

11227

1
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL REGIONAL "GRAL. IGNACIO ZARAGOZA"
I. S. S. S. T. E.

FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS DE
MACROFAGOS Y GRANULOCITOS COMO
TRATAMIENTO PARA ULCERAS DE EXTREMIDADES
INFERIORES CRONICAS.

ESTUDIO COMPARATIVO

TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO INTERNISTA

P R E S E N T A :

DRA. ROSA MARIA ACEVES ESTRELLA



ISSSTE

ASESOR DE TESIS: DR. JOSE R. HORBOLLA E.

MEXICO, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

FEBRERO 1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

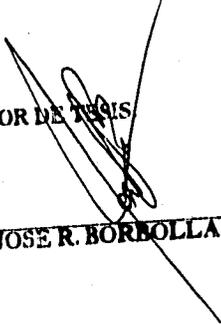
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

**FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS DE
MACROFAGOS Y GRANULOCITOS COMO
TRATAMIENTO PARA ULCERAS DE
EXTREMIDADES INFERIORES CRONICAS
ESTUDIO COMPARATIVO**

Dra. Rosa María Aceves Estrella

**Medicina Interna
Hospital General Ignacio Zaragoza**

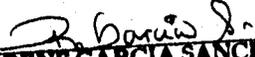
ASESOR DE TESIS


DR. JOSE R. BORBOLLA ESCOBOZA.

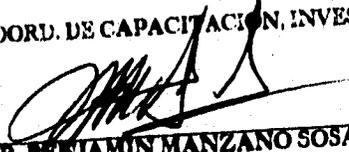
TITULAR DEL CURSO


DR. ALBERTO TREJO GONZALEZ.

JEFE DE ENSEÑANZA DE MEDICINA INTERNA

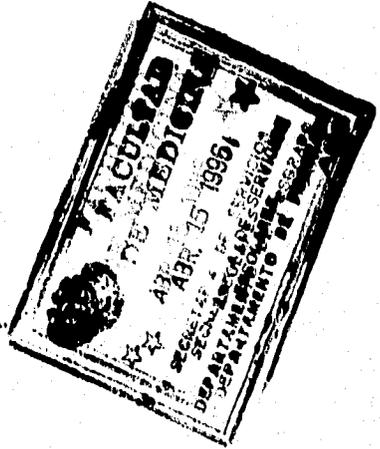

DR. RENE GARCIA SANCHEZ

COORD. DE CAPACITACION, INVESTIGACION Y DESARROLLO


DR. BENJAMIN MANZANO SOSA.

JEFE DE INVESTIGACION


DRA. IRMA DEL TORO GARCIA.



AGRADECIMIENTOS.

A DIOS.

Por haberme dado la vida.

A MIS PADRES.

**Por enseñarme con el ejemplo, que se llega a donde se quiere,
y por darme mi mejor herencia, MI PROFESION.**

A MIS HERMANOS.

**Por su cariño, apoyo y comprensión, especialmente a Ivette por demostrarme
que las adversidades de la vida, no limitan, para seguir adelante.**

A MIS MAESTROS.

**Por transmitirme sus grandes conocimientos y experiencias, y muy en especial al
Dr. Muslim Schabib H.**

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS.

Por compartir conmigo todo momento en esta Gran Profesión.

A MIS PACIENTES.

Por la confianza brindada y que sin ellos no sería posible mi formación.

CONTENIDO

	PAGINA.
1. Introducción.	1
2. Antecedentes.	3
a). Factores de crecimiento hematopoyéticos.	
a. 1). Introducción	3
b). Historia	5
c). Fisiología de los factores de crecimiento	7
d). Factores de crecimiento mieloides	10
e). Varices de los miembros inferiores	13
f). Fisiopatología de los trastornos tróficos en insuficiencia venosa	17
g). Úlcera varicosa	21
g. 1). Introducción	21
g. 2). Tratamiento médico	28
g. 3). Tratamiento quirúrgico	31
h). Cicatrización de las heridas.	32
h. 1). Introducción.	32

CONTENIDO

	PAGINA.
h.2). Tipos de Cicatrización	33
h.3). Fisiología de la cicatrización de las heridas	35
3). Justificación.	39
4). Hipótesis.	40
5). Objetivos.	41
6). Material y Métodos.	42
7). Resultados.	43
8). Discusión.	49
9). Conclusión.	51
10). Bibliografía.	52

1.- INTRODUCCION.

Las úlceras por éstasis venosa son difíciles de tratar y la curación de estas lesiones es muy lenta, incluso en las mejores condiciones, siendo ocasionadas por una inadecuada vascularización. Las úlceras de pierna representan un problema mundial, son las heridas más comunes en la población americana. La incidencia parece estar entre el 1% y 2% en los países del Occidente y ello tiene un impacto definitivo sobre la morbilidad y costo financiero. El 85% de las úlceras de los miembros inferiores son secundarias a problemas de insuficiencia venosa. Un hecho ampliamente difundido es la mayor frecuencia de las várices en el sexo femenino, estableciendo una estadística del 89% de mujeres, siendo su comienzo de aparición más frecuente, en la segunda y tercera década de la vida, época en que se suman factores hereditarios y gestacionales. En la cuarta, quinta y sexta década, su aparición es debido por lo general, a secuelas postflebiticas y alteraciones climatéricas.

Los factores de crecimiento mieloides o factores estimulantes de colonias son glucoproteínas que estimulan la proliferación y la diferenciación de diversos tipos precursores hematopoyéticos. También favorecen la función de los leucocitos maduros. El FEC-GM es producido por los monocitos, fibroblastos

y células endoteliales. La administración de FEC-GM modifica muchos mecanismos desarrollados en las heridas cicatrizantes como estimulación de reacción de cicatriz fibrótica, observando que fisiológicamente la cicatrización de una herida está constituida por una reactivación de fibroblastos inactivos en la proximidad de la herida, proliferación de éstos en la vecindad de la misma y producción a partir de éstos fibroblastos, de colágena, permitiendo contracción de la herida. El grado de cicatriz residual es función directa de la cantidad de colágena que se forma durante la cicatrización.

2. ANTECEDENTES

a). FACTORES DE CRECIMIENTO HEMATOPOYETICOS.

a.1). INTRODUCCION.

El periodo de vida relativamente corto de las células sanguíneas maduras requiere su continuo reemplazar, un proceso denominado *hematopoyesis*. Además, la producción de nuevas células debe responder tanto a las necesidades basales como a las situaciones de mayor demanda. Por ejemplo, la velocidad de producción de eritrocitos, *eritropoyesis*, puede aumentar más de cinco veces en situaciones de anemia pronunciada o hipoxia. La regulación de la *hematopoyesis* es compleja e incluye interacciones célula-célula dentro del microambiente de la médula ósea y también factores de crecimiento hematopoyéticos. Varias de estas proteínas han sido identificadas y caracterizadas, sus genes han sido clonados mediante técnicas de **DNA** recombinante y se producen cantidades suficientes de ellas para ser usadas como agentes terapéuticos. Se han desarrollado diversas aplicaciones de estos nuevos agentes, otros están en estudio, que varían desde el tratamiento de trastornos

hematológicos primarios hasta su uso actual en el proceso de rápida cicatrización de heridas de diversas etiologías, como se comentará más adelante.¹

b). HISTORIA

Los conceptos modernos acerca del crecimiento y la diferenciación de las células hematopoyéticas se iniciaron en la década de 1950 con los trabajos de Jacobsen y colaboradores.² Estos investigadores demostraron el papel que desempeñan las células del bazo y de la médula ósea en el restablecimiento del tejido hematopoyético en animales irradiados. En 1961, Till y McCulloch³ demostraron que las células hematopoyéticas individuales podían formar nódulos hematopoyéticos macroscópicos en los bazos de ratones irradiados. Sus estudios llevaron el concepto de células troncales (*stem cells*) formadoras de colonias (las que se encuentran en el bazo se denominan CFU-S). Posteriormente se comprobó que las células troncales presentes en la médula ósea son pluripotentes, es decir, originan granulocitos, monocitos, linfocitos, megacariocitos y eritrocitos.

El papel de los factores de crecimiento en la hematopoyesis no fue aclarado hasta el desarrollo de las técnicas para cultivo de médula ósea por Bradley y colaboradores.⁴ Su uso, hizo posible el estudio de la influencia de medios condicionados obtenidos de diversos tejidos y el aislamiento de los factores de crecimiento. También han sido caracterizadas las células *blanco* de estos

factores. La célula troncal pluripotente forma progenitores comprometidos, que pueden ser identificados como unidades formadoras de colonias y células de diferenciación creciente.

c). FISILOGIA DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO.

La hematopoyesis en estado de equilibrio implica la producción de más de 200 mil millones de células sanguíneas por día. Esta producción está sometida a un delicado control y, al aumentar la demanda, su velocidad puede incrementar varias veces. El órgano hematopoyético tiene la particularidad de que numerosos tipos de células maduras derivan de un número mucho menor de células troncales pluripotentes que son formadas al comienzo de la vida embrionaria.

Estas células troncales son capaces de mantener su propio número y de diferenciarse produciendo una variedad de células hematopoyéticas.

Bajo la influencia de factores celulares y humorales, una célula troncal pluripotente es capaz de dividirse en forma asimétrica formando una célula hija que constituye un progenitor comprometido que dará origen a una u otra línea celular. Este último proceso puede ser descrito mediante una serie de diferenciación y proliferación. El primer paso implica la aparición de células que producen unidades formadoras de "bursts" (BFU) o unidades formadoras de colonias (CFU) para cada una de las principales líneas celulares (unidad formadora de colonias de granulocitos/macrófagos, CFU-GM; unidad formadora

de burst de eritrocitos (BFU-E, etc.) Si bien estas células aún no se distinguen morfológicamente como precursores de una línea específica, son capaces de una nueva proliferación y diferenciación aumentando su número unas 30 veces.

Este proceso requiere interleucina 3 (IL-3) y factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos (FEC-GM) como factores de crecimiento.

Posteriormente, estos progenitores originan células o unidades formadoras de colonias (G-CFU, M-CFU CFU-Etc.) bajo control de una serie de factores de crecimiento adicionales cuyas acciones se superponen entre sí. La proliferación y la maduración gradual de estas células que ya poseen características morfológicas propias amplifica la célula madura producida en otras 30 veces más, obteniéndose más de 1,000 células maduras a partir de cada célula troncal comprometida.

En general, los factores de crecimiento hematopoyéticos son producidos por algunas células de la médula y tejidos periféricos. Los factores de crecimiento son glucoproteínas que actúan en concentraciones muy bajas y usualmente sobre más de un linaje celular. La mayoría ejerce interacciones sinérgicas con otros

factores, así como la formación de una red cuando la estimulación de una línea celular por un factor de crecimiento induce la producción de otros factores de crecimiento. Finalmente, los factores de crecimiento en general ejercen acciones en diversos puntos del proceso de proliferación y diferenciación celular y en la función de las células maduras.

d). FACTORES DE CRECIMIENTO MIELOIDES.

Los factores de crecimiento mieloides o factores estimulantes de colonias son glucoproteínas que estimulan la proliferación y la diferenciación de diversos tipos de precursores hematopoyéticos. También favorecen la función de los leucocitos maduros. Los genes correspondientes a los factores estimulantes de colonias humanos han sido clonados y se han sintetizado las formas recombinantes de las siguientes glucoproteínas: Factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos (FEC-GM), Factor estimulante de colonias de granulocitos (FEC-G), Interleucina 3 (IL-3) y Factor estimulante de macrófagos (FEC-M o CSF-1). El FEC-GM y la IL-3 son sintetizados normalmente por los linfocitos T mientras que el FEC-GM, el FEC-G y el FEC-M son producidos por los monocitos, fibroblastos y células endoteliales.

La administración de FEC-GM produce un aumento rápido en la celularidad de la médula ósea y un desplazamiento en la relación celular eritroide/granulocitos (E/G) de la médula, lo cual indica el aumento en la proliferación de líneas celulares granulocitos/macrófagos. Esta respuesta es seguida por elevaciones pronunciadas en el número de neutrófilos, eosinófilos y

monocitos; el FEC-GM también tiene un efecto evidente sobre la movilidad de los neutrófilos, retardando su salida a la circulación.

La administración de FEC-GM induce efectos secundarios como a la administración subcutánea, se observa induración local y en los sitios de infusión se produce tromboflebitis. A menudo los pacientes presentan fiebre, mialgias, fatiga, erupciones cutáneas y malestar gastrointestinal. El dolor óseo es común y aumenta en intensidad al incrementar la dosis.

A pesar de sus efectos adversos, estos factores de crecimiento son muy prometedores como agentes terapéuticos^{1,6,6}.

La dosis óptima de FEC-GM parece ser de 5-10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ en aplicación subcutánea una o dos veces por día, alta dosis pueden ser más efectivas pero también resultan mayores los efectos adversos. En una usual fase II, dosis de 5-20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ de FEC-GM, ocasionalmente los pacientes desarrollan artralgias y mialgias, un rash cutáneo, anorexia, fiebre o cefalea. La administración intravenosa demuestra una pobre eficacia y un incremento de toxicidad.

Dosis de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o más de FEC-GM pueden ser asociados con un incremento en la incidencia de pericarditis, derrame pleural, trombosis venosa y embolismo pulmonar como también arritmias auriculares.⁶⁻⁷

Tres nuevos usos de factor estimulante de colonias estan en fases avanzadas de evolución: (a) colección y transfusión de células progenitoras sanguíneas periféricas como una alternativa para el trasplante medular, (b) expansión en vivo de células precursoras como una alternativa de recolección extensa de células de médula ósea ó células progenitoras sanguíneas periféricas y (c) la aplicación de estos factores para el tratamiento de enfermedades infecciosas.⁸

e). VARICES DE LOS MIEMBROS INFERIORES.

Se entiende por várice la dilatación permanente y patológica, con o sin elongación, de un sector venoso. Esta dilatación se acompaña de alteraciones funcionales e histopatológicas practicamente constantes. Entre las *alteraciones funcionales* se destaca la insuficiencia valvular, condicionada por la separación de los puntos de implantación de las válvulas en la pared, y la hipertensión venosa espontánea (en las várices por fistula arteriovenosa) o provocada por el esfuerzo (en las várices esenciales y postrombóticas).

Las *alteraciones histopatológicas* son variables según sea el grado y la antiguedad de la dilatación; en general se observan todos los grados intermedios entre la hipertrofia y la esclerosis atrofica, con fragmentación de las fibras elásticas.

FRECUENCIA.

Las várices de los miembros inferiores constituyen una afección sumamente frecuente. Se estima que un el 10 a 35% de la población adulta tiene alguna forma de problema venoso⁹.

SEXO.

Un hecho ampliamente difundido es la mayor frecuencia de las várices en el sexo femenino. Tomando todas las formas clínicas en conjunto, se establece un 89.5% de mujeres. De esta prevalencia son responsables, en gran parte, los embarazos repetidos, los períodos de intensas modificaciones endocrinas (menarca, menopausia) y la mayor frecuencia de las tromboflebitis femeninas, influida por los puerperios y la cirugía ginecológica. Por otra parte, el factor estético conduce a las mujeres a realizar una consulta más temprana.

EDAD.

La edad de aparición de las várices está en relación con las formas de etiologías de la enfermedad. Su comienzo es más frecuente en la segunda y tercera década de la vida, época en que se suman los factores hereditarios y gestacionales. En la

cuarta, quinta y sexta década su aparición es debida, por lo general, a secuelas postflebíticas y alteraciones climatéricas.

OCUPACION.

La ocupación de los pacientes ha sido señalada como factor etiológico de importancia. Esto ocurriría en pacientes que por su profesión deben permanecer mucho tiempo de pie.

CLASIFICACION.

Si bien es posible localizar venas varicosas en cualquier lugar de la economía la intensa mayoría de las mismas asienta en los miembros inferiores. Por lo tanto, solamente se hará referencia a éstas últimas.

Las várices de los miembros inferiores pueden clasificarse según su etiología o según su localización topográfica; es decir, de acuerdo con el o los sistemas afectados por la insuficiencia. Ambas clasificaciones tienen valor y deben ser tenidas en cuenta al catalogar a un enfermo varicoso.

La clasificación etiológica es la más conocida. Ella es útil, sobre todo, para la interpretación de los fenómenos patogénicos presentes en cada caso. Según la misma, las varices de los miembros inferiores se agrupan de la siguiente forma:

VARICES (Clasificación etiológica):

a) Varices esenciales, primarias o idiopáticas.

b) Varices por insuficiencia venosa profunda.

1) Constitucional.

2) Postrombótica.

c) Varices por fistulas arteriovenosas.

1) Congénitas.

2) Adquiridas.

INSUFICIENCIA VENOSA (Clasificación topográfica):

a) Insuficiencia venosa superficial.

b) Insuficiencia pura de comunicantes.

c) Insuficiencia de los afluentes de la ilíaca interna.

d) Insuficiencia venosa superficial y de comunicantes.

e) Insuficiencia venosa global¹⁰.

f). FISIOPATOLOGIA DE LOS TRASTORNOS TROFICOS EN INSUFICIENCIA VENOSA

La insuficiencia venosa, en su etapa final, condiciona la aparición de alteraciones tróficas en la porción distal de los miembros afectados. Estas alteraciones son generalmente progresivas, sucediéndose en un orden más o menos similar en todos los casos. Así, lo habitual es que aparezca primero la hiperpigmentación o dermatitis ocre, siguiéndole luego la celulitis indurada y por último, la úlcera.

Todos estos trastornos deben ser considerados como distintas etapas evolutivas de la enfermedad desarrolladas a partir de un mecanismo patogénico común. El tiempo de evolución de la insuficiencia venosa, su gravedad y diversos factores locales son los que condicionan en cada caso su aparición precoz o tardía, su evolución tórpida o rápida y sus variantes topográficas.

El hecho primario a partir del cual se encadenan todas estas lesiones está constituido por la hipertensión venosa crónica. Ella provoca un aumento de la presión hidrostática a nivel de los capilares, lo que determina una mayor filtración hacia el intersticio. Al principio, esta situación es reversible; más

tarde se convierte en permanente, y aun se acentúa, al lesionarse la pared capilar como consecuencia del incremento tensional. A través del endotelio lesionado fluyen hacia el espacio intercelular líquidos y proteínas, con lo que se modifican las condiciones normales de filtración, haciéndose posibles la persistencia del edema.

Cuando la lesión capilar se acentúa, se producen pequeñas hemorragias intersticiales; por modificación de esta sangre extravasada aparecen acúmulos de hemosiderina, sustancia que confiere a la piel el tono bronceado característico de la dermatitis ocre pigmentaria. Si el paciente tiene tendencia a la fragilidad capilar, pueden asociarse púrpuras y petequias.

Como quiera que el edema crónico estimula la proliferación fibroblástica, tanto la piel como el tejido celular subcutáneo y la aponeurosis sufren una induración y fibrosis que engloban todos los tejidos y bloquean los vasos linfáticos, con lo que se cierra un círculo vicioso que favorece y agrava la esclerosis conjuntiva.

Estos sucesos se traducen clínicamente por la aparición de la llamada celulitis indurada.¹⁰ Por otro lado, los múltiples factores que predisponen a las várices pueden dividirse en dos grupos: Los que guardan relación con el soporte de la pared venosa y los que se refieren a la producción de hipertensión venosa. Las

venas son estructuras débiles cuya integridad depende de una túnica media delgada y del soporte de los tejidos adyacentes. El aumento de la frecuencia de várices con la edad es atribuible, por lo menos en parte, a la pérdida del tono tisular, atrofia de los músculos y cambios degenerativos seniles en las paredes de las venas. El factor más importante que influye en la presión sanguínea venosa es la posición del cuerpo. Cuando las piernas cuelgan durante largo tiempo, se eleva mucho en ellas la presión venosa. Se ha estimado que el aumento duplica los valores normales.¹¹

Se han reportado tres hipótesis para la explicación de la aparición de las úlceras. La prevención de la difusión de oxígeno y otros nutrientes de los vasos de la dermis por el acúmulo de fibrina fue propuesto por Browse y Bernard¹² esto es una forma de llevar a anoxia tisular causando una ulceración de la piel. Otros autores¹³ sugieren que la causa de la úlcera es la adherencia de leucocitos debido al daño de las células adyacentes del endotelio para relacionar los mediadores inflamatorios con el incremento de la permeabilidad vascular causando posteriormente daño tisular y ulceración. Falanga y Eaglestein¹⁴ recientemente propusieron que la fuga de macromoléculas de la dermis como resultado de la hipertensión venosa une o atrapa los factores de crecimiento en

la formación del material de la matriz no siendo valorable para la reparación tisular y el mantenimiento de la integridad tisular.

g). ULCERA VARICOSA

g.1) INTRODUCCION.

Las úlceras de pierna representan un problema mundial, son las heridas más comunes en la población americana ¹⁵ La incidencia parece estar entre el 1% y el 2% en los países del oeste y ello tiene un impacto definitivo sobre la morbilidad y costos financieros ¹⁶.

Aunque el origen de las úlceras crónicas son debidas a una disfunción del flujo en la pantorrilla y el resultado un incremento de la presión venosa, la exacta causa de la ulceración es todavía materia de discusión.

Esto es conocido que la hipertensión causa un incremento en la filtración de fluidos y edema, activación y adhesión de células blancas. Esto es conocido, que la activación de células blancas son atrapadas en los capilares en la dermis incrementando el edema. ¹⁷ El acúmulo de fibrina ha sido encontrada como una ventaja de la úlcera ¹⁸ y aunque este acúmulo de fibrina no es específico de enfermedad venosa, ¹⁹ estas han sido citadas como cualquier causa existente ó el resultado de este tipo de úlceras.

ULCERA VENOSA

En términos generales, se denomina úlcera a toda pérdida de sustancia mantenida crónicamente por una falla en los mecanismos de reparación. En la piel, esta falla puede derivar del gran tamaño de la misma (quemaduras, úlceras traumáticas) o de una alteración de los factores que regulan su trofismo. Estos factores pueden ser de dos tipos:

- 1) *Circulatorios* dependientes de un adecuado aporte arterial y un desague venoso eficaz.
- 2) *Neurotróficos* a través de estímulos conducidos por fibras motoras y neurovegetativas.

Las úlceras varicosas es el ejemplo típico de trastornos tróficos por mala evacuación¹⁰, ocurren en la distribución de la mayor marcha, en la tercera porción inferior de la pierna y son casi siempre central en el maleolo medial superior, ésta es el área donde la presión venosa superficial y subcutánea es más alta debido a la proximidad de la incompetencia de las venas perforantes.

Típicamente son de forma oval o serpinginosas con paredes sucias y son frecuentemente múltiples. La piel indurada alrededor de la úlcera demuestra

pigmentación y puede tener la escara de una úlcera cicatrizada previamente. La base es plana y cubierta con necrosis o escara infectada. El tejido debajo de la úlcera es también duro y grueso. Los signos de cicatrización son la presencia de tejido de granulación vascular sano en la base, con bordes rosados de un corte nuevo de epitelio.^{20,21}

Ya se han enumerado los pasos que conducen a la aparición del edema, la hiperpigmentación y la celulitis indurada. En cambio, los mecanismos íntimos que determinarían la formación de una úlcera no han sido aún suficientemente aclarados, aunque se acepta también que la hipertensión venosa es la causa primaria.

Para LACOR,¹⁰ todo el proceso deriva de la hipertensión venosa al esfuerzo y de la éstasis que es su consecuencia. Algunos autores han objetado la existencia de tal éstasis. Pero estas objeciones sólo son aceptables si se examina el miembro en reposo. Con la deambulación y los aumentos de presión toracoabdominales, el flujo retrógrado que determina la éstasis se halla presente en forma constante.

De lo dicho se desprende que la éstasis no es un estado permanente; es intermitente, paroxística y desaparece con el reposo en posición horizontal o vertical. Mientras ella se mantiene, el volumen circulatorio del miembro se

halla incrementado y la sangre se estanca en los capilares y vénulas. Ello permite una mayor explotación de oxígeno y, consecuentemente, concentraciones elevadas de anhídrido carbónico y de otros elementos de desecho. Como resultado, la nutrición celular se deteriora progresivamente, culminando con la aparición de una úlcera.

Se refiere que este estado teórico sobre la presión elevada del lado venoso de los lechos capilares a nivel del tobillo del flujo sanguíneo funcional a pesar de la red capilar cutánea, causando deoxigenación de la sangre sobre una base crónica. El edema también decrece sobre el fluido arterial dentro de ésta área del tejido.

Un área de isquemia local resulta con decremento suplementario de nutrientes como oxígeno, glucosa, aminoácidos y grasa y metabolismo celular dañado. Los productos del metabolismo anaeróbicos más allá, dañan la función celular y colapso tisular, especialmente si ocurre un trauma menor o infección^{20,21}.

OTRAS ALTERACIONES PROVOCADAS POR LA ESTASIS.

La estasis ocasiona también otras alteraciones, las que se manifiestan generalmente en la región distal de la pierna.

a) Alteraciones vasculares.

Las vénulas se presentan dilatadas, los capilares apclotonados y con engrosamiento de sus paredes y, en ocasiones, las arteriolas pueden llegar a afectarse, con proliferación de la íntima y fenómenos de periarteritis.

El exámen capilaroscópico de los bordes de la úlcera demuestran disposiciones variadas: capilares algo dilatados, en otras ocasiones abigarradas y de volumen irregular, con aspecto de madeja o glomérulos, en asas largas y gruesas, etc. Las asas presentan por lo general una dirección oblicua, inclinándose hacia la úlcera.

A medida que se examina a mayor distancia, el aspecto morfológico va normalizándose, aunque persiste siempre cierto grado de dilatación.

b) Aumento de la temperatura local.

Además de la hipotermia local provocada por el mayor flujo arteriolar, la hipertensión paroxística determina aumento de temperatura por la acción vasodilatadora de los catabolitos acumulados. Aun cuando la estasis sea intermitente, la vasodilatación se mantiene después de cesada aquella.

c) Reacción refractaria a la histamina.

Las causas que determinan este aumento de producción de histamina son: a) la inflamación periulcrosa; b) la destrucción celular, no solo de los tejidos sino de los elementos formes de la sangre; c) la acción de la flora bacteriana, pues algunos gérmenes estimulan la sustracción de anhídrido carbónico de la histidina; d) el aumento de la temperatura basal.

Se refiere que, además del aumento de producción de histamina, está dificultada también su reabsorción, debido al bloqueo venulolinfático; y disminuida su destrucción, por el aumento de anhídrido carbónico que inhibe la acción de la histaminasa. Se considera que la evolución tórpida de estas úlceras, con signos inflamatorios tan apagados, proviene del hecho de que los fenómenos agudos de la inflamación se deben a la acción de las llamadas *sustancias H*. Si los tejidos

presentan una sensibilidad disminuida a estas sustancias, se comprende que desarrollen una reacción inflamatoria débil.

d) Alteraciones óscas.

La éstasis venosa crónica puede provocar con relativa frecuencia, alteraciones óscas en el miembro afectados. Si bien en algunos casos estas alteraciones guardan estrecha relación topográfica con las úlceras, lo habitual es que ésta interdependencia no esté presente; por lo general, la lesión ósca es más precoz que la cutánea, hecho que demuestra que el origen de la misma se debe buscar más en el disturbio hemodinámico que en la influencia directa de los trastornos tróficos¹⁰.

g.2).TRATAMIENTO MEDICO:

Se denomina de esta manera a una serie de normas terapéuticas no quirúrgicas destinadas a reducir la hipertensión venosa y a controlar el edema, a fin de evitar la progresión evolutiva de la insuficiencia venosa y aliviar la sintomatología funcional resultante de la misma. En estas circunstancias el tratamiento médico es siempre paliativo. Comprenden las siguientes formas:

1) **Compresión elástica.** Constituye la medida de mayor importancia. Su propósito principal es el control del edema; secundariamente, actúa brindando soporte exterior a las venas superficiales, facilitando de esta manera la vehiculización de la sangre hacia el sistema venoso profundo. Accesoriamente, protege el miembro afectado contra los traumatismos, los cuales son, a menudo, punto de partida de serias lesiones tróficas. La compresión elástica puede practicarse con venda o media, según la preferencia del paciente.¹⁰ También se ha utilizado el método de vestidura de compresión el cual consiste en una vestidura absorbente (Allevyn) ayudando en el lugar por una compresión lineal ligera. La vestidura, hecha de poliuretano hidrofílico, es colocada sobre la úlcera, tiene una membrana no adherente que protege de posibles maceraciones

de la piel adyacente.²²⁻²⁴ Puede ser cambiada diariamente o cada tercer día, o cuando está saturada de tejido exudado.²⁵

2) Kinesioterapia. Los masajes centripetos, comenzando desde los dedos, ayudan a reducir el edema sobre todo en los casos rebeldes. Cuando existe esclerosis perimalcolar, una cuidadosa masoterapia a nivel de las goteras retro y submalcolares, facilita la reabsorción e impide el tabicamiento fibroso, permitiendo una adecuada movilización de la articulación del tobillo.¹⁰

Se ha comentado el uso de la miel, en heridas superficiales y úlceras, ya que se refiere, que las propiedades antibacterianas del azúcar y la miel son usualmente atribuidas a la producción adecuada de alta osmolaridad local de la actividad del agua sobre estos productos y esto ciertamente, enemigo del crecimiento bacteriano. No obstante, en el caso de la miel, la actividad antimicrobiana puede ser promovida por liberación enzimática de peróxido de hidrógeno y esto es evidente que algunos tipos de miel puede contener adicionalmente sustancias antibacterianas derivadas de las flores que también han sido observadas. Las úlceras indolentes de piel a menudo contienen una serie de microorganismos y esto es notoriamente refractario al tratamiento. De ello, se desprende la importancia del uso de la miel en este tipo de padecimientos.^{25,26} También se

ha reportado el uso del sulcralfato en el tratamiento en úlceras de miembros inferiores, aplicada localmente 2 veces al día durante 8 semanas ocasionando una *manipulación angiogenica*. La angiogenesis es fundamental en la fisiología de la reparación de las heridas. Recientes experimentos en investigación de la angiogenesis demostraron que la union de polisacaridos sulfatados (vg. heparina) y un factor de crecimiento de fibroblastos básico protector (bFGF), un potente factor angiogenico presente en muchos tejidos humanos.²⁷ El sulcralfato, un medicamento anti-ulceroso, es estructuralmente similar a la heparina y la afinidad de la porción de la heparina a la unión del del bFGF.²⁸ Este mecanismo puede explicar como el sulcralfato puede promover neovascularización y cicatrización de las úlceras gástricas aunque altera el pH gástrico. No obstante, se utilizó unguento de sulcralfato sobre la base de éstas, promoviendo las propiedades de angiogenesis para tratar las úlceras crónicas por estasis venosa.²⁹

g.3).TRATAMIENTO QUIRURGICO.

Las operaciones sobre el sistema venoso superficial ocupan, por su frecuencia, el primer lugar en la cirugía venosa. La participación de este sistema en la insuficiencia venosa de los miembros inferiores es casi la regla, ya sea como única expresión de la incompetencia de los sistemas profundos y/o de comunicantes. Por esta razón, frecuentemente estas intervenciones deben asociarse con otras técnicas destinadas a tratar la incompetencia de los sistemas restantes. De la misma manera, suele ser necesario asociarla a procedimientos plásticos para el tratamiento de celulitis induradas y/o úlceras. ¹⁰

h). CICATRIZACION DE LAS HERIDAS.

h.1). INTRODUCCION.

Los fenómenos en virtud de los cuales el organismo cura el daño producido por la lesión local comienzan en etapas tempranas del proceso de inflamación y, al final, originan reparación y reposición de las células muertas o dañadas por células sanas¹¹.

La cicatrización de una herida, está constituida por: 1) despertar de la actividad mitótica, movimiento amiboide de las células epiteliales basales y elaboración de un sistema macromolecular con enlaces sulfúricos a partir de estas células, que no sea afectado por agua, gases e iones-capa de queratina; 2) reactivación de los fibroblastos inactivos en la proximidad de la herida, proliferación de éstos en la vecindad de la misma, y producción, a partir de éstos de colágena monómera e importantes componentes de la sustancia básica, como polisacáridos ácidos. 3) polimerización extracelular de colágena protómera o monómera y distribución de la colágena así formada en un sistema reticular intrincado de fibrillas y fibras, y 4) suspensión de todos estos procesos cuando la continuidad tisular se ha restablecido, proceso en el que la inhibición del proceso de contacto celular desempeña, del mismo modo, un papel muy importante.

h.2). TIPOS DE CICATRIZACION.

La cicatrización puede dividirse en tres tipos: 1) *Cicatrización por primera intención.* Esta fase supone cicatrización de una herida cortante aséptica correctamente cerrada. En los casos de unión primaria, el tejido de granulación se acerca al mínimo indispensable. 2) *Cicatrización por segunda intención (granulación).* En este caso, existe un defecto que primero queda cubierto por tejido de granulación, y luego es cerrado por contracción y por crecimiento secundario del epitelio. Otra manera de ver las cosas es que la cicatrización tenga lugar por granulación en las heridas en donde la unión primaria no se realiza a causa de traumatismo o gran pérdida de la sustancia, infección, o porque las superficies de la herida no han establecido contacto. 3) *Cicatrización por tercera intención.* Si una herida profunda no ha sido suturada inicialmente, o más tarde se abre y se sutura, o se vuelve a suturar varios días después cuando ya existe granulación, llegaran a ponerse en contacto superficies de granulación.

El resultado es una cicatriz más ancha y más profunda que en la cicatrización por primera intención. La cicatrización de cualquier herida abierta como laceración, avulsión, quemadura profunda o fractura abierta evolucionan principalmente a través de tres procesos: 1) proliferación epitelial; 2)

granulación, incluso producción de colágena, y 3) contracción de la herida. El grado de cicatriz residual es función directa de la cantidad de colágena que se forma durante la cicatrización.

h.3). FISILOGIA DE LA CICATRIZACION

DE LAS HERIDAS

Las diversas respuestas despertadas por una herida están sujetas a una sucesión complicada, aunque ordenada, de acontecimientos. La intensidad y duración relativas de las diferentes fases en esta sucesión de cosas, depende del tipo de la herida, existencia o falta de infección y si la cicatrización se efectúa por primera, segunda o tercera intención.

PRIMERA FASE. FASE PRODUCTIVA INICIAL O DE SUBSTRATO.

(Aproximadamente 5 días). Esta fase se llama también fase de retraso, autolítica, catabólica o inflamatoria. Durante esta fase hay salida de líquidos tisulares, acumulación de leucocitos y mastocitos y crecimiento interno de haces capilares y fibroblastos, y el pH de la herida llega a niveles ácidos. Los fibroblastos aparecen sobre todo por proliferación de las células del tejido conectivo local, más que de las células precursoras que provienen de la sangre. Durante esta fase los tejidos coaptados pueden separarse con poca fuerza.

Durante la última parte de esta fase, hay un aumento rápido de contenido de hexosamina de la herida y otros signos positivos de la existencia de polisacáridos

ácidos. La metacromasia llega a su máximo entre el quinto y sexto día, época en que aparecen las primeras pruebas histológicas de la existencia de fibras de colágena.

Se estudió la primera fase o fase *inflamatoria* de las heridas desde el punto de vista de las sustancias producidas por las células dañadas. Los resultados pueden ser resumidos como sigue:

- 1). Leucotaxina: sustancia que aumenta la permeabilidad de las paredes de los capilares y provoca la diapédesis de los leucositos. Esta sustancia difiere de la histamina en que no produce disminución de la presión arterial general
- 2). Factores productores de leucocitosis (componentes termolábil y termostable) (FPL).
- 3). Necrosina .
- 4). Pirexina.
- 5). Factores leucopénicos (leucopenina y factor leucopénico).
- 6). Glucosa.

7). Un factor de crecimiento.

Se estudiaron estos distintos factores, y se aislaron en partes bien individualizadas aunque no químicamente puras. El número de estas es indicio de la complejidad del proceso inflamatorio.

FASE 2. FASE SECUNDARIA O DE LA COLAGENA

(desde el sexto día, aproximadamente, hasta que la cicatrización es completa).

Esta fase se llama también fase anabólica o proliferativa. Al formarse colágena disminuye bruscamente la metacromasia (una prueba histoquímica para los sulfatos libres unidos a los polisacáridos), así como el contenido de hexosamina de la herida. Al mismo tiempo, tiene lugar un aumento paralelo del contenido de colágena y de la fuerza ténsil de la herida.³⁰⁻³¹

3). JUSTIFICACION.

Tomando en consideracion, la elevada morbilidad de éste padecimiento en los grupos en riesgo, la finalidad de este estudio es el encontrar tratamientos alternativos que permitan el acortamiento de dolor, molestias y la curación rápida en este tipo de pacientes. Es de hacer notar que este padecimiento en ocasiones tarda meses e inclusive, años en curar.

Por otro lado, considero que es de suma trascendencia el acortamiento de la duración de este padecimiento, pues esto condicionaría, indudablemente, un ahorro importante de recursos materiales tanto a nivel institucional como individual así como un ahorro de recursos humanos(horas-hombre).

4). HIPOTESIS.

Se ha observado que el FEC-GM administrado localmente en úlceras de diversas etiologías como en sarcoma de Kaposi,³² lepra,³³ y estasis venosa,³⁴ aceleran la cicatrización sin efectos adversos aparentes ya que el FEC-GM, modifica muchos mecanismos desarrollados en las heridas cicatrizantes como la estimulación de reacción de cicatriz fibrótica. Ya que el FEC-GM es producido por monocitos, fibroblastos y células endoteliales.

Una aplicación perilesional de FEC-GM en sujetos con úlceras por estasis venosa, acelera el proceso de la cicatrización cuando se compara con la velocidad de cicatrización en úlceras a las que se les realizan lavados mecánicos diarios con isodine.

5). OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Conocer la respuesta posterior al tratamiento con factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, aplicado localmente sobre las úlceras por estasis venosa en miembros inferiores comparado con lavado diario con isodine.

OBJETIVO ESPECÍFICO.

Conocer los cambios en la primera, segunda, tercera y cuarta semana posterior a la administración de FEC-GM y lavado mecánico diario con isodine en úlceras por estasis venosa de miembros inferiores.

6). MATERIAL Y METODOS.

Se formaron de manera aleatoria dos grupos de pacientes tanto hombres como mujeres, con úlceras venosas en miembros inferiores. Las úlceras de diámetro menor a 7cm, no infectadas, y sin enfermedad sistémica agregada.

Al primer grupo se le administró en una sola ocasión 300 µg de FEC-GM S.C., con jeringa de insulina, en cuatro puntos perilesionales.

Al segundo grupo se le realizaron lavados diariamente con solución isodine y se cubrieron posteriormente con una gasa y vendaje.

Se midió el diámetro de la(s) úlcera(s) en ambos grupos antes del inicio del estudio y posteriormente cada semana por 4 semanas.

El tratamiento estadístico se hizo mediante análisis de varianza (Chi^2 y Kruskal-Wallis).

7). RESULTADOS.

El grupo de lavado diario consistió de 9 pacientes con 11 úlceras, mientras que el grupo de FEC-GM consistió de 9 pacientes con 10 úlceras.

En el grupo de lavado diario la edad promedio 64.7 años (rango 40-93), el tiempo de evolución promedio de las úlceras fue de 39.7 meses (rango 3-240) y el diámetro promedio de las úlceras fue de 3.72cm (rango 1-7).

En el grupo de FEC-GM la edad promedio de los pacientes fue de 56.88 años (rango 28-80), el tiempo de evolución promedio de las úlceras fue de 45.8 meses (rango 1-180), y el diámetro promedio de las úlceras fue de 4.61cm (rango 2-7). No existieron diferencia estadísticamente significativas entre las variables demográficas de los dos grupos.

En la tabla 1 se encuentran las características de los pacientes en ambos grupos así como la evolución a las 4 semanas de cada una de las úlceras en los dos grupos y su significancia estadística.

En el grupo de lavado diario hubieron 2 curaciones (ambas a las 4 semanas), 4 mejorías con disminución promedio del diámetro de las úlceras de 38.6% y 5 fracasos al tratamiento (Gráfica 1). En el grupo de FEC-GM hubieron 8 curaciones (2 a las 2 semanas, 2 a las 3 semanas, y 4 a las 4 semanas), 2 mejorías con un promedio de disminución de diámetro de la úlceras del 20.85% y ningún fracaso (Gráfica 2).

La diferencia entre las curaciones en ambos grupos fue estadísticamente significativa ($p=0.016$). No se encontró relación entre la curación y el sexo de los pacientes ($p=0.88$), la edad ($p=0.95$) ni el tiempo de evolución de la úlcera ($p=0.66$). (Gráfica 3).

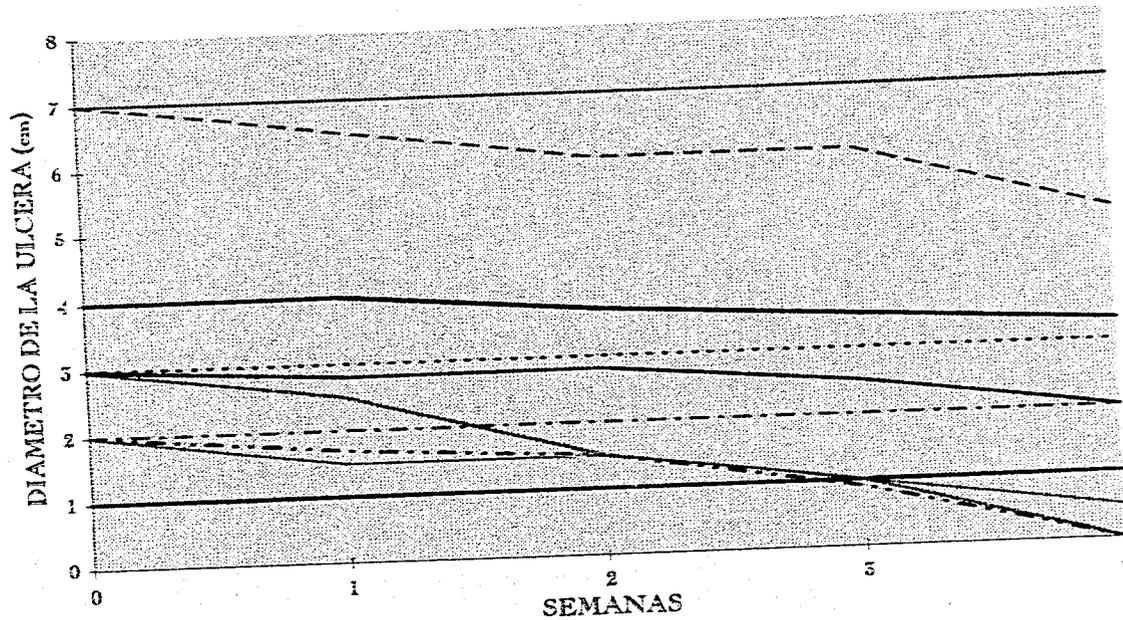
Se observa una tendencia, sin significancia estadística, que a mayor tiempo de evolución de la úlcera menor la posibilidad de curar independientemente el tratamiento. Las úlceras no curadas tenían como promedio de evolución 59.4 meses, *versus* 40.7 meses para las que si curaron.

Tabl. I. CARACTERISTICAS DE AMBOS GRUPOS TRATADOS

	GRUPO DE GEC-GM (10 ULCERAS)	GRUPO DE LAVADO DIARIO (11 ULCERAS)	P
EDAD (AÑOS)	56.8 (rango 28-80)	64.7 (rango 40-95)	0.20
DISTRIBUCION DE SEXO	7 Mujeres 2 Hombres	5 Mujeres 4 Hombres	0.72
TIEMPO DE EVOLUCION DE LAS ULCERAS (MESES)	45.8 (rango 3-180)	59.7 (rango 3-240)	0.55
DIAMETRO INICIAL DE LAS ULCERAS (cm)	4.61 (rango 2-7)	3.72 (rango 1-7)	0.45
ULCERAS CURADAS DESPUES DE 4 SEMANAS	8	2	0.02

FUENTE: EXPEDIENTES CLINICOS DEL HOSPITAL GRAL. I. ZARAGOZA. 20 DE NOV. Y DIARIO FDZ.

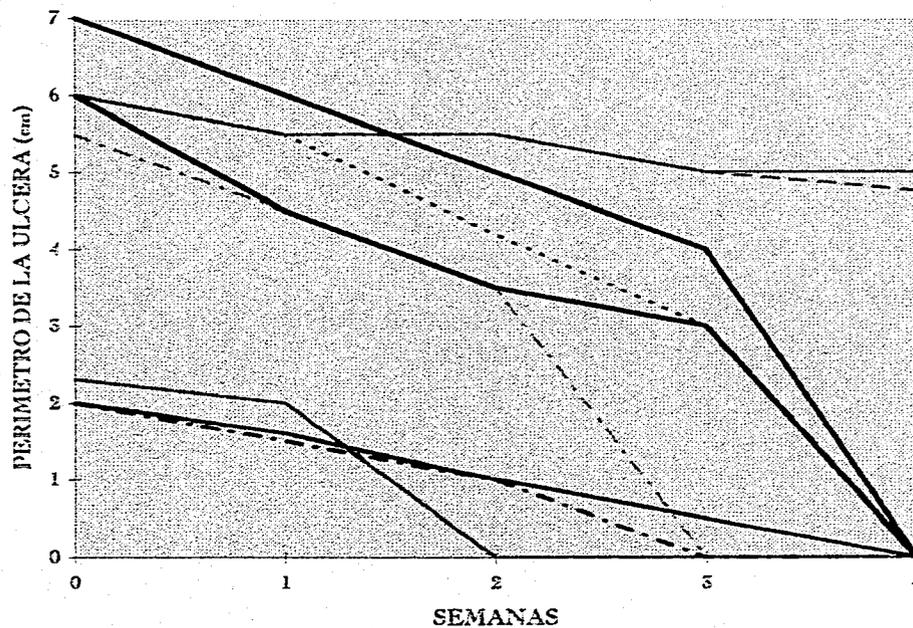
ULCERAS TRATADAS CON LAVADO DIARIO DURANTE 4 SEMANAS



FUENTE: EXPEDIENTES CLINICOS DEL HOSPITAL GRAL. I. ZARAGOZA, 20 DE NOV. Y DARIO FDZ.

GRAFICA 1

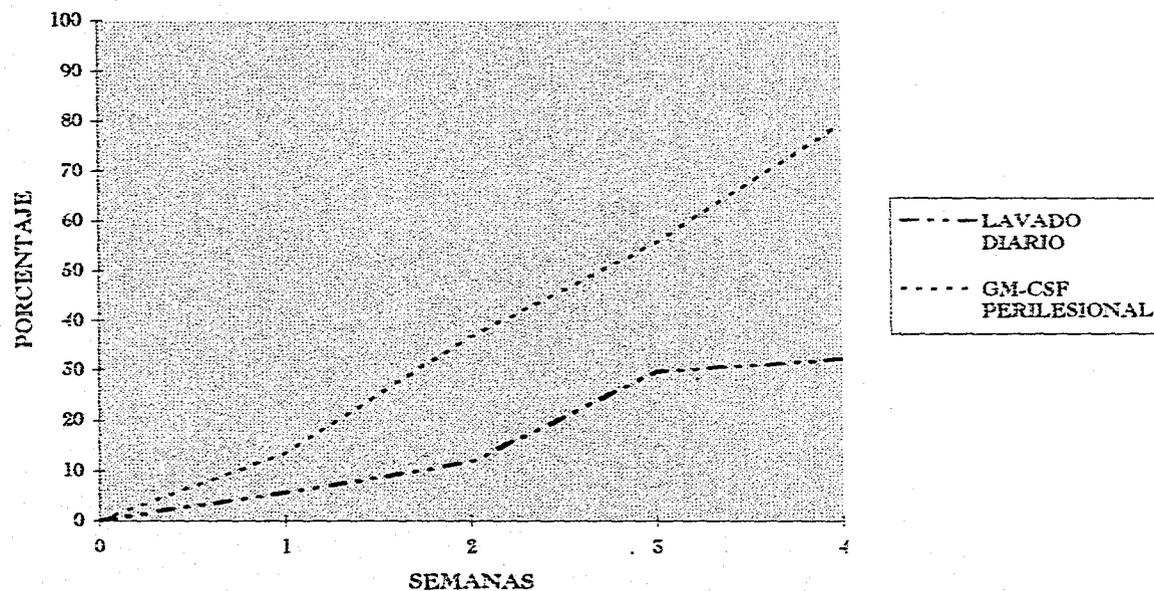
PACIENTES TRATADOS CON UNA APLICACION DE 300 μ g
GM-CSF PERILESIONAL DURANTE 4 SEMANAS



FUENTE . EXPEDIENTES CLINICOS DEL HOSPITAL GRAL. I ZARAGOZA. 20 DE NOV. Y DARIO FDZ.

GRAFICA 2

PORCENTAJE DE REDUCCION DE LOS DIAMETROS DE
LAS ULCERAS EN LOS GRUPOS DE PACIENTES (LAVADO
Y GM-CSFG) EN 4 SEMANAS



FUENTE: EXPEDIENTES CLINICOS DEL HOSPITAL GRAL. I. ZARAGOZA, 20 DE NOV. Y DARIO FDZ.

GRAFICA 3

8). DISCUSION.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

El tratamiento de las úlceras crónicas es una materia difícil y los intentos para tratar de curar esta enfermedad han sido numerosos, y a menudo el resultado de ellos han sido poco satisfactorios.

Un rango incrementado de heridas curadas han sido fundamentadas con el uso de múltiples factores de crecimiento incluyendo factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento de fibroblastos y factor de crecimiento derivado de plaquetas.³⁵

La administración local del factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos (FEC-MG) ha sido reportado como un éxito, no solo para las úlceras crónicas debidas a insuficiencia venosa,³⁴ sino también por otros tipos de úlceras tales como aquellas encontradas en la enfermedad de células falciformes,³⁶ Sarcoma de Kaposi,³² y una combinación con injertos de piel.³³

Aunque el conocimiento exacto del mecanismo desarrollado en el origen de la úlceras, eventualmente nos guiará a la cura definitiva, la administración y el aparente éxito del FEC-MG como tratamiento para úlceras crónicas, observándose ser exitosas en la teoría de atrapamiento del Dr Falanga y

Eaglestein¹⁴ donde la administración del FEC-MG debería substituir el atrapamiento de los factores de crecimiento prometiéndole una reparación tisular.

9). CONCLUSION.

Las úlceras por estasis venosas en miembros inferiores, son un padecimiento que se observa con mucha frecuencia, en la población general, a su vez, este padecimiento por sí mismo representa gran problema de salud en cierto grupo de edades, ya que el tratamiento conservador utilizado, generalmente es prolongado y genera un gran costo y complicaciones y molestias para el enfermo (infecciones, mayor días cama en hospitalización con los riesgos intrínsecos que representan estas).

Es claro, por los resultados de este estudio, que el FEC-GM, aplicado en una sola ocasión perilesional a la úlcera por estasis venosa, acelera significativamente el proceso de la cicatrización, evidenciado esto por un cerramiento o disminución del diámetro inicial de la úlcera. Aunque la calidad de la cicatriz, así como la no reincidencia de la misma son consideraciones importantes y no investigadas por este estudio, no hemos encontrado, tras una búsqueda exhaustiva de la literatura, resultados ni siquiera parecidos a los nuestros.

Por lo anteriormente dicho considero que la aplicación S.C. perilesional de FEC-GM debe ser una opción a tomar en cuenta para la realización de nuevos protocolos en el tratamiento de esta incidiosa enfermedad.

10). BIBLIOGRAFIA.

- 1- Hillman RS. Agentes hematopoyéticos: Factores de crecimiento, Minerales y Vitaminas. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, México, D.F. octava edición 1993;1239-1270.
- 2- Jacobsen LO, Marks E, Gaston, Robinson M, Zirkle RE. The role of the spleen in radiation injury. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949;70:740-742.
- 3- Till M, McCulloch C. Cytological identification of radiation spleen in mouse. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1961;177:452-454.
- 4- Bradley TR, Melcalf D. The growth of mouse bone marrow cell in vitro. *Aust J Exp Biol Med Sci*, 1966;44: 287-300.
- 5- Antman KH. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in clinical trial. *Haematopoietic Growth Factors* 1986;23:47-65.
- 6-Steward WP. Granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Lancet* 1993;342:153-157.
- 7- Lieschke GJ, Cebon J, Morstyn G. Characterisation of the clinical effects after the first dose of bacterially synthesised recombinant human granulocyte-macrophage colony-Stimulating factor. *Blood* 1989;74:2634-2643.
- 8- Dale DC. Commentary, Where now for colony-stimulating factors?. *The Lancet* 1995;346:135-136.

- 9- Widmar LK, Mall TH, Martin H. Epidemiology and Sociomedical importance of peripheral venous disease. In Hobbs JT(ed); *The treatment of venous Disorders*. Philadelphia. Lippincott, 1977.
- 10- Lacour RA. Insuficiencia Venosa de los Miembros Inferiores. 1981;1:19:32-36.
- 11- Robbins RL, Cotran RS. Inflamación y Reparación. *Patología Estructural y Funcional*. tercera edición:39-67.
- 12- Browse NL, Bernard KG. The cause of venous ulceration. *Lancet* 1982;ii:243-245.
- 13- Scott HJ, Coleridge Smith PD, Scurr JH, Dormandy JA. Histological study of white blood cells and their association with lipodermatosclerosis and venous ulceration. *Br J Surg* 1991;78:210-211.
- 14- Falanga V, Eaglestein WH. The "Trap" hypothesis of venous ulceration. *The Lancet* 1993;341:1006-1008.
- 15- Burton CS. Treatment of leg ulcers. *Dermatol Clin* 1993;11:311-315.
- 16- Bonadeo P, Domanin M, Vitello R, Haffner M, Capaldi G. Socio-economic relevance of leg ulcers. In Rayman-Martinbeau P, Prescott R, Zummo E, et al. Eds *Phlebology* 92. Paris 1992:28-280.
- 17- McDonalgh PF. The micro vascular pathophysiology of chronic venous insufficiency. *Yale J Biol. Med.* 1993; 66:27-36.

18- Falanga V, Moosa HH, Nemeth AJ, Alstadt SP, Eaglestain WH. Dermal Capillary fibrin in venous disease and venous ulceration. Arch Dermatol. 1987; 125:620-625.

19- Balslev E, Thomsen HK, Danielsen L, Warburg F. The occurrence of pericapillary fibrin in venous hypertension and ischaemic leg ulcers: a histopatological study. Br J Dermatol 1992;126:582-585.

20- White GH. Chronic Venous Insufficiency Vascular Surgery chapter 60:736-755.

21- Tam M, Moschella SL. Vascular skin ulcers of limbs. Cardiol Clin NA 1991;9:555-563.

22- Young JR, Terwoord BA. Stasis ulcer treatment with compression dressing. Cleveland Clinic Journal of Medicine;1990:529-531.

23- Russell H, Samson MD. Compression Stockings and Non- Continuous Use of Polyurethane Foam Dressings for the treatment of Venous Ulceration. J Dermatol Surg Oncol 1993;19:68-72.

24. Young JR, Terwood BA. A systematic approach for Management of Venous Leg Ulcers. Cleveland Clinic Journal Of medicine, 1989;532-533.

25. Postmes T, Van Den Bogaard AE, Hazen M. Honey for wounds, ulcers, and skin graft preservation. Lancet 1993;341:756-757.

26. Greenwood D. Honey for superficial wounds and ulcers. *Lancet*, 1993;341:90-91.
27. Folkman J, Ingber DT. Angiogenesis: regulatory role of heparin and related molecules, In: Lane DA, Lindahl E, eds, *Heparin*. London: Edward Arnold, 1989;317-733.
28. Folkman J, Szabo S, Stovroff M, Mc Neil D, Liu Shing Y. Duodenal ulcer: discovery of a new mechanism and development of angiogenic therapy that accelerates healing. *Ann Surg* 1991;214(4):414-427.
29. Tsakayannis D, Wli W, Razui S, Spirito N. Sulcrafate and Chronic venous stasis ulcers. *Lancet* ;1994:424-425.
30. Harkins HN. Cicatrización de las heridas.Principios y prácticas de cirugía. 4 edición.Cap.2:7-15
31. Madden JW. Cicatrizacion de las heridas: características clínicas y biológicas. Principios y prácticas de cirugía. 4 edición. Cap.II:211-230.
32. Boente P, Sampajo C, Brandao MA, Moreira E, Badarp R, Jones TC. Local Peri-lesional therapy whit rhGM-CSF for kaposi's sarcoma. *Lancet* 1993;341:1154-1155.
33. Pojda Z, Struzyna J. Treatment of non-healing ulcers whit rhGM-CSF and skin grafts. *Lancet* 1994;343:1100.

34. Da Costa RM, Aniceto C, Miguel F, Mendes M. Quick healing of leg ulcer after molgramostim. *Lancet* 1994;344:481-482

35. Robinson CD. Growth factors: Therapeutic advances. *Ann Med* 1995;25:535-538.

36. Salin AW, Saleh AEC, Doits AJ. molgraastim to treat SS-Sickle cell leg ulcers. *Lancet* 1995;345:528.