



11201
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ENSEÑANZA

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN
EN CIRUGÍA GENERAL

198

**HERNIA INGUINAL INDIRECTA
Y BALANCE EN LA EXPRESIÓN
GENÉTICA DE COLÁGENA TIPO
I/III DE LA FASCIA
*TRANSVERSALIS***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALIZACIÓN EN

C I R U G Í A G E N E R A L

P R E S E N T A :
DR. VÍCTOR HUGO RAMOS CANO

A S E S O R D E T E S I S :
ACAD. DR. ROBERTO PÉREZ GARCÍA

2002

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

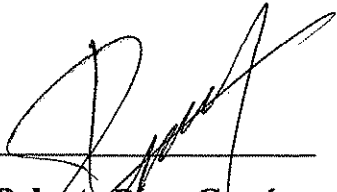
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.

**HERNIA INGUINAL INDIRECTA
Y BALANCE EN LA EXPRESIÓN GENÉTICA DE COLÁGENA TIPO I/III
DE LA FASCIA TRANSVERSALIS**

Tesis presentada
por
Dr. Víctor Hugo Ramos Cano



Acad. Dr. Roberto Pérez García
*Profesor Titular del Curso Universitario
de Especialización en Cirugía General
Hospital Juárez de México
Jefe de División de Cirugía General
Hospital Juárez de México
Asesor de Tesis*

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Victor Hugo
Ramos Cano

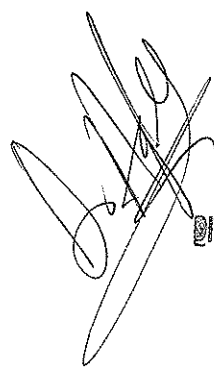
FECHA: 14 Oct 02

FIRMA: 



SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO
DIVISION DE ENSEÑANZA

Dr. Jorge Alberto Del Castillo Medina
*Jefe de Enseñanza
Hospital Juárez de México*



SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U. N. A. M.

A:

María Guadalupe Cano Rojas

Felipe Ramos Villasana

Héctor Ramos Cano

INDICE GENERAL

	PAG.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	2
III. JUSTIFICACIÓN	12
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
V. OBJETIVOS	14
VI. ANALISIS DE VARIABLES	15
VII. HIPOTESIS	17
VIII. DISEÑO EXPERIMENTAL	18
IX. RESULTADOS	32
X. ANALISIS ESTADISTICO	42
XI. DISCUSION	59
XII. CONCLUSIONES	72
XIII. BIBLIOGRAFIA	73

INDICE DE ILUSTRACIONES

		PAG.
Figura 1.1.	Francis Crick y James Watson	1
Figura 2.1.	Rasgos moleculares de la estructura de colágena	3
Figura 2.2	Aspectos básicos sobre el Gen COL1A1	4
Figura 2.3	Aspectos básicos sobre el Gen COL1A2	5
Figura 2.4	Aspectos básicos sobre el gen COL3A1	6
Figura 2.5	Esquemmatización del protocolo para la Obtención de RNA total	8
Figura 2.6.	Diagrama esquemático del aislamiento de mRNA	9
Figura 2.7	Protocolo RT-PCR	10
Figura 2.8	Electroforesis de DNA en Gel de Agarosa	11
Figura 8.1	PolyTract Stand ® para separación magnética del mRNA	28
Figura 8.2	Electroforesis en Gel de Agarosa.	30

INDICE DE GRÁFICAS

		PAG.
Gráfica 10.1.	Características de los pacientes del grupo problema: Sexo.	42
Gráfica 10.2.	Características de los pacientes del grupo problema: Edad	42
Gráfica 10.3.	Características de los pacientes del grupo problema: Diagnóstico	43
Gráfica 10.4.	Características de los pacientes del grupo problema: Grado según Gilbert	43
Gráfica 10.5.	Características de los pacientes del grupo problema: Actividad física	44
Gráfica 10.6.	Características de los pacientes del grupo problema: sexo/edad	44
Gráfica 10.7.	Características de los pacientes del grupo control: Sexo	45
Gráfica 10.8.	Características de los pacientes del grupo control: Edad	45
Gráfica 10.9.	Características de los pacientes del grupo control: Diagnóstico	46
Gráfica 10.10.	Características de los pacientes del grupo control: Actividad física	46
Gráfica 10.11.	Representación Gráfica SEXO/GRUPO CONTROL Y PROBLEMA	47
Gráfica 10.12.	Comparación entre la edad del Grupo control y Problema	48
Gráfica 10.13.	Comparación entre el consumo de cigarrillos diarios fumados del Grupo control y Problema	49
Gráfica 10.14.	Comparación entre el porcentaje de peso real correspondiente al ideal (POPERECOIDE) del Grupo control y Problema	50
Gráfica 10.15.	Comparación entre los niveles de hemoglobina del Grupo control y Problema	51
Gráfica 10.16	Comparación entre los niveles de Albúmina sérica del Grupo control y Problema	52



INDICE DE GRÁFICAS (Cont.)

		PAG.
Gráfica 10.17	Comparación entre los niveles de Pre - Albúmina sérica del Grupo control y Problema	53
Gráfica 10.18	Comparación entre los niveles de Leucocitos totales del Grupo control y Problema	54
Gráfica 10.19	Comparación entre los niveles de Actividad Específica en la expresión genética de Colágena tipo I del Grupo Control y Problema	62
Gráfica 10.20	Comparación entre los niveles de Actividad Específica en la expresión genética de Colágena tipo I del Grupo Control y Problema	63
Gráfica 10.21	Comparación entre la relación de la Actividad Específica en la expresión genética de Colágena tipo I/III del Grupo Control y Problema	64

INDICE DE TABLAS

		PAG.
Tabla 6.1.	Análisis de Variables	16
Tabla 8.1	Volumenes de reactivos para RT-PCR	29
Tabla 8.2.	Proceso de RT-PCR	30
Tabla 8.3	bp de los diferentes mRNA	31
Tabla 9.1	Características de los pacientes del grupo problema	32
Tabla 9.2.	Antecedentes de los pacientes del grupo problema	33
Tabla 9.3.	Parámetros Nutricios de los pacientes del Grupo Problema	34
Tabla 9.4.	Características de los pacientes del grupo control	35
Tabla 9.5.	Antecedentes de los pacientes del grupo problema	36
Tabla 9.6.	Parámetros Nutricios de los pacientes del Grupo Control	37
Tabla 9.7.	Niveles de extracción de RNA total en el grupo problema	38
Tabla 9.8.	Expresión genética de colágena tipo I y tipo III y relación I/III, (Actividad específica corregida tomando como estándar la actividad de β -actina) (Grupo Control)	39
Tabla 9.9.	Niveles de extracción de RNA total en el grupo control	40
Tabla 9.10.	Expresión genética de colágena tipo I y tipo III y relación I/III, (Actividad específica corregida tomando como estándar la actividad de β -actina) (Grupo Problema)	41
Tabla 10.1.	χ^2 Para distribución por sexo de ambos grupos	47
Tabla 10.2	EDAD Estadística descriptiva	48
Tabla 10.3	EDAD Análisis estadístico	48
Tabla 10.4	Antecedentes de tabaquismo (Cigarrillos diarios promedio) Estadística descriptiva.	49
Tabla 10.5	Antecedentes de tabaquismo (Cigarrillos diarios promedio) Análisis estadístico	49

INDICE DE TABLAS (Cont.)

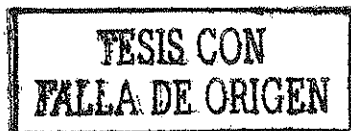
		PAG.
Tabla 10.6	POPERECOIDE (Estadística descriptiva)	50
Tabla 10.7	POPERECOIDE (Análisis estadístico)	50
Tabla 10.8	NIVELES DE HEMOGLOBINA (Estadística descriptiva)	51
Tabla 10.9	NIVELES DE HEMOGLOBINA (Análisis Estadístico)	51
Tabla 10.10	NIVELES DE ALBUMINA SERICA (Estadística descriptiva)	52
Tabla 10.11	NIVELES DE ALBUMINA SERICA (Análisis Estadístico)	52
Tabla 10.12	NIVELES DE PRE-ALBUMINA SERICA (Estadística descriptiva)	53
Tabla 10.13	NIVELES DE PRE-ALBUMINA SERICA (Análisis Estadístico)	53
Tabla 10.14	NIVELES DE LEUCOCITOS TOTALES (Estadística descriptiva)	54
Tabla 10.15	NIVELES DE LEUCOCITOS TOTALES (Análisis Estadístico)	54
Tabla 10.16	Análisis estadístico en la producción de Colágena tipo I y el Sexo en los pacientes del grupo problema	55
Tabla 10.17	Análisis estadístico en la producción de Colágena tipo III y el Sexo en los pacientes del grupo problema	55
Tabla 10.18	Análisis estadístico en el balance de producción de Colágena tipo I/III y el Sexo en los pacientes: grupo problema	55
Tabla 10.19	Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo I y el Porcentaje de Peso real correspondiente al ideal normal y aumentado dentro del grupo problema.	56
Tabla 10.20	Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo III y el Porcentaje de Peso real correspondiente al ideal normal y aumentado dentro del grupo problema.	56
Tabla 10.21	Análisis estadístico del balance en la Producción de Colágena tipo I/III y el Porcentaje de Peso real correspondiente al ideal normal y aumentado dentro del grupo problema.	56

INDICE DE TABLAS (Cont.)

		PAG.
Tabla 10.22	Análisis estadístico de la producción de Colágena tipo I en los pacientes con Prealbúmina Baja y Normal dentro del grupo Problema	57
Tabla 10.23	Análisis estadístico de la producción de Colágena tipo III en los pacientes con Prealbúmina Baja y Normal dentro del grupo Problema	57
Tabla 10.24	Análisis estadístico del balance en la producción de Colágena tipo I/III en los pacientes con Prealbúmina Baja y Normal dentro del grupo Problema	57
Tabla 10.25	Análisis estadístico de la producción de Colágena tipo I y los niveles de Leucocitos totales altos y normales dentro del grupo Control	58
Tabla 10.26	Análisis estadístico de la producción de Colágena tipo III y los niveles de Leucocitos totales altos y normales dentro del grupo Control	58
Tabla 10.27	Análisis estadístico del balance en la producción de Colágena tipo I/III y los niveles de Leucocitos totales altos y normales dentro del grupo Control	58
Tabla 10.28	Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo I en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Miomatosis Uterina del grupo control	59
Tabla 10.29	Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo III en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Miomatosis Uterina del grupo control	59
Tabla 10.30	Análisis estadístico del balance de la Producción de Colágena tipo I/III en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Miomatosis Uterina del grupo control	59
Tabla 10.31	Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo I en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Crecimiento Prostático del grupo control	60
Tabla 10.32	Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo III en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Crecimiento Prostático del grupo control	60
Tabla 10.33	Análisis estadístico del balance en la Producción de Colágena tipo I/III en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Crecimiento Prostático del grupo control	60

INDICE DE TABLAS (Cont.)

		PAG.
Tabla 10.34	Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo I en los pacientes con el diagnóstico de Miomatosis Uterina y de Crecimiento Prostático del grupo control	61
Tabla 10.35	Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo III en los pacientes con el diagnóstico de Miomatosis Uterina y de Crecimiento Prostático del grupo control	61
Tabla 10.36	Análisis estadístico del balance en la Producción de Colágena tipo I/III en los pacientes con el diagnóstico de Miomatosis Uterina y de Crecimiento Prostático del grupo control	61
Tabla 10.37	Descripción estadística de los niveles de producción de Colágena tipo I entre el Grupo Control y el Grupo Problema	62
Tabla 10.38	Descripción estadística de los niveles de producción de Colágena tipo III entre el Grupo Control y el Grupo Problema	63
Tabla 10.39	Descripción estadística la relación de la producción de Colágena tipo I/III entre el Grupo Control y el Grupo Problema	64
Tabla 10.40	Análisis Estadístico de Varianza para la producción de Colágena tipo I en el grupo Control y en el Grupo Problema	65
Tabla 10.41	Análisis Estadístico de Varianza para la producción de Colágena tipo III en el grupo Control y en el Grupo Problema	65
Tabla 10.42	Análisis Estadístico de Varianza para relación de la producción de Colágena tipo I/III en el grupo Control y en el Grupo Problema	65
Tabla 10.43	Análisis Estadístico mediante Prueba t para la producción de Colágena tipo I en el grupo Control y en el Grupo Problema	66
Tabla 10.44	Análisis Estadístico mediante Prueba t para la producción de Colágena tipo III en el grupo Control y en el Grupo Problema	66
Tabla 10.45	Análisis Estadístico mediante prueba t para la relación de la producción de Colágena tipo I/III en el grupo Control y en el Grupo Problema	66





RESUMEN

HERNIA INGUINAL INDIRECTA Y BALANCE EN LA EXPRESIÓN GENÉTICA DE COLÁGENA TIPO I/III DE LA FASCIA *TRANSVERSALIS*

Presenta:

Dr. Víctor Hugo Ramos Cano

Con el objeto de determinar la relación existente entre el balance de la producción de colágena tipo I/III en la fascia *transversalis* y la incidencia de Hernia inguinal Indirecta se obtuvieron muestras de fascia *transversalis* de 30 pacientes con este padecimiento y 30 de pacientes operados por otra causa, determinándose la expresión genética para estos dos tipos de colágena mediante purificación del RNA, aislamiento de mRNA, RT-PCR con marcaje con P³², electroforesis con gel de agarosa al 2% y finalmente determinación de la cantidad de DNA ampliado de secuencia específica para cada una de estas proteínas tomando como base la intensidad de desintegración radioactiva de β -Actina ajustada a 1.0

Los pacientes con Hernia inguinal indirecta tuvieron los siguientes niveles de actividad específica: Colágena tipo I: X= 1.856 DS=0.07388715 Var= 0.00545931 Nivel de confianza 95%. Colágena tipo III: X= 1.709 DS= 0.08027324 Var= 0.00644379 Nivel de confianza 95%, Relación Colágena tipo I/III: X= 1.08739022 DS= 0.04912808 Var= 0.00241357 Nivel de confianza 95%

Los pacientes sin Hernias tuvieron los siguientes niveles de actividad específica: Colágena tipo I: X= 1.8796 DS=0.06359806 Var= 0.00404471 Nivel de confianza 95%. Colágena tipo III: X= 2.206 DS= 0.12647293 Var= 0.0159954 Nivel de confianza 95%, Relación Colágena tipo I/III: X= 0.85411836 DS= 0.05021607 Var= 0.00252165, Nivel de confianza 95%

Se realizó el análisis estadístico de "t" para medias de dos muestras con varianzas desiguales de los resultados de las muestras del grupo Control y Problema obteniendo: Colágena Tipo I: P=0.09, Colágena tipo III: P= <0.001, Relación Colágena tipo I/III: P= <0.001.

Se realizó análisis estadístico de varianzas mediante las Prueba F de los resultados de las muestras del grupo Control y Problema obteniendo: Colágena Tipo I: P=0.2 Colágena tipo III: P= 0.008, Relación Colágena tipo I/III: P= 0.004.

Concluimos que en nuestro estudio existe un incremento significativo en el nivel de producción de colágena tipo III y una disminución también significativa en la relación de la producción Colágena tipo I/III en la fascia *transversalis* de los pacientes que desarrollaron Hernia inguinal indirecta con respecto a los que no presentan esta situación.

Estos resultados son similares a los obtenidos por otros autores tomando muestras de piel, o de aponeurosis de la pared abdominal.

I. INTRODUCCIÓN

La Medicina avanza a pasos agigantados, lo que hoy es verdad, mañana será una mentira a medias, para finalmente convertirse en un rotundo desatino ante la gran cantidad de nuevos descubrimientos.

La Cirugía no es la excepción y actualmente, el Cirujano se ve obligado a cambiar la concepción del mundo que le rodea, hasta hace poco se miraba a los órganos como estructuras con una función definida, posteriormente se describía desde el punto de vista celular e incluso organelar hasta que hoy por hoy la visión integral de la enfermedad deja de ser incluso microscópica y se ha convertido en molecular.

Y es que desde que Francis Crick y James Watson descubrieron la estructura de aquella molécula que encierra la vida y que les valió el premio Nobel en 1962, (fig. 1.1.) no se puede concebir la Ciencia y por ende la Medicina de otra forma que no sea la estrictamente molecular.



Fig. 1.1.- Francis Crick y James Watson

Finalmente, con el desciframiento completo del Genoma Humano en febrero de este año se ha dado un paso trascendental en la Historia: Una molécula que se descifra a si misma, y hoy por hoy se conocen casi todos los procesos en los que participa de forma perfecta

Ahora temas como la clonación, la manipulación genética, la curación de enfermedades aún antes del nacimiento y muchas otras que hasta hace una década solo podían salir de la imaginación de los literatos, ocupan a los noticieros y rebasan las normas y leyes.

Este trabajo pretende abordar aspectos de la causalidad de la Hernia Inguinal desde el núcleo mismo del fibroblasto, con técnicas de Biología Molecular, estandarizadas.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

II. MARCO TEÓRICO

Tradicionalmente se define como Hernia a la protrusión del contenido de una cavidad a través de un orificio o zona de menor resistencia natural.ⁱ

Por tanto se designa a la Hernia inguinal como la protrusión del contenido abdominal por esta región, limitada dentro del triángulo formado por el ligamento inguinal, el borde externo de la vaina del músculo recto anterior, y una línea transversal, cuyo origen se encuentra en la cresta ilíaca antero-superior.

Hasselbach en 1814 describe el triángulo que lleva su nombre, con base en la parte medial de la vaina femoral y la arteria epigástrica profunda; y con vértices constituidos por el borde lateral de la vaina de los rectos y el borde iliopúbico. Actualmente el triángulo se encuentra formado por el borde lateral del músculo recto anterior, los vasos epigástricos profundos y el ligamento inguinal o de Poupart.

Las Hernias que por origen tienen el triángulo de Hasselbach, se nombran como directas, mientras que aquellas localizadas en la región inguinal por fuera de esta zona se denominan indirectas, y finalmente las que nacen por debajo del ligamento inguinal o de Poupart, corresponden a las femorales.ⁱⁱ

En 1989 A.I. Gilbert, describió un sistema de clasificación para la Hernia inguinal, que, posteriormente modificado por Rutkoff, identifica hernias indirectas (I, II y III), directas (IV y V) mixtas (VI) y femorales (VII).

Las Hernias inguinales indirectas (Gilbert I, II y III), se presentan con mayor frecuencia en hombres mientras que las directas y femorales (Gilbert IV, V y VII), en mujeres, las mixtas (Gilbert VI) se manifiestan indistintamente.ⁱⁱⁱ

El triángulo de Haselbach, el restante de la región inguinal y la región femoral, se encuentran dentro del orificio miopectíneo, zona de debilidad aponeurótica, protegida por la fascia *transversalis* y una serie de mecanismos que actúan cuando aumenta la presión intra-abdominal. El mecanismo esfinteriano del orificio inguinal profundo está formado por un lazo de fascia transversalis y actúa al contraerse el músculo transverso del abdomen. Por otro lado el mecanismo obturador del arco del transverso ocluye la zona débil del triángulo de Hasselbach al aproximarse al ligamento inguinal o de Poupart.^{iv}

Aunque se desconoce la cifra exacta, se puede afirmar que en México la Hernia inguinal es el padecimiento quirúrgico más frecuente, se estima que entre el 3 y 5% de la población general la padece.

Las Hernias inguinales pueden ser; por su etiología, congénitas o adquiridas, las primeras como una persistencia en la permeabilidad del proceso peritoneo-vaginal durante la migración del testículo o bien; del ligamento redondo según sea el caso. Las segundas con un origen multifactorial, algunos factores implicados son: La falta del mecanismo

obturador, el aumento sostenido en la presión intra-abdominal, factores generales como edad, falta de ejercicio físico, obesidad, embarazos múltiples, cirugías, reposo en cama y tabaquismo. Las Hernias inguinales indirectas por lo general son congénitas, mientras que las directas son adquiridas.^v

El desarrollo o aparición de la hernia inguinal tiene como factor fundamental la pérdida del mecanismo obturador del arco del transverso y del mecanismo esfinteriano del orificio inguinal interno, en cuyo caso; la resistencia e integridad de la fascia transversalis juega un papel determinante, atributos dados entre otras causas, por el tipo de colágena que la conforma

La colágena es la proteína mas abundante en el mundo animal y constituye alrededor del 25% de la proteína de los mamíferos, Se han identificado mas de diez tipos distintos e intervienen en las propiedades físicas de los tejidos.

Todos los tipos tienen una estructura helicoidal triple. Cada subunidad polipeptídica o cadena alfa está torcida en una hélice con giro a la izquierda que forma una molécula de 1.4 nm x 300 nm, una característica sorprendente es la ocurrencia de residuos de glicina cada tercer posición (Gli-X-Y)_n, de la porción helicoidal triple de la cadena alfa. requerimiento absoluto para la formación de la triple hélice, aunque X y Y pueden ser cualquiera residuos de aminoácidos, mas de 100 posiciones X y 100 posiciones Y son prolina e hidroxiprolina respectivamente.

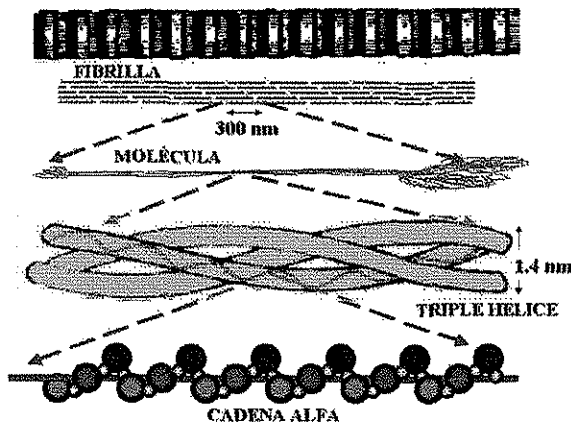


Figura 2.1.- Rasgos moleculares de la estructura de la colágena

La colágena recién producida es modificada en forma extensa antes de convertirse en la fibra extracelular madura, se sintetiza como pre-procolágena en el ribosoma, posteriormente en el retículo endoplásmico se transforma en procolágena, esta molécula contiene péptidos de extensión de 20 000 a 35 000 Daltones, los cuales se separan gracias a la acción de enzimas extracelulares llamadas procolágena aminoproteinasa y procolágena carboxipeptidasa, ensamblándose las fibras con desfazamiento a un cuarto, desaminación oxidativa de grupos amino no constituyentes de la cadena principal y formación de entrecruzamiento intra e intercatenarios (fig. 2.1).^{vi}

La Colágena tipo I ($[\alpha 1(I)]_2 \alpha 2$), es la expresión de dos genes diferentes COL1A1 (fig. 2.2) y COL1A2 (fig. 2.3), en los cromosomas 17 y 7 respectivamente, mientras que en el cromosoma 2, se expresa la colágena tipo III ($[\alpha 1(III)]_3$), (fig. 2.4)^{vii}

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GEN COL1A1

NOMBRE: Colágena tipo I alfa I

CROMOSOMA: 17

BANDA QUE CONTIENE EL LOCUS:
17q.21.3

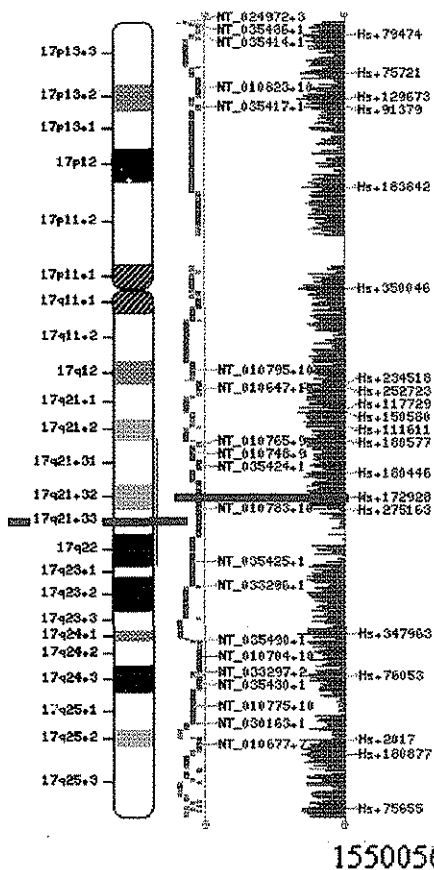
PRODUCTO: Proteína Humana CA11.
Tamaño 1464 aminoácidos
Peso: 138884 Da
Función: colágena tipo I
(subunidad)

TAMAÑO DE LA REGION: 19144 bp.

LOCALIZACION: 1569169 a 1550056 pb

EXONES: 51

GENES: 1



1569199

1550056

SECUENCIA EN EL CROMOSOMA 17

SECUENCIA PARA mRNA PRE PRO COLÁGENA, SUBUNIDAD ALFA - 1

SECUENCIA PARA mRNA QUE CIFRA PARA PROCOLAGENA, SUBUNIDAD ALFA - 1

SECUENCIA PARA mRNA COL1A1

Figura 2.2 Aspectos básicos sobre el Gen COL 1 A1

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GEN COL1A2

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

NOMBRE: Colágena tipo I alfa 2

CROMOSOMA: 7

BANDA QUE CONTIENE EL LOCUS:
7q.22.1

PRODUCTO: Proteína Humana CA21.

Tamaño 1366 aminoácidos

Peso: 129456 Da

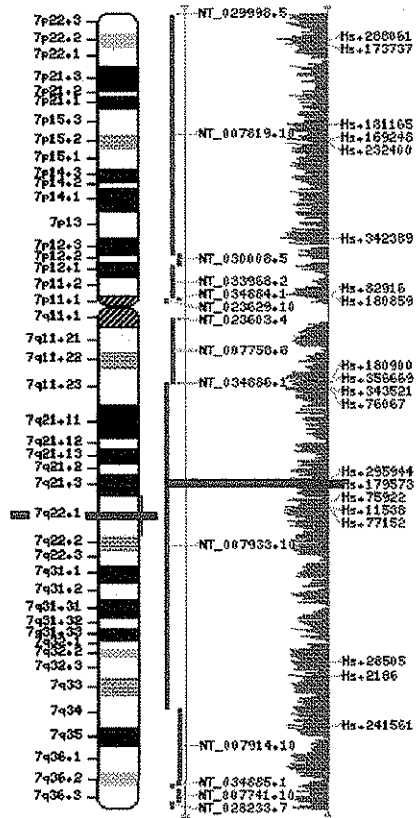
Función: colágena tipo I
(subunidad)

TAMAÑO DE LA REGION: 37138 bp.

LOCALIZACION: 19257960 a
19295097 pb

EXONES: 52

GENES: 1



19257960

19295097



SECUENCIA EN EL CROMOSOMA 7

SECUENCIA PARA mRNA PRE PRO COLÁGENA, SUBUNIDAD ALFA - 2



SECUENCIA PARA mRNA QUE CIFRA PARA PROCOLAGENA, SUBUNIDAD ALFA - 2



SECUENCIA PARA mRNA COL1A2

Figura 2.3 Aspectos básicos sobre el Gen COL 1 A2

GEN COL3A1

TECIS CON
FALLA DE ORIGEN

NOMBRE: Colágena tipo III alfa 1

CROMOSOMA: 2

BANDA QUE CONTIENE EL LOCUS:

2q.31

PRODUCTO: Proteína Humana CA13.

Tamaño 1466 aminoácidos

Peso: 138556 Da

Función: colágena tipo

III (subunidad)

TAMAÑO DE LA REGION: 41449

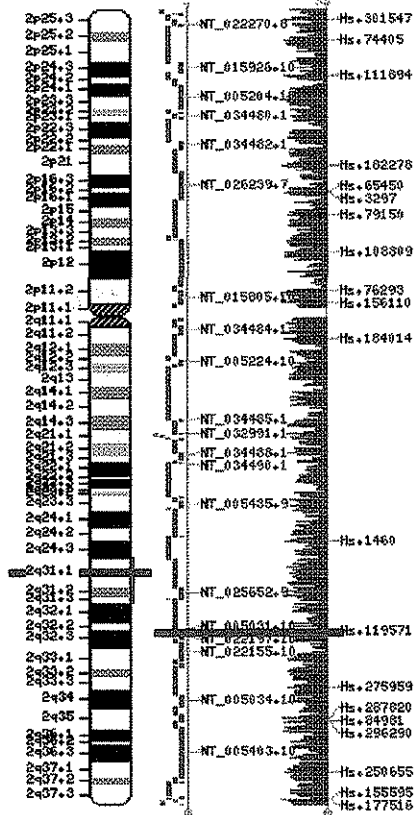
bp.

LOCALIZACION: 19257960 a

19295097 pb

EXONES: 50

GENES: 1



405557

447005



SECUENCIA EN EL CROMOSOMA 7



SECUENCIA PARA mRNA PRE PRO COLÁGENA, SUBUNIDAD ALFA - 2



SECUENCIA PARA mRNA QUE CIFRA PARA PROCOLAGENA, SUBUNIDAD ALFA - 2



SECUENCIA PARA mRNA COL1A2

Figura 2.4 Aspectos básicos sobre el Gen COL 3 A1

El papel que juega la colágena en relación con la Hernia ha sido sospechado de antaño, y padecimientos cuyo sustrato fundamental es el trastorno en la producción de colágena de forma adecuada, se asocian con un incremento en el riesgo de desarrollar hernias inguinales.^{viii, ix, x, xi}

Existen diferentes estudios que demuestran que los pacientes con hernias y eventraciones postquirúrgicas presentan trastornos en la proporción de la expresión genética de colágena tipo I, proteína de gran fuerza tensil, y tipo III, una colágena inmadura; con una reducción en la relación Colágena I/III, en muestras de piel.^{xii, xiii}

El balance de colágena tipo I/III, depende tanto de la tasa de producción por fibroblastos, como de la velocidad de degradación por parte de las colagenasas, principalmente las metaloproteinasas de matriz celular-1 y 13, (MMP-1 y MMP-13, por sus siglas en inglés), sin embargo ha sido demostrado que no existe diferencia entre la expresión de MMP-1 y MMP-13 y el desarrollo de hernias primarias o recidivante, ni eventraciones postquirúrgicas.^{xiv, xv}

Por otro lado en muestras de fascia *transversalis* se ha determinado expresión de la metaloproteinasa de matriz celular-2 (MMP-2 por sus siglas en inglés)^{xvi}, sin embargo la tasa de absorción de colágena tipo I y Tipo III no mostró cambios.^{xvii}

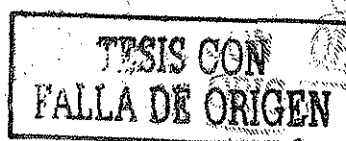
Lo que sugiere que el balance de colágena I/III de la fascia no es determinada por la actividad de metaloproteinasas de matriz celular, sino por el tipo de producción de colágena por los fibroblastos.

La medición en la producción de cada tipo de colágena de forma directa es factible, sin embargo representa un indicativo poco confiable debido a que, desde su producción en el ribosoma hasta su incorporación en una fibra madura, pasa por numerosos pasos difíciles de controlar y por lo tanto de evitar tendencias; por otra parte, la molécula de colágena incorporada a la fibra es difícil de separar. Por tanto la mejor manera de determinar la producción de esta proteína es determinando la intensidad de su expresión genética pudiendo realizarse esta de forma relativamente sencilla mediante procedimientos estandarizados de biología molecular y que comprende los siguientes protocolos:

a) **Purificación del RNA.**^{xviii, xix, xx}

El éxito en el aislamiento de RNA intacto requiere de cuatro pasos esenciales: 1) efectiva disrupción de los tejidos y células, 2) desnaturalización de los complejos de nucleoproteínas, 3) inactivación de las ribonucleasas endógenas y 4) remoción del DNA y proteínas contaminantes.

Para esto se utiliza las propiedades de disrupción y precipitación de tejidos del tiocianato de guanidina (GTC), del etanol de precipitar y el agua de solubilizar los ácidos nucleicos, así como la capacidad del β -Mercaptoetanol para inactivar las ribonucleasas presentes en los extractos de células. La muestra es homogeneizada y puesta en contacto con una solución acuosa de GTC y β -Mercaptoetanol, con lo que habrá disrupción, precipitación de los componentes celulares no nucleicos e inactivación de las ribonucleasas, al centrifugar la muestra, tendremos un precipitado de detritus, quedando en la



solución los ácidos nucleicos, posteriormente se decanta y se agrega DNasa, de modo que lo único que quede sea RNA, y detritus de DNA, finalmente se añade etanol para precipitar el RNA y separarlo de detritus con lo que se consigue RNA total de alto grado de pureza, (fig. 2.5)

b) Obtención del mRNA ^{xxi}
_{xxii}

Se realiza actualmente sin la necesidad de emplear celulosa Oligo(dT) con los problemas asociados de contaminación por rRNA empleando partículas paramagnéticas unidas a estreptavidina, molécula de elevada afinidad por la biotina.

La reacción se basa en tres aspectos básicos:

La característica del mRNA de las células eucariontes de presentar en el extremo 3' una cola de poli-Adenina (poliA⁺), y la hibridación selectiva con un complejo biotinado que en el extremo 3' posee una cadena poli-Timina [Complejo Oligo(dT)].

La cualidad del RNA de hibridarse cuando la concentración salina aumenta.

La afinidad de la estreptavidina por la biotina.

Así se puede agregar a una solución acuosa de RNA total un fragmento Oligo(dT) unido a biotina, se aumenta la concentración salina de la mezcla con lo que se conseguirá la hibridación solo del mRNA con extremo PoliA⁺ al fragmento biotinado Oligo(dT), posteriormente se agrega estreptavidina unida a partículas paramagnéticas, realizando la separación magnética del híbrido mRNA poliA⁺/Oligo(dT) biotinado, y se lava. Disminuyendo posteriormente la concentración salina, es posible realizar lavados hasta obtener mRNA puro que finalmente por decantación se puede solamente recolectar mRNA. (fig. 2.6)

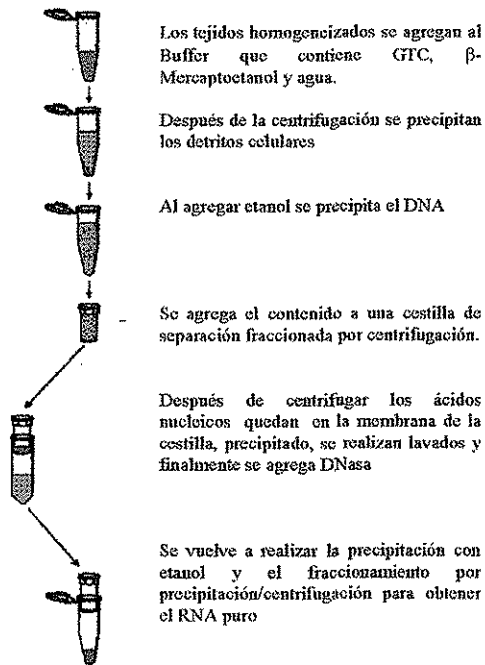


Figura 2.5.- Esquematación del protocolo para la obtención de RNA total



c) RT-PCR^{xxiii}

El mRNA puede ahora mediante una transcriptasa inversa convertirse en un cDNA monocatenario.

Finalmente se agrega RNasa para hidrolizar todo el RNA.

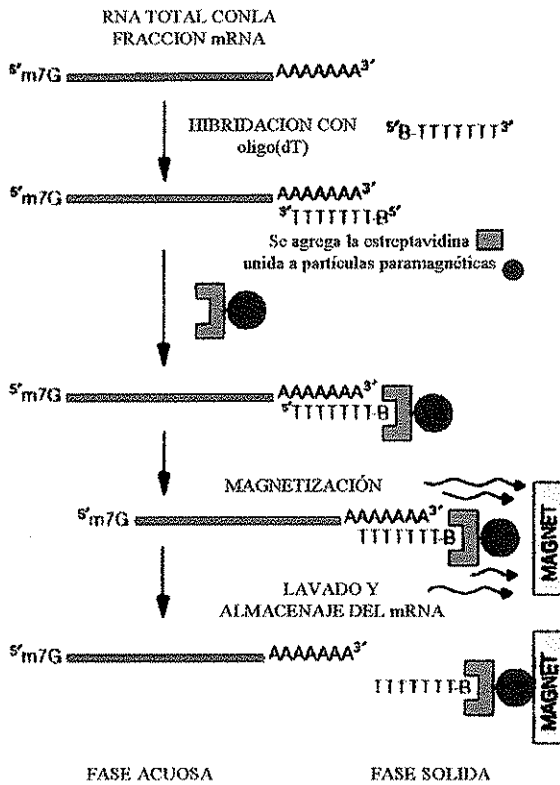


Fig. 2.6.- Diagrama esquemático del aislamiento de mRNA

La reacción en cadena de la polimerasa permite amplificar una secuencia específica de DNA.

Para esto se requieren dos cebadores en los extremos 5' para amplificación por la DNA-polimerasa, uno para cada secuencia de las cadenas. (fig. 2.7.)

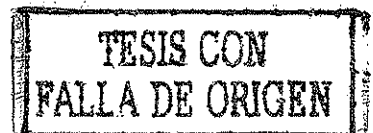
El ciclo básico de la PCR puede definirse de la siguiente manera:

- 1) Desnaturalización del DNA
- 2) Hibridación a los cebadores
- 3) Amplificación por la DNA polimerasa
- 4) Nueva desnaturalización
- 5) Repetición del ciclo

d) Electroforesis de DNA^{xxiv}

Posterior a la RT-PCR, se toma una muestra y se introduce en uno de los "pocillos" en un gel de agarosa al 2% (Ya que la poliacrilamida es menos porosa y no apta para la electroforesis de ácidos nucleicos), y finalmente se coloca por inmersión ("Electroforesis submarina") en un gradiente eléctrico, con lo que por tamaño de bases, ira avanzando hacia el cátodo, a menor bp, mayor velocidad, finalmente se realiza la lectura de la radiación beta del P³² por medios automatizados obteniendo la intensidad relativa de cada banda específica permitiendo determinaciones cuantitativas de alta calidad

Otro método también utilizado implica la adición de bromuro de etidilo y finalmente después del lavado, se observa, bajo radiación UV (despide un



color naranja) se fotografía y cuantifica por densitometría, este último método solo permite una evaluación semi-cuantitativa, de la concentración de mRNA. (fig. 2.8)

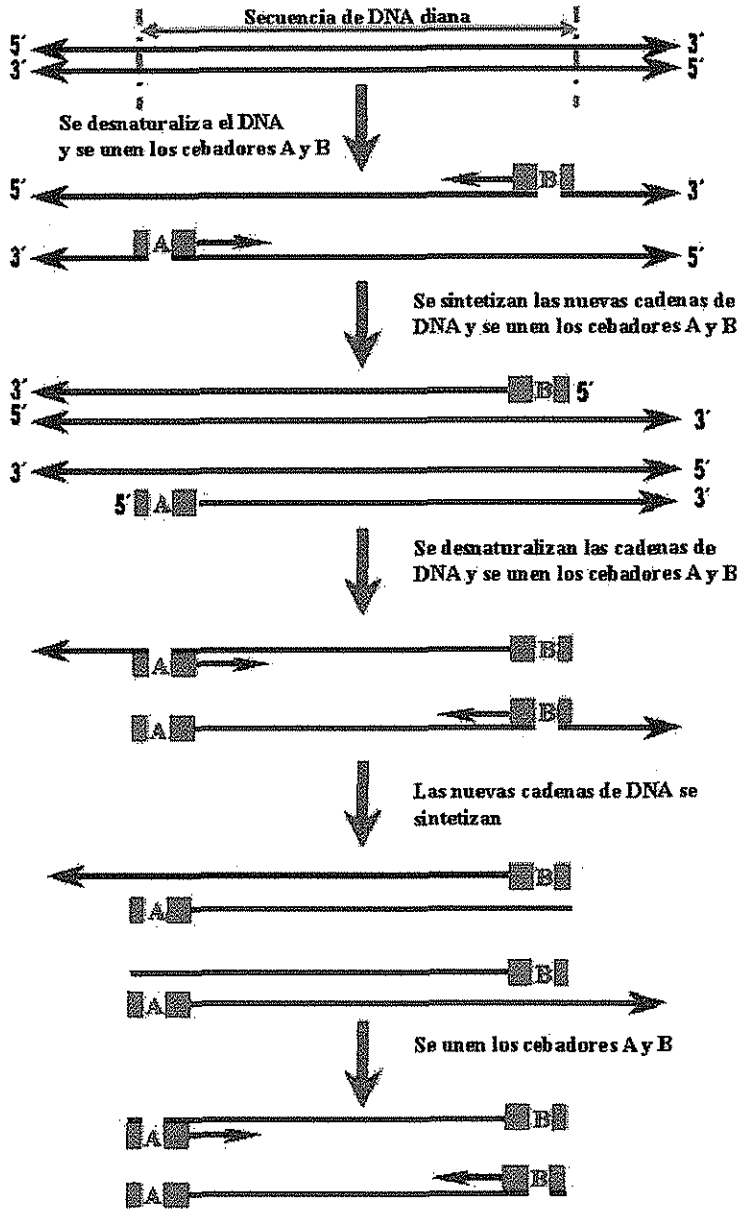
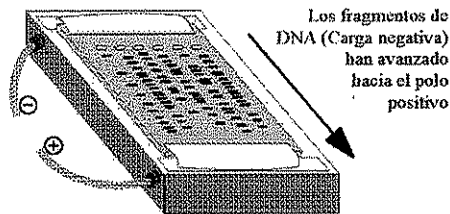
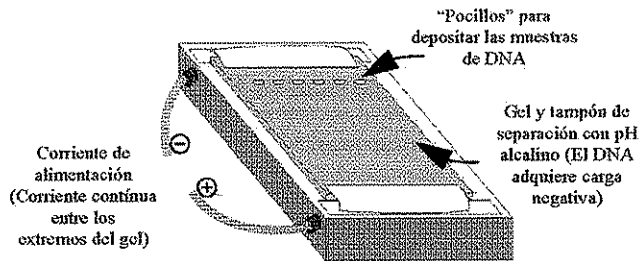
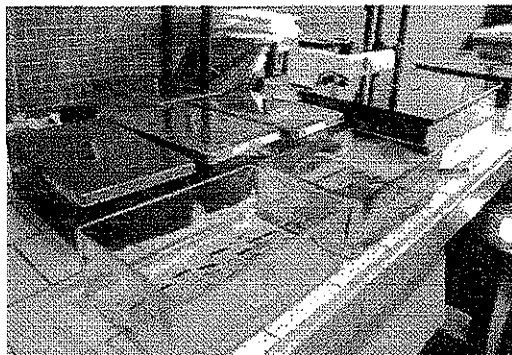


Figura 2.7.- Protocolo RT-PCR

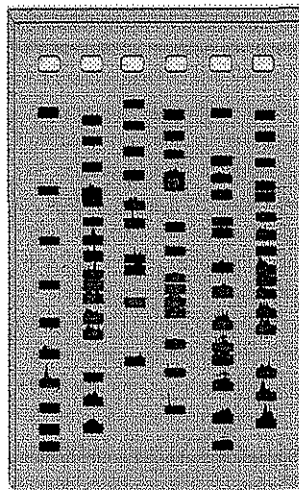
TESIS CON
FUELA DE ORIGEN



A menor tamaño mayor recorrido

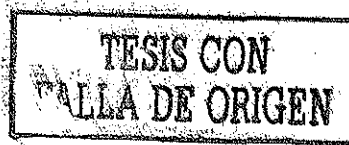


Laboratorio de electroforesis



Aspecto final de distintas muestras

Figura 2.8.- Electroforesis de DNA con gel de Agarosa



III. JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que, la pérdida del mecanismo obturador del transverso deja a la fascia *transversalis* como la única línea de defensa ante la presión del contenido abdominal en el triángulo de Hasselbach, y al resultar vencida esta; se produce una hernia inguinal directa.

El origen de la hernia inguinal indirecta es eminentemente congénito, la persistencia del proceso peritoneo-vaginal ocasiona de forma definitiva una hernia al mismo momento del nacimiento, sin embargo es de extrañar que sus manifestaciones por lo general se presenten hasta varias décadas de vida después.

Esto se explica gracias al mecanismo esfinteriano del orificio inguinal interno, que, en respuesta al aumento de la presión abdominal y por contracción del músculo transverso del abdomen, ocasiona "pinzamiento" de este orificio mediante un lazo de fascia *transversalis* y que, en tanto persista, conservará el proceso peritoneo-vaginal como un conducto virtual, la pérdida del mecanismo esfinteriano ocasionará el cuadro característico de una hernia inguinal indirecta,

Dicho planteamiento coloca a la fascia *transversalis*, como estructura anatómica crucial, una pérdida de integridad o resistencia de dicha fascia, contribuirá de forma inequívoca en la formación de la hernia inguinal directa y el desarrollo de la indirecta, presente desde el momento del nacimiento.

Determinar los factores que influyen en la integridad y resistencia de la fascia *transversalis* permitirá crear estrategias de prevención y tratamiento para la Hernia inguinal indirecta, redundando es una menor morbilidad y consecuente descenso en la mortalidad, lo que justifica este tipo de estudios

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La fascia *transversalis*, debe su integridad, fundamentalmente a la colágena, proteína que, en forma de fibras, provee de resistencia a cualquier tejido.

La resistencia correspondiente a la colágena de tejidos aponeuroticos y fasciales de protección se halla determinada por el balance total entre la colágena tipo I y la Tipo III.

La colágena tipo I, con contenido bajo de hidroxilisina y sitios escasos de glucosilación de la misma, forma fibras anchas, se ha demostrado, provee de fuerza tensil suficiente, siendo considerada como colágena de buena calidad, mientras que la Colágena tipo III, con contenido alto de hidroxiprolina y que forma "fibras de reticulina" es una colágena inmadura que en caso de tejidos expuestos a tensión, demerita su resistencia.

Se considera que la hernia inguinal directa tiene un origen adquirido mientras que la indirecta se relaciona con la persistencia del proceso peritoneo-vaginal, siendo evitada la protrusión del contenido abdominal gracias a los mecanismos de cierre del orificio miopectíneo siendo necesaria la conjunción de los dos factores para que se desarrolle clínicamente.

Se ha observado que la pérdida de la resistencia de la fascia *transversalis* y con ello, el balance total de la colágena tipo I y Tipo III, es un factor importante para la aparición de una hernia inguinal directa.

Si tomamos en cuenta que en el desarrollo de la hernia indirecta, también juega un papel importante el mecanismo esfinteriano de la fascia *transversalis*, podemos pensar que las alteraciones en la relación Colágena tipo I y tipo III de la fascia *transversalis* podrían tener relación con el desarrollo de hernia inguinal indirecta.

De esto surge una interrogante que es el problema fundamental que nos ocupará:

¿Cuál es la relación existente entre el balance de la producción de Colágena tipo I/III y el desarrollo de Hernia Inguinal indirecta?

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

V. OBJETIVOS

El presente estudio tiene como objetivo principal:

- a) Determinar la relación existente entre el balance de la producción de Colágena tipo I/III en la fascia *transversalis* y el desarrollo de Hernia Inguinal Indirecta.

El presente estudio tiene como objetivos secundarios consecuentes:

- a) Aportar pruebas que demuestren que el balance de la producción de colágena I/III en la fascia *transversalis* es importante para el desarrollo de Hernias inguinales indirectas.
- b) Acrecentar el conocimiento científico sobre la patogénesis y fisiopatología de la Hernia inguinal indirecta
- c) Abrir nuevas directrices de estudio encaminadas a la prevención y tratamiento en el desarrollo de la Hernia inguinal indirecta, mediante el conocimiento sobre la resistencia y función de la fascia *transversalis*
- d) Servir como precedente para nuevos estudios encaminados a la modificación genética de la expresión de genes de fibroblastos para el tratamiento por terapia génica del desarrollo de hernias inguinales indirectas.
- e) Determinar la relevancia de al menos un agente adquirido en el desarrollo de un padecimiento congénito.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI. ANALISIS DE VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE:

Presencia o no de Hernia Inguinal indirecta.

- a) Tipo: cualitativa
- b) Definición Operacional: Aquella protrusión del contenido de la cavidad abdominal por afuera del triángulo de Hasselbach correspondientes a los tipos I, II y III descritos por Gilbert.
- c) Valores: Sí, No.
- d) Forma de obtención: directa.

VARIABLE CONSIDERADA COMO DEPENDIENTE:

Balance de la producción de colágena tipo I/III en la fascia transversalis

- a) Tipo: cuantitativa
- b) Definición Operacional: Cantidad de mRNA específico para la producción del Gen de Colágena tipo I / Cantidad de mRNA específico para la producción del Gen de Colágena tipo III
- c) Valores: ($>-\infty$ a ∞)
- d) Forma de obtención: Técnicas de Biología Molecular

VARIABLES AJENAS:

- a) Numero de individuos de la muestra
- b) Sexo
- c) Edad
- d) Ocupación
- e) Estado Civil
- f) Diagnóstico de Hernia inguinal indirecta
- g) Estado nutricional
- h) Entorno de obtención de las muestras de Fascia *transversalis*
- i) Procesamiento de las muestras de fascia *transversalis*

Se realizaron las diligencias necesarias para evitar tendencias (Tabla 6.1)

Tabla 6.1. Análisis de Variables

VARIABLE Y TIPO*	VALOR	DEFINICION OPERACIONAL	PRECAUCION PARA EVITAR TENDENCIA
DE LA POBLACION			
Muestra nt	[0 - ∞]	Numero de individuos de la muestra	Será el mismo número
Sexo lt	Masculino, Femenino	Genero de los individuos de la muestra	No habrá diferencia significativa entre el grupo control y problema
Edad nt	[0 - ∞]	Edad	No habrá diferencia significativa entre el grupo control y problema
Ocupación lt	Esfuerzo fisico intenso, medio, bajo	Esfuerzo fisico intenso: trabajos de carga y movimiento medio: trabajos de movimiento, bajo: trabajos sin movimiento	No habrá diferencia significativa entre el grupo control y problema
Estado Civil lt	Soltero(a), Casado(a) En unión libre, Divorciado(a) Viudo(a)	Casado: cuando se tenga matrimonio civil, Soltero: No casado, Divorciado: Casado y posteriormente matrimonio resuelto, Viudo, Casado con pareja finada, Unión libre: Concubinato legalmente satisfecho	No habrá diferencia significativa entre el grupo control y problema
Hernia inguinal indirecta nt	Si o No	Protrusión del contenido de la cavidad abdominal en la region inguinal por fuera de los vasos epigástricos	No habrá diferencia significativa entre el grupo control y problema
Estado nutricional nt	Obesidad Eutrofismo Desnutrición	Obesidad: Porcentaje de peso real correspondiente al ideal (POERECOIDE) > de 125%, Eutrofismo = POERECOIDE <125% pero > de 80%, albúmina, prealbúmina, transferrina, Sodio, Magnesio, Potasio séricos normales, linfocitos totales normales. Desnutrición: Alguno de los parámetros arriba citados por debajo del normal o POERECOIDE menor del 80%	No habrá diferencia significativa entre el grupo control y problema
DE LAS CONDICIONES DEL MEDIO			
Entorno de obtención de las muestras de Fascia transversalis lt	SI NO	Tipo de técnica en cuanto a factor Humano.	Se tomará por el mismo cirujano y en condiciones parecidas tanto para el grupo control como para el problema
Procesamiento de las muestras de fascia transversalis nt	OPTIMA NO OPTIMA	Ruta desde la obtención hasta los resultados finales	Se realizara por el mismo laboratorio de forma ciego simple

* Cuantitativa (nt), Cualitativa (lt)



VII. HIPOTESIS

HIPOTESIS VERDADERA:

POSTULADO: Relación inversa.

Si existe relación inversa entre el balance de la producción de colágena tipo I/III en la fascia transversalis y el desarrollo de hernia inguinal indirecta; Y la relación de la expresión genética del mRNA que codifica para colágena tipo I/III es indicativo del balance de la producción de colágena tipo I/III, **Entonces** los pacientes que presentan desarrollo de hernia inguinal indirecta tendrán una relación de la expresión genética del mRNA que codifica para colágena tipo I/III en la fascia *transversalis* significativamente menor.

HIPOTESIS ALTERNA:

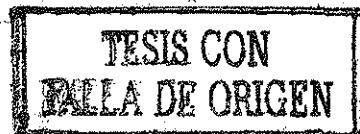
POSTULADO: Relación directa.

Si existe relación directa entre el balance de la producción de colágena tipo I/III en la fascia transversalis y el desarrollo de hernia inguinal indirecta; Y la relación de la expresión genética del mRNA que codifica para colágena tipo I/III es indicativo del balance de la producción de colágena tipo I/III, **Entonces** los pacientes que presentan desarrollo de hernia inguinal indirecta tendrán una relación de la expresión genética del mRNA que codifica para colágena tipo I/III en la fascia *transversalis* significativamente mayor.

HIPOTESIS NULA:

POSTULADO: Sin relación directa o indirecta.

Si **NO** existe relación entre el balance de la producción de colágena tipo I/III en la fascia *transversalis* y el desarrollo de hernia inguinal indirecta; Y la relación de la expresión genética del mRNA que codifica para colágena tipo I/III es indicativo del balance de la producción de colágena tipo I/III, **Entonces** los pacientes que presentan desarrollo de hernia inguinal indirecta **NO** tendrán una relación de la expresión genética del mRNA que codifica para colágena tipo I/III de la fascia *transversalis* significativamente distinta.



VIII. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para llevar al cabo nuestros objetivos se realizará el siguiente Diseño Experimental de acuerdo con un estudio:

- A) PROSPECTIVO.
- B) TRANSVERSAL.
- C) DE CASOS Y CONTROLES.
- D) CIEGO SIMPLE
- E) CON CONTROL ESTADISTICO.

I. MUESTRA

GRUPO PROBLEMA (GP)

30 Muestras útiles de fascia *transversalis* de pacientes con Hernia inguinal indirecta

GRUPO CONTROL (GC)

30 Muestras útiles de fascia *transversalis* de 30 pacientes sin Hernia inguinal indirecta

CARACTERISTICAS DE LOS PACIENTES DEL GRUPO PROBLEMA:

A) CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- I. Pacientes sometidos a plastia inguinal uni o bilateral por el diagnóstico de Hernia inguinal Gilbert I, II ó III establecido pre-operatoriamente.

B) CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Evidencia de:
 - i. Lesión renal
 - ii. Hipertensión.
 - iii. Trastornos autoinmunes
 - iv. Diabetes Mellitus tipo I ó II
 - v. Cirugía Cardiovascular
 - vi. Desnutrición
2. Tratamiento actual o terminado hace menos de un año con:
 - i. Medicamentos que deprimen la respuesta inmune.
 - ii. Antineoplasicos.
 - iii. Esteroides.
3. No aceptación de participación en el protocolo por parte del paciente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C) CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

1. Toma de muestra de mala calidad.
2. Incapacidad para toma de muestra.
3. Hallazgos trans-operatorios distintos al diagnóstico pre-operatorio.
4. Arrepentimiento del paciente de última hora de participar en el estudio.
5. Cuando la toma de la muestra implique cualquier tipo de riesgo no previsto para el paciente.

CONTROL:

A) CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

1. Pacientes sometidos a cirugía abdominal factible de disección inguinal pre-peritoneal por otra causa que no incluya hernias ni eventraciones postquirúrgicas.
2. Sin hernias ni eventraciones postquirúrgicas a la exploración física, ni sospecha clínica al interrogatorio.

B) CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Antecedentes de:
 - i. Corrección quirúrgica herniaria o de eventración post-quirúrgica
2. Evidencia de:
 - i. Lesión renal
 - ii. Hipertensión.
 - iii. Trastornos autoinmunes
 - iv. Diabetes Mellitus tipo I ó II
 - v. Cirugía Cardiovascular
 - vi. Desnutrición
3. Tratamiento actual o terminado hace menos de un año con:
 - i. Medicamentos que deprimen la respuesta inmune.
 - ii. Antineoplásicos.
 - iii. Esteroides.
4. No aceptación de participación en el protocolo por parte del paciente.

C) CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

1. Toma de muestra de mala calidad.
2. Incapacidad para toma de muestra.
3. Hallazgos tran-soperatorios distintos al diagnóstico pre-operatorio.
3. Presencia de algún tipo de hernia durante el trans-operatorio,
4. Arrepentimiento del paciente de ultima hora de participar en el estudio.
5. Cuando la toma de la muestra implique cualquier tipo de riesgo no previsto para el paciente.

CARACTERISTICAS DE LAS MUESTRAS UTILES DE FASCIA TRANSVERSALIS.

- a) Fragmento de fascia *transversalis* de espesor total de al menos 200 mg (Por lo general 5 x 3 mm²)
- b) Obtenido sin lacerar el tejido con mas instrumento que pinza de disección sin dientes
- c) Inmediatamente sumergido en solución de transporte desnaturalizante

II. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

1) OBTENCION DE DATOS Y CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE

<i>Cantidad</i>	<i>Descripción</i>
------------------------	---------------------------

Suficiente 60	MATERIAL DE PAPELERIA HOJAS DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
------------------	--

2) OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

<i>Cantidad</i>	<i>Descripción</i>
------------------------	---------------------------

60 indeterminado	Tubos con 2 ml de solución fisiológica Instrumental propio ala cirugía así como la infraestructura necesaria para la intervención quirúrgica.
---------------------	--

3) AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE RNA TOTAL *

<i>Cantidad</i>	<i>Descripción</i>
01	Refrigerador para muestras (General Electric)
01	Dispositivo para congelamiento y mantenimiento de muestras de tejido para Biología Molecular a base de nitrógeno líquido, (Promega SV-RNA Total Isolation System ® Z3100 ó Z3101)
01	Homogeneizador de pequeños tejidos (Brinkmann, Kinemática Polytron ® PT 1300D)
01	Microbalanza (Brinkmann, Microbalance ® PT 1500D)
50	tubos libres de nucleasas para homogeneizador de pequeños tejidos (Brinkmann, Kinemática Polytron Tube® PT 1300D)
01	Cubeta de Baño María para incubación con termómetro integrado
250 ml	Etanol al 95% libre de RNAsas
01	Microcentrífuga (Brinkmann, Eppendorf ® Mod 5415 D)
100	Tubos para microcentrifugación de 1.5 ml (Eppendorf ®)
50	Tubos para Fraccionamiento en columna por centrifugación (Promega SV-RNA Total Isolation System ® Z3100 ó Z3101)
50 ml	Buffer para lisis (Promega SV-RNA Total Isolation System ® Z3100 ó Z3101)
20 ml	Buffer para dilución (“Blue Buffer”) (Promega SV-RNA Total Isolation System ® Z3100 ó Z3101)
2 ml	β-Mercaptoetanol (al 48.7%) (Promega SV-RNA Total Isolation System ® Z3100 ó Z3101)
1 viales	DNasa liofilizada (Promega SV-RNA Total Isolation System ® Z3100 ó Z3101)
250 µl	MnCl ₂ al 0.09 M (Promega SV-RNA Total Isolation System ® Z3100 ó Z3101)
2.5 ml	“Yellow Buffer” (Promega SV-RNA Total Isolation System ® Z3100 ó Z3101)
5.3 ml	Solución concentrada de “DNase-Stop” (Inhibidor de la DNasa), (Promega SV-RNA Total Isolation System ® Z3100 ó Z3101)
58.8 ml	Solución concentrada para lavado de RNA (Promega SV-RNA Total Isolation System ® Z3100 ó Z3101)
13 ml	Agua libre de Nucleasas
05	Micropipeta libre de RNAsas
Suficientes	Boquillas de plástico libres de RNAsas para micropipetas.
Suficientes	Cristalería, Guantes cubrebocas, material de consumo de laboratorio
1000 ml	Agua desionizada

* Las Cantidades especificadas son suficientes para 50 estudios.

Composición de Buffers y soluciones:

1. Buffer PBS

11.5g	Na ₂ HPO ₄
2g	KH ₂ PO ₄
80 g	NaCl
2 g	KCl

Disolver en un litro de agua estéril desionizada El pH debe ser de 7.4

2. Buffer de lisis

4 M	Guanidín tiocianato
0.01 M	tris-HCl (pH 7.5)
0.97%	β-Mercaptoetanol

(Cuando el β-Mercaptoetanol ha sido añadido)

3. Solución concentrada de "DNase-Stop"

5 M	Guanidina isotiocianato
10mM	Tris-HCl (pH7.5)

Después de la dilución con etanol la concentración final es de 2 M de Guanidina isotiocianato, 4 mM Tris-HCl (pH 7.5) y 57% de etanol

4. Solución concentrada de lavado

162.8 mM	Acetato de potasio
27.1 mM	Tris-HCl (pH 7.5 a 25° C)

Después de la dilución con etanol la concentración final es de 80mM de acetato de potasio, 10 mM tris-HCl (pH 7.5 a 25° C) y 60% de etanol

4) AISLAMIENTO DEL mRNA[†]

<i>Cantidad</i>	<i>Descripción</i>
01	Cubeta de baño María para incubación con termómetro
40	Tubos de 1.5 ml libres de RNasas para microcentrifugación
20	Pipetas libres de RNasas
suficientes	boquillas para pipetas libres de RNasas
200 µl	Sonda Oligo (dT) biotinado (Promega, PolyATtract ® mRNA Isolation System, Z5300)
11.2 ml	Solución 20X SSC (8 x 1.4 ml) (Promega, PolyATtract ® mRNA Isolation System, Z5300)
36 ml	Vial de partículas de Streptavidina unidas a partículas paramagnéticas (Promega, Streptavidin Magnesphere ® Particles) (60 x 0.6 ml)
200 ml	Agua libre de RNasas (8 x 25 ml)
4	Dispositivos de separación magnética para tubos de 1.5 ml para microcentrifugación (Promega MagneSphere ® Separation Stand)
100 ml	Isopropanolol
100 ml	Acetato de sodio concentración 3 M

[†] Cantidades suficientes para la totalidad de los pacientes

Composición de Buffers y soluciones:

1. Solución 20X SSC

87.7 g NaCl
44.1 g Citrato de Sodio

Disolver en 400ml de agua libre de nucleasas, ajustar pH a 7.2 con HCl y esterilizar en autoclave

2. Acetato de sodio al 3 M

408.1 g acetato de sodio

Disolver el acetato de sodio en 800 ml de agua, ajustando el pH a 5.2 con ácido acético glacial, ajustar el volumen a un litro con agua y esterilizar en autoclave

5) RT-PCR[‡]

Cantidad Descripción

500 U	Transcriptasa Inversa AMV (Avian Myeloblastosis virus) (Promega, Acces RT-PCR System ®)
500 U	T β -DNA polimerasa (DNA polimerasa de <i>Thermus flavus</i>) 5 U/ μ l. (Promega, Acces RT-PCR System ®)
1 ml	Buffer de reacción AMV/T β 5X. (Promega, Acces RT-PCR System ®)
1.25 ml	MgSO ₄ 25 mM
100 μ l	Mezcla de dNTP, 10mM para dATP, dGTP, dTTP, y ³² P-dCTP, con actividad de 5 mCi/mmol
13 μ l	Agua libre de nucleasas
50 μ l	Control para positivo de RNA (1.25 amol/ μ l (Promega, Acces RT-PCR System ®)
100 μ l	Sebador con secuencia 5'-3' de inicio para control de RNA (5'-GCCATTCTCACCGGATTTCAGTCGTC-3') (Promega, Acces RT-PCR System ®)
100 μ l	Sebador con antisequencia 3'-5' de inicio para control de RNA (3'-G ACT GAA CTG CCC TGC CGC CGA-5') (Promega, Acces RT-PCR System ®)
100 μ l	Sebador con secuencia 5'-3' de inicio para Procolágena tipo I (5'-CCC CCT CCC CAG CCA CAA AG-3') (Promega, Acces RT-PCR System ®)
100 μ l	Sebador con antisequencia 3'-5' de inicio para Procolágena tipo I (3'-TCT CAG TGG GTG GCT GGT TGT-5') (Promega, Acces RT-PCR System ®)
100 μ l	Sebador con secuencia 5'-3' de inicio para Procolágena tipo III (5'-CCA AAC TCT ATC TGA A-3') (Promega, Acces RT-PCR System ®)
100 μ l	Sebador con antisequencia 3'-5' de inicio para Procolágena tipo III (3'-A CAT AAG ATA CTC AGG-5') (Promega, Acces RT-PCR System ®)
100 μ l	Sebador con secuencia 5'-3' de inicio para β - Actina (5'-ATC TGG CAC CAC ACT TCT ACA-3') (Promega, Acces RT-PCR System ®)
100 μ l	Sebador con secuencia 3'-5' de inicio para β - Actina tipo I (3'-T CAG GAC ACC GTA GGT GCT TTG-5') (Promega, Acces RT-PCR System ®)
10 ML	Aceite mineral libre de nucleasas (Sigma, Nuclease-Free light mineral oil ® Cat # M5904)

[‡] Cantidades suficientes para 100 reacciones



Composición de Buffers y soluciones:

1. Control positivo para RNA
1.25 amol/ μ l RNA mensajero codificado del gen para la resistencia a la kanamicina (preparado por transcripción *in vitro*)
3 μ g/ml rRNA de *E. coli*
10 mM tris-HCl (pH 8.0)
0.1 mM Etilen di-amino tetra-amonio
2. Buffer TAE 50X
242 g tris base
57.1 ml ácido acético glacial
100ml 0.5M EDTA (pH 8.0)
3. Buffer *T7*/DNA polimerasa
50% glicerol
20mM tris-HCl (ph.8.0)
100mM KCl
0.1mM EDTA
1 mM DTT
0.5% Nonidet®-P40
0.5% Tween ® 20
4. Solución de MgSO₄
25mM MgSO₄ en agua

6) ANALISIS DEL PRODUCTO DE LA PCR[§]

Cantidad Descripción

01	equipo para electroforesis con gel de agarosa (Promega ®)
01	Fuente de poder para electroforesis a 90V (Foto Force 250 General Electric ®)
01	Equipo de detección de emisión beta de P ³² para geles secos de agarosa al 2% (Brinkmann, Geldetect-radiolavel ® NZ 1200 A)
1 μ l	Marcador de peso molecular 100 bp radiomarcado con P ³² (Marcador de ADN de 100 bp NETLINE Radiolaveled P ³² ®) (preparado para este estudio)
25 g	Agarosa Molecular (Agarosa Molecular Netline GS II ®)
3 μ l	Tinte de bromofenbol
2000 ml	Buffer TAE 50X

[§] Cantidades suficientes para una reacción

Preparación de Buffers y reactivos

1. Tinte al 5X

- 42 ml agua estéril precalentada a 60° C
- 0.25 g. Azul de Bromofenol
- 0.25 g. Cyanol de Xileno
- 50 g Sacarosa
- 20% dodedilsulfato sódico
- 20ml Sal de Etilen di-amino tetra-amonio al 0.5 M

Disolver en alicuotas de 500 µl en tubos de centrifugación de 1.5 ml, no esterilice en autoclave, manténgase a 4° C

2. Buffer TAE 50X

- 484.4 g. Tris-HCl
- 41 g Acetato de sodio
- 74.45 g Sal de Etilen di-amino tetra-amonio
- 193 ml Acido Acético Glacial
- Agua destilada 2000 ml
- Almacénece a temperatura 4° C

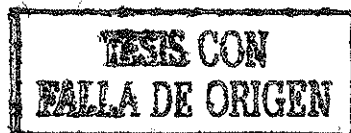
MÉTODOS:

PREPARACIÓN PREOPERATORIA:

1. Los pacientes candidatos, fueron enterados del procedimiento de forma verbal y en caso de aceptación se procedió a firmar un consentimiento informado.
2. Se realizó una Historia Clínica completa.
3. Se tomaron los exámenes pre-operatorios de rutina (Biometría hemática completa, Glucosa, Urea, Creatinina, Albúmina, Sodio, Potasio, TP, TTP, Examen General de Orina), así como para prealbúmina.

MANEJO TRANSOPERATORIO DE LOS PACIENTES DEL GRUPO CONTROL.

1. Se realizó el abordaje pre-peritoneal Izquierda o derecha al azar de la región inguinal mediante disección roma antes de abrir peritoneo, visualizándose el orificio inguinal interno y finalmente corroborándose la ausencia de hernia inguinal, tomándose directamente la muestra, posteriormente se reconstruyó con un punto de catgut crómico 00.
2. Inmediatamente se colocará solución desnaturalizante.
3. Se proseguirá con la cirugía de forma habitual.



MANEJO TRANSOPERATORIO DE LOS PACIENTES DEL GRUPO PROBLEMA.

1. Se realizará la toma durante la realización de la plastía, en caso de que el procedimiento requiera de apertura de la fascia en cuestión, se procederá a realizar en ese momento la toma reconstruyendo de acuerdo a la técnica.
2. En caso de ser unilateral NO se realizará abordaje del lado no afectado, esto mismo se repetirá en pacientes con hernia bilateral en los que por otras razones se haya no decidido corregir la de un lado.

DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA PARA COLÁGENA TIPO I Y TIPO III.

A) MANEJO DE LA MUESTRA.

1. La muestra obtenida se sumergió en un tubo con 1 ml de solución fisiológica
2. Se refrigeró de modo que la temperatura disminuyera 1° C cada minuto, durante 40 minutos, finalmente se procedió a sumergir en nitrógeno líquido.
3. Se trasladó al laboratorio de biología molecular

B) PURIFICACION DEL RNA

1. Preparación de soluciones:
 - a) Buffer de Lisis
Se añadió 1 ml de β -mercaptoetanol a 50 ml de Buffer de Lisis comercial y se mantuvo a 4° C.
 - b) DNasa-I
Se añadió 13 ml de solución libre de Nucleasas al vial de DNasa liofilizada.
 - c) Solución de lavado
Se añadió 100 ml de etanol al 95% a los 58.8 ml de Buffer para lavado y se mantuvo entre 22 y 25° C
 - d) Solución inactivadora de DNasa
Se añadió 8ml de etanol al 95% al tubo que contenía 5.3 ml de solución concentrada de "Dnase-Stop"
2. Metodología:
 - a) Se colocó 1ml de buffer de lisis (Con el β -mercaptoetanol agregado), dentro de un tubo utilizando instrumental libre de RNasas.
 - b) Se anotó el peso total del tubo así preparado.
 - c) Se descongeló la muestra de fascia transversalis y se agregó la muestra de tejido a un tubo con 1 ml de buffer de lisis, posteriormente se realizó su homogeneización de forma automática a 30 000 rpm, hasta que los fragmentos de tejido no fueron visibles.
 - d) Posteriormente se pesó nuevamente la muestra determinando su concentración tisular y se ajustó mediante la adición de buffer de lisis a 171 mg/ml aproximadamente.

- e) Debido a la necesidad de obtener suficiente mRNA para RT-RCP, (Se estima que se obtienen aproximadamente 0.38 μg de RNA total/mg de tejido de fascia, obteniendo 22.8 μg de RNA total por prueba [30 mg], necesitando al menos de 100 μg de RNA total/500 μl de Agua libre de RNAsas) los siguientes pasos fueron realizados 5 veces para obtener finalmente 5 tubos con 22.8 μg mRNA/100 μl c/u. (0.114 mg mRNA/500 μl agua)
- f) Se transfirió mediante micropipeta libre de DNAsas 175 μl de esta solución un tubo de 1.5 ml para microcentrifugación y se añadieron 350 μl de Buffer de dilución ("Blue Buffer"), se mezclaron por inversión 3 a 4 veces y se incubó en baño María a 70° C 3 minutos estrictos.
- g) Se volvió a centrifugar durante 10 minutos a 12 000 rpm.
- h) Posteriormente se transfirió a un nuevo tubo de microcentrifugación y se añadió 200 μl de etanol al 95% y se mezcló con una pipeta, posteriormente se transfirió en su totalidad a un tubo para fraccionamiento en columna por ultracentrifugación centrifugándose a 12 000 rpm durante un minuto.
- i) Se tomó la canasta de centrifugación descartándose el líquido del tubo colector.
- j) Posteriormente se añadió a la canasta de centrifugación nuevamente montada en otro tubo colector 600 μl de solución de lavado y se centrifugó a 12 000 rpm durante un minuto, se desecha el tubo colector nuevamente y se coloca otro.
- k) Se preparó la mezcla de incubación consistente en 40 μl de Buffer indicador "Yellow Buffer", 5 μl de MnCl_2 al 0.09M, y 5 μl de la solución de DNasa-I y se aplicó directamente sobre la membrana en la canasta de centrifugación y se incubó por 15 minutos a 20 -25° C.
- l) Finalmente se añadió 200 μl de Solución inactivadora de DNasa
- m) Se centrifugó a 12 000 rpm durante un minuto.
- n) Se añadió 600 μl de solución de lavado y se centrifugó a 12 000 rpm durante un minuto.
- o) Se retiró el tubo colector colocando uno nuevo, posteriormente se realizó nuevo lavado ahora con 250 ml de solución de lavado con centrifugación a 30 000 rpm durante dos minutos.
- p) Finalmente se colocó un nuevo tubo para colectar el RNA y se añadió a la membrana 100 μl de agua libre de nucleasas cubriéndola completamente, centrifugando a 12 000 rpm un minuto, se retira la canasta de centrifugación y finalmente se guarda el tubo colector con el RNA purificado
- q) Se procede posteriormente a determinar mediante espectrofotometría la concentración de RNA en las muestras, a 260 nm, tomando como una unidad de absorción = 40 μg de RNA monocatenario/ml

C) PURIFICACION DEL mRNA

1. Preparación de soluciones:
 - a) Se preparó 1.2 ml de solución 0.5X SSC mediante la combinación de 30 μ l de 20X SSC con 1.170 ml de agua libre de RNasas en tubos estériles libres de Nucleasas
 - b) Se preparó 1.4 ml de solución 0.1X SSC mediante la combinación de 7 μ l de 20X SSC con 1.393 ml de agua libre de RNasas en tubos estériles libres de Nucleasas

2. Lavado de las partículas paramagnéticas unidas a Estreptavidina

- a) Se resuspendió un tubo de partículas paramagnéticas unidas a Streptavidina y se colocan en el dispositivo de aislamiento magnético hasta que todas se hayan colectado en un lado del tubo (Esto tardó aproximadamente 30 segundos)

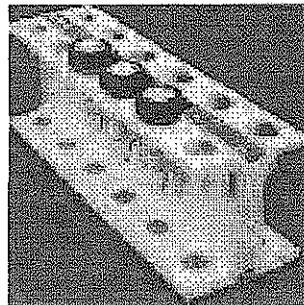


Fig. 8.1 PolyTract stand para separación magnética del mRNA

- b) Se removió el sobrenadante
- c) Se lavó tres tiempos con 900 μ l (300 μ l por lavado) de solución 0.5X SSC agregando esta solución, capturando las partículas, y finalmente retirando el sobrenadante
- d) Finalmente se resuspendieron con 100 μ l de solución de 0.5X SSC

3. Método:

- a) En un tubo libre de RNasas para centrifugación de 1.5 ml, se colocaron 5 muestras de 100 μ l c/u correspondientes a un solo paciente.
- b) Posteriormente Se incubaron a 65° C a baño María por 10 minutos.
- c) Se añadió 3 μ l de la sonda de Oligo(dT) biotinado así como 13 μ l de 20X SSC al tubo con RNA, se mezcló gentilmente y se incubó a temperatura ambiente hasta que se enfrió completamente.
- d) Finalmente el contenido del tubo se añadió al tubo con partículas paramagnéticas unidas a Estreptavidina ya lavadas y se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos, mezclando por inversión cada 1 a 2 minutos.
- e) Se capturó el complejo Partícula/Streptavidina/Oligo (dT)/mRNA poli-A⁺ y cuidadosamente se removió el sobrenadante.
- f) Se volvió a lavar cuatro veces con Solución 0.1X SSC (300 μ l por lavado) hasta remover todo el sobrenadante.
- g) Posteriormente se resuspendió gentilmente el complejo Partícula paramagnética /Streptavidina/Oligo (dT)/mRNA poli-A⁺ añadiendo 100 μ l de agua libre de RNasas.
- h) Se capturó el complejo Partícula/Streptavidina/Oligo(dT) ya sin estar unido al mRNA transfiriendo el mRNA a un tubo libre de RNasas

- i) Se volvió a resuspender las partículas añadiendo 250 μ l de agua libre de RNasas.
- j) Nuevamente se recaptura y se transfiere el mRNA al tubo libre de RNasas ya utilizado para un total de 250 μ l.
- k) Se agregó 0.1 volumen de acetato de sodio 3 M (pH 5.2) y 1.0 volumen de isopropanol y se incubó durante toda la noche, se centrifugó a 15 000 rpm por 10 minutos se resuspendió el RNA en 1 ml de etanol al 75% y se centrifugó nuevamente, se drenó por fraccionamiento para su concentración y se almacena a -70° C.

D) RT-PCR

1. Método (Ver tabla 8.1.)

- a) Se combinó en un tubo de reacción en hielo de 0.5 ml: Agua libre de nucleasas, Buffer de reacción AMV/Tfl 5X, Mezcla dNTP, Sebador de secuencia de inicio específicos para una secuencia dada de DNA monocatenario, Sebador de antisequencia de inicio específicos para una secuencia dada de DNA monocatenario, Solución de $MgSO_4$.

Tabla 8.1 Volúmenes de reactivos para RT-PCR

Reactivo	Volumen	Concentración final
Agua libre de nucleasas (para un volumen final de 50 μ l)	X μ l	
Buffer de Reacción AMV/Tfl*	10 μ l	1X
Mezcla dNTP**	1 μ l	0.2 mM
Sebador para secuencia de inicio específico***	50 pmol	1 μ M
Sebador para antisequencia de inicio específico***	50 pmol	1 μ M
$MgSO_4$ 25 mM	2 μ l	1 mM
Transcriptasa reversa AMV (5U/ μ l)	1 μ l	0.1 U/ μ l
Tfl DNA polimerasa	1 μ l	0.1 U/ μ l
RNA muestra ****	Y μ l	
VOLUMEN FINAL	50 μl	

* En caso de precipitación, se solubilizó la muestra por incubación en baño María a 65°

** Se mezcló gentilmente antes de agregar

*** La fórmula con la que se calculó el número de nanogramos a 50 pmol fue: $50 \text{ pmol} = 16.3 \text{ ng} \times b$, donde B es el número de bases de la secuencia.

**** Calculando entre 1 μ g a 1 μ g disuelto en 2 μ l de agua libre de nucleasas deionizada,

- b) Se mezclaron los componentes pipeteando la mezcla
- c) Se agregó la Transcriptasa Reversa y la Tfl DNA Polimerasa
- d) Se mezcló gentilmente los componentes por 10 segundos
- e) Se agregó el RNA muestra
- f) Se agregó a la reacción 20 μ l de aceite mineral libre de nucleasas para prevenir condensación y evaporación
- g) Se realizaron 40 ciclos de desnaturalización, acoplamiento y extensión de PCR, finalmente se realizó el etiquetado y almacenamiento de las muestras siguiendo los tiempos y temperatura estandarizados (Tabla 8.2)

Tabla 8.2. Proceso de RT-PCR

NUMERO DE CICLOS	TIEMPO	TEMPERATURA	TIPO DE EVENTO
PRIMERA FASE: SINTESIS DEL cDNA			
01	45 min.	48° C	Retrotranscripción
01	02 min.	94° C	Inactivación de la AMV RT Primera desnaturalización del RNA/cDNA
SEGUNDA FASE: PCR			
40	30 seg.	94° C	Desnaturalización
	01 min.	60°, 55° o 44° C*	Acoplamiento
	02 min.	68° C	Extensión
01	07 min.	68° C	Extensión final
01	5	4° C	Almacenamiento

* mRNA testigo: 60° C. Colágena tipo I: 44° C. Colágena tipo III: 44° C, β -Actina : 55° C

E) ANALISIS DEL PRODUCTO DE LA PCR

a) Preparación del Gel y electrofóresis

1. Se preparó Gel de Agarosa al 2% mediante la adición de 3 g. de



Fig. 8.2. Electrofóresis en gel de Agarosa

Agarosa, 7.5 ml de TAE 20X, 142 ml de Agua desionizada y libre de nucleasas,

2. Posteriormente se calentó por medio de microondas hasta que toda la Agarosa fue derretida sin dejar hervir la muestra

3. Finalmente se enfrió a 60° C y se vació en una cubeta para Gel, esperando a que solidificara en una bandeja que contiene un "peine" para crear los pozos en el gel que se solidifica,

4. Se sacó, y se colocó en un tanque de electrofóresis

5. Posteriormente se agregó Buffer TBE hasta cubrir el gel

6. Posterior a su mezcla con 3 μ l de tinte, se instilaron las muestras (10%

de la reacción del apartado anterior [PCR] y 1 μ l/mm de ancho del marcador de DNA) y radiomarcadas y se colocó el dispositivo de lectrofóresis con los electrodos en el gel

7. Se conectó a 95 V durante 90 minutos. hasta que el azul de Bromofenol haya migrado a 7 cm.

b) **Lectura**

1. Se realiza el secado del gel, y posteriormente se procede a colocar la placa en el detector, midiendo actividad específica del P^{32} específica para los diferentes bp de cada RNA. (Tabla 7.1.). (Para determinar el sitio exacto de medición se tomó como base el marcador de DNA de 100 pb.[fig. 8.3.]

Tabla 8.3 bp de los diferentes mRNA

mRNA	TAMAÑO DEL PRODUCTO
Colágena tipo I	360
Colágena tipo III	449
β -Actina	577
mRNA control	323

f) PROCEDIMIENTOS PELIGROSOS

Las pautas de investigación seguirán los principios de la Declaración de Helsinki vigente

Por otra parte, la manipulación de la muestra se mantuvo de acuerdo a las Normas Oficiales para el manejo de muestras marcadas con radioisótopos, y fueron almacenadas 60 días antes de desecharlas hasta que el nivel de radiación estuviera por debajo del ambiental

Se adecuó también a las Normas para el manejo de residuos peligrosos biológico – infecciosos.

IX. RESULTADOS

1) DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN.

Grupo Problema.- 25 personas, con el diagnóstico, edad y ocupación mostradas en la tabla 9.1., antecedentes mostrados en la tabla 9.2. y parámetros bioquímicos en la tabla 9.3.

Tabla 9.1 Características de los pacientes del grupo problema

No. progr.	sexo	edad años	Hernia inguinal	Gilbert	Ocupación Esf. Físico
1	Masc.	57	Izquierda	Grado III	Moderado
2	Masc.	53	Izquierda	Grado II	Moderado
3	Masc.	62	Izquierda	Grado III	Moderado
4	Fem.	53	Izquierda	Grado III	Moderado
5	Fem.	52	Derecha	Grado II	Moderado
6	Masc.	48	Bilateral	Grado II y II	Intenso
7	Masc.	27	Derecha	Grado I	Intenso
8	Masc.	35	Izquierda	Grado I	Moderado
9	Masc.	51	Bilateral	Grado II y II	Intenso
10	Masc.	44	Izquierda	Grado I	Intenso
11	Fem.	22	Izquierda	Grado I	Intenso
12	Masc.	53	Derecha	Grado II	Intenso
13	Masc.	58	Derecha	Grado III	Moderado
14	Masc.	43	Derecha	Grado II	Moderado
15	Fem.	39	Bilateral	Grado II y II	Moderado
16	Masc.	38	Bilateral	Grado II y III	Intenso
17	Masc.	50	Izquierda	Grado II	Bajo
18	Masc.	52	Izquierda	Grado II	Moderado
19	Masc.	46	Derecha	Grado II	Bajo
20	Masc.	69	Izquierda	Grado III	Moderado
21	Masc.	33	Izquierda	Grado I	Intenso
22	Masc.	45	Derecha	Grado II	Bajo
23	Masc.	38	Derecha	Grado I	Intenso
24	Masc.	45	Derecha	Grado II	Bajo
25	Masc.	56	Bilateral	Grado II y II	Bajo

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 9.2. Antecedentes de los pacientes del grupo problema

NO. PROGRES.	CRONICO-DEGENERAT.	QUIRURGICOS	TABAQUISMO (CIGARROS/DIA)	ALCOHOLISMO
1	HAS		3	< 20 gr/día prom.
2			3	>20 y < 80gr/día prom
3	HAS		2	< 20 gr/día prom.
4		2 CESAREAS, 1 OTB		
5	D.M. II	1 CEAREA		
6			2	< 20 gr/día prom
7			3	
8			2	< 20 gr/día prom
9			4	>20 y < 80gr/día prom
10			7	intenso
11				
12	DM II			< 20 gr/día prom
13			2	
14			1	>20 y < 80gr/día prom
15		1 CESAREA		
16			4	< 20 gr/día prom
17				>20 y < 80gr/día prom
18				
19			4	< 20 gr/día prom.
20	HAS		2	
21			3	
22			1	< 20 gr/día prom
23				< 20 gr/día prom.
24			1	>20 y < 80gr/día prom
25				

Tabla 9.3. Parámetros Nutricios de los pacientes del Grupo Problema

No. Progr.	POPERE COIDE	Hemo-globina	Leuco-citos	Linfo-citos	Glu-cosa	Crea-tinina	Na ⁺	K ⁺	Mg ⁺⁺	Albu-mina	Preal-bumina	Coles-terol
	%	g/dl	cl/mm ³	totales	mg/dl	mg/dl	mEq/l	mEq/l	mEq/l	g/dl	g/dl	mg/dl
1	121	14.3	6700	1407	83	0.8	139	3.7	2.43	3.65	21	157
2	110	14.4	6500	1690	89	0.8	135	3.8	2.84	3.95	23	201
3	89	14.6	7300	3504	87	1.2	144	4	2.84	3.98	27	105
4	156	12.8	6300	1375	96	0.6	141	3.7	1.86	3.26	32	159
5	144	12.8	8400	3024	132	1.2	135	3.6	1.97	3.84	27	167
6	102	14.6	6700	1596	87	0.5	137	3.9	2.96	3.26	26	176
7	129	14.5	5900	1475	84	0.9	143	4.1	2.74	3.6	18	184
8	110	13.6	6700	1943	88	1.2	138	3.8	2.75	3.72	19	165
9	110	13.5	5300	1543	94	0.7	145	3.8	2.95	3.86	23	184
10	87	13.9	8700	2436	102	0.5	135	3.7	2.83	3.98	27	207
11	132	11.9	9500	3230	87	0.8	141	3.9	2.64	3.28	32	165
12	93	13.7	8900	3204	142	0.9	137	4.1	2.86	3.97	17	159
13	110	14.6	8700	3306	74	1.1	135	4.2	2.75	3.87	19	167
14	118	14.7	5600	2128	78	0.7	137	4	2.45	4.23	21	180
15	115	12.7	11000	2970	80	0.5	143	3.8	2.11	4.01	22	194
16	97	14.5	9900	2772	85	0.9	138	3.9	2.23	3.87	21	159
17	116	14.4	8300	2988	71	1.2	135	3.5	2.57	3.89	19	173
18	109	14.3	8200	2788	101	1	137	3.6	2.14	3.19	17	188
19	116	14.2	8600	1376	77	0.9	143	3.8	2.14	3.12	27	194
20	134	14.3	6700	1608	93	0.9	138	3.9	2.15	3.23	21	178
21	164	14.8	5800	1972	97	0.7	145	4.1	2.16	3.12	28	183
22	128	14.3	9900	4257	101	0.5	135	3.6	2.64	3.17	18	212
23	137	14.8	6700	2881	75	1.2	141	3.6	2.65	3.18	23	189
24	133	13.6	5600	1792	84	0.7	139	3.8	2.97	3.28	21	167
25	153	13.6	6500	2665	87	0.8	145	3.6	2.04	3.28	21	178

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Grupo Control.- 30 personas, con el diagnostico, edad y ocupación mostradas en la tabla 9.4., antecedentes mostrados en la tabla 9.5. y parámetros bioquímicos en la tabla 9.6.

Tabla 9.4. Características de los pacientes del grupo control

No.	Sexo	Edad años	Diagnostico	Cirugia	Ocupación EsL. Físico
1	Masc	72	Crecim. Prostático	Prostatect. Transv.	Moderado
2	Fem.	38	Quiste tor. de ovario Izq.	SalpingoOforect Izq.	Moderado
3	Fem.	16	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
4	Masc	18	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
5	Fem.	19	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
6	Masc	17	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
7	Masc	68	Crecim. Prostático	Prostatect. Transv.	Bajo
8	Fem.	18	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
9	Fem.	27	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
10	Fem.	28	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
11	Masc	74	Crecim. Prostático	Prostatect. Transv.	Bajo
12	Fem.	39	Miomatosis uterina	Histerectomía abd.	Bajo
13	Masc	16	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
14	Masc	49	Apend. Ag + Pancreatitis	Apendicectomía	Intenso
15	Masc	63	Crecim. Prostático	Prostatect. Transv.	Bajo
16	Masc	72	Crecim. Prostático	Prostatect. Transv.	Bajo
17	Fem.	43	Miomatosis uterina	Histerectomía abd.	Moderado
18	Fem.	38	Miomatosis uterina	Histerectomía abd.	Intenso
19	Fem.	19	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
20	Masc	74	Crecim. Prostático	Prostatect. Transv.	Bajo
21	Masc	78	Crecim. Prostático	Prostatect. Transv.	Bajo
22	Masc	74	Crecim. Prostático	Prostatect. Transv.	Bajo
23	Fem.	19	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
24	Masc	21	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
25	Masc	17	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
26	Masc	21	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
27	Masc	19	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
28	Masc	17	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso
29	Fem.	36	Miomatosis uterina	Histerectomía abd.	Moderado
30	Masc	17	Apendicitis aguda	Apendicectomía	Intenso

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 9.5. Antecedentes de los pacientes del grupo problema

No. Progres.	CRONICO-DEGENERAT.	QUIRURGICOS	TABAQUISMO (Cigarros/día)	ALCOHOLISMO
1	HAS		7	< 20 gr/día prom.
2		I CESAREA		
3				
4				
5				
6				
7	HAS		4	intenso
8				
9				
10				
11			3	< 20 gr/día prom.
12		I CESAREA		
13				
14				intenso
15				< 20 gr/día prom.
16	HAS		6	>20 y < 80gr/día prom.
17		DM II		
18				
19				
20	HAS			< 20 gr/día prom.
21			6	>20 y < 80gr/día prom.
22	HAS		3	< 20 gr/día prom.
23				
24				
25				< 20 gr/día prom.
26				
27				< 20 gr/día prom.
28				
29		I CESAREA		
30				< 20 gr/día prom.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Tabla 9.6. Parámetros Nutricios de los pacientes del Grupo Control

No. Progr.	POPERE COIDE	Hemoglobina	Leucocitos	Linfocitos	Glucosa	Creatinina	Na ⁺	K ⁺	Mg ⁺⁺	Albumina	Prealbumina	Colecterol
	%	g/dl	cl/mm ³	totales	mg/dl	mg/dl	mEq/l	mEq/l	mEq/l	g/dl	g/dl	mg/dl
1	89	14.2	9700	1307	78	1.2	137	3.6	1.98	3.28	23	165
2	116	12.8	11200	1745	121	0.6	143	3.8	1.84	3.78	12	187
3	93	12.8	13400	2504	95	0.9	138	3.9	2.9	3.67	11	176
4	95	14.2	17300	2576	97	0.7	135	4.1	2.74	3.27	12	177
5	99	12.9	15300	2024	98	0.7	137	3.6	2.48	3.15	14	169
6	102	13.9	16400	2534	98	0.6	135	4.1	2.75	3.23	12	212
7	89	14.2	9500	1486	74	0.7	141	4.2	2.85	3.76	21	176
8	115	13.7	14200	1845	110	0.5	137	3.8	2.14	3.78	14	160
9	114	13.1	13300	1389	108	0.7	135	3.9	2.35	3.12	9	163
10	112	12.9	7600	2709	106	0.9	137	3.5	2.64	3.23	13	169
11	109	13.2	8600	3476	84	1.1	135	3.5	2.96	3.3	15	195
12	145	14.1	7300	3754	88	0.7	141	3.6	2.95	3.02	7	199
13	110	13.9	9500	2365	110	0.5	143	3.8	2.65	3.2	14	173
14	89	14.2	19400	1958	106	0.9	138	3.8	2.76	2.7	9	179
15	87	14.8	6400	1984	87	1.2	145	3.5	2.87	3.56	21	188
16	111	13.7	7900	2845	84	0.7	135	3.8	2.39	3.76	23	183
17	133	11.4	8400	2758	139	0.5	141	3.7	2.96	3.02	6	185
18	137	11.7	9200	2665	88	0.8	139	3.9	2.95	3.11	8	159
19	100	12.9	17500	2357	98	1.2	145	4.1	2.17	3.26	11	176
20	99	14.7	8900	1963	86	0.6	135	4.2	2.96	3.25	24	186
21	94	14.8	6800	1964	88	0.9	141	3.9	2.47	3.56	32	205
22	93	14.7	6500	3266	79	0.7	137	4	2.75	3.67	33	176
23	97	13.2	32300	2876	114	0.8	135	4.3	2.95	3.77	12	189
24	94	13.3	12400	2569	106	1.2	137	3.5	1.99	4.32	13	174
25	92	14.4	13400	3004	106	0.6	138	4.1	2.34	4.23	9	194
26	95	13.9	17300	2452	117	0.9	145	3.8	2.75	4.23	13	174
27	85	14.7	16300	2577	118	0.7	135	3.8	2.75	4.34	16	184
28	85	14.2	11300	3455	118	0.9	141	3.7	2.94	4.78	15	189
29	94	11.5	12500	2875	76	0.5	143	3.6	2.47	3.03	8	188
30	87	13.8	16300	2124	110	0.7	138	3.6	2.95	3.89	13	174

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Grupo Problema: Los niveles de extracción de RNA total y los resultados de la producción de colágena tipo I y III y relación se muestran en las tablas 9.7., y 9.8.

Tabla 9.7. Niveles de extracción de RNA total en el grupo problema

PACIENTE (No. Progresivo)	MUESTRA (No. progresivo)	UI ABSORCION (A 260 nm)	CONCENTRACION ($\mu\text{g/ml}$)	TOTAL DE RNA PARA AISLAR mRNA (μg)
1	1	5.71	228	114
2	2	5.65	226	113
3	3	5.51	220	110
4	4	5.47	219	109
5	5	5.08	203	101
6-Izq.	6	5.53	221	110
6-Der	7	5.85	234	117
7	8	5.93	237	118
8	9	5.76	230	115
9-Izq	10	5.35	214	107
9-Der	11	5.9	236	118
10	12	5.47	218	109
11	13	5.89	235	117
12	14	5.74	229	114
13	15	5.26	210	105
14	16	5.86	234	117
15-Izq	17	5.93	237	118
15-Der	18	5.73	229	114
16-Izq	19	5.21	208	104
16-Der	20	5.83	233	116
17	21	5.57	222	111
18	22	5.85	234	117
19	23	5.74	229	114
20	24	5.92	236	118
21	25	5.2	208	104
22	26	5.59	223	111
23	27	5.3	212	106
24	28	5.56	224	112
25-Izq	29	5.2	208	104
25-Der	30	5.39	215	107

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 9.8. Expresión genética de colágena tipo I y tipo III y relación I/III, (Actividad específica corregida tomando como estándar la actividad de β -actina)

MUESTRA	COLAGENA TIPO I	COLAGENA TIPO III	RELACION TIPO I/III
1	1.97	2.39	0.824267782
2	1.82	2.3	0.791304348
3	1.92	2.13	0.901408451
4	1.87	2.16	0.865740741
5	1.87	2.29	0.816593886
6	1.8	2.19	0.821917808
7	1.84	2.32	0.793103448
8	1.82	2.03	0.896551724
9	1.79	2.04	0.87745098
10	1.9	2.1	0.904761905
11	1.82	2.26	0.805309735
12	1.79	2.22	0.806306306
13	1.74	2.23	0.780269058
14	1.82	2.29	0.794759825
15	1.88	2.39	0.786610879
16	1.89	2.01	0.940298507
17	1.96	2.24	0.875
18	1.94	2.26	0.85840708
19	1.97	2.39	0.824267782
20	1.86	2.06	0.902912621
21	1.89	2.14	0.88317757
22	1.88	2.07	0.90821256
23	1.83	2.03	0.901477833
24	1.96	2.06	0.951456311
25	1.86	2.05	0.907317073
26	1.93	2.39	0.807531381
27	1.97	2.17	0.907834101
28	1.95	2.32	0.840517241
29	1.9	2.33	0.815450644
30	1.95	2.34	0.833333333

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3) RESULTADOS

Grupo Control: Los niveles de extracción de RNA total y los resultados de la producción de colágena tipo I y III y relación se muestran en las tablas 9.9., y 9.10.

Tabla 9.9. Niveles de extracción de RNA total en el grupo control

PACIENTE (No. Progresivo)	MUESTRA (No. progresivo)	UI ABSORCION (A 260 nm)	CONCENTRACION (µg/ml)	TOTAL DE RNA PARA AISLAR mRNA (µg)
1	1	5.74	229	114
2	2	5.83	212	106
3	3	5.79	231	115
4	4	5.1	204	102
5	5	5.43	217	108
6	6	5.49	219	109
7	7	5.29	211	105
8	8	5.84	233	116
9	9	5.75	230	115
10	10	5.29	211	105
11	11	5.1	201	102
12	12	5.34	213	106
13	13	5.28	210	105
14	14	5.42	216	108
15	15	5.83	234	117
16	16	5.92	236	118
17	17	5.53	221	110
18	18	5.28	211	105
19	19	5.59	223	111
20	20	5.04	201	100
21	21	5.82	232	116
22	22	5.48	219	109
23	23	5.68	227	113
24	24	5.72	228	114
25	25	5.99	239	119
26	26	5.43	217	108
27	27	5.02	200	100
28	28	5.01	200	100
29	29	5.75	230	115
30	30	5.73	229	114

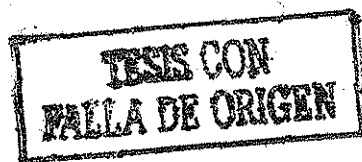


Tabla 2.16. Expresión genética de colágeno tipo I y tipo III y relación I/III específica corregida tomando como estándar la actividad de β -actina) (Grupo Problema)

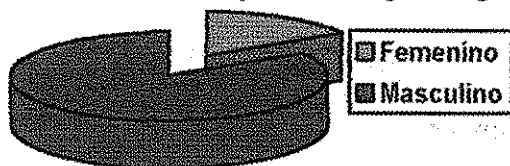
MUESTRA	COLAGENA TIPO I	COLAGENA TIPO III	RELACION TIPO I/III
1	1.82	1.7	1.070588235
2	1.97	1.76	1.119318182
3	1.84	1.82	1.010989011
4	1.87	1.86	1.005376344
5	1.79	1.72	1.040697674
6	1.89	1.79	1.055865922
7	1.86	1.8	1.033333333
8	1.87	1.75	1.068571429
9	1.92	1.68	1.142857143
10	1.83	1.65	1.109090909
11	1.78	1.67	1.065868263
12	1.71	1.62	1.055555556
13	1.92	1.59	1.20754717
14	1.72	1.58	1.088607595
15	1.94	1.63	1.190184049
16	1.82	1.79	1.016759777
17	1.87	1.83	1.021857923
18	1.85	1.64	1.12804878
19	1.77	1.66	1.06626506
20	1.78	1.67	1.065868263
21	1.88	1.63	1.153374233
22	1.87	1.69	1.106508876
23	1.82	1.65	1.103030303
24	1.84	1.67	1.101796407
25	1.75	1.62	1.080246914
26	1.89	1.69	1.118343195
27	1.92	1.73	1.10982659
28	1.99	1.78	1.117977528
29	1.89	1.73	1.092485549
30	2.01	1.87	1.07486631

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

X. ANALISIS ESTADISTICO

1. Características de los pacientes del grupo problema

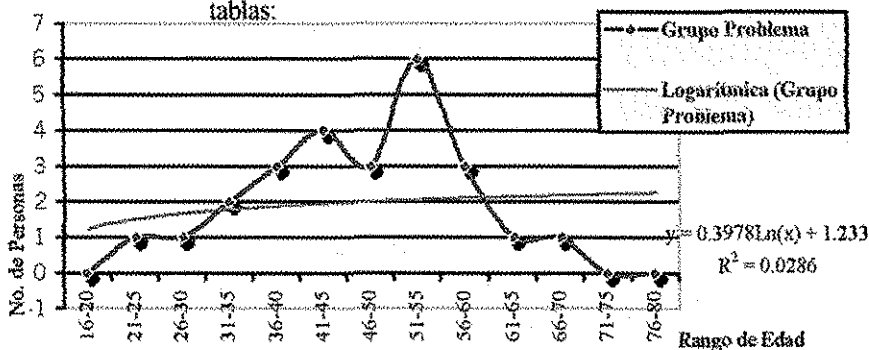
a) Sexo: El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas:



Masculino: $n = 21$ proporción = 84%
 Femenino: $n = 4$ proporción = 16%
 Prueba estadística: $\chi^2 = P = <0.001$

Gráfica 10.1. Características de los pacientes del grupo problema: Sexo.

c) Edad: El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas:



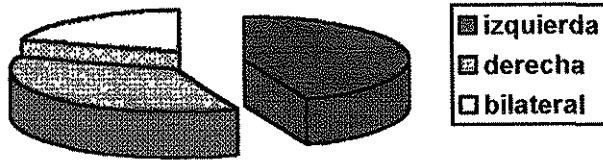
Análisis estadístico descriptivo:

Media	46.76
Mediana	48
Moda	53
Desviación estándar	10.83697375
Varianza de la muestra	117.44
Rango	47
Mínimo	22
Máximo	69
Suma	1169
Cuenta	25
Nivel de confianza(95.0%)	4.473281985

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Gráfica 10.2. Características de los pacientes del grupo problema: Edad

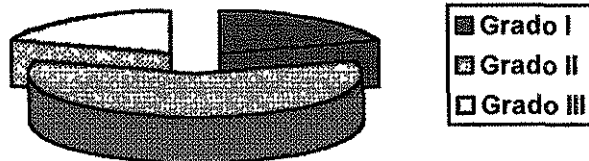
c) **Diagnóstico:** El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas



Izquierda:	n = 11	proporción = 44%
Derecha:	n = 9	proporción = 36%
Bilateral:	n = 5	proporción = 20%
Prueba estadística Izquierda/derecha	$\chi^2 = P = 0.23$	

Gráfica 10.3. Características de los pacientes del grupo problema. Diagnostico

d) **Grado de acuerdo a la Clasificación de Gilbert:** El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas:

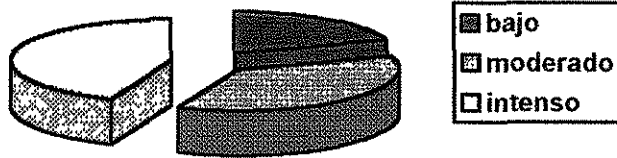


Grado I :	n = 6	proporción = 44%
Grado II:	n = 18	proporción = 36%
Grado III.	n = 6	proporción = 20%
Prueba estadística GI/II	$\chi^2 = P = 0.19$	
Prueba estadística GI/III	$\chi^2 = P = <0.05$	
Prueba estadística GII/III	$\chi^2 = P = <0.05$	

Gráfica 10.4 Características de los pacientes del grupo problema. Grado según Gilbert

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

e) Grado de Actividad Física: El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas

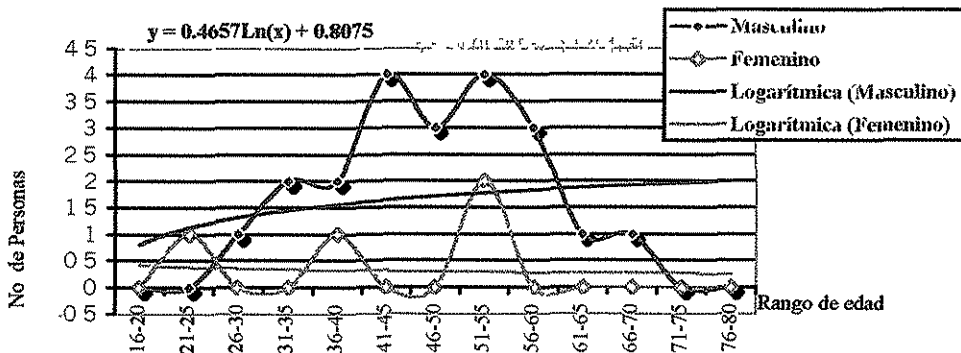


Bajo n = 5 proporción = 20%
 Moderado: n = 9 proporción = 36%
 Intenso : n = 11 proporción = 44%

Prueba estadística Bajo/Moderado $\chi^2 = P = 0.21$
 Prueba estadística Bajo/Intenso $\chi^2 = P < 0.05$
 Prueba estadística Moderado/Intenso $\chi^2 = P = 0.18$

Gráfica 10.5 Características de los pacientes del grupo problema Actividad física

e) Sexo / Edad El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas:



Prueba estadística "t" para dos muestras con varianzas desiguales

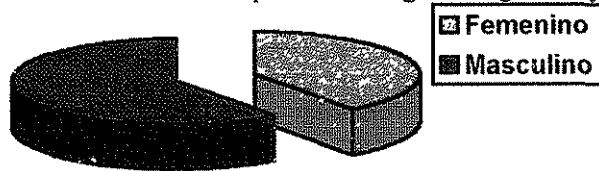
Prueba para la edad	Mujeres	Hombres
Media	47.7619048	41.5
Varianza	102.890476	209.666667
n	21	4
Delta/Medias	0	
Grados/libertad	4	
t	0.82711846	
P(T<=t)	0.22732861	



Gráfica 10.6. Características de los pacientes del grupo problema: sexo/edad

2. Características de los pacientes del grupo problema

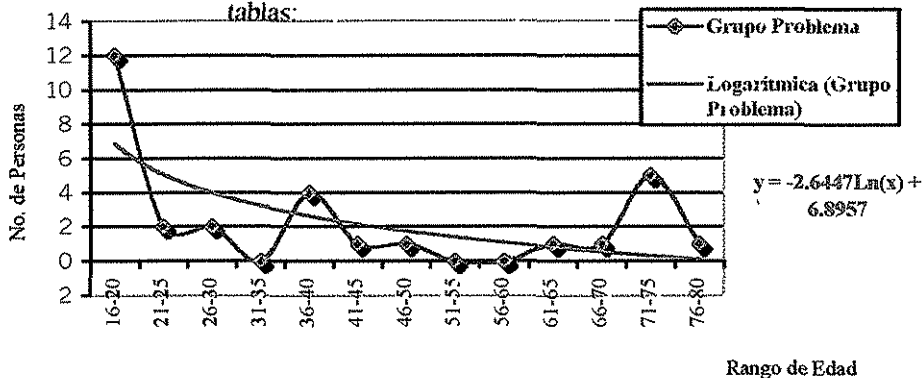
a) Sexo: El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas:



Masculino: $n = 18$ proporción = 60%
 Femenino: $n = 12$ proporción = 40%
 Prueba estadística: $\chi^2 = P = 0.45$

Gráfica 10.7 Características de los pacientes del grupo control. Sexo.

d) Edad: El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas:



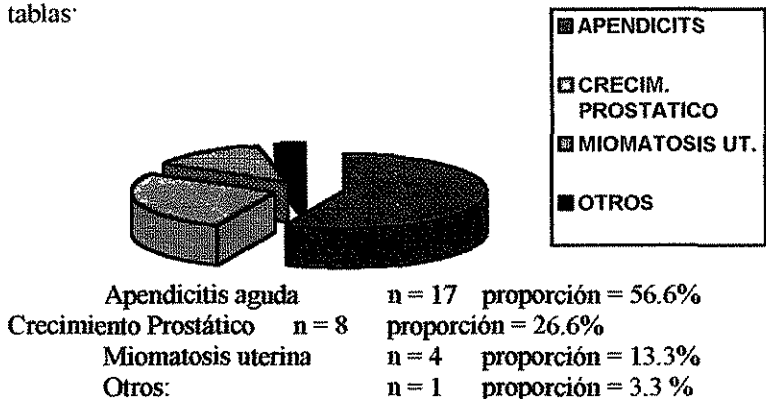
Análisis estadístico descriptivo:

Medra	37.56
Mediana	27.5
Moda	19
Desviación estándar	22.9281988
Varianza de la muestra	525 702299
Rango	62
Mínimo	16
Máximo	78
Suma	1127
Cuenta	30
Nivel de confianza(95.0%)	8 5615348

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

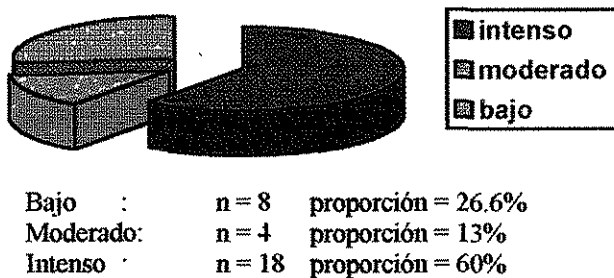
Gráfica 10.8 Características de los pacientes del grupo control: Edad

c) **Diagnóstico:** El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas:



Gráfica 10 9 Características de los pacientes del grupo control: Diagnóstico

d) **Grado de Actividad Física:** El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas:



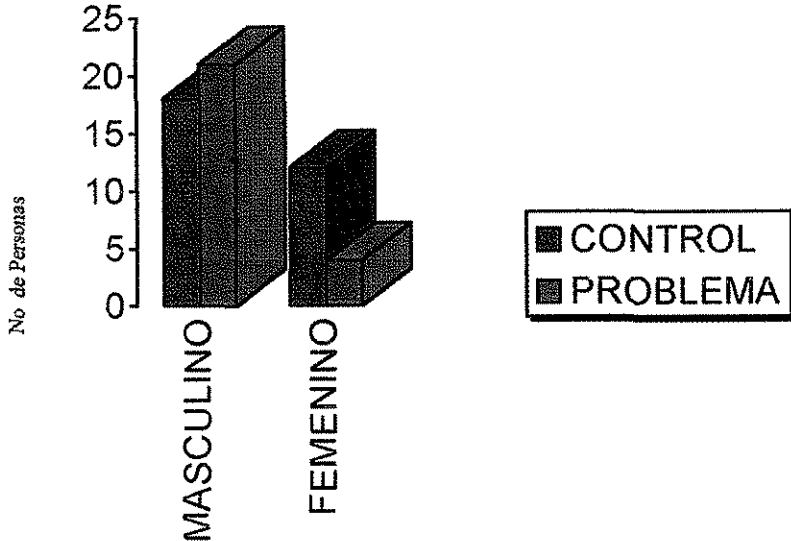
Gráfica 10 10 Características de los pacientes del grupo control: Actividad física

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3. ANALISIS COMPARATIVO ENTRE EL GRUPO CONTROL Y EL GRUPO PROBLEMA

A) SEXO.

El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas:



Gráfica 10 11 Representación Gráfica SEXO/GRUPO CONTROL Y PROBLEMA

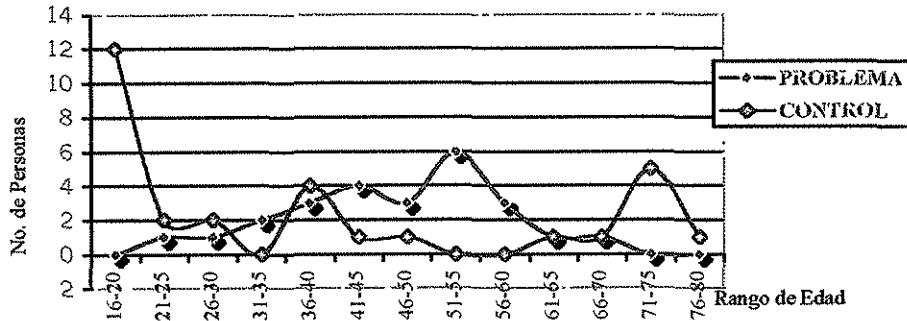
Tabla 10.1. χ^2 Para distribución por sexo de ambos grupos

SEXO	χ^2 PARA AMBOS GRUPOS
SEXO MASCULINO	P= 0.18
SEXO FEMENINO	P= < 0.001

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

B) EDAD.

El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas.



Grafica 10.12. Comparación entre la edad del Grupo control y Problema

Tabla 10.2 EDAD Estadística descriptiva

EDAD, ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	Grupo Problema	Grupo control
Media	46.76	37.56666667
Error típico	2.167394749	4.186097223
Mediana	48	27.5
Moda	53	19
Desviación estándar	10.83697375	22.92819877
Varianza de la muestra	117.44	525.7022989
Rango	47	62
Mínimo	22	16
Máximo	69	78
Suma	1169	1127
Cuenta	25	30
Nivel de confianza (95.0%)	4.473281985	8.561534797

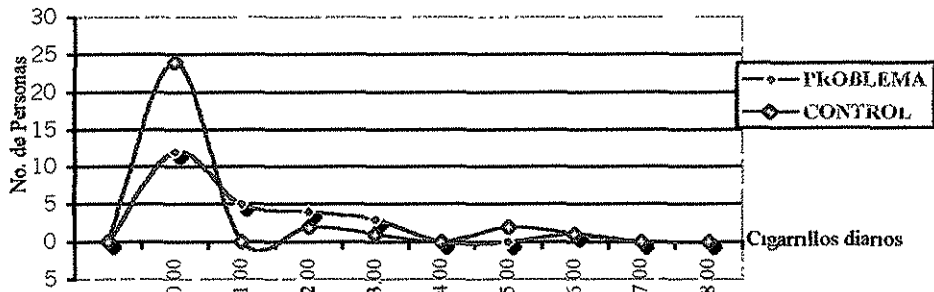
Tabla 10.3 EDAD Análisis estadístico

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales	PROBLEMA	CONTROL
Media	46.76	37.56666667
Varianza	117.44	525.7022989
Observaciones	25	30
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	43	
Estadístico t	1.9502537	
P(T<=t) una cola	0.05884206	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C) TABAQUISMO

El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas.



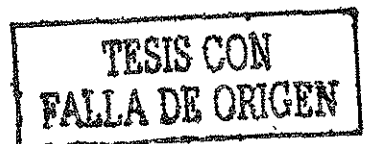
Gráfica 10.13 Comparación entre el consumo de cigarrillos diarios fumados del Grupo control y Problema

Tabla 10.4 Antecedentes de tabaquismo (Cigarrillos diarios promedio)
Estadística descriptiva.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA		
	Grupo Control	Grupo problema
Media	0.966666667	1.76
Mediana	0	2
Moda	0	0
Desviación estándar	2.092405534	1.809235566
Varianza de la muestra	4.37816092	3.273333333
Rango	7	7
Mínimo	0	0
Máximo	7	7
Suma	29	44
Cuenta	30	25
Nivel de confianza(95.0%)	0.781317493	0.746815583

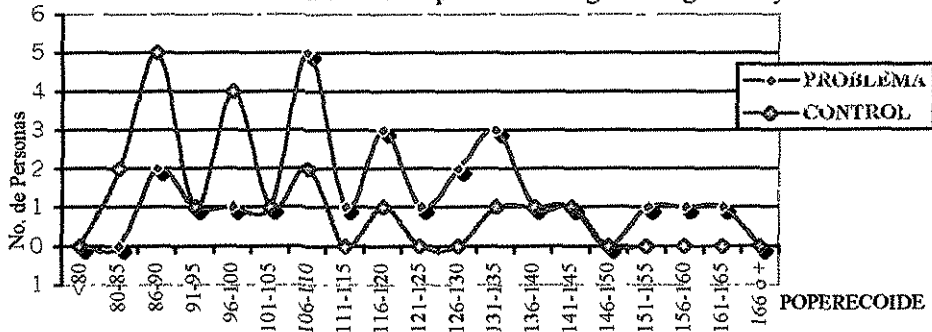
Tabla 10.5 Antecedentes de tabaquismo (Cigarrillos diarios promedio)
Análisis estadístico

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales		
	PROBLEMA	CONTROL
Media	1.76	0.96666667
Varianza	3.273333333	4.37816092
Observaciones	25	30
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	53	
Estadístico t	1.50770425	
P(T<=t) una cola	0.06878418	



D) PORCENTAJE DE PESO REAL CORRESPONDIENTE AL ID

El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas



Gráfica 10.14 Comparación entre el porcentaje de peso real correspondiente al ideal (POPERECOIDE) del Grupo control y Problema

Tabla 10.6 POPERECOIDE (Estadística descriptiva)

MEDIDA	GRUPO CONTROL	GRUPO PROBLEMA
Media	102	120.52
Error típico	2.83086437	4.092318007
Mediana	96	116
Moda	94	110
Desviación estándar	15.5052827	20.46159903
Varianza de la muestra	240.413793	418.6766667
Curtosis	1.32209575	-0.347066318
Cociente de asimetría	1.32207453	0.368715233
Rango	60	77
Mínimo	85	87
Máximo	145	164
Suma	3060	3013
Cuenta	30	25
Nivel de confianza(95.0%)	5.78977089	8.446127509

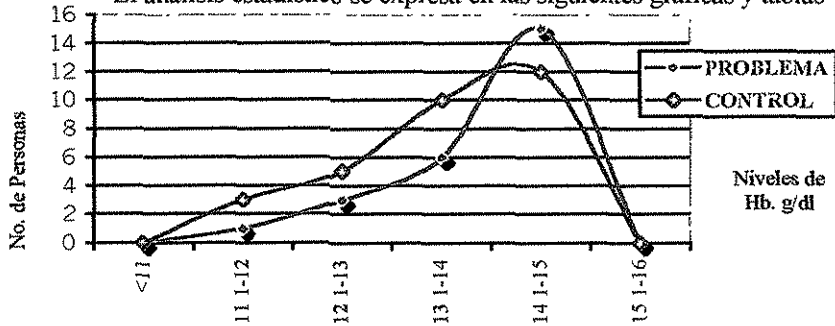
Tabla 10.7 POPERECOIDE (Análisis estadístico)

PRUEBA T PARA DOS MUESTRAS SUPONIENDO VARIANZAS DESIGUALES		
	control	problema
Media	102	120.52
Varianza	240.4137931	418.6766667
Observaciones	30	25
Grados de libertad	44	
Estadístico T	3.721843625	
P(T<=t) una cola	0.000279186	

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

E) HEMOGLOBINA

El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas



Grafica 10.15. Comparación entre los niveles de hemoglobina del Grupo control y Problema

Tabla 10.8 NIVELES DE HEMOGLOBINA (Estadística descriptiva)

	CONTROL	PROBLEMA
Media	13.5933333	13.976
Mediana	13.85	14.3
Moda	14.2	14.3
Desviación estándar	0.94319096	0.76008771
Varianza de la muestra	0.8896092	0.57773333
Rango	3.4	2.9
Mínimo	11.4	11.9
Máximo	14.8	14.8
Suma	407.8	349.4
Cuenta	30	25
Nivel de confianza(95.0%)	0.35219349	0.31374872

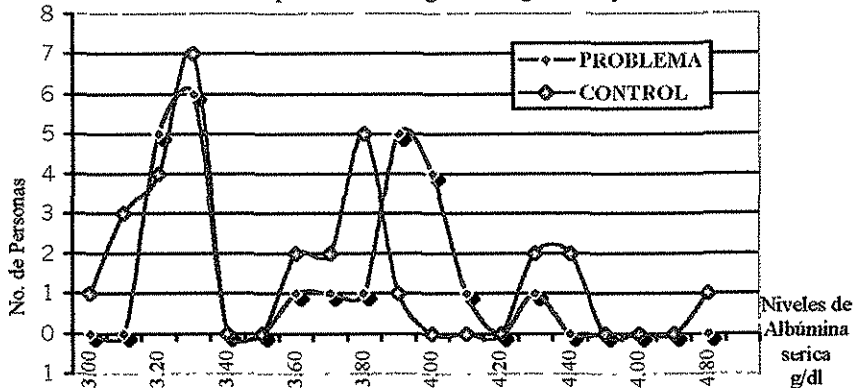
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 10.9 NIVELES DE HEMOGLOBINA (Análisis Estadístico)

PRUEBA T PARA DOS MUESTRAS SUPONIENDO VARIANZAS DESIGUALES		
	GRUPO PROBLEMA	GRUPO CONTROL
Media	13.976	13.5933333
Varianza	0.57773333	0.8896092
Observaciones	25	30
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	53	
Estadístico t	1.66592714	
P(T<=t) una cola	0.05081422	

F) ALBUMINA

El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas.



Gráfica 10.16 Comparación entre los niveles de Albúmina sérica del Grupo control y Problema

Tabla 10.10 NIVELES DE ALBUMINA SERICA (Estadística descriptiva)

	GRUPO CONTROL	GRUPO PROBLEMA
Media	3.54233333	3.5916
Mediana	3.43	3.65
Moda	3.78	3.28
Desviación estándar	0.4859522	0.36222323
Varianza de la muestra	0.23614954	0.13120567
Rango	2.08	1.11
Mínimo	2.7	3.12
Máximo	4.78	4.23
Suma	106.27	89.79
Cuenta	30	25
Nivel de confianza(95.0%)	0.18145763	0.14951837

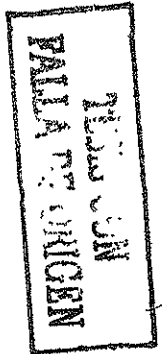
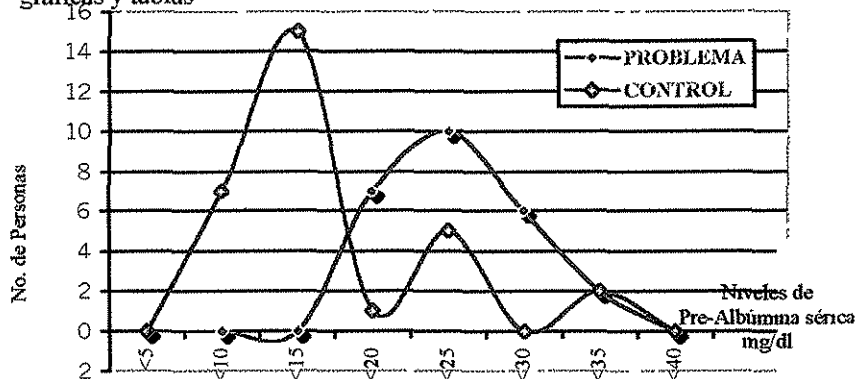


Tabla 10.11 NIVELES DE ALBUMINA SERICA (Análisis Estadístico)

PRUEBA T PARA DOS MUESTRAS SUPONIENDO VARIANZAS DESIGUALES	GRUPO PROBLEMA	GRUPO CONTROL
Media	3.5916	3.55233333
Varianza	0.13120567	0.22172195
Observaciones	25	30
Grados de libertad	53	
Estadístico t	0.34927572	
P(T<=t) una cola	0.36413314	

G) **PREALBUMINA** : El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas



Grafica 10.17 Comparacion entre los niveles de Pre-Albúmina sérica del Grupo control y Problema

Tabla 10.12 NIVELES DE PRE-ALBUMINA SERICA
(Estadística descriptiva)

MEDIDA	GRUPO CONTROL	GRUPO PROBLEMA
Media	14.7666667	22.8
Mediana	13	21
Moda	12	21
Desviación estándar	6.77563247	4.34932945
Varianza de la muestra	45.9091954	18.9166667
Rango	27	15
Mínimo	6	17
Máximo	33	32
Suma	443	570
Cuenta	30	25
Nivel de confianza(95.0%)	2.53006413	1.79531459

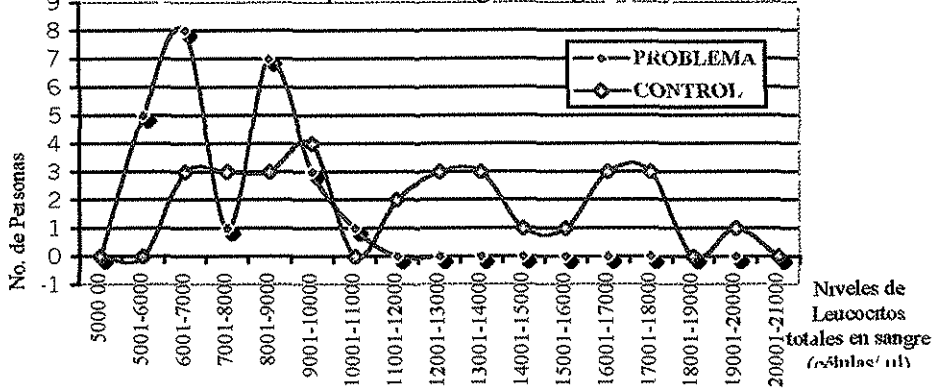
Tabla 10.13 NIVELES DE PRE-ALBUMINA SERICA
(Análisis Estadístico)

PRUEBA T DOS MUESTRAS DE VARIANZAS DESIGUALES		
	GRUPO PROBLEMA	GRUPO CONTROL
Media	22.8	14.7666667
Varianza	18.9166667	45.9091954
Observaciones	25	30
Grados de libertad	50	
Estadístico t	3.31208789	
P(T<=t) una cola	1.2544E-06	

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

H) NIVELES DE LEUCOCITOS TOTALES EN SANGRE:

El análisis estadístico se expresa en las siguientes gráficas y tablas.



Gráfica 10.18 Comparacion entre los niveles de Leucocitos totales del Grupo control y Problema

Tabla 10.14 NIVELES DE LEUCOCITOS TOTALES
(Estadística descriptiva)

MEDIDA	GRUPO CONTROL	GRUPO PROBLEMA
Media	11870	7536
Mediana	11800	6700
Moda	17300	6700
Desviación estándar	3835.68993	1580.05274
Varianza de la muestra	14712517.2	2496566.67
Rango	13000	5700
Mínimo	6400	5300
Máximo	19400	11000
Suma	356100	188400
Cuenta	30	25
Nivel de confianza(95.0%)	1432.27094	652.213582

Tabla 10.15 NIVELES DE LEUCOCITOS TOTALES (Análisis Estadístico)

PRUEBA t PARA DOS MUESTRAS SUPONIENDO VARIANZAS DESIGUALES		
	GRUPO PROBLEMA	GRUPO CONTROL
Media	7536	11870
Varianza	2496566.67	14712517.2
Observaciones	25	30
Grados de libertad	40	
Estadístico t	5.64104945	
P(T<=t) una cola	7.5486E-07	

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**ANÁLISIS DE RESULTADOS
ESTUDIOS DE EXPRESIÓN GENÉTICA
ANÁLISIS DE FACTORES SIGNIFICATIVAMENTE
DIFERENTES ENTRE EL GRUPO CONTROL Y
PROBLEMA QUE PUDIESEN OCASIONAR TENDENCIAS**

1 SEXO

Aspecto revisado: Pacientes del sexo Masculino significativamente mayor que el femenino en el grupo Problema

Resultados: El análisis estadístico se expresa en las siguientes tablas:

Tabla 10.16 Análisis estadístico en la producción de Colágena tipo I y el Sexo en los pacientes del grupo problema

PRUEBA T	HOMBRES	MUJERES
Media	1 88230769	1 86
Varianza	0 00453046	0 00073333
Observaciones	26	4
Grados de libertad	10	
Estadístico t	1 17968732	
P(T<=t) una cola	0.13271383	

Tabla 10.17 Análisis estadístico en la producción de Colágena tipo III y el Sexo en los pacientes del grupo problema

PRUEBA T	HOMBRES	MUJERES
Media	2 2056	2 275
Varianza	0 01647567	0 00896667
Observaciones	25	4
Grados de libertad	5	
Estadístico t	-1 28857162	
P(T<=t) una cola	0.12697355	

Tabla 10.18 Análisis estadístico en el balance de producción de Colágena tipo I/III y el Sexo en los pacientes del grupo problema

PRUEBA T	HOMBRES	MUJERES
Media	0 85367723	0 81856381
Varianza	0 00247082	0 00114207
Observaciones	26	4
Grados de libertad	5	
Estadístico t	1 79998214	
P(T<=t) una cola	0.06588031	

2. PORCENTAJE DE PESO REAL CORRESPONDIENTE AL IDEAL

Aspecto revisado: Porcentaje de peso real correspondiente al ideal significativamente mayor en el grupo problema que en el grupo problema

Resultados: El análisis estadístico se expresa en las siguientes tablas:

Tabla 10.19 Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo I y el Porcentaje de Peso real correspondiente al ideal normal y aumentado dentro del grupo problema.

PRUEBA T		
COLAGENA TIPO I	MAS DE 115	85 - 115
Media	1 89333333	1 866
Varianza	0 00422381	0 00375429
Observaciones	15	15
Grados de libertad	28	
Estadístico t	1 18519175	
P(T<=t) una cola	0.12295175	

Tabla 10.20 Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo III y el Porcentaje de Peso real correspondiente al ideal normal y aumentado dentro del grupo problema.

PRUEBA T		
COLAGENATIPO III	MAS DE 115	85-116
Media	2 196	2 21733333
Varianza	0.01956857	0 01332095
Observaciones	15	15
Grados de libertad	27	
Estadístico t	-0 45559144	
P(T<=t) una cola	0.32616337	

Tabla 10.21 Análisis estadístico del balance en la Producción de Colágena tipo I/III y el Porcentaje de Peso real correspondiente al ideal normal y aumentado dentro del grupo problema.

PRUEBA T		
RELACION I/III	MAS DE 115	85 - 115
Media	0 86478781	0 84344892
Varianza	0 002712	0.00226749
Observaciones	15	15
Grados de libertad	28	
Estadístico t	1 17118415	
P(T<=t) una cola	0 12569773	

3. PREALBUMINA

Aspecto revisado: Niveles séricos de albúmina significativamente menor en el grupo control que en el Problema

Resultados: El análisis estadístico se expresa en las siguientes tablas

Tabla 10.22 Análisis estadístico de la producción de Colágena tipo I en los pacientes con Prealbúmina Baja y Normal dentro del grupo Problema

PRUEBA T		
COLAGENA TIPO I	PREALBUMINA BAJA	PREALBUMINA NORMAL
Media	1 86125	1 85409091
Varianza	0 00286964	0.00656818
Observaciones	8	22
Grados de libertad	19	
Estadístico t	0 27924768	
P(T<=t) una cola	0 39153588	

Tabla 10.23 Análisis estadístico de la producción de Colágena tipo III en los pacientes con Prealbúmina Baja y Normal dentro del grupo Problema

PRUEBA T		
COLAGENA TIPO III	PREALBUMINA BAJA	PREALBUMINA NORMAL
Media	1 705	1.71045455
Varianza	0.00422857	0 00748074
Observaciones	8	22
Grados de libertad	17	
Estadístico t	-0 18507486	
P(T<=t) una cola	0.42768019	

Tabla 10.24 Análisis estadístico del balance en la producción de Colágena tipo I/III en los pacientes con Prealbúmina Baja y Normal dentro del grupo Problema

PRUEBA T		
RELACION I/III	PREALBUMINA BAJA	PREALBUMINA NORMAL
Media	1 09330542	1 08523923
Varianza	0 00345225	0 00216409
Observaciones	8	22
Grados de libertad	10	
Estadístico t	0 3504059	
P(T<=t) una cola	0.36665143	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4. LEUCOCITOS TOTALES EN SANGRE

Aspecto revisado: Niveles de leucocitos en sangre significativamente mayores en el grupo control que en el problema

Resultados: El análisis estadístico se expresa en las siguientes tablas:

Tabla 10.25 Análisis estadístico de la producción de Colágena tipo I y los niveles de Leucocitos totales altos y normales dentro del grupo Control

PRUEBA T	LEUCOCITOS TOTALES ALTOS	LEUCOCITOS TOTALES NORMALES
Media	1 86764706	1 84076923
Varianza	0.00673162	0 00377436
Observaciones	17	13
Grados de libertad	28	
Estadístico t	1 02596635	
P(T<=t) una cola	0.15684489	

Tabla 10.26 Análisis estadístico de la producción de Colágena tipo III y los niveles de Leucocitos totales altos y normales dentro del grupo Control

PRUEBA T	LEUCOCITOS TOTALES ALTOS	LEUCOCITOS TOTALES NORMALES
Media	1 72705882	1 68538462
Varianza	0.00659706	0.00571026
Observaciones	17	13
Grados de libertad	27	
Estadístico t	1 44888024	
P(T<=t) una cola	0.07944327	

Tabla 10.27 Análisis estadístico del balance en la producción de Colágena tipo I/III y los niveles de Leucocitos totales altos y normales dentro del grupo Control

PRUEBA T	LEUCOCITOS TOTALES ALTOS	LEUCOCITOS TOTALES NORMALES
Media	1 0821836	1 09419887
Varianza	0.00145359	0 00380604
Observaciones	17	13
Grados de libertad	19	
Estadístico t	-0 61777221	
P(T<=t) una cola	0.27202989	

5. DIAGNOSTICO EN EL GRUPO CONTROL

Aspecto revisado: Variación de los resultados en función del diagnóstico específico del grupo Control

Resultados: El análisis estadístico se expresa en las siguientes tablas:

Tabla 10.28 Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo I en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Miomatosis Uterina del grupo control

PRUEBA T		
COLAGENA TIPO I	APENDICITIS	MOMATOSIS UTERINA
Media	1 86117647	1 83
Varianza	0 00626103	0 00666667
Observaciones	17	4
Grados de libertad	4	
Estadístico t	0 69111249	
P(T<=t) una cola	0.2637553	

Tabla 10.29 Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo III en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Miomatosis Uterina del grupo control

PRUEBA T		
COLAGENA TIPO III	APENDICITIS	MOMATOSIS UTERINA
Media	1 71235294	1 705
Varianza	0 00784412	0.00923333
Observaciones	17	4
Grados de libertad	4	
Estadístico t	0 13971423	
P(T<=t) una cola	0.44781914	

Tabla 10.30 Análisis estadístico del balance de la Producción de Colágena tipo I/III en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Miomatosis Uterina del grupo control

PRUEBA T		
RELACION I/III	APENDICITIS	MOMATOSIS UTERINA
Media	1 08835032	1 07448695
Varianza	0.00234787	0 00210701
Observaciones	17	4
Grados de libertad	5	
Estadístico t	0 53765405	
P(T<=t) una cola	0.30693682	

Tabla 10.31 Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo I en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Crecimiento Prostático del grupo control

PRUEBA T		
COLAGENA TIPO I	APENDICITIS	CRECIMIENTO PROSTÁTICO
Media	1 86117647	1 84375
Varianza	0 00626103	0 00296964
Observaciones	17	8
Grados de libertad	19	
Estadístico t	0 64082581	
P(T<=t) una cola	0 26464503	

Tabla 10.32 Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo III en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Crecimiento Prostático del grupo control

PRUEBA T		
COLAGENA TIPO III	APENDICITIS	CRECIMIENTO PROSTÁTICO
Media	1 71235294	1 6975
Varianza	0 00784412	0 00425
Observaciones	17	8
Grados de libertad	18	
Estadístico t	0 47142249	
P(T<=t) una cola	0.32150131	

Tabla 10.33 Análisis estadístico del balance en la Producción de Colágena tipo I/III en los pacientes con el diagnóstico de Apendicitis y de Crecimiento Prostático del grupo control

PRUEBA T		
RELACION I/III	APENDICITIS	CRECIMIENTO PROSTÁTICO
Media	1 08835032	1 08781063
Varianza	0 00234787	0.0034863
Observaciones	17	8
Grados de libertad	12	
Estadístico t	0 02252846	
P(T<=t) una cola	0 49119835	

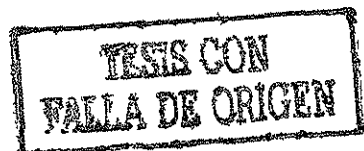


Tabla 10.34 Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo I en los pacientes con el diagnóstico de Miomatosis Uterina y de Crecimiento Prostático del grupo control

PRUEBA T		
COLAGENA TIPO I	MIOMATOSIS UTERINA	CRECIMIENTO PROSTÁTICO
Media	1 83	1.84375
Varianza	0 00666667	0 00296964
Observaciones	4	8
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-0 30458902	
P(T<=t) una cola	0.38793432	

Tabla 10.35 Análisis estadístico de la Producción de Colágena tipo III en los pacientes con el diagnóstico de Miomatosis Uterina y de Crecimiento Prostático del grupo control

PRUEBA T		
COLAGENA TIPO III	MIOMATOSIS UTERINA	CRECIMIENTO PROSTÁTICO
Media	1 705	1 6975
Varianza	0.00923333	0 00425
Observaciones	4	8
Grados de libertad	4	
Estadístico t	0 14074532	
P(T<=t) una cola	0.4474372	

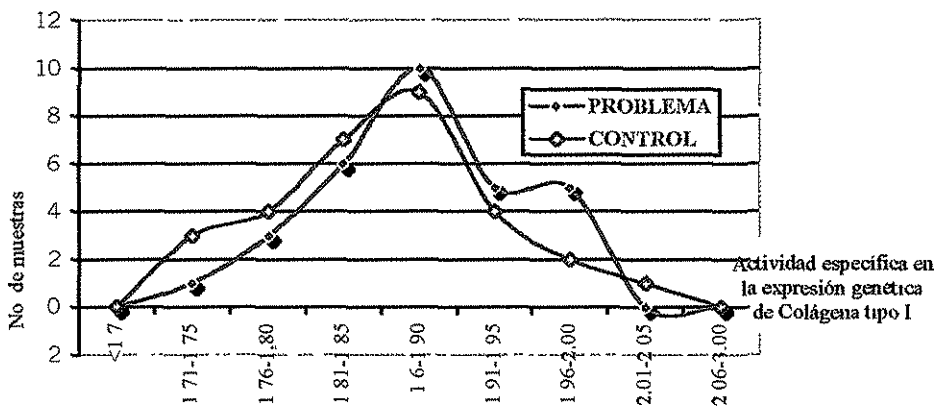
Tabla 10.36 Análisis estadístico del balance en la Producción de Colágena tipo I/III en los pacientes con el diagnóstico de Miomatosis Uterina y de Crecimiento Prostático del grupo control

PRUEBA T		
RELACION I/III	MIOMATOSIS UTERINA	CRECIMIENTO PROSTÁTICO
Media	1 07448695	1 08781063
Varianza	0 00210701	0 0034863
Observaciones	4	8
Grados de libertad	8	
Estadístico t	-0 42945214	
P(T<=t) una cola	0.33946311	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANÁLISIS DE RESULTADOS ESTUDIOS DE EXPRESIÓN GENÉTICA RESULTADOS DESCRIPTIVOS

PRODUCCIÓN DE COLÁGENA TIPO I



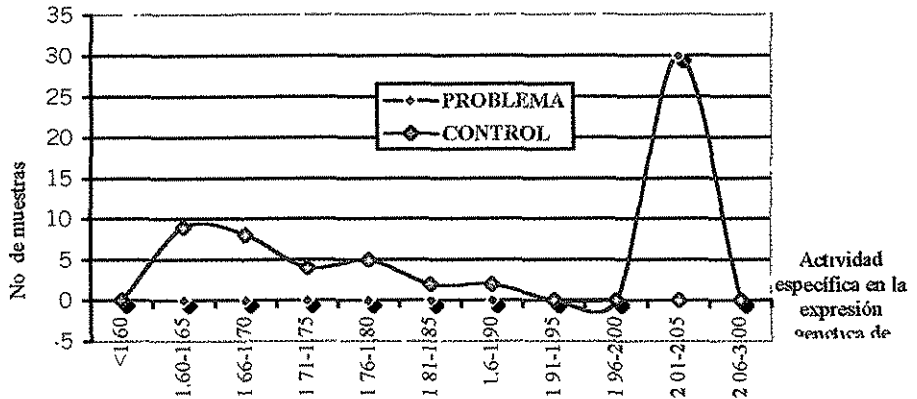
Grafica 10.19 Comparación entre los niveles de Actividad Específica en la expresión genética de Colágena tipo I del Grupo Control y Problema

COLAGENA TIPO I		
	CONTROL	PROBLEMA
Media	1.856	1.87966667
Error típico	0.01348989	0.01161136
Mediana	1.865	1.88
Moda	1.87	1.82
Desviación estándar	0.07388715	0.06359806
Varianza de la muestra	0.00545931	0.00404471
Curtosis	-0.16749817	-0.83686596
Coficiente de asimetría	0.02525747	-0.19356537
Rango	0.3	0.23
Mínimo	1.71	1.74
Máximo	2.01	1.97
Suma	55.68	56.39
Cuenta	30	30
Nivel de confianza(95.0%)	0.02758993	0.02374792

Tabla 10.37 Descripción estadística de los niveles de producción de Colágena tipo I entre el Grupo Control y el Grupo Problema



PRODUCCIÓN DE COLÁGENA TIPO III



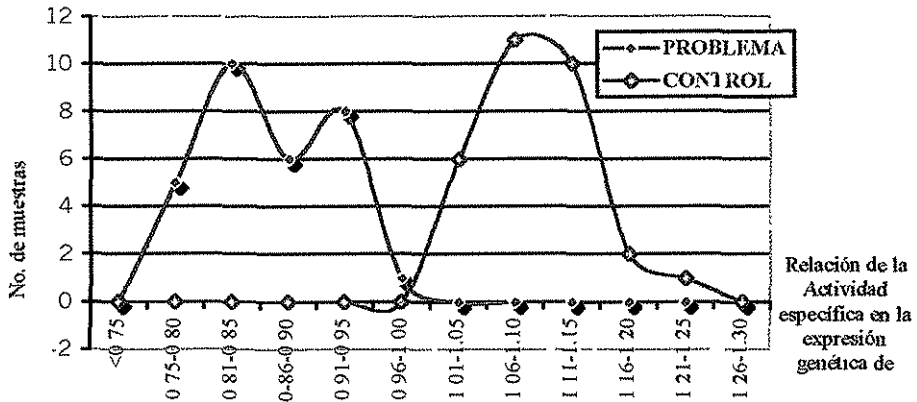
Gráfica 10.20 Comparación entre los niveles de Actividad Específica en la expresión genética de Colágena tipo I del Grupo Control y Problema

COLAGENA TIPO III		
	CONTROL	PROBLEMA
Media	1.709	2.20666667
Error típico	0.01465582	0.02309069
Mediana	1.69	2.225
Moda	1.67	2.39
Desviación estándar	0.08027324	0.12647293
Varianza de la muestra	0.00644379	0.0159954
Curtosis	-0.79408751	-1.36943095
Coefficiente de asimetría	0.41781303	-0.07225255
Rango	0.29	0.38
Mínimo	1.58	2.01
Máximo	1.87	2.39
Suma	51.27	66.2
Cuenta	30	30
Nivel de confianza(95.0%)	0.02997454	0.04722579

Tabla 10.38 Descripción estadística de los niveles de producción de Colágena tipo III entre el Grupo Control y el Grupo Problema



PRODUCCIÓN DE COLÁGENA TIPO I/III



Gráfica 10 21 Comparación entre la relación de la Actividad Específica en la expresión genética de Colágena tipo I/III del Grupo Control y Problema

RELACION I/III		
	CONTROL	PROBLEMA
Media	1.08739022	0.85411836
Error típico	0.00896952	0.00916816
Mediana	1.08442725	0.84946216
Moda	1.06586826	0.82426778
Desviación estándar	0.04912808	0.05021607
Varianza de la muestra	0.00241357	0.00252165
Curtosis	0.25711589	-1.25838867
Coefficiente de asimetría	0.45944485	0.19800358
Rango	0.20217083	0.17118725
Mínimo	1.00537634	0.78026906
Máximo	1.20754717	0.95145631
Suma	32.6217065	25.6235509
Cuenta	30	30
Nivel de confianza(95.0%)	0.01834473	0.018751

Tabla 10.39 Descripción estadística la relación de la producción de Colágena tipo I/III entre el Grupo Control y el Grupo Problema



RESULTADOS COMPARATIVOS ANÁLISIS DE VARIANZA

Prueba F para varianzas de dos muestras		
COLAGENA TIPO I		
	CONTROL	PROBLEMA
Media	1.856	1.87966667
Varianza	0.00545931	0.00404471
Observaciones	30	30
Grados de libertad	29	29
F	1.34973998	
P(F<=f) una cola	0.21210816	
Valor crítico para F (una cola)	1.86081195	

**Tabla 10.40 Análisis Estadístico de Varianza
para la producción de Colágena tipo I en el grupo
Control y en el Grupo Problema**

Prueba F para varianzas de dos muestras		
COLAGENA TIPO III		
	CONTROL	PROBLEMA
Media	1.709	2.20666667
Varianza	0.00644379	0.0159954
Observaciones	30	30
Grados de libertad	29	29
F	0.40285283	
P(F<=f) una cola	0.00848321	
Valor crítico para F (una cola)	0.53739946	

**Tabla 10.41 Análisis Estadístico de Varianza
para la producción de Colágena tipo III en el grupo
Control y en el Grupo Problema**

Prueba F para varianzas de dos muestras		
RELACION I/III		
	CONTROL	PROBLEMA
Media	1.08739022	0.85411836
Varianza	0.00241357	0.00252165
Observaciones	30	30
Grados de libertad	29	29
F	0.65713675	
P(F<=f) una cola	0.00453453	
Valor crítico para F (una cola)	0.49876576	

**Tabla 10.42 Análisis Estadístico de Varianza
para relación de la producción de Colágena tipo I/III en el grupo
Control y en el Grupo Problema**

RESULTADOS COMPARATIVOS ANÁLISIS DE MEDIA

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
COLAGENA TIPO I		
	control	problema
Media	1.856	1.87966667
Varianza	0.00545931	0.00404471
Observaciones	30	30
Grados de libertad	29	
Estadístico t	-1.45085613	
P(T<=t) una cola	0.07877582	
P(T<=t) dos colas	0.15755164	

Tabla 10.43 Análisis Estadístico mediante Prueba t para la producción de Colágena tipo I en el grupo Control y en el Grupo Problema

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
COLAGENA TIPO III		
	control	problema
Media	1.709	2.20666667
Varianza	0.00644379	0.0159954
Observaciones	30	30
Grados de libertad	29	
Estadístico t	-18.6916782	
P(T<=t) una cola	5.0928E-18	
P(T<=t) dos colas	1.0186E-17	

Tabla 10.44 Análisis Estadístico mediante Prueba t para la producción de Colágena tipo III en el grupo Control y en el Grupo Problema

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
RELACION I/III		
	control	problema
Media	1.08739022	0.85411836
Varianza	0.00241357	0.00252165
Observaciones	30	30
Grados de libertad	29	
Estadístico t	16.5082087	
P(T<=t) una cola	1.3839E-16	
P(T<=t) dos colas	2.7679E-16	

Tabla 10.45 Análisis Estadístico mediante prueba t para relación de la producción de Colágena tipo I/III en el grupo Control y en el Grupo Problema

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

RESULTADO DEL ANALISIS DE DATOS (POBLACIÓN)

- a) La Hernia inguinal indirecta se presentó en una proporción significativamente mayor ($P < 0.001$) en el sexo masculino que en el femenino, sin que esto afectara significativamente (Colágena tipo I Hombre/Mujer: $P = 0.132$; Colágena tipo III Hombre/Mujer: $P = 0.126$; Colágena tipo I/III. Hombre/Mujer: $P = 0.065$.), los resultados de la expresión genética del grupo problema (Gráficas. 10.1 y 10.11, Tablas. 10.1, 10.16, 10.17 y 10.18) La distribución por sexo en el grupo control no fue significativamente diferente, ($P = 0.450$) (Gráfica 10.7), tampoco hubo diferencia significativa ($P = 0.227$) entre las edad/sexo de nuestra población. (Gráfica 10.6)
- b) La Hernia Clasificada como Grado II (Gilbert), mostró una incidencia significativamente mayor (Gilbert II/III. $P < 0.05$, Gilbert II/I. $P < 0.05$) que los tipo I y III (Gráfica. 10.4).
- c) No existió predominio significativo ($P = 0.23$) entre la localización Izquierda o Derecha de la hernia inguinal en el grupo problema mientras que estas dos fueron significativamente más frecuentes que las bilaterales ($P < 0.05$) (Gráfica 10.3)
- d) La incidencia de hernia inguinal indirecta, fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en los pacientes con actividad física baja (Gráfica 10.5); mientras que en el grupo control la incidencia de pacientes con actividad física intensa fue significativamente mayor ($P < 0.05$) (Gráfica: 10.10)
- e) Aunque la edad de los pacientes del grupo problema fue mayor que la de el grupo control (Gráficas 10.2 y 10.8). no fue estadísticamente significativa ($p = 0.0588$) (Gráfica: 10.12, Tablas: 10.2 y 10.3)
- f) Aunque el consumo del tabaco fue mayor en los pacientes del grupo problema con respecto al grupo control, (Gráfica 10.13; Tabla 10.4), esto no fue estadísticamente significativo ($P = 0.068$) (Tabla 10.5).
- g) La incidencia de sobrepeso fue significativamente mayor ($P = 0.00027$) en el grupo Problema en relación con el grupo control; (Gráfica 10.14, Tablas. 10.6 y 10.7). sin embargo esto no afectó de forma significativa los resultados de expresión genética en dicho grupo (Colágena tipo I POPERECOIDE Normal/Alto $P = 0.122$; Colágena tipo III. POPERECOIDE Normal/Alto $P = 0.326$. Colágena tipo I/III. POPERECOIDE Normal/Alto: $P = 0.0125$) (Tablas 10.19, 10.20 y 10.21)
- h) Aunque los niveles de hemoglobina fueron más bajos en los pacientes del Grupo Control (Gráfica: 10.15, Tabla 10.8), esto no fue significativo ($P = 0.0518$) (Tabla 10.9)
- i) Mientras que los niveles de albúmina sérica del Grupo Control y del Grupo Problema no mostraron diferencias significativas ($P = 0.364$) (Gráfica 10.16, Tablas: 10.10 y 10.11). los niveles de prealbúmina fueron significativamente más bajos ($P = 1.254 \times 10^{-6}$) (Gráfica 10.17; Tablas. 10.12 y 10.13) en el grupo control en comparación con el grupo problema, sin que esto afectara significativamente (Colágena tipo I Prealbúmina Normal/Baja en el grupo

Control $P=0.391$, Colágena tipo III: Prealbúmina Normal/Baja en el grupo Control $P=0.0.427$, Colágena tipo I/III, Prealbúmina Normal/Baja en el grupo Control. $P=0.366$) los resultados de expresión de la colágena en el grupo Control (Tablas: 10 22; 10 23 y 10.24)

- j) Los niveles de Leucocitos Totales en sangre fueron significativamente mas altos en los pacientes del grupo control ($P= 7.548 \times 10^{-7}$) que en el grupo Problema (Gráfica 10.18: Tablas: 10 14 y 10 15), sin embargo esto no afectó significativamente (Colágena tipo I, Leucocitosis/leucocitos normales grupo control 0 156; Colágena tipo III, Leucocitosis/leucocitos normales grupo control. 0.0.079, Colágena tipo I/III, Leucocitosis/leucocitos normales grupo control. 0 0 272) los resultados en la expresión de colágena (Tablas 10 25, 10 26 y 10 27)
- k) No existió variación significativa de los resultados de la expresión genética en función del diagnóstico en el grupo control (Tablas: 10 28, 10 29, 10 30, 10.31, 10.32, 10 33, 10 34, 10 35 y 10.36)

RESULTADO DEL ANALISIS DE DATOS (EXPRESIÓN GENÉTICA)

- a) La expresión genética para Colágena tipo I no mostró diferencias significativas ($P=0.21$ para F y $P=0.07$ para t), en los pacientes con y sin hernia inguinal indirecta de nuestra población de estudio (Gráfica: 10 19; Tablas. 10 37, 10 40 y 10.43)
- b) La expresión genética para Colágena tipo III fue significativamente mayor ($P=0.008$ para F y $P=5.092 \times 10^{-18}$ para t), en el grupo de los pacientes con Hernia Inguinal Indirecta que en los pacientes sin esta entidad. (Gráfica 10 20, Tablas: 10 38, 10.41 y 10 44)
- c) La relación en la expresión genética para Colágena tipo I/III fue significativamente menor ($P=0.04$ para F y $P=1.386 \times 10^{-16}$ para t), en los pacientes con Hernia Inguinal Indirecta que en los pacientes sin esta entidad. (Gráfica: 10 21, Tablas: 10.39, 10.42 y 10.44)

XI. DISCUSION

SITUACIÓN OBSERVADA: La Hernia inguinal indirecta se presentó en una proporción significativamente mayor ($P < 0.001$) en el sexo masculino que en el femenino, sin que esto afectara significativamente (Colágena tipo I: Hombre/Mujer: $P = 0.132$; Colágena tipo III: Hombre/Mujer: $P = 0.126$; Colágena tipo I/III: Hombre/Mujer: $P = 0.065$), los resultados de la expresión genética del grupo problema La distribución por sexo en el grupo control no fue significativamente diferente, ($P = 0.450$) tampoco hubo diferencia significativa ($P = 0.227$) entre las edad/sexo de nuestra población.

DISCUSION:

Es un hecho que las hernias inguinales congénitas están relacionadas, en el hombre con el descenso testicular y en la mujer con la migración del ligamento redondo, en ambos con la persistencia del proceso peritoneo vaginal. El descenso testicular es iniciado por el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, liberado por el nervio genitocrural bajo influencia de andrógenos fetales; lo cual sucede entre las semanas 26 y 40, guiados por el proceso vaginal. Por esta razón las hernias inguinales son mas frecuentes en varones que en mujeres, ^{iv, v}

SITUACIÓN OBSERVADA I: La Hernia Clásificada como Grado II (Gilbert), mostró una incidencia significativamente mayor (Gilbert II/III: $P < 0.05$; Gilbert II/I: $P < 0.05$) que los tipo I y III

SITUACIÓN OBSERVADA II: No existió predominio significativo ($P = 0.23$) entre la localización Izquierda o Derecha de la hernia inguinal en el grupo problema mientras que estas dos fueron significativamente mas frecuentes que las bilaterales ($P < 0.05$)

DISCUSION:

Las hernias bilaterales son más frecuentes en mujeres y en prematuros hasta en 47%. En la edad adulta prevalecen las hernias del lado derecho pero en menor proporción. ^{v, vi}

En nuestro estudio no hubo prevalencia en el lado de presentación y fue significativamente mas alto el grupo de hernias inguinales unilaterales, con 4 pacientes del grupo femenino no se puede determinar la incidencia de este padecimiento de forma confiable, tampoco es posible determinar la incidencia en la edad pediátrica ya que el estudio no incluyó a estos pacientes.

SITUACIÓN OBSERVADA I: La incidencia de hernia inguinal indirecta, fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en los pacientes con actividad física baja mientras que en el grupo control la incidencia de pacientes con actividad física intensa fue significativamente mayor ($P < 0.05$)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SITUACIÓN OBSERVADA II: La incidencia de sobrepeso fue significativamente mayor ($P= 0.00027$) en el grupo Problema en relación con el grupo control, sin embargo esto no afectó de forma significativa los resultados de expresión genética en dicho grupo (Colágena tipo I: POPERECOIDE Normal/Alto: $P= 0.122$; Colágena tipo III: POPERECOIDE Normal/Alto: $P= 0.326$; Colágena tipo I/III: POPERECOIDE Normal/Alto: $P= 0.0.125$)

DISCUSION:

No es de extrañar que si dentro de los factores que tienen relación con la Hernia Inguinal, se encuentran la Obesidad y el esfuerzo físico, los pacientes del grupo Problema tendrán como característica un aumento en la incidencia de estos factores, en nuestra población ninguno de estos factores fue capaz de provocar un cambio con respecto a los resultados de expresión genética.^v

SITUACIÓN OBSERVADA: Aunque el consumo del tabaco fue mayor en los pacientes del grupo problema con respecto al grupo control, esto no fue estadísticamente significativo ($P=0.068$)

DISCUSION:

El tabaquismo se asocia a un aumento en la incidencia de Hernia inguinal Indirecta,^v sin embargo, en nuestra población no hubo diferencias significativas, probablemente debido al tamaño de la muestra

SITUACIÓN OBSERVADA: Mientras que, los niveles de albúmina sérica del Grupo Control y del Grupo Problema no mostraron diferencias significativas ($P=0.364$), los niveles de prealbúmina fueron significativamente más bajos ($P=1.254 \times 10^{-6}$), en el grupo control en comparación con el grupo problema; sin que esto afectara significativamente (Colágena tipo I: Prealbúmina Normal/Baja en el grupo Control: $P=0.391$; Colágena tipo III: Prealbúmina Normal/Baja en el grupo Control: $P=0.0.427$; Colágena tipo I/III: Prealbúmina Normal/Baja en el grupo Control: $P=0.366$) los resultados de expresión de la colágena en el grupo Control.

DISCUSION:

La desnutrición se asocia con un aumento en la incidencia de hernia Inguinal,^{iv} sin embargo, podría parecer que la situación se invierte en nuestra población, sin embargo estos resultados se explican debido a la vida media de cada uno de estas proteínas (28 días para la Albúmina y 24 a 36 horas para la Prealbúmina), casi todos los pacientes con niveles de Albúmina dentro de parámetros normales, en el grupo control, muchos de ellos (P. Ej. grupo con Apendicitis Aguda) habrían desarrollado ayuno y mal estado general desde más de dos días, habría aumentado el catabolismo tisular y finalmente habría disminuido los niveles de prealbúmina, dejando intacta la albúmina.

SITUACIÓN OBSERVADA: Los niveles de Leucocitos Totales en sangre fueron significativamente más altos en los pacientes del grupo control ($P= 7.548 \times 10^{-7}$) que



en el grupo Problema, sin embargo esto no afectó significativamente (Colágena tipo I, Leucocitosis/leucocitos normales grupo control: 0.156; Colágena tipo III, Leucocitosis/leucocitos normales grupo control: 0.0.079; Colágena tipo I/III, Leucocitosis/leucocitos normales grupo control: 0.0.272) los resultados en la expresión de colágena

DISCUSION:

Mas de la mitad de los pacientes del grupo control fueron pacientes con Apendicitis Aguda, por lo cual la media de leucocitos totales aumentó de forma significativa, sin embargo este aumento no afecto los resultados de la expresión genética para Colágena tipo I y Tipo III ya que se comparó estos resultados con los de los pacientes del mismo grupo control sin apendicitis determinando que no existía diferencia significativa.

SITUACIÓN OBSERVADA I: La expresión genética para Colágena tipo I no mostró diferencias significativas ($P=0.21$ para F y $P=0.07$ para t), en los pacientes con y sin hernia inguinal indirecta de nuestra población de estudio.

SITUACIÓN OBSERVADA II: La expresión genética para Colágena tipo III fue significativamente mayor ($P=0.008$ para F y $P=5.092 \times 10^{-18}$ para t), en el grupo de los pacientes con Hernia Inguinal Indirecta que en los pacientes sin esta entidad.

SITUACIÓN OBSERVADA III: La relación en la expresión genética para Colágena tipo I/III fue significativamente menor ($P=0.04$ para F y $P=1.386 \times 10^{-16}$ para t), en los pacientes con Hernia Inguinal Indirecta que en los pacientes sin esta entidad.

DISCUSION:

Se ha determinado que existen deficiencias en el metabolismo de la Colágena en los Fibroblastos de Piel de los pacientes con Hernia, resultando en un aumento de la Colágena tipo I y tipo III, sin embargo un aumento significativo de la Tipo III determina una inversión en la relación Colágena tipo I/III,^{xiii} lo que coincide con nuestras observaciones.

Estudios histológicos también han determinado deficiencias en la distribución de colágena tipo I y III en la piel de los pacientes con eventraciones postquirúrgicas resultando en un aumento de la tipo III, lo que nuevamente coincide con nuestros resultados.

Finalmente estudios de expresión genética para colágena tipo I y III de piel de los pacientes con hernia inguinal muestran un aumento de la colágena tipo III, lo que va de acuerdo a lo obtenido en este estudio^{xcv}

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XII. CONCLUSIONES

Como resultado de este estudio concluimos que

- a) Si existe relación inversa entre el balance de la producción de colágena tipo I/III en la fascia transversalis y el desarrollo de hernia inguinal indirecta
- b) La inversión en la relación es dependiente del aumento en la expresión genética de colágena tipo III y no en la disminución en la relación de la expresión de la colágena tipo I

Por lo que aceptamos la hipótesis verdadera.

XIII. BIBLIOGRAFIA

- i Schwarts *et al.* PRINCIPIOS DE CIRUGIA. Interamericana Mc. Graw Hill. 7ta. México. 1998.
- ii Skandalakis, J. F.. HERNIAS. Interamericana Mc Graw Hill. México. 1992.
- iii Gilbert AI. An anatomic and functional classification for the diagnosis and treatment of inguinal hernia. *Am J Surg* 1989; 157: 331.
- iv Asociación Española de Cirujanos CONSENSO SOBRE HERNIA INGUINAL A:E:C: España. Marzo 2000.
- v Asoc. Mex. de Cirugía Gral. CONSENSO SOBRE HERNIA. A:M:C:G: México, 1999
- vi Murray. Bioquímica de Harper. Manual Moderno. 13° México 2000. pp. 651-4
- vii National Center for Biotechnology Information, Molecular databases, Homo sapiens genome view. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- viii Menashi S. Campa, J.S. Greenhalgh, R.M. & Powell, J.T.. Collagen in abdominal aortic aneurysm: typing, content, and degradation. *J Vasc Surg.* 1987, 6:578-82
- ix Lehnert, B & Wadouh, F. High coincidence of inguinal hernias and abdominal aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg.* 1992. 6: 134-37
- x Morris-Stiff, G. Coles, G. Moore, R. Jurewicz, A. & Lord, R. Abdominal wall hernia in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Br J Surg.* 1997.84:615-17
- xi Liem, MS, van der. G.Y. Beemer, F.A. & Van Vroonhoven, T.J. Increased risk for inguinal hernia in patients with Ehlers-Danlos syndrome. *Surgery.* 1997. 122: 114-5
- xii Ajabnoor M.A. Mokhtar, A.M. Rafee, A.A. & Taha A.M. Defective collagen metabolism in Saudi patients with hernia. *Ann Clin Biochem* 1992. 7(29): 430-6
- xiii Klings U. *et al.* Abnormal collagen I to III distribution in the skin of patients with incisional hernia. *Eur Surg Res* 2000;32(1):43-8
- xiv Klinge, U. *et al.* Synthesis of type I and III collagen, expression of fibronectin and matrix metalloproteinases-1 and -13 in hernial sac of patients with inguinal hernia
- xv Zheng, H. *et al.* Recurrent inguinal hernia: disease of the collagen matrix? *World J Surg.* 2002 4;26(4):401-8

- xvi Bellon, JM, Bajo, A, Ga-Honduvilla, N, Gimeno, MJ, Pascual, G, Guerrero, A, & Bujan, J: Fibroblasts from the transversalis fascia of young patients with direct inguinal hernias show constitutive MMP-2 overexpression. *Ann Surg* 2001, 233:287291
- xvii Bellon, JM, Bujan, J, Honduvilla, NG, Jurado, F, Gimeno, MJ, Turnay, J, Olmo, N, & Lizarbe, MA: Study of biochemical substrate and role of metalloproteinases in fascia transversalis from hernial processes. *Eur J Clin Invest* 1997, 27:510516.
- xviii Otto, P. *et al.* Separate isolation of genomic DNA and total RNA from single samples using the SV total RNA Isolation System. *Promega Notes*. 1998; 69: 19.
- xix Chirgwin, J.M. *et al.* Isolation of biologically active ribonucleic acid from sources enriched in ribonuclease. *Biochemistry*. 1999; 38: 5294
- xx Promega Corp. SV Total RNA Isolation System Technical Manual. Promega Corp. 2002.
- xxi Wallance D.M. Precipitation of nucleics acids. *Meth. Enzymol.* 1987; 152: 41-8.
- xxii Promega Corp. PolyATtract System. Technical Manual Promega Corp. 2002
- xxiii Promega Corp. Acces RT-PCR System. Technical Manual Promega Corp 2002.
- xxiv freifelderg, D. *Técnicas de Bioquímica y biología molecular.* Reverté México 1991. Cap. 5 y 6
- xxv Raphael Rosch, Uwe Klinge, Zhongyi Si, Karsten Junge, Bernd Klosterhalfen, and Volker Schumpelick A role for the collagen I/III and MMP-1/-13 genes in primary inguinal hernia?. *BMC Med Genet.* 2002; 3 (1): 2

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN