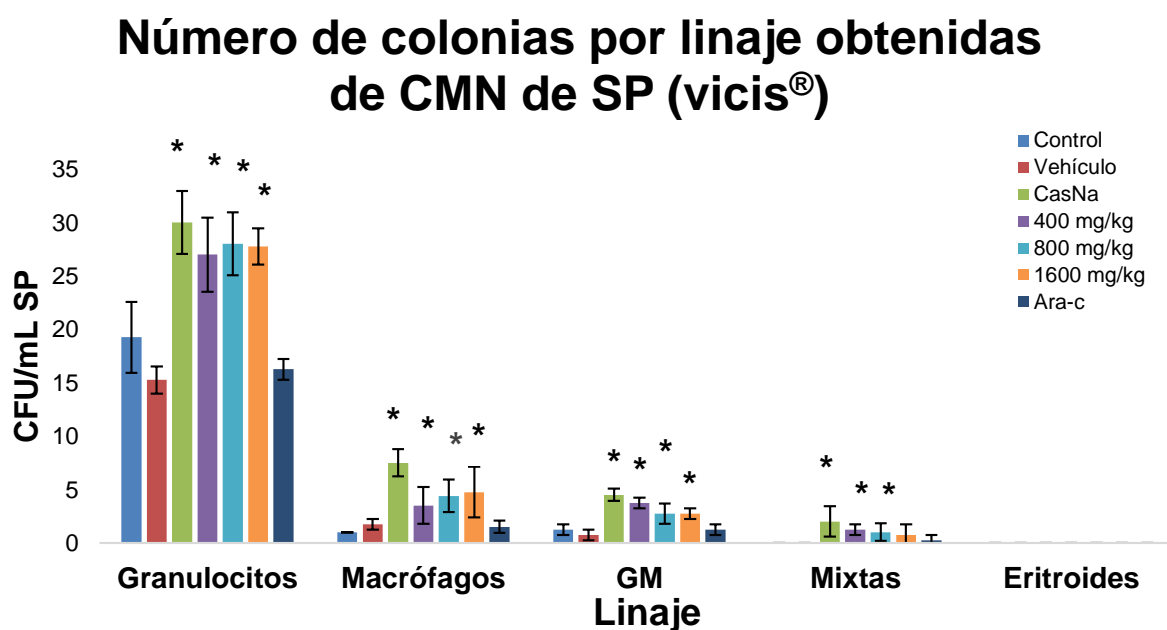


Figura 9. vicis[®] aumenta el número de progenitores de diferentes linajes hematopoyéticos en sangre periférica. Linaje y número de unidades formadoras de colonias (CFU) obtenidas de CMN de SP por mL de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto vicis[®] en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey $p < 0.05$.

7.3 La inoculación de los extractos de *Sechium* no alteran el número de células mononucleadas en la médula ósea de ratones sanos.

Los resultados mostraron que los extractos de H387 07[®] o vicis[®] no aumentaron significativamente el número de células mononucleadas en comparación al control, sin embargo, se vio una disminución de las células mononucleadas obtenidas de médula ósea en el grupo de Ara-c, como se reporta, éste anti leucémico daña a las células que se generan en médula ósea (figuras 10 y 11).

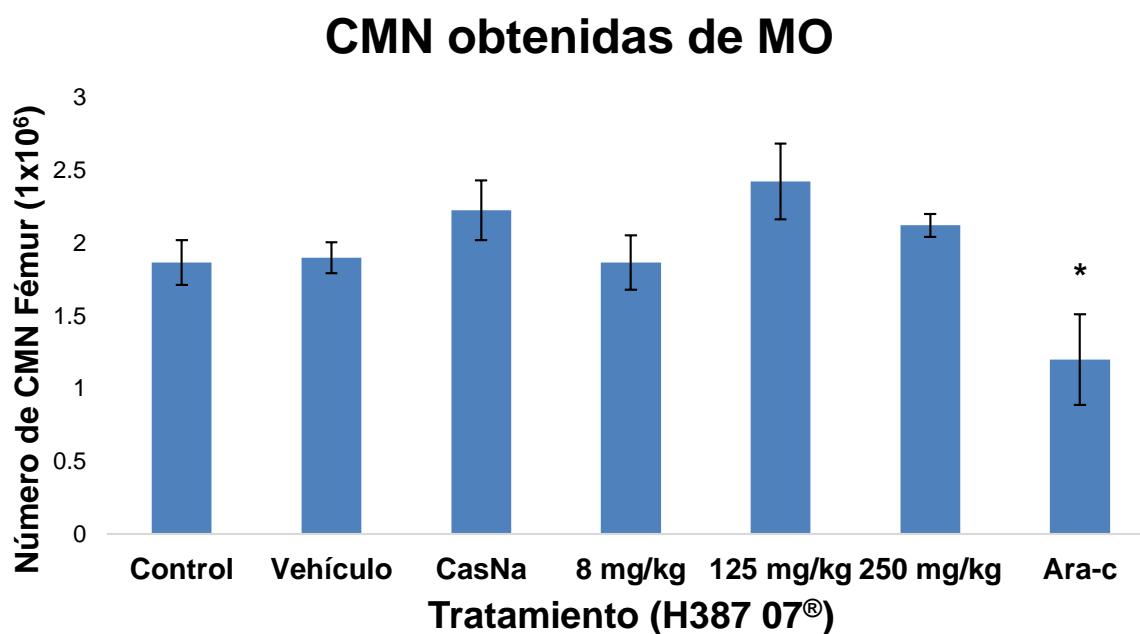


Figura 10. H387 07[®] no altera el número de CMN en MO. Número de CMN obtenidas de MO de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

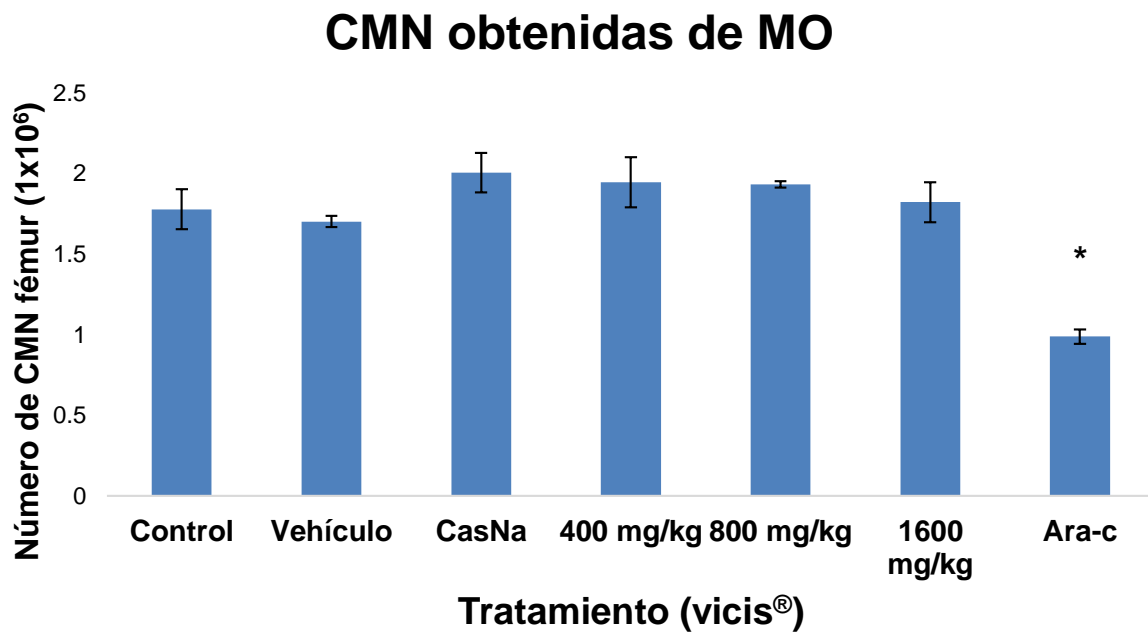


Figura 11. vici[®] no altera el número de CMN en MO. Número de CMN obtenidas de MO de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto vici[®] en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Se observó un aumento significativo en el número de colonias totales formadas provenientes de células mononucleadas de médula ósea de ratones tratados con el extracto de H387 07[®] a las concentraciones de 8 y 125 mg/kg (figura 12), mientras que vici[®], lo induce en todas las concentraciones (400, 800 y 1600 mg/kg) (figura 13), ambos en relación a vehículo, y lo hacen de forma similar al CasNa, agente que promueve la formación de colonias (figura 13). Ara-c no promueve el aumento en la formación de colonias, y que se queda en los niveles del vehículo (figuras 12 y 13).

Colonias totales formadas provenientes de CMN de MO

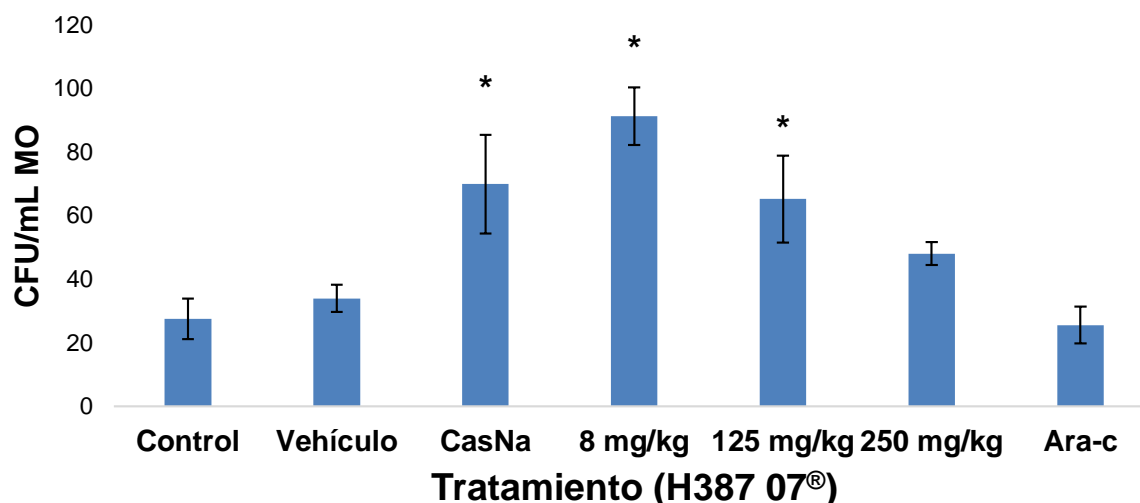


Figura 12. H387 07[®] aumenta el número de progenitores en MO. Número de unidades formadoras de colonias (CFU) totales por mL obtenidas de CMN de MO ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Colonias totales formadas provenientes de CMN de MO

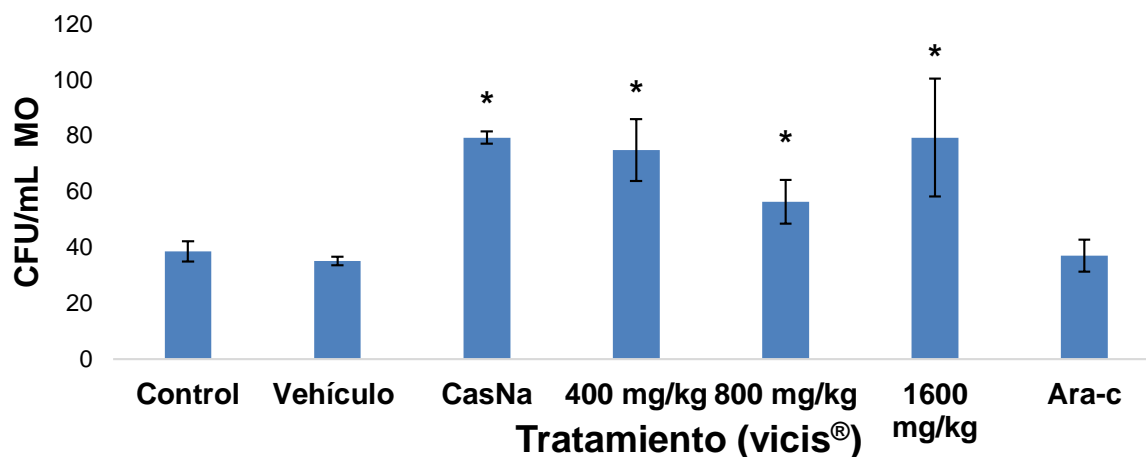


Figura 13. viciis[®] aumenta el número de progenitores en MO. Número de unidades formadoras de colonias (CFU) totales por mL obtenidas de CMN de MO ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto viciis[®] en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Al analizar el linaje celular de las colonias formadas de las células mononucleadas de médula ósea obtenidas de ratones tratados con H387 07[®], éstas presentaron un mayor número de colonias del linaje granulocitos en las concentraciones de 8, 125 y 250 mg/kg, del linaje macrófago a las concentraciones de 8 y 125 mg/kg y del linaje granulocito-macrófago (GM) a las concentraciones de 8, 125 mg/kg, teniendo diferencias con respecto al control sin tratamiento. Como se tenía reportado (Santiago *et al.*, 2015) CasNa tuvo un incremento hacia el linaje de granulocitos, macrófagos y granulocito-macrófago. Ara-c no tuvo incremento en ningún linaje, incluso se mantuvieron por debajo de los controles sin tratamiento (figura 14).

Número de colonias por linaje obtenidas de CMN de MO (H387 07[®])

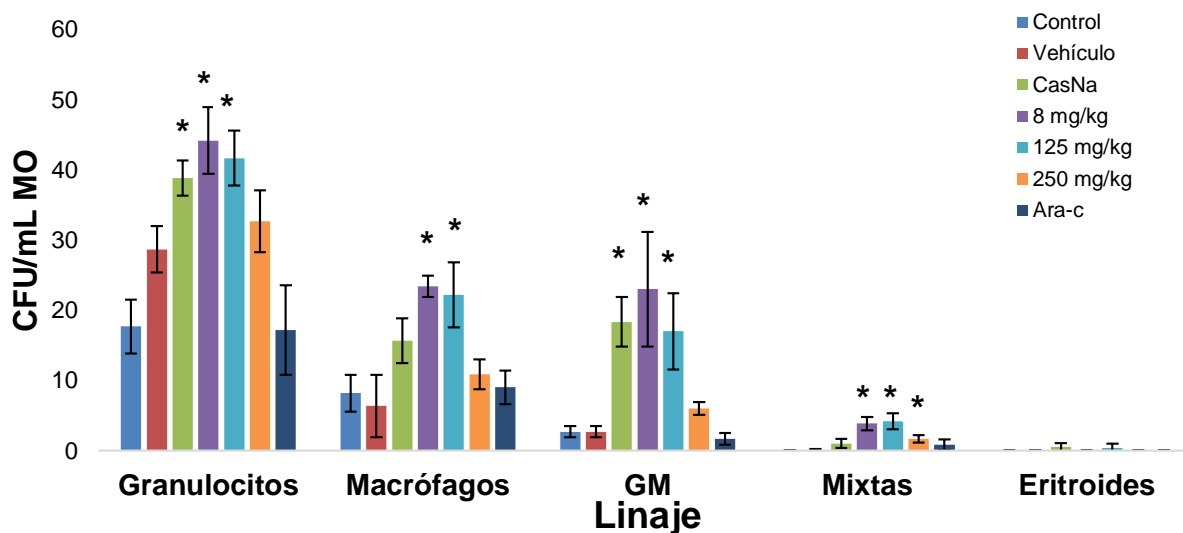


Figura 14. H387 07[®] promueve el aumento de distintos linajes hematopoyéticos. Linaje y número de unidades formadoras de colonias (CFU) obtenidas de CMN de MO por mL de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Al analizar el linaje celular de las colonias formadas de las células mononucleadas de médula ósea obtenidas de ratones tratados con vicis[®], éstas presentaron un mayor número de colonias del linaje granulocitos en todas las concentraciones (400, 800 y 1600 mg/kg), del linaje de macrófagos y granulocito-macrófago (GM) a la concentración de 1600 mg/kg, teniendo diferencias con respecto al vehículo. Como se tenía reportado CasNa tuvo un incremento en todos los linajes hematopoyéticos. Ara-c no tuvo incremento en ningún linaje, incluso se mantuvieron por debajo de los niveles del vehículo (Figura 15).

Número de colonias por linaje obtenidas de CMN de MO (vicis[®])

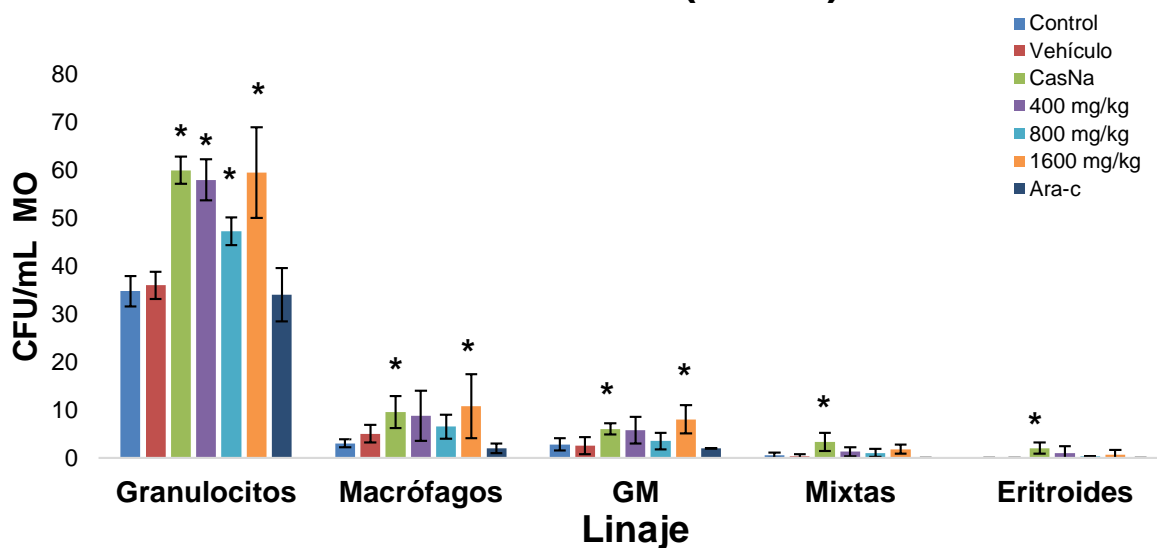


Figura 15. vicis[®] promueve el aumento de distintos linajes hematopoyéticos. Linaje y número de unidades formadoras de colonias (CFU) obtenidas de CMN de MO por mL de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto vicis[®] en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

7.4 Los extractos de *Sechium* no afectan los valores hematológicos en sangre periférica.

Al realizar el hemograma en sangre periférica de ratones tratados con los extractos de H387 07[®] y vicis[®], no se observaron alteraciones en el conteo de glóbulos blancos, por lo que no se ve afectado por ninguno de los extractos de H387 07[®] o vicis[®] comparado con el vehículo (figuras 16 y 17).

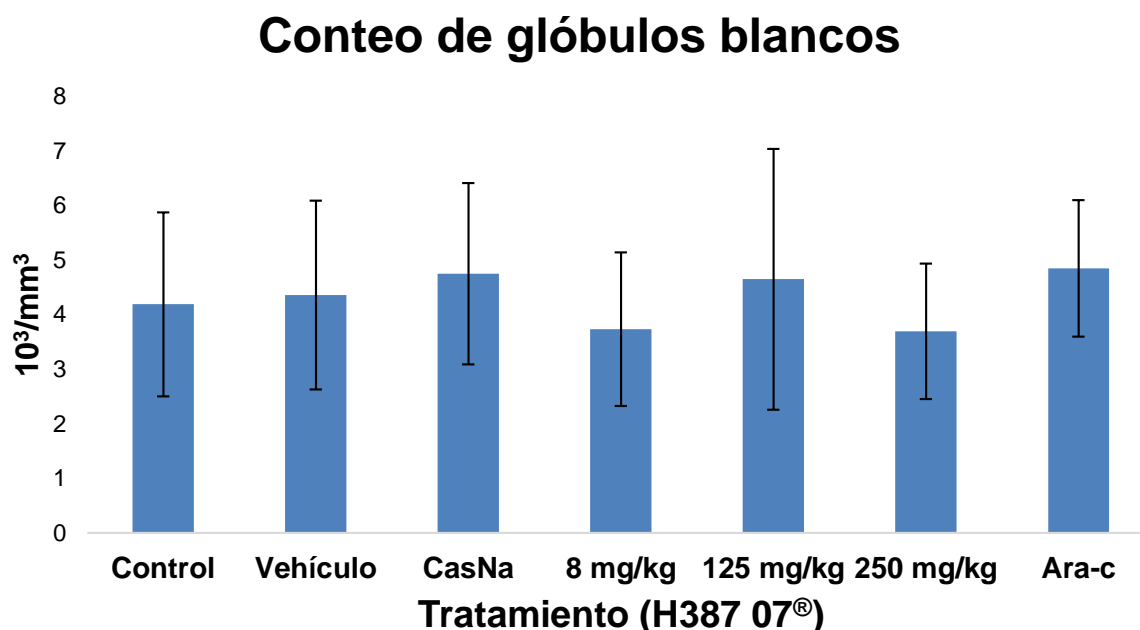


Figura 16. H387 07[®] no altera el conteo de glóbulos blancos. Conteo total de leucocitos en sangre periférica de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

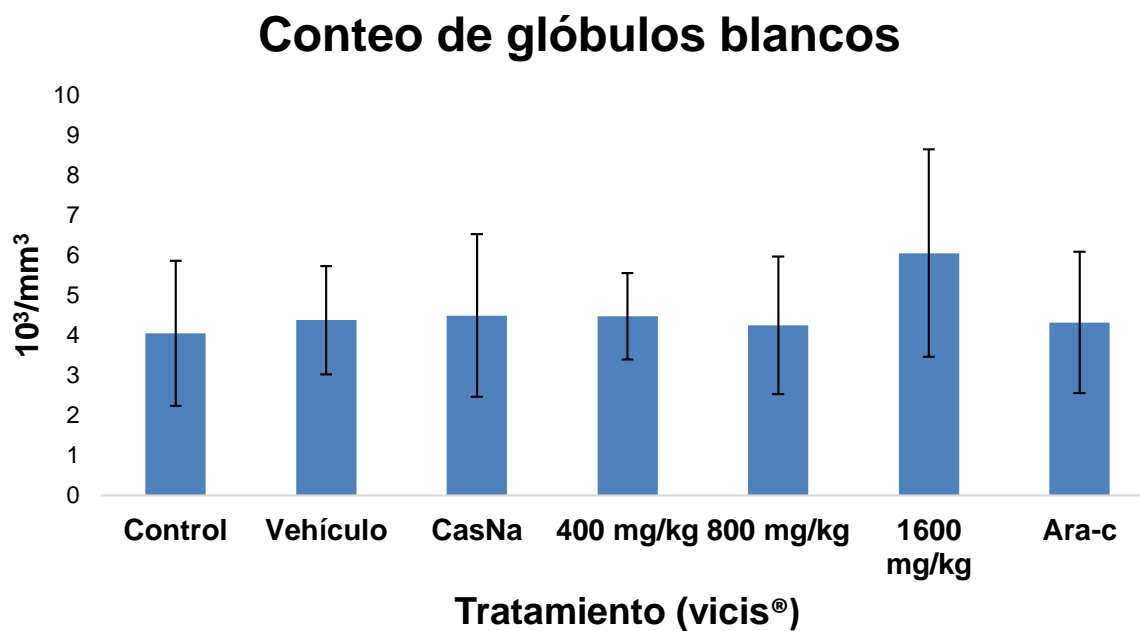


Figura 17. vici^s® no altera el conteo de glóbulos blancos. Conteo total de leucocitos en sangre periférica de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto vici^s® en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

En el conteo diferencial de glóbulos blancos en sangre periférica de ratones sanos tratados con los extractos de H387 07[®] o viciis[®], no se ve alterado después de la inoculación con los extractos comparado con el vehículo (figuras 18 y 19).

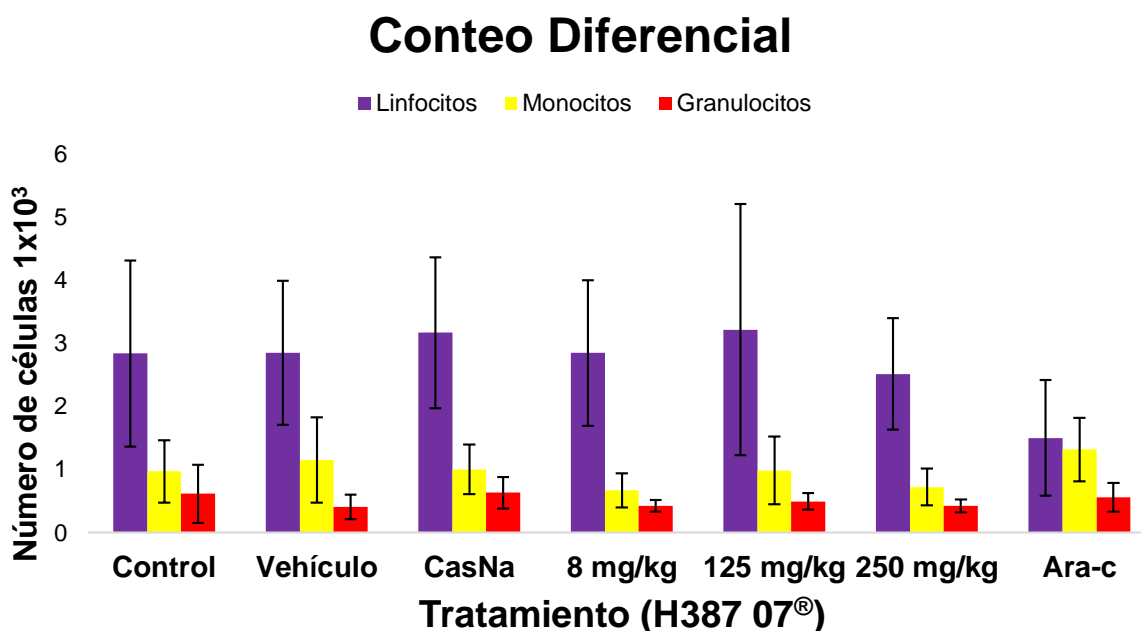


Figura 18. H387 07[®] no altera el conteo diferencial de leucocitos. Conteo diferencial de leucocitos en sangre periférica de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Conteo diferencial

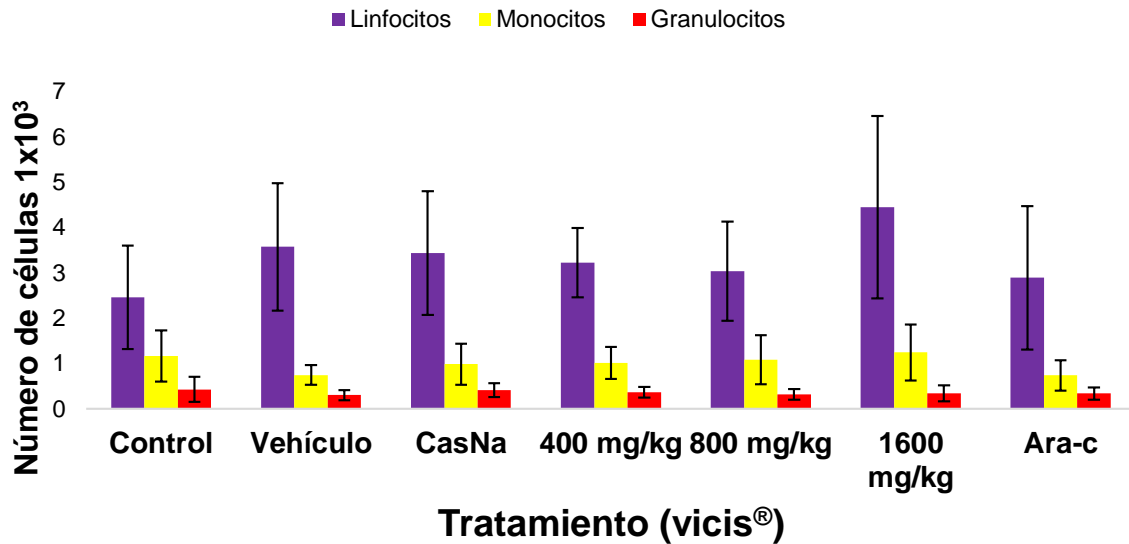


Figura 19. vici[®] no altera el conteo diferencial de leucocitos Conteo diferencial de leucocitos en sangre periférica de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto vici[®] en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Por otro lado, se encontró que el conteo de glóbulos rojos no se ve afectado por el extracto de H387 07[®] o vici[®] comparado con el vehículo (figuras 20 y 21).

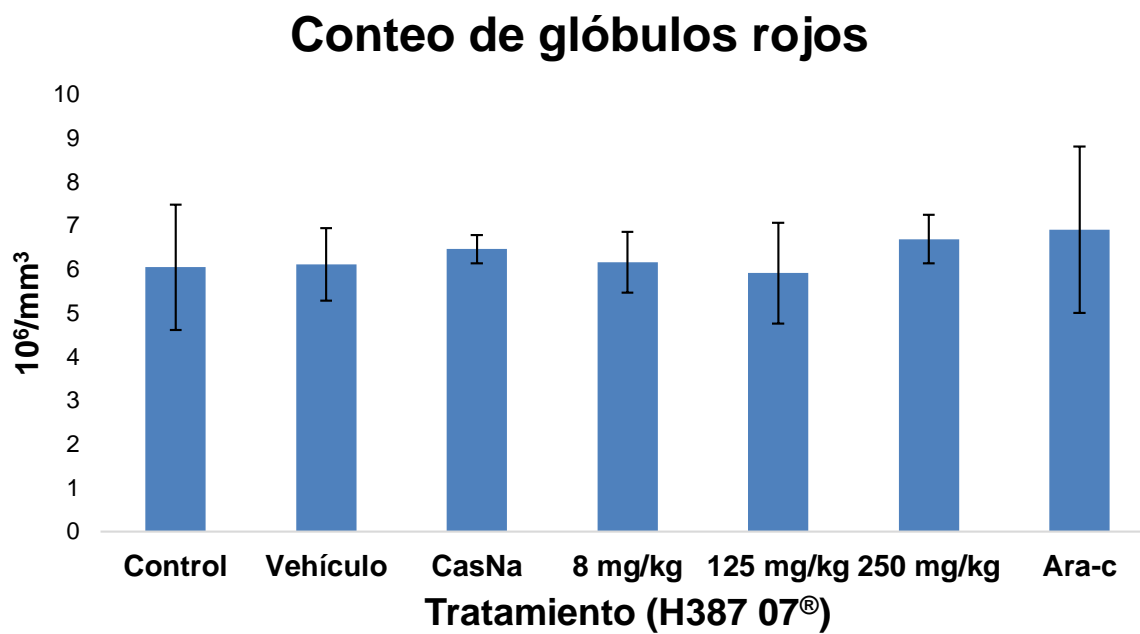


Figura 20. H387 07[®] no altera el conteo de glóbulos rojos. Conteo total de eritrocitos de sangre periférica de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Conteo de glóbulos rojos

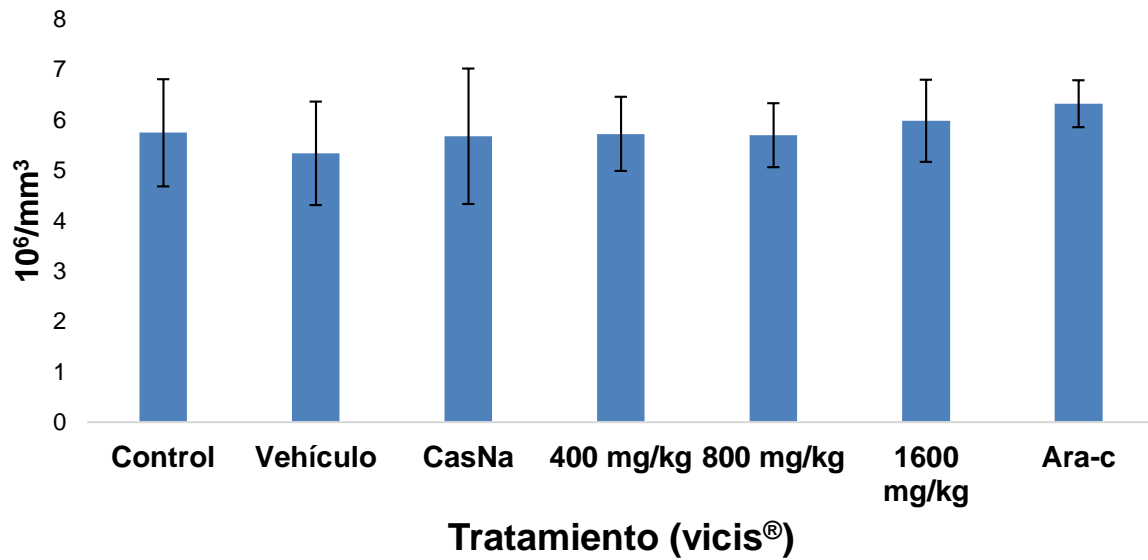


Figura 21. viciis® no altera el conteo de glóbulos rojos. Conteo total de eritrocitos en sangre periférica de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto viciis® en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey $p < 0.05$.

En el tratamiento con H387 07[®] y vicis[®], los parámetros eritrocitarios [como hemoglobina (Hb), Hematocrito (Hct), concentración de hemoglobina corpuscular media (HCMC), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), plaquetas (PTL), volumen plaquetario medio (VPM) y el índice de distribución eritrocitaria (IDE)], no fueron alterados por ninguno de los extractos (Tablas 1, 2 para H387 07[®], 3 y 4 para vicis[®]).

Tabla 1. Parámetros hematológicos de sangre periférica de ratones tratados con el extracto H387 07[®].

H387 07 [®]	Hb g/dL	Hct %	HCMC g/dL	VCM mm ³
Control	12.21 ± 2.69	30.12 ± 7.11	40.61 ± 3.78	50.07 ± 2.43
Vehículo	11.78 ± 1.27	30.47 ± 4.51	38.53 ± 1.71	50.69 ± 2.21
CasNa	12.42 ± 0.66	32.43 ± 2.45	38.9 ± 2.07	50.38 ± 4.03
8 mg/kg	12.16 ± 1.47	31.54 ± 4.15	38.57 ± 2.54	51.23 ± 2.97
125 mg/kg	11.89 ± 1.82	30.13 ± 5.78	39.32 ± 2.19	51.07 ± 1.8
250 mg/kg	12.9 ± 0.93	34.42 ± 3.46	38.28 ± 2.65	51.61 ± 3.15
Ara-c	13.03 ± 2.43	30.55 ± 4.27	38.08 ± 4.05	51.58 ± 2.87

Hb= Hemoglobina, Hct= Hematocrito, CHMC= Concentración de hemoglobina corpuscular media, VCM= Volumen corpuscular medio. Ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Tabla 2. Parámetros hematológicos de sangre periférica de ratones tratados con el extracto H387 07[®].

H387 07 [®]	HCM pg	PLAT	VPM	IDE
Control	20.23 ± 1.59	325.6 ± 140.4	7.31 ± 1.04	14.99 ± 1.31
Vehículo	19.56 ± 1.15	370.6 ± 198.5	7.48 ± 0.96	15.13 ± 0.83
CasNa	19.36 ± 1.22	409.5 ± 119.1	7.08 ± 0.92	15.60 ± 0.57
8 mg/kg	19.96 ± 0.63	517.4 ± 181.7	7.27 ± 1.14	15.57 ± 1.14
125 mg/kg	20.05 ± 1.16	503.4 ± 141.6	6.84 ± 1.04	15.54 ± 0.95
250 mg/kg	19.4 ± 1.57	574.4 ± 232.9	7.07 ± 0.84	15.21 ± 0.47
Ara-C	19.5 ± 1.76	512 ± 199.8	7.84 ± 1.07	15.68 ± 0.90

HCM= Hemoglobina corpuscular media, PLAT= Plaquetas, VPM= Volumen plaquetario medio, IDE= Índice de distribución eritrocitaria. Ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Tabla 3. Parámetros hematológicos de sangre periférica de ratones tratados con el extracto vicis®.

vicis®	Hb g/dL	Hct %	HCMC g/dL	VCM mm³
Control	11.25 ± 1.66	30.13 ± 6.02	37.66 ± 2.18	51.16 ± 2.56
Vehículo	11.62 ± 1.39	29.26 ± 4.59	40.02 ± 2.52	51.12 ± 1.45
CasNa	10.78 ± 2.59	27.15 ± 9.86	42.28 ± 8.95	52.5 ± 5.01
400 mg/kg	11.6 ± 0.93	30.65 ± 2.77	39.75 ± 2.68	49.62 ± 3.11
800 mg/kg	11.28 ± 1.65	29.28 ± 5.93	39.02 ± 2.58	51.5 ± 2.67
1600 mg/kg	11.05 ± 2.02	30.68 ± 3.8	37.9 ± 2.61	51.75 ± 3.45
Ara-C	12.77 ± 0.98	34.03 ± 3.6	37.75 ± 1.58	53.62 ± 2.66

Hb= Hemoglobina, Hct= Hematocrito, CHMC= Concentración de hemoglobina corpuscular media, VCM= Volumen corpuscular medio. Ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto vicis® en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Tabla 4. Parámetros hematológicos de sangre periférica de ratones tratados con el extracto vicis®.

vicis®	HCM pg	PLAT	VPM	IDE
Control	19.26 ± 1.03	397.1 ± 309.8	7.75 ± 1.05	14.41 ± 0.6
Vehículo	20.41 ± 1.00	258.5 ± 208.7	8.42 ± 1.38	15.76 ± 1.27
CasNa	22.56 ± 7.21	319.8 ± 260.2	8.3 ± 0.86	14.78 ± 1.47
400 mg/kg	19.7 ± 1.22	404.2 ± 223.2	7.72 ± 1.32	15.03 ± 0.94
800 mg/kg	20.1 ± 0.96	439.3 ± 246.2	7.07 ± 0.82	14.83 ± 1.05
1600 mg/kg	19.56 ± 0.69	422.1 ± 154.4	8.33 ± 2.22	14.1 ± 0.77
Ara-C	20.28 ± 0.87	477.7 ± 262.6	7.58 ± 0.75	14.53 ± 0.32

HCM= Hemoglobina corpuscular media, PLAT= Plaquetas, VPM= Volumen plaquetario medio, IDE= Índice de distribución eritrocitaria. Ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto vicis® en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

7.5 Los extractos de *Sechium* no causan alteraciones morfométricas en órganos como bazo y timo.

Con la finalidad de evaluar si el extracto de H387 07[®] o vicis[®] causan alteraciones en órganos, después del tratamiento, a los ratones se les extrajo bazo y timo, sin observar alguna alteración en los índices tímico y esplénico, color y forma de los órganos de los ratones tratados con H387 07[®] y vicis[®] en comparación al vehículo, sin embargo, como se tenía reportado el CasNa induce un incremento en índice esplénico (tablas 5 y 6).

Tabla 5. Índice esplénico y tímico de ratones tratados con H387 07[®]

H387 07 [®]	Índice esplénico	Índice tímico
Control	0.0054 ± 0.0008	0.0005 ± .0001
Vehículo	0.0050 ± 0.0011	0.0005 ± .0001
CasNa	0.0075* ± 0.0012	0.0005 ± 0.0001
8 mg/kg	0.0050 ± 0.0005	0.0004 ± 0.0001
125 mg/kg	0.0050 ± 0.0007	0.0004 ± 0.0002
250 mg/kg	0.0057 ± 0.0013	0.0004 ± 0.00009
Ara-C	0.0056 ± 0.0005	0.0004 ± 0.0001

Índices de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto H387 07[®] en diferentes concentraciones (8, 125, 250 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=15 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

Tabla 6. Índice esplénico y tímico de ratones tratados con vicis®

vicis®	Índice esplénico	Índice tímico
Control	0.0045 ± 0.0009	0.0003 ± .0001
Vehículo	0.0042 ± 0.0007	0.0003 ± .00005
CasNa	0.0071* ± 0.0005	0.0002 ± 0.00008
400 mg/kg	0.0050 ± 0.0007	0.0002 ± 0.00007
800 mg/kg	0.0047 ± 0.0012	0.0003 ± 0.00005
1600 mg/kg	0.0046 ± 0.0006	0.0003 ± 0.0001
Ara-C	0.0040 ± 0.0002	0.0003 ± 0.00002

Índices de ratones no tratados (control) e inoculados con 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos (vehículo), 1 mL del extracto vicis® en diferentes concentraciones (400, 800, 1600 mg/kg) y Ara-c (3 mg/kg) n=13 por grupo. Promedio y desviación estándar de 3 experimentos independientes. *Diferencia significativa respecto al vehículo prueba de Tukey p<0.05.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El proceso mediante el cual son generadas las células de la sangre, a partir de una HSC, es conocido como hematopoyesis el cual tiene lugar en la médula ósea (Yoder, 2004; Seita & Weissman, 2010), y es sustentada gracias a la existencia del microambiente propicio constituido por células estromales, quienes se encargan de producir matriz extracelular y una serie de moléculas llamadas citocinas, capaces de modular la proliferación, diferenciación, auto renovación y muerte de las células hematopoyéticas (Kaushansky, 2006; Buza, 2007; Sarrazin & Sieweke, 2011.). Las HPC, durante el estado de equilibrio se encuentran en sangre periférica en números muy bajos, sin embargo, bajo condiciones de estrés, tales como un sangrado, inflamación y daño al tejido hematopoyético o después de un tratamiento con citocinas y/o quimioterapia, las HPC son reclutadas desde la médula ósea a torrente sanguíneo aumentando su número en circulación, un evento conocido como movilización (Lapidot & Kollet, 2010).

Se ha demostrado que otras moléculas diferentes a las citocinas son capaces de regular la hematopoyesis. Biomoléculas de origen natural, con capacidad semejante a las citocinas como el ácido all-transretinoico (ATRA) (Fenaux *et al.*, 2001, 2007), derivados de las vitaminas D (Dusso *et al.*, 2005), E (Cherdyntseva *et al.*, 2005) y la caseína (Ramos *et al.*, 2004, 2008; Santiago *et al.*, 2015), sin embargo en los últimos años se ha propuesto que algunos compuestos de origen vegetal, estudiados desde la visión de la nutraceutica que son capaces de regular la hematopoyesis de forma positiva promoviendo la proliferación de las HPC (Bickford *et al.*, 2006).

El grupo de trabajo del laboratorio de Hematopoyesis y Leucemia de la FES Zaragoza, ha demostrado que extractos crudos del híbrido H387 07[®] y vicis[®] en estudios *in vitro*, no solo inhibían la proliferación de líneas leucémicas mieloides de ratón, sino que además de disminuir la viabilidad celular, inducían la formación de cuerpos apoptóticos, y promovían la fragmentación del ADN (Cadena Z., 2013; Aguíñiga *et al.*, 2015), ambas evidencias consideradas como excelencia para la detección de apoptosis (Taylor *et al.*, 2008; Iglesias-Guimaraes *et al.*, 2012). Por otro lado, en un modelo experimental *in vivo*, la administración vía intraperitoneal del extracto de vicis[®] no mostró tener un efecto tóxico en órganos al no alterar los índices esplénico, hepático y tímico en ratones sanos, si no por el contrario,

aumentó el índice mitótico de médula ósea teniendo el antecedente que reporta al aumento en el número de CMN en MO indica la activación de la hematopoyesis *in vivo* (Donahue, 1986), aumentando los niveles de citocinas como el G-CSF y el M-CSF (conocidas citocinas movilizadoras) (Awan *et al.*, 2012), proponiendo una posible actividad promotora de movilización de HPC (Gómez, 2013; Gonzáles, 2014). El conjunto de datos reportados anteriormente por nuestro grupo de trabajo nos llevó a preguntarnos si los extractos del híbrido H387 07[®] y vicis[®] podría estar induciendo la movilización de HPC en sangre periférica.

En el presente trabajo se muestra que los extractos del híbrido H387 07[®] y vicis[®], inoculados vía intraperitoneal a ratones sanos cada 48 horas durante 6 días aumentan significativamente el número de CMN en SP (Figura 2 y 3). Fenómeno que sugiere un evento de movilización de HPC (Wojakowski *et al.*, 2004).

La administración en ratones de los extractos del H387 07[®] y vicis[®], nos permitió detectar incremento del número de células progenitoras ya que aumentó el número de unidades formadoras de colonias a diferencia del Ara-c (Figura 6 y 7), un reconocido agente de citotoxicidad (Drenberg *et al.*, 2016), datos que indica movilización de HPC (Broxmayer *et al.*, 2006). Llama la atención que en la médula ósea también se encuentren incrementada la cantidad de HPC para el híbrido H387 07[®] en las concentraciones de 8 y 125 mg/kg, mientras que para vicis[®] lo hace en todas las concentraciones (400, 800 y 1600 mg/kg) (figuras 12 y 13), un efecto similar se observa en estudios donde se cultivaron las células obtenidas de MO, a partir de ratones inoculados con extractos de un remedio herbolario japonés denominado Juzen-taiho-to elaborado a base 10 diferentes especies de plantas (Hisha *et al.*, 1997). Este incremento de HPC en médula ósea, promovido por H387 07[®] o vicis[®], tiene relevancia fisiológica ya que estas células participan al menos en la respuesta inmune innata, por lo que puede ser de utilidad en pacientes inmunocomprometidos, tal como lo sugiere (Hisha *et al.*, 1997). Hasta donde conocemos, no existen reportes de que el extracto de una planta, movilice HPC a sangre periférica y además las incremente en médula ósea.

Los datos obtenidos a partir de estos cultivos de SP revelan que para el híbrido H387 07[®] induce a diferenciarse hacia poblaciones de macrófagos y granulocitos-macrófagos, mientras que para vicis[®] lo hace hacia el linaje de granulocitos, macrófagos, granulocitos-macrófagos y colonias mixtas principalmente (figuras 8 y 9), los principales efectores de la respuesta inmune y la primer línea de defensa contra microorganismos (Burg & Piillinger, 2001; Basset *et al.*, 2003; Manz & Boettcher, 2014). Esta capacidad de inducir la diferenciación mieloide correlaciona con la administración del extracto *Tinospora cordifolia* (Singh *et al.*, 2006), estudio indica que este extracto vegetal puede influir en la diferenciación mieloide de las células progenitoras de la médula ósea y el reclutamiento de macrófagos en respuesta a la administración de los extractos. El hecho de que el híbrido H387 07[®] y vicis[®], por un lado, aumenten los progenitores en sangre periférica es un evento de movilización, y por otro lado el aumento de progenitores en la médula ósea indica la activación de la hematopoyesis medular, como lo señala Liles y Taichmann (Liles *et al.*, 2003; Taichmann, 2005).

La inducción de colonias de granulocito-macrófagos por parte del híbrido H387 07[®] y principalmente de granulocitos por parte de vicis, podría ser debido a que los frutos del híbrido se potencializan, pues se generó a partir de una hibridación infraespecífica controlada proveniente del cruzamiento de varios grupos varietales de *Sechium edule* (GISeM, 2008, Cadena-Iñiguez & Arévalo-Galarza, 2011) de esta manera posee las mejores características de su progenitores, presentando una mayor cantidad de metabolitos secundarios como los flavonoides (Aguñiga, 2013), que son de gran importancia farmacológica ya que se les atribuyen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anti alérgicas, antivirales, antimutagénicas y anticancerígenas (Hirano *et al.*, 2001; Ren *et al.*, 2001; Benito *et al.*, 2002; Sen *et al.*, 2002; Aguiñiga *et al.*, 2015). También contienen cucurbitacinas, moléculas de interés biomédico, ya que se han descrito su actividad citotóxica en células tumorales a muy bajas concentraciones (Setzer & Setzer, 2003; Cadena-Iñiguez, 2005). Además del contenido de cucurbitacinas, que se encuentra en mayor proporción en el híbrido H387 07[®], responsable del sabor amargo en sus frutos, ya que vicis[®] en su estatus de variedad domesticada muestra bajos valores y carece de dicho sabor (Aguñiga, 2013).

La movilización clínica de HSC/HPC comúnmente se realiza mediante la administración de G-CSF. Se ha observado que en la médula ósea de individuos sanos la población de CMN se ve aumentada (Martínez *et al.*, 1999); la celularidad en sangre periférica aumenta considerablemente siendo enriquecida en la población de HPC (Pusic & DiPersio, 2008). Nosotros también mostramos que la inoculación del extracto del híbrido H387 07[®] y vicis[®] induce una actividad biológica similar a la obtenida con el G-CSF, ya que aumenta el número de CMN y células troncales/progenitoras hematopoyéticas en sangre periférica (Tesio *et al.*, 2011), por lo que nuestros extractos podrían tener propiedades como agentes movilizadores de progenitores y posiblemente de troncales hematopoyéticas, sin efectos sobre el conteo de glóbulos blancos (Figuras 16-19) algo que concuerda con su efecto antiinflamatorio, efecto interesante que se ve reflejado en el aumento de progenitores en SP pero sin tener un incremento en el número de leucocitos, efecto similar al visto con otras moléculas movilizadoras de HSC/HPC, que bajo ciertos regímenes aumentan el número de HSC/HPC sin alterar el conteo de leucocitos (Hoggat *et al.*, 2013) , por otro lado tampoco alteran el contenido de parámetros eritrocitarios como hemoglobina (Hb), Hematocrito (Hct), concentración de hemoglobina corpuscular media (HCMC), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), plaquetas (PTL), volumen plaquetario medio (VPM) y el índice de distribución eritrocitaria (IDE) (Figuras 20 y 21, tablas 1-4), tal como lo hace el G-CSF (Mueller *et al.*, 2013).

En la actualidad G-CSF es el movilizador convencional clínico, sin embargo no es efectivo en todos los pacientes (Tesio *et al.*, 2011; Pelus, 2008), por lo que aún sigue vigente la necesidad de encontrar nuevos agentes movilizadores. En el presente trabajo mostramos que los extractos del híbrido H387 07[®] y vicis[®] son capaces de aumentar el número de células progenitoras en sangre periférica a más del doble con respecto al vehículo, un dato semejante al cual lo puede hacer un movilizador convencional (Pelus & Fukuda, 2008), sin embargo para valorar su capacidad de movilización sería necesario comparar su efecto con respecto al G-CSF o AMD3100, así como su efecto combinado, con el fin de observar algún tipo de sinergia en la movilización. De tener un efecto similar al G-CSF o al AMD3100 ya sea por separado o en conjunto, los extractos del híbrido H387 07[®] y vicis[®] podrían ser tomados en cuenta como una alternativa en aquellos pacientes que no responden al G-CSF.

Aún desconocemos el mecanismo que utilizan los extractos del híbrido H387 07[®] y vicis[®] para regular la activación de la hematopoyesis medular y el incremento de progenitores mieloides en torrente sanguíneo. Sin embargo se sabe que la inoculación intraperitoneal en ratones sanos del extracto de vicis[®] eleva las concentraciones de factores estimuladores de colonias (G-CSF y M-CSF) en el suero (González, 2014), reconocidos movilizadores de HPC (Awan *et al.*, 2012). Lo anterior sugiere que estas citocinas podrían ser las responsables de la probable movilización inducida por los extractos del híbrido H387 07[®] y vicis[®], sin embargo aún falta investigar la participación de otras citocinas movilizadoras y corroborar mediante inmunofenotipo que tan primitivas son estas células movilizadas.

Finalmente, los extractos del híbrido H387 07[®] y vicis[®], totalmente diferentes a la familia de las citocinas, podrían abrir una opción distinta para que en un futuro moléculas de menor costo, puedan ser empleadas en pacientes que no responden al G-CSF o para obtener progenitores mieloides hematopoyéticos de sangre periférica, que podrían utilizarse en trasplantes, para la recuperación hematopoyética de pacientes que han sido sometidos a radio o quimioterapia.

9. CONCLUSIONES

- Los extractos de H387 07[®] y vici[®] aumentan el número de células mononucleadas en sangre periférica.
- Bajo nuestras condiciones de trabajo, los extractos de H387 07[®] y vici[®] movilizan células progenitoras hematopoyéticas funcionales a sangre periférica capaces de generar un incremento en el número de unidades formadoras de colonias.

10. PERSPECTIVAS

En el presente trabajo se mostró la capacidad de los extractos de H387 07[®] y vicis[®] para inducir movilización de células progenitoras hematopoyéticas a sangre periférica mediante el aumento de las unidades formadoras de colonia, por lo cual estos extractos podrían ser utilizados como alternativas terapéuticas de bajo costo para la movilización de células progenitoras hematopoyéticas, sin embargo aún faltan algunos estudios para demostrar todo el potencial que pueden presentar como movilizadores, por lo cual es recomendable en trabajos posteriores:

- Identificar mediante el inmunofenotipo “LSK” que tan primitivas son las células movilizadas a sangre periférica por los extractos H387 07[®] y vicis[®]
- Evaluar la diferenciación hacia los principales linajes hematopoyéticos de las células hematopoyéticas movilizadas a sangre periférica por los extractos de H387 07[®] y vicis[®]

11. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelnour, A., Ramírez, C., & Engelmann, F. (2002). Micropropagación de chayote (*Sechium edule* jacq. Sw.) A partir de brotes vegetativos. *Agronomía mesoamericana*, 13(2), 147-151.
- Aguiñiga Sánchez, I. (2013). Potencial antileucémico in vitro de extractos de cuatro genotipos de *Sechium* spp.(Cucurbitaceae). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, México.
- Aguiñiga-Sánchez, I., Soto-Hernández, M., Cadena-Iñiguez, J., Ruíz-Posadas, L. D. M., Cadena-Zamudio, J. D., González-Ugarte, A. K., & Santiago-Osorio, E. (2015). Fruit Extract from A *Sechium edule* Hybrid Induce Apoptosis in Leukaemic Cell Lines but not in Normal Cells. *Nutrition and cancer*, 67(2), 250-257.
- Arai, F., Yoshihara, H., Hosokawa, K., Nakamura, Y., Gomei, Y., Iwasaki, H., & Suda, T. (2009). Niche regulation of hematopoietic stem cells in the endosteum. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1176(1), 36-46.
- Ardavín, C., del Hoyo, G. M., Martín, P., Anjuère, F., Arias, C. F., Marín, A. R., & Hernández, H. (2001). Origin and differentiation of dendritic cells. *Trends in immunology*, 22(12), 691-700.
- Awan, F. T., Kochuparambil, S. T., DeRemer, D., Cumpston, A., Craig, M., Jillella, A., & Hamadani, M. (2012). Plerixafor salvage is safe and effective in hard-to-mobilize patients undergoing chemotherapy and filgrastim-based peripheral blood progenitor cell mobilization. *Journal of oncology*, 2012.
- Baba, Y., Pelayo, R., & Kincade, P. W. (2004). Relationships between hematopoietic stem cells and lymphocyte progenitors. *Trends in immunology*, 25(12), 645-649.
- Bakanay, Ş. M., & Demirer, T. (2012). Novel agents and approaches for stem cell mobilization in normal donors and patients. *Bone marrow transplantation*, 47(9), 1154-1163.
- Barquinero Máñez, J. (2009). Células madre hematopoyéticas. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. En : Pablo F., Cascales M., 2009. Celulas madre y terapiaregenerativa. Edición Real Academia Nacional de Farmacia. Madrid. 61-81. ISBN 978-84-936890-6-3.

- Barreda, D. R., Hanington, P. C., & Belosevic, M. (2004). Regulation of myeloid development and function by colony stimulating factors. *Developmental & Comparative Immunology*, 28(5), 509-554.
- Barton, M. B., Jacob, S., Shafiq, J., Wong, K., Thompson, S. R., Hanna, T. P., & Delaney, G. P. (2014). Estimating the demand for radiotherapy from the evidence: a review of changes from 2003 to 2012. *Radiotherapy and Oncology*, 112(1), 140-144.
- Basset, C., Holton, J., O'Mahony, R., & Roitt, I. (2003). Innate immunity and pathogen–host interaction. *Vaccine*. 21: S12-S23.
- Bedir, E., Pugh, N., Calis, I., Pasco, D. S., & Khan, I. A. (2000). Immunostimulatory effects of cycloartane-type triterpene glycosides from astragalus species. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23(7), 834-837.
- Beltrán, G. A. (1994). *Antropología médica: sus desarrollos teóricos en México*. (Vol. 8). Fondo de Cultura Económica USA.
- Bellantuono, I. (2004). Haemopoietic stem cells. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 36(4), 607-620.
- Benito, S., Lopez, D., Saiz, M. P., Buxaderas, S., Sanchez, J., Puig-Parellada, P., & Mitjavila, M. T. (2002). A flavonoid-rich diet increases nitric oxide production in rat aorta. *British journal of pharmacology*, 135(4), 910-916.
- Benveniste, P., Frelin, C., Janmohamed, S., Barbara, M., Herrington, R., Hyam, D., & Iscove, N. N. (2010). Intermediate-term hematopoietic stem cells with extended but time-limited reconstitution potential. *Cell Stem Cell*, 6(1), 48-58.
- Bickford, P. C., Tan, J., Shytle, R. D., Sanberg, C. D., El-Badri, N., & Sanberg, P. R. (2006). Nutraceuticals synergistically promote proliferation of human stem cells. *Stem cells and development*, 15(1), 118-123.
- Brawley, O. W. (2016). The cancer registry as a cancer-control tool. *Cancer*, 122(9), 1343-1345.
- Broxmeyer, H. E., Youn, B. S., Kim, C., Hangoc, G., Cooper, S., & Mantel, C. (2001). Chemokine Regulation of Hematopoiesis and the Involvement of Pertussis Toxin-Sensitive Gαi Proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 938(1), 117-128.

- Broxmeyer, H. E., Srouf, E., Orschell, C., Ingram, D. A., Cooper, S., Plett, P. A., & Yoder, M. C. (2006). [18]-Cord Blood Stem and Progenitor Cells. *Methods in enzymology*, 419, 439-473.
- Bonig, H., & Papayannopoulou, T. (2013). Hematopoietic stem cell mobilization: updated conceptual renditions. *Leukemia*, 27(1), 24-31.
- Borish, L. C., & Steinke, J. W. (2003). 2. Cytokines and chemokines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111(2), S460-S475.
- Burg, N. D., & Pillinger, M. H. (2001). The neutrophil: function and regulation in innate and humoral immunity. *Clinical immunology*, 99(1), 7-17.
- Burger, R. A., Torres, A. R., Warren, R. P., Caldwell, V. D., & Hughes, B. G. (1997). *Echinacea* induced cytokine production by human macrophages. *International journal of immunopharmacology*, 19(7), 371-379.
- Buza-Vidas, N. (2007). Cytokine regulation of hematopoietic stem cells and lymphopoiesis. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina de la Universidad de Lund, con la aprobación de la Facultad de Medicina de la Universidad de Lund. USA.
- Cadena-Iñiguez, J. (2005). Caracterización morfoestructural, fisiológica, química y genética de diferentes tipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw). Tesis Doctoral. Colegio Postgraduados. México.
- Cadena-Iñiguez, J., Arévalo Galarza, M., de Lourdes, C. (2011). Las variedades del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw) y su comercio mundial. México. Editorial Colegio de Postgraduados. 15-58
- Cadena-Iñiguez, J., Soto-Hernández, M., Torres-Salas, A., Aguiñiga-Sánchez, I., Ruiz-Posadas, L., Rivera-Martínez, A. R., Santiago-Osorio, E. (2013). The anti-proliferative effect of chayote varieties (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) on tumour cell lines. *Journal of Medical Plant Research*, 7, 455-446.
- Cadena Z. (2013). Inducción de la fragmentación del DNA en las líneas celulares leucémicas y normales de ratón por extractos de *Sechium* spp. Tesis de Licenciatura. UNAM. México
- Can, A. (2008). Haematopoietic stem cells niches: interrelations between structure and function. *Transfusion and Apheresis Science*, 38(3), 261-268.

- Cashen, A. F., Lazarus, H. M., & Devine, S. M. (2007). Mobilizing stem cells from normal donors: is it possible to improve upon G-CSF?. *Bone marrow transplantation*, 39(10), 577-588.
- Cao, Z. R., Zhou, W. Y., & Chen, S. L. (1999). The Study on Influence of Shiquan Dabu Tang on Immunity in Mice. *Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine*, 6(10), 34-35.
- Carson, R. T., & Vignali, D. A. (1999). Simultaneous quantitation of 15 cytokines using a multiplexed flow cytometric assay. *Journal of immunological methods*, 227(1), 41-52.
- Cella, M., Sallusto, F., & Lanzavecchia, A. (1997). Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells. *Current opinion in immunology*, 9(1), 10-16.
- Challen, G. A., Boles, N. C., Chambers, S. M., & Goodell, M. A. (2010). Distinct hematopoietic stem cell subtypes are differentially regulated by TGF- β 1. *Cell Stem Cell*, 6(3), 265-278.
- Chan, K., Yao, T., Jones, B., Zhao, J., Ma, F., Leung, C., Lau, S., Yip, M., Ngan, H., (2011). The use of Chinese herbal medicine to improve quality of life in women undergoing chemotherapy for ovarian cancer: a double-blind placebo-controlled randomized trial with immunological monitoring. *Annals of Oncology*. 22, 2241–2249
- Chen, Y., Zhu, B., Zhang, L., Yan, S., Li, J., (2009). Experimental study of the bone marrow protective effect of a traditional Chinese compound preparation. *Phytotherapy Research*. 23, 823–826.
- Cheng J. F., Zhang Y., He J. R. (2003). Astragalus polysaccharides on mice chemotherapy white blood cells and bone marrow nucleated cells reduced. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 5: 378–380.
- Cherdyntseva, N., Shishkina, A., Butorin, I., Murase, H., Gervas, P., & Kagiya, T. V. (2005). Effect of tocopherol-monoglucoside (TMG), a water-soluble glycosylated derivate of vitamin E, on hematopoietic recovery in irradiated mice. *Journal of radiation research*, 46(1), 37-41.
- Cheshier, S. H., Morrison, S. J., Liao, X., & Weissman, I. L. (1999). In vivo proliferation and cell cycle kinetics of long-term self-renewing hematopoietic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(6), 3120-3125.

- Chotinantakul, K., & Leeansaksiri, W. (2012). Hematopoietic stem cell development, niches, and signaling pathways. *Bone marrow research*, 2012.
- Cordell, G. A., Kinghorn, A. D., & Pezzuto, J. M. (1993). Separation, structure elucidation and bioassay of cytotoxic natural products. *Bioactive natural products: detection, isolation and structure elucidation*. CRC Press. London. 31: 196-219
- Ding, Z. C., Lu, X., Yu, M., Lemos, H., Huang, L., Chandler, P., & Blazar, B. R. (2014). Immunosuppressive myeloid cells induced by chemotherapy attenuate antitumor CD4⁺ T-cell responses through the PD-1–PD-L1 axis. *Cancer research*, 74(13), 3441-3453.
- Diré, G., Lima, E., Gomes, M., Moreno, S., Faria, M., Jales, R., Bernardo-Filho, M. (2003). Evaluation of the biological effects of a natural extract of Chayotte (*Sechium edule*): a molecular and cellular analysis. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2, 249-253.
- Drenberg, C. D., Hu, S., Li, L., Buelow, D. R., Orwick, S. J., Gibson, A. A., & Baker, S. D. (2016). ABCC4 Is a Determinant of Cytarabine-Induced Cytotoxicity and Myelosuppression. *Clinical and translational science*, 9(1), 51-59.
- Donahue, R. E., Wang, E. A., Stone, D. K., Kamen, R., Wong, G. G., Sehgal, P. K. & Clark, S. C. (1986). Stimulation of haematopoiesis in primates by continuous infusion of recombinant human GM-CSF.
- Dusso A. S., Brown A. j. & Slatopolsky E. Vitamin D. *American Journal of Renal Physiology*. 2005; 298: F8-F28.
- Dygai, A., Goldberg, V., Artamonov, A., Bekarev, A., Vereschagin, E., Madonov, P., Skurikhin, E., Pershina, O., Andreeva, T., Khmelevskaya, E. (2012). Effects and mechanisms of memopoiesis-stimulating activity of immobilized oligonucleotides under conditions of cytostatic myelosuppression. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 152, 451–455.
- Fenaux, P., Chomienne, C., & Degos, L. (2001, January). All-trans retinoic acid and chemotherapy in the treatment of acute promyelocytic leukemia. In *Seminars in hematology* (Vol. 38, No. 1, pp. 13-25). WB Saunders.
- Fenaux, P., Wang, Z. Z., & Degos, L. (2007). Treatment of acute promyelocytic leukemia by retinoids. In *Acute Promyelocytic Leukemia* (pp. 101-128). Springer Berlin Heidelberg.

- Firdous, S., Sravanthi, K., Debnath, R., & Neeraja, K. (2012). Protective effect of ethanolic extract and its ethylacetate and n-butanol fractions of *Sechium edule* fruits against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *Internacional Journal of Pharmacy of Pharmaceutical Science*, 4(1), 354-359.
- Flores-Figueroa E. (2011). El nicho de las células troncales, en: Pelayo R, Santa-Olalla J, Velasco I. 2011. Células troncales y medicina regenerativa. Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial México. 176-94. ISBN 978-607-02-2568-0
- Forgacova, K., & Necas, E. (2013). Availability of haematopoietic niches for transplanted stem cells. *Folia biologica*, 59(1), 1.
- Giles, F. J., Keating, A., Goldstone, A. H., Avivi, I., Willman, C. L., & Kantarjian, H. M. (2002). Acute myeloid leukemia. *ASH Education Program Book*, 2002(1), 73-110.
- Gilmore, G.L., DePasquale, D.K., Shadduck, R.K. (1999). Protective effects of BB-10010 treatment on chemotherapy-induced neutropenia in mice. *Experimental Hematology*. 27, 195–202.
- GISeM (Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México). 2008. Colecta, caracterización y conservación de *Sechium* spp. Informe en extenso. Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos-SAGARPA. México.
- Greenbaum, A. M., & Link, D. C. (2011). Mechanisms of G-CSF-mediated hematopoietic stem and progenitor mobilization. *Leukemia*, 25(2), 211-217.
- Greinix, H. T., & Worel, N. (2009). New agents for mobilizing peripheral blood stem cells. *Transfusion and Apheresis Science*, 41(1), 67-71.
- Gómez, G. G. (2013). Valoración de parámetros bioquímicos y hematológicos en ratones sanos tratados con extractos de *Sechium* spp. Tesis de Licenciatura. México D.F. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
- González U. A. (2014). Producción diferencial de citocinas promotoras e inhibitoras de la proliferación mieloide en el sobrenadante de cultivos de la línea celular wehi-3, células de médula ósea de ratón normal y suero de ratones tratados con extractos de *Sechium* spp. Tesis de Licenciatura. México D.F. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

- Gu, X., Xu, Z. Y., Zhu, L. Y., Wang, L. F., Li, K., & Pei, Q. (2013). Dual control of Shuanghuang Shengbai granule on upstream and downstream signal modulators of CyclinD-CDK4/6 signaling pathway of cell cycle in Lewis-bearing mice with cyclophosphamide-induced myelosuppression. *OncoTargets and therapy*, 6, 199.
- Hao, Q. L., Thiemann, F. T., Petersen, D., Smogorzewska, E. M., & Crooks, G. M. (1996). Extended long-term culture reveals a highly quiescent and primitive human hematopoietic progenitor population. *Blood*, 88(9), 3306-3313.
- Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O., & Kondo, K. (2001). Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 47(5), 357-362.
- Hisha, H., Yamada, H., Sakurai, M. H., Kiyohara, H., Li, Y., Yu, C. Z., & Komatsu, Y. (1997). Isolation and Identification of Hematopoietic Stem Cell-Stimulating Substances From Kampo (Japanese Herbal) Medicine, Juzen-Taiho-To. *Blood*, 90(3), 1022-1030.
- Ho, C. Y., Lau, C. B., Kim, C. F., Leung, K. N., Fung, K. P., Tse, T. F., & Chow, M. S. (2004). Differential effect of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) extract on cytokine production by murine lymphocytes in vitro. *International immunopharmacology*, 4(12), 1549-1557.
- Hou, W., Zhou, Y.M. (2009). Function of traditional Chinese medicine in cancer radiotherapy and its prospect. *World Science and Technology*, 11(5), 742-746.
- Hsu, H.Y., Ho, Y.H., Lin, C.C. (1996). Protection of mouse bone marrow by Si-WU-Tang against whole body irradiation. *Journal of Ethnopharmacology*. 52, 113–117.
- Huang, G. C., Wu, L. S., Chen, L. G., Yang, L. L., & Wang, C. C. (2007). Immuno-enhancement effects of Huang Qi Liu Yi Tang in a murine model of cyclophosphamide-induced leucopenia. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2), 229-235.
- Hughes-Jones, N. C., Wickramasinghe, S. N., & Hatton, C. (2008). *Lecture Notes Haematology*. Ed. Wiley-Blackwell Publications, London 225 pp.

- Iglesias-Guimaraes, V., Gil-Guiñon, E., Gabernet, G., García-Belinchón, M., Sánchez-Osuna, M., Casanelles, E., & Yuste, V. J. (2012). Apoptotic DNA degradation into oligonucleosomal fragments, but not apoptotic nuclear morphology, relies on a cytosolic pool of DFF40/CAD endonuclease. *Journal of Biological Chemistry*, 287(10), 7766-7779.
- Ihle, J. N., & Kerr, I. M. (1995). Jaks and Stats in signaling by the cytokine receptor superfamily. *Trends in Genetics*, 11(2), 69-74.
- Iwasaki, H., & Suda, T. (2010). Hematopoietic stem cells and their niche. In *Hematopoietic Stem Cell Biology*. Humana Press 37-55.
- Jayaprakasam, B., Seeram, N. P., & Nair, M. G. (2003). Anticancer and antiinflammatory activities of cucurbitacins from *Cucurbitaandreaana*. *Cancer letters*, 189(1), 11-16.
- Johns, J. L., & Christopher, M. M. (2012). Extramedullary hematopoiesis: a new look at the underlying stem cell niche, theories of development, and occurrence in animals. *Veterinary Pathology Online*, 49(3), 508-523.
- Kaushansky, K. (2006). Lineage-specific hematopoietic growth factors. *New England Journal of Medicine*, 354(19), 2034-2045.
- Kiel, M. J., & Morrison, S. J. (2008). Uncertainty in the niches that maintain haematopoietic stem cells. *Nature Reviews Immunology*, 8(4), 290-301.
- Klein, G. (1995). The extracellular matrix of the hematopoietic microenvironment. *Experientia*, 51(9-10), 914-926.
- Kondo, M., Scherer, D. C., King, A. G., Manz, M. G., & Weissman, I. L. (2001). Lymphocyte development from hematopoietic stem cells. *Current opinion in genetics & development*, 11(5), 520-526.
- Kondo, M., Wagers, A. J., Manz, M. G., Prohaska, S. S., Scherer, D. C., Beilhack, G. F., Weissman, I. L. (2003). Biology of hematopoietic stem cells and progenitors: implications for clinical application. *Annual review of immunology*, 21(1), 759-806.
- Kopp, H. G., Avecilla, S. T., Hooper, A. T., & Rafii, S. (2005). The bone marrow vascular niche: home of HSC differentiation and mobilization. *Physiology*, 20(5), 349-356.

- Laiosa, C. V., Stadtfeld, M., & Graf, T. (2006). Determinants of lymphoid-myeloid lineage diversification. *Annual Review of Immunology*, 24, 705-738.
- Larsson, J., & Karlsson, S. (2005). The role of Smad signaling in hematopoiesis. *Oncogene*, 24(37), 5676-5692.
- Lapidot, T., Dar, A., & Kollet, O. (2005). How do stem cells find their way home?. *Blood*, 106(6), 1901-1910.
- Lapidot, T., & Kollet, O. (2010). The brain-bone-blood triad: traffic lights for stem-cell homing and mobilization. *ASH Education Program Book*, 2010(1), 1-6.
- Lemoli, R. M., & D'Addio, A. (2008). Hematopoietic stem cell mobilization. *Hematologica*, 93(3), 321-324.
- Liles, W. C., Broxmeyer, H. E., Rodger, E., Wood, B., Hübel, K., Cooper, S., & Dale, D. C. (2003). Mobilization of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers by AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Blood*, 102(8), 2728-2730.
- Liu, M., Tan, H., Zhang, X., Liu, Z., Cheng, Y., Wang, D., & Wang, F. (2014). Hematopoietic effects and mechanisms of Fufang e' jiao jiang on radiotherapy and chemotherapy-induced myelosuppressed mice. *Journal of ethnopharmacology*, 152(3), 575-584.
- Lozoya, X., & Pérez-Duarte, I. (1990). *Los señores de las plantas: herbolaria y medicina en Mesoamérica: Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. Dirección General de Publicaciones.*
- Lu Y., Zhong X. Y, Chen Y, Chen Q. G., Chen Z. Y., Lin D.J. (2005). Effect of ShenqiFuzheng injection of murine hematopoietic function chemo-therapy. *Journal of Tropical Medicine*, 5:750–752. Chinese.
- Lv, Y., Feng, X., & Zhu, B. (2005). Study on effect of *Astragalus membranaceus* injection on hematopoiesis in anemic mice with myelosuppression. *Journal of Chinese medicinal materials*, 28(9), 791-793.
- Manz, M. G., & Boettcher, S. (2014). Emergency granulopoiesis. *Nature Reviews Immunology*, 14(5), 302-314.

- Martins, T. B., Pasi, B. M., Pickering, J. W., Jaskowski, T. D., Litwin, C. M., & Hill, H. R. (2002). Determination of cytokine responses using a multiplexed fluorescent microsphere immunoassay. *American journal of clinical pathology*, 118(3), 346-353.
- Matsuda, H., Murakami, T., Ikebata, A., Yamahara, J., & Yoshikawa, M. (1999). Bioactive saponins and glycosides. XIV. Structure elucidation and immunological adjuvant activity of novel protojubilogenin type triterpene bisdesmosides, protojubosides A, B, and B1, from the seeds of *Zizyphus jujuba* var. *spinosa* (Zizyphi Spinosi Semen). *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 47(12), 1744-1748.
- Matsumoto, Y., Iwasaki, H., & Suda, T. (2011). Maintenance of adult stem cells: role of the stem cell niche. In *Adult Stem Cells*. Humana Press. 35-55.
- Mikkola, H. K., & Orkin, S. H. (2006). The journey of developing hematopoietic stem cells. *Development*, 133(19), 3733-3744.
- Miro, M. (1995). Cucurbitacins and their pharmacological effects. *Phytotherapy research*, 9(3), 159-168.
- Mohty, M., & Ho, A. D. (2011). In and out of the niche: perspectives in mobilization of hematopoietic stem cells. *Experimental hematology*, 39(7), 723-729.
- Monroy-Vázquez, M. E., Soto-Hernández, M., Cadena-Iñiguez, J., Santiago-Osorio, E., Ruiz-Posadas, L. d. M., & Rosas-Acevedo, H. (2009). Estudio biodirigido de un extracto alcohólico de frutos de *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. *Agrociencia*, 43(8), 777-790.
- Montrone, C., Kokkaliaris, K. D., Loeffler, D., Lechner, M., Kastenmüller, G., Schroeder, T., & Ruepp, A. (2013). HSC-explorer: a curated database for hematopoietic stem cells. *PloS one*, 8(7), e70348.
- Morton, L. M., Does, G. M., Tucker, M. A., Kim, C. J., Onel, K., Gilbert, E. S., & Curtis, R. E. (2013). Evolving risk of therapy-related acute myeloid leukemia following cancer chemotherapy among adults in the United States, 1975-2008. *Blood*, 121(15), 2996-3004.
- Motabi, I. H., & DiPersio, J. F. (2012). Advances in stem cell mobilization. *Blood reviews*, 26(6), 267-278.

- Mueller, M. M., Bialleck, H., Bomke, B., Brauning, S., Varga, C., Seidl, C., & Bonig, H. (2013). Safety and efficacy of healthy volunteer stem cell mobilization with filgrastim G-CSF and mobilized stem cell apheresis: results of a prospective longitudinal 5-year follow-up study. *Vox sanguinis*, 104(1), 46-54.
- Munker, R., Hiller, E., Glass, J., & Paquette, R. (2007). *Modern hematology: biology and clinical management 2da edición*. Ed. Human Press, New Jersey. 498 pp.
- Naveiras, O., Nardi, V., Wenzel, P. L., Hauschka, P. V., Fahey, F., & Daley, G. Q. (2009). Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment. *Nature*, 460(7252), 259-263.
- Nervi, B., Link, D. C., & DiPersio, J. F. (2006). Cytokines and hematopoietic stem cell mobilization. *Journal of cellular biochemistry*, 99(3), 690-705.
- Nilsson, S. K., & Bertoncello, I. (1994). Age-related changes in extramedullary hematopoiesis in the spleen of normal and perturbed osteopetrotic (op/op) mice. *Experimental hematology*, 22(4), 377-383.
- Ordoñez, A. A. L., Gomez, J. D., Cudmani, N. M., Vattuone, M. A., & Isla, M. I. (2003). Antimicrobial activity of nine extracts of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. *Microbial ecology in health and disease*, 15(1), 33-39.
- Ordoñez, A., Gomez, J., & Vattuone, M. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food chemistry*, 97(3), 452-458.
- Orkin, S. H., & Zon, L. I. (2008). Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell*, 132(4), 631-644.
- Ortega, R., Martinez, M. A. Rincon, G. (1998). Principales Cultivos de México y sus regiones mundiales de mayor diversidad. XVII Congreso de fitotecnia. Memoria de la Sociedad Mexicana de Fitogenética. México. 321.
- Pelus, L. M. (2008). Peripheral blood stem cell mobilization: new regimens, new cells, where do we stand. *Current opinion in hematology*, 15(4), 285.
- Pelus, L. M., & Fukuda, S. (2008). Chemokine-mobilized adult stem cells; defining a better hematopoietic graft. *Leukemia*, 22(3), 466-473.

- Petit, I., Szyper-Kravitz, M., Nagler, A., Lahav, M., Peled, A., Habler, L. & Sandbank, J. (2002). G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nature immunology*, 3(7), 687-694.
- Pusic, I., & DiPersio, J. F. (2008). The use of growth factors in hematopoietic stem cell transplantation. *Current pharmaceutical design*, 14(20), 1950-1961.
- Pusic, I., & DiPersio, J. F. (2010). Update on clinical experience with AMD3100, an SDF-1/CXCL12–CXCR4 inhibitor, in mobilization of hematopoietic stem and progenitor cells. *Current opinion in hematology*, 17(4), 319-326.
- Qi, F., Li, A., Inagaki, Y., Gao, J., Li, J., Kokudo, N., Li, X.-K., Tang, W. (2010). Chinese herbal medicines as adjuvant treatment during chemo-or radio-therapy for cancer. *BioScience Trends*. 4, 297–307.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L., Lu, Y., & Wang, Z. (2001). Tartary buckwheat flavonoid activates caspase 3 and induces HL-60 cell apoptosis. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol*, 23(8), 427-432.
- Rivera M. A. (2011). Efecto del extracto de *Sechium chinantlense* Lira & F. Chiang., *Sechium compositum* (Donn. Sm.) C. Jeffrey. y el híbrido H-387-07-GISem sobre la proliferación de la línea celular HeLa y L929. Tesis de Licenciatura. México D.F. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
- Saade, R. L. (1996). Chayote *Sechium edule* (Jacq.) Sw, Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops, 8. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Sachs, L. (1996). The control of hematopoiesis and leukemia: from basic biology to the clinic. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(10), 4742-4749.
- Salama, A., Polo, A., Conretras, C., & Maldonado, L. (1986). Análisis fitoquímico preliminar y determinación de las actividades antiinflamatoria y cardíaca de los frutos de *Sechium edule*. *Revista Colombiana Ciencias Químicas Farmacológicas*, 15, 79-82.

- Santiago-Osorio, E., Ledesma-Martínez, E., Aguiñiga-Sánchez, I., Poblano-Pérez, I., Weiss-Steider, B., Montesinos-Montesinos, J. J., & de Lourdes Mora-García, M. (2015). Sodium Caseinate (CasNa) Induces Mobilization of Hematopoietic Stem Cells in a BALB/c Mouse Model. *Medical science monitor basic research*, 21, 206.
- Sarrazin, S., & Sieweke, M. (2011). Integration of cytokine and transcription factor signals in hematopoietic stem cell commitment. *Seminars in immunology*, 23(5): 326-334
- Schofield, R. (1977). The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood cells*, 4(1-2), 7-25.
- Seita, J., & Weissman, I. L. (2010). Hematopoietic stem cell: self-renewal versus differentiation. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, 2(6), 640-653.
- Sen, C. K., Khanna, S., Gordillo, G., Bagchi, D., Bagchi, M., & Roy, S. (2002). Oxygen, oxidants, and antioxidants in wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1), 239-249.
- Sermeus, A., Leonard, W., Engels, B., & De Ridder, M. (2014). Advances in radiotherapy and targeted therapies for rectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 20(1), 1-5.
- Shirvaikar, N., Marquez-Curtis, L. A., & Janowska-Wieczorek, A. (2012). Hematopoietic stem cell mobilization and homing after transplantation: The role of MMP-2, MMP-9, and MT1-MMP. *Biochemical research international*, 1835(1): 1-11.
- Siciliano, T., De Tommasi, N., Morelli, I., & Braca, A. (2004). Study of flavonoids of *Sechium edule* (Jacq) Swartz (Cucurbitaceae) different edible organs by liquid chromatography photodiode array mass spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(21), 6510-6515.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2016). Cancer statistics, 2016. *CA: a cancer journal for clinicians*, 66(1), 7-30.
- Singh, S. M., Singh, N., & Shrivastava, P. (2006). Effect of alcoholic extract of Ayurvedic herb *Tinospora cordifolia* on the proliferation and myeloid differentiation of bone marrow precursor cells in a tumor-bearing host. *Fitoterapia*, 77(1), 1-11.
- Spangrude, G. J., Heimfeld, S., & Weissman, I. L. (1988). Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science*, 241(4861), 58-62.

- Steinmetz, M., Pelster, B., Lucanus, E., Arnal, J. F., Nickenig, G., & Werner, N. (2013). Atorvastatin-induced increase in progenitor cell levels is rather caused by enhanced receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL) cell proliferation than by bone marrow mobilization. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 57, 32-42.
- Suárez-Álvarez, B., López-Vázquez, A., & López-Larrea, C. (2012). Mobilization and homing of hematopoietic stem cells. In *Stem cell transplantation*. 152-170.
- Sumner, J. (2000). *The natural history of medicinal plants*: Timber Press.
- Sung, Y. Y., Kim, Y. S., & Kim, H. K. (2012). *Illicium verum* extract inhibits TNF- α -and IFN- γ -induced expression of chemokines and cytokines in human keratinocytes. *Journal of ethnopharmacology*, 144(1), 182-189.
- Taichman, R. S. (2005). Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood*, 105(7), 2631-2639.
- Tao M. F., Yang W. D., Wang J. H. (2004). Ciwujia injection of the protective effects of radiation injury in mice bone marrow micro environment. *Nanjing University of Traditional Chinese Medicine*, 20:75–177. Chinese.
- Taylor, R. C., Cullen, S. P., & Martin, S. J. (2008). Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nature reviews Molecular cell biology*, 9(3), 231-241.
- Tesio, M., Golan, K., Corso, S., Giordano, S., Schajnovitz, A., Vagima, Y., & Laurenti, E. (2011). Enhanced c-Met activity promotes G-CSF-induced mobilization of hematopoietic progenitor cells via ROS signaling. *Blood*, 117(2), 419-428.
- Thomas, T. E., Miller, C. L., & Eaves, C. J. (1999). Purification of hematopoietic stem cells for further biological study. *Methods*, 17(3), 202-218.
- Tian, X. K., Lv, H. D., Zhao, Q. H., Hao, S. J., Geng, X. L., Wang, X. D., & Zhao, J. C. (2015). Effects of Yifukang Oral Liquid on Chemotherapy-and Radiotherapy-Induced Toxic and Side Effects of Myelosuppression, Leucopenia and Gastrointestinal Tract Disturbances. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(11), 2023-2030.
- To, L. B., Levesque, J. P., & Herbert, K. E. (2011). How I treat patients who mobilize hematopoietic stem cells poorly. *Blood*, 118(17), 4530-4540.

- Ugarte, F., & Forsberg, E. C. (2013). Haematopoietic stem cell niches: new insights inspire new questions. *The EMBO journal*, 32(19), 2535-2547.
- Verfaillie, C. M., Catanzarro, P. M., & Li, W. N. (1994). Macrophage inflammatory protein 1 alpha, interleukin 3 and diffusible marrow stromal factors maintain human hematopoietic stem cells for at least eight weeks in vitro. *The Journal of experimental medicine*, 179(2), 643-649.
- Verotta, L., Guerrini, M., El-Sebakhy, N. A., Asaad, A. M., Toaima, S. M., Abou-Sheer, M. E., & Pezzuto, J. M. (2001). Cycloartane saponins from *Astragalus peregrinus* as modulators of lymphocyte proliferation. *Fitoterapia*, 72(8), 894-905.
- Wang L. & Wang Y. (2004). Experimental study for the effect of TSPG on the expression of IL-3 in hematopoietic stromal cells. *Acta Anatomica Sinica*, 35(1):49–54.
- Watada, A., Herner, R., Kader, A., Romani, R., & Staby, G. (1984). Terminology for the description of developmental stages of horticultural crops. *HortScience*.(19), 20-21.
- Weissman, I. L. (2000). Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell*, 100(1), 157-168.
- Whetton, A. D., & Spooncer, E. (1998). Role of cytokines and extracellular matrix in the regulation of haemopoietic stem cells. *Current opinion in cell biology*, 10(6), 721-726.
- Wintrobe M. (2009). *Clinical hematology*. 8 th ed. Philadelphia Lea y Febiger. 35. ISBN: 978-0-7817-6507-7.
- Wojakowski, W., Tendera, M., Michałowska, A., Majka, M., Kucia, M., Maślankiewicz, K., & Ratajczak, M. Z. (2004). Mobilization of CD34/CXCR4+, CD34/CD117+, c-met+ stem cells, and mononuclear cells expressing early cardiac, muscle, and endothelial markers into peripheral blood in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, 110(20), 3213-3220.
- Yin, T., & Li, L. (2006). The stem cell niches in bone. *The Journal of clinical investigation*, 116(5), 1195-1201.
- Yoder, M. C. (2004). Blood cell progenitors: insights into the properties of stem cells. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*, 276(1), 66-74.

Zambrano Ramírez, I. R., Santiago Osorio, E., Weiss Steider, B., & Cáceres Cortés, J. R. (1999). Biología de las células totipotenciales hematopoyéticas. *Revista de investigación. clínica* 51(1), 53-68.

Zamorano de Haro, P. (2009). La flora y fauna silvestres en México y su regulación. *Estudios agrarios*, 15(40), 159-167.

Zhang, C. C., & Lodish, H. F. (2008). Cytokines regulating hematopoietic stem cell function. *Current opinion in hematology*, 15(4), 307.

ANEXOS

Preparación de reactivos

MEDIO DE CULTIVO IMDM (2L)

REACTIVOS:

Medio de cultivo IMDM GIBCO®	2 sobres
Bicarbonato de sodio	6.048 g
Penicilina-estreptomicina	1 µL/mL

MATERIAL:

Probeta graduada de 2000 mL con tapa de papel aluminio
Parrilla de agitación
Agitador magnético
Filtro de 0.22 µm con filtro de 500 mL (estéril)
Bomba de vacío
Botellas estériles

PREPARACIÓN:

1. Colocar el agitador magnético en la probeta.
2. Agregar 1800 mL de agua bidestilada en la probeta.
3. Ponerlo en agitación.
4. Adicionar lentamente los sobres de medio de cultivo en la probeta.
5. Lavar con agua bidestilada el sobre, hasta que no muestre coloración.
6. Enjugar las paredes de la probeta con ayuda de una piseta con agua bidestilada.
7. Terminada la disolución del medio de cultivo, adicionar el bicarbonato de sodio; la solución cambiara de color amarillo a rojo.
8. Repetir paso 6.
9. Dejar agitar la disolución por 2 horas.
10. Balancear el pH el 6.9 – 7.
11. Esterilizar por filtración en la campana estéril y colocar 300 mL por botella numeradas, con la fecha y el nombre de quien la preparó.
12. Adicionar la penicilina-estreptomicina 300 µL.
13. Tapar y agitar las botellas suavemente.
14. Hacer prueba de esterilidad con 200 µL y dejar en la incubadora por 5 días, poner positivo (agua potable).
15. Almacenar en refrigeración (4°C).
16. Después de 5 días de que la prueba sale negativa se puede usar el IMDM.

INACTIVACIÓN DE SFB (SUERO FETAL BOVINO)

REACTIVOS:

Suero fetal bovino GIBCO®

MATERIAL:

Baño maría

Termómetro

Tubos cónicos de 50 mL (estériles)

PREPARACIÓN:

1. EL suero se conserva en congelación a -20°C . Previo a la inactivación, se necesita descongelar el SFB a temperatura ambiente.
2. Colocar por 30 minutos a baño maría a 56°C agitando lentamente cada 10 minutos.
3. En condiciones asépticas, fraccionar en alícuotas de 30 mL el SFB, en tubos cónicos de 50 mL previamente esterilizados.
4. Etiquetar y enumerar los tubos.
5. Almacenar en congelación (-20°C).

Nota: la temperatura del baño maría no debe sobrepasar los 58°C ; evitar hacer espuma o tocar la boquilla de la botella cuando se esté agitando el SFB.

SOLUCIÓN BUFFER DE FOSFATOS – PBS (2L)

REACTIVOS:

KCl	0.4 g
NaCl	16 g
KH ₂ PO ₄ (monobásico)	0.4 g
Na ₂ HPO ₄ (dibásico)	Para ajustar pH

MATERIAL:

Probeta graduada de 2000 mL con tapa de papel aluminio
Parrilla de agitación
Potenciómetro
Agitador magnético
Botellas estériles

PREPARACIÓN:

1. Poner el agitador magnético dentro de la probeta.
2. Agregar 1800 mL de agua bidestilada en la probeta.
3. Se pone en la parrilla de agitación constante.
4. Adicionar cada reactivo en orden del 1 al 3; dejar disolver.
5. Ajustar a un pH de 7.2 – 7.4 con el fosfato dibásico.
6. Aforar a 2 L lavando paredes.
7. Dejar agitar por 30 min
8. Vaciar en botellas etiquetadas.
9. Esterilizar en autoclave por 20 min; la tapa de las botellas debe estar ligeramente abierta.
10. Dejar enfriar a temperatura ambiente y almacenar en refrigeración (4°C).

Nota: Para ajustar el pH se usa Na₂HPO₄ (dibásico).

PBS + SFB al 3%

Se agregó 3 mL de SFB inactivado por cada 100 mL de PBS en condiciones estériles.

Methocult[®]

Es un medio semisólido (metilcelulosa) (Methocult[®]; Stem Cell Technologies, Vancouver, BC, Canadá) el cual contiene un cóctel de factores de crecimiento, tales como: el factor de células troncales recombinante de ratón (rmSCF), IL-3 recombinante de ratón (rmIL-3), IL-6 recombinante humana (rhIL-6) y eritropoyetina recombinante humana (rhEpo). Se almacenó a -20°C y se descongeló horas antes de su uso en agitación suave.

Ficoll[®]

Ficoll (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo.) es un gradiente de densidad ($\delta= 1.077$ g/ml) se mantuvo en esterilidad y a 4°C en oscuridad.

Manejo de los animales

Los ratones fueron manipulados bajo las reglas del bioterio. La administración de los tratamientos fue vía intraperitoneal, inoculando un volumen máximo de 1 ml por ratón con una aguja de calibre 25G.

