

2011



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

TESIS

“Expresión de Factor Inducible de Hipoxia **HIF 1 α** y **VEGF** implicados en el síndrome del túnel del carpo y su asociación con la aplicación de Colágeno y Polivinipirrolidona in vitro”.

Para obtener el grado de Maestría en Ciencias de la Salud. Área Investigación Clínica.

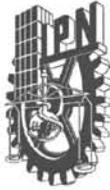
PRESENTA
PAOLA JOANNA CASTRO ALBA

Directores de Tesis:
D en C Rosa Amalia Bobadilla Lugo
D en C Elvia Mera Jiménez

México, D.F. julio de 2011



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA



SIP-14-BIS

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México, D.F. siendo las 15:00 horas del día 11 del mes de Mayo del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de ESM para examinar la tesis titulada:

“Expresión de Factor Inducible de Hipoxia HIF 1 α y VEGF implicados en el síndrome del túnel del carpo y su asociación con la aplicación de Colágeno y Polivinipirrolidona in vitro.”

Presentada por el alumno:

Castro

Apellido paterno

Alba

Apellido materno

Paola Joanna

Nombre(s)

Con registro:

B	0	9	1	2	9	6
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría en Ciencias de la Salud

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis


Dra. Rosa Amalia Bobadilla Lugo

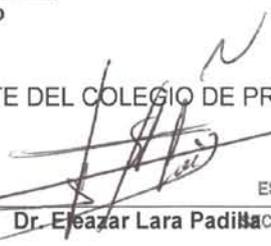

Dra. Elvia Mera Jiménez


Dr. Juan Asbun Bojalil


Dra. María Elena Hernández Campos


Dra. María del Carmen Castillo
Hernández

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


Dr. Eleazar Lara Padilla



ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
SECRETARÍA DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN
Y CONTROL ESQUERAS

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México el día 30 del mes Mayo del año 2011, el que suscribe Paola Joanna Castro Alba alumna del Programa de Maestría en Ciencias de la Salud con número de registro B091296 adscrito a La Escuela Superior De Medicina, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Rosa Amalia Bobadilla Lugo y Dra. Elvia Mera Jiménez y cede los derechos del trabajo intitulado “Expresión de Factor Inducible de Hipoxia HIF 1 α . VEGF, implicados en el síndrome del túnel del carpo y su asociación con la aplicación de Colágeno y Polivinipirrolidona in vitro”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección drjoannin7@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


Paola Joanna Castro Alba

Nombre y firma

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Es necesario alternar la reflexión y la acción que se completan y corrigen la una con la otra.

Antoni Gaudí

Educación es lo que queda después de olvidar lo que se ha aprendido en la escuela.

Albert Einstein

La educación empieza con la vida y no acaba sino con la muerte.

José Martí

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

AGRADECIMIENTOS

A mis profesores de la Escuela Superior de Medicina (Instituto Politecnico Nacional) por todos los conocimientos adquiridos en el curso de mi formación.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por la beca académica otorgada durante el período de estudios de maestría.

Al programa PIFI ya que desde la Licenciatura he recibido el apoyo de este programa y que para mí ha sido muy benéfico para continuar mi preparación.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

DEDICATORIA

A **DIOS** por todas las bendiciones recibidas.

Antes que nada a mis hijos Erick y Nathalie por ser mis mayores tesoros y por impulsarme a superarme día a día.

A Erick Mendoza mi esposo por su apoyo, amor y cariño.

A mi Abuelita Licha y mi Papa José Adrián por ayudarme todos estos años.

A mi mamá Edith y mis hermanos Giselle y Christian por su apoyo y cariño.

Sin olvidar Alis y a Mitzi por su cariño y comprensión.

A la Doctora Elvia Mera por todo su apoyo, su confianza, por su enseñanza y por ser una gran mujer.

Al Doctor Asburn por su apoyo incondicional y su apoyo en el transcurso de la formación académica.

A la Dra. Bobadilla por su apoyo en todo el trayecto de mi formación desde la Licenciatura y por ser un gran ejemplo a seguir.

A la Dra Guizar y el Dr. Raya por creer en este proyecto y por su apoyo absoluto.

A Ericka Nelly Pompa por su apoyo.

A mis compañeros por su amistad.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

INDICE

	PAGINAS
Glosario de términos	5
Resumen	8
Abstract	9
Marco teórico	10
Antecedentes	10
Síndrome del túnel del carpo	
Pre acondicionamiento isquémico	
Factor inducible de hipoxia	
Factor de crecimiento vascular endotelial	
El colágeno y sus características físicoquímicas e inmunológicas	
Justificación	41
Planteamiento del problema	41
Pregunta de investigación	41
Objetivo general	41
Objetivos específicos	42
Hipótesis	42
Diseño metodológico	42
Secuencia metodológica	43
Diseño de estudio	43
Grupos de estudio	43
Grupo problema	43
Tamaño de la muestra	44
Criterios de inclusión	44
Criterios de no inclusión	44
Criterios de eliminación	44
Plan de análisis	45
Análisis de variables	45
Análisis de datos	45
Análisis estadístico	45
Recursos humanos	45
Recursos físicos	46
Financiamiento	46
Aspectos éticos	46
Alcances del protocolo	47
Límite de tiempo para la investigación	47
Carta informativa	56
Consentimiento informado	56
Resultados	57
Conclusiones	57
Discusión	58
Persepectivas	
Resultados	

ABREVIATURAS

AINES – Analgésicos antiinflamatorios No Esteroideos

EMG –Electromiografía

EROS – Generación de Especies Reactivas de Oxígeno

HIF - Factor Inducible de Hipoxia

FEF - Factor Fibroblástico

FGF – Factor de Crecimiento Fibroblástico

GAGs - Glucosaminoglucanos

ICAM- Moléculas de Adhesión Intracelular

IL – Interleucina

INF- Interferón

MEC- Matriz Extracelular

NFκβ - Factor Nuclear Kapa Beta

NK – Natural Killer (Células Asesinas)

ON- Óxido Nítrico

PBS-(Phosphate Buffered Solution)

PI- Pre acondicionamiento Isquémico

PVP- Polivinil y pirrolidona

STC- Síndrome de Túnel del Carpo

TNF – Factor de Necrosis Tumoral

TGF – Factor de Crecimiento Transformante

VCAM – Molécula de Adhesión Endotelial

VEGF – Factor de Crecimiento Endotelial Vascular

VSG – Volumen de Sedimentación Globular

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Articulación: lugar de unión de dos o más huesos.

Cuadro Clínico: conjunto de síntomas y signos que se presentan en una enfermedad.

Electromiografía: (su acrónimo en inglés es EMG) técnica de exploración eléctrica que sirve para detectar lesiones nerviosas o musculares.

Etiología: causa de la enfermedad.

Fármaco (del griego *φάρμακον*): es toda sustancia química purificada utilizada en la prevención, diagnóstico, tratamiento, mitigación y cura de una enfermedad; para evitar la aparición de un proceso fisiológico no deseado; o para modificar condiciones fisiológicas con fines específicos.

Fibroquel: es un líquido viscoso preparado a base de colágena "nativa" obtenida de la piel de porcino, en solución amortiguadora de citratos que estabiliza el pH y polivinilpirrolidona que potencializa su efecto.

Ligamentos: bandas de tejido conectivo duro y elástico que rodean las articulaciones.

Ligando: es la pareja complementaria que se enlaza al receptor. Por lo general son moléculas más pequeñas que el receptor, aunque también pueden ser otro biopolímero.

Membrana sinovial: tejido que recubre y cierra la articulación.

Funciones de puntuación: es el proceso que evalúa una pose en particular, contando el número de interacciones favorables, tales como puentes de hidrógeno o interacciones hidrofobias.

Modo de enlace: es la orientación relativa del ligando con su receptor, así como también la conformación espacial del ligando y el receptor cuando ya están enlazados.

Receptor : molécula que recibe, por lo normal es una proteína u otro biopolímero.

Síndrome del túnel carpiano: una condición en la que se produce compresión del nervio mediano, al pasar por el túnel del carpo de la muñeca.

Tendón: tejido conectivo duro que sujeta los músculos a una articulación.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

No. de Registro: F0779

PROTOCOLO

Unidad médica o área donde se desarrolla la investigación:
HOSPITAL REGIONAL 1° DE OCTUBRE ISSSTE

Título de la investigación:

“Expresión de Factor Inducible de Hipoxia HIF 1 α , VEGF implicados en el síndrome del túnel del carpo y la modificación que se presenta con la aplicación de Colágeno y Polivinipirrolidona in vitro”.

Investigador (s) responsable (s) y Asesores Externos

D en C. Rosa Amalia Bobadilla Lugo
D en C. Elvia Mera Jiménez

Asesores Externos:
Dra. Brenda Irma Guizar Ramirez
Dr. Oscar Raya

Investigadores asociados:
Dra. Paola Joanna Castro Alba

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Este trabajo fue realizado en el Servicio de Rehabilitación y Ortopedia del Hospital Regional 1ero de Octubre ISSSTE en colaboración con la Unidad de Investigación área de Inmunología Clínica de La Raza IMSS y la Escuela Superior de Medicina, en área de Cultivos Celulares IPN.

RESUMEN

El síndrome del túnel del carpo (STC) es la neuropatía periférica más común de la extremidad superior, la incidencia de STC es 99 por 100,000 persona-año, y la prevalencia es 3.4% en mujeres y 0.6% en hombres ^{1,2}, un poco más del 5% son personas que requieren el uso repetitivo de manos y muñecas en su actividad laboral ^{6,7}.

Este síndrome provoca dolor, entumecimiento y adormecimiento en la palma de la mano y los dedos pulgar, índice, medio y a veces también el anular. Si la compresión sobre el nervio se mantiene en el tiempo y aumenta, las molestias irán progresando cada vez más hasta hacerse intensas, permanentes e invalidantes. La práctica de ciertas actividades como teclear, tejer, tocar violín, etc. determinaría un déficit de circulación en la zona del ligamento, el que iría endureciéndose y aumentando su grosor, así como continuar con procesos inflamatorios constantes y un aumento el área de fibrosis del túnel del carpo que va empeorando con el paso del tiempo y con la actividad ejercida.

Poco se conoce sobre su fisiopatología, se proponen tres teorías para explicarla:

- La compresión, este aumento de presión causa obstrucción del flujo venoso, edema y por último *isquemia del nervio*.
- La insuficiencia microvascular que conlleva a la *hipoxia e isquemia* del nervio.
- La teoría vibratoria.

Las cuales no se excluyen mutuamente y no se ha dilucidado completamente si la hipoxia se encuentre en relación directa o indirecta con el desarrollo de esta enfermedad y poco se sabe si la expresión del VEGF se encuentra regulada en este padecimiento como se ha comprobado en otros sistemas y órganos por la hipoxia. Algunos pacientes resuelven esta enfermedad de forma no invasiva con fisioterapia que consiste en sesiones de movilización del tejido conectivo, mejorando la circulación del ligamento y la zona de lesión, sin embargo el cuadro reincide y a menudo amerita tratamiento quirúrgico, se han reportado que los resultados de este procedimiento varía de acuerdo a la sintomatología y la funcionalidad que presenta cada paciente que va del (Ciénega y col.) del 74% al 6% , sin embargo la reincidencia es de un 60% de las parestesias y el dolor .Dentro del tratamiento farmacológico se encuentran los AINEs y el uso de No AINEs , sin embargo también existen el uso de otros fármacos como lo es el colágeno y polivinilpirrolidona (Fibroquel) el cual ha demostrado que modula los procesos inflamatorios crónicos se modifican a su vez algunos parámetros inflamatorios como IL-1, TNF- α , en las articulaciones y disminuye la actividad colagenolítica total a través de una baja significativa de las colagenasas independientes de calcio y disminuye la fibrosis y moléculas de adhesión como la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y VCAM-1 se observan disminuidas para los tejidos tratados con Fibroquel , con un cambio en el metabolismo celular , sin embargo no hay evidencia científica sustentable para el uso de este fármaco en el síndrome de túnel del carpo .

Palabras claves: Síndrome de túnel del carpo, colágeno y polivinilpirrolidona, electromiografía, Factores inducibles de hipoxia, Factor de crecimiento de endotelio vascular.

ABSTRACT

The syndrome of the tunnel of the carpus (STC) is the most common peripheral neuropathy of the upper extremity, the incident of STC is 99 for 100.000 person-year, and the prevalence is 3,4% in women and 0,6% in men 1,2, a little more than the 5% are people that require the repetitive use of hands and wrists in their labor activity.

This syndrome causes pain, stiffness and sleepiness in the palm of the hand and the thumbs, index, medium and at times also the annul. If the compression on the nerve is maintained in the time and enlarges, the inconveniences progressing each time more to being done intense, permanent and disabling. The practice of certain activities as to type, to weave, to touch violin. Would determine a deficit of circulation in the zone of the ligament, the one that would go being hardened and enlarging its thickness, as well as to continue with constant inflammatory processes and an increase the area of fibrosis of the tunnel of the carpus that goes getting worse with the passage of time and with the activity exercised.

Little he is known on their physiopathology, three theories are proposed to explain it:

- The compression, this obstruction cause pressure increase of the veined flow, edema and finally isquemia of the nerve,
- The shortage microvascular that involves to the hypoxia and isquemia of the nerve
- The vibratory theory.

Which they are not excluded mutually and done not clarify completely if the hypoxia be found in director indirect relation with the development of this illness and little is known if the expression of the VEGF is found regular in this suffering as has been verified in other systems and organs by the hypoxia.

Some patients resolve this illness of not invasive form with physiotherapy that consists of sessions of mobilization of the connective weaving, improving the circulation of the ligament and the zone of wound, nevertheless the picture repeats and often deserves surgical processing, they have been reported that the results of this procedure varies according to the symptomatology and the functionality that presents each patient that goes of the (Ciénega and cols.). From the 74% to the 6%, nevertheless the recidivism is of a 60% of the parestesias and the pain.

Inside the pharmacological processing the AINEs they are found and the use of glucocorticoids, nevertheless also they exist the use of other medicines as is it the collagen and polivinilpirrolidona (Fibroquel) which has shown that modulates the chronic inflammatory processes are modified at the same time some inflammatory parameters like IL-1, in the articulations and diminishes the activity colagenolitica total through a significant drop Of the collagenases independent of calcium and diminishes the fibrosis and molecules of adhesion as the molecule of adhesion intercellular 1 (ICAM-1) and VCAM-1 they are observed diminished for them you woven dealt with Fibroquel, with a change in the cell metabolism, nevertheless there is not sustainable scientific evidence for the use of this medicine in the syndrome of tunnel of the carpus.

Keywords: Syndrome of tunnel of the carpus, collagen and polivinilpirrolidona, electromyography, Factors inducible of hypoxia, Factor of growth of vascular endothelium.

**MARCO TEORICO
ANTECEDENTES**

La formación del sistema vascular comienza tempranamente en el desarrollo de los mamíferos, con la formación y agregación de células precursoras (angioblastos) en el embrión.

La formación de vasos sanguíneos en el embrión y en el saco vitelino a partir de la agregación de angioblastos formados *de novo*, y su incorporación en una red vascular primitiva de vasos endoteliales simples es conocida como vasculogénesis.

El desarrollo de un sistema de vasos maduro que ocurre con posterioridad, involucra un proceso mucho más complejo de remodelamiento y refinamiento del patrón inicial, con la proliferación y ramificación de vasos a partir de otros vasos existentes. Este segundo proceso es conocido como angiogénesis (Papetti y cols. 2002, Rossant y cols. 2002).

La angiogénesis es un proceso esencial en el desarrollo del tejido normal. Sin embargo, varias etapas son necesarias para el establecimiento de la red capilar. En primer lugar, el tejido que requiere neovascularización emite una señal angiogénica, que fragmenta y remodela la membrana basal del vaso sanguíneo preexistente, ocurriendo posteriormente la migración de células endoteliales hacia la zona de estimulación, y la proliferación de las células endoteliales para formar una monocapa que adquiere una estructura tubular. Finalmente, los nuevos capilares se diferencian en arteriolas o vénulas (Redmer y cols. 1996, Fraser y cols. 2001, Papetti y cols. 2002, Rossant y cols. 2002).

La mayor parte de la angiogénesis fisiológica ocurre en la etapa embrionaria. En el adulto, el endotelio vascular es un tejido con un bajo índice de proliferación, y sólo eventos puntuales, como la cicatrización de heridas, hacen que se active la neovascularización en forma transitoria (Papetti y cols. 2002). Estudios recientes indican que células precursoras endoteliales, derivadas de la médula ósea, ayudan al reestablecimiento de la función de órganos isquémicos, posiblemente por medio de la inducción de angiogénesis en zonas con un aporte de oxígeno disminuido, o a través de la reendotelización de vasos dañados (Hristov y cols. 2003). La proliferación vascular incontrolada o persistente se asocia a numerosas condiciones patológicas, como el crecimiento tumoral (Papetti y cols. 2002).

Una variedad de factores regulan positiva y negativamente la angiogénesis en los polipéptidos solubles, interacciones célula-célula o célula-matriz extracelular y efectos hemodinámicos coordinan este proceso. Las células endoteliales, los pericitos, los fibroblastos, y algunos integrantes del sistema inmune expresan diferentes citoquinas y factores de crecimiento que encuentran su blanco en células o en componentes de la matriz extracelular y afectan la migración de las células endoteliales, su proliferación, la formación de tubos y la estabilización de los vasos sanguíneos. (Fraser y cols. 2001, Papetti y cols. 2002)

Síndrome de Túnel del Carpo

El síndrome del túnel del carpo es una mononeuropatía con un conjunto de signos y síntomas que son el producto de la compresión del nervio mediano dentro del túnel del carpo. Usualmente los síntomas incluyen parestesias, adormecimiento y dolor en las regiones inervadas por el nervio mediano. Antes del advenimiento de la electromiografía en 1940, se pensaba que el síndrome del túnel del carpo era producto de la compresión del plexo braquial por las costillas cervicales y otras estructuras en la región anterior del cuello. Hoy en día se conoce que el nervio mediano es lesionado en su recorrido en el túnel del carpo, lo cual produce inicialmente desmielinización seguida por degeneración axonal. Las fibras sensoriales a menudo son las primeras en ser afectadas, y posteriormente lo hacen las fibras motoras. Las fibras nerviosas autonómicas que viajan con el nervio mediano también pueden verse afectadas. La causa del daño es probablemente por una presión anormalmente aumentada en el túnel del carpo en los pacientes con esta sintomatología. Este aumento en la presión causa obstrucción del flujo venoso, edema y por último isquemia del nervio. Cuando solo hay alteración momentánea de la microcirculación del nervio, la disfunción sensitiva o motora ocasionada por daño de la mielina mejora rápidamente en un periodo de seis a doce semanas al liberarse esta compresión. Si hay daño a nivel axonal la recuperación, una vez eliminada, será incompleta y lenta.¹

El riesgo de desarrollar túnel del carpo parece estar en relación con un número de factores epidemiológicos, incluyendo factores genéticos, médicos, sociales, laborales y demográficos. Sin embargo la causa más común es por un estrés repetitivo sobre el canal. Esto puede ser por una mala postura de la muñeca mientras se escribe a máquina o en computador, o por una flexión y extensión repetitivas. Otras causas son las fracturas o luxaciones de muñeca, lesiones en los tejidos blandos, infecciones y la hemorragia intraneural.¹

La incidencia del túnel del carpo es de 1-3 casos por 1.000 habitantes por año. En grupos de alto riesgo como los trabajadores manuales, la incidencia puede ser tan alta como 150 casos por 1.000 trabajadores por año y la prevalencia de 500 casos por año. El síndrome del túnel del carpo puede presentarse en un 3,2% de los pacientes con diabetes mellitus, asociado a enfermedad del tiroides en un 3%, a artritis reumatoide en un 4,5% y en personas obesas hasta en un 47%.

El síndrome del túnel del carpo es más frecuente en mujeres, con una relación hombre: mujer de 3:5.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Las lesiones nerviosas se clasifica de acuerdo a Sedonn en²⁰:

1. Neuropraxia: Es una contusión o una compresión leve de un nervio periférico con conservación del cilindroeje, pero con posible edema o interrupción de un segmento localizado de su vaina de mielina. De tal manera que la transmisión de los impulsos se interrumpe fisiológicamente durante cierto tiempo, pero la recuperación es completa al cabo de unos días o semanas.

2. Axonotmesis. Es una lesión más importante con interrupción del axón y degeneración Walleriana distal, pero con conservación de las células de Schwann y los tubos endoneurales. Puede esperarse la regeneración espontánea con buena recuperación funcional.

3. Neurotmesis: Es una lesión más grave con sección anatómica completa del nervio, o amplia avulsión o lesión por arrancamiento. El axón o las células de Schwann están completamente interrumpidos. El perineuro y el epineuro están también interrumpidos en diversos grados, segmentos de estos dos últimos pueden llenar el defecto si la sección completa no es evidente, en este grupo no cabe esperar la recuperación espontánea significativa.

Actualmente se clasifica en incipiente, leve y moderada de acuerdo a otros autores.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

CLASIFICACIÓN DE LAS NEUROPATÍAS DEL NERVIIO MEDIANO A NIVEL DEL TÚNEL DEL CARPO.

Clasificación de Neuropatías del nervio mediano a nivel del túnel del carpo. Clase 0	Asintomático	Sin síntomas y signos. Evidencia electrodiagnóstica de disfunción definida de fibras nerviosas desmielinizadas.
Clase I	Sintomático intermitente	Parestesias intermitentes con examen normal. Las parestesias pueden reproducirse con pruebas de provocación..
Clase IA	Irritabilidad del nervio mediano subclínico	Disparo neuronal excesivo que ocurre solamente con pruebas de provocación, parestesias nocturnas intermitente
Clase IB	Síndrome del túnel del carpo leve	Síntomas transitorios de STC (con el embarazo), también son asintomáticos. Anormalidades electrodiagnósticas puede resolver. Algunos no requieren tratamiento, otros responden a tratamiento ergonómico/conservador.
Clase IC	STC moderado intermitente	Síntomas varias veces por semana. Examen neurológico normal, estudios electrodiagnósticos positivos. Algunos se benefician de terapia conservadora, otros requieren cirugía.
Clase 2	STC, sintomático persistente	Es común que tenga hallazgos neurológicos, estudios de neuroconducción anormal del nervio mediano. Habitualmente requiere cirugía
Clase 3	STC severo	Evidencia clínica de interrupción axonal del nervio mediano. Atrofia tenar, inestabilidad de membrana en el estudio con electrodo de aguja. Muchos pacientes mejoraran después de la cirugía, pero algunos en forma incompleta.

Rosenbaum RB, Ochoa JL. Carpal Tunnel Syndrome. Butterworth-Heinemann, Boston, 1993.

Cuadro Clínico.

El paciente refiere habitualmente síntomas de larga evolución. El inicio de los síntomas suele ser nocturno e insidioso. El enfermo describe las molestias como hormigueo de la mano de carácter progresivo. Los síntomas más frecuentes son dolor y parestesias en el territorio de inervación del nervio mediano, ocasionalmente irradia a antebrazo y codo (diagnóstico diferencial con radiculopatías cervicales) de predominio nocturno con afectación del sueño, puede ceder con elevación del brazo y agitación de la mano.

Pueden existir síntomas más precoces que los sensitivos, relacionados con una leve debilidad de la musculatura (abductor corto, flexor corto y oponente del 1er dedo) y discreta atrofia de eminencia tenar, se pueden acompañar de síntomas vasomotores.

Exploración física

En los casos avanzados puede haber atrofia de eminencia tenar, debilidad y dificultad para los movimientos de abducción y oposición del 1er dedo. El signo con mayor valor predictivo es el de Flick. Es positivo cuando el paciente al ser preguntado: "¿Qué hace usted con la mano cuando los síntomas están peor?" responde agitando su mano de la misma manera que lo hace para bajar un termómetro. También son útiles y bastante seguros: incapacidad para distinguir estímulos dolorosos en la región palmar del dedo índice en relación con el otro lado y el diagrama de la mano de Katz (patrón clásico o probable). Menos útiles aunque más utilizados son el signo de Phalen (la flexión máxima de ambos carpos (ventral) durante 2 minutos produce parestesias) y el signo de Tinel (la percusión con el martillo de reflejos sobre el ligamento anular -cara ventral muñeca- produce sensación de descarga eléctrica sobre 2º y 3º dedos) .La evolución espontánea de la enfermedad es hacia el progresivo deterioro irreversible de la función nerviosa (dolor, fallos de sensibilidad y pérdida de fuerza).

Diagnóstico

EMG: detecta la disminución de la velocidad de conducción sensitiva y motora. Útil para confirmar el diagnóstico y valorar la severidad de la compresión. Si es normal, no descarta síndrome de túnel carpiano. Valores normales: Latencia sensitiva >3,7 milisegundos. Diferencia de 0,4 miliseg ó + entre el mediano y el radial o cubital. Latencia motora >4 miliseg.

Radiología: preferible en casos postraumáticos. Anteroposterior de carpo para valorar deformidades y axial para valorar estrechez de canal o existencia de prominencias. Radiografía cervical si existe sospecha de radiculopatía cervical. Aunque el diagnóstico del STC se basa en la clínica y en el estudio electromiográfico, existe entre un 13-27% de pacientes sintomáticos con electromiograma normal. En estos casos la ecografía y la resonancia magnética son de utilidad (Keles I, 2005).

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Analítica: hemograma, VSG, proteinograma, glucemia, creatinina, uricemia, ANA, FR, TSH y T4. Un 34% de causa idiopática remite sin tratamiento en 6 meses, con mejor pronóstico en: mujeres respecto a varones, embarazadas vs no embarazadas y jóvenes.

Tratamiento

1. Tratamiento etiológico. Valorar la retirada de los anticonceptivos orales y en gestantes evaluar después del parto, controlar y tratar el problema específico: diabetes, hipotiroidismo, artritis reumatoide, gota.

2. Tratamiento conservador. Indicado en casos con síntomas leves, con falta de atrofia de la eminencia tenar, embarazo o historia de sobreuso. Puede recomendarse reposo de la mano, AINEs y/o férula dorsal nocturna en extensión que abarque mano y antebrazo (se ha demostrado que la cirugía obtiene mejores resultados que esta última). En casos crónicos la rehabilitación ocupacional se asoció a un mayor porcentaje de regreso al trabajo que los cuidados habituales (Gerritsen AA, 2002; O'Connor D, 2003). Existe una revisión en relación a los tratamientos fisioterapéuticos con utilización de los ultrasonidos en que demuestra que tiene una alta recomendación con un buen nivel de evidencia, para el tratamiento sintomático, no etiológico. Existen numerosos estudios que avalan la utilidad del uso de corticoides, aunque sus conclusiones son aún dispares como mostramos a continuación:

Inyecciones de corticoides a corto y medio plazo hasta 1 año resultan tan eficaces como la descompresión quirúrgica en la mejoría de la sintomatología (Ly Pen D, 2005; Hui AC, 2005) pero no han demostrado mejoría en la fuerza de prensión de la mano (Hui AC, 2005)

Existe tendencia a la utilización de dosis altas de corticoides (60 mg de metilprednisona) para las infiltraciones. Con la primera infiltración se observó una mejoría en el 50% de los pacientes y con la segunda infiltración se redujo aún más la necesidad de cirugía (Dammers JW, 2006)

En un estudio reciente no se encontraron diferencias significativas entre la inyección local de prednisona y prednisona oral en un seguimiento a 3 meses (Mirhra S, 2006)

Una revisión Cochrane que analiza la utilidad de la inyección local de corticoesteroides concluye que ésta proporciona una mejoría clínica frente a placebo al mes de la infiltración, sin utilidad más allá del mes. Igualmente refiere que la infiltración local presenta una mejoría clínica mayor que la administración oral de corticoides hasta 3 meses y que comparando la infiltración de corticoides con el tratamiento antiinflamatorio convencional no mejora el resultado clínico, así como si se realiza una inmovilización de 8 semanas o un tratamiento con láser de Helio-Neón después de 6 semanas. Resuelve también que 2 inyecciones de corticoides no presentan una ventaja evidente frente a una sola (Marshall S, 2007).

La utilización de medicinas alternativas, cada vez cobra más importancia en nuestra sociedad, técnicas como la acupuntura y el yoga siguen en tela de discusión, existiendo estudios a favor y en contra de dichas terapias. Aunque

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

existen pocos estudios bien diseñados al respecto que nos permitan demostrar la utilidad de tales terapias, está demostrada su utilidad en otros países en los que se les considera como una terapia alternativa válida. (O'Connor D, 2003).

El uso de diuréticos no ha demostrado mejoría de los síntomas a las 2 semanas. Estudios con inyección de toxina botulínica, no han presentado mejorías evidentes frente a placebo en el tratamiento del STC (Breuer B, 2006) Se ha visto que la inyección de lidocaína es eficaz para la reducción del dolor asociado al STC, con buena tolerancia por parte del paciente, por lo que puede ser una alternativa para el tratamiento sintomático de estos pacientes (Nalamachu S, 2006), así como el uso de Colágeno y Polivinilpirrolidona (Fibroquel) aunque aún no se ha demostrado su uso y aplicación.

3.- Quirúrgico

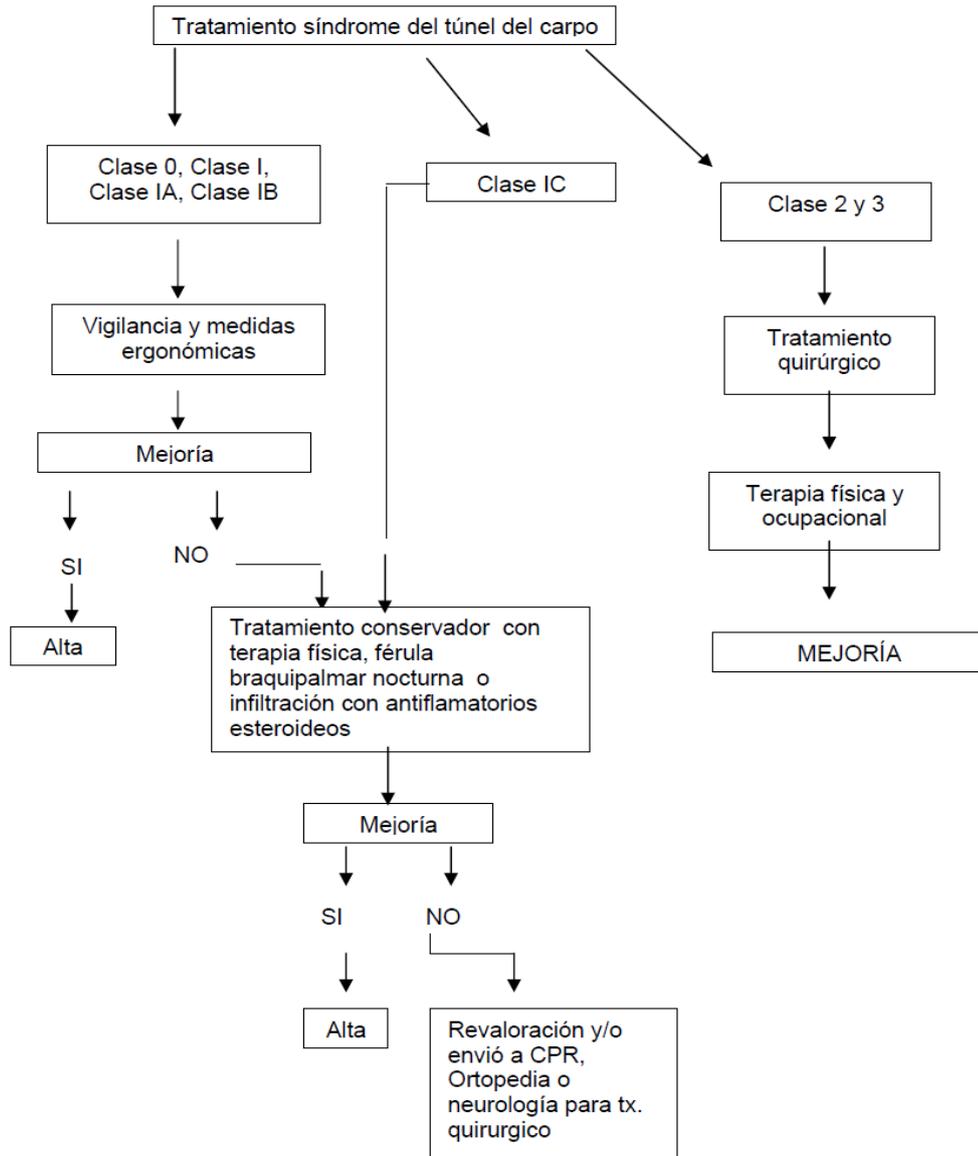
El tratamiento quirúrgico es más eficaz que el entablillado para aliviar los síntomas del STC (Verdugo Renato J, 2008).

Se realiza en los casos de:1) Persistencia de síntomas a pesar del tratamiento médico o estudio electrofisiológico muy patológico ,2) Déficit sensitivo o motor (atrofia eminencia tenar) establecidos. 3) Lesiones ocupantes de espacio que requieran extirpación. 4) Síntomas severos o progresivos de más de 12 meses. No existen pruebas sólidas que apoyen la necesidad de reemplazar la liberación del túnel carpiano mediante técnica estándar a cielo abierto por procedimientos quirúrgicos alternativos, como la vía endoscópica. La decisión de aplicar una u otra técnicas depende del cirujano y de las preferencias de paciente (Scholten RJPM, 2008).

Ambos tipos de cirugía son eficaces en la mejora del dolor con lenta o nula recuperación de déficits sensitivos y motores, dependiendo del grado de afectación en el momento de la intervención. Existe una baja probabilidad de recidiva a largo plazo (Wong KC, 2003).

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

ALGORITMO DE TRATAMIENTO SÍNDROME DEL TÚNEL DEL CARPO



Rosenbaum RB, Ochoa JL. Carpal Tunnel Syndrome. Butterworth-Heinemann, Boston, 1993

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA

La fisiopatología del STC no esta clara; se han propuesto múltiples teorías que intentan explicar el origen de los síntomas y el daño del nervio mediano registrado en las pruebas de neuroconducción.

Entre las teorías más comunes están la de la compresión mecánica, la de la insuficiencia micro vascular y la de la vibración.

La teoría de la compresión mecánica del nervio mediano permite explicar el origen de los síntomas y signos, pero no explica cómo las distintas etiologías llevan a dicha compresión. Se propone que la compresión del nervio se produce por sobreuso, hiperextensión repetitiva o prolongada de la articulación de la muñeca y/o por el uso prolongado de herramientas manuales o falta de experiencia en su manejo.

La teoría de la insuficiencia microvascular propone que el daño progresivo en la conducción del nervio mediano se debe a eventos isquémicos repetitivos, que se producen debido a la incapacidad de mantener el flujo sanguíneo axonal mínimo, ante eventos que desencadenan aumentos en la presión a nivel del túnel del carpo, secundaria entre otros factores, a una alteración a nivel de los vasanervorum. Dichos eventos isquémicos se asocian a los episodios sintomáticos como parestesias, hipoestesia, dolor agudo y alteraciones reversibles de la conducción nerviosa. Así, la acumulación de lesiones y las reacciones cicatriciales pueden llevar a daños irreversibles a nivel del nervio mediano. Esta hipótesis está basada en mediciones del flujo sanguíneo, del nervio mediano antes y dentro del túnel del carpo con Doppler láser.

La tercera hipótesis denominada de la vibración, sostiene que el daño del nervio mediano a nivel del túnel del carpo se debe a la sobreexposición a las vibraciones producidas por algunas herramientas. Esta hipótesis sugiere que la vibración causa inicialmente trastornos en el transporte axonal (de acuerdo a estudios hechos en animales) y progresivamente lleva a lesión axonal, junto a edema epineural, que a su vez por compresión incrementa el daño, siendo las más afectadas las fibras amielínicas (tipo C), responsables en parte de la conducción simpática, lo que llevaría a la pérdida del tono simpático vascular y a la disminución subsecuente del flujo sanguíneo. A pesar de que las tres hipótesis tienen naturalezas tan variadas, ellas en algún momento de la evolución del proceso fisiopatológico, toman elementos de alguna de las otras, para explicarlo, lo que hace pensar que tanto las manifestaciones clínicas y los trastornos en la neuroconducción que integran el STC puedan tener componentes de las tres teorías, en lugar de intentar explicar todos sus hallazgos con una sola.

Dentro de las Teorías que tratan de explicar el desarrollo del Síndrome de Túnel del Carpo se encuentra la hipoxica como ya se menciona anteriormente pero aun no se esclarece ninguna teoría, existen diversas condiciones en las que puede existir disminución de los requerimientos de oxígeno y conllevar al desarrollo de isquemia dando como resultados a nivel celular cambios funcionales tales como:

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

La disminución de la fosforilación oxidativa y de las bombas de membrana dependientes de ATP, con la consiguiente entrada de calcio, sodio y agua a la célula;

El catabolismo del ATP que lleva a la acumulación de hipoxantina con generación de especies reactivas del O₂ (Especies reactivas de oxígeno), con la reentrada del O₂;

La promoción de la expresión de productos génicos proinflamatorios (moléculas de adhesión de leucocitos, citoquinas) y agentes bioactivos (endotelina, tromboxano A₂) a nivel endotelial; y iv) la represión de los productos de algunos genes protectores [óxido nítrico sintasa (NOS) constitutiva, trombomodulina] y agentes bioactivos [prostaciclina, óxido nítrico (NO)]. Así, la isquemia induce un estado proinflamatorio que aumenta la vulnerabilidad del tejido durante la reperfusión³.

Existen dos fases: a) La fase temprana, que comprende desde el inicio de la disminución de oxígeno y con ello la activación de factores del complemento y el reclutamiento y activación de linfocitos residentes y b) La fase tardía en donde se da la infiltración y la activación de linfocitos polimorfonucleares (PMN)⁵. En esta fase, las citoquinas proinflamatorias, principalmente el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), la interleuquina (IL-6 e IL-1, quimioquinas y factores del complemento liberados son los responsables del reclutamiento de PMN. La infiltración de PMN continúa y se amplifica el daño por la liberación adicional de mediadores como EROS, TNF- α y proteasas⁶. Si el daño endotelial es severo, la migración transendotelial de los neutrófilos ocurre fácilmente, sin embargo, ella requiere de la participación de moléculas de adhesión como ICAM-1 si el daño es de menor magnitud, cuya expresión aumenta en respuesta al TNF- α , IL-1 e interferón- γ (INF- γ)⁶.

Existe evidencia clara al respecto de la participación de diversos factores que se enumeran a continuación:

Pérdida de la homeostasis del calcio (Ca⁺²). El mecanismo a través del cual se relaciona el aumento del Ca⁺² intracelular con el daño, involucra tanto la activación de enzimas hidrolíticas dependientes de Ca⁺² (fosfolipasas, proteasas, nucleasas), como el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa mitocondrial con la consecuente disminución del nivel de ATP⁷.

Generación de Especies Reactivas de Oxígeno (EROS). Las EROS se generan normalmente durante el metabolismo aeróbico celular y son neutralizadas por diversos mecanismos antioxidantes. La inflamación, hiperoxia, radiaciones, metales pesados y diversos xenobióticos aumentan la generación de EROS, condiciones que al lograr el desbalance entre los procesos antioxidantes y prooxidantes, favoreciendo estos últimos, inducen el fenómeno de estrés oxidativo que puede inducir citotoxicidad⁸.

Cambios en la microcirculación. Los cambios que ocurren en la microcirculación durante la isquemia o reperfusión inicial del tejido llevan a áreas que no se perfunden, aun después del reestablecimiento del flujo al órgano, fenómeno que se conoce como no-reflujo (*no-reflow*)¹⁵. Estos cambios incluyen aumento del volumen celular con protrusión al lumen de los vasos, adherencia de los leucocitos al endotelio, agregación plaquetaria, acumulación de fluido intracelular y vasoconstricción⁴.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

La falla microcirculatoria podría ser el fenómeno inicial que llevaría al no-reflujo, con la liberación de citoquinas proinflamatorias, llevando a inducción de un estado de estrés oxidativo.

Activación de factores del complemento. El sistema del complemento también se activa, siendo particularmente importantes los factores C3a, C5a, iC3b y C5b-9. C5a, además de estimular los leucocitos y la quimiotaxis, amplifica la respuesta inflamatoria al inducir la producción de MCP-1 ("*methyl-accepting chemotaxis proteins*"), TNF- α , IL-6 e IL-1⁴. C5b e iC3b también pueden alterar la homeostasis vascular. iC3b se forma por fragmentación de C3 y es un ligando específico para la adhesión de los leucocitos al endotelio vascular vía integrina β_2 , CD11b-CD18 (Mac-1)⁴. De esta manera, la activación del sistema del complemento contribuiría a amplificar el daño de manera directa, por formación del complejo de ataque de membrana, e indirecta, estimulando la producción de citoquinas proinflamatorias y la migración y adhesión de leucocitos⁴.

El óxido nítrico (NO). El NO se forma a partir de L-arginina por la acción de las NOS, incluyendo una isoforma inducible que se expresa principalmente bajo condiciones patológicas (iNOS o NOS2), y dos constitutivas, la eNOS (NOS3) y nNOS (NOS1) que se expresan en el endotelio y en el sistema nervioso, respectivamente¹⁷. El NO cumple múltiples funciones fisiológicas y patológicas como mediador intra e intercelular en procesos de inmunomodulación, neurotransmisión y regulación del tono vascular¹⁷.

La modificación del diámetro de los vasos sanguíneos está regulado por agentes vasoconstrictores, como las aminas biogénicas y vasodilatadores, como el óxido nítrico (NO), producidos en las células endoteliales¹⁸. La acción del NO sobre el tono vascular, se ejerce a través del cGMP que desencadena una cascada de eventos que llevan a la reducción del tono muscular¹⁸. Las acciones del NO pueden mediar el daño, ya sea por una acción relajadora a nivel de células estrelladas o participación en la adhesión de los neutrófilos al endotelio y en la agregación plaquetaria¹⁹, el NO se asocia a la apoptosis de forma dual. En concentraciones fisiológicas, la apoptosis se inhibe por nitrosilación de caspasa 3, efecto asociado a inhibición de la liberación del citocromo C por bloqueo del clivaje de Bcl-2 (caspasa 3-dependiente). En niveles altos, el NO actúa induciendo apoptosis, lo que podría estar mediado por peroxinitrito, el cual provocaría un cambio en la permeabilidad mitocondrial con la consecuente liberación de citocromo C, como también por daño al ADN y la consiguiente activación de PARS [*poly (ADP-ribose) synthase*]¹⁹.

Pre acondicionamiento isquémico

Varios órganos responden a la exposición a períodos breves de isquemia u otros estímulos citotóxicos, aumentando su resistencia a un estímulo citotóxico posterior de mayor duración o severidad, fenómeno denominado "preacondicionamiento"(PI). En seres humanos el PI se ha utilizado limitadamente. En la protección por el PI pueden concurrir varios mecanismos posibles:

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

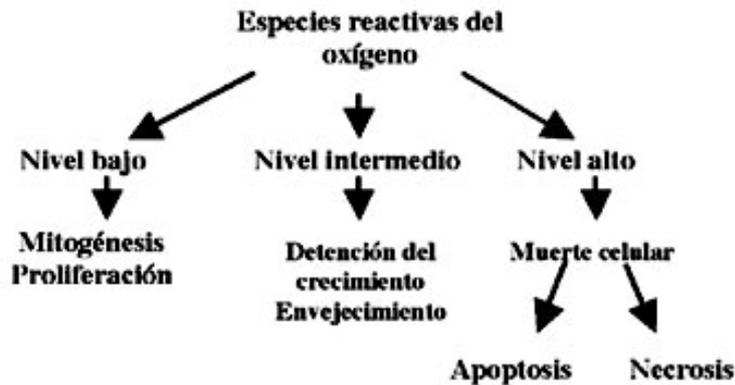
La preservación del nivel de ATP por activación de la quinasa dependiente de AMP. La inducción de sistemas antioxidantes [efecto protector simulado por glutatión reducido.

El aumento moderado en los niveles de TNF- α .

La liberación de 'NO [efecto protector eliminado por la inhibición de NOS y simulado por donantes de 'NO o L-arginina

Mayores niveles de adenosina

Este último mecanismo es dependiente de la síntesis de 'NO y ocurriría por activación del receptor A₂ predominantemente, ya que la administración de un antagonista competitivo revierte los efectos protectores.



Otro factor importante en relación a presentarse isquemia en los órganos es el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) el cual, es un mitógeno de las células endoteliales micro y macrovasculares. El VEGF promueve la expresión de las moléculas de adhesión como la molécula de adhesión de células vasculares tipo 1 (VCAM-1) y la molécula 1 de adhesión intracelular (ICAM-1) en las células de adhesión, lo que puede resultar en la adhesión de células "naturales asesinas" (NK) a las células endoteliales.

La expresión del VEGF se encuentra regulada por diversos mecanismos, entre ellos la hipoxia que es un potente estimulador del VEGF. Así mismo, la IL-6 también ha mostrado incrementar la síntesis de VEGF.

EL VEGF puede existir en diferentes especies moleculares de las cuales la 165 es la que se encuentra en los vasos sanguíneos.

FACTOR INDUCIBLE DE HIPOXIA

Los factores inducibles de hipoxia son factores de transcripción que responden a los cambios de oxígeno en el ambiente celular.

El factor inducible por hipoxia tipo 1 (HIF-1 α) es el regulador clave de la respuesta celular a la hipoxia y se presume como un factor clave en el crecimiento tumoral. Este factor presenta dos subunidades α y β , las cuales responden a la presión de oxígeno en el interior de la célula. Existe una mayor susceptibilidad y un peor pronóstico en lo que se refiere a los individuos portadores del alelo A para el polimorfismo G1790A correspondiente al gen HIF-1 α .

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Los factores inducibles de hipoxia son factores de transcripción que responden a diferentes concentraciones de oxígeno en el ambiente celular, específicamente cuando existen condiciones de hipoxia o baja de O₂.^[1]

HIF1 α y HIF1 β se producen continuamente, pero HIF1 α es altamente lábil en presencia de O₂, por lo que se degrada en condiciones aeróbicas. Cuando la célula está en condiciones de hipoxia, HIF 1 α persiste y el complejo HIF1 α , estimula la liberación de VEGF.

La cascada de señalización

La cascada de señalización del HIF media los efectos de hipoxia, o estado de concentración baja de oxígeno, en la célula. Sin embargo, la hipoxia promueve la formación de vasos sanguíneos, y es importante para la formación de un sistema vascular. La hipoxia en heridas también promueve la migración de queratinocitos y la restauración del epitelio, en general, los HIFs son importantes para el desarrollo en los mamíferos, la supresión de los genes HIF-1 tienen como resultado la muerte perinatal. HIF-1 ha sido reconocido como esencial para la supervivencia del condrocito, permitiendo a las células adaptarse a condiciones bajas de oxígeno dentro de los discos de crecimiento. HIF juega un papel central en la regulación de metabolismo humano.⁸ La subunidad alfa de HIF-1 es primordial para la hidroxilación por la enzima prolihidroxilasa de HIF, que hace un objetivo para la degradación de una ligasa de ubiquitina E3, llevando a degradación rápida por el proteasoma, esto ocurre sólo en condiciones de normoxia. En condiciones de hipoxia la enzima prolihidroxilasa se inhibe desde que se utiliza oxígeno como un cosustrato. La hipoxia⁹ también tiene como resultado un aumento de succinato, debido a inhibición de la cadena de transporte de electrón en las mitocondrias. El aumento de succinato inhibe aún más HIF acción de prolihidroxilasa, desde que es un producto final de hidroxilación de HIF. En una manera semejante, la inhibición de transferencia de electrón en el complejo succinato de deshidrogenasa debido a mutaciones en el SDHB o genes de SDHD puede causar un aumento de succinato que inhibe HIF prolihidroxilasa, estabilizando, la misma, esta condición se llama de pseudohipoxia.

HIF-1, cuando es estabilizado en condiciones de hypoxia, regula a la alta varios genes para promover supervivencia en condiciones de bajo-oxígeno, algunas de estas enzimas son las que promueven la de glicolisis, que permiten que el ATP se sintetice en una manera de oxígeno-independiente, y en factor vascular de crecimiento endotelial (VEGF), promoviendo la angiogenesis.

No hay suficiente información científica sobre la actividad de los mecanismos moleculares de los HIFs tanto en condiciones de normoxia e hipoxia. Se han formulado algunos objetivos terapéuticos que se intentan demostrar como moduladores de los factores inducibles de hipoxia algunas de ellas actuando como inhibidores selectivos de prolihidroxilasas de HIF.¹² como ejemplo tenemos el FibroGen-2216 y FG-4592,[13] sin embargo por los efectos secundarios producidos se suspendió del mercado farmacéutico, por lo cual se continúan haciendo investigaciones para el análisis y el posible uso de algún inhibidor de los HIFs, ya que al regular estos factores indirectamente se puede incidir sobre la inflamación crónica ya que esta se autoperpetúa y esto conlleva a factores activos de transcripción aberrante. Por consiguiente, las modificaciones en el factor del crecimiento, en las citocinas y en el equilibrio

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

de EROS ocurren dentro del ambiente celular, con estas investigaciones se abre paso a una nueva línea de investigación para el posible uso de medicamentos de tratamiento para algunas enfermedades que cursen con inflamación crónica, así como aquellas que puedan desarrollar Cáncer y Metástasis.

HIF 1, es un heterodímero compuesto por una subunidad alfa y una subunidad de beta, el último al ser un receptor esta constitutivamente expresado de aril hidrocarburo (ARNT).^{2,3} HIF nuclear-1 pertenece al POR ARNT SIM (PAS) la familia de factores de transcripción. La subunidad alfa y beta es semejante en su estructura y ambos contienen los dominios siguientes: N-TERMINAL ^{4,5,6}– un dominio de bHLH para ADN preparando las proteínas de corregulación transcripcional.

Existen subfamilias de HIFs , las cuales se enlistan a continuación:

Subfamilias	gen	proteína
HIF-1 α	<i>HIF1A</i>	Factor inducible de hipoxia, subunidad alfa.
HIF-1 β	<i>ARNT</i>	receptor nuclear
HIF-2 α	<i>EPAS1</i>	Dominio proteína 1 endotelial PAS
HIF-2 β	<i>ARNT2</i>	Receptor transnuclear endotelial 2
HIF-3 α	<i>HIF3A</i>	Factor inducible de hipoxia 3 subunidad alfa.
HIF-3 β	<i>Arnt3</i>	Receptor transnuclear arilhidrocarburo 3

Factor de Crecimiento Endotelial Vascular

El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) es un mitógeno de las células endoteliales micro y macrovasculares. El VEGF promueve la expresión de las moléculas de adhesión como la molécula de adhesión de células vasculares tipo 1 (VCAM-1) y la molécula 1 de adhesión intracelular (ICAM-1) en las células de adhesión, lo que puede resultar en la adhesión de células “naturales asesinas” (NK) a las células endoteliales.

EL VEGF puede existir en diferentes especies moleculares de las cuales la 165 es la que se encuentra en los vasos sanguíneos.

La expresión del VEGF se encuentra regulada por diversos mecanismos, entre ellos la hipoxia que es un potente estimulador del VEGF. Así mismo, la IL-6 también ha mostrado incrementar la síntesis de VEGF.

Los estudios de inmunohistoquímica muestran que las lesiones tempranas ateroscleróticas presentan intensa reactividad de VEGF en las regiones ricas en macrófagos y en la íntima engrosada. En las placas ateroscleróticas la expresión de VEGF también se ha encontrado en las regiones con células espumosas adyacentes al núcleo lipídico o en las regiones basales neovascularizadas consistentes predominantemente en células musculares lisas ²⁵.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

La expresión del VEGF se ha encontrado de manera más intensa en coronarias con aterosclerosis que en aquellas sanas, y esta tinción inmunohistoquímica para VEGF fue mayor cuando mayores fueron las lesiones ²⁶.

Sin embargo, la administración de VEGF 165 en modelos experimentales en los que se ha inducido isquemia, puede incrementar la perfusión y la formación de nuevos vasos ²⁸ y se ha asociado con la recuperación de la reactividad endotelial. Así mismo la administración de VEGF aumenta el flujo coronario en modelos animales en los que se indujo isquemia miocárdica ²⁹.

EL VEGF/VPF puede servir como un regulador endógeno de la integridad endotelial en los grandes vasos, pero sin que exista una correlación entre los niveles de VEGF y la cantidad de vasa vasorum ³⁰.

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, por *Vascular Endothelial Growth Factor*) es una proteína señalizadora implicada en la vasculogénesis (formación *de novo* del sistema circulatorio embrionario) y en la angiogénesis (crecimiento de vasos sanguíneos provenientes de vasos preexistentes). Como su propio nombre indica, las acciones del VEGF han sido estudiadas en las células del endotelio vascular, aunque también tiene efectos sobre otros tipos celulares (por ejemplo, estimula la migración de monocitos/macrófagos, neuronas, células epiteliales renales y células tumorales). *In vitro*, se ha demostrado que el VEGF estimula la división y la migración de células endoteliales. El VEGF también es un vasodilatador e incrementa la permeabilidad vascular; originalmente recibía el nombre de factor de permeabilidad vascular (*vascular permeability factor*).

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Clasificación

VEGF incluye las proteínas homodiméricas VEGF-A (que es la que se designa normalmente al hablar de VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y PIGF (*placental growth factor*).

Tipos de VEGF en humanos	
Tipo	Función
VEGF-A	Angiogénesis ↑ Migración de células endoteliales ↑ mitosis de células endoteliales ↑ actividad de la Metano monooxigenasa ↑ actividad de la integrina $\alpha\beta3$ creación de la luz de los vasos sanguíneos creación de las fenestraciones de los vasos Quimiotáctico para macrófagos y granulocitos Vasodilatación (indirectamente, por liberación de NO)
VEGF-B	Angiogénesis embrionaria
VEGF-C	Linfoangiogénesis
VEGF-D	Necesario para el desarrollo de la vasculatura linfática que rodea los bronquiolos
PIGF	Importante para la Vasculogénesis También necesario durante isquemia, inflamación, cicatrización y cáncer

El término VEGF engloba a varias proteínas pertenecientes a dos familias, que son el resultado del ajuste (splicing) alternativo del mRNA de un único gen de VEGF con 8 exones. Las dos familias diferentes se nombran de acuerdo con el sitio de empalme del exón terminal. Si se une en el sitio de empalme proximal se denomina VEGF_{xxx} y si lo hace en el sitio de empalme distal se denomina VEGF_{xxx}b. Además, el splicing alternativo de los exones 6 y 7 altera su afinidad por la heparina y su número de aminoácidos (en humanos: VEGF₁₂₁, VEGF_{121b}, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF_{165b}, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆; los ortólogos de estas proteínas en roedores contienen un aminoácido menos). Estos dominios tienen importantes consecuencias funcionales para las variantes de splicing de VEGF, ya que el sitio de splicing terminal (que define el exón 8) determina si las proteínas son pro-angiogénicas (si se usa el sitio de splicing proximal, lo que ocurre durante la angiogénesis) o anti-angiogénicas (si se usa el sitio distal, como ocurre en los tejidos normales). Además, la inclusión o exclusión de los exones 6 y 7 median las interacciones con los co-receptores de heparan sulfato, proteoglicanos (HSPGs) y neuropilina en la superficie celular, mejorando su capacidad de unirse y activar sus receptores (VEGFRs).

Función

VEGF es un potente inductor de la formación de vasos sanguíneos durante el desarrollo embrionario (vasculogénesis) y tiene un papel fundamental en el crecimiento de vasos nuevos en el adulto (angiogénesis).¹ Promueve angiogénesis en los procesos de inflamación crónica, cicatrización y en tumores. VEGF es secretado por muchas células del mesénquima y del estroma. VEGF induce la migración de células precursoras endoteliales a partir de la médula ósea, y estimula la proliferación y diferenciación de estas células en los sitios de angiogénesis. Cuando la angiogénesis se origina a partir de vasos preexistentes (y no a partir de células precursoras), VEGF estimula la supervivencia de las células endoteliales, su proliferación y su motilidad, iniciando la gemación de nuevos capilares.

Tipos de VEGF y sus receptores.

Los miembros de la familia VEGF realizan su función en las células diana a través de tres receptores con actividad tirosina cinasa intrínseca: VEGFR-1, VEGFR-2 y VEGFR-3, localizados en células endoteliales y en otros tipos celulares. El más importante en angiogénesis es VEGFR-2. La unión ligando-receptor produce la dimerización del receptor y su activación mediante transfosforilación, aunque en sitios, momentos e intensidad diferentes. Los receptores de VEGF tienen una porción extracelular que consta de 7 dominios similares a inmunoglobulinas, una única región transmembrana, y una región intracelular que contiene un dominio tirosina kinasa escindido. VEGF-A se une a VEGFR-1 (Flt-1) y VEGFR-2 (KDR/Fik-1). VEGFR-2 parece mediar casi todas las respuestas celulares conocidas de VEGF.³ La función de VEGFR-1 se conoce menos, pero se piensa que modula la función de VEGFR-2. Además VEGFR-1 podría secuestrar VEGF para evitar su unión con VEGFR-2 (esto parece ser especialmente importante durante la vasculogénesis en el embrión). VEGF-C y VEGF-D, pero no VEGF-A, son ligandos del tercer receptor (VEGFR-3), que media la linfangiogénesis.

Producción

La producción de VEGF puede inducirse en células que no están recibiendo suficiente oxígeno. Cuando una célula es deficitaria en oxígeno, produce HIF (*hypoxia-inducible factor*), un factor de transcripción. HIF estimula la liberación de VEGF, entre otras funciones (como la modulación de la eritropoyesis). El VEGF circulante se une a los receptores de VEGF en las células endoteliales, desencadenando así una vía de tirosina kinasa que conduce a la angiogénesis. HIF1 alfa y HIF1 beta se producen continuamente, pero HIF1 alfa es altamente lábil en presencia de O₂, por lo que se degrada en condiciones aeróbicas. Cuando la célula está en condiciones de hipoxia, HIF1 alfa persiste y el complejo HIF1 alfa/beta estimula la liberación de VEGF.

Significación clínica

En aquellos casos en los cuales las arterias coronarias presentan estenosis (ralentización del flujo sanguíneo) avanzada (lo cual posibilita la aparición de angina de pecho o en casos más graves isquemias que pueden conllevar a infartos), se abre la posibilidad de emplear el VEGF con el fin de formar nuevos vasos sanguíneos a partir de otros preexistentes. Esto permite un aporte mayor de nutrientes y sustancias vitales, de manera que se reduce la sobrecarga que sufre el corazón debido a la alta demanda de esfuerzo y poca oferta de nutrientes esenciales. Esto ha permitido reducir la dependencia de medicamentos antianginosos y vasodilatadores coronarios.

VEGF se ha relacionado con un pronóstico pobre en cáncer de mama. Numerosos estudios muestran una reducción en la supervivencia en los tumores que sobreexpresan VEGF. La sobreexpresión de VEGF puede ser un paso temprano en el proceso de generación de metástasis, un paso involucrado en el "switch" angiogénico. Sin embargo, aunque VEGF se ha

correlacionado con una disminución de la supervivencia, el mecanismo exacto en la progresión tumoral permanece desconocido.

VEGF también se libera en la artritis reumatoide en respuesta a TNF- α , donde aumenta la permeabilidad endotelial y la hinchazón, y estimula la angiogénesis (formación de capilares). VEGF también es importante en la retinopatía diabética (DR). Los problemas microcirculatorios en la retina de los pacientes con diabetes puede causar isquemia en la retina, que conduce a la liberación de VEGF, y un cambio en el equilibrio entre las isoformas pro-angiogénicas VEGF sobre las isoformas que se expresan normalmente VEGF/VEGF puede entonces causar la creación de nuevos vasos en la retina y en otras regiones del ojo, iniciando cambios que pueden amenazar la visión. VEGF juega un papel en la patología de la forma húmeda de la degeneración macular asociada a la edad (AMD, por *age-related macular degeneration*), que es la principal causa de ceguera en el mundo industrializado. La patología vascular de la AMD comparte ciertas similitudes con la retinopatía diabética, aunque la causa de la enfermedad la fuente original de la neovascularización difiere entre las dos enfermedades. Los niveles séricos de VEGF-D están elevados de forma significativa en los pacientes con angiosarcoma.⁴ Sin embargo, pacientes afectados por enfisema pulmonar presentan niveles disminuidos de VEGF en las arterias pulmonares. En el riñón, un aumento en la expresión de VEGF en los glomérulos causa directamente la hipertrofia glomerular asociada con proteinuria.⁵ Los estudios actuales, sin embargo, muestran que VEGF no es el único factor implicado en angiogénesis: FGF-2 y HGF son también potentes factores angiogénicos.

Terapias anti-VEGF

Una vez liberado, VEGF puede desencadenar varias respuestas. Puede estimular la supervivencia, el movimiento o la diferenciación de una célula. Por esta razón, VEGF es una diana potencial para el tratamiento del cáncer. La primera droga anti-VEGF, un anticuerpo monoclonal denominado bevacizumab, se aprobó en 2004. Aproximadamente el 10-15% de los pacientes utilizan una terapia con bevacizumab; sin embargo, los biomarcadores para demostrar su eficacia no se conocen aún. En principio, como VEGF promueve la angiogénesis, un proceso necesario para el crecimiento de los tumores, el tratamiento con bevacizumab impediría la acción de VEGF. Ello bloquearía la formación de vasos sanguíneos, privando al tumor del aporte necesario de nutrientes para su crecimiento, impidiéndose así la proliferación celular y el desarrollo del tumor.

Las terapias anti-VEGF son importantes en el tratamiento de ciertos cánceres y de la degeneración macular asociada a la edad. Pueden utilizar anticuerpos monoclonales, tales como bevacizumab (Avastin), derivados de anticuerpos como ranibizumab (Lucentis), o pequeñas moléculas disponibles por vía oral que inhiben las tirosina kinasas estimuladas por VEGF: lapatinib (Tykerb), sunitinib (Sutent), sorafenib (Nexavar), axitinib, y pazopanib.

Los dos compuestos basados en anticuerpos se comercializan. Los tres primeros compuestos disponibles por vía oral también, y los dos últimos están siendo probados en ensayos clínicos.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Bergers y Hanahan concluyeron en 2008 que drogas anti-VEGF pueden mostrar eficacia terapéutica en modelos de cáncer en ratón y en un número creciente de cánceres humanos. Pero "como máximo los beneficios son transitorios, seguidos por un restablecimiento del crecimiento y la progresión del tumor".⁶ AZ2171 es un inhibidor de tirosina kinasa multi-objetivo, que ha demostrado tener efectos antiedema mediante la reducción de la permeabilidad y ayudando a la normalización vascular. En la actualidad un gran porcentaje de la investigación biomédica está siendo enfocada a la regeneración de tejidos, aplicación del uso de células progenitoras; y en especial a la ingeniería de tejidos, esto da como resultado numerosos estudios y líneas de investigación que son de vital importancia para desarrollar nuevas aplicaciones clínicas y brindarle al paciente nuevas alternativas de tratamiento, con el objetivo de dar un mejor pronóstico y una mejor calidad de vida.

Una de las áreas que ha tenido un gran auge en la actualidad es la medicina regenerativa, ya que con ella se ha podido lograr la formación de nuevos tejidos, la reparación y/o su regeneración; todo esto a partir de las propias células de un paciente. La medicina regenerativa se vale de diversos medios para lograr su objetivo, entre los que destacan: la terapia celular, la ingeniería tisular y la inducción farmacológica para formar nuevos tejidos.

Se han podido cultivar células con mínimas muestras de tejido, que pueden ser utilizadas en el paciente junto con biomateriales derivados de tejidos naturales (submucosa intestinal de cerdo) para la reparación o regeneración de un tejido dañado.³¹ En el campo de la rehabilitación se ha utilizado el colágeno-PVP en las úlceras varicosas, en quemaduras, gonartrosis y recientemente en artritis reumatoide, etc. Este biomedicamento es una colágena polimerizada inyectable con propiedades inmunomoduladoras. Sus propiedades electroforéticas, fisicoquímicas y farmacológicas son únicas debido a la unión covalente entre la colágena tipo I y la polivinilpirrolidona (patente #922830, México). Este medicamento ha mostrado tener un efecto positivo sobre la reparación de heridas y la consolidación ósea a través de la inducción de macromoléculas de matriz extracelular (MEC).^{7,8}

Cuando se ha utilizado para promover la cicatrización ósea en sitios de fracturas se ha observado que existe un aumento en la expresión de osteopontina (OPN) y SPARC. La OPN se ha detectado en mayores niveles en sitios donde hay osteoblastos maduros en zonas de remodelado óseo.⁹ Esta proteína se veía aumentada en los sitios en los que se trataban con Fibroquel, lo que sugiere que pudiera estimular el proceso de mineralización y de remodelado óseo. También la osteopontina es expresada en el linaje monocítico y en linfocitos T activados;¹⁰ por lo que la alta expresión de OPN que se presenta con el tratamiento de Fibroquel pudiera estimular la reparación ósea debido a que está involucrada en la inflamación, formación y remodelado óseo. SPARC es una de las proteínas no colagénicas sintetizadas por células óseas; ésta juega un papel importante en el inicio de la mineralización, recambio cálcico y remodelado óseo.¹¹ Su expresión también se ha visto aumentada cuando se tratan los sitios con fibroquel, por lo que se infiere que este fármaco pudiera acelerar el proceso de cicatrización de la fractura. También modula el recambio de la MEC, particularmente la colágena tipo I y III, disminuye la expresión de interleucina 1-B (IL-1B), factor de necrosis tumoral (TNF- α), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y molécula de

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA

adhesión celular vascular 1 (VCAM-1).¹² De esta manera, es evidente que la colágena-PVP tiene efectos moduladores sobre el proceso inflamatorio y sobre los procesos fibrogénicos regulando varias de las moléculas importantes en estos procesos.

El Colágeno y sus características.

La cicatrización en los mamíferos es un proceso en cascada que implica una serie de fases, simultáneas en su mayoría, pero con predominio cronológico de algunos de sus componentes, lo que lleva con una eficiencia extrema a la regeneración del sitio de la lesión en los fetos (Adzick y Lorenz, 1994), con eficiencia moderada a la reparación de *neonatos* y adultos, y finalmente con muchas deficiencias y secuelas en individuos seniles (Ashcroft, 1995). Desde siempre y quizá con mayor importancia en la actualidad, se ha considerado a las heridas como una prueba de salud pública que requiere atención, pues si un daño en los tejidos es tratado desde el inicio, la calidad de la reparación generalmente es mejor que si se atiende posteriormente. Esto se debe a la actividad de las células que infiltran el área, así como al recambio de los componentes de la matriz extracelular (MEC), es decir, su síntesis y degradación; sin olvidar que la regulación metabólica se lleva a cabo por una variedad de moléculas solubles tales como las hormonas (Schierle et al., 1997), péptidos derivados de la misma MEC en el sitio del daño y citocinas (Postlethwaite et al., 1988, Gailit y Clark, 1994), quienes dirigen por medio de mecanismos muy finos, la migración, la división y la diferenciación celular, además el recambio de la MEC.

El proceso de cicatrización en los mamíferos se puede dividir en tres fases. En la *fase temprana* ocurre la mayor variedad de fenómenos, ya que en el momento del daño, y si este implica la ruptura de vasos sanguíneos, concomitadamente se deriva la extravasación de los componentes de la sangre, que al entrar en contacto con la pared arterial o venosa disparan el proceso de coagulación. Este proceso resulta de la activación del factor Hageman superficial, el factor procoagulante tisular liberado por las células dañadas y los factores de coagulación de las superficies de membrana así como de los fosfolípidos producidos por las células endoteliales y las plaquetas. Donde el paso crítico en todos los casos es la disponibilidad de una superficie que favorezca la absorción y permita la activación de proenzimas específicas de la coagulación, ya que estas se encuentran inmersas en el plasma, cuya composición incluye una gran variedad de inhibidores enzimáticos, de tal forma que cuando las proenzimas quedan absorbidas en el espacio extravascular, prácticamente quedan libres de inhibidores lo que permite su activación, que en cuestión de minutos se amplifica como una respuesta hemostática.

La coagulación finaliza cuando los estímulos activadores se disipan y se ha formado un tapón de MEC transitoria y plaquetas. Esto se debe a la presencia de la prostaciclina y antitrombina III que inhiben la agregación plaquetaria. Asimismo, se presenta la lisis del coágulo cuando se libera el activador del plasminógeno que convierte el plasminógeno en plasmina, y a su vez es ayudado por la degradación de los factores de coagulación V y VIII a través de la proteína C. esta lisis también es controlada rigurosamente ya que las enzimas proteolíticas principales y los activadores del plasminógeno y la plasmina están unidos con el coagulo de fibrina y las superficies celulares, por

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

lo que no pueden ser alcanzados por los inhibidores de proteasas de la fase fluida o plasma; como son el inhibidor del activador del plasminógeno y la α_2 – antiplasmina. Sin embargo, esto podría llevar a una lisis exagerada del entorno lesionado, pues tanto el activador del plasminógeno como la plasmina tienen capacidad de degradar gran parte de los componentes de la MEC. Esto no ocurre gracias a la presencia fisiológica de un inhibidor específico del activador del plasminógeno el cual se encuentra unido a la MEC, lo que limita la actividad de estas enzimas (Clark, 1995).

Por otro lado, el mismo coágulo hemostático participa como una matriz provisional, lo cual permite el reclutamiento de células en el sitio dañado, donde particularmente la fibrina y la fibronectina juegan un papel muy importante, ya que permiten el influjo de monocitos y fibroblastos a través de receptores específicos de membrana conocidos como integrinas (Chapman y Haskard, 1995).

La *fase tardía* también comprende, junto con la temprana, el proceso inflamatorio, pues este lleva un determinado tiempo para proveer los componentes solubles de matriz y celulares necesarios que favorecen la reparación del daño, donde la activación de moléculas como el factor de Hageman, generan fragmentos proteicos, como la bradiquinina y agentes vasoactivos potentes; además de iniciar las cascadas clásica y alterna del complemento, generando las anafilatoxinas C3a y C5a. Estas últimas incrementan directamente la permeabilidad vascular y atraen neutrófilos y monocitos a los sitios dañados. Simultáneamente, estas sustancias estimulan la liberación de mediadores vasoactivos, como la histamina y los leucotrienos C₄ y D₄, que se encuentran en los gránulos de los mastocitos, así como la liberación de derivados oxidantes biológicamente activos de los gránulos de los neutrófilos y macrófagos (Clark, 1995). Otros componentes son las citocinas, que forman un grupo heterogéneo de moléculas de naturaleza glicoproteica, de bajo peso molecular (7 a 30 kD), que actúan en concentraciones picomolares de forma autócrina, parácrina o endocrina.

La *reepitelización* de las heridas empieza unas cuantas horas después de la lesión (Fase tardía), donde las células de las estructuras epiteliales residuales se mueven rápidamente a través del sitio dañado. En la piel, los queratinocitos epidérmicos estratificados o los del folículo piloso, se “desplazan uno sobre el otro” (Clark, 1995), es decir, forman grupos de células que a su vez se dividen, primero horizontalmente con respecto al plano de la piel, y luego se estratifican perpendicularmente. Este proceso requiere de la disolución de desmosomas, que son estructuras que interconectan a los queratinocitos y que proveen la fuerza de tensión en el epitelio, además de la pérdida temporal de la unión dermo-epidérmica, a través de la disolución de hemidesmosomas que unen a la epidermis con la membrana basal. Otra característica de la epidermis en reparación es la carencia de queratinas clásicas del epitelio estratificado, así como la deficiencia de filagrina, cuya participación como cementante es crucial. En esta fase de la reparación, solamente se encuentran presentes las queratinas producidas por los queratinocitos de la capa basal. Cabe señalar que pese a la característica no diferenciada de los queratinocitos migrantes, estos sí producen involucrina, un componente de membrana celular presente en los queratinocitos diferenciados, así como la transglutaminasa, una enzima que participa en el entrecruzamiento de las proteínas de la membrana celular (Clark, 1995). Lo anterior nos lleva a considerar que la epidermis de transición

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

tiene algunas características de una epidermis clásica pero sin la maduración total, debido a la necesidad de dividirse y migrar en un sistema tridimensional que permita primero, volver a generar una barrera y después, equilibrar el balance proteico-hidro-lipídico necesario para generar la homeostasis del área. Otra posibilidad es la liberación local de citocinas que estimulen dicho proceso, tales como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento transformante α (TGF- α), el factor de crecimiento epidérmico de unión a la heparina (HB-EGF), así como la familia del factor de crecimiento fibroblástico (FGF); y tal vez otros factores también derivados de los macrófagos o células del parénquima dérmico que actúan de manera parácrina. Cabe señalar, que los mismos queratinocitos tienen la capacidad de producir al TGF- α , así como al TGF- β , lo que hace posible considerar su participación de forma autócrina y parácrina, pues en un modelo de cicatrización *in vitro* a partir de explantes de piel humana, se encontró que el TGF- β 1 se incrementa en los bordes del epitelio dañado y disminuye una vez que se alcanza la confluencia y comienza la estratificación. Lo anterior se relaciona con la capacidad que tiene el TGF- β 1 para inducir la síntesis de integrinas que permitan la locomoción de los queratinocitos y la inhibición de su proliferación. Una vez que los queratinocitos han alcanzado la confluencia en la zona dañada, se presenta un incremento en la producción del TGF- α que estimula la proliferación de esta estirpe celular, lo que permite la estratificación. Lo anterior nos señala que al menos en parte, el proceso de reepitelización se manifiesta de manera autócrina (Kratz y Compton, 1997).

Ahora bien, si el daño incluye a la membrana basal, las células epidérmicas migran sobre una matriz provisional que consta de colágena tipo V, fibrina, fibronectina, tenascina, vitronectina, osteonectina y trombospondina, además de colágena tipo I y III. Pero si la lesión no incluye la membrana basal, la fibronectina se infiltra por esta, ya que tanto la fibrina como la fibronectina presentes en la matriz transitoria provienen inicialmente en el plasma circulatorio. Sin embargo, solo algunos días después, la fibronectina se produce localmente por los fibroblastos, macrófagos e incluso por los mismos queratinocitos migrantes. Así que la migración de los queratinocitos a través de esta matriz provisional se debe por un lado, a su capacidad de expresar integrinas que no son producidas habitualmente por ellos, lo que no permite la migración celular a través del tejido seco o no viable (Clark, 1995) y por otro, gracias a su capacidad de secretar colagenasa (Ágren, 1998) y activador del plasminógeno, lo que favorece su migración a través de un entorno provisional viable (Clark, 1995). En las heridas normales y crónicas se ha encontrado colagenasa, estromelisin 1 y 2 y al activador del plasminógeno, donde la regulación de esas metaloproteasas se presenta a través de sus inhibidores tisulares (TIMP), entre otros (Curry et al., 1990). Inclusive se ha observado, que el TIMP-1 se expresa en la membrana basal de heridas normales, pero no en heridas crónicas, lo que nos permite considerar que la dificultad de reepitelizar en estas últimas es por falta de control en la destrucción en los componentes de matriz necesarios para la migración de los queratinocitos (Vaalamo et al., 1996).

Una vez reepitelizado el sitio dañado, reaparecen las proteínas de la membrana basal en una secuencia muy ordenada desde el margen de la herida hasta el centro, donde las células adquieren su fenotipo normal y se encuentran perfectamente ancladas a su membrana basal a través de los

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA

hemidesmosomas y a la neodermis subyacente a través de las fibrillas de colágena tipo VII (Clark, 1995).

El *tejido de granulación* o estroma nuevo, comienza a formarse aproximadamente 4 días después del daño. El nombre se deriva de la apariencia granular al ser examinado visualmente, pues gran cantidad de vasos capilares de neoformación invaden la zona y la población celular se encuentra constituida por 7% de células endoteliales, 18% como leucocitos, 11% como granulocitos y monocitos, 57% de fibroblastos y 7% de células T (Koschnick et al, 1998), todas ellas embebidas en un tejido conjuntivo laxo.

Para inducción del tejido de granulación es necesaria la participación de citocinas proinflamatorias con actividades quimioatrayentes, mitogénicas y moduladoras del fenotipo entre otras. Dichas actividades dependen no solo del tipo de citocinas, sino de su concentración, además de la presencia y afinidad de los receptores en el entorno cicatrizal, el nivel de actividad en la célula blanco y la MEC circundante. Cabe señalar que ya en el plasma sanguíneo varias de estas citocinas se encuentran presentes; sin embargo, las plaquetas activadas liberan cantidades importantes de ellas en el área dañada, que con la llegada de monocitos de sangre periférica y su diferenciación de macrófagos (Hart et al., 1998) establecen las condiciones para la síntesis continua de estos factores y su liberación. Además que las células del parénquima, tanto las dañadas como las activadas, pueden sintetizar y secretar citocinas (Clark, 1995), que junto con las ya presentes en la MEC normal (Krötzsch-Gomez et al., 1998) alcanzan niveles significativamente altos para activar, estimular y diferenciar a las diferentes células del tejido de granulación. De tal forma que los macrófagos, fibroblastos y los vasos sanguíneos se dispersan en el área dañada a través de una matriz temporal, que además de proveer soporte, guiar y activar células, permite la difusión de factores solubles como citocinas, hormonas, fragmentos proteicos, etc. Los macrófagos y neutrófilos proveen una fuerte continua de citocinas necesarias para estimular la fibroplasia y la angiogénesis (Mast y Schultz, 1996); es decir, los fibroblastos construyen una nueva MEC que favorece la infiltración celular y los capilares transportan el oxígeno y los nutrientes requeridos para mantener todo el metabolismo tisular. Así que en el tejido de granulación existe una reciprocidad dinámica entre los fibroblastos, las citocinas, la MEC y la neovascularización (Clark, 1995).

La fibroplasia consta de los componentes del tejido de granulación que provienen de los fibroblastos, donde cada una de las macromoléculas de la MEC se clasifica de acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas y fisiológicas. Así que existen proteínas fibrosas de dos tipos: las estructurales, principalmente como la colágena y la elastina, y las que participan en la adhesión como la misma colágena, la fibronectina, la laminina y la tenascina; ambas clases se encuentran en variedad de tamaños e isoformas que se derivan de la expresión de diferentes genes y constituyen familias de proteínas. Las variaciones en la composición, la concentración y la manera en cómo están organizadas estas macromoléculas dan lugar a una diversidad de formas, cada una adaptada a los requerimientos particulares de cada tejido. Así tenemos a las colágenas fibrilares del intersticio, que se componen por los tipos I y III principalmente, los cuales se asocian en forma de fibrillas junto con la colágena tipo V, la cual regula el diámetro de las fibras. La concentración alta de la colágena tipo I presente en la mayoría de los tejidos, contribuye a la gran fuerza de tensión y a la resistencia a la deformación. La colágena tipo VI, está

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

organizada como filamentos finos que se intercalan con las fibrillas de colágena; y la distribución tan variada en que se presenta, sugiere un papel en la organización de otros componentes de la matriz (Holbrook y Smith, 1993).

Las proteínas adhesivas participan en la interacción de las células con la MEC y con otras células. La fibronectina por ejemplo, promueve la interacción de los fibroblastos y otros tipos de células con la matriz del tejido conjuntivo, la laminina promueve la unión de las células epiteliales a la lámina basal, mientras que la tenascina puede regular la adhesión, dependiendo del tipo de receptores que presente la célula en un momento dado. Las moléculas de glucosaminoglicanos (GAGs) y proteoglicanos, que son cadenas de GAGs asociadas con núcleos proteicos, en el tejido conjuntivo, forman una sustancia fundamental hidratada, tipo gel, en la cual se encuentran embebidas las proteínas fibrosas, de tal forma que este gel resiste las fuerzas compresivas en la matriz. También la fase acuosa de gel de polisacáridos permite la difusión rápida de los nutrimentos, metabolitos, hormonas y otros factores solubles entre la sangre y las células de los tejidos, a lo que se denomina hidrodinamia. Por ejemplo, los fibroblastos fetales producen matrices pericelulares de ácido hialurónico, y estas son significativamente más extensas que las producidas por los fibroblastos post-natales, donde aparentemente la expresión del ácido hialurónico es una respuesta al factor estimulador de la migración (MSF) que no se observa en los cultivos de fibroblastos *neonatos* o adultos. Así que la mayor proporción del carbohidrato en tejidos fetales, normales y de reparación, parece tener algún vínculo con la regeneración del tejido dañado, a diferencia de la reparación de menor calidad observada en los tejidos lesionados *neonatos* o adultos (Moriarty et al., 1996).

COMPONENTE DE LA MEC	CITOCINA	SINTESIS	CELULA BLANCO	ESPECIE
Colágena tipo I	TGF- β , PDGF, IL-1	↑	Fibroblastos, preadipocitos	Humano, pollo
Colágena tipo II	TGF- β	↑	Condrocitos	Pollo
Colágena tipo III	TGF- β	↑	Fibroblastos	Humano
Colágena tipo IV	IL-1	↑	Fibroblastos	Humano
Colágena tipo VI [α L(VI)]	IFN	↑	Fibroblastos	Humano
Colágena tipo VI [α 3(VI)]	IFN	↓	Fibroblastos	Humano
MMP	TGF- β , IL-1, IL-10, FGF, EGF	↑	Fibroblastos, adipocitos, queratinocitos, tumorales	Humano
MMP	IFN	↑	Macrófagos, tumorales	Humano
MMP	IFN	–	Fibroblastos	Humano
Colagenasa 72	TNF- α	↓	Tumorales	Humano

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

kD				
Colagenasa 92 kD	TNF- α	↑	Tumorales	Humano
TIMP	EGF, TGF- β , IL-1, GRO α	↑	Fibroblastos, queratinocitos	Humano
MMP y TIMP	IL-6	↑↓?	Fibroblastos	Humano
Fibronectina	TGF- β , IL-1, EGF, TGF- α	↑	Fibroblastos, Condrocitos, epiteliales, de la granulosa	Humano, pollo, rata y ratón.
Tenascina	TGF- β , IL-1, FGF, TNF- α , PDGF	↑	Fibroblastos	Humano, pollo
Proteoglicanos Biglicano Versicano Agrecano	TGF- β	↑	Fibroblastos, Condrocitos	Humano, varios, bovino
Deocrina		↓	Fibroblastos	Humano, varios
Proteoglicanos	IL-1	↓	Fibroblastos, Condrocitos	Humano, bovinos
Proteoglicanos	PDGF	↑	Condrocitos	Bovino
GAGs	TGF- β	↑	Condrocitos	Bovino
Hialuronato	EGF, FGF	↑	Fibroblastos	Humano

Como se mencionó, las proteínas de la MEC son parte estructural del tejido conjuntivo, aunque también tienen un papel informacional para las células adyacentes (Linsenmayer, 1991); ya que se ha demostrado que los sustratos de colágena y otras proteínas de la matriz, in vitro, tienen influencia en la morfología, la diferenciación de varios tipos celulares y la síntesis de macromoléculas características del fenotipo diferenciado. Lo anterior esta, en parte, a cargo de las células derivadas del *mesénquima* pues son ellas las que se encargan en buena medida de la síntesis de enzimas, tanto específicas como inespecíficas, para la degradación de los componentes de la MEC, lo cual lleva a un recambio continuo de la matriz que se afecta durante los procesos de reparación tisular post-inflamatoria y fibrogénesis, además de la organogénesis y la metástasis.

En conclusión, la modulación del metabolismo de los componentes de la matriz se lleva a cabo por varios mecanismos; uno de ellos, es a través de la MEC misma, ya que es capaz de generar señales para controlar varias de las funciones celulares, como son la migración y la quimiotaxis la reorganización del citoesqueleto y la forma celular, la regulación en la proliferación celular y la diferenciación (Mauch et al., 1993), así como la síntesis y degradación de algunos de sus componentes proteicos y no proteicos (Schor, 1980). El otro mecanismo es como se mencionó por medio de citocinas.

LA COLÁGENA

Las proteínas colagénicas se consideran como una familia de moléculas con estructuras estrechamente relacionadas pero de distribución variable en los tejidos. Los diferentes tipos se dividen en cuatro grupos de acuerdo con su estructura.

El primer grupo se caracteriza por tener dominios con helicoidales ininterrumpidos con secuencias características –Gli-X-Y-, donde X es frecuentemente prolina y en la posición Y se presenta Hidroxiprolina (Ramachandran y Reddi, 1976). Las colágenas se sintetizan como precursores o procolágenas, conformadas por tres cadenas que se procesan en el medio extracelular dando lugar a triples hélices de ~~cadena~~ cadenas subsecuentemente se ensamblan en fibrillas y después en fibras. Los ejemplos de este grupo, son los tipos I, II, III, V y XI.

El segundo grupo comprende a las colágenas tipo IV y VII cuyos componentes polipeptídicos se distinguen por ser muy largos y especialmente por sus triples hélices extendidas. Su estructura primaria se caracteriza por variaciones en el triplete de la secuencia –Gli-X-Y-.

El tercer grupo está constituido por moléculas de colágena con triple-hélice corta, que puede estar en forma de dominios helicoidales continuos, como los tipos VI, VIII y X (Kielty et al., 1993).

Finalmente, el cuarto grupo está formado por varios productos genéticos diferentes, con distribución variable que comprende a las colágenas con triple-hélices interrumpidas asociadas a fibrillas (FACIT, por sus siglas en inglés). Estas son moléculas que presentan más de un dominio con triple hélice, con repetición de la secuencia típica –Gli-X-Y-, característica de los dominios colagénicos, separado por segmentos que no son helicoidales algunas de sus características son: carencia de procesamiento proteolítico, que si ocurre con las colágenas fibrilares, no son secretadas como precursores y generalmente se asocian con las colágenas fibrilares. Los representativos de este grupo, son los tipos IX, XII y XIV Shaw y Olsen, 1991, Kielty et al., 1993).

La regulación génica de la colena se lleva a cabo, como en otras proteínas, por una región promotora localizada en la posición 5´ inmediatamente después del sitio de inicio de la transcripción. En la región del promotor se une la enzima ARN polimerasa II, cuya función en la transcripción de los genes que codifican para las proteínas. Además, se presentan secuencias importantes para la transcripción llamadas incrementadores, que se pueden ubicar hacia la región 5´ de los promotores, más allá del extremo 3´ de los genes o en el primer intron. Ambos elementos, el promotor y el incrementador, contienen sitios de unión a proteínas que son específicamente reconocidos por los factores de la transcripción celular lo cual lleva a que una interacción compleja de los factores de la transcripción al incrementador y al promotor, resulte en la regulación de la actividad transcripcional. Por otro lado, existen elementos *cis* que afectan positiva o negativamente la transcripción cuyo localización ha sido identificada en la región ascendente del gen, así como en el primer intrón de varios de los genes que codifican para la colágena. La regulación de la transcripción de los genes que regulan a la colágena no se lleva a cabo solamente a nivel de los

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

elementos *cis* o los factores de unión al ADN, *trans*, sino también por el estado en la estructura de la cromatina y la metilación de los genes.

En cuanto a la regulación bioquímica, existen moduladores fisiológicos importantes para la síntesis y degradación de la colágena, estos incluyen a hormonas, tales como los corticoides, varias citocinas (Varga y Jiménez, 1995) y otros componentes de la MEC. Una de estas citocinas TGF- β , es amplia entre las diferentes especies y va desde la osca de la fruta hasta el humano, además de caracterizarse por mostrar una conservación evolutiva inusualmente estricta.

El TGF- β es una glicoproteína dimérica de 25 kD, con dos subunidades idénticas o diferentes, según la isoforma de TGF- β que se encuentra, en mamíferos, el tipo 4 que se encuentra en el pollo y el 5 en el sapo. Ambas cadenas se encuentran unidas por puentes disulfuro (Massagué, 1990, Álvaro-Gracia, 1992) y el factor se secreta como una molécula latente que se activa por escisión del propéptido precursor. Su síntesis se ha descrito en una gran variedad de células como los linfocitos T y los B, los macrófagos los fibroblastos, las plaquetas, las células tumorales y se ha encontrado también en órganos como el riñón, la placenta y el hueso. El TGF- β es un mitógeno indirecto para los fibroblastos ya que actúa induciendo la síntesis del receptor α del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).

Existen reportes donde se describe que en los fibroblastos adultos el TGF- β no incrementa la síntesis del receptor mencionado, a diferencia de los fibroblastos derivados de pacientes con esclerodermia, una enfermedad autoinmune caracterizada por presentar un depósito excesivo de proteínas del tejido conjuntivo y un incremento en la proliferación celular. Sin embargo, en fibroblastos derivados del prepucio de niños el factor disminuye la expresión de los receptores α del PDGF (Postlethwaite, 1993). Además el TGF- β induce la expresión e incorporación de las colágenas tipo I y III en la MEC, donde el incremento es hasta diez veces mayor que los niveles basales y la regulación se presenta a través del factor nuclear-1 (NF-1), localizado en la región del promotor de estas colágenas (Mauch et al., 1993). Los efectos mencionados se corroboraron por la adición de anticuerpos neutralizantes contra el TGF- β 1 y 2 en un modelo murino de cicatrización cutánea, en donde el infiltrado inflamatorio, así como el depósito de colágena entre otras proteínas de la MEC, disminuye por la acción bloqueadora de los anticuerpos (Schat et al., 1994).

Por su parte, durante la cicatrización dérmica, las colágenas tipo I y III se expresan en mayor proporción que lo normal, particularmente la tipo III que disminuye con el tiempo para alcanzar casi los niveles normales. Así, los ARN mensajeros (ARNm) que codifican para las cadenas pro α 1(I) y la pro α 1(III), sean colocalizado con el ARNm para el TGF- β 1, especialmente en células fibroblastoides derivadas de patologías fibrosantes dérmicas como la cicatriz hipertrófica, además, las células endoteliales adyacentes a las mononucleares, también expresan TGF- β 1, lo cual sugiere una relación entre las células productoras del factor y las responsables de la sobre expresión de la colágena, probablemente a través de una regulación autócrina y parácrina (Zhang et al., 1995). Por otra parte se sabe que el TGF- β 1 también es un inductor potente de la expresión de la procolágena tipo I en los preadipocitos, mientras que en los adipocitos diferenciados, la expresión del ARNm transcrito para la procolágena tipo I es mucho menor (Rizzinó, 1994), lo que hace considerar su

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

participación en el proceso de cicatrización cuando el daño alcanza la hipodermis.

Otro factor fibrogénico es el PDGF, que es una proteína básica de 30 kD, aislada inicialmente de los gránulos α de las plaquetas, consta de subunidades A y B, las cuales están unidas por puentes disulfuro para formar un dímero. El PDGF existe en 3 isoformas diméricas: heterodímero AB y dos homodímeros, AA y BB, todos son actividades biológicas, que los monómeros no tienen. El PDGF se secreta por una variedad de células musculares, las endoteliales, y los macrófagos activados, lo cual sugiere que participa en el control de la producción de los componentes del tejido conjuntivo durante la cicatrización.

El PDGF AB solamente tiene efectos marginales en la síntesis de la colágena por fibroblastos humanos de pulmón (Kovacs, 1991), ya que la mayoría de sus efectos se refiere a la capacidad que tiene para inducir la proliferación de los fibroblastos y a su participación junto con el TGF- β en la síntesis y el depósito de la colágena.

La interleucina 1 (IL-1) por su parte, se identificó inicialmente como un producto macrófágico con actividad mitogénica tanto en los linfocitos como en los timocitos y como pirógeno endógeno. Existen dos isoformas de esta citocina, la IL-1 α y la β , ambas con un peso molecular de 17 kD en su forma extracelular activa y derivan de un precursor de 31 kD sin actividad biológica. Aunque la homología de ambas isoformas es solo el 26% en una secuencia de aminoácidos, las dos manifiestan las mismas actividades fisiológicas y se unen al mismo receptor, aparentemente con la misma afinidad. La principal fuente de IL-1 son los monocitos y macrófagos, aunque otras células dendríticas, las de Langerhans, las células B y las T, las endoteliales, las mesangiales, las epiteliales, los astrocitos, las células de la microglia, los fibroblastos y los neutrófilos (Álvaro-Gracia, 1992).

En cuanto a la relación de la IL-1 con la síntesis de la colágena, tanto la IL-1 α como la β estimulan la síntesis de la procolágena tipo I y de sus mensajeros en fibroblastos humanos, lo cual sugiere un mecanismo pretraduccional para este efecto. Además, la acción es prácticamente específica para la colágena, ya que no incrementa la síntesis de las proteínas totales en más de un 20% y la degradación intracelular de la colágena recién sintetizada no se altera por efecto de la IL-1. Todo ello parece ser independiente de la prostaglandina E₂ (PGE₂), ya que se sabe que esta prostaglandina se induce por la IL-1 α y β , y que tiene la capacidad de suprimir el crecimiento de los fibroblastos y la producción de la colágena (Postlethwaite et al., 1998). Empero los efectos observados por la acción de la IL-1 son ambiguos, ya que otros autores han demostrado que la IL-1 β no estimula la síntesis de la colágena y que los resultados obtenidos sobre la proteína se pueden deber al efecto que tiene la estimulación o inhibición de la síntesis de la colagenasa y estromelisin (Kovacs, 1991). Lo anterior parece estar influenciado, al menos *in vitro*, por la concentración de la citocina, como se muestra en el trabajo de Diegelmann (Diegelmann et al., 1990, Kovacs y DiPrieto, 1994). También existen reportes donde se menciona que la IL-1 además de estimular la proliferación de las células endoteliales y liberar la actividad de los procoagulantes, incrementa la producción de la colágena tipo IV por las células epidérmicas (Oppenheim et al., 1986), lo cual se puede relacionar con algunas alteraciones de la piel o bien con el proceso de reepitelización.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

El factor de necrosis tumoral α (TNF- α) se sintetiza como un precursor intracelular de 26 kD, que posteriormente se modifica a la forma extracelular activa de 17 kD. Es uno de los productos de secreción de los macrófagos activados y también los sintetizan otras células como los linfocitos, las células "asesinas naturales" (NK) y los mastocitos; actualmente se le reconoce más por su actividad proinflamatoria que por sus efectos antitumorales. Este factor comparte casi todas las acciones de la IL-1, salvo la de activación linfoitaria y es junto con esta, el paradigma de la citocina proinflamatoria de tal forma que a menudo ambas actúan en forma sinérgica (Álvaro- Gracia, 1992); donde algunos reportes indican que estimulan la síntesis de la colágena, mientras que otros que la suprime.

Además de las citocinas mencionadas, de las cuales se sabe más de su actividad sobre la síntesis de la colágena, existen otros factores cuya participación es poco clara. La interleucina 4 (IL-4) por ejemplo, es una glicoproteína producida por las células T con actividades pleiotrópicas en varios tipos celulares, se deriva de un precursor de 153 aminoácidos para quedar como una molécula activa de 129. Si bien la mayoría de sus actividades estudiadas son sobre las células de la respuesta inmune, como las células B, también se ha reportado que induce a los fibroblastos dérmicos a secretar colágena (Banchereau et al., 1994).

En contraste al efecto estimulador de la mayoría de las citocinas, los interferones (IFN), que son una familia heterogénea de citocinas multifuncionales, cuya primera demostración de actividad biológica fue la inducción de resistencia celular de infección viral, se presentan dos familias muy diferentes entre sí, la superfamilia del IFN- α/β , producidos principalmente por los leucocitos, y la segunda familia que consiste en un solo gen que codifica para una proteína denominada IFN- γ , producida por los linfocitos T (Vilcek, 1990). El IFN- γ suprime la producción de la colágena en los fibroblastos a nivel transcripcional, al apagar el gen que codifica para la colágena, pero no el de la fibronectina (Kovacs y DiPietro, 1994). También se ha demostrado en estudios in vitro que el IFN- γ regula de manera irregular a la colágena tipo VI, es decir, algo similar a lo que ocurre durante el proceso de la cicatrización, ya que las células tratadas con el factor regulan negativamente la síntesis del ARNm para la cadena (VI) de la colágena el (VI) se sobreexpresa (Oono et al; 1993).

Otra citocina a la cual hace algunos años se le atribuían solamente funciones inmunológicas, es la interleucina 10 (IL-10). Esta es un polipéptido de 18.5 kD, el cual fue originalmente caracterizado como una citocina secretada por clones de células Th2 activadas; y actualmente se saben que en los humanos la sintetizan los linfocitos T y los macrófagos, mientras que en el ratón también la producen las diferentes subclases de células T, como son las Th0, las Th1 y las Th2. La IL-10 inhiben la síntesis de varias citocinas en los linfocitos T y los macrófagos activados, particularmente, suprime la producción de la IL-2 y el IFN- γ , la IL-1 α y la β , la IL-6, la IL-8, el TNF- α , el factor estimulador de las colonias de los granulocitos (G-CSF) y el de los granulocitos y monocitos (GM-CSF). En los fibroblastos dérmicos humanos, esta citocina inhibe la expresión de la colágena tipo I a nivel transcripcional, donde la regulación sobre la expresión génica se puede deber a los efectos directos de esta sobre algunos elementos de respuesta, como son los factores de transcripción AP-2, el NF-1 y

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

el NF-kB o a su influencia sobre otras citocinas, que a su vez regulen la síntesis de la colágena (Reitamo et al, 1994).

LA FIBRONECTINA.

La fibronectina es una glicoproteína extracelular que se presenta en dos formas: una soluble, en los fluidos corporales, particularmente en el plasma y otra insoluble en la MEC. Esta proteína juega un papel muy importante en los procesos fisiológicos, tales como la embriogénesis, la hemostasia, la cicatrización, la fibrosis y la trombosis, y es secretada por una amplia variedad de tipos celulares. La fibronectina presenta modificaciones postraduccionales y puede ser glicosilada, fosforilada o sulfatada. Aunque la fibronectina no glicosilada presenta muchas de las actividades de la proteína nativa, es más sensible a las proteasas, de tal forma que son los carbohidratos los que le confieren la estabilidad contra la proteólisis. Más aún, la presencia de estos pueden modular la unión a la colágena y alterar ligeramente su interacción con las células (Yamada, 1991).

La fibronectina se secreta como un dímero, con un peso molecular para cada monómero de aproximadamente 220 a 225 kD; los monómeros están unidos por dos puentes disulfuro cercanos al extremo carboxilo de la proteína. Como muchas de las otras proteínas de la matriz, incluyendo a la laminina, la tenascina, y la trombospondina; la fibronectina es una proteína mosaico es decir está compuesta por unidades modulares, que frecuentemente corresponden a la estructura del exón del gen. Se encuentra formada básicamente por tres tipos de módulos conocidos como Fn1, Fn2 y Fn3. Esos módulos están organizados en dominios funcionales resistentes a la proteólisis y contienen sitios de unión a otras de las proteínas de la MEC, como la colágena y la trombospondina, a los receptores de la superficie celular, a proteínas circulantes de la sangre, como la fibrina y también se unen a GAGs, del tipo de la heparina y al sulfato de condroitin. Además, existen varias isoformas de la fibronectina derivadas de los empalmes alternativos que se presentan en dos regiones del gen.

La estructura terciaria de los módulos de la fibronectina aún se desconoce, sin embargo se sabe que cada uno tiene una estructura consenso, es decir, secuencias particulares que se repiten de manera característica. Los módulos Fn1 se encuentran en los extremos de la proteína, el del extremo carboxilo contiene los sitios de unión a la fibrina, y el del amino a la colágena. Cada modulo consta de 45 aminoácidos aproximadamente y entre ellos se encuentran cuatro residuos de cisteína, los cuales forman dos puentes disulfuro entre sí, mientras que la estructura terciaria del módulo se estabiliza por medio de interacciones hidrofóbicas. Los módulos Fn2, son los menos abundantes y se encuentran después de los Fn1 de la región amino, en la región de unión a la colágena cada uno de estos se compone por 60 aminoácidos aproximadamente, los módulos Fn3 no contienen puentes disulfuro están formados por 90 aminoácidos aproximadamente y cada unidad de la fibronectina contiene entre 15 y 17 módulos de este tipo dependiendo de la isoforma de fibronectina que se trate. Estos módulos son particularmente importantes dado que se presentan en diferentes proteínas de varias especies, además en ellos se encuentran regiones específicas de unión a otras proteínas y particularmente un triplete de aminoácidos característico, la secuencia –

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

arginina-glicina-aspártico-, también conocida como el péptido RGD. Esta secuencia es un sitio de unión característico de los receptores celulares del tipo de las integrinas (Potts y Campbell, 1994, Yamada, 1991).

La regulación de la fibronectina se modifica mediante procesos que implica la modificación de los tejidos, tales como la organogénesis, la inflamación, la reparación, etc. Por ello, se han realizado estudios para conocer la modulación de su síntesis, bien sea, por su interacción con otros componentes de la matriz o por medio de estímulos celulares como las citocinas. Así, se sabe que la IL-1 (Wong y Wahl, 1990) y el TGF- β , incrementan la expresión de la fibronectina en varios tipos celulares tanto derivados del mesénquima, como epiteliales, sean normales o transformados (Massagué, 1990). Estos trabajos fueron realizados en fibroblastos dérmicos humanos, donde dicha regulación se lleva a nivel transcripcional, al incrementar la estabilidad de los mensajeros que codifican para la proteína siendo este proceso independiente de la proliferación celular (Varga et al, 1987, Raghov et al, 1987). Aún más, en trabajos realizados en Queratinocitos humanos se observó que el TGF- β induce un incremento en los niveles basales del ARNm que codifica para la fibronectina (Salo et al, 1991, Roark y Greer, 1994). Además se sabe que la producción de la fibronectina en varias células, como los fibroblastos del embrión de ratón y las células epiteliales de la rata, se incrementa a través de mecanismos transcripcionales por influencia del EGF (Asem y Novero, 1994).

LA TENASCINA

La tenascina es una glicoproteína oligomérica muy similar a la fibronectina en algunas regiones de sus subunidades, tiene un tamaño poco común, ya que es muy grande en comparación con otras proteínas de la MEC; aproximadamente 1000 kD y está formada por 6 subunidades similares, unidas por puentes disulfuro intercadenas. Los pesos moleculares de las tres subunidades de la tenascina del pollo se han calculado en 200, 180 y 170 kD. Más de la mitad de la proteína está compuesta por módulos Fn3 de la fibronectina. Las regiones de la tenascina que no son homólogas con la fibronectina, son similares en la parte carboxilo de la molécula con la región globular del β - y γ - fibrinógeno. En la región amino terminal, los módulos Fn3 están unidos con trece y media repeticiones de dominios del tipo EGF, éstos dominios forman fibras largas que se derivan del sitio donde se unen todas las subunidades, y se ha propuesto que la región de unión está formada por una hélice superenrollada de tres subunidades y de una región hidrofóbica unida por puentes disulfuro posteriormente se unen dos trímeros en el dominio central globular en donde las 6 subunidades contribuyen a la estabilidad de la proteína.

La tenascina fue descubierta como un oligómero hexamérico al cual se denominó hexabraquión. El hallazgo se dio por el grupo de Ericsson y el de Iglesias de manera independiente, ellos la detectaron junto con la molécula dimérica de la fibronectina.

En contraste con la fibronectina, la tenascina no se encuentra en el suero, sino que se expresa de manera transitoria durante la embriogénesis, en el mesénquima denso que rodea a los órganos en desarrollo tales como las glándulas mamarias, los dientes o el riñón; también está presente en el cartílago embrionario y en el hueso. En los adultos, la tenascina se localiza en

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

el pericondrio y el periostio, los ligamentos, los tendones y las uniones miotendinosas. Por su parte, el músculo liso también contiene tenascina mientras que el órgano como el corazón, el músculo esquelético o los órganos epiteliales la contienen en cantidades muy bajas o nulas. La tenascina se manifiesta temporalmente durante la cicatrización y es una de las pocas moléculas de la matriz que se han encontrado en el sistema nervioso central y como el principal componente de la MEC en el sistema nervioso periférico.

De las funciones sugeridas de la tenascina, la única que no es discutible es su interacción con los proteoglicanos ya que las demás son controversiales, lo que se debe a algunas funciones ambiguas de la molécula ya que es capaz de mediar la adhesión e inhibir las interacciones celulares, es decir, tiene propiedades anti adhesivas que la hacen opuesta en función a la fibronectina con quien, como se mencionó, tiene gran similitud (Yamada, 1991, Cihiquet-Ehrismann, 1990).

La regulación de la expresión de la tenascina presenta un patrón dinámico, dada su modulación durante los procesos normales del desarrollo y los reparativos. En principio, su expresión está asociada a tipos celulares específicos, dado que en general no la sintetizan las células epiteliales, mientras que si lo hacen los fibroblastos. Así, su regulación se ha visto modificada por componentes séricos donde se sabe que el TGF- β es uno de los participantes (Cihiquet-Ehrismann, 1990). Sin embargo, existen otras citocinas que también participan en la modulación de la expresión de la tenascina incluso en mayor grado que el mismo TGF- β . Esta modulación se supone que ocurre a través de los elementos reguladores *cis* localizados en los extremos del gen que codifica para la tenascina del pollo, que incluyen a las secuencias que confieren la respuesta a los factores solubles y de diferenciación de tal forma que esos elementos génicos pueden mantener una regulación específica en algunos tipos celulares. El FGF básico (bFGF), que es un polipéptido catiónico con peso moléculas de 17 a 18 kD, el FGF ácido (aFGF) que es otra especie del mismo factor con un peso molecular muy cercano al anterior, 16 a 17 kD y la otra isoforma del bFGF la de 22 a 25 kD (Klagsbrun y Folkman, 1990) son los inductores más potentes, al incrementar más de cien veces la síntesis de la proteína lo que se debe a la unión de estos factores con una serie de receptores comunes. En ese estudio se demostró que la expresión de la tenascina inducida por el FGF en las células derivadas de los tumores neuroectodérmicos es independiente de los cambios en la proliferación celular la síntesis de las proteínas totales o de la producción de otras proteínas de la MEC (Retting et al, 1994).

Por otro lado, se han identificado líneas de fibroblastos con síntesis diferencial de tenascina, así como se encuentran, incluso en el mismo donador, fibroblastos con producción baja, media y alta de tenascina. Con base en lo anterior ha sido posible llevar a cabo la evaluación de otras citocinas sobre la producción de la proteína, donde se demostró que el PDGF-BB, el TNF- α , la IL-1 α y β , y la IL-4 son inductores muy potentes; aunque el efecto observado con el PDGF-BB en los fibroblastos de producción intermedia de tenascina, fue el mayor. Finalmente, los efectos del TGF- β sobre la expresión de la tenascina pueden ser más complejos de lo que se pensó en un principio, ya que en los fibroblastos humanos el factor puede aumentar o disminuir la expresión de la proteína, dependiendo de la línea de fibroblastos usada y de la presencia de otros factores presentes en el sistema de cultivo (Retting et al, 1994).

LOS GLICOSAMINOGLICANOS Y LOS PROTEOGLICANOS

Como se mencionó, los proteoglicanos son macromoléculas compuestas por cadenas de GAGs unidas covalentemente a una proteína núcleo. Los componentes de los GAGs están formados por hexosamina, D-glucosamina o D-galactosamina, y unidades del ácido hexurónico, como el ácido D-glucurónico o el L-idurónico, o la galactosa en el sulfato de Queratán. Estas unidades de carbohidrato están arregladas de manera alternada en la secuencia ramificada, en donde algunos GAGs contienen sustituyentes sulfatados en varias posiciones. Los GAGs más comunes que se encuentran en los proteoglicanos y que contienen galactosaminoglicanos, son el sulfato de condroitin y el sulfato de dermatán, mientras que entre los glicosaminoglicanos se encuentran el sulfato de heparán, la heparina y el sulfato de Queratán. El Hialuronato, es otro GAGs pero que se presenta en forma libre, es decir, no se encuentra en los proteoglicanos. El sulfato de dermatán, el de heparán y la heparina contienen unidades del ácido glucurónico e idurónico, mientras que el sulfato de condroitin solamente contiene al ácido glucurónico como el único constituyente del ácido hexurónico. De esta manera, el número de sustituyentes GAGs por cadena en la proteína núcleo, generalmente unidos a los residuos de la serina, puede variar entre uno y más de cien, lo que genera una gran variabilidad en el tamaño, antigenicidad y función de los proteoglicanos.

Por su parte, las proteínas núcleo de los proteoglicanos pertenecen a una familia de proteínas que está conformada de la siguiente manera: a) los proteoglicanos del sulfato de condroitin, que son grandes moléculas extracelulares y tienen capacidad para interaccionar específicamente con el Hialuronato. A esta familia pertenecen el Agregano, que se encuentra en el cartílago y el Versicano, producido por los fibroblastos; b) Los proteoglicanos con proteínas núcleo pequeñas y homólogas, que están sustituidas con una o dos cadenas de GAGs. Esta familia incluye a la decorina, el Biglicano y la fibromodulina; c) Los proteoglicanos del sulfato de heparán de la membrana basal tienen un alto peso molecular y son sintetizados por algunas células tumorales; d) Los proteoglicanos de la superficie celular intercalados con la membrana, son moléculas híbridas que contienen tanto al sulfato de condroitin, como al de heparán, en este grupo se encuentra el sindecano. Y finalmente, el grupo e) al que pertenecen las serglicinas, que son proteoglicanos intracelulares de alto peso molecular. Estos tienen proteínas núcleo con secuencias distribuidas con residuos alternados de serina y glicina que además, están fuertemente combinados con cadenas de sulfato de condroitin y/o heparina.

Los proteoglicanos están distribuidos ampliamente en los tejidos animales y parece que son sintetizados por todos los tipos celulares. Su participación es diversa y va desde funciones mecánicas, que son esenciales en el mantenimiento de la integridad estructural de varios tejidos conjuntivos, hasta los efectos de algunos procesos más dinámicos, como son la movilidad celular, la diferenciación y la morfogénesis (Kjellén y Lindahl, 1991).

La regulación en la producción de los proteoglicanos es particularmente modulada a dos niveles, en la síntesis de la proteína núcleo y en la síntesis de

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

los GAGs; y como los otros componentes de la MEC, este proceso también se modifica por el efecto de las citocinas. Así, el TGF- β es una vez más, uno de los factores que tiene influencia en el aumento de la expresión de los proteoglicanos, donde también se puede modular su catabolismo (Morales y Roberts, 1988). El TGF- β 1 y el TGF- β 2 regulan la producción del Biglicano y la decorina, no solamente al incrementar la síntesis de la proteína núcleo, sino como un aumento del tamaño

FIBROQUEL

El fibroquel tiene numerosas indicaciones y aplicaciones entre las que se encuentran: pérdidas cutáneas, úlceras, quemaduras de 2º y 3er grado, áreas donadoras de injertos, heridas, raspones y abrasiones así como en los sitios de sutura, debido a sus propiedades hemostáticas y cicatrizantes. Se utiliza también en la prevención de la recidiva de la cicatriz hipertrófica y queloide posterior a la resección, debido a sus efectos antifibróticos; así como en el tratamiento de cicatrices hipertróficas y queloides y fibrosis localizadas por su participación en la eliminación del exceso de colágena depositada y la remodelación del tejido conjuntivo relacionado.

Dentro de su farmacocinética se puede establecer que la colágena administrada por vía intramuscular, cutánea o subcutánea se metaboliza de la misma manera que la colágena endógena, degradándose en el espacio extracelular principalmente por medio de las colagenasas intersticiales, y los péptidos de degradación generados son rápidamente metabolizados por las enzimas gelatinasas y por otras enzimas inespecíficas. Dada la fuente de obtención de la colágena empleada en fibroquel y su antigenicidad característicamente baja, se considera un material prácticamente inocuo, excepto en pacientes que manifiesten hipersensibilidad a ella. Por su parte, la polivinilpirrolidona es un polímero inerte prácticamente no metabolizable que se excreta principalmente por vía urinaria (95%) en un período menor a 24 h.6

Dentro de la farmacodinamia encontramos que los datos generados de los estudios in-vitro sugieren que fibroquel actúa a nivel de fibroblastos y macrófagos modulando el metabolismo de la colágena, de tal forma que dicha regulación participa en los procesos reparativos con una mejor calidad y tiempo de la respuesta en la cicatrización. Por su parte, los estudios in vivo han mostrado que Fibroquel® modula el proceso inflamatorio crónico de la fibrosis al disminuir factores proinflamatorios como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de necrosis tumoral, (TNF-a), la interleucina 1(IL-1), así como moléculas de adhesión celular que favorecen la diapédesis leucocitaria, como son la molécula de adhesión de los leucocitos al endotelio (ELAM-1) y la molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1), hasta alcanzar niveles semejantes a los normales, lo que favorece el recambio de los componentes del tejido conjuntivo, con la consecuente eliminación del exceso de proteínas fibrosas. Al ponerse en contacto con los tejidos, fibroquel crea una capa protectora sobre áreas cruentas, siendo hemostático e inductor de la cicatrización favorece una rápida epitelización. Si se coloca intralesional en el sitio de la sutura provoca hemostasia y una rápida epitelización. Puede aplicarse internamente en áreas de sangrado en capa donde efectúa una hemostasia adecuada.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Cuando se aplica en regiones fibrosas, el fibroquel disminuye la fibrosis y normalizando la zona previamente dañada.

Tal es el caso de las cicatrices hipertróficas y queloides, en donde se ha demostrado su participación en el control del proceso inflamatorio crónico asociado a la patología, lo que conlleva a la remodelación de la zona afectada para su posterior "normalización"; esto implica la eliminación de signos y síntomas patognomónicos de estos padecimientos. Utilizado postresección de la cicatriz que loide impide la recidiva de la misma.^{7,8,12} En algunos tipos de fibrosis internas, como las que se presentan en el tendón de Aquiles asociadas a las contracturas, fibroquel reduce la fibrosis y permite la movilidad de la articulación, además de favorecer a la elasticidad del tendón. Por todo lo anterior es que se utiliza también en zonas donde se requiera la aceleración del proceso cicatrizal. En numerosos estudios se ha encontrado que el fibroquel no produce reacciones antigénicas, debido a la gran homología que existe entre la colágena porcina tipo I y la colágena humana;¹⁵ debido a esto es un inductor farmacológico seguro que puede ser usado en humanos y su uso ha sido aprobado por la FDA. También se encontró que no es un fármaco genotóxico y no induce a reacciones de hipersensibilidad localizada, fibroproliferación, linfoproliferación o anticuerpos humanos colágena antiporcina o anticuerpos anticolágena- polivinilpirrolidona.¹²

El fibroquel no tiene efectos sobre la proliferación ni la actividad metabólica de los fibroblastos; es decir, que el compuesto no tiene efectos mitogénicos, lo cual es fundamental para asegurarnos que durante su uso en humanos no conlleve a un fenómeno de hiperplasia indeseable, y por otro lado, encontramos que no tiene efectos deletéreos sobre el metabolismo celular, permitiendo que las células se mantengan viables y en condiciones óptimas en el cultivo.

Este biofármaco ha mostrado tener un efecto positivo sobre la reparación de heridas y la consolidación ósea a través de la inducción de macromoléculas de matriz extracelular. También modula el recambio de la MEC, particularmente la colágena tipo I y III, disminuye la expresión de interleucina 1 (IL-1), factor de necrosis tumoral (TNF- α), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1).⁹ Esto es benéfico en zonas donde existe un proceso inflamatorio, ya que de esta manera se disminuyen las citocinas involucradas en este proceso, dando como resultados un proceso cicatrizal más rápido. Esta característica que presenta el biofármaco es de utilidad en procedimientos donde existe un daño a los tejidos y la respuesta de éstos es desencadenar un proceso inflamatorio.

La farmacocinética de la colágena administrada por vía intramuscular, cutánea o subcutánea, se metaboliza de la misma manera que la colágena endógena, degradándose en el espacio extracelular principalmente por la enzima colagenasa: los péptidos de degradación generados son rápidamente metabolizados por las enzimas gelatinasas y posteriormente por otras enzimas inespecíficas dando subproductos oligopéptidos y aminoácidos libres, por su antigenicidad baja, se considera inmunológicamente inocuo, por su parte la polivinilpirrolidona es un polímero inerte no metabolizable que se excreta por la

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

vía urinaria en un 95% en las primeras 24 h. La farmacodinamia de la colágena en estudios *in vitro* sugiere que actúa al nivel de los fibroblastos y los macrófagos modulando el metabolismo de la colágena, de tal forma que dicha regulación participa en los procesos reparativos con una mejor calidad, eliminando el exceso de proteínas del tejido conjuntivo y cuando se coloca intralesional favorece la remodelación del tejido dañado.^{24,25}

En un estudio en cicatriz hipertrófica, piel normal y cicatriz hipertrófica tratada con colágena-polivinilpirrolidona se evaluaron la expresión de moléculas de adhesión (E-selectina y molécula de adhesión vascular) y citoquinas fibrogénicas (IL-1, TNF- α , TGF- β), observándose una disminución de las citoquinas fibrogénicas en las tratadas con colágena-polivinilpirrolidona, por lo que se sugiere que esta modula el metabolismo de matriz extracelular que está dado principalmente por la colágena²⁶, y mejora en algunas enfermedades el proceso inflamatorio crónico²⁹, modulando la expresión de citoquinas proinflamatorias, así como también se ha propuesto en otros trabajos que no es un fármaco genotóxico y no induce a reacciones de hipersensibilidad localizada, fibroproliferación, linfoproliferación o anticuerpos humanos colágena antiporcina o anticuerpos anticolágena-polivinilpirrolidona.¹²

En cuanto la toxicidad de colágena-polivinilpirrolidona, no existen reportes de que la aplicación de sus componentes o él mismo, induzca algún efecto adverso. Sin embargo se han efectuado en algunos de los pacientes tratados, pruebas de funcionamiento hepático y niveles celulares en sangre sin observar ninguna alteración²⁶.

Para la localización de moléculas proteicas, receptores o todo aquello susceptible de ser antígeno en secciones de tejido se utiliza la inmunohistoquímica (IHQ), definida como la identificación de un constituyente de tejido *in situ* por medio de reacción antígeno anticuerpo, etiquetado por una marca microscópicamente visible³⁸, en otras palabras, mediante el uso de anticuerpos específicos previamente marcados mediante un enlace químico, se puede transformar un sustrato en visible ya sea por tinción fluorescente, enzimas, elementos radioactivos u oro coloidal³⁹. La localización de receptores u otros antígenos ofrece una mayor resolución anatómica a aquella que se logra con la autoradiografía, permite la determinación de los sitios tanto de la síntesis del receptor y la localización final de los mismos en los tejidos⁴⁰. Se prefiere en esta técnica el protocolo enzimático al de inmunofluorescencia ya que ésta última presenta desventajas como: los títulos de un laboratorio generalmente no son compatibles con los de otro laboratorio de la misma condición científica, factores inherentes a la interpretación del observador, las condiciones de la luz ultravioleta, los antígenos empleados, etc.⁴⁰.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

La sensibilidad y especificidad en las técnicas enzimáticas de IHQ generalmente se reporta como satisfactoria, sin embargo, está condicionada por los siguientes factores: la concentración del anticuerpo primario que se utilice, el uso de anticuerpos policlonales y monoclonales (siendo estos últimos más difíciles de conseguir pero preferibles a utilizar en la medida de lo posible), el uso de diluciones altas para el antisuero (>1:1500); durante el procedimiento: los tiempos de incubación y la temperatura de la misma, los procedimientos de recuperación de antígenos (desenmascaramiento), que deben optimizarse. Además de que las condiciones esenciales para la localización precisa del antígeno estén presentes: preservación del tejido y antígeno y un marcador eficiente (por ejemplo peroxidasa para el tipo enzimático) ⁴¹.

Nada nos engaña tanto como nuestro propio juicio.
Leonardo Da Vinci.

Justificación

Aunque se sabe mucho sobre la progresión histológica de esta enfermedad, poco se sabe sobre sus bases moleculares.

Además, existe en la actualidad un cierto debate sobre si la enfermedad se produce como resultado de una patología inflamatoria que conlleva a un estado de hipoxia y desarrolla finalmente fibrosis en las zonas adyacentes al túnel del carpo, la angiogénesis parece tener lugar como parte de la regeneración, reacción que da lugar a fibrosis.

Los factores de transcripción HIF inducen la expresión de genes de respuesta al estrés hipóxico, incluyendo factores de crecimiento angiogénicos como VEGF promoviendo la mitosis de las células endoteliales, la expresión de ICAM-1, VCAM-1 favoreciendo la adhesión de linfocitos, monocitos, macrófagos y células “naturales asesinas” (NK) a las células endoteliales.

Se ha demostrado que el VEGF juega un papel central en la expansión de la membrana sinovial y, en los modelos animales con procesos inflamatorios crónicos.

No se encuentra suficiente información si algún fármaco modifica la evolución de la enfermedad en cuanto a la modificación de la matriz extracelular y si la aplicación del fármaco modifica o no la expresión de factores inducibles de hipoxia.

En la actualidad no se encuentra información que justifique la aplicación de colágeno y PVP en procesos fibrosantes ligamentarios.

Planteamiento del problema

Existen diversas teorías que tr de explicar el desarrollo de síndrome de túnel del carpo, una de las teorías es que se produce a causa de una presión anormalmente aumentada que conduce a obstrucción del flujo venoso, edema, hipoxia y por último isquemia del nervio, poco se sabe y se ha estudiado sobre estos mecanismos.

Existen diversos tratamientos, el tratamiento rehabilitatorio mejora un 40% la sintomatología pero reincide y se deteriora la funcionalidad.

Existe un biofármaco (colágeno y polivinilpirrolidona [Fibroquel]) que ha mostrado tener efecto en el recambio de la MEC, particularmente la colágena tipo I y III, disminuye la expresión de interleucina 1(IL-1), factor de necrosis tumoral (TNF- α), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1) ,esta característica que presenta el biofármaco es de utilidad en procedimientos donde existe un daño a los tejidos e inflamación crónica que conlleva a la fibrosis de la región , sin embargo no existe evidencia científica que justifique el uso de este biofármaco en el ligamento transversal del carpo .

Pregunta de Investigación

Cuál es la expresión del factor inducible de hipoxia **HIF-1 α** , y **VEGF** en el ligamento transverso?

Cuál es la modificación de HIF 1 α y VEGF que se presenta en el ligamento transverso del carpo posterior a la aplicación de colágeno y polivinilpirrolidona (in vitro) a diferentes dosis?

Hipótesis:

En el ligamento transverso del carpo se expresan factores inducibles de hipoxia y moléculas profibrogenicas, responsables del desarrollo del síndrome del túnel del carpo.

El uso de colágeno y polivinilpirrolidona modifica el patrón de la matriz extracelular en el ligamento transverso del carpo y modifica la expresión de moléculas profibrogenicas.

Objetivo general

Determinar la expresión de moléculas profibrogénicas en el ligamento transverso del carpo y la modificación que se presenta con el tratamiento a base de colágeno y polivinilpirrolidona. (in vitro.)

Objetivos específicos

a) Determinar la expresión del factor inducible de hipoxia **HIF-1 α** , en el ligamento transverso del carpo y su relación posterior a la aplicación de colágeno y polivinilpirrolidona. (in vitro)

b) Determinar la expresión del **VEFG***, en el ligamento transverso del carpo y su relación posterior a la aplicación de colágeno y polivinilpirrolidona. (in vitro)

DISEÑO

El presente estudio de investigación utilizo los parámetros del estudio básico

TIPO DE LA INVESTIGACIÓN

Experimental, Prospectivo, Transversal

GRUPOS DE ESTUDIO

GRUPO PROBLEMA

La población en estudio la constituyeron pacientes que se encuentran con diagnóstico de Síndrome de Túnel del Carpo de 29 a 59 años de edad en el Hospital Regional 1º de Octubre, que cumplan con los criterios de inclusión y que vayan a ser sometidas a cirugía de descompresión de Túnel del Carpo.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se tomaron 9 muestras de pacientes que se someterán a cirugía de descompresión de túnel del carpo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Pacientes que cursaron con síndrome de túnel del carpo unilateral o bilateral con previo estudio de electroneuromiografía en mayores de 29 años y menores de 59 años y que fueron candidatos a cirugía de descompresión del Síndrome del Túnel del Carpo.
2. Ambos sexos
3. Pacientes que previamente firmaron el consentimiento informado.

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

1. Pacientes quien cursen con sx de túnel del carpo con tratamiento quirúrgico previo.
2. Quienes no acepten entrar al protocolo.
3. Pacientes diabéticos descontrolados y con evolución mayor a 10 años de diagnósticos.
4. Pacientes con utilización de fármacos hipoglucemiantes.
5. Pacientes quemados
6. Pacientes con procesos infecciosos en extremidades
7. Pacientes con diagnóstico de alguna neuropatía específica
8. Pacientes con enfermedad del sistema nervioso central
9. Pacientes con infección por HIV
10. Pacientes con antecedentes de abuso de alcohol
11. Pacientes con antecedentes de terapia de remplazo renal crónica o que cursen con enfermedades metabólicas

Criterios de eliminación

Pacientes que no firmen carta de consentimiento informado.

PLAN DE ANÁLISIS

Definición Operacional de las variables.

VARIABLES

Variable independiente:

Colágeno y polivinilpirrolidona (fibroquel)

Definición Conceptual: Biofarmaco que se utiliza en procesos cicatrizantes y fibrosantes.

Definición Operacional: Se valorara si al aplicar este compuesto en los tejidos fibrosantes adyacentes al ligamento transversal del carpo modifica la expresión de moléculas profibrogenicas y factores inducibles de hipoxia.

Categoría. Cuantitativa.

Escala. Continua

Variables dependientes:

Inmunohistoquímica del antígeno para el Factor Inducible de Hipoxia subunidad alfa.

Definición Conceptual: Técnica que se utiliza anticuerpo monoclonal (MIB-1) para reconocer la secuencia entera de DNA. Se expresa durante toda la fase activa del ciclo celular (G1,S, G2 y Metafase).

Definición Operacional: Se valorara la expresión del antígeno a nivel nuclear.

Categoría. Cuantitativa

Escala: Continua

Inmunohistoquímica para el VEGF

Definición conceptual: Técnica en que se utiliza un anticuerpo monoclonal (clona HIF 1 α) específico para detectar el gen HIF1 α , gen que se expresa cuando existen condiciones de hipoxia, es transnuclear.

Definición Operacional: Se valorara la expresión del gen HIF1 α a nivel transnuclear en tejidos incluidos en parafina por medio de microscopía de luz.

Categoría: Cuantitativa

Escala: Continua

ORGANIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Análisis estadístico

Se realizó el análisis de acuerdo a la estadística no paramétrica. Se utilizó el test no paramétrico de Mann-Whitney, debido a que los números de muestras evaluadas en este trabajo eran muy bajos para asegurar la normalidad de las poblaciones estudiadas. Un $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. Cuando se compararon más de dos grupos, se realizó un test de Mann-Whitney mejorado, el cual incluye un análisis de varianzas.

Recursos humanos y físicos

Humanos.

Dra. Paola Joanna Castro Alba. Médico especialista en Medicina de Rehabilitación.

Dra. Brenda Irma Guizar Ramírez. Médico especialista en Medicina de Rehabilitación, adscrita al servicio de Medicina Física y Rehabilitación del Hospital Regional 1º de Octubre ISSSTE (Asesora).

Dr. Raya. Médico especialista en Traumatología y Ortopedia. Adscrito al Hospital Regional 1º de Octubre ISSSTE (Asesor).

D en C Rosa Amalia Bobadilla Lugo. (Tutor Interno). Directora de la Escuela Superior de Medicina

D en C Elvia Mera Jiménez (Tutor Interno). Escuela Superior de Medicina

M en C Ángeles Hernández Cueto .Centro Medico La Raza. IMSS

M en C Ericka Nelly Pompa, Centro Medico La Raza.IMSS

M en C. Juan Carlos Vázquez Islas. Centro Médico Nacional La Raza.

Físicos

Fibroquel

Equipo de electromiografía

Área física de las unidades participantes para detección y seguimiento de casos. Hospital Regional 1ero de Octubre.

Área física quirúrgica del Hospital Regional 1ero de Octubre.

Área experimental en Escuela Superior de Medicina en el Laboratorio de Cultivos Celulares IPN en colaboración con el Centro Médico Nacional, Área de Inmunología Celular.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

FINANCIAMIENTO

El costo de la investigación se cubrió mediante financiamiento interno del Instituto Politécnico Superior; Escuela Superior de Medicina, así como el apoyo de CONACYT para realizar los estudios de Maestría.

ASPECTOS ÉTICOS.

Dado que se trata de una investigación biomédica, que no se realizarán intervenciones clínicas, se considera que el estudio se realizó dentro de las normas establecidas por la Asamblea Médica Mundial, en la declaración de Helsinki de 1964 y sus diferentes revisiones en 1975, 1983, 1989, 1996 y Octubre de 2000 en Edimburgo, Escocia; así como las normas de la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, consignadas en el Título V en materia de Investigación.

La información se manejó en forma confidencial. Previo consentimiento informado se dió a conocer el motivo de su invitación al estudio, en qué consistió y se aseguró que no se incluirán en el reporte nombre de pacientes, ni ningún registro que los identifique, guardando la privacidad de su participación. El protocolo será enviado al Comité Local de Ética e Investigación para su autorización del Hospital 1ero de Octubre ISSSTE.

ALCANCES DEL PROTOCOLO.

Todo estudio con resultados que permitan orientar o descartar las estrategias actuales será de gran beneficio para los pacientes y en gran parte para las instituciones de salud que destinan un porcentaje considerable de sus recursos en el control y tratamiento de las enfermedades.

LIMITE EN TIEMPO DE LA INVESTIGACIÓN

Del 1 de julio 2009 - 30 junio del 2011

AUTORIZACIONES

De acuerdo a lo establecido por el Comité de Ética e Investigación del Hospital Regional 1ero de Octubre.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Los que se enamoran de la práctica sin la teoría son como los pilotos sin timón ni brújula, que nunca podrán saber a dónde van.

Leonardo da Vinci.

**SECUENCIA METODOLOGICA.
Descripción general del estudio**

Materiales

Los reactivos para las pruebas biológicas y medios de crecimiento: Formaldehído al 4%, fueron obtenidos de la marca GIBCO en condiciones estériles. El biofármaco utilizado (fibroquel) se obtuvo del Hospital Regional 1ero de Octubre.

Selección del tejido

Este estudio fue realizado en regiones fibrosas de ligamento transverso del carpo con pacientes que se intervinieron quirúrgicamente .Como controles se emplearon muestras de este tejido sin tratamiento. Todas las muestras fueron obtenidas en el Hospital Regional 1ero de Octubre y procesadas en el Centro Médico Nacional "La Raza", del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), en la ciudad de México. El tejido se obtuvo con el consentimiento informado de las pacientes bajo aprobación del comité local de ética e investigación.

Procesamiento del tejido

El estudio se realizara en 2 partes

Parte 1

1. Se identificaron a los pacientes candidatos para cirugía de descompresión de túnel del carpo, recabando los datos en la cédula de recolección.
2. Previamente se realizó el estudio de electroneuromiografía con previa monitorización de la temperatura corporal por medio de un termistor, el cual se colocó en alguna de las extremidades del paciente; la temperatura de la piel deberá de estar entre 32-34°C.
Con un electromiógrafo se realizarón: Neuroconducciones sensoriales (nervio mediano y ulnar) y motoras (nervios mediano, ulnar) bilateral ; para corroborar diagnóstico. Realizando previamente las mediciones para la colocación de los electrodos de superficie (discos o anillos) y la tierra; la conducción sensorial a 14 cm y la motora a 8 cm. El estudio electroneurográfico consistió en aplicar un estímulo eléctrico supra máximo en un nervio específico tanto distal como proximal hasta evocar la respuesta en cada uno de ellos con la técnica convencional ⁽¹⁴⁾.
3. Los datos obtenidos quedarón asentados en la cédula de recolección, posteriormente se procederá a analizar los resultados obtenidos para establecer el diagnóstico electroneuromiográfico de cada paciente.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

4. Los pacientes estuvieron de acuerdo en participar en el estudio y firmaron un consentimiento informado con base en la Declaración de Helsinki de Estudios de Experimentación en Humanos de 1996 y el Código de Nuremberg.
5. En la cirugía de descompresión de túnel del carpo se procedió a tomar una biopsia de la zona de fibrosis adyacente al ligamento transversal del carpo y los tendones flexores, encontrada de 5 mm de diámetro.
6. El tejido obtenido se mantuvo en condiciones de asepsia y se transportó en un tubo Falcón estéril de 50 ml con formaldehído al 4 %, de la muestra de cada tejido se dividió en cinco partes a diferentes concentraciones del fármaco: 25%, 50%, 75% y 100% y una de ellas se quedó sin tratamiento (1ml en cada tubo).

Parte 2.

La población celular de estudio fueron fibroblastos obtenidos a partir de una muestra de ligamento transversal del carpo se procedió con las muestras a realizar la **Inmunohistoquímica** del siguiente modo:

- a) Se realizó la desparafinación de 60 a 65° de 40 a 70 minutos, 20 minutos horizontales y 20 minutos verticales.
- b) Se hidrato en el tren a base de tres baños de xilol a 8 minutos cada uno, dos baños de etanol al 100% y se enciende en baño maría, se da un baño de etanol al 90% por 5 minutos, otro baño de etanol al 70% por 5 minutos se calienta con citrato y posteriormente se da un baño de agua destilada.
- c) Para la recuperación de antígenos con el citrato de sodio (pH 6.0 al 0.01M) por 25 minutos en baño maría en ebullición leve, seguido de tres baños de PBS 1% 5 minutos cada uno en agitación a 130 RPM.
- d) Se eliminó la Peroxidasa endógena, Met OH/H₂O₂ (45ml/5ml),(27ml/3ml) dos baños de 15 minutos cada uno en agitación a 130 RPM.
- e) Para Lavados, se dió un baño con agua destilada por 5 minutos a 130 RPM (agitación) se da otro baño con PBS (Phosphate Buffered Solution) por 5 minutos a 130 RPM (agitación).
- f) Se realizó el bloqueo con marcación con lápiz hidrofóbico para delimitar el tejido. Suero de cerdo 2% en agitación lenta por una hora en cámara húmeda (20RPM).
- g) 1er Anticuerpo. En Cámara húmeda, en agitación lenta (20RPM) toda la noche.
- h) Se dan cinco baños de PBS 8 minutos cada uno en agitación a 130RPM.
8. 2do Anticuerpo. Link amarillo a 30 minutos en agitación lenta (20 RPM) en cámara.
9. Lavados. Tres baños de PBS 5 minutos cada uno en agitación a 130 RPM.
10. Streptavidina . Rojo a 30 minutos en cámara húmeda.
11. Lavados. Tres baños de PBS 5 minutos cada uno en agitación a 130RPM
12. Revelado. DAB (diaminobencidina) CANCERIGENO-CROMOGENO DAKO.
13. Se realizó la Contraintinción con hematoxilina y se lavó con agua corriente.
14. Deshidratación. En tren de reversa con agua destilada 1 baño cada uno, y otro con etanol al 70, 90,100% y otro baño con xilol 5 minutos cada uno.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Las laminillas contrateñidas con hematoxilina se evaluaron microscópicamente como positivos o negativos ante la expresividad de la tinción (Intensidad de 0 a 3), en forma cegada (sin conocer datos clínicos). Se analizó en base a un sistema de análisis de imagen para extraer información en valores numéricos, permitiendo filtrar la información con la imagen, se obtuvieron imágenes analizadas por sistemas computacionales usando TN-image para MS-DOS.

RESULTADOS.

Este trabajo reporta por primera vez que el HIF 1 α y el VEGF se encuentran en tejido de ligamento transverso del carpo y forman parte muy importante en la patogénesis de la enfermedad, apoyando la Teoría de la Hipoxia.

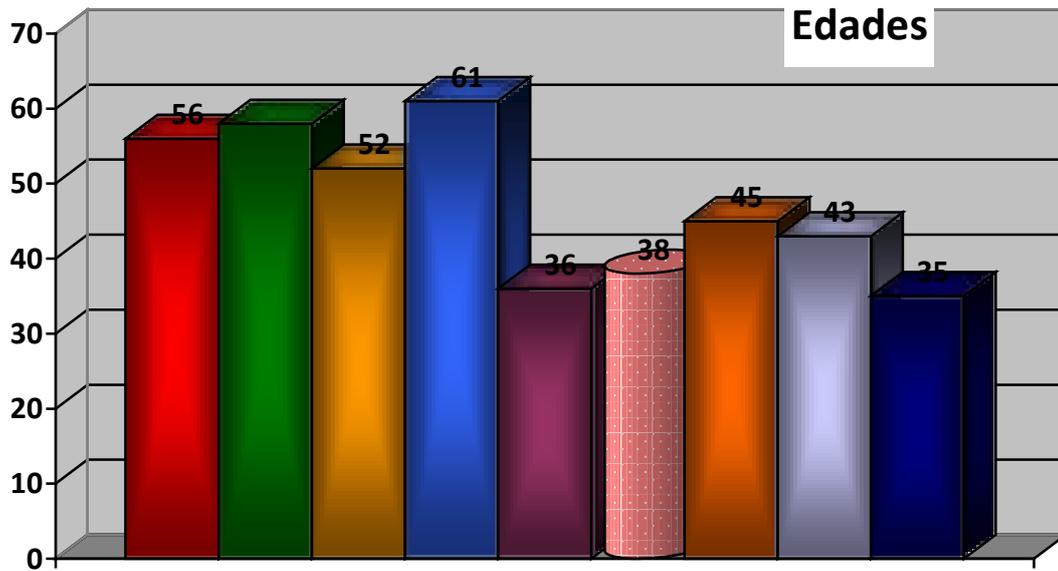
Se capturaron un total de 9 muestras del ligamento transverso del carpo, de pacientes que cursan con síndrome del túnel del carpo de forma unilateral (se realizó la electroneuromiografía de los casos, corroborándose el diagnóstico), dividiendo las muestras en dos uno sin la aplicación del fibroquel y otro con la aplicación de fármaco, embebidas en formaldehído al 4%, de las cuales 7 fueron mujeres y 2 hombres,

Se realizó la inmunohistoquímica para determinar los factores inducibles de hipoxia HIF 1 α , así como el VEGF y Marcador de Fibroblastos.

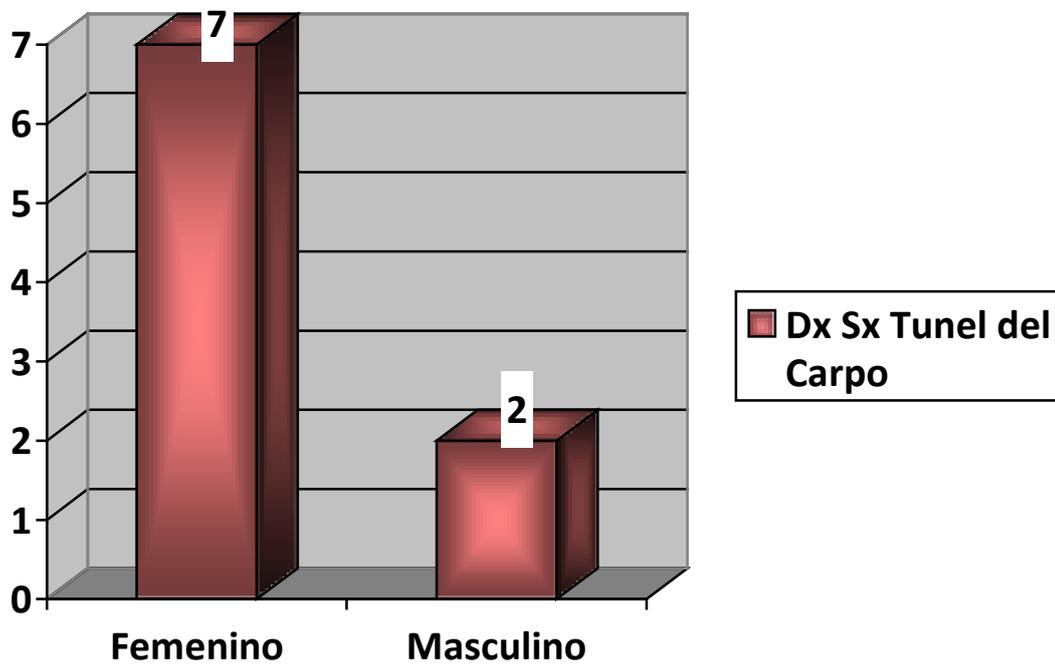
DIAGNOSTICO ELECTRONEUROMIOGRAFICO

Pacientes	Genero	Edad	Latencia Sensitiva m/seg	Latencia Motora m/seg	Amplitud uV
1	F	56	4.2	4.0	21
2	F	58	4.6	4.3	16
3	F	52	5.0	4.2	10
4	F	61	4.2	4.8	21
5	F	36	4.6	4.0	22
6	M	38	5.6	4.3	16
7	F	45	4.8	5.6	12
8	F	43	4.1	5.2	11
9	M	35	4.3	4.6	18

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

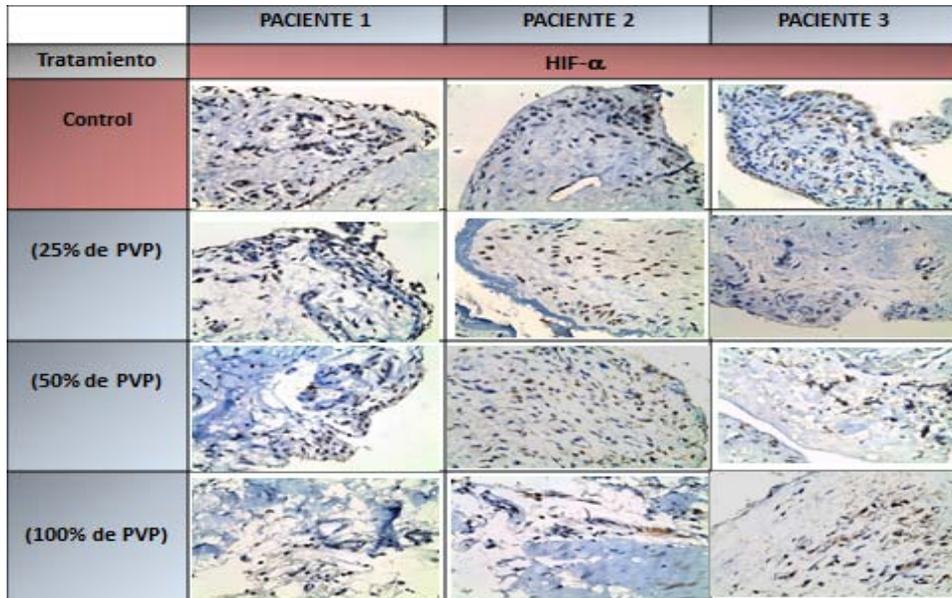


Las edades encontradas oscilan entre los 35 y los 61 años de edad.

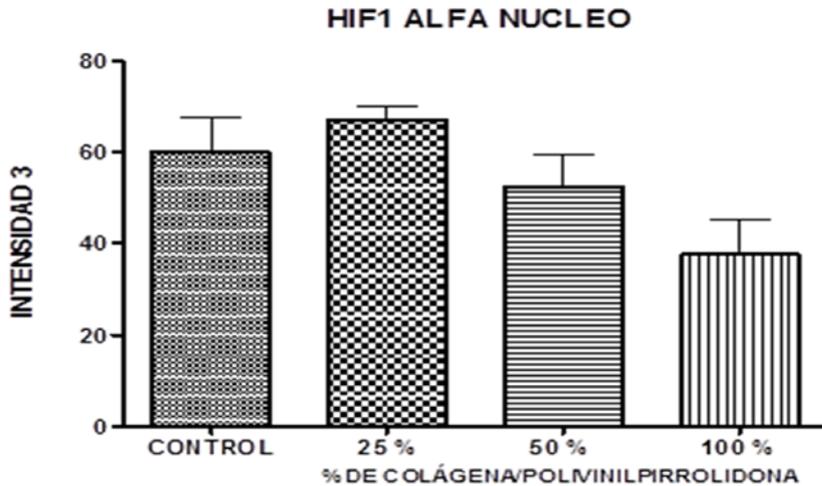


La prevalencia es más frecuente en el género femenino que en el masculino tal y como se reporta en la literatura mundial.

FIGURA 1



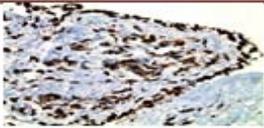
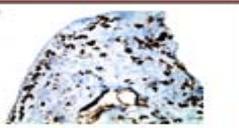
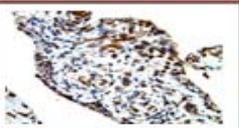
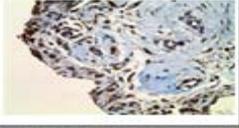
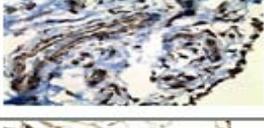
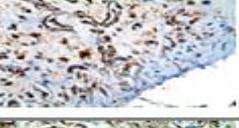
Inmunohistoquímica de ligamento transverso del carpo y determinación del Factor Inducible de Hipoxia 1 alfa, a diferentes concentraciones de Fibroquel.



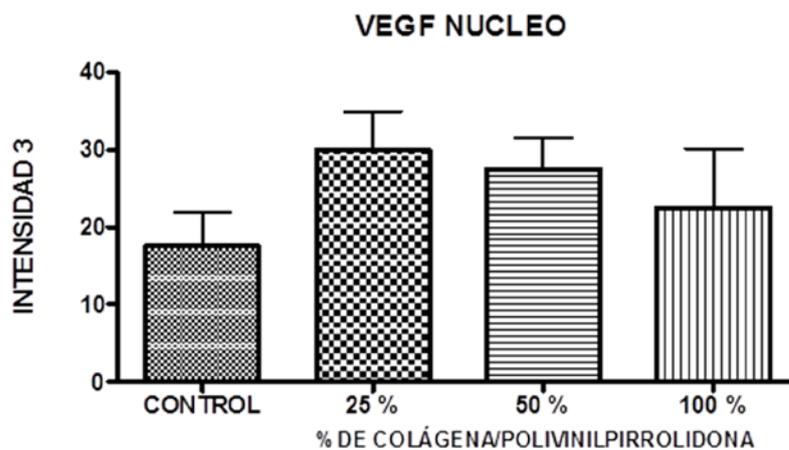
Relación de la expresión de HIF 1 α , en el ligamento transverso del carpo a diferentes concentraciones de Fibroquel.

En estas imágenes observamos la expresión del factor inducible de hipoxia 1 α , a mayor dosis del fármaco disminuye la cantidad de fibroblastos, modificándose el patrón histológico, a la concentración del 100% hay una pérdida importante de fibroblastos secundario al pH en el que se encuentra el fármaco.

FIGURA 2

	PACIENTE 1	PACIENTE 2	PACIENTE 3
Tratamiento	VEGF		
Control			
1.1 (25% de PVP)			
1.2 (50% de PVP)			
1.3 (100% de PVP)			

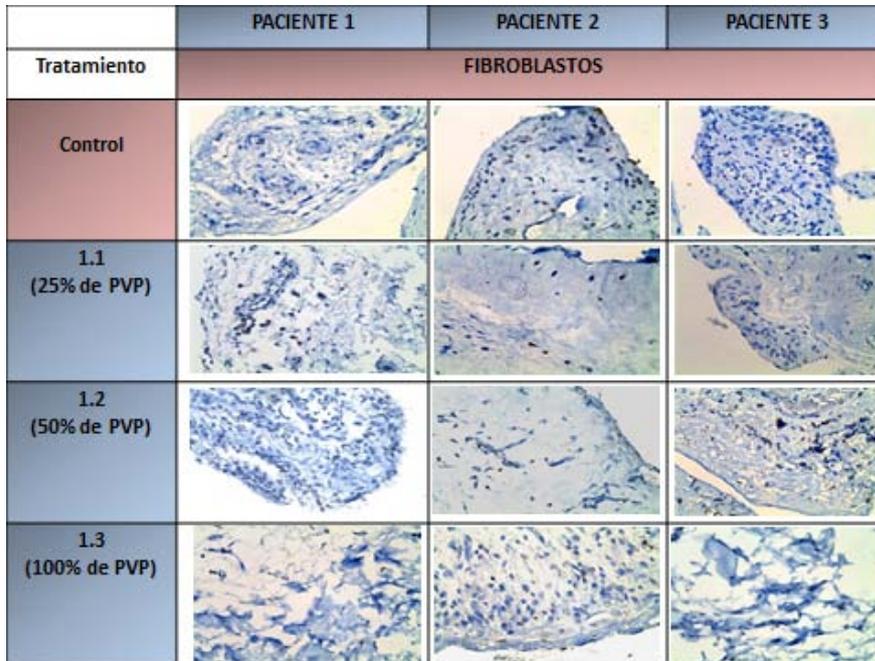
Imunohistoquímica del ligamento transverso del carpo y determinación del Factor de Crecimiento Vascular Endotelial, a diferentes concentraciones de Fibroquel.



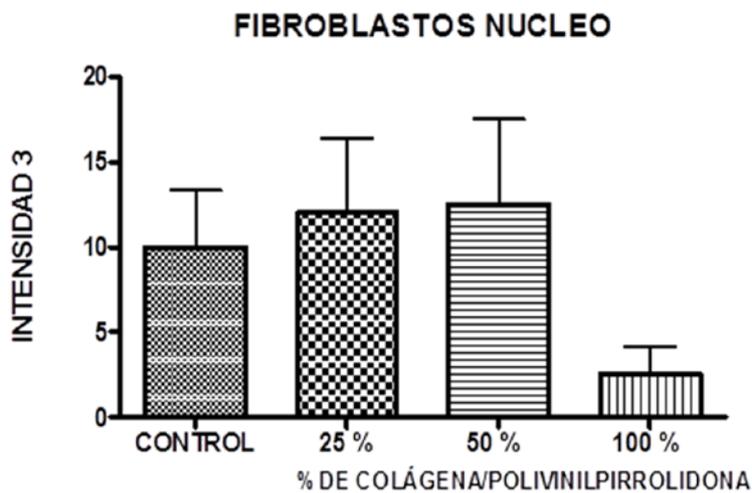
Relación de la expresión de **VEGF** en el ligamento transverso del carpo a diferentes concentraciones de Fibroquel.

Se observa la expresión de Factor de Crecimiento de Endotelio Vascular, incrementando su expresión al 25% y disminuyendo gradualmente a mayor dosis de Fibroquel, se observa que a una dosis del 100% el tejido sufre un cambio muy importante en su estructura histológica con una pérdida importante de los fibroblastos.

FIGURA 3



Identificación de Fibroblastos en el Ligamento Transverso del Carpo y su modificación a la exposición de Fibroquel.



Relación de la expresión de **Fibroblastos** en el ligamento transverso del carpo a diferentes concentraciones de Fibroquel.

En la siguiente figura observamos que en el tejido obtenido se encuentran fibroblastos (el patrón de la inmunohistoquímica utilizada es específico para determinar el tipo de célula que se trabaja), en el control existe una cantidad importante de estas células, al exponerlo al 25 y 50% de la concentración disminuye considerablemente el número de fibroblastos y al 100% una pérdida importante de estos.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Estos resultados indican claramente que tanto el factor inducible de hipoxia como el factor de crecimiento endotelial vascular se encuentran expresados en el ligamento transverso del carpo en pacientes en fase crónica y se observa claramente el efecto del colágeno y polivinilpirrolidona en el cambio de conformación de la matriz extracelular

VEGF incrementa la proliferación de poblaciones celulares, específicamente de las células del endotelio vascular (Papetti y cols. 2002) y que aumenta el número de fenestraciones en los capilares

CONCLUSIONES

Concluimos de esta manera que la hipoxia es la responsable de la activación indirecta del factor de crecimiento de endotelio vascular que conlleva a la neovascularización y revascularización de la zona del túnel del carpo con la subsecuente formación de mayor cantidad de tejido fibrótico tanto en la vasa vasorum como en la vasa nervorum, resaltando que no se sabe si se afecta de forma indirectamente el riego sanguíneo, cabe mencionar que al realizar este estudio con la aplicación del fibroquel es para demostrar si el fármaco disminuye el tejido fibrótico en la zona adyacente del nervio mediano, el fármaco a pH de 3.5 como se encuentra en su fórmula original ocasiona un daño irreversible la matriz extracelular.

DISCUSIÓN

Hay varios estudios que demuestran que el Fibroquel modula los procesos inflamatorios crónicos y a su vez modifica algunos parámetros inflamatorios como IL-1, TNF- α , en las articulaciones y disminuye la actividad colagenolítica total a través de una baja significativa de las colagenasas independientes de calcio y disminuye la fibrosis y moléculas de adhesión como la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y VCAM-1 se observan disminuidas para los tejidos tratados con Fibroquel, con un cambio en el metabolismo celular, sin encontramos en nuestro trabajo que existe la participación de moléculas profibrogénicas como el HIF 1 α y la VEGF.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES.

Aún falta mucho por Investigar, por lo tanto, los datos presentados abren un nuevo campo en el cual se podría mejorar la posibilidad de éxito.

HOJA DE CAPTACION DE DATOS

Nombre: _____ No Expediente _____
Edad: _____ Sexo : _____
Diagnostico: _____
Fecha de valoración inicial: _____ Valoración
final: _____
Ocupación: _____ Peso: _____ Talla : _____

Lado afectado: _____
Fecha de Nacimiento: _____ Tel: _____

Datos de la Electromiografía

Latencias

Latencias Distales

Latencia Proximal

Amplitud

Amplitud Distal

Amplitud Proximal

Diagnóstico electromiográfico

Observaciones:

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

CARTA INFORMATIVA

Dra. Paola Joanna Castro Alba
Coordinación de Investigación en Salud. IMSS
Tel 56276900 Ext 21985

ISSSTE

Hospital Regional 1ero de Octubre

Av. Politécnico Nacional Col. Lindavista #1669. Distrito Federal, D.F. 07300
México. Teléfono: 5586-3027

CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D.F a _____ del mes de _____ del 20_____.

Este estudio está registrado ante el Comité de Ética del Hospital Regional 1ero de Octubre.

Esta forma de consentimiento puede contener palabras que no entienda. Por favor solicite al Dra. Paola Joanna Castro Alba o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no entienda claramente. Una vez que comprenda la información contenida en esta forma, se le pedirá que la firme, en caso de estar de acuerdo en tomar parte del estudio.

Nuestro propósito es conocer si la colágeno-polivinilpirrolidona es efectiva, segura y bien tolerada para el tratamiento de la enfermedad del síndrome del túnel del carpo, únicamente se realizarán estudios in vitro(laboratorio) en este estudio .

La colágena polivinilpirrolidona es una proteína que sirve para remodelar la cicatrización, pues esta colágena es de mejor calidad que la natural, mejorando la calidad del tejido fibrótico (cicatriz), modula la inflamación crónica, este biofármaco se elimina por enzimas endógenas, es decir por el mismo cuerpo humano y la polivinilpirrolidona es excretada por las vías urinarias.

Antes de ingresar al estudio se le realizará una historia clínica, y se realizará un estudio de electroneuromiografía para confirmar el diagnóstico de síndrome del túnel del carpo.

Se realizará la intervención quirúrgica programada de liberación del nervio mediano ya sea unilateral o bilateral, se procederá a tomar 0.5mm d diámetro del tejido fibrótico adyacente a las estructuras propias del túnel del carpo, se dividirá en dos partes una de ellas se fijará con formaldehido al 4% inmediatamente a la toma y la otra se le aplicara fibroquel y se dejará por 30 segundos en el fármaco, y se procederá a fijar en formaldehido al 4% .(Las muestras recolectadas serán enviadas al Centro Médico La Raza y a la Escuela Superior de Medicina IPN para el procesamiento de las mismas).
Autorizo la toma de tejido fibrótico del área adyacente al túnel del carpo durante la intervención quirúrgica para el análisis de este.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Los beneficios obtenidos al participar en esta investigación es tener el conocimiento y la evidencia científica real de que el uso del fármaco en zonas de fibrosis ligamentaria o tendinosa hace su efecto propio y se conocerá si parte del proceso fisiopatológico se presenta en los pacientes estudiados.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias derivados de mi participación en el estudio, Ante cualquier eventualidad, comunicarse con la Dra. Paola Joanna Castro Alba ante cualquier efecto secundario, al teléfono particular del **53429887** o al teléfono celular **0445542703999**

Entiendo que mi participación en este estudio es completamente voluntaria, y conservo el derecho de no aceptar si lo considero conveniente, sin que ello afecte la atención medica que recibo del Hospital , debo notificar en caso de retirarme voluntariamente del estudio a la Dra. Paola Joanna Castro Alba. Tampoco tendré una compensación económica derivado de participar en el estudio.

El investigador principal me ha dado la seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los ratos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque ésta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

El título del proyecto es: Expresión de Factor Inducible de Hipoxia HIF 1 α , VEGF implicados en el síndrome del túnel del carpo y su asociación con la aplicación de Colágeno y Polivinipirrolidona in vitro

He leído la carta informativa y el consentimiento informado, y he comprendido toda la información aquí expuesta. He tenido la oportunidad de hacer preguntas acerca de los procedimientos del estudio, sus inconveniencias, riesgos y posibles efectos secundarios. Se Ha dado respuesta a todas mis preguntas a mi completa satisfacción. Toda información verbal y por escrito y las pláticas sobre el estudio que se me han proporcionado han sido en mi propio idioma (español), Mi firma indica que voluntariamente consiento en participar en este estudio después de haber leído detenidamente, entendido y recibido una explicación completa de la anterior información.

He recibido una copia completa de este documento.

Nombre y firma del paciente

Nombre y firma del testigo (1)

Nombre y firma del testigo (2)

Nombre y firma del médico

BIBLIOGRAFÍA

Alvayay CS, Arce A. Revisión sistemática de tratamientos fisioterapéuticos con mejor evidencia para el síndrome de túnel carpiano. Rev.Soc.Esp.Dolor 2008; 7:475-480.

Aroori S, Spence. Carpal tunnel syndrome. Ulster Med J. 2008; 77(1): 6–17.

Branco K, Naeser MA. Carpal tunnel syndrome: clinical outcome after low-level laser acupuncture, microamps transcutaneous electrical nerve stimulation, and other alternative therapies--an open protocol study. J Altern Complement Med.1999 Feb;5(1):5-26

Gerritsen AA, de Krom MC, Struijs MA, Scholten RJ, de Vet HC, Bouter LM. Conservative treatment options for carpal tunnel syndrome: a systematic review of randomised controlled trials. J Neurol. 2002 Mar;249(3):272-80

Scholten RJPM, Mink van der Molen A, Uitdehaag BMJ, Bouter LM, de Vet HCW. Opciones de tratamiento quirúrgico para el síndrome del túnel carpiano (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca* Verdugo Renato J, Salinas Rodrigo A, Castillo José L, Cea José G Tratamiento quirúrgico versus tratamiento no quirúrgico para el síndrome del túnel carpiano.

American Academy of Neurology, American Association of Electrodiagnostic Medicine, and American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation.

Practice parameters for electrodiagnostic studies in carpal tunnel syndrome (summary statement). Neurology 1993;43:2404-5.

Bann L.Treather median nerve stress test in chronic carpal tunnel syndrome

Brian WR, Wright AD. Spontaneous compression of both median nerves in the carpal tunnel. Lancet 1947; 1:277-82.

Buchberger W, Judmaier W, Birbamer G, Lener M, Schmidauer C. Carpal tunnel syndrome: Diagnosis with High-Resolution Sonography. AJR 1992;159:793-8.

Gómez Conesa A, Serrano Gisbert M.F. Síndrome del túnel del carpo AEF No. 776

Inyección local de corticoesteroides para el Síndrome del Túnel Carpiano (Marshall S, Tardif G, Ashworth N) – Agosto 2002 En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2005 Número 3. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>.

Katz JN, Larson MG, Sabra A, Krarup C, Stirrat CR, Sethi R, et al. The carpal tunnel syndrome: diagnostic utility of the history and physical examination findings. Ann Intern Med 1990;112(5):321-7

Méndez García M, Graña Gil J, Galdo Fernández F. Aportación de las nuevas técnicas de imagen al diagnóstico. En: Herrera Rodríguez A, Herrero Beaumont G,

Fernández Portal L, Rodríguez de la Serna A dir. *Mano y muñeca*. Barcelona: Masson; 1999. p. 15-24.

Moore K. Anatomía con orientación clínica. Cuarta ed, 2005. Editorial Médica Panamericana. pp 780-790

Opciones de tratamiento quirúrgico para el Síndrome del Túnel Carpiano (Scholten RJPM, Gerritsen AAM, Uitdehaag BMJ, van Geldere D, de Vet HCW,Bouter LM) – Octubre 2003 - *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2005 Número 3. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. Palmer Kt. Carpal Tunnel syndrome and its relation on occupation. Occupd med (Lond) 2007; 56(2): 110-115

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

- Phalen GS. The carpal-tunnel syndrome. Seventeen years experience in diagnosis and treatment of six hundred forty-four hands. *J Bone Joint Surg Am* 1966;48(2):211- 28.
- Portillo R, Salazar M, Huertas M.A. Síndrome del túnel del carpo Correlación Clínica y neurofisiológica Servicio de Neurología del Hospital Guillermo Almenara Irigoyen. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Universidad San Martín de Porres.
- Seiler JG, 3rd, Milek MA, Carpenter GK, Swiontkowski MF. Intraoperative assessment of median nerve blood flow during carpal tunnel release with laser Doppler flowmetry. *J Hand Surg [Am]* 1989;14(6):986-91.
- Somaiah A. Carpal Tunnel Syndrome. *Ulster Med J* 2008; 77 (1) 6-17. *Archv phys rehab*.1986;67(11):803-804
- Villaverde Romón M, González del Pino J, y Lovic A. Síndrome del túnel carpiano con estudio electrodiagnóstico normal. *Rev Ortop Traumatol* 1997; 41:350-6. Tratamiento no quirúrgico (diferente de la inyección de esteroides) para el Síndrome del Túnel Carpiano (O'Connor D, Marshall S, Massy-Westropp N) – Octubre 2002 – La Biblioteca Cochrane Plus, 2005 Número 3. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>.
- Viikari-Juntura E, Silverstein B. Role of physical load factors in carpal tunnel syndrome. *Scand J Work Environ Health* 1999;25(3):163-67 Vogt T, Scholz J. Clinical outcome and predictive value of electrodiagnostics in endoscopic carpal tunnel surgery. *Neurosurg Rev* 2002;25:218-21.
- Yamaguchi DM, Lipscomb PR, Soule EH. Carpal Tunnel Syndrome. *Minn Med* 1965; 48:22-33
- Campbell W: Cirugía ortopédica. 9ª edición, edit. Panamericana 1998; 4: 3685-94.
- Wang AA, Douglas T: Bilateral; simultaneous open carpal tunnel release. Prospective activities of daily living and patient satisfaction. *J Hand Surg* 2003; 28A: 845-8.
- Braun RM, Jackson WJ: Electrical studies as a prognostic factor in surgical treatment of carpal tunnel syndrome. *J Hand Surg* 1994; 19A: 893.
- Leamonth JR: The principle of decompression in treatment of certain diseases of peripheral nerves. *Surg Clin North Am* 1993; 13: 905-13.
- Amadio PC: The first tunnel of the carpal release? *J Hand Surg* 1995; 208: 40-1.
- Padual, Papua R, Nazzaro M, Tonali P. Incidence of bilateral symptoms in carpal tunnel syndrome. *J Hand Surg* 1998; 23B: 603-6.
- Bagatur AE, Zorer G. The carpal tunnel syndrome is a bilateral disorder. *J Bone Joint Surg* 2001; 83B: 665-8.
- De Krom MCTF: Knippschild carpal tunnel syndrome: prevalence in the general populations. *Clin Epidemiol* 1992; 45: 373-6.
- White JC, Hansen SR, Jhonson RK: A comparison of ECM procedures in the carpal tunnel syndrome with clinical – EMG correlations. *Muscle Nerve* 1998; 11: 1177-82.
- Ciénega MA, Micha M: Síndrome de túnel del carpo, resultados funcionales del tratamiento quirúrgico. *Rev Mex Ortop Traum* 1995; 9(3): 168-71.
- Amo C, Fernández GS: Síndrome del túnel del carpo. Correlaciones clínica y neurofisiológica: revisión de 100 casos. *Rev Neurol* 1998; 27(157): 490-3.
- Kimura J: Electrodiagnosis in diseases of nerves and muscle: principles and practice. *Philadelphia FA Davis Company* 1989: 501-4.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

- D Arcy CA, Mc Gee S: Clinical diagnosis of carpal tunnel syndrome. *JAMA* 2000; 284: 195.
- Roel J: Las patologías por movimientos y esfuerzos de repetición, informe para un daño anunciado. Estadísticas de enfermedades profesionales 1998. Anuario AT 38 Alicante: Ministerio de Trabajo de España; 1999.
- Fehringer EV, Tedeman JJ, Dobler K, McCarthy JA. Bilateral endoscopio carpal tunnel release: simultaneous *versus* staged operative intervention. *Arthroscopy* 2002; 18: 316-21.
- Green MD: Operative hand surgery, second editions. Churchill Livingstone, 1990; 2: 1430-40.
- Pagnanelli DM, Barrer SJ. Bilateral carpal tunnel release at one operations report of 228 patients. *Neurosurgery* 1992; 31:1030-4.
- Palmer DH, Narran LP: Social and economic costs of carpal tunnel surgery. *Instr Course Lect* 1995; 44: 167-72.
- Phalen GS: The carpal tunnel syndrome: clinical evaluations of 598 hands. *Clin Orthop* 197; 83: 29-40.
- Stevens JC, Sun S, Beard CM: Carpal tunnel syndrome in Rochester, Minnesota, 1961 to 1980. *Neurology* 1988; 38: 134-8.
- Occupational disease surveillance: carpal tunnel syndrome. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1989; 38: 485-9.
- Quality standard subcommittee of the American academy of neurology. Practice parameter for carpal tunnel syndrome. *Neurology* 1993; 43: 2406-9.
- Artoshi I, Gummesson C: Prevalence of carpal tunnel syndrome in a general populations. *JAMA* 1999; 282: 153-8.
- Levine DW, Simmons BP: Self-administered questionnaire for the assessment of severity of symptoms and functional status in carpal tunnel syndrome. *J Bone Joint Surg Am* 1993; 75(11): 1585-92.
- Steele M: Carpal tunnel syndrome, medicine Journal (número en la Internet). 2001 (citado el 25 noviembre 2003: 2(7).
- Katz JN, Stirrat CR., A self-administered hand diagram for the diagnosis of carpal tunnel syndrome. *J Hand Surg(Am)* 1990;15:360-363.
- Lancet London: Apr 14,2001.Vol.357.Iss; pg. 1146,2 pgs.
- Priganc V, Henry Sh., The relationship among five common carpal tunnel syndrome tests and the severity of carpal tunnel syndrome.
- Ledesma J, Algarín M. I., Ruiz, Nieto, . Síndrome del Túnel Carpiano: Guía para la Vigilancia Médico Laboral. Protocolo Médico Específico. Proyecto 512, Centro Nacional de Medios de Protección, INSHT.
- Macfarlane G. Identification and Prevention of Work-Related carpal-Tunnel syndrome. The Lancet London: Apr 14,2001.Vol.357.Iss; pg. 1146,2 pgs.
- Neuropatías por presión. Protocolos de Vigilancia Sanitaria Específica. Ministerio de Sanidad y Consumo, Comisión de Salud Pública www.msc.es/medioambiente/saludLaboral/protocolos/neuropatias.
- Ramírez LE. Álvarez DC. Estudio de dos formas de manejo del Síndrome del túnel del carpo bilateral. *Cirugía Plástica* 1998;8 (1) 11-14
- Quintero J., Lubinos F. Mantilla J. Diagnóstico por imagen del túnel del carpo. *MedUnab*. 2006; Vol. 9 No. 2 138 – 145,
- Amadio PC. Historical Review. The Mayo Clinic and Carpal Tunnel syndrome. *Mayo Clinic Proc*. 1992;67;42–48

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

- Browning P. Carpal tunnel syndrome in <http://www.medicine.com/radio/topic135.html>
- Jans C. Ramersen S, Broeka M. Carpal Tunnel Syndrome a review of Endoscopic Release of the transverse carpal ligament compared with open carpal tunnel release. *Neurosurgery Quarter* 2001;11; 15-21.
- Doha L. Mar nix TVH, Peter KJ. Musculoskeletal Diagnoses of carpal tunnel syndrome versus electromyography, *Radiologic Clinics of North America*. 1999;37 (4) 1- 16
- Campbell. *Lesiones Nerviosas Periféricas en Cirugía Ortopédica*. Editorial Harcourt Madrid España. 1998: Vol. IV. 3827 -3834
- Amirfeyz X. Gozzard, J. Leslie. Hand Elevation test for assessment of carpal tunnel syndrome. *Journal of Hand Surgery* 2005;30B:361:364
- Villa Gómez H. Universidad Nacional Autónoma de México División de estudios de postgrado. Evaluación Funcional en el Síndrome del Túnel del Carpo. Tratamiento Quirúrgico abierto. Tesis., 2004:WE830;V712 :1:48
40. Ethan R. Wiesher, MD. George D. Chloros MD. The Use of Diagnostic Ultrasound in Carpal Tunnel Syndrome. *The Journal of Hand Surgery*. 2006;31a:726 -732.
- V. Kamath, J Stothard. A clinical questionnaire for diagnosis of carpal tunnel syndrome. *Journal of Hand Surgery*: 2003;28B; 455. 459.
- Seror Paul MD. Comparative Diagnostic Sensitivities of Orthodromic or Antidromic Sensory Inching Test in Mild Carpal Tunnel Syndrome. *Arch Phys Med Rehabil* 2000:Vol 81: 442 -446
- I A Galea, A. Amercieca, C. Sciberras. Evaluation of sympathetic vasomotor fibers in carpal tunnel syndrome using continuous wave Doppler. *Ultrasonography* 2000: 25 (2) 48-53
- Okutsu J. Ninomiya S. Takatori Y. Endoscopic management of carpal tunnel. *Arthroscopy* 1989;5(1). 19 – 24
- Phalen GS. The Carpal tunnel syndrome. Seventeen years experience in diagnosis and treatment of 654 hands. *J Bone Joint Surg. AM*. 1966;48:211:228
- Armstrong AP. Flynn JR. Davies DM. Endoscopic carpal tunnel release A review of 208 consecutive cases *J. Hand Surg*. 1997;22:505:507
- Cseuz KA. Long Term results of operation for carpal tunnel syndrome. *Mayo Clin. Proc*. 1966;41:232-241
- Kulick MI. Long- term analysis of patients having surgical treatment of carpal tunnel syndrome *J. Hand Surg*. 1996;11;59-66
- Lichtman DM. Carpal Tunnel release under local anesthesia: Evaluation of the outpatients procedure. *J. Hand Surg*. 1979;4:544-546
- Bloom-Fawcett. *Tratado de Histología*. McGraw-Hill Interamericana.
- Nathan PA. Rehabilitation of carpal tunnel surgery patients using a short surgical incision and early program of physical therapy *J Hand Surg*. 1993;18:1044-1050
- Menor J. A preliminary report. *Arthroscopy* 1994;10;31-38
- Anke M. Ettema MD. Meter C. Amadio MD. Stephen S. Surgery versus conservative therapy in carpal tunnel syndrome in people 70 years and older. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006; 15:947 -957
- Valdez Martines M. Torres Roldan F. Vega Herrera R. Liberación endoscópica del túnel del carpo. Reporte Preliminar. *Acta Ortopédica Mexicana* 2004;18 (3); May- Jun. 1115 – 118

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**

Ferdinand RD, Mac Lean JGB. Endoscopic versus open carpal tunnel release in bilateral carpal tunnel syndrome: A prospective randomized, blinded assessment. *British Editorial Society of Bone and Joint Surgery* 2002; 84 - B(3); 375 – 379

Green DP. *Operative Hand Surgery Churchill Livingstone* 1988; Vol. II 1430:1440
Anna Rubartelli and Michael T. Lotze. Inside, outside, upside down: damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs) and redox. *Trends in Immunology*, Volume 28, Issue 10, 429-436, 1 October 2007.

Janeway C (septiembre de 1989). "Inmunogenicidad señales 1,2,3 ... y 0". *Immunol. Hoy* 10 (9): 283-6. doi:10.1016/0167-5699 (89) 90081-9.

Rubartelli A, MT Lotze (octubre de 2007). "Adentro, afuera, al revés: las moléculas molecular patrón de los daños asociados -(DAMPs) y "redox". *Tendencias Immunol.* 28 (10): 429-36.

Farkas AM, TM Kilgore, MT Lotze (diciembre 2007). "La detección de ADN: la obtención y engendrar el cáncer". *Curr Opin Investig Drugs* 8 (12): 981-6.

W de la tierra, H Schneeberger, S Schleibner, et al. (Enero 1994). "El efecto beneficioso de la superóxido dismutasa recombinante humana sobre los eventos de rechazo agudo y crónico en los receptores de trasplante renal de cadáver". *Trasplante* 57 (2): 211-7. doi:10.1097/00007890-199401001-00010.

Matzinger P (1994). "La tolerancia, el peligro y la familia extensa". *Annu. Rev. Immunol.* 12: 991-1045. doi:10.1146/annurev.iy.12.040194.005015.

Seong S, P Matzinger (2004). "Hidrofobicidad: un antiguo patrón molecular asociado a los daños que inicia la respuesta inmune innata". *La Naturaleza. Rev. Immunol.* 4 (6): 469-478. doi:10.1038/nri1372.

Panayi GS, VM Corrigall, B Henderson (agosto de 2004). "El estrés citocinas: las proteínas clave en las redes de regulación inmune; Dictamen". *Curr. Opin. Immunol.* 16 (4): 531-4. doi:10.1016/j.coi.2004.05.017.

P Scaffidi, T Misteli, Bianchi ME (julio de 2002). "Liberación de las proteínas de la cromatina HMGB1 por las células necróticas desencadena la inflamación". *Naturaleza* 418 (6894): 191-5. doi:10.1038/nature00858.

KA Scheibner, Lutz MA, S Boodoo, MJ Fenton, JD Powell, MR Horton (julio 2006). "Hyaluronan fragmentos de actuar como una señal de peligro propias a través de TLR2 comprometer". *J. Immunol.* 177 (2): 1272-81.

JM Boeynaems, Comunidades D (mayo de 2006). "Modulación de la inflamación por los nucleótidos extracelulares". *J. Invest. Dermatol.* 126 (5): 943-4. doi:10.1038/sj.jid.5700233.

Bours MJ, EL Swennen, Di Virgilio H, BN Cronstein, Dagnelie PC (noviembre 2006). "La adenosina 5'-trifosfato de adenosina y como una variable endógena moléculas de señalización en la inmunidad y la inflamación". *Pharmacol. Hay.* 112 (2): 358-404.

Y Shi, JE Evans, KL Rock (octubre de 2003). "Identificación molecular de una señal de peligro que alerta al sistema inmune a las células que mueren". *Naturaleza* 425 (6957): 516-21.

Gardella S, C Andrei, Ferrera D, et al. (Octubre de 2002). "La proteína nuclear HMGB1 es secretada por los monocitos a través de un no-clásicos, la ruta de secreción vesícula-mediado". *EMBO Rep.* 3 (10): 995-1001. doi:10.1093/embo-reports/kvf198.

Wang H, O Bloom, Zhang H, et al. (julio de 1999). "HMG -1 como mediador a fines de la letalidad de endotoxina en ratones". *Ciencia* 285 (5425):

PLAN SEMESTRAL DE ACTIVIDADES.

1er Semestre: Se diseñará el protocolo de investigación, y lo presentamos en el Comité de Investigación y Ética. Se iniciara la recolección de muestras y se realizaran los experimentos en cada muestra, reportaremos lo encontrado en las hojas de recolección de datos diseñada para tal efecto.

2º Semestre: Se recolectaran las muestras hasta completar el tamaño calculado y el número necesario por especie, al mismo tiempo y conforme obtengamos una nueva muestra, se someterá a los experimentos diseñados.

3er Semestre: Se finalizara con la recolección de los datos y los últimos experimentos en las muestras obtenidas. Se iniciara el análisis de los datos, la aplicación de las pruebas estadísticas adecuadas y el diseño de gráficos representativos.

4º Semestre: Se redactaran las conclusiones obtenidas de los resultados y los análisis estadísticos. Y se escribirá simultáneamente la tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Médicas área de Investigación Clínica IPN y se enviará el proyecto finalizado para su publicación en una revista indexada con factor de Impacto.

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA**